

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Національний фармацевтичний університет
Міністерство охорони здоров'я України

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

Горопашна Дарина Олександрівна

УДК: 582.711.712:615.451.1:615.276:616.127-005.8:616.11-002

ДИСЕРТАЦІЯ

**Фармакологічне дослідження протизапальних, кардіопротекторних та
нейротропних властивостей нативного та модифікованого L- аргініном
екстрактів пагонів малини (*Rubus idaeus* L.)**

226 – Фармація, промислова фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

Д.О.Горопашна

Науковий керівник: Деримедвідь Людмила Віталіївна, доктор медичних наук,
професор

Харків – 2025

АНОТАЦІЯ

Горопашина Д.О. Фармакологічне дослідження протизапальних, кардіопротекторних та нейротропних властивостей нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини (*Rubus idaeus* L.) – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії 226 «Фармація, промислова фармація» – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2025.

Дисертація демонструє результати досліджень фармакологічної активності екстрактів пагонів малини (*Rubus idaeus* L.): нативного 60% спиртово-водного екстракту пагонів малини (ЕПМ) та модифікованого L-аргініном екстракту пагонів малини (РубусАрг) як потенційних протизапальних, кардіопротекторних та нейротропних засобів. Екстракти були отримані та стандартизовані на кафедрі загальної хімії Національного фармацевтичного університету (НФаУ) PhD, ас. Масловим О. Ю. та PhD, ас. кафедри фармакогнозії та нутриціології Комісаренко М. А. під керівництвом зав. каф. загальної хімії, д. фарм.н., проф. Колісника С. В. та д. фарм.н., проф. Комісаренко А.М.

За результатами проведених досліджень з вивчення гострої та підгострої токсичності нативного (ЕПМ) та модифікованого L-аргініном (РубусАрг) екстрактів пагонів малини звичайної встановлено, що LD₅₀ для ЕПМ та РубусАрг становить понад 5000 мг/кг. При введенні цих екстрактів піддослідним тваринам не спостерігалось летальності, змін маси тіла, фізіологічного стану тварин, морфологічного стану внутрішніх органів та змін основних біохімічних показників. Це дозволяє віднести дані речовини до IV класу токсичності сполук за класифікацією Hodge та Sterner (практично нетоксичні речовини – LD₅₀ > 5000 мг/кг).

При порівняльному дослідженні протизапальних властивостей водно-

спиртових та водних екстрактів пагонів малини з водно-спиртовими та водними екстрактами листя малини експериментально доведено більш високу антиексудативну активність 60% водно-спиртового екстракту пагонів малини.

На моделі карагенінового набряку було встановлено, що за антиексудативною активністю ЕПМ вірогідно перевищував протинабрякові ефекти як екстрактів листя малини, так і водного екстракту пагонів малини.

На першій годині дослідження антиексудативний ефект ЕПМ вірогідно перевищував дію препарату порівняння диклофенаку натрію ($p \leq 0,05$), на другу годину – був порівняний з диклофенаком натрію, проте на третю та четверту годину він йому поступався.

Для підтвердження гіпотези щодо більшої фармакологічної активності іонізованих форм катехінів, які є переважальними компонентами екстракту пагонів малини, був проведений молекулярний докінг потенційної протизапальної активності іонізованої та молекулярної форми (+)-катехіну та епікатехіну за впливом на основні ферменти – модулятори запального процесу – фосфоліпазу А₂, циклооксигеназу-2 (ЦОГ-2), 5-ліпооксигеназу (5-ЛОГ). Встановлено, що іонізовані форми (+)-катехіну та епікатехіну здатні інгібувати ферментні структури в 10 разів сильніше, ніж в молекулярній формі. Модифікований екстракт пагонів малини, в якому похідні катехінів були іонізовані слабкою основою – L-аргініном отримав умовну назву «РубусАрг».

Порівняльний аналіз антиексудативної дії розрахованих доз РубусАрг порівняно з нативним екстрактом пагонів малини показав, що його антиексудативний ефект на 5,7% (доза 6,5 мг/кг у перерахунку на вміст катехіну) та на 7,3% (доза 13 мг/кг у перерахунку на вміст катехіну) перевищував ефект ЕПМ (доза 26,4 мг/кг у перерахунку на вміст епігалокатехін-3-О-галату), проте доза, в якій виявився антиексудативний ефект ЕПМ була в 4 рази вища, ніж РубусАрг.

У першу годину експерименту антиексудативний ефект РубусАрг та ЕПМ був вірогідно вищим за ефект диклофенаку натрію; з 2-ї години дослідження

проти набряку дія ЕПМ та РубусАрг в обох досліджуваних дозах була вірогідно вища, ніж катехіну. Це свідчить про комплексний вплив БАРЕкстрактів пагонів малини на перебіг запальної реакції шляхом впливу як на лейкотриєнову, так і на простагландинову фазу запалення.

При зимозановому набряку лапи у щурів встановлено, що РубусАрг в 1,3 раза (30 хвилина), в 1,4 раза (1 година), а ЕПМ в 1,2 раза були ефективнішими, ніж препарат порівняння кверцетин ($p \leq 0,05$) та в середньому в 2,4 раза перевищували проти набряковий ефект відносно групи тварин, яким застосовували диклофенак натрію ($p \leq 0,05$).

За ступенем зменшення процесу ексудації при зимозановому набряку, активність сполук змінювалась таким чином: РубусАрг > ЕПМ > кверцетин > катехін > диклофенак натрію. Це підтверджує антилейкотриєн-обумовлений механізм протизапальної дії ЕПМ та РубусАрг.

Також вперше доведено кардіопротекторний ефект ЕПМ та РубусАрг. За умов експериментально інфаркту міокарда у щурів, викликаного введенням адреналіну гідрохлориду та суспензії гідрокортизону ацетату встановлено, що ЕПМ та РубусАрг при лікувально-профілактичному режимі введення вірогідно збільшують виживання тварин, зменшують інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення (ВРО) та сприяють покращенню показників ЕКГ.

Встановлено, що ЕПМ та РубусАрг за лікувально-профілактичного режиму введення вірогідно збільшують виживання тварин, зменшують інтенсивність процесів інтоксикації (зниження рівня МСМ), вільнорадикального окиснення (зниження вмісту 8-ізопростану), вірогідно зменшують рівень МФ-КФК, ЛДГ₁, АсАТ та сприяють покращенню показників ЕКГ. За ступенем впливу на МФ-КФК, а також на окисно-відновлювальні, цитолітичні та метаболічні процеси активність РубусАрг була вірогідно вища, ніж катехіну та кверцетину ($p \leq 0,05$).

Морфологічними дослідженнями доведено, що застосування ЕПМ та РубусАрг за даної патології призводить до зниження/відсутності ознак ішемії, стримування альтерації кардіоміоцитів, прискорення організації осередків некрозу, що позитивно корегувало стан скоротливого апарату клітин. Все вищезначене свідчить про наявність у досліджуваних сполук кардіопротективних властивостей. За сукупність впливу на морфологічні показники ураження міокарда, найбільший кардіопротективний ефект проявив РубусАрг, а ефект ЕПМ був на рівні або дещо вищим за дією препарату порівняння кверцетину. Проте і ЕПМ і РубусАрг за впливом на морфологічні ознаки ураження міокарда за умов даної патології переважали дію катехіну.

За умов доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів застосування ЕПМ і РубусАрг при лікувально-профілактичному режимі введення вірогідно збільшило виживання тварин в 1,5 раза та 1,33 раза, відповідно.

Позитивний вплив ЕПМ і РубусАрг на перебіг експериментальної доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів сприяє покращенню антиоксидантно-прооксидантного індексу, зниженню інтенсивності ВРО, підвищує активність СОД, каталази, збільшує рівень відновленого глутатіону, покращує показники ЕКГ.

За цими показниками ЕПМ і РубусАрг перевищували або діяли на рівні препарату порівняння кверцетину, та вірогідно були ефективнішими за катехін. Слід відзначити, що застосування ЕПМ та РубусАрг сприяло відновленню вмісту глікогену у серці та зменшувало прояви гепато- і нефротоксичності доксорубіцину.

Максимальна антиокиснювальна дія спостерігалась при застосуванні РубусАрг, що підтверджується вірогідним зниженням рівня 8-ізопростану в 2,1 раза у сироватці крові ($p \leq 0,01$), а в гомогенаті серця показник ТБК-реактантів порівняно з нелікованим контролем зменшився в 1,45 раза.

За умов метаболічного синдрому (МС) у щурів, індукованого введенням фруктози, встановлено, що ЕПМ та РубусАрг здатні коригувати порушений вуглеводний та ліпідний обмін. Це підтверджено зниженням показника

НОМА-IR в 2,06 рази ($p < 0,05$) та вмісту інсуліну сироватки крові в 1,37 рази ($p < 0,05$) відносно тварин з МС при застосуванні ЕПМ та в 2,2 рази та 1,45 рази при застосуванні РубусАрг, відповідно. За впливом на показники вуглеводного обміну РубусАрг тенденційно наближався до препарату порівняння метформіну, однак поступався останньому. За здатністю впливати на рівень загальних ліпідів обидва екстракти пагонів малини вірогідно переважали об'єкти порівняння – катехін та кверцетин.

Експериментально доведено наявність в ЕПМ та РубусАрг помірної нейротропної активності. Результати досліджень в тесті «відкритого поля» на мишах свідчать, що досліджувані засоби виявляють помірну стимулювальну дію на показники локомоторної та дослідницької активності. Важливо, що цей ефект не супроводжується інтенсифікацією емоційного та вегетативного супроводу поведінкових реакцій. Результати проведеного «ротарод-тесту» довели відсутність міорелаксувального впливу досліджуваних екстрактів пагонів малини. За цими показниками РубусАрг дещо ефективнішим, ніж ЕПМ.

Дослідження лікарської форми, а саме гранул РубусАрг, які містили: 500 мг екстракту пагонів малини звичайної (200 мг катехінів у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат), 800 мг L-аргініну і 3700 мг інозитулу у саше вагою 5,0 г в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» показало, що застосування РубусАрг у дозі 13 мг/кг збільшило тривалість перебування щурів у світлому компартменті, подовжило латентний період першого входу в закритий компартмент, а також зменшило інтенсивність вегетативного супроводу поведінкових реакцій. Це свідчить про помірні протитривожні властивості засобу та дозволяє його рекомендувати при стресорних ситуаціях.

Проведене дослідження свідчить про перспективність застосування модифікованого L- аргініном екстракту пагонів малини, який містить іонізаційні форми (+)-катехіну та епікатехіну – РубусАрг для корекції низки запальних процесів, уражень міокарда, метаболічного синдрому та інших патологічних станів, спричинених оксидативним стресом, а також як засобу

корекції негативних вегетативних реакцій і створення на його основі препарату для корекції та профілактики вищенаведених станів.

Результати дисертаційної роботи впроваджено у науково-дослідну та навчальну роботу низки кафедр фармацевтичного та медичного профілю закладів вищої освіти України.

Результати дослідження є підґрунтям для розробки лікарської форми – гранул «РубусАрг», які будуть впроваджені у промислове виробництво на ТОВ «ЗДРАВФАРМ».

Ключові слова: пагони малини, протизапальна активність, кардіопротекторна дія, кардіоміопатія, інфаркт міокарда, метаболічний синдром, нейротропна активність, антиоксидантна дія, катехіни, молекулярний докінг, гостра та хронічна токсичність.

Список публікацій здобувача:

1. Anti-inflammatory properties of raspberry shoot extract / L. V. Derymedvid, D. O. Horopashna, K. O. Kalko, O. Ya. Mishchenko, I. V. Okipniak, A. M. Komissarenko, M. A. Komisarenko, T. V. Sevastianova. *Pharmacologyonline*. 2021. Vol. 2. P. 657-662. (Scopus Q4). (*Особистий внесок здобувача:* аналіз літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).
2. Investigation the influence of biologically active compounds on the antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) leaf extract / O. Maslov, M. Komisarenko, S. Ponomarenko, D. Horopashna, T. Osolodchenko, S. Kolisnyk, L. Derymedvid, Z. Shovkova, E. Akhmedov. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2022. Vol. 35, No. 4, Pages 229-235. URL: <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0040> (Scopus Q4). (*Особистий внесок здобувача:* аналіз літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

3. Theoretical and practical development of the chemical composition and technological production of a *Rubus idaeus* leaves extract with meglumine possessed anti-inflammatory effect / O. Maslov, M. Komisarenko, D. Horopashna, S.Kolisnyk, L. Derymedvid, A. Komissarenko. *Phytotherapy Journal*. 2024. No. 4. P. 143–155. DOI: <https://doi.org/10.33617> (Scopus Q4). (Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку; O. Maslov – отримання та стандартизація досліджуваних екстрактів, допомога в проведенні експериментального дослідження; аналіз результатів; M. Komisarenko – формулювання цілей та задач дослідження; S.Kolisnyk, формулювання цілей та задач дослідження; L. Derymedvid – формулювання цілей та задач дослідження; A. Komissarenko – отримання та стандартизація досліджуваних сполук).
4. Antioxidant activity of red raspberry shoots (*Rubus idaeus* L.) liquid extracts / O. Maslov, M. Komisarenko, D. Horopashna, O.Tkachenko, L. Derymedvid, S. Kolisnyk, O. Kolisnyk. *Herba Polonica*. 2023. Vol. 69(4):45-53. URL: 10.5604/01.3001.0054.1658. (Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).
5. Деримедвідь Л.В., Горопашна Д.О. Вплив екстрактів пагонів малини на показники вуглеводного обміну за умов експериментального метаболічного синдрому у щурів, індукованого фруктозою. *Лікарська справа*. 2024. Т.84 (1173). С. 5-12. DOI: <https://doi.org/10.31640/LS-2024-4-01>. (Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку; Деримедвідь Л.В. – формулювання цілей та задач дослідження).
6. Horopashna D., Derymedvid L. Effect of native and L-arginine-modified raspberry shoot extracts on electrocardiogram parameters of rats and status of the antioxidant system under the conditions of experimental doxorubicin cardiomyopathy in rats. *Annals of Mechnikov's Institute*. 2025. №1. P.25–32. DOI:

<https://doi.org/10.5281/zenodo.15011041>. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку; L. Derymedvid, – формулювання цілей та задач дослідження*).

7. Маслов О.Ю., Колісник С.В., Комісаренко М.А., Деримедвідь Л.В., Горопашна Д.О., Комісаренко А.М. Спосіб одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з L-аргініном: пат. 157904 Україна. № u202403321 ; заявл. 24.06.2024 ; опубл. 11.12.2024, Бюл. № 50. (*Особистий внесок здобувача: проведення інформаційно-патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, узагальнення результатів та оформлення патенту*).

8. Маслов О.Ю., Колісник С.В., Комісаренко М.А., Деримедвідь Л.В., Горопашна Д.О., Комісаренко А.М. Спосіб одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з листя малини звичайної з L-аргініном : пат. 158347 Україна. № u202403413 ; заявл. 01.07.2024 ; опубл. 22.01.2025, Бюл.№ 4. (*Особистий внесок здобувача: проведення інформаційно-патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, узагальнення результатів та оформлення патенту*).

9. Деримедвідь Л. В., Горопашна Д. О. Вплив екстракту пагонів малини на показники протеїнурії при ураженні доксорубіцином. *Фітофармакологія нирок, печінки та обміну речовин* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 19-20 трав. 2022 р. Харків, НФаУ, 2022. С. 15–16.

10. Горопашна Д. О., Деримедвідь Л. В. Антиокислювальні властивості екстракту пагонів малини за умов медикаментозно-індукованого ураження печінки. *Youth Pharmacy Science* : матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 7-8 груд. 2022 р. Харків : НФаУ, 2022. С. 250.

11. Деримедвідь Л.В., Горопашна Д.О. Пагони малини як перспективний об'єкт з кардіопротекторними властивостями. *Хімія природних сполук*:

матеріали VI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 27-28 жовтня 2022 р. Тернопіль: ТНМУ, 2022. С.109-110.

12. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the phospholipase A2 enzyme / O. Yu. Maslov, D. O. Horopashna, M. A. Komisarenko, S.V. Kolisnyk, L.V. Derymedvid. *Youth Pharmacy Science* : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 18–19.

13. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the 5-lipoxygenase enzyme / O. Maslov, D. O. Horopashna, M. A. Komisarenko, S.V. Kolisnyk, L.V. Derymedvid. *Youth Pharmacy Science* : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 19–20.

14. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the nuclear factor KB enzyme / O. Maslov, D. O. Horopashna, M. A. Komisarenko, S.V. Kolisnyk, L.V. Derymedvid. *Youth Pharmacy Science*: матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 20–21.

15. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the cyclooxygenase-2enzyme / O. Maslov, D. O. Horopashna, M. A. Komisarenko, S.V. Kolisnyk, L.V. Derymedvid. *Youth Pharmacy Science* : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 21–22.

16. Горопашна Д. О., Деримедвідь Л. В. Нейротропні властивості нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини. *Scientific practice: modern and classical research methods* : Collection of scientific papers «ΛΟΓΟΣ» with Proceedings of the VII International Scientific and Practical Conference, Boston, February14, 2025. Boston-Vinnytsia : Primedia eLaunch& UKRLOGOS Group LLC, 2025. С. 393-394. DOI: 10.36074/logos-14.02.2025.085.

17. Горопашна Д. О. Токсикологічні властивості нативного та модифікованого L -аргініном екстрактів пагонів малини. *Theoretical and empirical scientific*

research: concept and trends: Collection of scientific papers «ΛΟΓΟΣ» with Proceedings of the VIII International Scientific and Practical Conference, Oxford, March 7, 2025. Oxford-Vinnytsia: P.C. Publishing House & UKRLOGOS Group LLC, 2025. С. 376-377. DOI: <https://doi.org/10.36074/logos-07.03.2025.083>.

18. Горопашна Д.О., Деримедвідь Л.В. Порівняльний аналіз ефективності нативного та модифікованого L- аргініном екстракту пагонів малини за умов зимозанового набряку у щурів. *Research in Science, Technology and Economics*: Collection of Scientific Papers "International Scientific Unity" with Proceedings. 2nd International Scientific and Practical Conference. March 5-7, 2025. Luxembourg, Luxembourg. P. 65-66.

ANNOTATION

Horopashna D.O. Pharmacological study of anti-inflammatory, cardioprotective and neurotropic properties of native and L-arginine-modified extracts of raspberry shoots (*Rubus idaeus* L.) – Qualification scientific work with the manuscript copyright.

The thesis for a philosophic doctor pharmaceutical science degree in speciality 226 «Pharmacy, industrial pharmacy». – National University of Pharmacy, Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2025.

Y. and PhD, As. of the Department of Pharmacognosy and Nutritionology Komisarenko M. A. under the supervision of the Head of the Department of General Chemistry, Doctor of Pharmacy, Professor Kolisnyk S. V. and Doctor of Pharmacy, Professor Komisarenko A. M.

According to the results of studies on the acute and subacute toxicity of native (EPM) and L-arginine modified (RubrusArg) shoot extracts of common raspberry, it was found that the LD50 for EPM and RubrusArg is more than 5000 mg/kg. When these extracts were administered to experimental animals, no

mortality, changes in body weight, physiological state of animals, morphological state of internal organs and changes in basic biochemical parameters were observed. This makes it possible to classify these substances as class IV toxicity compounds according to the Hodge and Sterner classification (practically non-toxic substances - $LD_{50} > 5000$ mg/kg).

A comparative study of the anti-inflammatory properties of water-alcohol and water extracts of raspberry shoots with water-alcohol and water extracts of raspberry leaves was carried out. The higher anti-exudative activity of 60% aqueous-alcoholic extract of raspberry shoots was experimentally proved. In the model of carrageenan edema, it was found that the anti-exudative activity of EPM significantly exceeded the anti-edematous effects of both raspberry leaf extracts and aqueous raspberry shoot extract.

At the first hour of the experiment, the anti-exudative effect of EPM significantly exceeded that of the comparison drug diclofenac sodium ($p \leq 0,05$), at the second hour was comparable to diclofenac sodium, but at the third and fourth hours it was inferior to it.

To confirm the hypothesis of greater pharmacological activity of ionised forms of catechins, which are the predominant components of raspberry shoot extract, molecular docking of the potential anti-inflammatory activity of ionised and molecular forms of (+)-catechin and epicatechin was performed on the main enzymes - modulators of the inflammatory process - phospholipase A2, cyclooxygenase-2 (COX-2), 5-lipoxygenase (5-LOH). It was found that the ionised forms of (+)-catechin and epicatechin are able to inhibit enzyme structures 10 times more strongly than in their molecular form. The modified raspberry shoots extract, in which catechin derivatives were ionised with a weak base, L-arginine, was given the conventional name RubusArg.

A comparative analysis of the antiexudative effect of the calculated doses of RubusArg in comparison with the native raspberry shoot extract showed that its antiexudative effect was 5.7% (dose of 6.5 mg/kg in terms of catechin content) and 7, 3% (dose of 13 mg/kg in terms of catechin content) exceeded the effect of EPM

(dose of 26.4 mg/kg in terms of epigallocatechin-3-O-gallate content), but the dose at which the antiexudative effect of EPM was manifested was 4 times higher than RubusArg.

In the first hour of the experiment, the anti-exudative effect of RubusArg and EPM was significantly higher than that of diclofenac sodium; from the 2nd hour of the experiment, the anti-edematous effect of EPM and RubusArg in both doses tested was significantly higher than that of catechin. This indicates a complex effect of raspberry shoot extracts on the course of the inflammatory response by affecting both the leukotriene and prostaglandin phases of inflammation.

In the case of winter paw oedema in rats, it was found that RubusArg was 1.3 times (30 minutes), 1.4 times (1 hour), and EPM was 1.2 times more effective than the comparison drug quercetin ($p \leq 0.05$) and on average 2.4 times higher in anti-edema effect compared to the group of animals treated with diclofenac sodium ($p \leq 0.05$).

According to the degree of reduction of the exudation process in wintergreen edema, the activity of the compounds varied as follows: RubusArg > EPM > quercetin > catechin > diclofenac sodium. This confirms the anti-leukotriene-based mechanism of anti-inflammatory action of EPM and RubusArg.

Also, the cardioprotective effect of EPM and RubusArg was proved for the first time. Under conditions of experimental myocardial infarction in rats caused by the administration of epinephrine hydrochloride and hydrocortisone acetate suspension, it was found that EPM and RubusArg in the therapeutic and prophylactic regimen significantly increase the survival of animals, reduce the intensity of free radical oxidation (FRO) processes and improve ECG parameters.

It was found that EPM and RubusArg in the therapeutic and prophylactic regimen significantly increased the survival of animals, reduced the intensity of intoxication (reduced MSM level), free radical oxidation (reduced 8-isoprostane content), significantly reduced the level of MF-CK, LDH1, ACAT and contributed to the improvement of ECG parameters. In terms of the degree of influence on

MMPs, as well as on redox, cytolytic and metabolic processes, RubusArg activity was significantly higher than catechin and quercetin ($p \leq 0,05$).

Morphological studies have shown that the use of EPM and RubusArg in this pathology leads to a decrease/absence of signs of ischaemia, inhibition of cardiomyocyte alteration, acceleration of necrosis foci, which positively corrected the state of the contractile apparatus of cells. All of the above indicates the presence of cardioprotective properties in the studied compounds. In terms of the total effect on the morphological parameters of myocardial damage, RubusArg showed the greatest cardioprotective effect, and the effect of EPM was at the level or slightly higher than that of the comparison drug quercetin. However, both EPM and RubusArg were superior to catechin in terms of their effect on the morphological signs of myocardial damage in this pathology.

In the conditions of doxorubicin cardiomyopathy in rats, the use of EPM and RubusArg in the therapeutic and prophylactic regimen significantly increased the survival of animals by 1.5 times and 1.33 times, respectively.

The positive effect of EPM and RubusArg on the course of experimental doxorubicin cardiomyopathy in rats improves the antioxidant-prooxidant index, reduces the intensity of ROS, increases the activity of SOD, catalase, increases the level of reduced glutathione, and improves ECG parameters.

According to these indicators, EPM and RubusArg exceeded or acted at the level of the comparison drug quercetin, and were probably more effective than catechin. It should be noted that the use of EPM and RubusArg contributed to the restoration of glycogen content in the heart and reduced the manifestations of doxorubicin hepatotoxicity and nephrotoxicity.

The maximum antioxidant effect was observed with RubusArg, as evidenced by a significant 2.1-fold decrease in serum 8-isoprostane levels ($p \leq 0,01$), and a 1.45-fold decrease in TBA-reactive substances in heart homogenate compared with untreated controls.

Under the conditions of metabolic syndrome (MS) in rats induced by fructose administration, it was found that EPM and RubusArg are able to correct impaired

carbohydrate and lipid metabolism. This was confirmed by a 2.06-fold ($p < 0.05$) decrease in HOMA-IR and 1.37-fold ($p < 0.05$) decrease in serum insulin levels in animals with MS after administration of EPM and 2.2-fold and 1.45-fold after administration of RubusArg, respectively. In terms of the effect on carbohydrate metabolism, RubusArg was tendentiously close to the comparison drug metformin, but inferior to the latter. In terms of the ability to influence the level of total lipids, both raspberry shoot extracts were significantly superior to the comparison objects - catechin and quercetin.

Experimental evidence of moderate neurotropic activity in EPM and RubusArg has been demonstrated. The results of the open-field test in mice show that the investigated drugs have a moderate stimulant effect on locomotor and exploratory activity. It is important that this effect is not accompanied by an intensification of emotional and autonomic support of behavioural reactions. The results of the 'rotarod test' proved the absence of a muscle relaxant effect of the studied raspberry shoot extracts. According to these indicators, RubusArg is somewhat more effective than EPM.

Study of the dosage form, namely RubusArg granules, which contained: 500 mg of raspberry shoots extract (200 mg of catechins in terms of epigallocatechin-3-O-gallate), 800 mg of L-arginine and 3700 mg of inositol in a 5.0 g sachet in the elevated cross maze test showed that the use of RubusArg at a dose of 13 mg/kg increased the duration of the rats' stay in the open sleeve, prolonged the latency period of the first entry into the closed sleeve and reduced the intensity of the autonomic support of behavioural reactions. This allows it to be recommended in stressful situations.

Study of the dosage form, namely RubusArg granules, which contained: 500 mg of raspberry shoots extract (200 mg of catechins in terms of epigallocatechin-3-O-gallate), 800 mg of L-arginine and 3700 mg of inositol in a 5.0 g sachet in the elevated cross maze test showed that the use of RubusArg at a dose of 13 mg/kg increased the duration of the rats' stay in the light compartment, prolonged the latency period of the first entry into the closed compartment and reduced the

intensity of the autonomic support of behavioural reactions. This indicates moderate anti-anxiety properties of the RubusArg. This allows it to be recommended in stressful situations.

The study shows the prospects of using the raspberry shoots extract modified with L-arginine, which contains ionisation forms of (+)-catechin and epicatechin - RubusArg for the correction of a number of inflammatory processes, myocardial damage, metabolic syndrome and other pathological conditions caused by oxidative stress, as well as a means of correcting negative vegetative reactions and creating a drug based on it to correct and prevent the above conditions.

The results of the dissertation have been implemented in the research and educational work of a number of departments of pharmaceutical and medical profile of higher education institutions of Ukraine.

The results of the study are the basis for the development of RubusArg pellets, which will be introduced into industrial production at «ZDRAVOFARM» LLC.

Key words: raspberry shoots, anti-inflammatory activity, cardioprotective effect, cardiomyopathy, myocardial infarction, metabolic syndrome, neurotropic activity, antioxidant effect, catechins, molecular docking, acute and chronic toxicity.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	19
ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1 БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ МАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ (RUBUS IDAEUS L.) (огляд літератури)	26
1.1 Ботанічна характеристика малини звичайної та хімічний склад рослини	29
1.2 Застосування малини звичайної у медицині, експериментальні та клінічні дослідження фармакологічної дії та безпечності	40
Висновки до розділу 1	56
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	57
РОЗДІЛ 3 ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ нативного та модифікованого екстракту ПАГОНІВ МАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ (<i>Rubus idaeus</i> L.)	72
3.1 Дослідження гострої токсичності нативного та модифікованого екстрактів малини звичайної звичайної за умов внутрішньошлункового введення мишам	72
3.2 Дослідження підгострої токсичності нативного та модифікованого L- аргініном екстракту малини звичайної	77
Висновки до розділу 3	79
РОЗДІЛ 4 ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАТИВНОГО ТА МОДИФІКОВАНОГО L- АРГІНІНОМ ЕКСТРАКТУ МАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ	81
4.1 Порівняльне дослідження протизапальної активності екстрактів листя та пагонів малини звичайної на моделі карагенінового набряку у щурів	81
4.2 Молекулярний докінг протизапальної і антиоксидантної дії мажорних компонентів екстракту пагонів малини звичайної – (+)-катехіну та епікатехіну	85
4.3 Дослідження протизапальної активності нативного та модифікованого	89

L-аргініном екстрактів пагонів малини звичайної на моделі карагенінового набряку у щурів	
4.4 Вплив нативного та модифікованого L-аргініном екстракту пагонів малини звичайної за умов зимозанового набряку у щурів	94
Висновки до розділу 4	98
РОЗДІЛ 5 ДОСЛІДЖЕННЯ КАРДІОПРОТЕКТОРНИХ ТА НЕЙРОТРОПНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАТИВНОГО ТА МОДИФІКОВАНОГО L-АРГІНІНОМ ЕКСТРАКТІВ ПАГОНІВ МАЛИНИ	102
5.1 Вивчення кардіопротекторної дії нативного та модифікованого l-аргініном екстрактів пагонів малини за умом адреналін-гідрокортизонового інфаркту міокарда у щурів	102
5.2 Дослідження впливу нативного екстракту пагонів малини та РубусАрг на гістологічний стан серцевого м'яза щурів в умовах адреналін-гідрокортизонового інфаркту міокарда у щурів	112
5.3 Вплив нативного та модифікованого l-аргініном екстрактів пагонів малини на перебіг експериментальної доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів	122
5.4 Ефективність застосування нативного та модифікованого екстракту малини звичайної за умов метаболічного синдрому у щурів, індукованого введенням фруктози	132
5.5 Експериментальне дослідження нейротропних властивостей екстрактів пагонів малини в інтактних тварин	138
Висновки до розділу 5	142
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	146
ВИСНОВКИ	161
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	166
ДОДАТКИ	190

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АЕА – антиексудативна активність;
АлАТ – аланінамінотрансфераза;
АОЗ – антиоксидантний захист;
АОС – антиоксидантна система;
АсАТ – аспартатамінотрансфераза;
АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт;
БАР – біологічно активні речовини;
ВГ – відновний глутатіон;
ВЕЛМ – водний екстракт листя малини;
ВЕПМ – водний екстракт пагонів малини
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;
ВКС – ваговий коефіцієнт серця;
ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я;
ВРО – вільнорадикальне окиснення;
В/ш – внутрішньошлунково;
год – година;
ДФУ – Державна Фармакопея України;
ЕКГ – електрокардіограма;
ЕПМ – екстракт пагонів малини;
ІК – інтактний контроль;
ІЛ-1 – інтерлейкін 1;
ІЛ-1 β – інтерлейкін 1 β ;
ІЛ-6 – інтерлейкін 6;
КП – контрольна патологія;
ЛДГ – лактатдегідрогеназа;
ЛОГ – ліпооксигеназа;
ЛРС – лікарська рослинна сировина;
КФК– МВ – креатинфосфокіназа-МВ;

МК – мінімальна інгібувальна концентрація;
МС – метаболічний синдром;
МСМ – молекули середньої маси;
ННІПФ – Навчально-науковий інститут прикладної фармації;
НЛМ – настій листя малини;
НПЗП – нестероїдні протизапальні препарати;
НФаУ – Національний фармацевтичний університет;
СЕЛМ – водно-спиртовий екстракт листя малини;
ПК – плацебо-контроль;
ПГ – простагландини;
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів;
РЛС – рослинна лікарська сировина;
СОД – супероксиддисмутаза;
ТБК-АП – тіобарбітурової кислоти-активні продукти;
ТГ – тригліцериди;
ФНО- α –фактор некрозу пухлини - α ;
ЦНС – центральна нервова система;
ЦОГ – циклооксигеназа;
ЦОГ-2 – циклооксигеназа 2;
ЧСС – частота серцевих скорочень;
ХС ЛПДНЩ – холестерин ліпопротеїдів дуже низької щільності;
ХС ЛПВЩ – холестерин ліпопротеїдів високої щільності;
5-ЛОГ – 5-ліпооксигеназа;
eNOS – ендотеліальна синтаза оксиду азоту;
НОМА-IR – Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance;
NF-kB – nuclear factor kB (ядерний фактор kB).

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. В патогенезі значної кількості захворювань провідна роль відводиться активації окисного стресу, дисфункції антиокисних систем, запаленню, які запускають та підтримують каскад патологічних порушень функцій організму, що є складовою багатьох захворювань, у тому числі й уражень серцево-судинної системи, запальних станів тощо [1, 2, 21, 55, 86, 117]. Питання фармакологічної корекції станів, спричинених окисним стресом та запаленням, і наразі залишається однією з актуальних проблем сучасної медицини [24, 36].

Незважаючи на значні успіхи у створенні нових препаратів для лікування станів, спричинених дезадаптацією антиокисних систем організму та запаленням, проблема розробки нових, ефективних та безпечних ліків для їх корекції є досить актуальною. Перспективним напрямком у цьому сенсі є застосування фітопрепаратів [38, 41, 47, 48, 140, 141, 166].

Фітозасоби зазвичай мають гарний профіль безпеки і завдяки сумі наявних біологічно активних речовин (БАР), володіють полімодальністю ефектів та можуть впливати на різні ланки патологічного процесу [47, 48, 205]. Також сучасними напрямками підвищення ефективності ліків є їх модифікація, зокрема додавання амінокислот, що теоретично може покращити їхню фармакологічну активність, біодоступність та дозволить розширити номенклатуру вітчизняних фітопрепаратів [4, 7].

Одним із перспективних об'єктів для вирішення цих питань є пагони малини звичайної (*Rubus idaeus* L.).

За вирощуванням та збиранням ягід малини, Україна займає 4 місце в світі [32, 38]. На другому році вегетації пагони малини обрізаються та знищуються, тож сировинна база щодо пагонів є достатньою [32, 38].

Враховуючи те, що пагони малини є одним з головних джерел похідних катехінів, які мають протизапальну, антиоксидантну й кардіопротекторну

властивості, теоретичне підґрунтя для їхнього подальшого фармакологічного дослідження є досить обґрунтованим [32, 38, 64].

Співробітниками кафедри загальної хімії НФаУ і кафедри фармакогнозії та нутриціології НФаУ під керівництвом д. фарм.н., проф. Колісника С. В. та д. фарм.н., проф. Комісаренко А.М. були розроблені нативний і модифікований L-аргініном екстракти пагонів малини (*Rubus idaeus* L.), що стало підґрунтям для експериментального дослідження їх фармакологічних властивостей й безпеки з метою створення на їх основі лікарських засобів для лікування запальних захворювань та кардіопатології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертація виконана за планом науково-дослідної роботи Національного фармацевтичного університету «Фармакологічне вивчення біологічно активних речовин та лікарських засобів» (номер держреєстрації 0114U000956), в якій дисертант є співвиконавцем.

Мета та завдання дослідження.

Метою дисертаційної роботи є оцінка впливу нативного та модифікованого L- аргініном екстрактів пагонів малини на запальний процес, ураження міокарда та функціональний стан ЦНС.

Для досягнення мети роботи були поставлені наступні **завдання**:

1. Оцінити гостру та підгострої токсичності нативного (ЕПМ) та модифікованого L –аргініном (РубусАрг) екстракту пагонів малини.
- 2.. Провести порівняльне дослідження протизапальних властивостей водно-спиртових та водних екстрактів пагонів малини з водно-спиртовими та водними екстрактами листя малини.
3. Провести молекулярний докінг протизапальної дії компонентів екстракту пагонів малини звичайної – (+)-катехіну та епікатехіну .
4. Здійснити скринінгові дослідження протизапальної активності нативного і модифікованого L – аргініном екстрактів пагонів малини та підтвердити теоретично розраховані дози фіто засобів.

5. Дослідити ефективність екстрактів пагонів малини за умов експериментальних ушкоджень міокарда на моделях адреналін – гідрокортизонового інфаркту міокарда, доксорубіцинової кардіоміопатії та метаболічного синдрому у щурів.

6. Визначити вплив нативного і модифікованого L – аргініном екстракту пагонів малини на стан ЦНС у інтактних тварин.

7. Дослідити нейротропні властивості РубусАрг в лікарській формі гранул.

Об'єкт дослідження: фармакокорекція запальних станів, уражень міокарда і функціонального стану ЦНС.

Предмет дослідження: фармакологічні та токсикологічні властивості нативного і модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини.

Методи дослідження. Під час виконання дисертаційної роботи використано комплексний підхід із залученням бібліосемантичного методу (використані матеріали наукових баз даних Scopus, PubMed, Web of Science, Google Scholar), аналітичного, порівняння та системного аналізу, узагальнення даних, методу молекулярного докінгу, нейрофармакологічних тестів («відкритого поля», «піднесеного хрестоподібного лабіринту», «стрижня, що обертається»); фармакологічних методів (моделі карагенінового та зимозанового набряків; моделі адреналін-гідрокортизонового інфаркта міокарда у щурів, доксорубіцинової кардіоміопатії, метаболічного синдрому, індукованого введенням фруктози); біохімічних (визначення вмісту загального білка, аспартатамінотрансферази (АсАТ), аланінамінотрансферази (АлАТ), ТБК-АП реактантів, 8-ізопростану, супероксиддисмутази (СОД); каталази, відновленого глутатіону (ВГ), креатиніну, загального холестеролу, тригліцеридів, лактатдегідрогенази (ЛДГ-1), інсуліну, глюкози, сечовини, МВ-фракції креатинфосфокінази (МВ-КФК), молекул середньої маси (МСМ), глікогену, інсуліну; токсикологічних методів (вивчення гострої та підгострої токсичності); морфологічних (світлової мікроскопії); методів математичної статистики.

Наукова новизна отриманих результатів. У роботі вперше проведено дослідження фармакологічних властивостей нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини.

Вперше виявлено фіто субстанцію -лідер, яка являє собою екстракт пагонів малини звичайної в модифікації з амінокислотою L-аргініном (РубусАрг), що обґрунтовує доцільність розробки на її основі нових протизапальних, кардіопротекторних та нейротропних засобів.

Вперше досліджено фармакодинаміку ЕПМ та РубусАрг на різних експериментальних моделях запалення та ураження міокарда.

Вперше порівняно протизапальні властивості ЕПМ та РубусАрг з дією екстрактів листя малини та доведено переваги їх використання відносно екстрактів листя малини. Результати проведеного молекулярного докінгу дозволили теоретично розрахувати ED_{50} за протизапальною активністю, що надалі було підтверджено в експерименті на тваринах.

Вперше досліджено кардіопротекторні властивості ЕПМ та РубусАрг в при гострому інфаркті міокарда та кардіоміопатії у щурів, а також доведена їх ефективність за умов метаболічного синдрому.

Вперше проведено скринінг ЕПМ і РубусАрг в тестах «відкритого поля», «піднесеного хрестоподібного лабіринту» та визначено їхні помірні психостимуляційні і протитривожні властивості, а також відсутність міорелаксувального впливу в тесті «стрижня, що обертається».

Вперше досліджено лікарську форму гранул РубусАрг як потенційного нейротропного засобу та доведено його позитивний вплив на вегетативні реакції.

Отримані експериментальні дані з вивчення фармакологічних властивостей нативного та іонізованого екстрактів пагонів малини будуть впроваджені в промислове виробництво на ТОВ "Здравофарм"; акт впровадження від 14 березня 2025 року (додаток В).

Фрагменти дисертаційної роботи впроваджені у науково-педагогічний процес кафедр таких закладів вищої освіти: Тернопільського національного

медичного університету імені І.Я. Горбачевського, Вінницького національного медичного університету імені М.І. Пірогова, Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна (додаток Б).

Наукова новизна дисертаційного дослідження підтверджена патентами України на корисну модель № 157904 від 11.12.2024) та №158347 від 01.07.2024 (додаток Г).

Теоретичне і практичне значення отриманих результатів. Одержані результати є теоретичним підґрунтям для створення лікарських засобів із протизапальною, кардіопротекторною та нейротропною активністю на основі нативного та модифікованого екстрактів пагонів малини, що мають широкий спектр фармакологічної дії, а також сприятливий профіль безпеки.

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Спільно з науковим керівником були сформовані мета, задачі дисертаційної роботи та розроблені методичні підходи проведення експериментальних досліджень. Здобувачкою здійснено інформаційно-патентний пошук за темою дисертації, проаналізовано та узагальнено доступні дані сучасних літературних джерел з досліджуваної проблеми, проведено планування експерименту.

Дисертантка особисто виконала ряд експериментальних досліджень, та їх порівняння з даними сучасних публікацій за тематикою дисертаційної роботи, самостійно проводила статистичну обробку, систематизацію отриманих результатів та оформлення дисертаційної роботи.

Дослідження методом молекулярного докінгу здійснено за консультативної допомоги PhD, ас. кафедри загальної хімії НФаУ Маслова О. Ю., д. фарм. н., проф., зав. каф. загальної хімії проф. Колісника С. В. та д. фарм.н., проф. Комісаренка А.М.

Морфологічні дослідження проведено за методичної і консультативної підтримки пров. наук. співр. ННІПФ НФаУ, к.біол.н. Лар'яновської Ю. Б.

Усі розділи дисертації написані власноруч. У наукових роботах, опублікованих у співавторстві з керівником та науковцями, спільно з якими

були проведені дослідження, дисертанткою наведені результати власних експериментальних досліджень, взято участь в аналізі та узагальненні отриманих даних та написанні статей.

Апробація матеріалів дисертації. Результати дисертаційної роботи оприлюднені та обговорені на Всеукраїнських наукових конференціях з міжнародною участю: *Фітофармакологія нирок, печінки та обміну речовин* : (м. Харків, 19-20 трав. 2022 р.); III Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю *Youth Pharmacy Science* (м. Харків, 7-8 груд. 2022 р.); VI Всеукр.наук.-практ. конф. з міжнар. участю *Хімія природних сполук* (м. Тернопіль, 27-28 жовтня 2022 р.); V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. Учасцю *Youth Pharmacy Science* (м. Харків, 10-11 груд. 2024 р.); *Scientific practice: modern and classical research methods* : VII International Scientific and Practical Conference (Boston, February 14, 2025); VIII International Scientific and Practical Conference *Theoretical and empirical scientific research: concept and trends* (Oxford, March 7, 2025);. International Scientific and Practical Conference *Research in Science, Technology and Economics* (Luxembourg, March 5-7, 2025).

Структура та обсяг структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 212 сторінках та складається з анотацій українською та англійською мовами, змісту, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи дослідження» та 3 розділів з результатами власних експериментальних досліджень, аналізу та узагальнення одержаних результатів, загальних висновків, списку використаних джерел і додатків.

Обсяг основного тексту дисертації складає 165 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 28 таблицями та 25 рисунками. Список використаних джерел налічує 210 найменувань, із них 50 кирилицею та 169 латиницею.

РОЗДІЛ 1

БОТАНІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА, ХІМІЧНИЙ СКЛАД ТА ЗАСТОСУВАННЯ В МЕДИЦИНІ МАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ (*RUBUS IDAEUS* L.) (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Малина (*Rubus* L.) – великий і різноманітний рід рослин родини Розові (*Rosaceae* Juss.) підродини Розанні (*Rosoideae* Juss. ex Arn.) триби *Rubeae* Dumort, у якому описано понад 740 видів, що належать до 12 підродів.

Рід *Rubus* L. налічує понад 1000 видів і вважається дуже складним родом для таксономічної класифікації [141]. До цього роду належать *R. idaeus* L., *R. neglectus*, *R. occidentalis* L., *R. strigosus* Michx., *R. xanthocarpus* Bur. et Fr., *R. ursinus* Cham. et Schlecht., *R. candicans* Weihe, *R. alleghanensis* Porter, *R. plicatus* W. et N. і *R. laciniatus* Willd [26, 37, 38, 141].

Ареали поширення видів роду *Rubus* L. охоплюють п'ять континентів і включають малину, ожину та їх гібриди [16, 174].

Виходячи з фенотипової різноманітності, вважають, що рід *Rubus* походить із південно-західного Китаю.

Представники роду *Rubus* зустрічаються від субтропіків до арктичних регіонів і можуть рости на висоті до 4500 м над рівнем моря. Більшість видів поширені в помірних регіонах північної кулі [3, 111, 130, 174].

Види *Rubus* культивуються протягом століть заради плодів, які широко використовуються в харчуванні та харчовій промисловості. Вживання плодів малини зазвичай асоціюється з профілактикою різних захворювань людини. Традиційно вони застосовуються у лікуванні та профілактиці як потогінний та протизапальний засіб [23, 38, 174, 182].

Найбільш економічно важливими видами роду *Rubus*, які введені в культуру і широко вирощуються в усьому світі є представники підроду *Idaeobatus* – малина звичайна (*R. idaeus* L.) та малина чорна (*R. occidentalis* L.). Дані види легко гібридизуються, та дають фіолетову малину [3, 135, 174].

Ареал малини звичайної знаходиться в Середній та Атлантичній Європі, Скандинавії, на Середземномор'ї і Кавказі, в Західному та Східному Сибіру, Середній та Малій Азії, Монголії, Японії, Китаї, Північній Америці. [3, 206].

Малина звичайна є однією з основних ягідних культур багатьох країн, у тому числі й України [32].

За даними FAO (продовольча та сільськогосподарська організація ООН), у 2021 році світове виробництво малини звичайної досягло 886538 тонн, причому Європа та Америка були найбільшими виробниками [50].

У 2021 році промислові посадки малини знаходилися на території 37 країн, на площі 110 567 га. Основними виробниками були Мексика (18,7% – від світового виробництва), Сербія (12,5%), Польща (11,7%) і США (9,15%). Україна виробила плодів малини 4,1% від світового виробництва [32, 50].

Наразі у світі вирощують понад 600 сортів малини, близько 30-40 з них мають промислове значення [32]. У низці країн існують програми селекції рослин роду *Rubus*, спрямованих на отримання плодів високої якості та врожайності [32, 41].

Ще до одомашнення малину звичайну використовували у народній медицині, окрім плодів, застосовували корені, листя, пагони для лікування різноманітних захворювань.

Нещодавно було виявлено, що плоди та вегетативні органи *R. ideaus* L., крім важливих мікронутрієнтів, містять велику кількість макронутрієнтів, таких як гідроксикоричні й органічні кислоти, антоціани та дубильні речовини, які забезпечують антиоксидантні властивості, що підтверджує їх користь для здоров'я людей [32].

Щодо листя малини як лікарської рослинної сировини, комерційний матеріал збирається як від дикорослих рослин у Центральній та Східній Європі, переважно в Болгарії, Македонії та Румунії, так від культивованих рослин [41].

1.1 Ботанічна характеристика малини звичайної та хімічний склад рослини

Малина звичайна (*R. idaeus* L.) – напівкущ, що має однорічні вегетативні пагони і здерев'янілі дворічні стебла, заввишки 0,5–1,8 м [41]. Однорічні пагони трав'янисті, безплідні, із загнутими донизу колючками, зелені, із сизим нальотом, дворічні пагони – здерев'янілі, з колючками тільки на бічних зелених гілочках, жовтувато-коричневого кольору, утворюють укорочені квітконосні гілочки. Листки чергові, непарно-перистоскладні, з трьома або п'ятьма яйцеподібними листочками, по краю зубчасті, зверху зелені, зісподу – сірувато-зелені від густого опушення. Черешки і жилки вкриті шипами. У листків вегетативних пагонів прилистки приростають до черешка, листки плодоносних пагонів без прилистків. Квітки двостатеві, п'ятипелюсткові, білі, зібрані у пазушні малоквіткові китиці [3, 41]. Плід – сизо-червона соковита багатокістянка округлої або конусоподібної форми, складається з великої кількості (30–60) окремих кістянок, що зрослися [3, 41]. Останні утворюють порожнистий конус з округлою верхівкою діаметром 7,5–12 мм. Кістянки всередині містять кісточку з ямчастою поверхнею. Плоди малинового кольору, кісточки – темно-жовтого. Цвіте у червні-липні, плоди досягають у липні-серпні [3, 41].

У малини звичайної корені та кореневища багаторічні, але життєвий цикл пагонів становить лише два роки. Дикоросла малина й більшість сортів культивованої малини дають урожай на пагонах другого року. Тобто вегетативний пагін першого року росте влітку, перезимовує, а на наступний рік на ньому з'являться плоди. Сорти ремонтантної малини влітку дають урожай на пагонах минулого року, а восени – на вегетативних пагонах. Після плодоношення дворічні пагони відмирають, тому їх рекомендується зрізати. І вони можуть бути використані як лікарська рослинна сировина. Крім того, в якості рослинної сировини можуть бути використані вегетативні пагони, які також обрізають під час прорідження насаджень [32, 38].

На сьогоднішній день були проведені фітохімічні дослідження більше 100 видів рослин з роду *Rubus* [135, 179, 182].

Нами розглядаються головним чином класи хімічних речовин виду *R. idaeus*, які можуть бути потенційно використані з лікувальною метою.

Фенольні сполуки складають одну з найбільших груп метаболітів рослин і є важливою складовою раціону людини. В останні роки зростає інтерес до вивчення фенольних сполук рослинного походження через їхні лікувально-профілактичні властивості, роль у зміцненні здоров'я. Фенольні сполуки широко представлені в рослинах, у тому числі, й роду *Rubus* (наприклад, малина, ожина, морозка). Фенольні сполуки мають широкий спектр фармакологічної дії: антиоксиданту, протизапальну, протипухлину, кардіопротекторну і нейропротекторну [135, 176].

Основні класи фенольних сполук плодів та вегетативних органів малини звичайної представлені танінами, що гідролізуються (еллаготаніни) та антоціанами. Також до складу плодів та вегетативних органів малини входять фенолкарбонові та гідроксикоричні кислоти, флавоноли, флаваноли та проантоціанідини, які вважаються другорядними [182].

Kahkonen M. P. із співавторами (2001) при визначенні різних класів фенольних сполук у плодах малини звичайної (дані перераховані на суху сировину) показали, що елаготаніни (1717 мг/100 г) та антоціани (230 мг/100 г) за кількісним вмістом переважають серед фенольних сполук, тим часом вміст флавонолів (23 мг/100 г), гідроксикоричних (25 мг/100 г) та фенолкарбонових кислот (24 мг/100 г) є значно меншим. Viljanen K. із співавторами (2004) також підтвердили, що елаготаніни та антоціани були основними фенольними компонентами в плодах малини, їх вміст від суми фенольних сполук становив 51 і 31%, відповідно. Проціанідини та вільна елагава кислота містилися у кількості 8 і 9 %, відповідно, тоді як на флавоноли припадало менше 1% [182].

Вміст фенольних сполук у свіжих плодах, визначений за методом Фоліна-Чокольте, за екстракцією водою коливався від $111,96 \pm 3,11$ до

148,87±3,43 мг/100 г у перерахунку на галову кислоту. В інших дослідженнях вміст фенольних сполук у свіжих плодах різних сортів малини становив 102,0-521,4 мг/100 г у перерахунку на галову кислоту [91].

Кількісний вміст фенольних сполук у соці плодів малини, визначений за методом Фоліна-Чокольте, склав 150-194/100г у перерахунку на галову кислоту [91].

Антоціани є другою після елаготанінів за кількісним вмістом групою фенольних сполук, виявлених у плодах малини звичайної. Це пігменти, які відповідають за колір багатьох квіток і плодів. Підвищений інтерес до цієї групи флавоноїдів пов'язаний з відкриттям їх антиоксидантних властивостей і встановленням позитивного впливу на здоров'я людини (зниження ризику серцево-судинних, ракових захворювань тощо) [182].

У плодах малини звичайної були виявлені такі антоціаніи: ціанідин-3-О-глюкозид, ціанідин-3-О-арабінозид, ціанідин-3-О-рутинозид, ціанідин-3-О-софорозид, ціанідин-3-ксилозилрутинозид, пеларгонідин-3-О-глюкозид, пеларгонідин-3-О-софорозид, пеларгонідин-3-О-рутинозид [182].

Встановлено, що основними антоціанами, що відповідають за забарвлення плодів малини, є ціанідин-3-О-софорозид та ціанідин-3-О-глюкозид [182]. За даними досліджень, ціанідин-3-О-глюкозид становить 15,6%, ціанідин-3-О-софорозид – 5,3%, ціанідин-3-О-арабінозид – 59,4%, пеларгонідин-3-О-глюкозид – 0,9 %, пеларгонідин-3-О-рутинозид – 0,7 %, пеларгонідин-3-О-софорозид – 2,5 % від сумарної кількості антоціанідинів малини [182].

За повідомленням литовських дослідників (Viskelis et al., 2012), кількість антоціанів у плодах малини звичайної становила від 9,9% до 21,1 % від загальної кількості фенолів [92]. Рівень накопичення антоціанів знаходяться під впливом генотипу, умов довкілля, ступеня стиглості під час збирання та умов зберігання після збирання врожаю. Вміст антоціанів на початку дозрівання плодів (зелені плоди) низький, з присутністю тільки ціанідин-3-О-глюкозиду та деяких слідів ціанідин-3-О-рутинозиду. Коли

плоди малини стають рожевими, утворюються невелика кількість ціанідин-3-О-софорозиду. У стиглих плодах кількість цих антоціанів різко зростає, і починають формуватися глікозиди пеларгонідину. Вміст антоціанів помітно варіює в залежності від сорту. Загалом сумарний вміст антоціанів у плодах малини становив від 20 до 100 мг у 100 г свіжих ягід. Через наявність рецесивних генів, що пригнічують утворення антоціанових пігментів, сорти жовтої малини містять незначну їх кількість. Так, вміст антоціанів у сортах жовтої малини «Poranna Rosa» та «Beglianka» становить 3,5 мг/100 та 2,0 мг/100 г, відповідно. Водночас, у сорті чорної малини «Bristol» антоціанів містилось 330,8 мг/100 г [92, 182].

Загальний вміст антоціанів у плодах малини звичайної становив 9,33 мг/100 г (у перерахунку на ціанідин-3-О-глюкозид у сухій сировині) [138].

Кількісний вміст антоціанів соку малини склав 39-48 мг/100г у перерахунку на ціанідин-3-О-глюкозид [138].

Щодо листя малини, то антоціанів не було ідентифіковано, оскільки листя виконують іншу функцію в організмі рослини, що було підтверджено дослідженнями [66, 189].

Найбільш поширеними дубильними речовинами роду *Rubus* є елаготаніни. Елаготаніни належать до класу танінів, що гідролізуються, являють собою естери гексагідроксидифенової кислоти і моносахариду (найчастіше глюкози). Сполуки, що містять елагову кислоту, накопичуються у плодах обмеженої кількості плодових культур. Малина звичайна є важливим джерелом цих фенольних сполук [146, 182].

Елаготаніни гідролізуються в ШКТ, вивільняючи елагову кислоту. Залежно від структури вони мають протизапальну, протипухлинну, антиоксидантну та протимікробну активність [146].

Олігомерні елаготаніни *Rubus* містять, окрім добре відомих фрагментів елагової та галової кислот, сангвісорбоїлову групу. Основними елаготанінами малини звичайної є димерна сполука сангвіїн Н-6 та тетрамерна – ламбертіанін С [146].

Елаготаніни є головними фенольними речовинами як у червоній, так і в жовтій малині, вміст елагової кислоти становить 38-270 мг/100 г у червоній малині та 58-194 мг/100 г у жовтій малині у перерахунку на суху сировину [82, 146].

У плодах малини були ідентифіковані такі елаготаніни, як сангвіїн Н-6, ламбертіанін С. [93]. Насіння малини також є багатим джерелом елаготанінів та вільної елагової кислоти, з вмістом 870 мг/100 г і 670 мг/100 г, відповідно. Хоча насіння містить більш високий рівень елагової кислоти, ніж м'якоть, воно становить лише близько 1–5 % маси плодів. Інші дослідники повідомляють, що м'якоть малини містить 87,8% елагової кислоти, а насіння – 12,2%. Сік плодів містить незначну кількість елагової кислоти [93].

Листя малини звичайної містить, головним чином, таніни, що гідролізуються у кількості 2,6-6,9%, у перерахунку на суху сировину [121, 122]. Були ідентифіковані різні типи танінів, що гідролізуються, включаючи галотаніни [121, 122, 191], до яких належить 1,2,6-трис-О-галоїл- β -D-глюкоза, 1,2,3,4,6-пентагалоїл-D-глюкоза [80], також елаготаніни, серед яких мономери елагової кислоти [122, 191], сангвіїн Н-6, ламбертіанін С [80, 93, 121, 122, 165], сангвіїн Н-10, сангвіїн Н-2, потентилін (казуариктин) [93].

У результаті дослідження 11 сортів малини звичайної, вирощених у Польщі, було виявлено, що найбагатшим джерелом сангвіїну Н-6 були пагони сортів "Koral", "Polesie", "Willamette" та "Heritage" (481,1 мг/100 г-633,1 мг/100 г), вміст елагової кислоти був найвищим у сортах "Willamette", "Koral", "Glen Ample" і "Benefis" (71,1 мг/100 г-106,8 мг/100 г) [93].

Також у дослідженнях Krauze-Baranowska et al. були виявлені проціанідини В₁ і В₂ [93].

Структурні формули основних елагітанінів малини звичайної наведені на рис. 1.1.

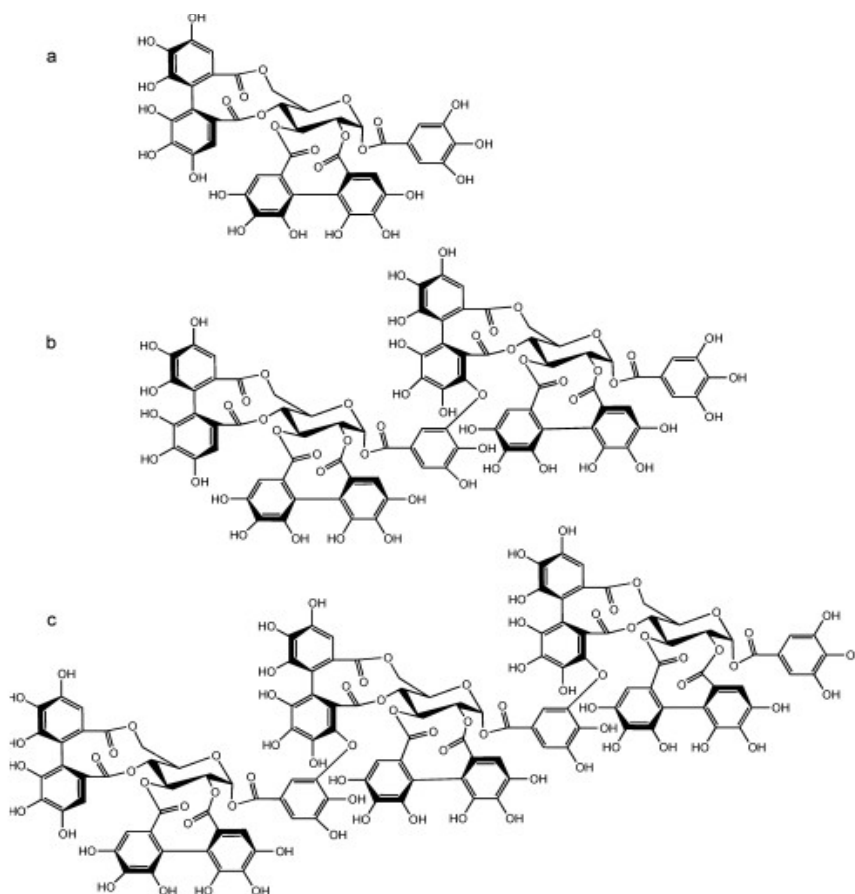


Рис 1.1. Структури основних елагітанінів у малині: казуариктин (а), сангвіїн Н-6 (б), ламбертіанін С (в) за Brodowska A.J., 2017 [82]

У плодах малини звичайної містяться такі фенолкарбонові кислоти: галова, сиринова, *n*-гідроксибензойна, ванілінова та протокатехова, а також гідроксикоричні кислоти: *n*-кумарова, кавова, ферулова, хлорогенова [131]. Кількісний вміст у плодах малини деяких кислот становить (на 100 г сухої сировини): галової – 1,23 мг, ферулової – 0,27 мг, сиринової – 2,76 мг [131].

У листі малини ідентифіковані такі фенолкарбонові кислоти: протокатехова, гентизинова, *n*-гідроксибензойна, ванілінова, кумарова [80]; гідроксикоричні кислоти: ферулова [80], кавова (0,55 мг/г), хлорогенова (0,70 мг/г) [191], а також метилгалат (0,045 %) [121].

Галова, протокатехова, кавова та хлорогенова кислоти були ідентифіковані в пагонах сортів малини, вирощених в Польщі [93].

Флавоноли містяться в плодах малини незалежно від їх кольору в незначній кількості – від 1 до 19 мг/100 г сирої сировини. Представлений комплекс флавонолових глікозидів плодів: кемпферол-3-О-глюкуронід, кверцетин, кверцетин-3-О-рутинозид, кверцетин-3-О-глюкозид, кверцетин-3-О-глюкуронід, кверцетин-3,5-О-диглюкозид, кверцетин-3-О-галактозилрамнозид, кверцетин-3-(2G-рамнозилрутинозид)-7-глюкозид, кверцетин-3-О-галактозид, метилкверцетин-3-О-глюкуронід. Вміст кверцетину у плодах становив 1,52 мг/100 г на суху сировину [106, 131].

Епікатехін, катехін, проціанідин В₁ і В₂ були виявлені в пагонах сортів малини, вирощених в Польщі [93]. Також вони присутні й у вітчизняних сортах малини.

Вміст суми флавоноїдів у свіжих плодах сортів малини звичайної з Латвії склав 411,36-475,00 мг/100 г у перерахунку на кверцетин [91].

У листі ідентифіковані похідні флавонолу, серед яких кемпферол та його глікозиди: кемпферол-3-О-β-D-галактопіранозид, кемпферол-3-О-β-L-арабінопіранозид, кемпферол-3-О-β-D-глюкозид; кверцетин та його глікозиди: кверцетин-3-О-β-D-глюкопіранозид, кверцетин-3-О-β-D-галактопіранозид (гіперозид), рутин. З листя малини також був виділений флавоноїдний глікозид, ацильований кавовою кислотою, транс-тілірозид (кемпферол-3-β-D-(6"-p-сумаройл-глюкопіранозид)) [80, 121, 122].

У листі малини з різних місць Литви ідентифікували кверцетин-3-О-глюкуронід, кверцетин-3-О-глюкозид і рутин [77].

Кількісний вміст флавоноїдів (у перерахунку на гіперозид та суху сировину) склав у листі дикорослої малини 0,65-0,92% та у листі культивованих сортів – 0,50-0,83% [122].

Після кислотного гідролізу визначено у листі дикорослої та деяких сортах культивованої малини вміст: кемпферолу (0,17-0,31 %, у перерахунку на суху сировину) та кверцетину (0,10-0,32%, у перерахунку на суху сировину) [122].

Флавоноїди ізокверцетин і кверцетин-3-О-глюкуронід, були виявлені в найвищих концентраціях у пагонах малини звичайних сортів "Willamette", "Koral", "Poranna Rosa" і "Heritage" (67,4 мг/100 г – 55,5 мг/ 100 г). Більшість сортів містили гіперозид у кількості 3,3-14,7 мг/100 г, за винятком сорту "Glen Ample", де його вміст був значно вищим (32,2 мг/100 г) [93].

У цілому малина звичайна належить до рослин, плоди яких накопичують аскорбінову та фолієву кислоти. Крім того, поди малини, хоч і меншою мірою, є джерелом ряду інших вітамінів, таких як В₁, В₂, Е, РР та каротину [92].

Вміст аскорбінової кислоти у плодах різних сортів малини звичайної становить від 5 до 40 мг/100 г, у середньому – 25 мг/100 г. За даними іншого дослідження, аскорбінова кислота містилася в плодах у кількості 50-70 мг/100г) [92].

У плодах 18 сортів малини звичайної з Норвегії визначено вміст макроелементів (N, P, K Ca і Mg) і мікроелементів (Al, B, Cu, Fe, Mn і Zn). У досліджуваних зразках у найбільшій кількості містилися такі макроелементи (у мг/кг, у перерахунку на золу сировини): K – 2301,38-3687,23, Ca – 211,40-336,89 мг/кг, Mg – 172,09-244,42 та мікроелементи (у мг/кг, у перерахунку на золу сировини): Zn – 10,53-20,38; Fe – 8,33-18; Al – 3,33–10,50, та Mn – 1,38 – 3,72 мг/кг [75, 94, 99].

Леткі сполуки відіграють ключову роль у формуванні добре відомого і цінного малинового аромату плодів. З них 4-(4-гідроксифеніл)бутан-2-он, названий "кетон малини", визнаний основною сполукою у наданні типового малинового аромату. Виходячи з огляду досліджень, концентрації летких сполук, визначені різними авторами в плодах малини, відрізнялися у декілька разів. Ці відмінності, як правило, пов'язані з генетичними та екологічними впливами, особливостями сортів малини або фазою дозрівання плодів, з різницею методів екстракції та методології кількісного визначення.

В огляді[68] наведений вичерпний список летких сполук (близько 300), ідентифікованих на той час у плодах малини, що належать до різних класів

речовин, серед яких 20% монотерпенів, 14% кислот, 12% спиртів, 12% естерів, 8% альдегідів, 7% кетонів, по 6% C_{13} -норізопреноїдів та вуглеводнів, по 4% лактонів та сесквітерпенів, 3% фуранів, 1% фенолів тощо.

У листі малини міститься невелика кількість летких сполук (Czygan 1995), що варіює залежно від стадії розвитку рослини [96, 165].

Основними леткими речовинами у листі всіх досліджуваних сортів малини звичайної (*R. idaeus*), малини чорної (*R. occidentalis*) та ожини (*R. laciniatus*) були 1-октен-3-ол, ліналоол і (Z)-3-гексен-1-ол. Інші ідентифіковані речовини листя малини звичайної включали монотерпеноїди: терпінолен, нерол, пулегон, α -терпінеол, цитраль; сесквітерпеноїди: 3-оксо- α -іонол, 4-оксо- β -іонол, 4-гідрокси- β -іонон; сесквітерпеноїди: 3-оксо- α -іонол, 4-оксо- β -іонол, 4-гідрокси- β -іонон; альдегіди: бензальдегід, фенілацетальдегід, деканаль, гексаналь, 2-гексеналь, тетрадеканаль [147, 165]; спирти: октанол, *n*-бутанол [96].

Проведено дослідження складу ефірної олії листя *R. idaeus* L., зібраної у період масового цвітіння у Ферганській області Республіки Узбекистан. У складі ефірної олії виявлено 23 компоненти, серед яких превалюють: 1,2,3,4,5-пентаметил-циклопента-1,3-дієн (24,71%), β -оцимен (15,32%), 1,6-диметилгепта-1,3,5-трієн (11,17%), 5,5-диметил-2-етил-1,3-циклопентадієн (7,80%), *n*-ундекан (5,41%), *n*-додекан (4,96%), *n*-тетрадекан (4,65%), *n*-гексадекан (4,29%), 2,6-диметил-2,4,6-октатрієн (2,32%) [93].

Плоди містять органічні кислоти: яблучну, лимонну, малеїнову, піровиноградну, саліцилову, винну, сорбінову, молочну, пропіонову, хінну, щавлеву, фумарову [94, 182].

Вивчений жирнокислотний склад ліпофільних фракцій вегетативних органів малини звичайної. Визначений кількісний вміст жирних кислот у фракціях (у мг/100г): листя – монодеканова (0,06), лауринова (0,18), міристинова (0,06), пальмітинова (4,5), гептадеценнова (0,3), стеаринова (0,95), олеїнова (0,85), лінолева (5,0), ліноленова (21,0), арахінова (1,3); пагонів – монодеканова (0,03), лауринова (0,03), міристинова (0,12), пальмітинова (2,5),

гептадецена (сліди), стеаринова (0,95), олеїнова (1,4), лінолева (5,9), ліноленова (5,0); коренів – монодеканова (0,03), лауринова (0,04), міристинова (0,05), пальмітинова (1,7), гептадецена (0,13), стеаринова (0,25), олеїнова (1,6), лінолева (5,5), ліноленова (5,3).

Для досліджених вегетативних органів малини характерний високий вміст поліненасичених жирних кислот (лінолевої та ліноленової). Незамінна ліноленова кислота переважає у листі [28].

У листі ідентифіковані тритерпеноїди: сквален, α -амірин, β -амірин, циклоартенол [107]. У метанольному екстракті листя *R. idaeus* також ідентифіковані нові тритерпеноїди типу урсану і олеанану, відповідно олеан-12-єн-3- β ,29-діол і урс-12-єн-3 β ,30-діол [182].

Побічним продуктом перероблення плодів малини є вичавки, які, розглядаються як потенційне джерело харчових та біологічно активних речовин. Вичавки, отримані пресуванням плодів при виробництві соку, складаються, в основному, з насіння і м'якоті [38]. Вони характеризуються високим вмістом харчових волокон – 60%, жирів – близько 11%, протеїнів – 10%, лігніну – 11,7%, кутину – 6%, мінеральних речовин – 5,97%, летких сполук, таких як спирти, естери, кислоти, кетони та альдегіди.

Харчові волокна відрізняються високим вмістом лігніну (63,16%), полісахариди містяться в меншій кількості, а саме пектин (15,38%), геміцелюлоза (14,89%) і целюлоза (5,36%). Крім того, вичавки малини є важливим джерелом антиоксидантів, таких як елаготаніни, антоціани, флаваноли, флавоноли та фенолкарбонові кислоти [82].

Вміст жирної олії у кісточках плодів малини становить 10-23 % [82]. Вона містить нейтральні ліпіди, вільні жирні кислоти та фосфоліпіди у кількості 93,8%, 3,5%, 2,7%, відповідно. В олії насіння малини, отриману екстракцію хлороформом, містяться такі жирні кислоти: пальмітинова (2,7%), стеаринова (0,2%); олеїнова (18,7%); лінолева (55,5%) та α -ліноленова (32,6%). Крім того, жирна олія малинових кісточок є багатим джерелом токоферолів, головним чином γ -токоферолу (137-272 мг/100 г).

Співвідношення ізомерів токоферолу (α , γ , σ) в олії насіння малини становило 20:75:5. Високий вміст γ -токоферолу може свідчити про можливість використання її для профілактики дегенеративних захворювань [82]. За іншими даними, вміст токоферолів в олії склав 295,19 мг/100 г, включаючи α -токоферол (71 мг 100/ г), γ -токоферол (272 мг 100/ г), σ -токоферол (17,4 мг/100 г) [82].

Каротиноїди жирної олії представлені зеаксантином, β -каротином, лютеїном і криптоксантином [82]. Вміст каротиноїдів становив близько 40 мг/кг [82].

В олії також знаходяться фенольні сполуки (2,65 мг/100 г), фітостерини (5,38 мг/100 г), у тому числі кампестерол, стигмастерол, ситостерин, авенастерол, цитростадієнол [82].

Жирна олія плодів малини відома своєю антиоксидантною здатністю та протизапальною, антимутагенною та антимікробною дією. Вона використовується в косметиці як ефективний зволожувальний і пом'якшувальний інгредієнт, який допомагає зменшити окиснювальний стрес шкіри, захисти її від ультрафіолетових променів. Унікальний жирнокислотний склад і високий вміст токоферолу, а також захисна дія проти окиснювального стресу і відносно тривалий термін зберігання роблять олію малинових вичавок бажаною для використання в дієтичних добавках, фармацевтичних і косметичних засобах [82].

Численні дослідження показують, що вичавки малини є багатим джерелом фенольних сполук [38].

Свіжі вичавки містять велику кількість фенольних сполук ($234 \pm 5,1$ мг/100 г у перерахунку на галову кислоту), флавоноїдів (591,65 мг/100 г), антоціанів (65,21 мг/100 г).

Антоціани представлені ціанідин-3-О-софорозидом, ціанідин-3-О-глюкозидом, ціанідин-3-О-глюкорутинозидом, ціанідин-3-О-рутинозидом, пеларгонідин-3-О-софорозидом, пеларгонідин-3-О-глюкозидом, флавоноли – глікозидами кверцетину та кемпферолу, флаваноли – катехіном та

епікатехіном, гідроксибензойні кислоти – саліцилової, *n*-гідроксибензойної, галової та елагової кислотами, гідроксикоричні кислоти – *n*-кумаровою, кавовою, синаповою, феруловою та хлорогеновою кислотам, дубильні речовини – елаготанінами. Основними елаготанінами, які були виявлені в плодах і вичавках малини звичайної, є димерний сангвіїн Н-6 і тримерний ламбертіанін С, які складають 81% від загальної кількості елаготанінів у малині [38]. Також малина містить елаготаніни, такі як мономерні казуариктин, потентилін, педункулагін, сангвіїн Н-10, димерний ноботанін А та тетрамерний ламбертіанін D [82].

Харчові волокна вичавок малини можуть доповнювати щоденний раціон як пребіотик. Вони також становлять великий інтерес для харчової промисловості, щоб бити включені в харчові продукти як недорогі некалорійні наповнювачі для часткової заміни борошна, жиру чи цукру, як підсилювачі утримання води та олії. Фракції з харчових волокон фруктових вичавок здатні зв'язувати важкі метали. За даними літератури, геміцелюлоза і пектини мають кращу зв'язувальну здатність, ніж целюлоза і лігнін [38,132].

Дослідження показують, що стабільність комплексів метал-харчові волокна відрізняється залежно від самого металу та властивостей клітковини [123]. Було виявлено, що пектини найефективніше зв'язують іони металів, тоді як ця здатність лігніну найменша. Як зазначалося раніше, харчові волокна малинових вичавок на 63,16% складаються з лігнінів, тому мають меншу зв'язувальну здатність [202]. Проте вичавки малини можуть ефективно зв'язувати іони завдяки великому вмісту фенольних сполук. Також повідомлялося, що дубильні речовини плодів малини звичайної є хелатуючими агентами для іонів металів [82].

1.2 Застосування малини звичайної у медицині, експериментальні та клінічні дослідження фармакологічної дії та безпечності

До недавнього часу офіційною сировиною в Україні були тільки плоди малини звичайної (*Rubi idaei fructus*). Зі свіжих плодів виготовляють малиновий сироп (*Rubi idaei syrupus*), який використовують для поліпшення смаку ліків. Чай із сушених плодів призначають як потогінний та протизапальний засіб при застуді. У дієтичному харчуванні плоди споживають при анемії, атеросклерозі, гіпертонічній хворобі, цукровому діабеті, для збудження апетиту й поліпшення травлення, при екземі тощо [26, 182].

До Державної фармакопеї України включена монографія на листя малини (*Rubi idaei folium*) [8-12]. Використання листя та плодів малини з лікувальною метою згадується ще у «Королівському американському диспансері» (1898), листя входять до Французької фармакопеї (XI видання, 2012), та до Британської трав'яної фармакопеї (1983) [81].

Листя малини здавна застосовувалися в Європі, що документується в довідниках, фармакопях і науковій літературі. Листя малини чинять спазмолітичну, болезаспокійливу, протизапальну, протиревматичну, антибактеріальну, антиканцерогенну та гіпоглікемічну дію [38, 83].

Рекомендується застосування листя малини при дисменореї, захворюваннях ШКТ, як в'яжучого засобу для полоскання при запаленні ротової порожнини та горла, рідше при хронічних захворюваннях шкіри тощо [26, 81, 182, 206]. Також повідомляється, що гарячий чай з листя малини, прийнятий перед пологами, стимулює і полегшує пологи і скорочує їх тривалість [127, 198].

Основні показання листя малини у нетрадиційній медицині включають: симптоматичне полегшення незначного спазму, пов'язаного з менструальними періодами, симптоматичне лікування діареї, симптоматичне лікування запалення ротової порожнини та горла.

Листя та плоди популяцій дикорослої малини з Балканського регіону досліджували з метою визначення рівня БАР і пов'язаної з ними антиоксидантної активності, а також біологічної активності, згідно з

існуючими етноботанічними доказами, пов'язаними передусім з шлунково-кишковими розладами [132].

В результаті численних досліджень доведена антиоксидантна активність плодів малини звичайної, яку визначали різними методами *in vitro*. Плоди малини за антиоксидантною активністю, не поступаються таким ягідним культурам, як лохина, журавлина, ожина. Сумарна антиоксидантна активність плодів малини звичайної за FRAP-методом була дещо нижча ніж у плодів чорної смородини та чорниці [132].

Антиоксидантна активність плодів малини, визначена за ORAC-методом, становила 13,1-45,2 тролокс/г [78].

Багато дослідників наголошують, що значною мірою антиоксидантні властивості плодів малини пов'язані з високим вмістом фенольних сполук [38]. За повідомленнями J. Beekwilder з співавторами (2005) та G. Borges зі співавторами (2010), внесок антоціанів досягає 16–25 % антиоксидантного потенціалу плодів малини, елаготанінів – 58 %, аскорбінової кислоти – 11–20 % [132, 152]. Внесок антоціанів не перевищував 21 % [74]. Інші дослідники також вказують, що фенольні сполуки, такі як антоціани та елаготаніни є основними джерелами високої антиоксидантою активності малини, тоді як аскорбінова кислота має незначний внесок [133]. Однак загальна антиоксидантна активність плодів малини може бути оцінена шляхом розуміння взаємозв'язку різних біоактивних сполук, що діють синергічно.

В роботі [82] визначили антиоксидантну дію вичавок плодів за допомогою DPPH-методу поглинання вільних радикалів. Розраховували величину IC_{50} , що показує концентрацію екстракту, необхідну для інгібування 50% DPPH-радикалів в експериментальних умовах. Результати показують, що значення IC_{50} отриманого екстракту малинових вичавок становило 0,040 мг/мл. Також спостерігалася висока лінійна кореляція між IC_{50} і вмістом антоціанів, поліфенолів і флавоноїдів. Таким чином, показано значення фенольних сполук в активності поглинання радикалів. Отримані результати вказують на те, що відновлювальна здатність екстрактів ягідних вичавок

зростала зі збільшенням їх концентрації. Вичавки плодів малини є хорошим джерелом антиоксидантних сполук і можуть використовуватися як потенційний інгредієнт у харчовій, косметичній та фармацевтичній промисловості [82].

Антиоксидантна дія соків малини коливалася від 2 до 16 % за ABTS-методом і від 4 до 23% за DPPH-методом [163].

Антиоксидантну активність оцінювали *in vitro* шляхом вимірювання поглинальної здатності екстрактів плодів та листя малини за DPPH-методом. Антиоксидантна активність метанольних екстрактів листя коливалась від 110,17 до 199,18 мкг/мл [191]. Було показано, що плоди дикорослої малини з високогірних сонячних районів накопичують більше природних антиоксидантів. Антиоксидантна активність екстрактів листя малини була вище, ніж екстрактів плодів, при цьому антиоксидантна здатність на пряму корелювала з вмістом фенольних сполук, включаючи флавоноїди та дубильні речовини [62].

Методом *in vitro* була встановлена антиоксидантна активність 70% етанольних екстрактів листя малини різних сортів. Антирадикальну здатність вимірювали по відношенню до ступеня поглинання кисню за умов ініційованого окиснення ізопропілбензолом (кумолем). Автори вважають, що значний внесок в антиоксиданту дію листя малини мають флавоноїди [114].

У іншому дослідженні загальну антиоксиданту дію листя малини визначали за ORAC-методом. Результати показують, що зменшення антиоксидантного рівня відбувається зі зниженням вмісту фенольних сполук, що має місце при старінні листя. Була виявлена позитивна та висока кореляція між вмістом фенольних сполук та антиоксидантною дією [202].

Для визначення біологічної активності сухий екстракт пагонів *R. idaeus* сорту "Willamette" одержували шляхом додавання води до метанольного екстракту (після екстракції хлороформом), який потім випарювали та ліофілізували. EC_{50} екстракту пагонів сорту "Willamette" за методом DPPH був на рівні 19,4 мкг/мл, а віднювальна здатність у аналізі з фосфомолібденом

становила 427,94 мг/г у перерахунку на аскорбінову кислоту. Ці дані вказують на значні антиоксидантні властивості екстракту пагонів, які можна порівняти з іншими рослинними джерелами сильних антиоксидантів родини *Rosaceae* такими, як *Potentilla* sp. (EC_{50} – 16,9-23,9 мкг/мл), троянда (EC_{50} – 12,24 мкг/мл). Також було встановлено, що пагони малини мають приблизно в 10 разів вищу антиоксидантну дію, ніж плоди [188].

Вважається, що високий вміст сангвіїну Н-6 у пагонах є причиною високої антиоксидантної здатності екстракту *R. idaeus* "Willamette". Це узгоджується з даними, які підтверджують, що багаті на елаготаніни фракції плодів малини, основним компонентом яких є сангвіїн Н-6, демонструють сильнішу антиоксидантну здатність, ніж інші фракції, що містять антоціани [93].

В дослідженнях вітчизняних вчених встановлено, що сумарна антиоксидантна місткість пагонів малини дорівнювала 164,12 ммоль-екв./м_{сух.} сир., сумарний вміст фенольних сполук у пагонах малини склав 2,44% у перерахунку на галову кислоту, катехінів – 2,14% у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат, флавоноїдів – 0,77% у перерахунку на рутин, похідних гідроксикоричних кислот – 0,25% у перерахунку на хлорогенову кислоту та органічних кислот – 0,19 мг у перерахунку на лимонну кислоту. Дослідниками виявлена висока позитивна кореляція між антиоксидантною активністю та вмістом суми фенольних сполук, катехінів, флавоноїдів, похідних гідроксикоричних кислот та вмісту органічних кислот в екстрактах пагонів малини [188].

Окрім антиоксидантної активності, у малини є й інші. Так, в експериментах [105] було досліджено вплив суми елаготанінів, виділених з плодів малини звичайної сорту "Tulameen", що містила 56% ламбертіаніну С, 12% сангвіїну Н-6, 1% елаговой кислоти та 31% інших елаготанінів на стан слизової оболонки шлунку за умов його запалення. Протизапальну активність оцінювали на клітинній лінії шлунку AGS, стимульованій TNF-а та IL-1b, за впливом на керовану NF-kB транскрипцію, ядерну транслокацію та секрецію

IL-8. *In vivo* захисний ефект елаготанінів оцінювали на моделі ураження шлунку, спричиненого етанолом. Щурам перорально протягом десяти днів вводили 20 мг/кг/день суму елаготанінів, за годину до забою давали етанол. Слизову оболонку шлунку виділяли та використовували для визначення вивільнення IL-8, ядерної транслокації NF- κ B, еквівалентів тролокса, активності супероксиддисмутази та каталази. *In vitro* сума елаготанінів інгібувала індуковану TNF- α транскрипцію NF- κ B (IC_{50} 1,7 мг/мл) і зменшувала індуковану TNF- α ядерну транслокацію (57 % при 2 мг/мл). Сума елаготанінів у низьких концентраціях (діапазон IC_{50} 0,77–4,5 мг/мл) пригнічувала секрецію IL-8, індуковану TNF- α та IL-1 β , а також знижувала виразковий індекс на 75% та захищала шлунок щурів від оксидативного стресу, індукованого етанолом. Секреція CINC-1 (щурячого гомолога IL-8) у слизовій оболонці шлунку була знижена у тварин, які отримували суму елаготанінів. Вплив на CINC-1 був пов'язаний із зменшенням ядерної транслокації NF- κ B. Ефекти суми елаготанінів автори пов'язують з присутністю сангвіїну H-6 і ламбертіаніну C. Результати цього дослідження вперше повідомляють про профілактичний ефект елаготанінів при запаленні шлунка та підтверджують доцільність їх використання за виразкової хвороби [105].

R. Bowman зі співавторами провели систематичний комплексний літературний огляд, що включав тринадцять досліджень, з них: п'ять лабораторних досліджень з використанням тканин тварин і людини, два – експерименти з використанням тварин і шість – дослідження на людях. Включені дослідження були опубліковані між 1941 і 2016 роками. Було показано, що листя малини має біофізичний вплив на гладку мускулатуру тварин і людини, включаючи матку. У дослідженнях на тваринах була продемонстрована токсичність при введенні високих доз внутрішньовенно або внутрішньочеревно. Дослідження на людях не виявили жодної шкоди чи користі, хоча одне дослідження продемонструвало клінічно значуще (але

статистично незначуще) скорочення тривалості другої стадії та збільшення пологів у жінок, які приймали листя малини [76].

Дію настою висушеного листя малини на фізіологічному розчині (1 г : 15 мл фізіологічного розчину, настояний протягом 10 хвилин) досліджували на смужках матки як невагітних, так і вагітних щурів. На матку невагітних щурів ефект був незначний або відсутній. Скорочення матки вагітних щурів пригнічувалось на 3-4 хв. Контакт з екстрактом протягом 20 хвилин викликав більш регулярний ритм у вагітних маток і менш часті скорочення [71].

В досліджах *in vitro* вивчали вплив трьох комерційних форм листя малини (чай, капсули [без додаткової інформації]) та екстракт (з використанням як екстрагенту 35-40% етанолу) на скорочувальну здатність матки у невагітних і вагітних на пізніх стадіях щурів. Чай із листя малини та водний екстракт капсули з листя малини готували шляхом додавання вмісту чайного пакетика або капсули в киплячу деіонізовану воду до концентрації 0,2 г/мл. Скорочувальну здатність матки оцінювали за різних умов. Оскільки скорочувальна здатність матки залежить від рівнів естрогену та прогестерону, невагітним щурам підшкірно вводили 0,8 мг/кг діетилстильбестролу (DES) за 2 дні до забиття, щоб створити естроген-домінантний стан. Було досліджено кумулятивне додавання водного екстракту чаю (1,0-4,6 мг/мл), водного екстракту вмісту капсули (1,0-4,6 мг/мл) і етанольного екстракту (2,2-10,1 мг/мл) на необроблені DES невагітні маткові смужки. У препаратах вагітних маток використовували лише водний екстракт чаю (1,0-4,6 мг/мл). На препаратах маток невагітних щурів (які отримували DES) досліджували як водні екстракти листя малини, так і капсули. Результати показали, що жоден препарат не впливав на здатність окситоцину ініціювати скорочення, але обидва частково пригнічували вже існуючі скорочення, викликані окситоцином, у найвищій концентрації. Чай з листя малини мав різний вплив на вже існуючі скорочення, спричинені окситоцином. Було показано, що водні екстракти листя малини можуть викликати скорочення смужок матки у

вагітних і невагітних, тоді як етанольний екстракт не впливав на скорочувальну здатність [193].

Дослідження *in vitro* показало, що метанольний екстракт листя малини здатний чинити релаксуючу дію (>80%) на гладку мускулатуру трансмурально стимульованої ізольованої клубової кишки мурчаків. Навпаки, екстракти, отримані з використанням менш полярних розчинників (*n*-гексан і етилацетат), не давали відповіді. Хлороформний екстракт викликав невелике розслаблення (<15%). Метанольний екстракт (після попередньої екстракції *n*-гексаном) також виявляв сильну релаксувальну активність і потім був фракціонований на колонці з силікагелем. Залежність доза-відповідь була встановлена для двох найбільш активних фракцій, для яких IC_{50} були отримані у дозах 2,70 мг і 0,76 мг, відповідно. Компоненти фракцій не ідентифіковані, механізм їх дії невідомий [165].

Дослідження очищеного водного екстракту листя малини, протестованого на ізольованій тканині матки мурчаків, показали як стимулювальну, так і розслаблювальну дію. Були використані різні методи екстракції, і результати показали, що скорочувальний ефект ацетилхоліну помітно збільшився. Стимулювальний ефект блокувався мінімальною дозою атропіну, достатньою для усунення ефекту ацетилхоліну, не викликаючи більш ніж невеликого пригнічення ефекту гістаміну. Виділені тканинні екстракти мали неспецифічну релаксувальну дію. Достатню релаксувальну активність чинила доза, еквівалентна 0,01 г порошку листя малини (концентрація невідома), щоб протидіяти впливу 100 мкг ацетилхоліну на ізольовані тканини [72].

Хроматографічно розділені фракції хлороформного екстракту листя малини чинили розслаблювальний ефект на ізольовану клубову кишку мурчаків (концентрація невідома) [165].

Багато жінок використовують листя малини під час вагітності для полегшення пологів. Доказова база, що підтверджує використання листя малини під час вагітності, є слабкою, і необхідні подальші дослідження для

вирішення питання про ефективність листя малини. В експериментах *in vitro* та *in vivo* показали різні ефекти екстрактів листя малини на гладеньку мускулатуру. Результати відповідних експериментальних досліджень листя малини дуже обмежені. Повідомлені фармакологічні ефекти не вважаються такими, що суперечать традиційному застосуванню. У народній медицині листя малини часто рекомендують приймати під час вагітності для стимуляції та полегшення пологів, а також для скорочення тривалості пологів, однак наукова база щодо ефекту є обмеженою та сумнівної якості. Подальші дослідження для оцінки ефектів препаратів малини звичайної у спланованих рандомізованих контрольованих дослідженнях із залученням достатньої кількості учасників обов'язкові. Не було знайдено жодних клінічних досліджень впливу листя малини на дисменорею, діарею, використання як в'язучого засобу чи будь-яких інших перерахованих видів застосування у народній медицині.

Також є дані щодо впливу *in vitro* екстракту пагонів *R. idaeus* сорту "Willamette" і елаготаніну сангвіїну Н-6 на онкоклітини – клітин промієлоцитарного лейкозу людини (лінії HL-60), клітин раку шийки матки людини (лінії HeLa) і дермальних фібробластів людини. Найсильнішу цитотоксичну активність екстракту спостерігали для клітин HL-60 ($IC_{50} = 110$ мкг/мл), а компонент малини сангвіїн Н-6 продемонстрував виразну цитотоксичну активність у клітинних лініях HeLa ($IC_{50} = 35$ мкг/мл) і HL-60 ($IC_{50} = 25$ мкг/мл). Цитотоксичної активності у фібробластах людини не спостерігалось. Протипухлинну активність екстракту пагонів малини дослідники пов'язали з високим вмістом сангвіїну Н-6 [93].

Durgo K. зі співавторами (2012) вивчили фенольний профіль, цитотоксичну та антиоксидантну активність екстракту листя малини. Водні екстракти листя малини були протестовані на ракових клітинах людини, карциноми гортані (HEp2) і аденокарциноми товстої кишки (SW 480). Клітини піддавалися впливу чотирьох різних концентрацій екстракту (25 мг/мл, 37,5 мг/мл, 50 мг/мл і 125 мг/мл у воді) протягом різних інтервалів часу.

Результати показали, що клітини SW 480 більш чутливі до екстракту листя малини порівняно з клітинами HEp2. Через годину експозиції цитотоксичності не спостерігалось, але після 2 годин інкубації (37,5, 50 і 125 мг/мл) спостерігався цитотоксичний ефект у клітинах SW 480. Однак після однієї або двох годин обробки екстрактом з наступним 24-годинним періодом відновлення спостерігалися цитотоксичні ефекти. Автори припустили, що під час інкубації екстракту відбуваються «необоротні події», а цитотоксичні ефекти очевидні після періоду одного клітинного циклу [191].

Екстракт листя малини індукував утворення вільних радикалів у клітинах SW 480, що свідчить про те, що рівень глутатіону в цих клітинах знижувався після тривалого впливу (24 години). Процеси, які спостерігалося в клітинних лініях HEp2 після інкубації з 50 мг/мл і 125 мг/мл екстракту, свідчать, що активні компоненти екстракту листя малини підвищують рівень глутатіону і, таким чином, знижують вільні радикали, що призводить до антиоксидантної активності в клітинах. Цей ефект був посилений після 24 годин відновлення, що вказує на те, що індукція була викликана продуктами, які утворюються під час клітинного метаболізму сполук екстракту. Вважається, що антиоксидантна активність екстракту листя малини притаманна фенольним сполукам, що в основному пов'язано з їх здатністю поглинати вільні радикали, а також утворювати комплекси з іонами металів [191].

Екстракти листя малини звичайної виявили протиракову активність на клітинній лінії HCT-116 колоректального раку людини. Найбільша активність була для листя популяції з показниками IC₅₀/24 год, що дорівнював 162,38 мкг/мл та IC₅₀/48 год – 95,69 мкг/мл. З іншого боку, екстракти листя малини популяції P4 не виявляли протиракової активності, тоді як екстракти листя популяції P7 мали помірну протиракову активність через 48 годин. Важливо відзначити, що екстракти листя популяції P7 і P4 мали найвищу антиоксидантну активність. Це доводить негативну кореляцію протипухлинної і антиоксидантної активності. Метанольні екстракти плодів

дикої малини показали дуже низьку протиракову активність. Також було показано, що лише етанольний екстракт виявляв помірну протиракову дію, тоді як метанольний екстракт протипухлинної активності не мав [65].

Антимікробну дію вивчали щодо мікроорганізмів таких, як грампозитивні *Sarcina lutea* (ATCC 9431) та *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), також грамнегативні *Escherichia coli* (ATCC 8739). Найбільшу чутливість до досліджуваних екстрактів листя виявляла *E.coli* з МІК від 2,50 до 10,00 мг/мл, а найбільш стійкою виявилася бактерія *B. subtilis* з МІК від 10,00 до 20,00 мг/мл. До метанольних екстрактів плодів найбільш сприйнятливими були бактерії *S. lutea* з МІК від 5,00 до 10,00 мг/мл, а найбільш стійкою – *B. subtilis* з МІК 20,00 мг/мл для всіх зразків. Найефективнішу антибактеріальну дію виявлено екстракту листя певної популяції, який був багатий на флавоноїди та антоціани. Оскільки метанольний екстракт листя не виявляв значної активності проти бактерій *B. subtilis*, що широко використовуються пробіотик, одночасно впливаючи на патогенні бактерії *S. lutea* та *E. coli*, це підтверджує етноботанічні дані щодо використання чаю з листя малини для стабілізації нормальної кишкової флори та лікування діареї [65].

Подібні результати одержали J. P. Rauha та ін., продемонструвавши помірну антимікробну активність метанольних екстрактів плодів малини по відношенню до *B. subtilis*, та слабку антимікробну дію по відношенню до *S. lutea* та *E. coli* [60].

Інгібувальна дія екстракту пагонів *R. idaeus* сорту "Willamette" у концентраціях від 0,2 до 30 мг/мл спостерігалася щодо *B. subtilis*, *Clostridium sporogenes*, *Staphylococcus epidermidis*, *Neisseria meningitidis*, *Moraxella catarrhalis* і *Helicobacter pylori*. Бактерицидна активність спостерігалася для семи штамів бактерій у діапазоні концентрацій від 0,06 мг/мл для *Corynebacterium diphtheriae* до максимальної досліджуваної концентрації 120 мг/мл для *E. faecalis*. *Clostridium diphtheriae* виявилася найбільш чутливою бактерією, що показує значення МБК при найнижчій протестованій концентрації 0,06 мг/мл. *S. aureus* був ще однією дуже чутливою бактерією з

МІК і МБК відповідно 0,47 і 0,94 мг/мл. Екстракт також продемонстрував сильну інгібувальну дію щодо *C. sporogenes* (0,23 мг/мл) і *M. catarrhalis* (0,47 мг/мл). Єдиною бактерією, стійкою до екстракту пагонів, була *H. influenzae*. Ці результати корелюють з антимікробними властивостями екстрактів плодів малини, до яких були найбільш чутливі бактерії *C. diphtheriae*, *S. aureus*, *M. catarrhalis* і *C. Sporogenes*. Екстракт пагонів є більш потужним інгібітором і бактерицидним засобом порівняно з екстрактами плодів. Антимікробні властивості плодів малини пов'язують, головним чином, з наявністю елаготанінів. Оскільки екстракт пагонів малини є потенційним джерелом сангвіїну Н-6 та елагової кислоти, вважають, що саме ці два компоненти відповідають за його антимікробні властивості [93].

Дослідження підтвердили, що елаготаніни, які містяться в вичавках плодів малини, чинять ефективну пригнічувальну дію на патогенні бактерії: *Clostridium*, *Enterococcus*, *Escherichia*, *Mycobacterium*, *Salmonella* та *Staphylococcus*. Виділені фракції елаготаніну з малини були високоефективними проти грам-негативних бактерій, таких як *S. aureus* і *Salmonella*, але не впливали на грам-позитивні молочнокислі бактерії. Було виявлено, що антоціани малини демонструють сильний пригнічувальний вплив на ріст *Lactobacillus acidophilus*. Крім того, малина може пригнічувати ріст *B. subtilis* і *Micrococcus luteus* [82].

Дослідження антимікробної активності екстракту з вичавок плодів малини звичайної свідчить про вираженішу дію на культури грампозитивних бактерій – *S. aureus* (у тому числі як музейних, так і клінічних штамів) та *B. subtilis*, а також грамнегативної бактерії – *E. coli* [187].

Сік плодів малини звичайної українського сорту "Феномен" виявив антимікробну дію проти *S. aureus*, *E. coli*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *B. subtilis* і *Candida albicans*. Антимікробна активність соку була вищою за препарат порівняння «Хлорофіліпт» більш ніж у два рази по відношенню до всіх штамів. Найбільший ефект виявився щодо *S. aureus* [187].

Дослідження екстракту пагонів *R. idaeus* довели наявність антимікробних (особливо проти *Corynebacterium diphtheriae*) і протипухлинних властивостей, особливо проти ракових клітин HL-60 [93]. Екстракти плодів малини чинили антибактеріальну дію по відношенню до *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *P. aeruginosa*, *Bacillus cereu* та посилювали антибактеріальні властивості пеніцилінів, цефалоспоринів, тетрациклінів, фторхінолонів [83].

Також є дані щодо впливу *R. idaeus* на стан вуглеводного обміну. Наводиться клінічний випадок впливу листя малини на рівень глюкози у 38-річної вагітної жінки з гестаційним цукровим діабетом. На 32 тижні вагітності в неї після вживання чаю з листя малини, розвинулася гіпоглікемія, яка потребувала зниження дози інсуліну. Вплив саме листя малини був підтверджений відміною чаю з малини та повторним його застосуванням. У новонародженого не було гіпоглікемії та інших ускладнень. Біопсія плаценти показала її нормальний стан. Таким чином, застосування листя малини може призвести до зниження потреби в інсуліні при гестаційному діабеті, про що слід попереджати жінок і ретельніше контролювати рівень глюкози [73, 130, 172].

Дослідження *in vivo* показало, що листя малини інгібує активність ферментів – цитохромів CYP1A2, CYP 2D6 і CYP 3A4 з константами IC_{50} 44 ± 2 ; 47 ± 8 і 81 ± 11 мкг/мл відповідно [142].

Екстракт листя малини за підшкірного введення самкам щурів, на фоні введення водного розчину гонадотропіну з сироватки крові вагітної кобили у дозі 300 МО/мг знижував збільшену вагу яєчників. Деякі екстракти виготовляли зі свіжого листя, а інші – з висушеного. Було виявлено, що всі екстракти, які були виготовлені з висушеної рослинної сировини, були активними у дозі 10-18 мг сухої ваги (~230 мг/кг маси тіла), активність знижувалася після зберігання висушеного листя протягом 15 місяців [120].

Вплив на плід досліджували на 40 вагітних самках щурів лінії Вістар, які були випадковим чином розподілені на одну з чотирьох різних

пероральних процедур, починаючи з першого дня вагітності до народження. Тривалість вагітності, розмір посліду, вага посліду, вага при народженні, стать і мертвонародженість реєструвалися. За потомством жіночої статі (F1) спостерігали до їх першого народження, а за потомством (F2) – до відлучення. За досліджуваними показниками відмінностей не було зафіксовано. Єдиною виявленою статистично значущою різницею було збільшення терміну вагітності при вживанні листя малини (10 мг/кг/день). Також спостерігалася тенденція до зниження рівня успіху вагітності, який є відсотком спроб, що закінчилися вагітністю (100% для контрольної групи та групи кемпферолу, 90% для групи кверцетину, але лише 78% для групи листя малини). У цьому жіноче потомство (покоління F1) показало передчасне статеве дозрівання, що вимірюється як значно менший вік відкриття піхви. Дослідники прийшли до висновку, що вплив листя малини на плід має раніше невідомі трансгенні раціональні ефекти, тому рекомендується подальша оцінка безпеки [103].

Токсикологічні дані щодо листя малини обмежені. У мишей пероральна доза екстракту, еквівалентна 10% маси тіла висушеного листя малини, вважалася нетоксичною, але ці дані не можна переносити на людей. Проте, ні хімічний склад, ні тривале широке використання в народній медицині не свідчать про високий ризик, пов'язаний із застосуванням препаратів з листя малини.

У ретроспективному обсерваційному дослідженні в лікарнях Сіднея (Австралія) у 1998 році були зареєстровані дані про безпеку листя малини для жінок та їх потомства під час вагітності. Загалом у це дослідження було включено 108 пацієнток. Жінки отримували різні дози протягом різних періодів (1-32 тижні). Групи були порівнювані за віком, вагою, етнічною приналежністю та рівнем акушерської допомоги. Побічних ефектів не виявлено. Не було жодних клінічно значущих відмінностей у крововтраті матері, оцінці за шкалою Апгар у віці 5 хвилин, діастолічному артеріальному тиску матері перед пологами або переведенням у відділення спеціального догляду. Що стосується ефекту, не спостерігалася різниці в тривалості

гестації, ймовірності медикаментозного прискорення пологів, появи меконієвої рідини або необхідності епідуральної блокади. Не було виявлено жодної статистично значущої різниці щодо ризику штучного розриву оболонок або в тривалості трьох етапів пологів [126, 164].

Дані про безпеку листя малини для плода були оцінені та зареєстровані в двох клінічних дослідженнях, проведених у лікарні в Сідней. Були оцінені рідина, пофарбована меконієм, оцінка за шкалою Апгар у віці 5 хвилин, вага при народженні та переведення дитини до спеціального догляду, і жодних побічних ефектів виявлено не було, а також клінічно значущих відмінностей між групами [164].

Подвійне сліпе рандомізоване плацебо-контрольоване дослідження, проведене в лікарні Сіднея, Австралія, вивчало ефективність і безпеку таблеток з листя малини, які приймали жінки, що не народжували, починаючи з 32 тижнів вагітності до початку пологів. Експериментальна група (96) приймала таблетки листя малини (по $2 \times 1,2$ г/день) з 32 тижнів до пологів, контрольна група (96) отримувала таблетки плацебо. Більше інформації про екстракт у цих таблетках не було. Комплаєнтність була доброю, 89% спожитих таблеток на одну жінку. Жодних побічних ефектів для матері та немовлят не повідомлялося. Достовірних відмінностей між групами не спостерігалось. Що стосується ефекту лікування, то не спостерігалось суттєвої різниці в тривалості вагітності, медикаментозному прискоренні пологів, необхідності знеболення під час пологів або тривалості трьох періодів пологів [126, 164].

Продукти, що містять листя малини, доступні на ринку (чай, капсули та таблетки) як для лікування менструального болю, так і для використання під час вагітності. Жінки використовують рослинні ліки під час вагітності, вважаючи їх безпечнішими за звичайні ліки [127, 173]. У кабінеті серед 600 норвезьких жінок листя малини були п'ятими серед найбільш часто використовуваних рослинних препаратів під час вагітності (5,7% вагітних

жінок). Найбільш поширена причина використання – для «підготовки матки до пологів» [127].

Упсальський центр моніторингу Всесвітньої організації охорони здоров'я отримав два звіти від національного центру фармаконагляду Сполученого Королівства Великої Британії згідно з пошуком, проведеним 27.09.2011. В одному з двох звітів було використано загалом шість різних рослинних препаратів у терапевтичних дозах. В іншому звіті листя малини як єдиний інгредієнт препарату. Листя малини використовували перорально протягом двох місяців для «прискорення пологів», спочатку одну дозу на тиждень протягом одного місяця, а потім одну дозу щодня протягом 30 днів. Реакцію у новонародженого хлопчика (2 доби) були судоми [70].

Випадки побічних ефектів були зареєстровані в двох дослідженнях. У ретроспективному дослідженні учасники повідомили про випадок діареї та збільшення частоти скорочень Брекстона Хікса (нормальних скорочень вагітності). За думкою авторів, цих побічних реакцій, пов'язаних із застосуванням листя малини, можна було б уникнути за допомогою менших доз [164].

У подвійному сліпому рандомізованому плацебо-контрольованому дослідженні застосування листя малини у вагітних жінок не повідомлялося про серйозні побічні ефекти. Побічні ефекти швидше за все були пов'язані зі звичайними захворюваннями під час вагітності, головним чином нудотою, блюванням, діареєю, запором і змінами артеріального тиску [173]. Було також повідомлення про випадки петехій та екхімозів у новонародженого, чия мати пила чай із листя малини та приймала 6,5 г олії примули (у вигляді капсул по 500 мг, вагінально та перорально) за тиждень до пологів [203]. Згідно з Mills Е. та співавторами (2006), настої та відвари з листя малини слід обмежити останніми двома триместрами вагітності, оскільки даних про безпеку органогенезу мало [126].

Отже, більшість досліджень щодо фармакологічної та клінічної активності малини стосуються листя або плодів. І лише в незначній кількості

публікацій є дані щодо пагонів малини, які зазвичай обрізають та викидають. Проте вони є цінним джерелом значної кількості БАР [61, 62, 63, 64, 134, 188], що робить їх перспективним об'єктом для подальших досліджень.

Висновки до розділу 1

1. Виходячи з огляду літератури, малина звичайна є багатим джерелом різних БАР, перш за все фенольних сполук. Інтерес до фенолів природного походження значно зростає через їх антиоксидантну здатність і можливу корисну роль для здоров'я людини, а саме зниження ризику раку, серцево-судинних захворювань та інших патологій. Листя малини звичайної мають високий профілактичний та лікувальний потенціал, зумовлений накопиченням антоціанів, елаготанінів, фенолкарбонових кислот, вітамінів та інших БАР.

Проте у медичній літературі практично відсутні дані щодо застосування пагонів малини.

2. Зважаючи на це, необхідно подальше проведення фармакологічних досліджень пагонів малини звичайної.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Об'єктами нашого дослідження став нативний густий екстракт пагонів малини звичайної (ЕПМ), та модифікований густий екстракт пагонів малини звичайної з L-аргініном (РубусАрг). ЕПМ та РубусАрг були отримані і стандартизовані на кафедрі загальної хімії НФаУ PhD, ас.Масловим О. Ю. та PhD, ас. кафедри фармакогнозії та нутриціології Комісаренком М. А. під керівництвом зав. каф. загальної хімії, д. фарм.н., проф. Колісника С. В. та д. фарм.н., проф. Комісаренка А.М.

Склад суми біологічно активних речовин у екстрактах пагонів малини звичайної наведено у таблиці 2.1.

Таблиця 2.1

Кількісний вміст діючі речовин в ЕПМ та РубусАрг на 100 г

Показники	Значення показників, г/100 г	
	ЕПМ	РубусАрг
Сухий залишок	23,0	10,0
Сума фенольних сполук у перерахунку на галову кислоту	12,2	7,1
Сума катехінів від у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат	10,8	7,0
Сума флавоноїдів у перерахунку на рутин	0,5	0,3
Сума гідроксикоричних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту	2,3	-
Сума органічних кислот у перерахунку на лимонну кислоту	1,6	-

Екстракт ЕПМ був одержаний 60% етанолом з дворічних пагонів малини звичайної відповідно до технології, яка наведена в патенті на винаході України (№ а20201604) "Спосіб одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з пагонів малини звичайної" [45].

Екстракт РубусАрг також був отриманий 60% етанолом, але на відмінно від екстракту ЕПМ, не містив похідних органічних і гідроксикоричних кислот, крім цього РубусАрг містив у своєму складі L-аргінін у молярному співвідношенні 3:1 до суми катехінів.

Слід зазначити, що в РубусАрг похідні катехінів були іонізовані слабкою основою – L-аргініном. L-аргінін містить у своєму складі 1 аміногрупу, що повністю іонізують похідні катехінів (рис. 2.1).

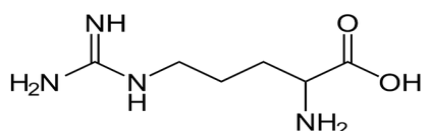


Рис. 2.1 Структура L-аргініну

Отримані екстракти були стандартизовані за вмістом суми катехінів у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат спектрофотометричним методом [45, 46].

Усі токсикологічні та фармакологічні дослідження були проведені на білих безпородних мишах та щурах, які утримувалися у віварії Центральної науково-дослідної лабораторії Навчально-наукового інституту прикладної фармації (ННПФ) НФаУ. Піддослідні тварини знаходилися у добре вентильованому приміщенні при температурі повітря 20-22 °С з забезпеченням типового для гризунів 12-годинного циклу «день-ніч», за стандартного раціону та режиму харчування, вільного доступу до води та їжі.

Усі досліді були схвалені комісією з біоетики НФаУ (протокол № 7 від 21.11.2021 р.). Маніпуляції з тваринами проводили відповідно до вимог «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, яких використовують в експерименті та інших наукових цілях» [100, 123].

Першим етапом наших дослідів було вивчення токсикологічних властивостей досліджуваних екстрактів ЕПМ та РубусАрг за умов внутрішньошлункового введення мишам та щурам [16, 145]. Дослідження гострої токсичності екстрактів малини звичайної на мишах проводили на 40 безпородних білих мишах вагою 30-40 г. Виходячи з того, що малина є нетоксичною, ЕПМ та РубусАрг вводили внутрішньошлунково у максимальній дозі 5000 мг/кг.

Враховуючи те, що переважальними компонентами досліджуваних екстрактів є катехіни, також було досліджено гостру токсичність катехіну в аналогічній дозі [16]. Група плацебо-контролю (ПК) отримувала еквівалентний об'єм води внутрішньошлунково. Спостереження за тваринами проводили впродовж 14 діб. Параметрами оцінки гострої токсичності служили: виживаність піддослідних тварин, їх загальний стан та поведінка, а також макроскопічний огляд внутрішніх органів та масовий коефіцієнт печінки, нирок, серця, легень, селезінки, тимусу та сім'яників.

Підгостру токсичність ЕПМ та РубусАрг вивчали на 24 статевозрілих самицях білих безпородних щурів. У експерименті використовували дозу 5000 мг/кг екстрактів за внутрішньошлункового введення протягом 28 діб. Параметрами оцінки підгострої токсичності були: виживаність піддослідних тварин, динаміка їхньої маси тіла, поведінка тварин, вигляд шерстяних покривів, характер випорожнень. На 29 добу експерименту тварин знеживлювали в умовах ефітаназії під легким хлороформовим наркозом та проводили біохімічне дослідження крові.

Наступним етапом експерименту стало дослідження протизапальної активності екстрактів пагонів малини звичайної у порівнянні з екстрактами листя малини на моделі карагенового набряку лапі у щурів [16]. Ця модель дозволяє оцінити вплив досліджуваних речовин на лейкотриєнову, кінінову, гістамінову та простагландинову фазу ексудативного запалення [16].

Досліджувані екстракти та препарат порівняння вводили внутрішньошлунково до субплантарної ін'єкції 0,1 мл 1% карагеніну (Fluka,

Швейцарія) у лікувально-профілактичному режимі: в/ш одноразово щоденно протягом 3 діб до моделювання запалення, останній раз за 1 годину до ін'єкції карагеніну [16].

Вимірювання набряку лапи у щурів проводили через 1, 2, 3, 4 години з урахуванням того, що після введення карагеніну максимальний набряк спостерігається до третьої години, потім набряк поступово зменшується протягом дня [16]. Для цього об'єм лап (см³) вимірювали за допомогою цифрового плетизмометра Panlab (Іспанія) моделі LE 7500 версії V29/10/2014.

Величина набряку в кожному випадку визначалася різницею в об'ємі між набряклими та здоровими лапами і виражалася у %, показуючи, наскільки досліджувані препарати пригнічують розвиток набряку порівняно з контролем, де величина набряку приймалася за 100%.

Антиексудативну активність екстрактів пагонів малини звичайної та препаратів порівняння розраховували за формулою [16]:

$$A = \frac{(M_s - M_h) \times 100}{M_{sh} - M_{hc}} \quad (2.1),$$

де: А – антиексудативна активність, %; М_s – об'єм набряклої лапи в досліді; М_h – об'єм здорової лапи в досліді; М_{sh} – об'єм набряклої лапи в контролі; М_{hc} – об'єм здорової лапи в контролі.

Дослід складався із 2 частин. Перша частина досліджень охоплювала проведення скринінгових досліджень на 42 білих щурах-самицях вагою 180-235 г. Піддослідним тваринам в/ш вводили настой листя малини; водний екстракт листя малини (ВЕЛМ); 60% водно-спиртовий екстракт листя малини (СЕЛМ); водний екстракт пагонів малини (ВЕПМ) та водно-спиртовий екстракт пагонів малини (ЕПМ). За результатами цього дослідження обиралась сполука/сполуки лідери за антиексудативним ефектом.

Екстакти були отримані та досліджені на кафедрі загальної хімії НФаУ PhD, ас.Масловим О. Ю. та PhD, ас. кафедри фармакогнозії та нутриціології Комісаренком М. А. під керівництвом зав. каф. загальної хімії НФаУ, д. фарм.н., проф. Колісника С. В. та д. фарм.н., проф. Комісаренка А.М.

Таблиця 2.2

**Сухий залишок і кількісний вміст діючих речовин екстрактів малини на
100 г**

Показник	Настій листя малини	ВЕЛМ	СЕЛМ	ВЕПМ	ЕПМ
Сухий залишок, г/100 г	2,04	10,29	8,35	4,30	23,0
Сума фенольних сполук у перерахунку галову кислоту, г/100 г	0,63	1,15	1,85	1,74	12,2
Сума катехінів від у перерахунку на епігалокатехін-3-О- галат, г/100	0,13	0,63	1,01	1,50	10,8
Сума флавоноїдів у перерахунку на рутин, г/100	0,08	0,40	0,33	0,08	0,5
Сума гідроксикори- чних кислот у перерахунку на хлорогенову кислоту, г/100 г	0,02	0,09	0,24	0,24	2,3
Сума органічних кислот у перерахунку на лимонну кислоту, г/100 г	0,19	0,93	0,73	0,19	1,6

Примітки:

1. ВЕЛМ – водний екстракт листя малини;
2. СЕЛМ – 60% водно-спиртовий екстракт листя малини;
3. ВЕПМ – водний екстракт пагонів малини;
4. ЕПМ – 60% водно-спиртовий екстракт пагонів малини

Склад основних БАР, які входять до досліджених екстрактів малини наведено в табл. 2.2 [45, 46, 199].

Окрему групу склали тварини, яким в/ш вводили препарат порівняння диклофенак натрію (капс. виробництва ТОВ «Харківське фармацевтичне підприємство «Здоров'я народу» Україна по 25 мг по 25 мг № 30) у дозі 8 мг/кг [16].

Після опрацювання результатів першого блоку дослідів та встановлення екстракту-лідера за протинабряковою дією, для теоретичної оцінки протизапальної та антиоксидантної активності екстрактів було використано метод молекулярного докінгу. При проведенні цього дослідження було використано комп'ютерну програму Autodock 4.2 MGL Tools. Для дослідження антиоксидантної активності були обрані – фермент НАДФН-оксиредуктаза (PDB ID: 5o0x), мієлопероксидаза (PDB ID: 3f9p) та ксантин-оксиредуктаза (PDB ID: 1fiq) [208].

З метою дослідження протизапальної активності був обраний ряд ферментів – ЦОГ-2 (PDB ID: 1ddx), Nf-kB (PDB ID: 1svc), фосфоліпаза A2 (PDB ID: 3hsw), 5 –ліпооксигеназа – 5-ЛОГ (PDB ID: 2q7m); дані структури ферментів були взяті з банку даних білка [175].

За допомогою Computed Atlas for Surface Topography of Proteins [89] були визначені амінокислоти в активному центрі ферменту, відповідальних за його інгібування. Для дослідження було взято епікатехін (CID_72276), (+)-катехін (CID_9064), епікатехін-іон, катехін-іон, оскільки дані сполуки є головними у складі екстракту, як стандарт, у випадку антиоксидантної активності обрали епігалокатехін-3-О-галат (CID_65064), а протизапальної активності – диклофенак натрію (CID_5018304), 3D – структури даних сполук були взяті з PubChem [154-157, 171].

Комп'ютерна програма Autodock 4.2 MGL Tools була використана для оптимізації структури ферментів шляхом видалення води, зайвих атомів, і додавання водневих груп. Потім AutoGrid визначила розташування ліганду для зв'язування з активним центром ферменту шляхом налаштування

координати сітки (X, Y і Z). Зв'язування ліганда з ферментом проводили через регулювання параметрів генетичного алгоритму, використовуючи 10 запусків критеріїв генетичного алгоритму.

Для оцінки ефективності рівня зв'язування були використані наступні показники E (енергія зв'язку, ккал/моль) і IC50, (концентрація речовини, яка інгібує 50% ферменту, ммоль). Слід зазначити, що, чим менше значення показника E, тим сильніше зв'язок між лігандом і ферментом [171].

Наступна частина досліджу охоплювала оцінку антиексудативної дії теоретично розрахованих доз екстракту пагонів малини. На основі проведеного молекулярного докінгу, де було встановлено, що іонізовані екстракти мають більшу протизапальну дію [45, 46, 58], у НФаУ під керівництвом проф. Колесника С.В. було отримано модифікований екстракт пагонів малини звичайної, у якому провідні компоненти екстракту – катехіни були іонізовані слабким основою – L-аргініном. Цей екстракт отримав робочу назву «РубусАрг» [45]. Його склад наведено в таблиці 2.3 .

Таблиця 2.3

Склад основних БАР в екстракті РубусАрг (на 100 г екстракту)

Показник	Значення показника, г/100 г
Сухий залишок	10,0
Сума фенольних сполук у перерахунку галову кислоти	7,1
Сума катехінів у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат	7,0
Сума флавоноїдів у перерахунку на рутин	0,3

Екстракт РубусАрг на відміну від екстракту ЕПМ не містив похідних органічних і гідроксикоричних кислот, крім цього РубусАрг мав у своєму складі L-аргінін у молярному співвідношенні 3:1 до суми катехінів.

Екстракти ЕПМ та РубусАрг були стандартизовані за вмістом суми катехінів у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат спектрофотометричним методом [45].

Для оцінки протизапальної дії РубусАрг порівняно з ЕПМ та ефектом провідного компонента екстрактів катехіну, а також для встановлення ЕД₅₀ за протизапальною активністю було проведено вивчення антиексудативної дії на моделях карагенінового та зимозанового набряку у щурів.

На моделі карагенінового набряку у щурів, за методикою яка була описана вище, було досліджено протинабряковий ефект РубусАрг в теоретично розрахованих дозах у порівнянні з ЕМП.

Досліди проведено на 36 білих щурах-самицях вагою 180-220 г. Усі тварини були розполінені на 6 груп по 6 тварин у кожній. 1-у групу склали неліковані тварини, яким внутрішньошлунково вводили еквівалентний об'єм води, 2-га група тварин за 1 годину до введення карагеніну отримувала ЕПМ у теоретично розрахованій дозі 26,4 мг/кг на вміст катехінів у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат, 3-й вводили РубусАрг в дозі 6,5 мг/кг маси тварин у перерахунку на вміст катехіну; 4-я отримувала РубусАрг в дозі 13 мг/кг маси тварин в перерахунку на вміст катехіну; 5-та група отримувала катехін у дозі 6,5 мг/кг (Sigma aldrich, Люблін, Польща); 6-й вводили диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг.

В результаті дослідів встановлено, що антиексудативний ефект РубусАрг у теоретично-розрахованій дозі 6,5 мг/кг дорівнює 50%, що дозволяє вважати цю дозу як умовну ЕД₅₀.

Для встановлення впливу досліджуваних екстрактів пагонів малини, а саме ЕПМ та РубусАрг, на лейкотриєнову фазу запальної реакції використовували модель зимозанового набряку лапи у щурів [16]. Для цього зимозан (Fluka, Швейцарія) вводили субплантарно по 0,1 мл у праву задню стопу в дозі 0,1 мл 2 % розчину. Для оцінки впливу на ексудативний процес саме лейкотриєнів, величину набряку оцінювали на 30 хв. та 1 годині набряку, бо в механізмі зимозанового набряку саме на першій годині його розвитку

переважно беруть участь медіатори запалення – лейкотриєни. Тож ця модель дозволяє визначити, чи залучений цей антилейкотриєновий механізм у фармакологічній дії досліджуваних екстрактів.

Усі тварини були розподілені на 6 груп по 6 тварин у кожній, а саме: неліковані тварини, яким внутрішньошлунково вводили еквівалентний об'єм води; тварини яким за 1 годину до введення зимозану вводили ЕПМ у дозі 26,4 мг/кг; тварини яким за 1 годину до введення зимозану вводили РубусАрг у дозі 6,5 мг/кг; тварини отримували катехін у дозі 6,5 мг/кг мг/кг; щури, яким вводили диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг та піддослідні тварини, яким вводили кверцетин у дозі 50 мг/кг (кверцетин гранули 0.04 г/1 г по 2 г.; «НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод», Україна) Вибір кверцетину у якості референс-препарату за даної моделі обумовлено його інгібувальним впливом на 5-ліпооксигеназу [7, 16].

Враховуючи взаємозв'язок між запаленням та розвитком захворювань серцево-судинної системи (ССС) нами було досліджено кардіопротекторний ефект ЕПМ та РубусАрг проводили на моделях адреналін-гідрокортизонового інфаркту у щурів, доксорубіцинової кардіоміопатії та метаболічного синдрому у щурів, індукованого глюкозою [2, 16, 17, 19, 53].

Як відомо, у патогенезі коронарної патології важливу роль відіграє гіперкатехоламінемія, яка може бути як ендогенного генезу (стресогенна), так і екзогенного походження, яка зумовлена надлишком застосування адренергічних препаратів [36, 39, 56]. У патогенезі стресу також значну роль відіграє збільшення рівня кортизолу, який з часом стає одним із чинників розвитку низки кардіологічних захворювань, включаючи метаболічний синдром, артеріальну гіпертензію, ішемічну хворобу серця тощо [2, 118]. Також підвищений рівень глюкокортикостероїдів збільшує сенсibilізацію адренорецепторів до дії катехоламінів, що збільшує вплив останніх на ССС.

Активация симпато-адреналової системи та гіперкортицизм ініціюють каскад біохімічних, імунологічних, реологічних та функціональних змін у міокарді та є одними із найчастіших факторів розвитку ішемії міокарда, у

тому числі й лікообумовленого [2, 39]. Саме тому було доцільним вивчити кардіопротекторну активність досліджуваних препаратів на катехолобумовлених моделі ураження міокарда – адреналін-гідрокортизоновому інфаркті міокарда [2, 118].

Експериментальний інфаркт міокарда у щурів моделювали шляхом підшкірного введення 0,1% розчину адреналіну гідрохлориду (адреналін-Здоров'я розчин д/ін. 1,82 мг/мл по 1 мл № 10 в амп., ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна) із розрахунку 1 мг на 1 кг маси тварини та 2,5% суспензії гідрокортизону ацетату (гідрокортизону ацетат суспензія д/ін. 2,5 % по 2 мл № 10 в амп., АТ «Фармак», Україна) із розрахунку 12,5 мг на 1 кг маси тварини двічі на добу вранці та ввечері протягом тижня. Досліджувані сполуки вводили протягом 14 днів: 7 діб до моделювання ураження міокарда та 7 діб впродовж введення адреналіну гідрохлориду та гідрокортизону ацетату (лікувально-профілактичний режим) [2, 118].

Усі тварини були розподілені на 6 груп: щури, які отримували внутрішньошлунково розчинник (ізотонічний розчин NaCl) – плацебо контроль (ПК); група контрольної патології (КП) з адреналін-гідрокортизоновим інфарктом міокарда; група тварин, яким вводили ЕПМ, РубусАрг, катехін та кверцетин, відповідно. У зв'язку з прогнозованою високою летальністю експерименту, у кожній групі було по 10 тварин; в групі ПП було 6 тварин.

Вибір кверцетину як препарату порівняння обумовлено його ефективністю при низці захворювань серцево-судинної системи [23, 177].

Під час проведення дослідів оцінювали показники летальності тварин. Після закінчення дослідів у тварин під легким хлороформовим наркозом оцінювали функціональний стан міокарда за показниками ЕКГ з використанням електрокардіографу ЕКІТ 03 М2. Показники ЕКГ визначали у другому стандартному відведенні [16].

Надалі тварин знеживлювали в умовах ефітаназії та проводили забір крові та серця для подальших біохімічних та гістологічних досліджень.

При проведенні гістологічних досліджень серця щурів фіксували у 10% розчині формаліну. Поперекову пластинку з серця тварин вирізали через весь орган на рівні середини обох шлуночків. Зразки зневоднювали у спиртах зростаючої міцності, занурювали у парафін. Зрізи товщиною 4 мкм готували на ротаційному мікротомі, розміщували на склі, забарвлювали гематоксиліном та еозином [158, 159].

Мікропрепарати серцевого м'яза були досліджені під світловим мікроскопом Granum, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Levenhuk 310 Tour View.

Для об'єктивізації отриманих даних на мікропрепаратах проводили напівкількісну (бальну) оцінку змодельованого патологічного процесу та корекції його досліджуваними сполуками. За основу взята шкала оцінок, описана у літературі [16, 33, 56, 183]. Оцінювали такі показники:

- наявність осередків некрозу, тривалість існування – «свіжі»/більш тривалі за часом: 0 балів – ознака відсутня; 0,5 бала – окремі субдрібні клітинні інфільтрати на місцях загиблих окремих груп кардіоміоцитів; 1 бал – 1-2 дрібних, доволі «тривалих» за існуванням осередка ураження; 2 бала – не більш 4-х дрібних, доволі «тривалих» за існуванням осередка ураження; 3 бала – більш 5-ти різного розміру, різних за часом існування осередків;

- ступень зрілості грануляційної тканини (інфільтрату), що заміщувала осередки некрозу: 0 балів – відсутність ознаки; 0,5 бала – лімфоїдні та окремі макрофагальні клітини; 1 бал – доволі «густий» лімфо-макрофагальний інфільтрат; 2 бали – лімфо-макрофагальний інфільтрат з домішкою незрілих фібробластів; 3 бали – інфільтрат в основному містить молоді фібробласти.

- прояви ішемії (розширення та повнокровність капілярної сітки та венозних судин, гемостаз, спазм інтрамуральних артерій, потовщення судинної стінки): 0 балів – відсутність ознаки; 1 бал – слабка виразність; 2 бали – помірна виразність; 3 бали – значна виразність.

- зміна стану скоротливого апарату волокон/кардіоміоцитів (міоцитоліз, контрактура): 0 балів – відсутність ознаки; 1 бал – слабка виразність; 2 бали – помірна виразність; 3 бали – значна виразність.

Однією з загальноприйнятих експериментальних моделей ураження серця є доксорубіцинова (адриаміцинова) кардіоміопатія [16, 18, 31, 40, 101, 130]. За фармакологічними властивостями доксорубіцин є цитостатиком, який належить до групи антрациклінових антибіотиків [16, 21, 40, 101]. Доксорубіцин взаємодіє з ДНК шляхом інтеркаляції та інгібування макромолекулярного біосинтезу, що призводить до пригнічення прогресування топоізомерази II, ферменту, який розслаблює суперспіралі ДНК для транскрипції [3, 20, 21, 130]. Доксорубіцин стабілізує комплекс топоізомерази II після того, як він розриває ланцюг ДНК для реплікації, запобігаючи вивільненню подвійної спіралі ДНК і тим самим зупиняючи процес реплікації. Він також може збільшити виробництво вільних радикалів хінонового типу, що сприяє його кардіотоксичної дії [16, 20, 21, 40, 88, 101, 137].

Кардіотоксична дія препарату проявляється у вигляді тахіаритмії, атріовентрикулярної блокади, блокади ніжок пучка Гіса, асимптоматичного зменшення фракції викиду лівого шлуночка, застійної серцевої недостатності. На тлі застосування доксорубіцину може відбуватися тахікардія, в тому числі надшлуночкова тахікардія та зміни на ЕКГ [88, 101, 109, 161, 210].

Доксорубіцин («Доксорубіцин- Медак», Medac Gesellschaft für klinische Spezialpräparate m.b.H., Німеччина) вводили у дозі 5 мг/кг маси тіла щурам внутрішньочеревинно 1 раз на тиждень протягом 4 тижнів у сумарній дозі 20 мг/кг маси тіла [1, 18]. В експерименті було використано 57 білих безпородних щурів масою 180-200 г.

Досліджувані препарати та препарати порівняння вводили впродовж усього терміну дослідження внутрішньошлунково у лікувально-профілактичному режимі. Група тварин плацебо- контролю одержувала в/ш еквівалентний об'єм води. Впродовж експерименту оцінювали виживаність

піддослідних тварин. Після закінчення експерименту в групах тварин реєстрували показники ЕКГ та проводили біохімічні дослідження сироватки крові та гомогенату міокарда.

Інтенсивність інтоксикації оцінювали за рівнем молекул середньої маси (МСМ) [42]. Активність процесів ВРО в сироватці крові та гомогенаті серця оцінювали за вмістом 8-ізопростану, який є продуктом ВРО-окиснення арахідонової кислоти і на сьогодні вважається «золотим» стандартом оцінки ліпоперекисної деструкції [98]. Рівень 8-ізопростану визначали імуноферментним методом за допомогою набору реагентів фірми IBL (Гамбург, Німеччина). Також досліджували вміст вторинних продуктів перекисного окислення ліпідів (ПОЛ) – ТБК-реагентів за реакцією з тіобарбітуровою кислотою за методом Asakawa T. et al. за показниками оптичної щільності, визначеної за світлопоглинанням при довжині хвилі $\lambda = 535$ нм [69, 112]. Для оцінки антиоксидантного захисту у гомогенаті міокарда та сироватці крові визначали вміст відновленого глутатіону (G-SH) та активність супероксиддисмутази (СОД) за загальноприйнятими методами [16]. Активність каталази визначали спектрофотометрично при довжині хвилі $\lambda = 410$ нм за реакцією утворення молібдату амонію [136].

Антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) розраховували за формулою: $\text{АПІ} = (\text{активність каталази} / \text{Вміст ТБК-РП}) \times 100$ [25]. Цей показник дозволяє оцінити стан антиоксидантно-прооксидантної систем організму [25]. Активність СОД визначали спектрофотометрично за реакцією відновлення нітротетразолію синього за довжини хвилі 540 нм [136]. Вміст відновленого глутатіону (ВГ, G-SH) визначали спектрофотометрично з реактивом Ельмана [16].

В сироватці крові визначали активність АлАТ, АсАТ, ЛДГ-1, КФК -МВ, глюкози, загального білка, вміст загального холестерину, ТГ, прямого та непрямого білірубіну, сечовини за допомогою наборів реагентів фірми «Філісит-Діагностика», Україна). В сечі досліджували вміст білка за реакцією з сульфосаліциловою кислотою) [16].

В структурі захворювань серцево-судинної системи досить окремо стоїть метаболічний синдром (МС), який поєднує в собі гіпертригліцеридемію, гіперглікемію та інсулінорезистентність [150, 160, 162, 194, 197]. Однією із найуживаніших експериментальних моделей МС є модель метаболічного синдрому у щурів, індукованого фруктозою. МС у щурів відтворювали шляхом заміни води для пиття на 10 % розчин фруктози протягом 16 тижнів [53].

ЕПМ, РубусАрг, катехін, кверцетин та препарат порівняння метформін («Сіофор» таб. 500 мг № 60, виробництва Берлін-хемі, Німеччина) застосовували у лікувальному режимі, починаючи з 13 тижня моделювання МС впродовж 4 тижнів (28 днів). Дозу метформіна (60 мг/кг) розраховували за допомогою коефіцієнту видової чутливості [35, 43] .

Оцінку стану вуглеводного обміну проводили за такими показниками: вміст глюкози, інсуліну та глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) в сироватці крові. Визначення вмісту глюкози та HbA1c проводили спектрофотометрично, в також вміст ліпідів визначали за допомогою діагностичних наборів «Філісіт-Діагностика» (Україна), а інсуліну – методом імуноферментного аналізу з використанням наборів реагентів Insulin Elisa DRC1 (Німеччина). Також, додатково проводили розрахунок індексу HOMA-IR за загальноприйнятою методикою [128].

Дослідження нейротропної активності екстрактів проводили на інтактних тваринах. В тесті «відкритого поля» на мишах та щурах оцінювали поведінкові реакції піддослідних тварин [132, 133, 167]. ЕПМ та РубусАрг вводили внутрішньошлунково одноразово 3 доби до початку проведення психотестів. Піддослідну тварину розміщували в центр поля платформи та протягом 3 хвилин за нею спостерігали. Реєстрували кількість перетнутих квадратів, вертикальних стійок, заглядань у норки, актів дефекації, уринації та грумінгу [132, 135].

Вивчення впливу ЕПМ та РубусАрг на м'язовий тонус та координацію рухів мишей проводили за допомогою ротарод-тесту («стрижень, що

обертається»). Критерієм оцінки ефективності досліджуваних сполук на м'язовий тонус та координацію рухів був час утримання тварин на стрижні та кількість мишей, які впали з нього під час оберту стрижня – до 1 хв, 2 хв, 3 хв та 5 хв [132, 135, 168].

Завершальним етапом наших досліджень стало вивчення РубусАрг у вигляді лікарської форми гранул на стан тривожності піддослідних тварин.

Гранули "РубусАрг" у своєму складі містили : 500 мг екстракту пагонів малини звичайної (200 мг катехинів у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат), 800 мг L-аргініну і 3700 мг інозитулу на 5,0 саше. Опрацювання проходило на промислових потужностях ТОВ "ЗДРАВОФАРМ" згідно з проектом технологічної документації.

Для оцінки впливу на показники тривожності піддослідних тварин використовували метод «піднесеного хрестоподібного лабіринту» [132, 135, 167, 168]. Критерієм оцінки ефективності досліджуваних сполук був час знаходження тварин у відкритому та закритому рукаві, кількість вегетативних проявів тривоги [49, 167, 168].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою стандартного пакета програм Statistica 10,0, перевіряли нормальність розподілу з використанням критерію W-Шاپіро-Уїлса [145]. За нормального розподілу використовували критерій Стюдента, дисперсійний аналіз ANOVA, дані виражали як $M \pm m$. Для результатів, які підлягали ненормальному розподілу, використовували непараметричний U-критерій Манна-Уїтні. Відмінності вважали статистично значущими при $p \leq 0,05$ [145].

РОЗДІЛ 3

ДОСЛІДЖЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАТИВНОГО ТА МОДИФІКОВАНОГО L-АРГІНІНОМ ЕКСТРАКТУ ПАГОНІВ МАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ (*Rubus idaeus* L.)

3.1 Дослідження гострої токсичності нативного та модифікованого L-аргініном екстракту малини звичайної (*Rubus idaeus* L.) за умов внутрішньошлункового введення мишам

Визначення параметрів гострої токсичності є одним з обов'язкових етапів доклінічного дослідження нових перспективних лікарських засобів [16].

На першому етапі експерименту було досліджено гостру токсичність ЕПМ та РубусАрг на 40 безпородних білих мишах-самцях за внутрішньошлункового одноразового введення сполук у дозі 5000 мг/кг.

Враховуючи те, що основними компонентами даних екстрактів є катехіни, також було досліджено гостру токсичність катехіну в аналогічній дозі. Спостереження за тваринами здійснювали впродовж 14 діб. Група плацебо-контролю (ПК) отримувала еквівалентний об'єм води внутрішньошлунково. Оцінювали виживання тварин, вагу тварин, їхню поведінку та зовнішній вигляд. Результати дослідження наведено у таблицях 3.1-3.3.

Встановлено, що за одноразового внутрішньошлункового введення ЕПМ, катехіну та РубусАрг у дозі 5000 мг/кг загибелі тварин не було впродовж усього 14-добового терміну спостереження. Спостереження за піддослідними тваринами впродовж 14 діб не виявило ознак інтоксикації. Поведінка усіх піддослідних тварин у всіх групах була аналогічній у тварин групи плацебо- контролю, проте тварини були дещо жвавішими. Порухень

координації рухів, гіперсалівації, судом, бічного положення, блефароптозу не спостерігалось.

Миші, яким вводили ЕПМ, РубусАрг і катехін були охайними, покрив шерсті був у нормі, миші мали задовільний апетит. Піддослідні тварини були активними, адекватно реагували на світлові та звукові подразники, порушень сечовиділення та дефекацій виявлено не було. Проте слід зазначити, що тварини, яким вводили ЕПМ та РубусАрг були активнішими порівняно з тваринами групи ПК та групою тварин, що отримували катехін.

Таблиця 3.1

**Виживаність (%) піддослідних тварин впродовж 14 діб після
одноразового введення ЕПМ, РубусАрг та катехіну**

Умови дослідку	Початковий рівень	Наступна доба	Через 7 діб	Через 14 діб
ЕПМ, 5000 мг/кг	6/0	6/0	6/0	6/0
РубусАрг, 5000 мг/кг	6/0	6/0	6/0	6/0
Катехін, 5000 мг/кг	6/0	6/0	6/0	6/0
ПК	6/0	6/0	6/0	6/0

Примітки (тут і надалі):

1. ЕПМ – екстракт пагонів малини звичайної;
2. РубусАрг – модифікований L-аргініном екстракт пагонів малини;
3. ПК– плацебо-контроль;
4. В чисельнику кількість тварин в групі; в знаменнику – кількість тварин, що загинули.

Результати впливу ЕПМ, катехіну та РубусАрг на динаміку маси тіла та масові коефіцієнти внутрішніх органів мишей наведено в табл. 3.2 та 3.3.

Встановлено, що за 14 діб спостереження усі тварини мали нормальні показники ваги, які відповідали фізіологічній нормі та не відрізнялись від маси тіла тварин групи плацебо-контролю (табл. 3.2).

Таблиця 3.2

**Динаміка маси тіла білих мишей-самців за одноразового
внутрішньошлункового введення ЕПМ, РубусАрг та катехіну
($M \pm m$, $n=6$)**

Група тварин	Вихідний фон	На 3 добу	На 6 добу	На 14 добу
ПК	38,08 $\pm$ 2,51	39,87 $\pm$ 3,42	39,48 $\pm$ 3,21	40,32 $\pm$ 3,46
ЕПМ	36,63 $\pm$ 1,36	41,85 $\pm$ 0,93	41,48 $\pm$ 1,28	43,20 $\pm$ 0,94
РубусАрг	38,30 $\pm$ 0,67	41,50 $\pm$ 1,06	42,10 $\pm$ 1,00	41,08 $\pm$ 0,96
Катехін	35,00 $\pm$ 1,80	8,87 $\pm$ 1,96	38,27 $\pm$ 1,51	38,78 $\pm$ 1,52

Примітка. n – кількість тварин у групі.

Відмінностей між групами тварин, які отримували ЕПМ, РубусАрг та катехін не виявлено. Після закінчення терміну спостережень тварин вилучали з дослідження в CO₂-камері для морфологічних досліджень.

Встановлено, що в грудній та черевній порожнинах випоту не виявлено. Парієтальний і вісцеральний листки плеври й очеревини тонкі, блискучі, гладкі. Щитоподібна залоза червонуватого кольору, звичайних розмірів і форми, помірно щільної консистенції. Тимус трикутної форми, білуватого кольору, помірно щільності, нормальних розмірів.

Інтима аорти гладка, блискуча, білуватого кольору. Діаметр аорти не змінений. Листки перикарда тонкі, прозорі, гладкі. Розмір і форма серця звичайні. Правий і лівий шлуночки містять невелику кількість темної рідкої крові. Клапани серця тонкі, блискучі, гладкі. Серцевий м'яз на розрізі рівномірного вишнево-коричневого кольору, помірно щільності. Просвіт

трахеї та великих бронхів не змінений, слизова оболонка блискуча, гладка, блілого кольору. Легені повітряні, без ущільнень на дотик, ніжно-рожевого кольору.

Слизова оболонка стравоходу блискуча, гладка, блілого кольору. Шлунок звичайного розміру і форми. Слизіві оболонки шлунка не відрізнялися від оболонки шлунка контрольних груп тварин і були складчасті, рожеві, блискучі.

Місцевої подразнювальної дії екстракту пагонів малини та його модифікації на слизову оболонку шлунка не виявлено. Слизова оболонка тонкої кишки блідо-рожева, блискуча, гладка. Слизова оболонка товстої кишки сіруватого кольору, блискуча, гладка. Форма і розміри печінки без змін.

Поверхня печінки гладка, однорідного темно-червоного кольору, капсула тонка, прозора. Тканина печінки на розрізі повнокровна, середньої щільності. Підшлункова залоза плоска, блідо-рожевого кольору, часточкова, помірно щільної консистенції. Селезінка звичайної форми, темно-вишневого кольору, помірно щільної консистенції. Поверхня органу гладка, капсула тонка. На розрізі видно дрібні сіруваті фолікули.

Розмір і форма нирок не змінені. Поверхня нирок коричневого кольору, гладка, капсула тонка, прозора, легко знімається. На зрізі органу чітко виділяються коркова і мозкова речовина.

Наднирники округлої форми, блідо-жовтого кольору, з гладкою поверхнею, помірно щільності. На розрізі добре видно мозкову речовину темного кольору. Сечовий міхур наповнений прозорою сечею. Слизова оболонка сечового міхура гладка, блискуча, блілого кольору.

Яєчка білуватого кольору, звичайного розміру. Сім'яники, передміхурова залоза – незмінені.

Аналізуючи результати проведеного макроскопічного обстеження внутрішніх органів, можна зробити висновок, що на фоні використання

досліджуваних екстрактів пагонів малини суттєві відхилення від норми були відсутні.

Результати масових коефіцієнтів внутрішніх органів мишей на 14 добу дослідження на фоні застосування ЕПМ, РубусАрг та катехіну в дозі 5000 мг/кг наведено у табл. 3.3.

Таблиця 3.3.

Масові коефіцієнти внутрішніх органів мишей на фоні застосування ЕПМ, РубусАрг та катехіну в дозі 5000 мг/кг ($M \pm m$, $n=6$)

Орган/група тварин	ПК	ЕПМ	РубусАрг	Катехін
Печінка	4,80±0,11	4,92±0,13	5,01±0,15	4,38±0,30
Нирки	1,58±0,05	1,36±0,09	1,50±0,09	1,45±0,11
Серце	0,46±0,03	0,42±0,02	0,45±0,01	0,44±0,04
Легені	0,67±0,04	0,60±0,03	0,63±0,03	0,79±0,13
Селезінка	0,48±0,03	0,39±0,02	0,45±0,04	0,53±0,08
Тимус	0,501±0,074	0,523±0,040	0,452±0,022	0,41±0,051
Сім'яники	0,54±0,04	0,48±0,01	0,65±0,03	0,52±0,03

Примітка. n – кількість тварин у групі.

Встановлено, що масові коефіцієнти печінки, нирок, серця, легень, селезінки, тимусу та сім'яників у всіх груп тварин, залучених до експерименту, а саме ЕПМ, РубусАрг та катехіну не відрізнялись від плацебо-контролю.

Таким чином можна зробити висновок про відсутність токсичного впливу на органи за перорального шляху введення ЕПМ, РубусАрг та катехіну в дозі 5000 мг/кг.

Враховуючи те, що LD_{50} для ЕПМ, катехіну та РубусАрг становить понад 5000 мг/кг, це дозволяє віднести дані речовини до IV класу токсичності

сполук за класифікацією Hodge та Sterner (практично нетоксичні речовини - $LD_{50} > 5000$ мг/кг) [124].

3.2. Дослідження підгострої токсичності нативного та модифікованого L-аргініном екстракту малини звичайної

Наступним етапом наших досліджень стало вивчення впливу ЕПМ та РубусАрг, а також катехіну за умов тривалого введення (28 днів) на щурів. Дані екстракти вводили в дозі 5000 мг/кг внутрішньошлунково 1 раз на добу. Результати дослідження наведено в табл. 3.4 – табл. 3.6.

Таблиця 3.4.

Вживання щурів на фоні застосування ЕПМ, РубусАрг та катехіну впродовж 28 діб ($M \pm m$, $n=6$)

Група тварин	Вихідний фон	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
ПК	6/0	6/0	6/0	6/0	6/0
ЕПМ	6/0	6/0	6/0	6/0	6/0
РубусАрг	6/0	6/0	6/0	6/0	6/0
Катехін	6/0	6/0	6/0	6/0	6/0

Примітки:

1. В чисельнику кількість тварин в групі; в знаменнику – кількість тварин, що загинули;
2. n – кількість тварин у групі.

Встановлено, що використання ЕПМ, РубусАрг та катехіну впродовж 28 діб у максимальній дозі 5000 мг/кг не викликало летальних наслідків і не чинило негативного впливу на організм щурів (табл. 3.4.). Усі тварини активно споживали воду та їжу, шерстяний покрив був не змінений. Проте тварини були більш жвавішими порівняно з ПК. З боку видільної системи змін не виявлено.

Маса тіла піддослідних тварин (табл. 3.5.) впродовж усього терміну дослідження практично не відрізнялась від показників групи плацебо-контролю (табл. 3.5).

Маса тіла піддослідних тварин (табл. 3.5.) впродовж усього терміну дослідження практично не відрізнялась від показників групи плацебо-контролю (табл. 3.5).

Таблиця 3.5.

**Динаміка маси тіла щурів за внутрішньошлункового введення ЕПМ,
РубусАрг та катехіну протягом 28 днів ($M \pm m$, $n=6$)**

Група тварин	Маса тіла щурів, (г) на ... добу				
	Вихідний фон	7 доба	14 доба	21 доба	28 доба
ПК	227,83 $\pm$ 2,09	232,50 $\pm$ 2,81	237,50 $\pm$ 3,82	242,50 $\pm$ 2,50	252,67 $\pm$ 2,81
ЕПМ	229,17 $\pm$ 5,07	231,33 $\pm$ 3,71	230,0 $\pm$ 2,58	225,00 $\pm$ 3,16	225,67 $\pm$ 4,26
РубусАрг	236,67 $\pm$ 4,41	237,50 $\pm$ 5,44	240,83 $\pm$ 7,12	244,17 $\pm$ 6,64	249,17 $\pm$ 7,24
Катехін	232,50 $\pm$ 4,23	240,83 $\pm$ 5,39	254,17 $\pm$ 5,07	245,00 $\pm$ 10,80	252,50 $\pm$ 10,94

Примітка. n – кількість тварин у групі.

В результаті проведеного дослідження встановлено, що введення ЕПМ, РубусАрг та катехіну протягом 28 днів не чинили статистично значущих змін на основні біохімічні показники (табл. 3.6).

Проте, якщо у групи ПК спостерігалась позитивна тенденція до приросту маси тіла (+ 10,4% стосовно вихідного рівня), то в групах тварин, яким вводили РубусАрг було лише + 5.28% приросту, а у тварин, яким застосовували ЕПМ вага не змінилась.

Статистичний аналіз не виявив значущих змін між групами ЕПМ, РубусАрг та ПК ($p > 0,05$).

На 29 день експерименту тварин знеживлювали під легким хлороформним наркозом та проводили подальші біохімічні дослідження крові

для встановлення впливу тривалого введення ЕПМ, РубусАрг та катехіну на стан організму щурів (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

**Вплив ЕПМ, РубусАрг та катехіну на біохімічні показники крові
щурів ($M \pm m$, $n=6$)**

Показник/Група тварин	Плацебо-контроль	ЕПМ	РубусАрг	Катехін
Загальний білок, г/л	47,62 $\pm$ 3,21	45,77 $\pm$ 2,23	44,84 $\pm$ 2,94	42,49 $\pm$ 3,57
Глюкоза, ммоль/л	5,08 $\pm$ 0,11	4,97 $\pm$ 0,18	4,87 $\pm$ 0,09	5,11 $\pm$ 0,11
Холестерин, ммоль/л	2,66 $\pm$ 0,19	2,59 $\pm$ 0,36	2,66 $\pm$ 0,26	2,53 $\pm$ 0,30
АлАТ, мккат/л	0,55 $\pm$ 0,02	0,50 $\pm$ 0,02	0,52 $\pm$ 0,03	0,53 $\pm$ 0,04
АсАТ, мккат/л	0,55 $\pm$ 0,03	0,54 $\pm$ 0,03	0,54 $\pm$ 0,02	0,58 $\pm$ 0,03
Лужна фосфатаза, мкмоль/(с $\times$ л)	49,39 $\pm$ 7,07	48,61 $\pm$ 5,76	48,72 $\pm$ 6,13	53,17 $\pm$ 8,06
Каталаза, мкмоль/(хв $\times$ л)	37,76 $\pm$ 4,22	42,98 $\pm$ 7,64	41,63 $\pm$ 3,05	38,18 $\pm$ 3,09
Загальний білірубін, ммоль/л	8,37 $\pm$ 1,21	9,56 $\pm$ 1,15	9,33 $\pm$ 0,95	9,74 $\pm$ 0,78
Сечовина, ммоль/л	6,57 $\pm$ 0,21	6,68 $\pm$ 0,20	6,46 $\pm$ 0,12	6,36 $\pm$ 0,16
Креатинін, ммоль/л	0,105 $\pm$ 0,004	0,107 $\pm$ 0,003	0,108 $\pm$ 0,004	0,11 $\pm$ 0,005

Примітка. n – кількість тварин у групі.

Так, рівень загального білка, глюкози, холестерину, лужної фосфатази, загального білірубину, сечовини, креатиніну та активності АлАТ, АсАТ і каталази практично не відрізнялися від групи плацебо-контролю. Усі вивчені показники були в межах фізіологічної норми. Також не було виявлено і

статистично значущих змін між групами ЕПМ, РубусАрг та катехіну (табл. 3.6). Таким чином можна зробити висновок про відсутність токсичної дії на організм досліджуваних об'єктів.

Враховуючи все вищенаведене і те, що ЕПМ, РубусАрг належать до групи малотоксичних речовин, ми вважаємо подальше встановлення середньолетальної дози даних екстрактів недоцільним.

Висновки до розділу 3

1. Відсутність летальності за внутрішньошлункового одноразового введення екстракта пагонів малини (ЕПМ) та модифікованого L-аргініном екстракта пагонів малини – РубусАрг в дозі 5000 мг/кг дозволяє їх віднести до IV класу токсичності сполук за класифікацією Hodge та Sterner (практично нетоксичні речовини – $LD_{50} > 5000$ мг/кг).

2. Результати проведеного макроскопічного обстеження внутрішніх органів не виявили суттєвих відхилень від норми при застосуванні ЕПМ та РубусАрг.

3. За внутрішньошлункового введення ЕПМ та РубусАрг впродовж 28 діб у піддослідних тварин не спостерігалось летальності, суттєвих змін маси тіла, фізіологічного стану тварин та змін основних біохімічних показників.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Горопашна Д. О. Токсикологічні властивості нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини. *Theoretical and empirical scientific research : concept and trends of the VIII International Scientific and Practical Conference, Oxford Sciences, 2025.03.07 Oxford: Primedia eLaunch& UKRLOGOS Group LLC, 2025. С. 376-377. DOI: <https://doi.org/10.36074/logos-07.03.2025.083>.*

РОЗДІЛ 4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ ПРОТИЗАПАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАТИВНОГО ТА МОДИФІКОВАНОГО L-АРГІНІНОМ ЕКСТРАКТІВ МАЛИНИ ЗВИЧАЙНОЇ

4.1 Порівняльне дослідження протизапальної активності екстрактів листя та пагонів малини звичайної на моделі карагенінового набряку у щурів

Враховуючи те, що листя малини широко застосовується як протизапальний засіб [23, 47], нами, на першому етапі експерименту було проведено порівняння антиексудативної активності настою, водного та 60% водно-спиртового екстракту листя малини у порівнянні з водним та 60% водно-спиртовим екстрактом пагонів малини на моделі карагенінового набряку у щурів. Першим блоком наших дослідів було встановлення наявності у екстрактів пагонів малини протизапальної активності та порівняння її з активністю екстрактів листя малини.

Скринінгові дослідження були проведені на 42 білих щурах-самицях вагою 180-235 г на моделі карагенінового набряку. Усі екстракти та препарат порівняння застосовували в профілактичному режимі: одноразово щоденно в/ш впродовж 3 діб до моделювання карагенінового запалення, а останній раз досліджувані сполуки вводили за 1 годину до ін'єкції карагеніну. Піддослідні тварини були розподілені на 7 груп: 1 група – неліковані тварини (контроль); 2 група – тварини, яким вводили 1 мл/кг настою листя малини; 3-й групі за 1 годину до введення карагеніну вводили водний екстракт листя малини (ВЕЛМ) у дозі 1 мл/кг; 4-й групі піддослідних тварин вводили 1 мл/кг 60% водно-спиртового екстракту листя малини (СЕЛМ); 5-й групі вводили 1 мл/кг водного екстракту пагонів малини (ВЕПМ), 6-у групу склали тварини, яким вводили 1 мл/кг ЕПМ. Вибір цих доз для скринінгових досліджень обумовлений активністю рослинної сировини (1:10) та даними інструкції до

медичного застосування листя малини [23]. 7-му групу склали тварини, яким вводили класичний антифлогістик диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг.

Вимірювання набряку лапи у щурів проводили через 1, 2, 3, 4 годин, враховуючи, що після введення карагеніну максимум набряку спостерігається на третю-четверту годину, а потім набряк поступово зменшується протягом доби [16]. Результаті дослідів наведено в табл. 4.1 та рис. 4.1.

Встановлено, що екстракти і листя і пагонів малини чинять протизапальну дію, проте вона суттєво відрізняється залежно від виду сировини та типу екстрагента.

Так, при введенні настою листя малини максимум антиексудативної дії спостерігається на 2 годину (26,2%) та на 4 годину (25,6%). Враховуючи те, що у перші 30 хвилин карагенінового запалення беруть участь лейкотриєни, у наступні 60-90 хв – серотонін та гістамін, в інтервалі між 1,5-2,5 год – кініни, а між 2,5-5,5 год – простагландини [16], можна зробити попередній висновок про антипростагландинний та антикініновий механізм дії цього засобу.

ВЕЛМ також показав наявність протизапальної дії, максимум якої прийшовся на 1-шу та годину дослідів (табл. 4.1), що, на наш погляд, свідчить про переважно антилейкотриєновий механізм дії. Проте цей ефект був слабшим (19,2% антиексудативної активності), ніж при застосуванні настою листя малини.

Застосування 60% водно-спиртового екстракту листя малини (СЕЛМ) було більш ефективним: вже з 1 години дослідів набряк лапи щурів був значно меншим, ніж при застосуванні настою листя малини та ВЕЛМ (табл. 4.1).

Антиексудативна активність СЕЛМ на 1, 2, 3, 4 годину дослідів становила 38,8%, 41,8%, 48,8%, 37,2%, відповідно.

Водний екстракт пагонів малини (ВЕПМ) показав максимум протинабрякової активності на 1-шу та 3-тю годину дослідів – 17,1% та 16,4% (табл. 4.1).

Найбільшу антиексудативну активність серед усіх досліджуваних тест-зразків екстрактів малини показав ЕМП.

Таблиця 4.1

**Вплив екстрактів малини на процес ексудації при карагенінового
набряку у щурів (Median (Q₂₅; Q₇₅))**

Групи тварин		Динаміка розвитку запалення, години...			
		1 год	2 год	3 год	4 год
Контрольна патологія (КП)	ΔV , мл	0,49 (0,42; 0,52)	0,88 (0,70; 0,94)	0,98 (0,88; 1,18)	1,10 (1,0; 1,17)
Настій листя малини, 1 мл/кг	ΔV , мл	0,34 (0,31; 0,40)	0,49 (0,46; 0,74)	0,73 (0,55; 0,85)	0,93 (0,72; 0,97)
	АЕА, %	13,6±1,5	26,2±1,3*	22,2±1,5	25,6±1,4*
ВЕЛМ, 1 мл/кг	ΔV , мл	0,35 (0,26; 0,51)	0,69 (0,56; 0,77)	0,79 (0,73; 0,88)	0,96 (0,87; 0,98)
	АЕА, %	19,2±2,4	15,1±1,3	14,3±2,9	18,7±1,8
СЕЛМ, 1 мл/кг	ΔV , мл	0,30 (0,29; 0,32)	0,48 (0,40; 0,54)	0,56 (0,45; 0,62)	0,67 (0,64; 0,74)
	АЕА, %	38,8±2,6*	41,8±7,2*	48,8±4,4*	37,2±3,3*
ВЕПМ, 1 мл/кг	ΔV , мл	0,44 (0,27; 0,48)	0,72 (0,58; 0,80)	0,88 (0,85; 0,99)	0,92 (0,82; 1,04)
	АЕА, %	17,1±1,5	15,2±1,3	13,1±2,4	16,4±2,1
ЕПМ, 1 мл/кг	ΔV , мл	0,24 (0,22; 0,31)	0,46 (0,44; 0,49)	0,50 (0,46; 0,52)	0,59 (0,51; 0,61)
	АЕА, %	43,1±2,6**/**	46,4±7,2*	49,8±4,4*	47,2±4,2*
Диклофенак натрію, 8 мг/кг	ΔV , мл	0,32 (0,27; 0,40)	0,47 (0,40; 0,61)	0,42 (0,41; 0,47)	0,46 (0,40; 0,50)
	АЕА, %	32,4±3,7*	40,5±5,1*	54,6±4,8*	58,3±4,6*

Примітки:

1. * $p \leq 0,05$ вірогідно щодо тварин контрольної патології;
2. ** $p \leq 0,05$ вірогідно щодо тварин, лікованих диклофенаком натрію;

Так, при використанні ЕПМ в дозі 1 мл/кг антиексудативна дія проявилась з першої години досліду (43,1%), збільшилась на другу (49,4%) та четверту годину експерименту (47,2%).

Слід зазначити, що на першій годині дослідження антиексудативний ефект ЕПМ перевищував дію референс-препарату диклофенаку натрію ($p \leq 0,05$), на другу був порівняний з диклофенаком, проте на 3 та 4 годину він поступався диклофенаку (табл. 4.1).

Середня антиексудативна активність досліджуваних засобів за 4 години дослідження наведена на рис. 4.1.

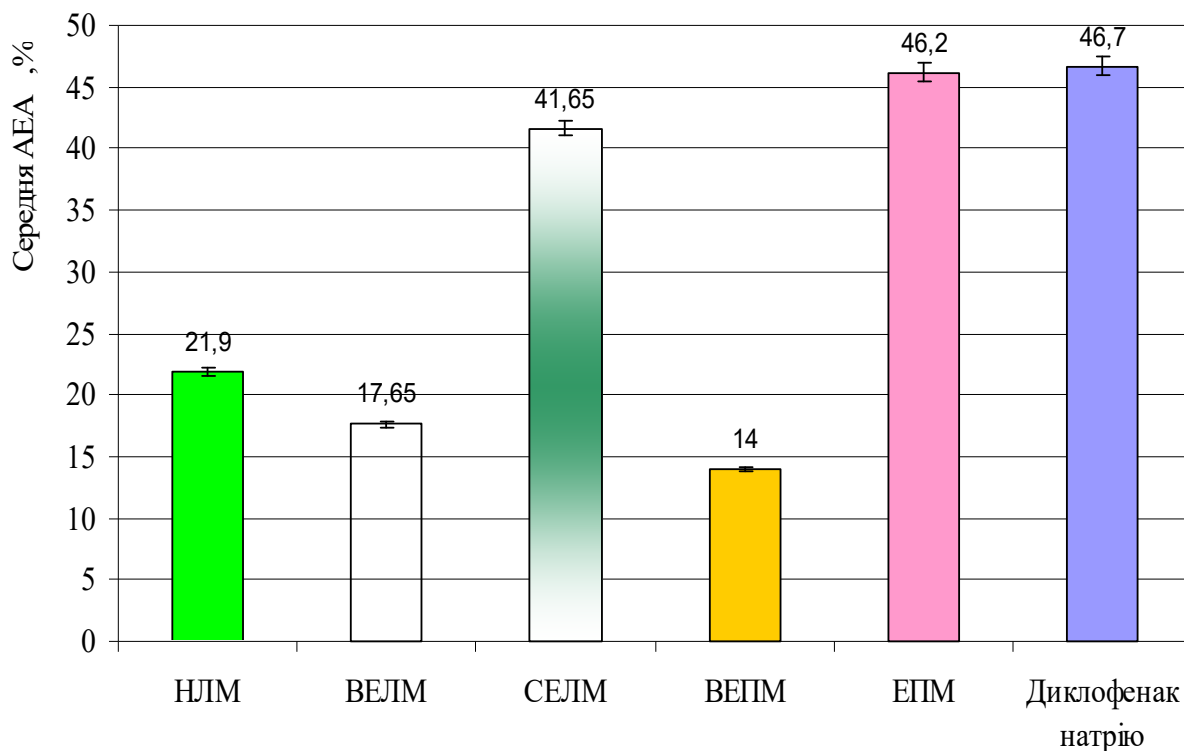


Рис. 4.1 Середня антиексудативна активність екстрактів малини за 4 години дослідження (%)

Встановлено, що сумарна антиексудативна активність за 4 години експерименту дослідних зразків була найбільша у диклофенаку натрію (47,7%) та ЕПМ (46,2%).

На наш погляд відмінність у реалізації протизапальної дії екстрактів обумовлена різним кількісним та якісним складом БАР екстрактів. У листі малини переважають флавоноли, а пагонах – флаван-3-оли (катехіни) [174], які вочевидь, дещо по-різному впливають на перебіг запальної реакції. Проте всім екстрактам притаманний вплив на лейкотриєнову фазу запалення.

Враховуючи все вищенаведене, інші тест-зразки екстрактів малини, окрім ЕМП в подальших дослідженнях ми не застосовували.

4.2 Молекулярний докінг протизапальної і антиоксидантної дії компонентів екстракту пагонів малини звичайної – (+)-катехіну та епікатехіну

Похідні катехінів або флаван-3-олів є об'єктом дослідження багатьох європейських вчених [166, 170, 209]. Це обумовлено тим, що катехіни мають широкий спектр фармакологічної активності: протизапальну, цукрознижувальну, протиракову, антимікробну та кардіопротекторну дію [95, 97, 170]. До похідних катехінів належать епігалокатехін, (+)-катехін, епікатехін, епігалокатехін-3-О-галлат, епікатехін-3-О-галлат [104, 108, 110].

У результаті проведеного нами літературного пошуку було встановлено, що (+)-катехін та епікатехін пригнічують прозапальні цитокіни, такі як: ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-1 β , та ФНП- α [108, 129, 170].

Для розуміння перспективності фармакологічних досліджень екстрактів пагонів малини як потенційних протизапальних засобів, нами було проведено молекулярне моделювання протизапальної активності іонізованої та молекулярної форми (+)-катехіну та епікатехіну (рис. 4.2), оскільки згідно з попередньо проведеними нами дослідженнями ВЕРХ, дані сполуки домінують в екстракті пагонів малини [61, 62].

Для молекулярного моделювання було відібрано 4 прозапальні ферменти [16]: ЦОГ-2, фосфоліпаза A2, 5-ЛОГ та NF-kB.

Оскільки складовою будь-якого запального процесу є окислювальний стрес, нами було також оцінено можливість (+)-катехіну та епікатехіну інгібувати прооксидантні ферменти, такі як: мієлопероксидазу, НАДФН-оксидазу та ксантиноксидазу [16]. Молекулярне моделювання проводили під керівництвом ас. кафедри загальної хімії Маслова О.Ю. та ас. кафедри фармакогнозії та нутриціології НФаУ Комісаренка Н.А., згідно з методикою наведеною в розділі 2.

Результати представлені у табл. 4.2 – табл. 4.4.

Таблиця 4.2

Результати молекулярного докінгу взаємодії іонізованої та молекулярної форми (+)-катехіну, епікатехіну із ЦОГ-2, NF-kB, 5-ЛОГ, фосфоліпазою A2

Сполука	ЦОГ-2		NF-kB		5-ЛОГ		Фосфоліпаза A2	
	ΔG_{bind}	IC50	ΔG_{bind}	IC50	ΔG_{bind}	IC50	ΔG_{bind}	IC50
Епіка-техін	-7,20	0,55	-5,39	42,64	-8,23	0,09	-9,01	0,02
Епіка-техін-аніон	-10,80	0,0011	-5,99	3,82	-9,62	0,008	-9,86	0,0056
(+)-Катехін	-8,40	0,10	-4,82	28,0	-4,55	44,0	-9,34	0,01
(+)-Катехін-аніон	-10,83	0,0011	-5,92	4,33	-9,65	0,008	-9,43	0,0054

Примітки:

1. ΔG_{bind} – енергія вільного зв'язку, ккал/моль;
2. IC50 – доза для 50% інгібування ферменту, мг/1 кг щура.

За результатами нашого дослідження було встановлено, що для пригнічення ЦОГ-2 на 50% необхідна доза (+)-катехіну-аніону та епікатехіну-аніону становить 0,0011 мг/кг, що у 90,0 та 500,0 разів менше, ніж для катехіну та епікатехіну, відповідно.

Для ферменту NF-kB найнижча доза IC50 для інгібування NF-kB була в епікатехіну-аніону, друге місце займав (+)-катехін-аніон, на третьому місці – (+)-катехін, а найвища доза була в епікатехіну (табл. 4.2).

Для інгібування ферменту 5-ЛОГ на 50%, теоретична доза (+)-катехіну-аніону та епікатехіну-аніону становила 0,008 мг/кг, що в 11,0 та 5500,0 разів менше, ніж у (+)-катехіну та епікатехіну, відповідно.

Таблиця 4.3

Результати молекулярного докінгу взаємодії іонізованої та молекулярної форми (+)-катехіну, епікатехіну з НАДФН-оксидазою, мієлопероксидазою, ксантинооксидазою

Сполука	НАДФН-оксидаза		Мієлопероксидаза		Ксантинооксидаза	
	ΔG_{bind}	IC50	ΔG_{bind}	IC50	ΔG_{bind}	IC50
Епікатехін	-7,11	0,59	-5,04	19,42	-7,21	0,50
Епікатехін-аніон	-10,27	0,003	-6,36	1,40	-7,83	0,17
(+)-Катехін	-6,60	1,40	-5,57	7,97	-7,43	0,35
(+)-Катехін-аніон	-7,26	0,45	-6,47	1,69	-7,88	0,16

Примітки:

1. ΔG_{bind} – енергія вільного зв'язку, ккал/моль;
2. IC50 – доза для 50% інгібування ферменту, мг/1 кг щура.

При молекулярному моделюванні інгібування фосфоліпази A2 було встановлено, що доза IC50 для пригнічення ферменту збільшується в наступному порядку: (+)-катехін-аніон (0,0054 мг/кг) < епікатехін-аніон (0,0056 мг/кг) < (+)-катехін (0,01 мг/кг) < епікатехін (0,02 мг/кг).

За даними, які наведено в табл. 4.3 видно, що теоретична доза IC50 для інгібування НАДФН-оксидази (+)-катехіну-аніону та епікатехіну-аніону була більшою у 3,0 та 196,0 разів більшою, ніж їх молекулярної форми, відповідно.

Для мієлопероксидази було встановлено, що найнижча доза IC50 була в епікатехіну-аніону, на другому місці – (+)-катехіну-аніон, на третьому місці – (+)-катехіну, а найвища доза була в епікатехіну.

Для ксантинооксидази було з'ясовано, що доза IC50 для інгібування ферменту збільшується в наступному порядку: (+)-катехін-аніон (0,16 мг/кг) <

епікатехін-аніон (0,17 мг/кг) < (+)-катехін (0,35 мг/кг) < епікатехін (0,50 мг/кг).

Таблиця 4.4

Сумарні теоретичні дози для пригнічення запального процесу епікатехіном, епікатехіном-аніоном, (+)-катехіном, (+)-катехіном-аніоном (мг/кг)

Ферменти	Епікатехін		Епікатехін-аніон		(+)-Катехін		(+)-Катехін-аніон	
	IC50	IC100	IC50	IC100	IC50	IC100	IC50	IC100
ЦОГ-2	0,50	1,00	0,0011	0,0022	0,10	0,20	0,0011	0,0022
NF-kB	42,64	85,24	3,82	7,64	28,0	56,00	4,33	8,66
5-ЛОГ	0,09	0,18	0,008	0,016	44,0	88,0	0,008	0,016
Фосфоліпаза A2	0,02	0,04	0,0056	0,0112	0,01	0,02	0,0054	0,0108
НАДФН-оксидаза	0,59	1,18	0,003	0,006	1,40	2,80	0,45	0,90
Мієлопероксидаза	19,42	38,84	2,05	4,10	7,97	15,94	1,69	3,38
Ксантиноксидаза	0,50	1,00	0,17	0,34	0,35	0,70	0,16	0,32
СУМА	63,76	127,52	6,06	12,12	82,00	164,00	6,64	13,28

У таблиці 4.4 наведено сумарну теоретичну дозу для пригнічення запального процесу на 50% і 100% епікатехіном, епікатехіном-аніоном, (+)-катехіном, (+)-катехіном-аніоном.

Дана доза вираховувалася, як сума доз необхідних для пригнічення основних ферментів запального процесу, а саме ЦОГ-2, NF-kB, 5-ЛОГ, фосфоліпази A2, НАДФН-оксидази, мієлопероксидази і ксантиноксидази.

Доза IC_{50} та IC_{100} для пригнічення запалення склала для (+)-катехіну-аніону та епікатехіну-аніону – 6,64 мг/кг та 13,28 мг/кг, 6,06 мг/кг та 12,12 мг/кг відповідно, а у випадку молекулярних форм – (+)-катехіну та епікатехіну – 82,00 та 164,00 мг/кг, 63,76 та 127,52 мг/кг, відповідно.

Результати проведеного аналізу свідчать, що теоретично розрахована доза іонізованих форм (+)-катехіну для пригнічення запального процесу нижче в 12,0 разів, а епікатехіну – в 11,0 разів, ніж неіонізованих форм. За результатами проведеного докінгу видно, що іонізовані форми (+)-катехіну та епікатехіну здатні інгібувати ферментні структури в 10,0 разів сильніше, ніж молекулярній формі. Найбільший вплив у мінімальних дозах був на фосфоліпазу A2, циклооксигенагу-2, 5-ліпооксигеназу. Ці результати стали підґрунтям створення модифікованого екстракту з L-аргініном.

Таким чином, за результатами дослідження нами було вираховано теоретичну дозу IC_{50} та IC_{100} для пригнічення запального процесу іонізованими та молекулярними формами (+)-катехіну та епікатехіну, що було перевірено у подальших дослідженнях.

Модифікований екстракт пагонів малини, де похідні катехінів були іонізовані слабкими основою – L-аргініном отримав умовну назву «РубусАрг».

4.3 Дослідження протизапальної активності нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини звичайної на моделі карагенінового набряку у щурів

Наступним етапом наших досліджень було оцінити протизапальну дію нативного та модифікованого L-аргініном іонізованого екстракту пагонів малини – РубусАрг та підтвердити розраховану теоретичну дозу препаратів експериментальним дослідженням.

Визначення протизапальної активності екстрактів пагонів малини проводилося на білих щурах-самицях вагою 180-220 г на моделі карагенінового набряку.

Усі тварини були розподілені на 6 груп по 6 тварин у кожній. 1-у групу склали неліковані тварини, яким внутрішньошлунково вводили еквівалентний об'єм води, 2-га група тварин за 1 годину до введення карагеніну отримувала ЕПМ у теоретично розрахованій дозі 26,4 мг/кг на вміст катехінів у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат, 3-й вводили РубусАрг в дозі 6,5 мг/кг маси тварин в перерахунку на вміст катехіну; 4-я отримувала РубусАрг в дозі 13 мг/кг маси тварин в перерахунку на вміст катехіну; 5-та група отримувала катехін у дозі 6,5 мг/кг; 6-та група отримувала диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг.

Відповідно до теоретичних результатів дослідження (табл.4.4) було встановлено, що доза IC_{50} іонізаційних форм (+)-катехіну та епікатехіну склала 6,64 та 6,06 мг/кг, оскільки в екстракті пагонів малини (+)-катехін та епікатехін містяться в рівній частині, тому ми розраховували середню IC_{50} дозу, що становить 6,5 мг/кг, а IC_{100} відповідно – 13,0 мг/кг.

Таким чином, для дослідження ми взяли іонізований екстракт РубусАрг у дозі 6,5 мг/кг та 13,0 мг/кг (у перерахунку на суму катехінів). Для порівняння ми оцінили також ефект нативного екстракту ЕПМ та катехіну. Результати представлені у таблиці 4.5.

Як свідчать результати проведеного досліду, гіпотеза щодо більшої протизапальної активності іонізованої форми катехінів, які входять до складу екстракту РубусАрг та можливостей застосування менших доз БАР для досягнення відповідного фармакологічного ефекту була підтверджена.

На першу годину досліду антиексудативна активність РубусАрг у дозі 13 мг/кг та РубусАрг у дозі 6,5 мг/кг була статистично значуща відносно групи тварин, яким вводили диклофенак натрію і склала 51,5%, 43,25% та 38%, відповідно (тобто перевищувала ефект диклофенаку натрію в 1,35 раз та 1,13 раз, відповідно).

Таблиця 4.5

**Динаміка антиексудативної активності ЕПМ, РубусАрг, катехіну і
референс-препарату диклофенаку натрію на моделі набряку лапи у
щурів, викликаного карагеніном (Median (Q₂₅; Q₇₅))**

Групи тварин		Динаміка розвитку запалення, години...			
		1 год	2 год	3 год	4 год
КП	ΔV, мл	0,44 (0,37; 0,50)	0,88 (0,70; 0,94)	1,07 (0,95; 1,19)	1,18 (1,07; 1,29)
ЕПМ, 26,5 мг/кг	ΔV, мл	0,24* (0,18; 0,31)	0,45* (0,44; 0,47)	0,50* (0,55; 0,56)	0,53* (0,48; 0,59)
	АЕА, %	40,1±2,3	43,4±2,6	52,4±2,4	52,6±2,8
РубусАрг; 6,5 мг/кг	ΔV, мл	0,20* (0,14; 0,35)	0,49*/# (0,42; 0,50)	0,45# (0,43; 0,51)	0,50# (0,49; 0,52)
	АЕА, %	43,2±1,4*	46,4±2,0	60,6±2,0	60,5±2,1
РубусАрг; 13 мг/кг	ΔV, мл	0,18*/# (0,11; 0,28)	0,43* (0,40; 0,44)	0,44 (0,40; 0,48)	0,45 (0,37; 0,52)
	АЕА, %	51,3±2,4*/#	48,2±2,1	57,1±1,8	61,4±3,5
Катехін; 6,5 мг/кг	ΔV, мл	0,34* (0,32; 0,34)	0,63 (0,54; 0,66)	0,86 (0,77; 0,87)	0,97 (0,83; 0,99)
	АЕА, %	24,1±1,2	23,1±1,9	23,2±1,8	19,2±1,1
Диклофенак натрію, 8 мг/кг	ΔV, мл	0,25 (0,23; 0,27)	0,38 (0,36; 0,45)	0,39# (0,28; 0,40)	0,41# (0,25; 0,49)
	АЕА, %	33,2±1,3	48,3±3,5	65,0±3,9#	63,1±3,9

Примітки:

1. * – $p \leq 0,05$ вірогідно щодо тварин групи диклофенаку натрію;
2. # – $p \leq 0,05$ вірогідно щодо тварин групи катехіну.

Антиексудативна активність модифікованого L-аргініном екстракту РубусАрг в дозі 13 мг/кг (IC_{100}) на 1-годину досліджу була в 1,28 більша, ніж нативного екстракту ЕПМ, проте в дозі 6,5 мг/кг (IC_{50}) вони були співмірні.

Ефективність ЕМП на першу годину досліджу в 1,2 раза була вища, ніж диклофенаку натрію ($p \leq 0,05$) проте з 3-ї та 4-ї години досліджу диклофенак був в 1,2 раза активнішим.

Дані проведеного нами докінг-аналізу показали, що для пригнічення запального процесу індукованого ліпооксигеназою (див. розділ. 4.2), сумарні теоретичні дози (IC_{50} та IC_{100}) епікатехіном-аніоном та (+)-катехіном-аніоном є однаковими та становлять 0,008 та 0,016 (табл. 4.4).

Це, на наш погляд пояснює майже ідентичну дію РубусАрг та ЕПМ на 1 годину набряку Враховуючи те, ліпооксигеназний каскад сприяє утворенню не тільки лейкотриєнів, які є потужними активаторам запалення та алергії, але й сприяє утворенню хемотоксичних пероксидів та гідропероксидів жирних кислот [3], антилейкотриєновий механізм є важливою складовою антиексудативної дії екстрактів РубусАрг та ЕПМ.

На другій годині набряку, коли переважає дія гістаміну та кінінів, ефективність усіх дослідних екстрактів та референс-препарату була практично однаковою, що свідчить про спільні механізми протинабрякової дії на цій фазі запалення.

Починаючи з 3 години досліджу починаються відмінності в ефективності дії екстрактів та препарату порівняння. На цей час припадає простагландинова фаза ексудативного запалення [16]. Максимальну активність на 3-й та 4-й годині досліджу показав диклофенак натрію, який є потужним інгібітором ЦОГ-1 та ЦОГ-2, що зменшує утворення простагландинів. Його антиексудативна активність склала 65% та 61,1%, відповідно.

Для РубусАрг в обох дозах, що були досліджені, також встановлено антипростагландиновий ефект, про що переконливо свідчить зменшення процесів ексудації на 3 та 4 годині досліджу (табл. 4.5).

Слід зазначити, що для РубусАрг нами очікувалось лінійна залежність «доза-ефект» щодо пригнічення запалення. Проте дослідження показало, що і на 3-ю і на 4-ту години набряку суттєвих переваг у РубусАрг в розрахованій дозі IC_{100} по відношенню до дози IC_{50} не було (табл. 4.5). Антиексудативна активність РубусАрг в дозі 13 мг/кг та 6,5 мг/кг майже не відрізнялась, що свідчить про те, що в реалізації антинабрякової дії екстрактів має значення не тільки вміст катехінів, але й інші складові екстракту.

Антиексудативна дія ЕПМ була на 7% менша, ніж РубусАрг та диклофенаку натрію, проте вона була достатньою для пригнічення набряку на 52%. Доза, в якій виявився антиексудативний ефект ЕПМ була в 4 рази вища, ніж РубусАрг. Антиексудативний ефект ЕПМ та РубусАрг в обох досліджуваних дозах з 2-ї години дослідів був вірогідно вищий, ніж катехіну, що свідчить про комплексний вплив БАР екстрактів на перебіг запальної реакції.

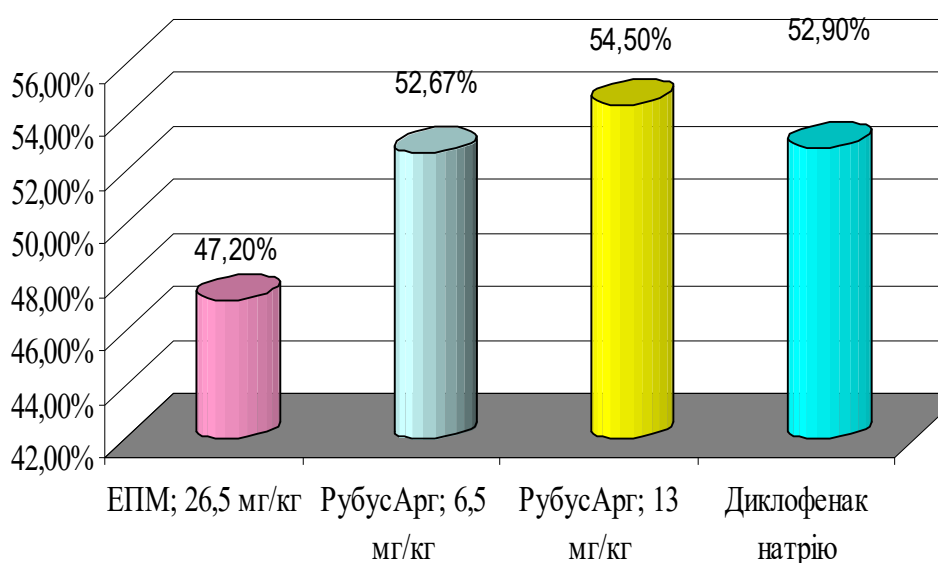


Рис. 4.2 Середня антиексудативна активність нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів малини при карагеніновому набряку у щурів за 4 години дослідів (%)

Сумарна антиексудативна активність нативного екстракту пагонів малини та його модифікації з L-аргініном наведено на рис. 4.2.

Встановлено, що ефективність модифікованого L-аргініном екстракту пагонів малини за умов карагенінового набряку в обох досліджених дозах дорівнювала активності диклофенаку натрію (рис. 4.2).

З'ясовано, що РубусАрг в дозі 13 мг/кг та 6,5 мг/кг чинять практично однакову антиексудативну дію, хоч за даними молекулярного докінгу протизапальної активності були відмінності теоретично розрахованих доз для пригнічення основних чинників формування запального процесу: ЦОГ-2, NF- κ B, 5-ЛОГ, фосфоліпази A2 та ін. (див. табл. 4.4), що свідчить про необхідність практичного підтвердження теоретичних розрахунків.

Враховуючи те, що антиексудативна активність РубусАрг в дозі 6,5 мг/кг була 52,6%, при проведенні інших досліджень ми будемо застосовувати її як ЕД₅₀ за протизапальною активністю.

4.4. Вплив нативного та модифікованого L-аргініном екстракту пагонів малини звичайної за умов зимозанового набряку у щурів

Наступним етапом наших досліджень стало вивчення впливу нативного та модифікованого L-аргініном екстракту пагонів малини на перебіг зимозанового набряку у щурів. Як відомо, зимозан запускає ранню стадію запальної реакції через LTB₄, які стимулюють хемотаксис, сприяють активації нейтрофілів, збільшують проникність судин [16]. Результати дослідження наведено в табл. 4.6. та рис. 4.3. Усі тварини були розподілені на 6 груп по 6 тварин у кожній. 1-й групі вводили за 1 годину до введення зимозану ЕПМ, 2-й вводили РубусАрг, 3-я група отримувала кверцетин у дозі 50 мг/кг, 4-та отримувала диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг, 5-та група отримувала катехін у дозі 6,5 мг/кг. 6-ту групу склали неліковані тварини, яким внутрішньошлунково вводили еквівалентний об'єм води.

Отримані в результаті експерименту дані свідчать, що максимальні значення набряку в групі контрольної патології спостерігали у першу годину дослідження (лейкотриєнова фаза), на 2 годині суттєвого збільшення набряку не

біло, а на 3 годині спостерігалось збільшення набряку на 26%, коли до генезу набряку стались залучатись простагландини.

Таблиця 4.6

**Антиексудативна активність екстрактів пагонів малини, катехіну і
референс-препаратів за умов зимозанового набряку у щурів
($M \pm m$, $n = 6$)**

Групи тварин		Динаміка розвитку запалення, години...			
		0,5	1 год	2 год	3 год
Контрольна патологія (КП)	ΔV , мл	$0,68 \pm 0,15$	$1,06 \pm 0,18$	$1,06 \pm 0,09$	$1,37 \pm 0,18$
ЕПМ, 26,4 мг/кг	ΔV , мл	$0,36 \pm 0,02^*/\#/**/\diamond$	$0,51 \pm 0,01^*/\#/**/\diamond$	$0,51 \pm 0,06^*/\#/**/\diamond$	$0,57 \pm 0,05^*$
	АЕА, %	47	52	51	58
РубусАрг, 6,5 мг/кг	ΔV , мл	$0,33 \pm 0,03^*/\#/**/\diamond$	$0,43 \pm 0,02^*/\#/**/\diamond$	$0,49 \pm 0,04^*/\#/**/\diamond$	$0,54 \pm 0,05^*$
	АЕА, %	51	60	54	61
Катехін, 6,5 мг/кг	ΔV , мл	$0,47 \pm 0,06^*$	$0,64 \pm 0,08$	$0,71 \pm 0,08$	$0,85 \pm 0,09$
	АЕА, %	31	39	33	38
Кверцетин, 50 мг/кг	ΔV , мл	$0,42 \pm 0,03^*$	$0,60 \pm 0,03^*$	$0,76 \pm 0,05$	$0,88 \pm 0,09$
	АЕА, %	38	43	33	36
Диклофенак натрію, 8 мг/кг	ΔV , мл	$0,63 \pm 0,03$	$0,91 \pm 0,07$	$0,79 \pm 0,05$	$0,74 \pm 0,05^*$
	АЕА, %	7	14	26	46

Примітки:

- 1.* $p \leq 0,05$ – вірогідно щодо тварин групи КП;
2. # $p \leq 0,05$ – вірогідно щодо тварин групи диклофенаку натрію, 8 мг/кг ;
3. ** $p \leq 0,05$ – вірогідно щодо тварин групи кверцетину, 50 мг/кг;
4. $\diamond$ $p \leq 0,05$ – вірогідно щодо тварин групи катехіну, 6,5 мг/кг.

Встановлено, що ЕПМ та РубусАрг вірогідно зменшують інтенсивність набряку, спричинену введенням зимозану.

Так, через 30 хвилин після введення зимозану в групі тварин, яким вводили ЕПМ набряк був меншим в 1,8 раза, а через 1 годину – в 2 раза порівняно з групою контрольної патології, на 2-й години ситуація не змінилась, а з 3-ї години ЕПМ зменшив набряк в 2,4 рази порівняно з групою КП (табл. 4.6).

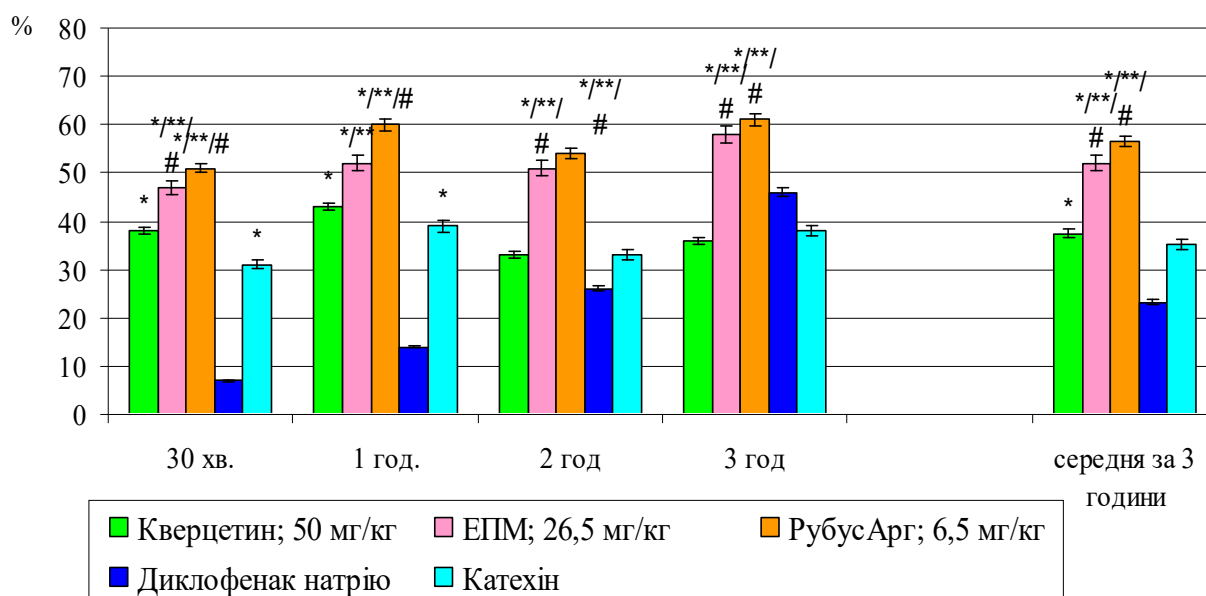


Рис. 4.3 Антиекудативна активність ЕПМ, РубусАрг, катехіну та препаратів порівняння за умов зимозанового набряку у щурів (%)

Примітки:

- 1.* - $p \leq 0,05$ вірогідно щодо тварин групи диклофенака натрія;
2. ** - $p \leq 0,05$ вірогідно щодо тварин групи катехіна;
3. # - $p \leq 0,05$ вірогідно щодо тварин групи кверцетина.

Використання РубусАрг було ще ефективнішим: набряк зменшився в 2 раза (30 хвилина), 2,4 раза (1 година), 2,16 раза (2-а година) та 2,5 раза (3-я година) порівняно з групою КП.

На фоні використання катехіну набряк порівняно з групою КП бум меншим у 1,4 раза (30 хвилина), 1,6 раза (1 година), 1,5 раза (2-а година) та 1,6 раза.

При використанні референс-препарату кверцетину максимальний ефект спостерігався на 30-ту хвилину (зменшення набряку в 1,6 раза) та 1 годину (зменшення набряку в 1,7 раза), а надалі ефект препарату зменшувався.

Найменша антиексудативна активність на першій годині досліджу була у диклофенаку натрію (табл. 4.5), проте на 3-й години досліджу він вірогідно зменшив набряк в 1,85 раза.

За ступенем інгібування набряку РубусАрг був в 1,3 раза (30 хвилина) та 1,4 раза (1 година) ефективнішим порівняно з кверцетином ($p \leq 0,05$), ЕПМ в 1,2 раза ефективніше, ніж кверцетин зменшував прояви набряку, як на 30 хвилині ($p \leq 0,05$), так і через 1 годину (рис. 4.3).

Також вони були більш ефективними за катехін, що свідчить про те, що в реалізації антиексудативної дії РубусАрг та ЕПМ (табл. 4.6).

За ступенем зменшення набряку ЕПМ та РубусАрг статистично значуще (в середньому у 2,4 раза) перевищували протинабряковий ефект у відносно групи тварин, яким застосовували диклофенак натрію.

Слід зазначити, що наявність у ЕПМ та РубусАрг антиексудативного ефекту на 2 годину досліджу свідчить про інгібувальний вплив на калекреїнінову систему [16]. За ступенем зменшення процесу ексудації при зимозановому набряку, активність сполук змінювалась таким чином: РубусАрг > ЕПМ > кверцетин > катехін > диклофенак натрію.

Таким чином, дослідження підтвердило результати молекулярного докінгу з визначення протизапальної активності екстрактів пагонів малини та їхньої антилейкотриєнової дії.

Вочевидь, зменшення зимозанового набряку при використанні екстрактів пагонів малини обумовлено наявністю у їх складі флавоноїдів, для яких притаманна властивість пригнічувати активність ЛОГ [44].

Таким чином, результати проведених досліджень довели високу антиексудативну активність РубусАрг та ЕПМ.

Висновки до розділу 4

1. Проведено порівняльне дослідження протизапальних властивостей водно-спиртових та водних екстрактів пагонів малини з водно-спиртовими та водними екстрактами листя малини показало більш високу антиексудативну активність 60% водно-спиртового екстракту пагонів малини. На моделі карагенінового набряку встановлено, що за антиексудативною активністю ЕПМ вірогідно перевищував протинабрякові ефекти як екстрактів листя малини, так і водного екстракту пагонів малини.

На першій годині дослідження антиексудативний ефект ЕПМ вірогідно перевищував дію препарату порівняння диклофенаку натрію ($p \leq 0,05$), на другу годину – був порівняний з диклофенаком натрію, проте на третю та четверту годину він йому поступався.

2. Для підтвердження гіпотези щодо більшої фармакологічної активності іонізованих форм катехінів, які є переважальними компонентами екстракту пагонів малини, був проведений молекулярний докінг потенційної протизапальної активності іонізованої та молекулярної форми (+)-катехіну та епікатехіну за впливом на основні ферменти – модулятори запального процесу – фосфоліпазу А2, циклооксигеназу-2 (ЦОГ-2), 5-ліпооксигеназу (5-ЛОГ). Встановлено, що іонізовані форми (+)-катехіну та епікатехіну здатні інгібувати ферментні структури в 10 разів сильніше, ніж в молекулярній формі. Модифікований екстракт пагонів малини, в якому похідні катехінів були іонізовані слабкою основою – L-аргініном отримав умовну назву «РубусАрг».

3. Порівняльний аналіз антиексудативної дії розрахованих доз РубусАрг порівняно з ЕПМ показав, що його антиексудативний ефект на 5,7% (доза 6,5 мг/кг у перерахунку на вміст катехіну) та на 7,3% (доза 13 мг/кг у перерахунку

на вміст катехіну) перевищував ефект ЕПМ (доза 26,4 мг/кг у перерахунку на вміст епігалокатехін-3-О-галату), проте доза, в якій виявився антиексудативний ефект ЕПМ була в 4 рази вища, ніж РубусАрг.

У першу годину експерименту антиексудативний ефект РубусАрг та ЕПМ був вірогідно вищим за ефект диклофенаку натрію; з 2-ї години досліджувані протинабрякова дія ЕПМ та РубусАрг в обох досліджуваних дозах була вірогідно вища, ніж катехіну. Це свідчить про комплексний вплив БАР екстрактів пагонів малини на перебіг запальної реакції шляхом впливу як на лейкотриєнову, так і на простагландинову фазу запалення.

4. При зимозановому набряку лапи у щурів встановлено, що РубусАрг в 1,3 рази (30 хвилина), в 1,4 рази (1 година), а ЕПМ в 1,2 рази були ефективнішими, ніж препарат порівняння кверцетин ($p \leq 0,05$) та в середньому в 2,4 рази перевищували протинабряковий ефект відносно групи тварин, яким застосовували диклофенак натрію ($p \leq 0,05$).

За ступенем зменшення процесу ексудації при зимозановому набряку, активність сполук змінювалась таким чином: РубусАрг > ЕПМ > кверцетин > катехін > диклофенак натрію. Це підтверджує антилейкотриєн-обумовлений механізм протизапальної дії ЕПМ та РубусАрг.

Результати проведених досліджень довели високу антиексудативну активність РубусАрг та ЕПМ

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Anti-inflammatory properties of raspberry shoot extract / L. V. Derymedvid, D. O. Horopashna, K. O. Kalko, O. Ya. Mishchenko, I. V. Okipniak, A. M. Komissarenko, M. A. Komisarenko, T. V. Sevastianova. *Pharmacologyonline*. 2021. Vol. 2. P. 657-662. (Scopus Q4).

2. Investigation the influence of biologically active compounds on the antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities of red raspberry (Rubus

idaeus L.) leaf extract / O. Maslov, M. Komisarenko, S. Ponomarenko, D. Horopashna, T. Osolodchenko, S. Kolisnyk, L. Derymedvid, Z. Shovkova, E. Akhmedov. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2022. Vol. 35, No. 4, Pages 229-235 DOI: : <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0040> (Scopus Q4).

3. Theoretical and practical development of the chemical composition and technological production of a *Rubus idaeus* leaves extract with meglumine possessed anti-inflammatory effect / O. Maslov, M. Komisarenko, D. Horopashna, S. Kolisnyk, L. Derymedvid, A. Komissarenko. *Phytotherapy Journal*. 2024. No. 4. P. 143–155. DOI: <https://doi.org/10.33617> (Scopus Q4).

4. Antioxidant activity of red raspberry shoots (*Rubus idaeus* L.) liquid extracts / O. Maslov, M. Komisarenko, D. Horopashna, O. Tkachenko, L. Derymedvid, S. Kolisnyk, O. Kolisnyk. *Herba Polonica*. 2023. Vol. 69(4):45-53. DOI: 10.5604/01.3001.0054.1658 .

5. Спосіб одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з L-аргініном : пат. 157904 Україна. № u202403321 ; заявл. 24.06.2024 ; опубл. 11.12.2024, Бюл. № 50.

6. Спосіб одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з листя малини звичайної з L-аргініном : пат. 158347 Україна. № u202403413 ; заявл. 01.07.2024 ; опубл. 22.01.2025, Бюл. № 4.

7. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the phospholipase A2 enzyme / O. Yu. Maslov et al. *Youth pharmacy science* : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 18–19.

8. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-, epicatechin, and their ionized forms with the 5-lipoxygenase enzyme / O. Maslov et al. *Youth pharmacy science* : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 19–20.

9. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the nuclear factor KB enzyme / O. Maslov

et al. *Youth pharmacy science* : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 20–21.

10. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the cyclooxygenase-2enzyme / O. Maslov et al. *Youth pharmacy science* : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С.21–22.

11. Горопашна Д.О., Деримедвідь Л.В. Порівняльний аналіз ефективності нативного та модифікованого L- аргініном екстракту пагонів малини за умов зимозанового набряку у щурів. *Research in Science, Technology and Economics: Collection of Scientific Papers "International Scientific Unity" with Proceedings. 2nd International Scientific and Practical Conference. March 5-7, 2025. Luxembourg, Luxembourg. P. 65-66.*

РОЗДІЛ 5

ДОСЛІДЖЕННЯ КАРДІОПРОТЕКТОРНИХ ТА НЕЙРОТРОПНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ НАТИВНОГО ТА МОДИФІКОВАНОГО L-АРГІНІНОМ ЕКСТРАКТІВ ПАГОНІВ МАЛИНИ

5.1. Вивчення кардіопротекторної дії нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини за умов адреналін-гидрокортизонового інфаркту міокарда у щурів

Серцево-судинні захворювання займають одне із провідних місць в структурі загальної захворюваності населення [34]. Для лікування багатьох захворювань серцево-судинної системи широко застосовують фітозасоби [47. 48].

Метою даного фрагменту роботи було оцінити ефективність застосування ЕПМ та РубусАрг за умов адреналін-гидрокортизонового інфаркту міокарда у щурів [2].

Досліди проводили на білих безпородних щурах вагою 180-220 г, які були розділені на такі групи: тварини, які отримували розчинник (ізотонічний розчин NaCl) – плацебо- контроль (ПК), група контрольної патології (КП), якій викликали адреналін-гидрокортизоновою інфаркт міокарда; група щурів з контрольною патологією, лікована катехіном у дозі 6,5 мг/кг; група тварин з введенням ЕПМ (у дозі 26,5 мг/кг у перерахунку на катехін; група тварин з введенням РубусАрг (у дозі 6,5 мг/кг у перерахунку на катехін); група щурів з контрольною патологією, лікована кверцетином у дозі 20,5 мг/кг.

Досліджувані сполуки та препарат порівняння вводили в лікувально-профілактичному режимі впродовж 14 днів [2].

Результати експерименту наведено в табл. 5.1 і табл. 5.2 та на рис. 5.1 і рис. 5.2.

Встановлено, що 7-денне введення адреналіну гідрохлориду та гідрокортизону ацетату викликає летальні наслідки у тварин. 30% тварин контрольної патології загинуло під час проведення досліду.

Використання досліджуваних сполук сприяло збільшенню виживання піддослідних тварин, причому в групі РубусАрг ні одна тварина не загинула (100% виживання), в групі ЕПМ загинула 1 тварина (90% виживання), а для груп тварин, лікованих катехіном або кверцетином виживання склало 80% (рис. 5.1).

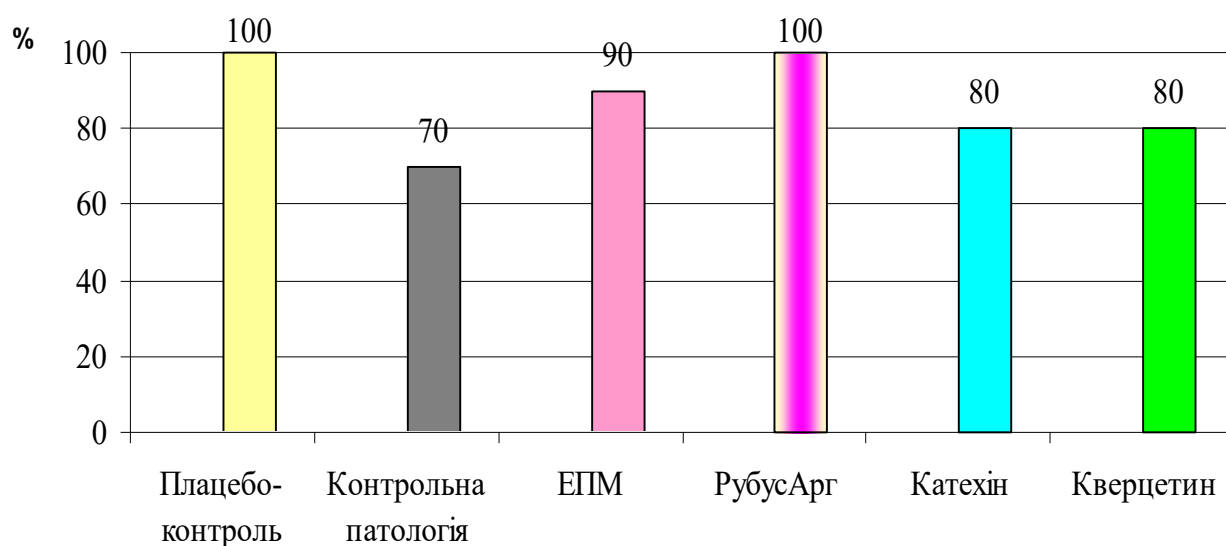


Рис. 5.1. Вивікання тварин з адреналін-гідрокортизоновим інфарктом мілкарду на фоні застосування ЕПМ, РубусАрг, катехіну та кверцетину (%)

При оцінці ефективності досліджуваних об'єктів, по-перше, було проаналізовано результати зміни рівня загального білку, сечовини та молекул середньої маси (МСМ) (загальні маркери інтоксикації) у сироватці крові щурів (табл. 5.1), а також вміст головного маркера ліпоперекисного окиснення – 8-ізопростану (рис. 5.2).

Експериментально доведено, що адреналін-гідрокортизонове ураження міокарда в своєму розвитку має вільнорадикальну ланку. Про це переконливо свідчить вірогідне ($p \leq 0,01$) зростання рівню 8-ізопростану в 6,8 раза в

сироватці крові та в 8,3 раза в гомогенаті серця порівняно з групою плацебо-контролю (рис. 5.2).

Встановлено, що в групі плацебо-контролю середній рівень загального білка, сечовини та МСМ був $45,10 \pm 1,57$ г/л, $6,62 \pm 1,65$ ммоль/л, $0,105 \pm 0,008$ у.о., відповідно. Загальний стан тварин протягом дослідю був нормальним.

Введення піддослідним тваринам адреналіну та гідрокортизону призвело до погіршення загального стану щурів та маніфестувалося значним і достовірним у порівнянні з групою ПК підвищенням рівня МСМ та сечовини у сироватці крові, а саме у 5,42 раза та в 1,7 раза (приблизно на 70%), відповідно.

Таблиця 5.1.

Зміна рівня біохімічних показників сироватки крові щурів при адреналін-гідрокортизоновому інфаркті міокарда у щурів ($M \pm m$)

Групи тварин	Показники		
	Загальний білок, г/л	Сечовина, ммоль/л	МСМ, у.о.
Плацебо-контроль	$45,10 \pm 1,57$	$6,62 \pm 1,65$	$0,105 \pm 0,008$
Контрольна патологія	$47,64 \pm 1,10$	$11,24 \pm 1,04^*$	$0,569 \pm 0,019^*$
Катехін	$49,25 \pm 2,23$	$9,48 \pm 0,69$	$0,309 \pm 0,015^{**}$
ЕПМ	$50,82 \pm 2,47$	$9,10 \pm 0,56$	$0,20 \pm 0,015^{**}$
РубусАрг	$49,79 \pm 1,01$	$9,07 \pm 0,79$	$0,233 \pm 0,029^{**}$
Кверцетин	$47,81 \pm 2,23$	$9,03 \pm 0,43$	$0,217 \pm 0,013^{**}$

Примітки:

1. * $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою плацебо-контролю;
2. ** $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою контрольної патології.

Проте, рівень загального білка майже не зазнав змін, підвищившись лише приблизно на 6%. Доречно відмітити, що в даному експерименті цей показник взагалі практично не зазнавав змін, оскільки різниця його значень між групами в жодному разі не перевищувала 7%.

Також варто зазначити, що серед цих трьох названих показників у всіх лікованих групах спостерігалось вірогідне зменшення лише рівня показника інтоксикації – рівня МСМ у порівнянні з групою нелікованих тварин (табл. 5.1).

При застосуванні в лікувально-профілактичному режимі на тлі модельної патології субстанції порівняння – катехіну, біохімічні показники дещо покращилися у порівнянні з групою контрольної патології. Так, було відмічене достовірне зниження (на 45,7%) рівня МСМ, але зниження рівня сечовини було досить слабо виражене, тому що склало лише 15,7%. Проте застосування катехіну в лікувально-профілактичному режимі сприяло вірогідному зменшенню рівня 8-ізопростану в 1,3 раза в крові та 1,16 раза в гомогенаті серця (рис. 5.2)

Введення наступній групі щурів з модельованим інфарктом міокарда досліджуваного ЕПМ показало, що в цьому випадку у тварин відбувається зниження рівня сечовини на 19% та рівня МСМ – на 64,85% порівнянно з групою контрольної патології. Вміст 8-ізопростану в гомогенаті серця зменшився в 1,4 раза, а в сироватці крові в 1,43 раза ($p \leq 0,05$).

Лікування адреналін-гідрокортизонового інфаркту міокарда у щурів за допомогою РубусАрг викликало зниження рівня МСМ та сечовини на 59% і 19%, відповідно, у порівнянні з показниками групи контрольної патології. Рівень 8-ізопростану вірогідно зменшився в 2,0 раза в сировотці крові та в 1,83 раза в гомогенаті серця щурів (рис. 5.2).

Використання у лікувально-профілактичному режимі препарату порівняння кверцетину на фоні модельної патології також спричинило терапевтичний ефект, знизивши рівні досліджуваних показників сироватки

крові щурів – сечовини та МСМ – на 19,7% та 61,9%, відповідно, а 8-ізопростану – в 1,54 рази в сировотці крові та 1,32 раз в гомогенаті (рис. 5.2).

Слід зазначити, що вплив на рівень 8-ізопростану для РубусАрг, ЕПМ та кверцетину був вірогідно значимим ($p \leq 0,05$) порівнянно з катехіном, а РубусАрг, ЕПМ вірогідно значимим ($p \leq 0,05$) порівнянно з кверцетином (рис. 5.2).

Таблиця 5. 2.

Зміна рівня біохімічних показників сироватки крові за адреналін-гідрокортизонового інфаркту міокарда у щурів ($M \pm m$)

Групи тварин	Показники			
	Каталаза, мкмоль/(хв*л)	АсАТ, мккат/л	КФК-МВ, мккатал/л	ЛДГ ₁ , мккат/л
Плацебо - контроль	36,60 ± 4,02	0,53 ± 0,02	0,00±0,00	0,973 ± 0,035
Контрольна патологія	87,26 ± 16,50*	0,78 ± 0,04*	3,2± 0,3*	5,92 ± 0,152*
ЕПМ	35,65 ± 4,37**	0,63 ± 0,04**	0,93±0,11**/◇	1,35 ± 0,066 **/#/◇
РубусАрг	33,37 ± 5,85**	0,60 ± 0,03**	0,75±0,09**/#/◇	1,23 ± 0,08 **/#/◇
Кверцетин	25,45 ± 4,22**	0,73 ± 0,02	1,15±0,09**/◇	1,63 ± 0,10 **/◇
Катехін	41,25 ± 5,14**	0,65 ± 0,04	2,25±0,12**	1,96 ± 0,072**

Примітки:

1. * $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою тварин плацебо- контролю;
2. ** $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою тварин контрольної патології;
3. # $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою тварин, лікованою кверцетином;
4. ◇ $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою тварин, лікованих катехіном.

Також нами було проаналізовано зміни активності (табл. 5.2) певних ферментів (каталаза, АсАТ, КФК-МВ та ЛДГ₁ – маркерів антиоксидантного захисту, цитолізу, органоспецифічних «кардіальних» ферментів, відповідно) у сироватці крові, викликаних досліджуваними фармакологічними препаратами та референтними засобами.

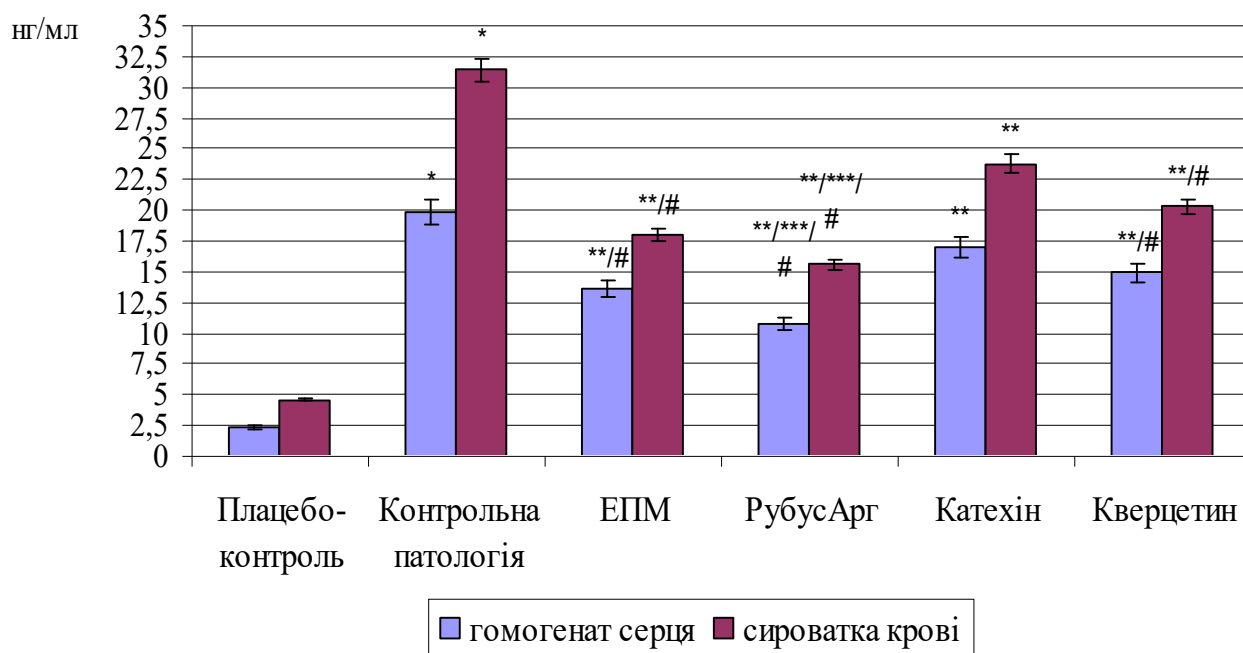


Рис. 5.2 Зміни рівня 8-ізопростану в гомогенаті міокарда та в сироватці крові під впливом ЕПМ та РубусАрг на тлі адреналін-гидрокортизонового інфаркту міокарда у щурів

Примітки:

1. * $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою плацебо- контролю;
2. ** $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою контрольної патології;
3. *** $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою тварин, лікованою кверцетином;
4. # $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою тварин, лікованою катехіном.

Встановлено, що дана патологія супроводжувалася вірогідним підвищенням активності каталази у 2,38 раза, АсАТ – майже у 1,5 раза, а

кардіоспецифічні до інфаркту міокарда показники ЛДГ₁ та КФК-МВ зросли в 6,08 раза та у 5,2 раза, відповіно у порівнянні з групою ПК.

Застосування катехіну, на тлі модельної патології призвело до достовірного зниження активності каталази та ЛДГ₁ у порівнянні з групою нелікованих тварин, а саме на 52,73% та на 66,96%, відповідно. Вірогідно порівняно з нелікованими тваринами зменшився на 29,6% рівень КФК-МВ ($p \leq 0,05$). Проте, активність АсАТ зменшилась на 16,67% ($p \geq 0,05$).

Слід зазначити, що введення досліджуваних екстрактів пагонів малини – ЕПМ та РубусАрг, викликало вірогідні позитивні зміни за всіма вивченими показниками, наведеними в табл. 5.2 та рис. 5.2, порівняно з групою контрольної патології.

Так, застосування у лікувально-профілактичному режимі ЕПМ спричинило зменшення активності таких ферментів, як каталаза, АсАТ, ЛДГ₁ на 59,15%, 19,23%, 77,16%, відповідно, відносно групи нелікованих тварин з модельною патологією. На тлі застосування ЕПМ на 70,9% зменшився рівень КФК-МВ ($p \leq 0,01$).

При лікуванні адреналін-гідрокортизнового інфаркту міокарда за допомогою РубусАрг було встановлено, що активність досліджуваних ферментів в сироватці крові у порівнянні з групою контрольної патології зменшилась таким чином: активність каталази знизилась на 61,76%, а активності АсАТ та ЛДГ₁, відповідно, покращилися на 23,08% та 79,22%.

Застосування РубусАрг вірогідно зменшило рівень КФК-МВ ($p \leq 0,01$) по відношенню до нелікованих тварин (на 76,5%). Слід зазначити, що за ступенню впливу на КФК-МВ активність РубусАрг була вірогідно вища, ніж катехіну та кверцетину ($p \leq 0,05$).

Використання препарату порівняння кверцетину викликало достовірне зниження в сироватці крові щурів активності таких ферментів, як каталаза та ЛДГ₁, на 70,83% та 72,47%, відповідно, порівняно з групою контрольної патології. Вірогідно зменшився і рівень КФК-МВ (на 64% порівняно з

нелікованим контролем). Крім цього, зміна рівня ЛДГ₁ під впливом кверцетину була також достовірно кращою порівняно з групою, лікованих катехіном. Однак, вплив кверцетину на активність АсАТ виявився зовсім незначним (зниження лише на 6,41%) та недостовірним.

Узагальнюючи отримані результати, можна зробити висновок, що розвиток модельної кардіопатології – інфаркту міокарда, у щурів, викликаного застосуванням протягом адреналіну у поєднанні з гідрокортизоном, спричинив як зовнішнє погіршення загального стану тварин, так і внутрішні зміни, які включали органоспецифічні (безпосередньо в ураженому органі – серці) та загальноорганні (у сироватці крові) зміни певних показників.

У даному фрагменті нашого дослідження оцінювались саме зміни показників сироватки крові щурів, які своїм підвищенням у порівнянні з тваринами групи плацебо-контролю при відтворенні експериментального інфаркту міокарда свідчили про розвиток патологічного процесу, що маніфестувався активацією процесів цитолізу, дестабілізації клітинних мембран, окислювального стресу, ішемії та гіпоксії, загальної інтоксикації.

Застосування досліджуваних та референтних засобів зумовлювало пригнічення перебігу патологічного процесу різною мірою. Найзначніший терапевтичний ефект викликав РубусАрг, оскільки в групі експериментальних тварин, лікованих за допомогою РубусАрг, спостерігалися найбільш виражені позитивні зміни за всіма дослідженими показниками. Лише незначно йому поступалася ефективність ЕПМ за даними показниками на дослідженій моделі.

Це може бути пояснене наявністю у складі РубусАрг 15% аргініну, який, вочевидь, доповнює та підсилює дію ЕПМ. А вплив катехіну та кверцетину на перебіг експериментального адреналін-гідрокортизонового інфаркту міокарда у щурів був виражений загалом (за виключенням впливу на активність ЛДГ₁) приблизно однаковою мірою, при цьому поступаючись ефективністю обом досліджуваним засобам на основі екстракту малини.

Таблиця 5.3

Вплив досліджуваних препаратів на показники ЕКГ при адреналін-гідрокортизоновому інфаркті міокарда в щурів ($M \pm m$)

Показники	Групи тварин					
	Плацебо-контроль	Контроль-на патологія	ЕПМ	РубусАрг	Катехін	Кверцетин,
ЧСС, уд./хв	395,50±15,65	560,23±10,5*	460,0±20,16**	440,25±25,3**	470,30±20,0	450,25±25,50**
PQ,с	0,045±0,002	0,025±0,002*	0,040±0,01	0,040±0,01	0,040±0,001	0,040±0,001
QRS,с	0,02±0,001	0,02±0,001	0,020±0,003	0,015±0,001	0,015±0,002	0,017±0,002
QT,с	0,09±0,001	0,050±0,004	0,07±0,01	0,08±0,01	0,06±0,003	0,07±0,003
R,мв	0,55±0,06	0,38±0,04*	0,35±0,002**	0,55±0,08**	0,155±0,002	0,52±0,073**
P,мв	0,097±0,013	0,04±0,006*	0,10±0,02	0,08±0,02	0,05±0,02	0,05±0,02
T, мв	0,145±0,02	0,08±0,01*	0,140±0,05**	0,150±0,03**	0,140±0,03**	0,15±0,02**
СП,%	48,75±10,65	35,5±2,8*	56,35±5,3**	55,65±5,3**	40,50±5,5	42,50±1,80**
Зміщення ST, мм від ізолінії	1,4÷0,16	-0,45÷0,32*	1,0÷0,1* *	1,0÷0,1**	1,0÷0,1**	1,0÷0,1**

Примітки:

1. * $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою плацебо-контролю;
2. ** $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою контрольної патології;

3. ST – відхилення ST від ізолінії.

Вочевидь вищезазначені зміни обумовлені зменшенням інтенсивності процесів ВРО при застосуванні досліджуваних препаратів. Про що переконливо свідчить вірогідне зменшення рівня 8-ізопростану при введенні ЕПМ, РубусАрг, кверцетину та катехіна (рис. 5.2).

Таким чином, в ході проведеного експерименту було досліджено лікувально-профілактичний ефект ЕПМ та РубусАрг на моделі інфаркту міокарда у щурів та встановлено, що обидва фармакологічних препарати, які вивчаються, чинять терапевтичну дію, що за деякими показниками переважає таку в препараті та субстанції порівняння. При цьому дещо сильніший позитивний вплив порівняно з ЕПМ виявив РубусАрг.

Також потрібно зазначити, що найбільш виражений ефект досліджуваних засобів спостерігався на показник активності ЛДГ₁, що є цікавим та важливим для з'ясування механізму їхньої дії надалі.

Проведені експериментальні дослідження показали, що ураження міокарда, які були викликані підшкірним введенням 0,1% розчину адреналіну гідрохлориду та 2,5% емульсії гідрокортизону ацетату, характеризувалося різким порушенням функціональної активності міокарда, що підтверджено змінами ЕКГ (табл. 5.3).

Адреналін-гідрокортизонове ураження міокарда проявилось, перш за все, достовірним підвищенням ЧСС (на 35%) (табл. 5.3).

За введення адреналіну гідрохлориду спостерігалось зниження систолічного показника та скорочувальної функції міокарда (зубець R) на 30%, що необхідно розцінювати як нестачу скорочувальної функції передсердь внаслідок виснаження міокарда [16].

У результаті невідповідності між використанням кисню та потребою у ньому під час кардіотоксичної дії адреналіну гідрохлориду та гідрокортизону ацетату відмічається зміщення сегмента ST від ізолінії у групі щурів з контрольною патологією на 30% (табл. 5.3).

Застосування досліджуваних препаратів призвело до зниження кардіотоксичних ефектів адреналіну і гідрокортизону.

При аналізі показників ЕКГ перш за все звертає увагу нормалізація ЧСС (достовірне зниження показника на 20%) у групі тварин, яким вводили РубусАрг та кверцетину.

Про покращення електрофізіологічних процесів у міокарді при застосуванні таких досліджуваних препаратів як РубусАрг, ЕПМ та препарату порівняння кверцетину свідчили підвищення систолічного показника на 65%, а також зменшення явищ ішемії, про що свідчить зменшення зміщення сегмента ST від ізолінії (табл. 5.3).

Нормалізація вищезгаданих електрокардіографічних показників вказувала на покращення на 40% скорочувальної функції міокарда при застосуванні таких досліджуваних препаратів як РубусАрг та препарат порівняння кверцетин. В той же час застосування катехіну не вірогідно покращувало СП, проте попереджувало зміщення сегмента ST від ізолінії.

Таким чином, проведені електрокардіографічні дослідження показали, що при патології міокарда, викликаній підшкірним введенням 0,1% розчину адреналіну гідрохлориду та 2,5% емульсії гідрокортизону ацетату, перевагу слід віддати досліджуваному препарату РубусАрг та препарату порівняння кверцетину.

Одержані результати експериментально обґрунтовують доцільність застосування препарату РубусАрг у лікуванні захворювань серцево-судинної системи.

5.2 Дослідження впливу нативного екстракту пагонів малини та РубусАрг на гістологічний стан серцевого м'яза щурів в умовах адреналін-гідрокортизонового інфаркту міокарда у щурів

Біохімічні та ЕКГ-зміни, що спостерігаються за інфаркту міокарда мають значні діагностичні та прогностичні характеристики, проте 100%

підтвердити наявність інфаркту міокарда можливо за умов проведення патоморфологічних досліджень.

Нами було проведене вивчення гістоструктури серцевого м'яза щурів в умовах адреналін-гидрокортизонової інтервенції та вплив на стан міокарда вплив екстрактів пагонів малини. Результати дослідження наведено на рис. 5.3- рис. 5.18.

При мікроскопному дослідженні міокард щурів групи плацебо-контролю представлено кардіоміоцитами, що формували м'язові волокна, які мали вигляд єдиного масиву жмутьків, орієнтованих у різних напрямках – поздовжньо чи циркулярно. Серцеві м'язові волокна звичайні за товщиною, рівномірно профарбовані, помірно анастомозують один з одним. Міжволоконні й міжпучкові проміжки виражені помірно. Вміст сполучнотканинних клітинних елементів у міжпучкових і міжволоконних прошарках незначний. Кардіоміоцити у м'язових волокнах розташовані послідовно один за одним. У кардіоміоцитах добре контурувалися нормохромні, з чіткою хроматиною субстанцією, ядерцем, ядра витягнутої або овальної форми, звичайні за розміром та локалізацією. Досить чітко видно поперечну покресленість міофібрил. У міжволоконевій стромі видні судини різного калібру. Дрібні вени у зовнішніх шарах міокарда повнокровні. Артерії дрібного та середнього калібру помірно кровонаповненні, мають звичайні за товщиною судинні стінки, просвіт судин помірний. Капіляри звичайного кровонаповнення (рис. 5.3).

Через 7 діб після моделювання адреналін-гидрокортизонового інфаркту міокарда у щурів групи контрольної патології відмічали мікроскопічні значні зміни стромально-судинно-паренхіматозних компонентів міокарда. Частіше зміни виявлено у лівому шлуночку серця у середніх зонах і у найбільш функціонально напружених ділянках – сосочкових м'язах.

Осередки некрозу кардіоміоцитів достатньо чисельні, візуально коливалися за розміром (об'ємом), «тривалістю» існування та ступенем «організації» – розвитку регенераторних процесів.

В осередках некрозу, «свіжих» за часом виникнення, волокна розбухлі, фрагментовані, неупорядковано розположені. Поперечна покресленість міофібрил відсутня. Цитоплазма волокон слабо еозинοфільна, гомогенна, ядра пікнотичні, слабо базοфільні або відсутні

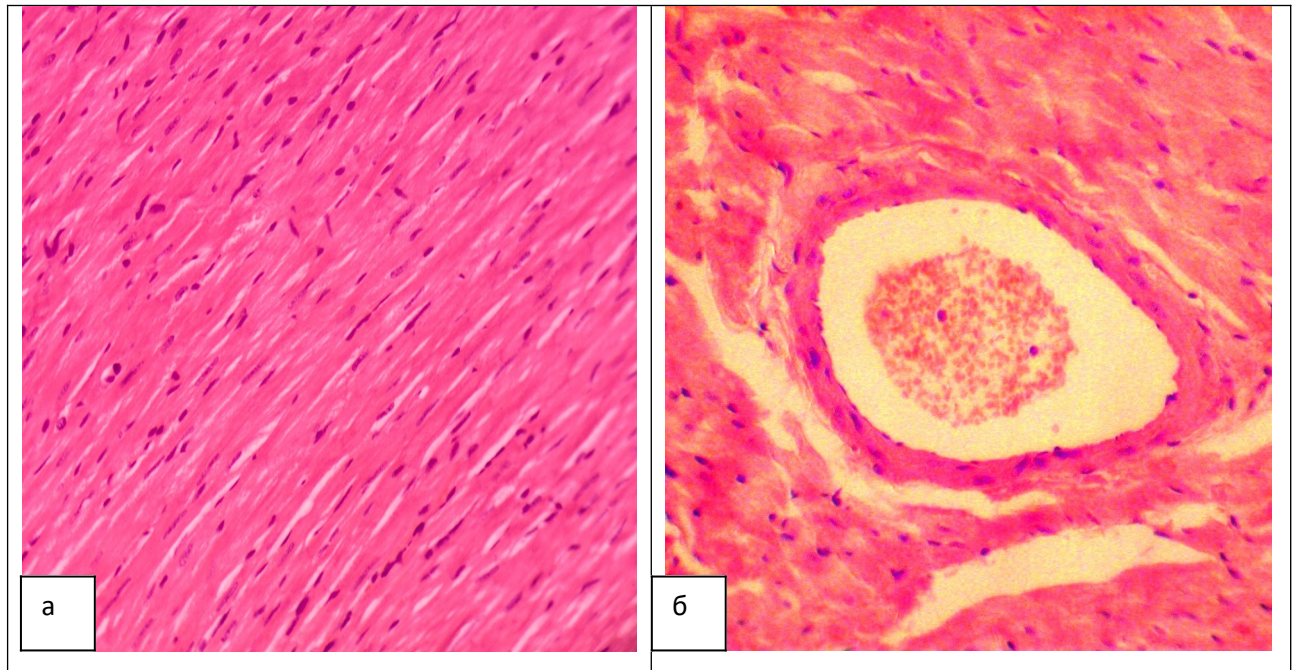


Рис. 5.3 Міокард лівого шлуночка щурів, що отримували плацебо. Нормальний стан: а – серцево-м'язових волокон; б – інтрамуральної артерії. Гематоксилін-єозин. x200.

В осередках некрозу, більш тривалих за часом виникнення, на місці лізованих залишків фрагментів волокон спостерігали ознаки формування грануляційної тканини. Найбільш часті – лімфо-макрофагальні інфільтрати з більш-меншою домішкою незрілих фібробластів (рис. 5.4).

Всі ці зміни відбувалися на тлі ішемії міокарда. Кровоносні капіляри часто паретично розширені, повнокровні. Відмічено гемостаз. Окремі дрібні інтрамуральні артерії знаходилися у стані спазму з достатньо виразним звуженням розміру просвіту. Іноді візуалізовано збільшення гладенько-м'язових клітин у *media*, що призводило до вогнищового потовщення стінки судини. Спостерігалися штифтоподібні випинання ендотеліоцитів *intimu*. Венозні судини виразно повнокровні.

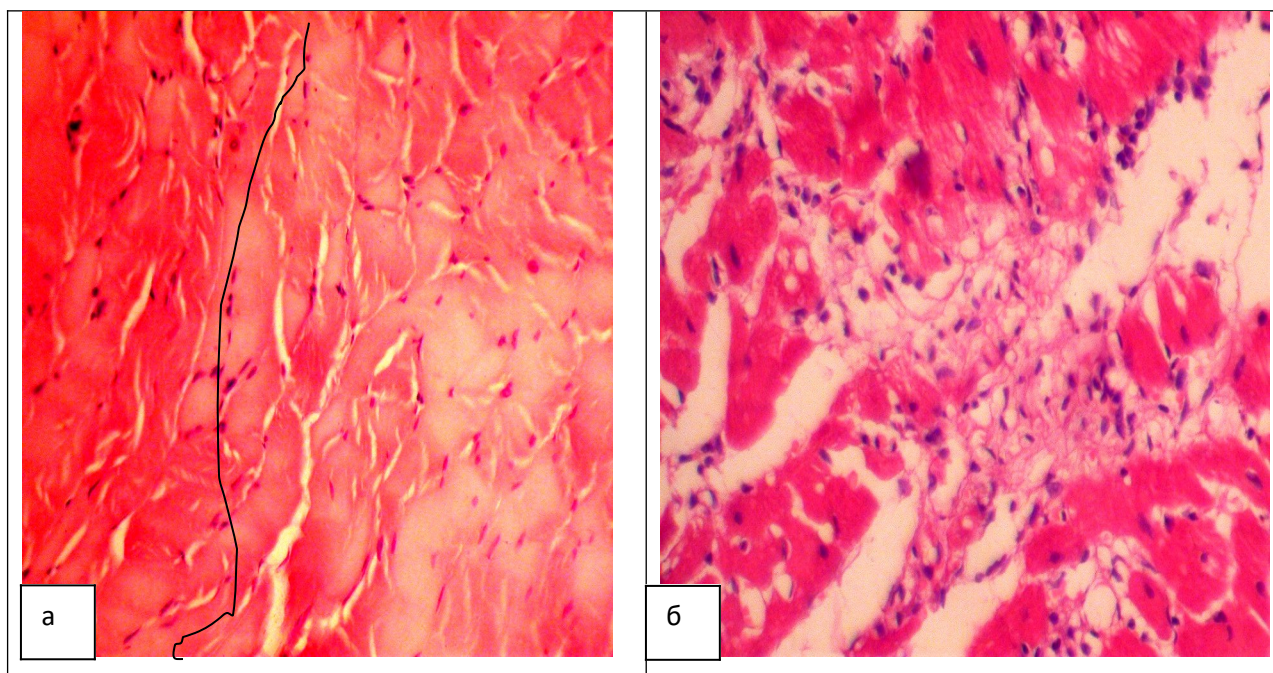


Рис. 5.4 Міокард лівого шлуночка щурів з адреналін-гідрокортизоновим інфарктом: а – зона «свіжого» некрозу. Волокна розбухлі, фрагментовані, неупорядковані, поперечна окресленість міофібрил відсутня. Цитоплазма слабо еозинофільна, гомогенна, ядра пікнотичні, слабо базофільні або відсутні. Між фрагментами волокон видні залишки стромальних клітин; б – пухка грануляційна тканина, що формується у зоні некрозу, інфільтрат містить лімфо-макрофагальні клітини з незначною домішкою незрілих фібробластів. Гематоксилін-еозин. x200.

В деяких кардіоміоцитах ядра збільшені у розмірі (можливо компенсаторна дія), одночасно з цим простежені дрібні, темні пікнотичні ядра у кардіоміоцитах (рис. 5.5; додаток Д). Все це є ознаками ішемії міокарда.

Окрім некрозу кардіоміоцитів у м'язових клітинах спостерігали появу зон розчинення міофібрил – ознаки внутрішньоклітинного міоцитолізу. Вона набрякла, слабо зв'язувала барвник, поперечна окресленість не визначена. Доволі часто подібні ділянки численні, зміни можуть охоплювати цілий ряд паралельно розташованих клітин. Прилеглі до таких зон ділянки з продовження клітини/волокон зберігали звичайну окресленість і інтенсивність забарвлення (рис. 5.6).

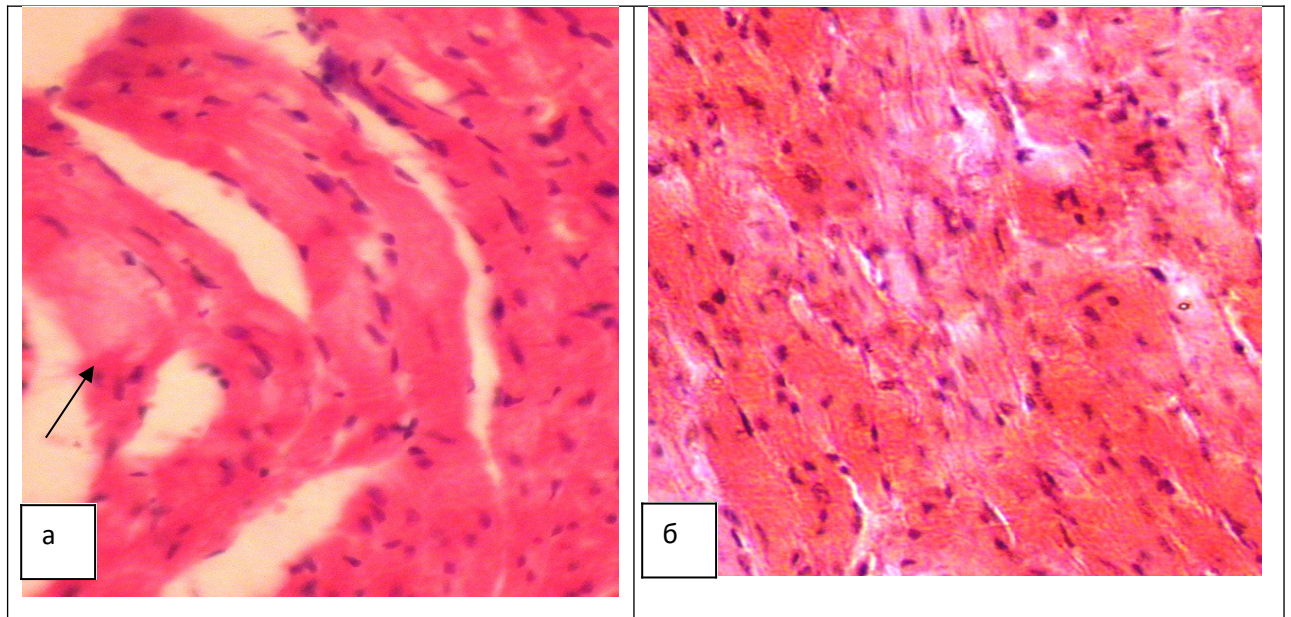


Рис. 5.6. Міокард лівого шлуночка щурів з адреналін-гідрокортизоновим інфарктом. Різні за розміром прояви міоцитолізу: а – локальні; б – дифузні. Гематоксилін-еозин. x250.

Крім ознак міоцитолізу спостерігали також зміни міофібрилярного апарату клітин контрактурного типу. В основному вони простежені у невеликих групах кардіоміоцитів у папілярних м'язах, часто поруч з дрібними судинами. Подібні клітини характеризувалися підвищеною ацидофілією, не визначеною поперечною окресленістю міофібрил, іноді пікнотичними ядрами. Подібний стан відповідає надвиразній скоротливості міофібрил (рис. 5.7; додаток Д). Поза зон деструкцій місцями виявлені ділянки з різними за товщиною звивистими волокнами, доволі часто помічено набряк волокон. Строма міокарда вогнищево інфільтрована макрофагами і лімфоцитами.

Візуально позитивно покращився стан міокарда лівого шлуночка щурів після введення нативного екстракту пагонів малини – ЕПМ. Візуально позитивно покращився стан міокарда лівого шлуночка щурів після введення нативного екстракту пагонів малини - ЕПМ. Стан капілярів відповідав нормі (рис. 5.8; додаток Д).

На мікропрепаратах не виявлено ознак ішемії – інтрамуральні артерії без ознак спазму, судинна стінка не потовщена. Не виявлено «свіжих» осередків некрозу, а ті, що мали місце, дрібні, нечисленні та повністю заміщені молодими фібробластами (рис. 5.9; додаток Д). Значні за об'ємом ділянки міокарда мали неушкоджений вигляд (рис. 5.10; додаток Д).

Мікроскопічний стан міокарда лівого шлуночка щурів після отримання ними РубусАрг, свідчив про помітне зниження виразності пошкодження серцевого м'яза в усіх тварин. Повнокровність капілярів та венозних судин була у межах нормальної. Були відсутні ознаки спазму інтрамуральних артерій. Не виявлено «свіжих» за тривалістю існування осередків некрозу. Ті, що мали місце, характеризувалися практично повною утилізацією некротизованих м'язових клітин, формуванням на їх місці гранулем з перевагою клітин фібробластичного ряду. За розповсюдженістю та візуальним розміром подібні осередки були значно меншими за контрольні (рис. 5.11; додаток Д).

Зменшено прояви міоцитолізу, набряку волокон. На деяких ділянках простежена невиразна хвилястість волокон, контрактура деяких, але в цілому за станом цитоплазми і ядер, товщиною, виразності поперечної покресленості міофібрил серцево-м'язові волокна відповідали нормі (рис. 5.12).

Профілактично-лікувальне введення катехіну також сприяло зменшенню проявів ішемії міокарда щурів. У більшості дослідних тварин відсутні ознаки спазму інтрамуральних артерій, зміни судинної стінки. Навіть при наявності спазму виразність його менша ніж у контрольній патології.

Ступень розширення і повнокровності капілярної мережі коливалася, однак у більшості щурів не спостерігали паретичного розширення просвіту капілярів. Частина венозних судин зберігала доволі виразну повнокровність, але в більшості судин мікроциркуляторного русла гемостаз відсутній (рис. 5.13; додаток Д).

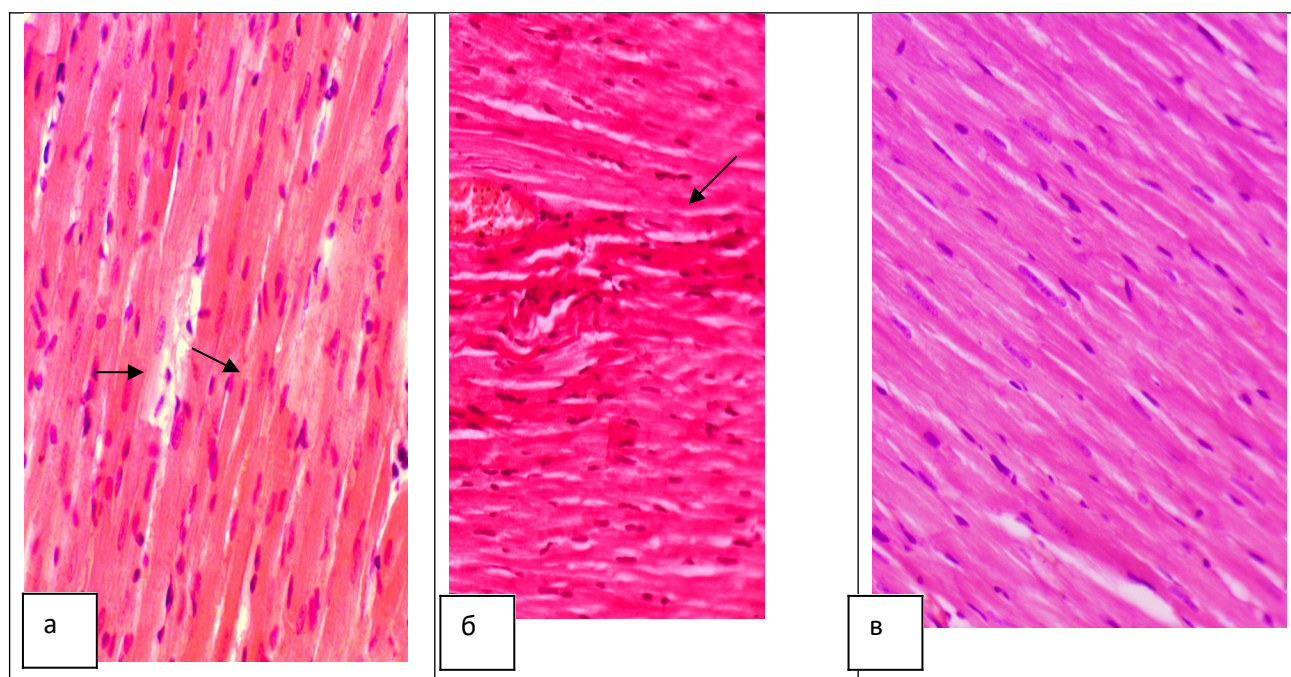


Рис. 5.12. Міокард лівого шлуночка щурів, які у профілактично-лікувальному режимі отримували РубусАрг: а – дрібні осередки міоцитолізу; б – звивистість, контрактура частини волокон; в – нормальний стан волокон. Гематоксилін-еозин. х 200.

Не помічено коливання розміру ядер кардіоміоцитів.

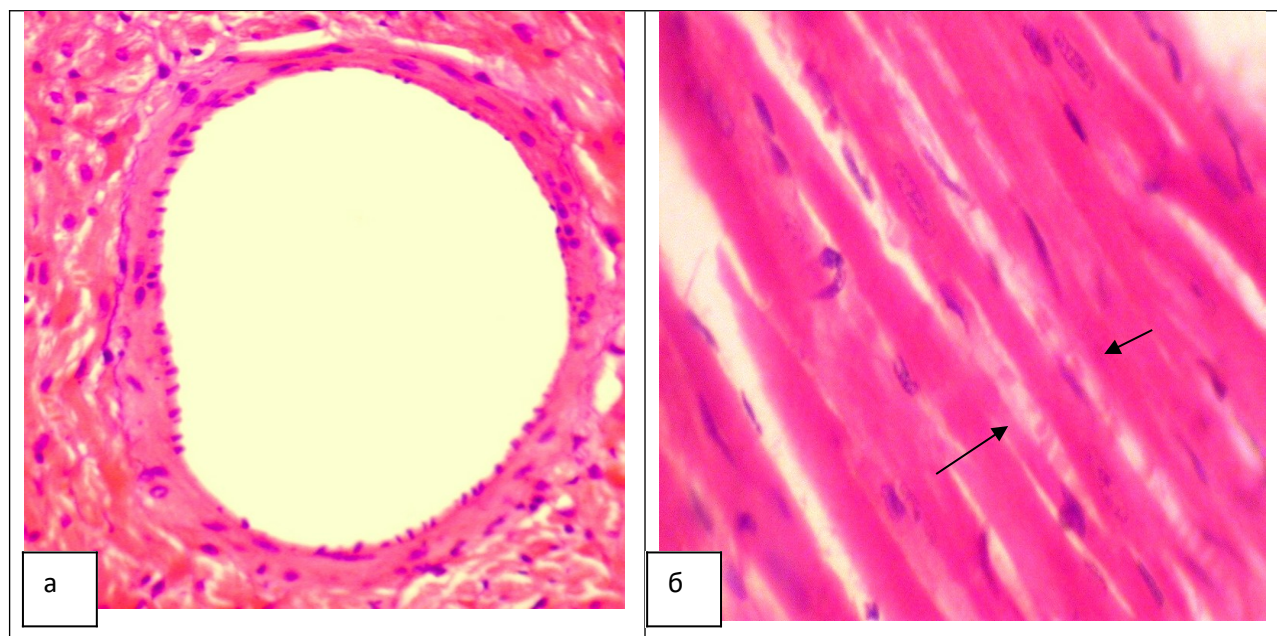


Рис. 5.16. Міокард лівого шлуночка щурів, які у профілактично-лікувальному режимі отримували кверцитин: а – інтрамуральна артерія не змінена (х200); б – нормальне кровонаповнення капілярів (х400). Гематоксилін-еозин.

Осередки деструкції зменшені як за чисельністю, так і за об'ємом, лише у 20% щурів візуалізувалися «свіжі» за часом існування осередки некрозу. У гранульомах, що заміщували загиблі м'язові волокна, як правило, превалювали різної зрілості фібробластичні клітини (рис. 5.14; додаток Д).

У піддослідних щурів у межах групи коливалася виразність міоцитолізу, ознак контрактури. Втім більшість ділянок міокарда мала візуально нормальний вигляд (рис. 5.15; додаток Д).

Після введення в аналогічному режимі препарату порівняння кверцетин, у переважній більшості щурів відсутні або помітно зменшені прояви ішемії (рис. 5.16).

Ступень виразності зон деструкцій значно менш значущій, ніж у контрольній патології, відсутні «свіжі» за часом існування осередки, більш виразна організація цих осередків (рис. 5.17).

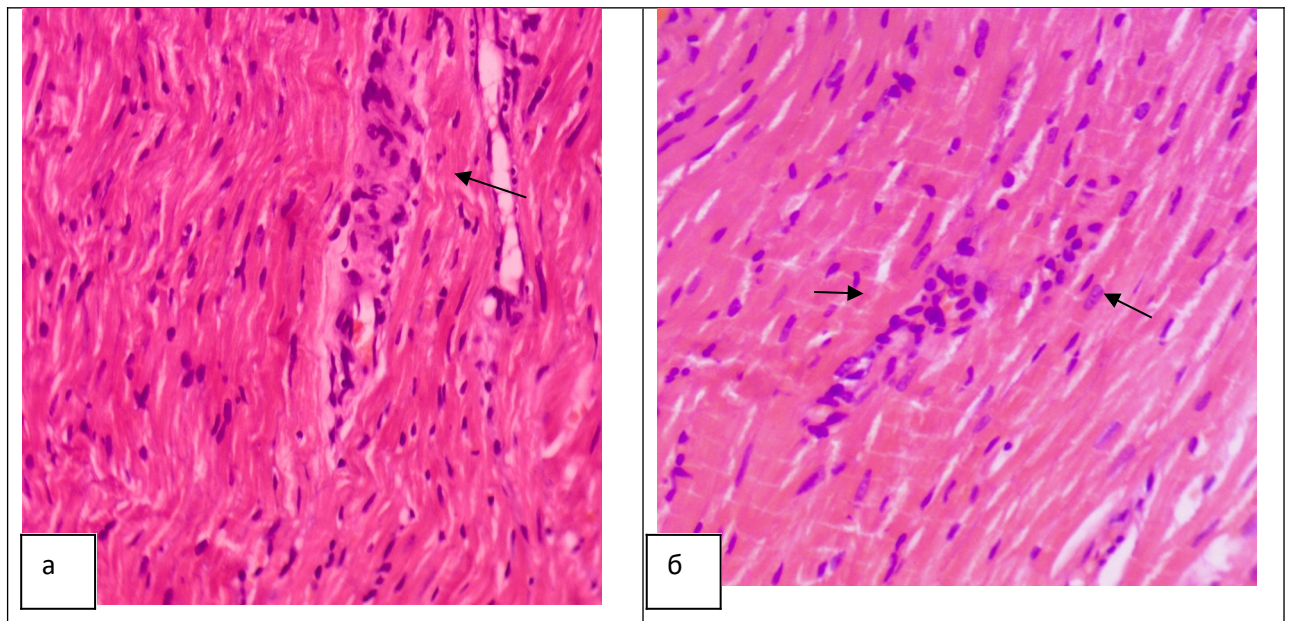


Рис. 5.17. Міокард лівого шлуночка щурів, які у профілактично-лікувальному режимі отримували кверцетин: а-б – різного розміру інфільтрати з перевагою молодих фібробластів на місці колишнього некрозу кардіоміоцитів. Гематоксилін-еозин. x250.

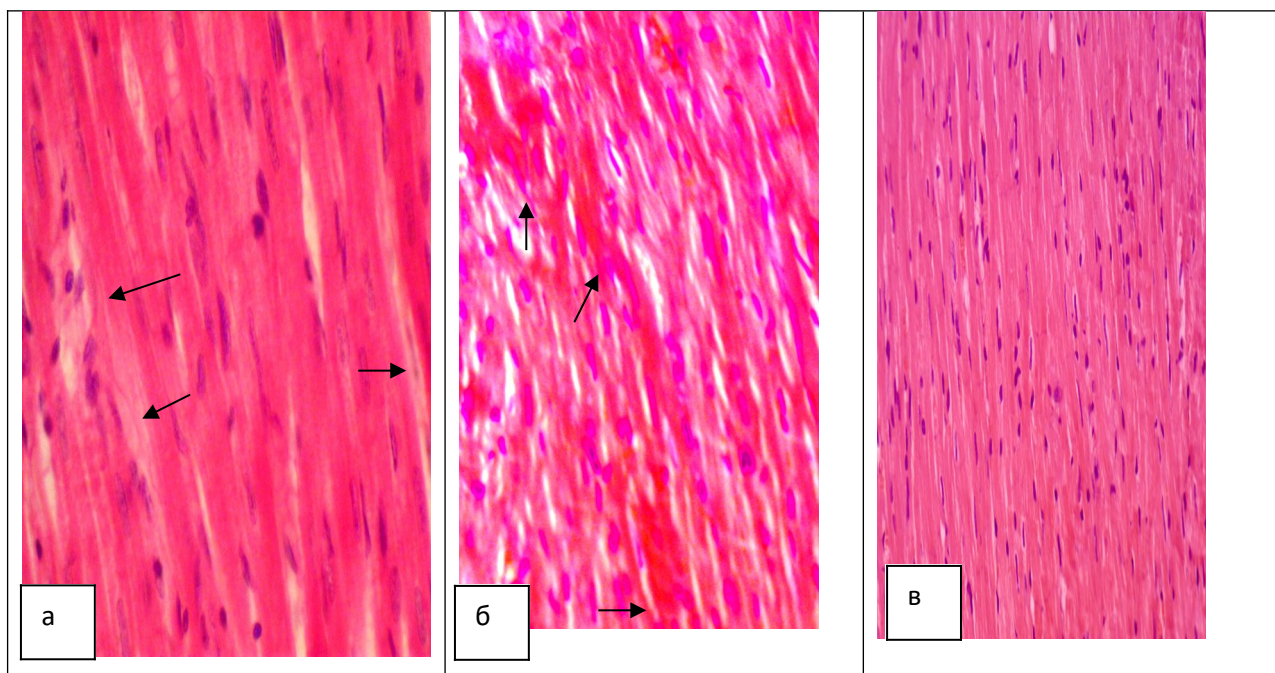


Рис. 5.18. Міокард лівого шлуночка щурів, які у профілактично-лікувальному режимі отримували кверцетин: а – дрібні зони міоцитолізу (x250); б – контрактурні зміни фрагментів волокон (x200); в – нормальний стан міокарда (x200). Гематоксилін-еозин.

Прояви міоцитолізу зменшено, хоча в цілому по групі мала місце деяка варіабельність цієї ознаки. Мали місце різні за виразністю контрактурні зміни клітин.

В той же час на значних ділянках серцевого м'яза візуалізували компактне та упорядковане розположення жмутків м'язових волокон. Достатньо чітко простежувалися поперечна покресленість міофібрил, нормальні тінкторіальні властивості цитоплазми кардіоміоцитів (рис. 5.18).

Також нами була проведена напівкількісна оцінка виразності патологічного процесу, спричиненого введенням адреналіну та гідрокортизону та корекції його дослідженими сполуками. Результати оцінки подані у таблиці 5.4.

Як видно з наданих у таблиці даних, практично всі досліджені сполуки на даній експериментальній моделі інфаркту міокарда проявляли наявність кардіопротективної дії.

Таблиця 5.4

Напівкількісна оцінка стану серцевого м'язу лівого шлуночка щурів з індукованим адреналін-гідрокортизоновим інфарктом міокарда і корекції його екстрактами пагонів малини

Ознаки патології, бали	ПК	КП	КП+ РубусАрг	КП+ ЕПМ	КП+ Кверцетин	КП+ катехін
Наявність осередків некрозу	0	2,8	1,2	1,4	1,4	2,0
Ступень зрілості грануляційної тканини, що заміщує осередки некрозу	0	1,3	3,0	2,8	2,8	2,4
Прояви ішемії	0	2,6	0,2	0,4	0,2	2,0
Зміна стану скоротливого апарату	0	2,6	1,2	1,8	1,4	2,2

Виразність цієї дії за даними світлової мікроскопії більше проявляли ЕПМ та РубусАрг та препарат порівняння кверцетин. Проте ЕПМ, РубусАрг та кверцетин за впливом на гістологічні ознаки ураження міокарда за умов адреналін-гідрокортизонового інфаркту міокарда у щурів переважали дію катехіну.

Отже, підводячи підсумок отриманим результатам, можна зробити наступні узагальнення.

Після введення 0,1% розчину адреналіну гідрохлориду дозою із розрахунку 1 мг на 1 кг маси тварини та 2,5% емульсії гідрокортизону ацетату дозою із розрахунку 12,5 мг на 1 кг маси тварини двічі на добу вранці та ввечері протягом тижня у щурів на день дослідження на тлі виразних проявів ішемії формуються зони некрозу різного часу існування – від «свіжих» до

таких, в яких вже розвиваються початкові регенераторні процеси; виникають зміни скоротливого апарату кардіоміоцитів (міоцитоліз, контрактура).

Профілактично-лікувальне введення досліджуваних сполук сприятливо впливало на виразність зазначених показників, що проявлялося у зниженні/відсутності ознак ішемії, стримуванні альтерації кардіоміоцитів, прискоренні організації осередків некрозу; позитивно корелювало стан скоротливого апарату клітин. Все це свідчило про наявність у досліджених сполук кардіопротективних властивостей.

За пріоритетності кардіопротективної дії більш активними були екстракти ЕПМ та модифікований L-аргініном екстракт пагонів малини РубусАрг, які були порівняні або переважали за дією препарату порівняння кверцитіну.

5.3 Вплив нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини на перебіг експериментальної доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів

У структурі захворювань серцево-судинної системи досить гостро стоять лікообумовлені ураження міокарда. Одним із таких препаратів є антрацикліновий протипухлинний антибіотик доксорубіцин, якій попри свою високу ефективність в лікуванні злоякісних новоутворень, може запускати ланцюговий каскад як оксидативного, так і нітрозативного стресу, що сприяє розвитку кардіотоксичності.

Враховуючи те, до складу РубусАрг входить як іонізований катехін, так і L-аргінін, теоретично можна очікувати зменшення проявів ліпопероксидації, покращення функціонального стану ЕКГ та збільшення виживаності тварин.

Досліди було проведено на 57 білих щурах-самцях вагою 220-310 г. Враховуючи високу летальність, кожна група, окрім плацебо-контролю) включала по 10 тварин: Результати експерименту наведені у табл. 5.5-5.7 та рис. 5.19- рис. 5.20.

Встановлено, що експериментальна доксорубіцинова кардіоміопатія у щурів характеризувалась досить високою летальністю, яка на прикінці досліду склала 40% (табл. 5.5).

На тлі експериментальної доксорубіцинової кардіоміопатії в серці тварин спостерігалася активація процесів вільнорадикального окиснення (ВРО): рівень ТБК-реактивів у гомогенаті підвищився в 1,6 раза, а у сироватці крові вміст 8-ізопростану збільшився в 4,24 раза ($p < 0,001$) порівняно з групою плацебо-контролю.

Всі ці зміни є притаманними для даної патології [2] та сприяють посиленню уражень серця.

Також, на фоні антраціклін-індукованого ураження серця відбувалося зниження активності АОС: рівень відновленого глутатіону у гомогенаті міокарда знизився в 1,55 раза, у сироватці крові – на 1,9 раза, що свідчить про виснаження запасу відновленого глутатіону при нейтралізації продуктів ВРО.

Доксорубіцинова кардіоміопатія характеризувалася також зниженням активності ендогенної ферментативної системи: активність СОД у гомогенаті міокарда зменшилась на 55,5%, у сироватці крові – на 40%; активність каталази в гомогенаті міокарда зменшилась на 31,3% та 32,14% в сироватці крові (табл.5.5).

Лікувально-профілактичне введення досліджуваних препаратів та препарату порівняння кверцетину підвищило виживання тварин, яке склало 90% при застосуванні РубусАрг, 80% – ЕПМ та кверцетину, 70% – катехіну.

Відображенням інгібувального впливу досліджуваних препаратів на інтенсивність процесів ВРО та активацію ЕАОС є зміни показників ТБК-реактивів, 8-ізопростану, відновленого глутатіону, ферментів СОД, каталази.

Результати впливу досліджуваних препаратів на ці показники наведені в таблиці 5.5 та рис. 5.19 та рис. 5.20.

Таблиця 5.5

**Вплив ЕПМ та РубусАрг на виживання тварин та показники процесів
ВРО в гомогенаті серця та сироватці крові за доксорубіцинової
кардіоміопатії у щурів (M±m)**

Показники	Групи тварин					
	Плацебо- контроль	Контрольна патологія	ЕПМ	РубусАрг	Катехін	Кверце- тин
Вживання тварин, %	100	60	80	90	70	80
Гомогенат серця						
ТБК- реагенти, мкмоль/г	59,21± 2,57	95,5±6,95*	68,8± 2,1**/#	65,8± 2,9**/#/##	79,38± 2,11**	74,2± 2,74**
G-SH, мкмоль/г	1,68±0,08	1,083±0,059 *	1,41± 0,034**	1,47± 0,034**	1,32± 0,072	1,108± 0,06
СОД, ммкат/г	0,90±0,01	0,54±0,01*	0,82± 0,01**	0,85± 0,02**	0,65± 0,02**	0,70± 0,01**
Каталаза, мккат/г	1,02±0,04	0,70±0,02*	0,83± 0,02**	0,90±0,02* *	0,80± 0,02**	0,75±0,02 **
Сироватка крові						
8- ізопростан, нг/мл	5,3 ± 0,32	22,49 ± 1,53*	13,16 ±0,71**/##	10,56± 0,45**/#/##	17,8± 0,77**	14,16 ±0,94**/#
G-SH, мкмоль/л	2,39±0,02	1,20±0,05*	2,00± 0,01**	2,35± 0,05**	1,55± 0,02**	1,80± 0,03**
СОД, мккат/л	0,95±0,01	0,50±0,01*	0,80± 0,01**/#	0,84± 0,02**/#	0,68± 0,02	0,76± 0,01**
Каталаза, мккат/г	1,40±0,05	0,95±0,03*	1,2±0,02* *	1,23± 0,02**	0,75±0,02	1,08±0,05 **

Примітки:

1. * $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою плацебо- контролю;
2. ** $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою контрольної патології;
3. # - $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою катехіну;
4. ## $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою кверцетину.

У ході проведення експерименту було встановлено, що досліджувані препарати стримували стосовно контрольної патології накопичення первинних продуктів ліпопероксидації як у сироватці крові, так і в гомогенаті міокарда.

Проводячи порівняльний аналіз серед досліджуваних препаратів, було доведено, що найбільш потужне пригнічення інтенсивності ВРО здійснювалося під впливом РубусАрг, що підтверджувалось вірогідним зниженням рівня 8-ізопростану у 2,1 раза в сироватці крові ($p \leq 0,01$), в 1,76 раза в гомогенаті міокарда ($p \leq 0,01$); також в гомогенаті міокарда показник ТБК-реактантів порівняно з нелікованим контролем зменшився в 1,45 раза.

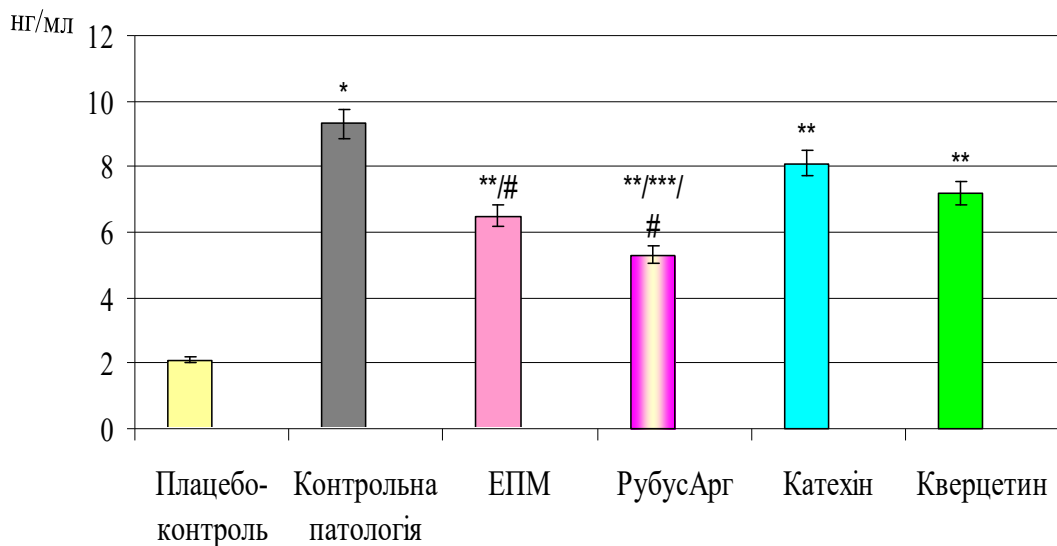


Рис. 5.18. Зміни рівня 8-ізопростану в гомогенаті серця щурів з модельної доксорубіциновою кардіоміопатією під впливом ЕПМ та РубусАрг
Примітки:

1. * $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою плацебо- контролю;
2. ** $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою контрольної патології;
3. *** $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою тварин, лікованою кверцетином;
4. # $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою тварин, лікованою катехіном.

При застосуванні досліджуваних препаратів ЕПМ і кверцетину також відбувалось вірогідне зниження ТБК-реактивів в гомогенаті міокарда в 1,38 раза та 1,28 раза та зниження 8-ізопростана в сироватці крові в 1,7 раза та в 1,58 раза, відповідно ($p \leq 0,05$). Аналогічно зменшувався й вміст 8-ізопростану в гомогенаті міокарда в 1,43 раза та 1,3 раза, відповідно (рис. 5.19). Зменшення рівню 8-ізопростана було вірогідно більшим по відношенню до катехіну ($p \leq 0,05$).

Катехін рівень ТБК-реактивів в гомогенаті міокарда знижував в 1,2 раза, рівень 8-ізопростану в сироватці крові зменшував в 1,26 раза, а в гомогенаті серця – в 1,15 раза ($p \leq 0,05$).

Введення тваринам з доксорубіциновою кардіоміопатією досліджуваних препаратів сприяло нормалізації антиоксидантного гомеостазу.

Так, на тлі застосування РубусАрг рівень G-SH в гомогенаті міокарда вірогідно підвищувався в 1,35 раза, ЕМП та препарату порівняння кверцетину – в 1,3 раза. При введенні катехіну спостерігалось зменшення даного показника в 1,2 раза ($p \leq 0,05$).

У сироватці крові відбувалася така ж тенденція щодо нормалізації G-SH. Так, при введенні РубусАрг цей показник вірогідно підвищувався порівняно з контрольною патологією в 1,35 раза, ЕПМ і кверцетин – в 1,3 раза ($p \leq 0,05$), проте при використанні катехіну підвищення рівня G-SH мало тенденційний характер і не було вірогідним.

Порівнюючи ступінь антиокиснювальної дії досліджуваних препаратів, слід зазначити, що РубусАрг та ЕПМ переважають і катехін, і препарат порівняння кверцетин за впливом на такий показник як СОД, який вони достовірно підвищували у гомогенаті міокарда в 1,57 раза та 1,5 раза, відповідно та сироватці крові в 1,6 та 1,68 раза, відповідно (табл. 5.5). На тлі застосування кверцетину рівень СОД підвищувався в 1,3 рази, а катехіну – в 1,2 раза. Така ж тенденція спостерігалася за впливом РубусАрг на активність каталази – вірогідне підвищення активності ферменту в гомогенаті міокарда в

1,28 раза та сироватці крові – в 1,3 раза та при застосуванні ЕПМ в 1,2 раза, відповідно.

Таким чином, при аналізі результатів експерименту встановлено, що найбільш виражена антиоксидантна дія спостерігалася при введенні РубусАрг та ЕПМ, що підтверджено антиоксидантно-прооксидантним індексом (рис. 5.19).

Аналіз одержаних даних також показав, що експериментальна кардіоміопатія характеризувалася розвитком проліферативних процесів та фіброзу тканин міокарда та активацією процесів цитолізу в кардіоміоцитах, що підтверджувалось достовірним збільшенням ВКС на 36%, та підвищенням активності ферменту АсАТ в сироватці крові на 53%, а АлАТ на 41% у групі тварин з контрольною патологією (табл. 5.6).

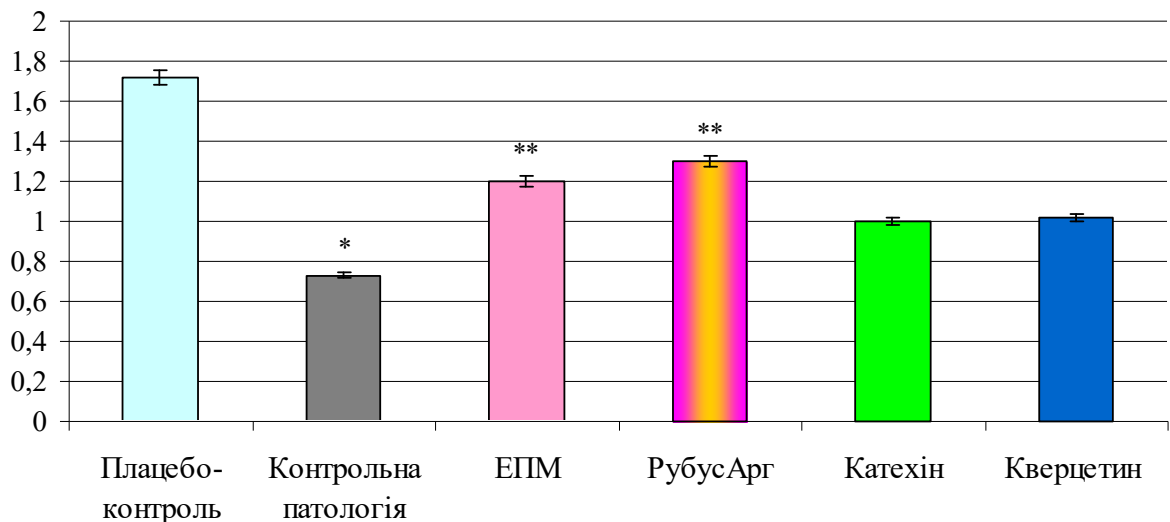


Рис. 5.19. Зміни антиоксидантно-прооксидантного індексу при застосуванні ЕПМ та РубусАрг

1. * $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою плацебо-контролю;
2. ** $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою контрольної патології;

Підвищення рівня АлАТ також є свідченням токсичної дії доксорубіцину на печінку.

У групі тварин з контрольною патологією відмічалось порушення метаболічних процесів у міокарді, про що свідчило зменшення в 1,2 раза рівня глікогену у тканині міокарда порівняно з групою плацебо-контролю (табл. 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив досліджуваних препаратів на ВКС, рівень глікогену в міокарді та показники цитолізу при доксорубіциновій кардіоміопатії у щурів ($M \pm m$)

Показники	Групи тварин					
	Плацебо-контроль	Контрольна патологія	ЕПМ	РубусАрг	Катехін	Кверцетин
ВКС	0,39±0,01	0,53±0,03*	0,40±0,01**	0,39±0,01**	0,45±0,01**	0,42±0,01**
Глікоген, г/л	8,38±0,2	7,0±0,18*	7,5±0,12**	8,0±0,04**	7,6±0,12**	8,0±0,05**
АсАТ, ммоль/г×л	0,49±0,01	0,75±0,03*	0,55±0,02**	0,50±0,01**	0,65±0,02	0,60±0,02**
АлАТ, ммоль/г×л	0,51±0,02	0,73±0,09*	0,63±0,03**	0,60±0,05**	0,70±0,07	0,67±0,05

Примітки:

1. * $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою плацебо-контролю;
2. ** $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою контрольної патології;

Крім того, в групі тварин з контрольною патологією відмічалось порушення метаболічних процесів у міокарді, про що свідчило зменшення рівня глікогену в тканині міокарда в 1,2 раза порівняно з плацебо-контролем (табл. 5.6).

Лікувально-профілактичне введення досліджуваних препаратів та препарату порівняння кверцетину зменшувало ступінь проліферації та фіброзу міокарда, про що свідчило достовірне зниження показника ВКС на 26% при введенні РубусАрг, на 25% – екстракту пагонів малини, на 15% – катехіну та на 21% – препарату порівняння кверцетину.

Також при введенні досліджуваних препаратів зменшувалися ознаки цитолітичних процесів, що підтверджувало достовірне зниження відносно контрольної патології активності ферменту АсАТ під впливом РубусАрг на 33%, ЕПМ – на 27%, препаратів порівняння кверцетину – 20%. При введенні катехіну спостерігалася лише тенденція до нормалізації цього показника.

Зменшення рівня маркера цитолізу гепатоцитів АлаТ по відношенню до групи контрольної патології було вірогідним лише при застосуванні РубусАрг (на 17,8) та ЕПМ (на 13,7%). При застосуванні катехіну та кверцетину також спостерігалось зменшення АлаТ, але ці зміни мали тендеційний характер. Враховуючи зменшення рівня АлаТ при застосуванні РубусАрг та ЕПМ можна зробити висновок, що дані екстракти пагонів малини зменшують гепатотоксичність доксорубіцину.

Таблиця 5. 7

Вплив ЕПМ та РубусАрг на показники протеїнурії за умов доксорубіцинової кардіоміопатії

Показник	Групи тварин					
	Плацебо-контроль	Контрольна патологія	ЕПМ	РубусАрг	Катехін	Кверцетин
Діурез, мл/доба	7,3±0,2	6,9±0,3	8,6±0,3	8,6±0,3	8,6±0,2	8,6±0,3
Загальний білок, мг/доба	1,22±0,07	48,1±5,14	19,2±1,1	17,1±1,12	43,6±4,2	30,1±3,23

Примітки:

1. * $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою плацебо- контролю;
2. ** $p \leq 0,05$ - вірогідно порівняно з групою контрольної патології;

Застосування доксорубіцину негативно вплинуло і на функціональний стан видільної системи щурів. В групі контрольної патології порівняно з плацебо-контролем спостерігалась масивна протеїнурії (до 48 мг/доба).

Застосування доксорубіцину негативно вплинуло і на функціональний стан видільної системи щурів (табл.5.7).

В групі контрольної патології порівняно з плацебо-контролем спостерігалась масивна протеїнурії (до 48 мг/доба). Застосування ЕПМ в лікувально-профілактичному режимі зменшило протеїнурію в 2,5 разу, РубусАрг в 2,8 рази, кверцетин в 1,6 рази ($p \leq 0,05$), а катехін в 1,1 раз ($p \geq 0,05$).

Таким чином, ми можемо припустити наявність у РубусАрг та ЕПМ гепатопротекторної та нефропротекторної дії за умов ураження доксорубіцином.

Антрациклін-індуковані ураження міокарда супроводжуються не тільки змінами антиоксидантно-прооксидантного індексу, але й порушеннями з боку інших систем. На тлі застосування доксорубіцину в групі контрольної патології відмічалися функціональні порушення міокарда, що підтверджувалося вірогідними змінами показників ЕКГ (табл. 5.8).

В ході розвитку патології спостерігалось вірогідне зменшення показників, які характеризують скорочувальну функцію міокарда (зниження систолічного показника (СП) на 53%, зменшення амплітуди зубців R на 60% та P – на 49%), зниження ЧСС на 46% (свідчить про розвиток брадикардії), збільшення часу збудження шлуночків у момент систоли (збільшення тривалості інтервалу QRS на 30%). На ЕКГ спостерігалася депресія сегмента ST від ізолінії, що свідчило про розвиток ішемії в міокарді (табл. 5.8).

При аналізі показників функціонального стану міокарда було встановлено, що застосування досліджуваних препаратів відновлювало скорочувальну здатність та зменшувало його ішемію (табл. 5.8).

Вплив нативного та модифікованого екстракту пагонів малини на показники електрокардіограми за доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів ($M \pm m$)

Показник	Групи тварин					
	Плацебо-контроль	Контрольна патологія	ЕПМ	РубусАрг	Катехін	Кверцетин
ЧСС, уд./хв	460,70 $\pm$ 8,5	260,23 $\pm$ 9,5*	360,0 $\pm$ 25,0**	380,50 $\pm$ 15,5**	270,30 $\pm$ 20,0	370,00 $\pm$ 15,50**
PQ,с	0,036 $\pm$ 0,002	0,050 $\pm$ 0,01*	0,040 $\pm$ 0,01	0,040 $\pm$ 0,01	0,045 $\pm$ 0,001	0,045 $\pm$ 0,001
QRS,с	0,015 $\pm$ 0,002	0,016 $\pm$ 0,002	0,020 $\pm$ 0,003	0,020 $\pm$ 0,002	0,015 $\pm$ 0,002	0,017 $\pm$ 0,002
QT,с	0,056 $\pm$ 0,002	0,075 $\pm$ 0,04	0,06 $\pm$ 0,01	0,05 $\pm$ 0,01	0,06 $\pm$ 0,003	0,07 $\pm$ 0,003
R,мв	0,455 $\pm$ 0,021	0,175 $\pm$ 0,035*	0,35 $\pm$ 0,002**	0,40 $\pm$ 0,002**	0,155 $\pm$ 0,002	0,335 $\pm$ 0,033**
P,мв	0,095 $\pm$ 0,007	0,05 $\pm$ 0,02*	0,10 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,05 $\pm$ 0,02	0,06 $\pm$ 0,01
T, мв	0,16 $\pm$ 0,01	0,145 $\pm$ 0,02	0,140 $\pm$ 0,05	0,150 $\pm$ 0,03	0,140 $\pm$ 0,03	0,090 $\pm$ 0,02
СП,%	45,43 $\pm$ 0,95	21,45 $\pm$ 1,65*	40,35 $\pm$ 3,25**	41,35 $\pm$ 3,25**	25,50 $\pm$ 1,70	42,50 $\pm$ 1,80**
Зміщення ST, мм від ізолінії	0,00 (0 $\div$ 1)	-4,35 (-10 $\div$ 0)	-2,20 (-2,7 $\div$ 0)	-2,05 (-3 $\div$ 0,5)	-4,00 (-10 $\div$ 0)	-2,05 (-3 $\div$ 0,5)

Примітки:

1. * $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою плацебо- контролю;
2. ** $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою контрольної патології;
3. ST – відхилення ST від ізолінії.

Так, внаслідок введення досліджуваних препаратів РубусАрг, ЕПМ та препарату порівняння кверцетину потенціал поляризації шлуночків (R) був вірогідно вищий, ніж у групі тварин з контрольною патологією та в групі тварин, якій вводили катехін.

За перорального застосування препаратів РубусАрг, ЕПМ та кверцетину систолічний показник підвищувався у 2 рази, препарат катехін цей показник змінював тенденційно (табл. табл. 5.8).

Під впливом препаратів РубусАрг, ЕПМ та препарату порівняння кверцетину нормалізація ЧСС мала вірогідний характер; препарату катехіну – лише незначна тенденція до нормалізації цього показника.

Застосування РубусАрг, ЕПМ та препарату порівняння кверцетину усувало ознаки гіпоксії та ішемії міокарда, що підтверджувалося впливом на елевацію сегмента ST по відношенню до ізолінії; при введенні катехіну змін даної величини практично не спостерігалось.

Таким чином, проведений порівняльний аналіз біохімічних, електрокардіографічних методів досліджень дозволяє зробити висновок, що введення препаратів призводить до покращення перебігу доксорубіцинової кардіоміопатії. Але, найбільш виражену кардіопротекторну активність проявили досліджуваний препарат РубусАрг та ЕПМ, які були більш ефективними при даній патології, ніж катехін і кверцетин

5.4. Ефективність застосування нативного та модифікованого екстракту малини звичайної за умов метаболічного синдрому у щурів, індукованого введенням фруктози

Серед захворювань серцево-судинної системи окремо виділяють метаболічний синдром, який поєднує у собі ознаки кардіо- та ендокринної патології [15, 210]. Метою нашого дослідження стало вивчення ефективності

застосування РубусАрг та ЕПМ за умов експериментального метаболічного синдрому (МС) у щурів на тлі введення фруктози.

В експерименті були використані щури-самці лінії Wistar віком 6 місяців та вагою 240-280 г. Тварини були рандомізовані на 7 дослідних груп по 6 тварин в кожній:

- I – щури інтактного контролю (ІК), які споживали стандартний збалансований за білками, жирами, вуглеводами, вітамінами, макро- та мікроелементами харчовий раціон (виробник „ПФ ВІТА“ м. Обухів, Україна);
- II – щури контрольної патології (КП), яким відтворювали експериментальний метаболічний синдром (ЕМС) шляхом заміни води для пиття 10 % розчином фруктози протягом 16 тижнів;
- III – щури з ЕМС, яким вводили ЕПМ ;
- IV – щури з ЕМС, яким вводили РубусАрг;
- V – щури з ЕМС, яким вводили катехін в/ш;
- VI – щури з ЕМС, яким вводили кверцетин в/ш;
- VII – тварини з ЕМС, яким в/ш вводили метформін („Сіофор“ таб. 500 мг № 60, виробництва Берлін-хемі, Німеччина [19] в дозі 60 мг/кг [20].

Усі досліджувані об'єкти та зразки і препарат порівняння застосовували, починаючи з 13 тижня моделювання МС впродовж 4 тижнів (28 днів), тобто у лікувальному режимі.

Установлено, що тривале введення щурам фруктози протягом 16 тижнів призводить до достовірно значущого зростання вмісту глюкози в 1,74 раза ($p<0,05$) відносно тварин плацебо-контролю (ПК) (табл. 5.9). Також у тварин спостерігалось зростання рівня глікозильованого гемоглобіну (HbA1c) сироватки крові в 1,62 раза ($p<0,05$), та збільшення індексу НОМА-IR в 3,89 разу ($p<0,05$), що вказує на розвиток інсулінорезистентності.

На наш погляд, гіперінсулінемія (збільшення рівню інсуліну в 2,17 раза) відносно тварин плацебо-контролю ($p<0,05$) в даному випадку носить компенсаторний характер.

Таблиця 5.9

Показники вуглеводного обміну при фруктозо-індукованому метаболічному синдромі у щурів на тлі застосування ЕПМ, РубусАрг, катехіну, кверцетину та метформіну

Умови експерименту	Глюкоза, мМ/л	Інсулін, мкМЕ/мл	НОМА-IR	Глікозильований гемоглобін, %
Плацебо-контроль	4,45 (4,33; 4,58)	3,20 (3,13; 3,31)	0,62 (0,61; 0,67)	3,60 (3,28; 3,78)
Контрольна патологія	7,73* (7,31; 7,80)	6,95* (6,90; 7,15)	2,41* (2,36; 2,48)	5,85* (5,65; 5,98)
ЕПМ	5,17**/®/€ (5,10; 5,28)	5,09**/®/€ (5,04; 5,11)	1,17**/®/€ (1,16; 1,18)	4,76**/®/€ (4,68; 4,84)
РубусАрг	5,12**/®/€ (5,10; 5,22)	4,78**/@/®/€ (4,69; 4,85)	1,10**/@/ ®/€ (1,07; 1,11)	4,34**/@/®/€ (4,26; 4,35)
Катехін	6,25** (6,13; 6,33)	6,65** (6,53; 6,78)	1,86** (1,78; 1,92)	5,10 (5,05; 5,15)
Кверцетин	6,20** (5,90; 6,28)	6,85 (6,80; 7,05)	1,89** (1,86; 1,94)	5,07** (5,05; 5,10)
Метформін	5,33** (5,25; 5,39)	4,27** (4,20; 4,59)	1,02** (0,99; 1,11)	4,12** (4,10; 4,19)

Примітки:

1. * – $p < 0,05$ вірогідно щодо тварин плацебо-контролю (ПК);
2. ** – $p < 0,05$ вірогідно щодо тварин контрольної патології (КП);
3. @ – $p < 0,05$ вірогідно щодо тварин, яким вводили ЕПМ;
4. # – $p < 0,05$ вірогідно щодо тварин, яким вводили РубусАрг»;
5. ® – $p < 0,05$ вірогідно щодо тварин, яким вводили катехін;
6. € – $p < 0,05$ вірогідно щодо тварин, яким вводили кверцетин.

Застосування ЕПМ у тварин з фруктозо-індукованим метаболічним синдромом сприяло відновленню порушеного вуглеводного обміну у щурів. Про це свідчить зменшення вмісту глюкози в 1,5 рази ($p < 0,05$) та показника HbA1c в 1,23 рази відносно тварин контрольної патології. Про вплив ЕПМ та РубусАрг на інсулінорезистентність та підвищення чутливості тканин до інсуліну свідчить зниженням індексу HOMA-IR в 2,06 рази ($p < 0,05$) та рівня інсуліну сироватки крові в 1,37 рази ($p < 0,05$) відносно тварин КП при застосуванні ЕПМ та в 2,2 рази та 1,45 рази при введенні РубусАрг, відповідно.

Застосування РубусАрг на 6%-8% було ефективнішим, ніж ЕПМ за здатністю зменшувати гіперінсулінемію, впливом на вміст HbA1c і індекс HOMA-IR. За впливом показники вуглеводного обміну РубусАрг тенденційно наближалася до препарату порівняння метформіну, проте поступався останньому.

Проте і метформін, і РубусАрг, і ЕПМ вірогідно перевищували ефекти катехіну та кверцетину за впливом на показники вуглеводного обміну за умов ЕМС.

Тривале застосування фруктози щурам призводило до порушень не лише вуглеводного обміну, але й ліпідного обміну. Про це свідчило достовірно значуще зростання вмісту загальних ліпідів, ТГ та ХС ЛПДНЩ відповідно в 1,47 ($p < 0,05$), 1,34 ($p < 0,05$) та 1,39 ($p < 0,05$) рази на тлі одночасного зниження антиатерогенної фракції ХС ЛПВЩ на 15 % ($p < 0,05$) відносно тварин плацебо-контролю (табл. 5.10).

При застосуванні досліджуваних екстрактів на тлі тривалого введення фруктози спостерігалася корегування ліпідного обміну про, що свідчило достовірно значуще зниження вмісту загальних ліпідів в 1,16 ($p < 0,05$) рази під дією ЕПМ та в 1,23 ($p < 0,05$) рази при застосуванні РубусАрг відносно тварин контрольної патології.

Введення ЕПМ та РубусАрг на тлі експериментального метаболічного синдрому сприяло також зниженню ХС ЛПДНЩ відповідно в 1,23 ($p < 0,05$) та

1,3 ($p<0,05$) рази та достовірно значущого зменшенням вмісту ТГ в 1,2 рази ($p<0,05$) при застосуванні РубусАрг, тоді як під впливом ЕПМ рівень ТГ характеризувався недостовірно значущою тенденцією до його зниження.

Таблиця 5.10

Вплив ЕПМ, РубусАрг, катехіну, кверцетину та метформіну на показники ліпідного обміну за умов фруктозо-індукованого метаболічного синдрому у щурів

Умови експерименту	Загальні ліпіди, г/л	ТГ, мМ/л	ХС ЛПВЩ, мМ/л	ХС ЛПДНЩ, мМ/л
Плацебо-контроль	4,06 (3,91; 4,10)	0,95 (0,91; 0,96)	1,18 (1,11; 1,21)	0,54 (0,51; 0,56)
Контрольна патологія	5,96* (5,88; 6,02)	1,27* (1,21; 1,32)	1,00* (0,96; 1,02)	0,75* (0,74; 0,76)
ЕПМ	5,14**/®/€ (5,12; 5,16)	1,16® (1,14; 1,18)	1,10 (1,06; 1,10)	0,61** (0,59; 0,61)
РубусАрг	4,84**/®/€/@ (4,68; 4,96)	1,06** (1,05; 1,07)	1,09 (1,08; 1,10)	0,58** (0,58; 0,60)
Катехін	5,35** (5,30; 5,55)	1,31 (1,25; 1,33)	1,06 (1,04; 1,07)	0,60** (0,58; 0,60)
Кверцетин	5,34** (5,34; 5,42)	1,12** (1,12; 1,14)	1,05 (1,04; 1,06)	0,62** (0,60; 0,63)
Метформін	4,39**/@/# (4,34; 4,51)	1,02**/@ (1,01; 1,03)	1,14** (1,14; 1,17)	0,60** (0,59; 0,61)

Примітки:

1. * – $p<0,05$ вірогідно щодо тварин плацебо-контролю (ПК);
2. ** – $p<0,05$ вірогідно щодо тварин контрольної патології (КП);
3. @ – $p<0,05$ вірогідно щодо тварин яким вводили ЕПМ;
4. # – $p<0,05$ вірогідно щодо тварин яким вводили РубусАрг»;
5. ® – $p<0,05$ вірогідно щодо тварин яким вводили катехін;
6. € – $p<0,05$ вірогідно щодо тварин яким вводили кверцетин.

Щодо проатерогеної фракції ХС ЛПВЩ, то на тлі застосування ЕПМ та РубусАрг цей показник недостовірно значуще зростав у середньому в 1,1 раза.

За здатністю впливати на вміст загальних ліпідів обидва екстракти достовірно значуще переважали об'єкти порівняння катехін та кверцетин. Те ж саме стосується вмісту ТГ, де під впливом ЕПМ та РубусАрг спостерігалось на 12 % ($p<0,05$) та 19 % ($p<0,05$) достовірно значуще зниження вмісту показника відносно такого у щурів, яким вводили катехін.

Застосування препарату порівняння метформіну на тлі введення фруктози характеризувалося достовірно значущим зниженням усіх досліджуваних показників ліпідного профілю з вірогідною перевагою відносно зменшення вмісту загальних ліпідів на 9 та 16 % при застосуванні ЕПМ та РубусАрг відповідно (табл. 5.10).

На тлі фруктозо-індукованого метаболічного синдрому у щурів не спостерігалось виражених достовірно значущих переваг між дією екстрактів, за винятком впливу на вміст загальних ліпідів де спостерігалася незначна тенденція до переважання РубусАрг перед ЕПМ.

Таким чином, введення фруктози щурам призводило до порушення показників вуглеводного та ліпідного обмінів, а застосування обох досліджуваних екстрактів сприяло відновленню останніх, про що свідчила позитивна корекція відповідних досліджуваних показників обмінних процесів. Відновлення порушеного вуглеводного та ліпідного обмінів ймовірно обумовлено реалізацією антиоксидантної активності екстрактів.

Здатність ЕПМ та РубусАрг коригувати інсулінорезистентність та покращувати стан ліпідного обміну за умов ЕМС, на наш погляд, обумовлена дією низки біологічно-активних речовин цих екстрактів, а саме: вмістом катехіну, елаготанінів, хлорогенової, елагової та кавової кислот [64].

Таким чином, дослідження показало перспективність застосування екстрактів пагонів малини, особливо РубусАрг за метаболічного синдрому як коректора вуглеводного та ліпідного обмінів.

5.5. Експериментальне дослідження нейротропних властивостей екстрактів пагонів малини в інтактних тварин

Експериментальне дослідження нейротропних властивостей екстрактів пагонів малини в інтактних тварин проводили в тестах «відкритого поля» у мишей, та «піднесеного хрестоподібного лабіринту» (ПНХ) у щурів. Результати досліджень наведено в таблицях 5.11 - 5.13. У досліді використовували 2 дози РубусАрг – 6,5 мг/кг та 13 мг/кг, виходячи із даних проведеного молекулярного докінгу.

Як видно з даних табл. 5.11 (додаток Д), за триденного внутрішньошлункового введення мишам всі досліджені засоби, крім ЕПМ, збільшували сумарний показник активності тварин, причому катехін та РубусАрг у дозі 13 мг/кг підвищував усі показники локомоторної та дослідницької активності, а РубусАрг у дозі 6,5 мг/кг – лише вертикальний компонент локомоторної активності.

За деякими показниками досліджувані засоби дещо поступалися катехіну. Можна припустити важливу роль катехіну у реалізації впливу досліджуваних фітопрепаратів на ЦНС.

Застосування ЕПМ не чинило суттєвого впливу на показники в тесті відкритого поля у мишей, виявляючи нейтральність. Змін показників емоційного та вегетативного супроводу поведінкових реакцій в усіх групах зареєстровано не було. Отже, результати досліджень в тесті відкритого поля в мишей показали, що досліджувані засоби не лише не чинять пригнічувального впливу на ЦНС, але й виявляють помірну стимулювальну дію на показники локомоторної та дослідницької активності.

Важливо, що цей ефект не супроводжується інтенсифікацією емоційного та вегетативного супроводу поведінкових реакцій. Ці дані обґрунтовують доцільність подальшого вивчення фармакологічної активності засобу РубусАрг.

Наступним елементом досліджу було дослідження впливу екстрактів пагонів малини на м'язовий тонус мишей у тесті «стрижня, що обертається». Результати досліджу представлені в таблиці 5.12.

Таблиця 5.12

Вплив ЕПМ та РубусАрг на показники м'язового тонусу і координації рухів мишей у тесті «стрижня, що обертається»

Група тварин	Впали до 1 хв	Впали до 2 хв	Впали до 3 хв	Впали до 5 хв
ІК	1/8 (12,5%)	2/8 (25%)	4/8 (50%)	5/8 (62,5%)
ЕПМ	0/8 (0%)	1/8 (12,5%)*/#	2/8 (25%)*/#	3/8 (37,5%)*/#
РубусАрг; 6,5 мг	0/8 (0%)*	1/8 (12,5%)*/#	1/8 (12,5%)*/#	2/8 (25%)*/#
РубусАрг; 13 мг	0/8 (0%)*	0/8 (0%)*/#	1/8 (12,5%)*/#	2/8 (12,5%)*/#
Катехін	0/8 (0%)	3/8 (37,5%)	3/8 (37,5%)*	4/8 (50%)*

Примітки:

1. У числівнику абсолютна кількість тварин, що впали; у знаменнику – загальна кількість тварин у групі;
2. * $p \leq 0,05$ – вірогідно порівняно з групою інтактного контролю;
2. # – $p \leq 0,05$ – достовірні відмінності з показником катехіну.

Результати проведеного дослідження показали, що екстракти пагонів малини та катехін не викликали порушень координації рухів експериментальних тварин.

Так, на фоні використання ЕПМ, РубусАрг в обох дозах та катехіну на 1-й хвилині досліджу жодна тварина не впала зі стрижня, що обертається.

На 2-гу годину експерименту в групі тварин, яким вводили ЕПМ, РубусАрг в дозі 6,5 мг/кг відсоток мишей, що впали зі стрижня був 2 рази меншим, ніж у мишей інтактної групи і 3 рази меншим, ніж при застосуванні катехіну, що впали зі стрижня порівняно з інтактним контролем. На 3-й хв. в обох групах РубусАрг відсоток мищей, що впали склав 12,5%, в групі ЕПМ він був 25%, катехіну 37,5% проти 50% інтактного контролю (табл. 5.12).

На 5-й хвилині досліду, кількість мишей що впали зі стрижня, що обертається була в 2,5 разів менша ($p \leq 0,05$) при застосуванні РубусАрг в дозі 6,5 мг/кг та в 5 разів при використанні дози 13 мг/кг, при застосуванні ЕПМ в 1,6, а в групі катехіна – в 1,25 рази менша, ніж у тварин інтактної групи (табл. 5.12).

Таким чином, дані ротарод-тесту переконливо свідчать про відсутність міорелаксувального впливу досліджуваних екстрактів пагонів малини та перспективність подальшого дослідження РубусАрг.

Враховуючи вищенаведені ефекти РубусАрг, було доцільно оцінити вплив РубусАрг на стан ЦНС не як субстанції, а як препарату у вигляді гранул наступного складу: 500 мг екстракту пагонів малини звичайної (200 мг катехінів у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат), 800 мг L-аргініну і 3700 мг інозитулу. Опрацювання проходило на промислових потужностях ТОВ "ЗДРАВООФАРМ" згідно з проектом технологічної документації.

Досліджували поведінку тварин (щури) в тестах піднесеного хрестоподібного лабіринту (ПХЛ), який є одним із найуживаніших тестів для дослідження тривожної поведінки тварин. Результати досліду наведено в таблиці 5.13 та табл 5.14 (додаток Д).

Як видно з даних табл. 5.13, при застосуванні РубусАрг у дозі 13 мг/кг у тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту порівняно з групою інтактного контролю знижувалася кількість уринацій та дефекацій, що можна розглядати як зменшення інтенсивності вегетативного супроводу поведінкових реакцій.

Інозитол змінював поведінкові реакції щурів у даному тесті із достовірним збільшенням часу перебування у темному компартменті. На тлі застосування засобу також зменшувалася кількість заглядань за край пристрою. Інозитол сприятливо зменшував кількість дефекацій. Зростання частоти уринацій на тлі досліджуваного засобу може бути пов'язано як із змінами вегетативного супроводу поведінкових реакцій, так і зі збільшенням видільної функції нирок. За збільшення дози РубусАрг ця дія не виявлялася.

Отримані результати збігаються з даними літератури: так, відомо, що за одноразового введення інозитулу щурам можливо зростання ознак тривожності в щурів у тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту [102].

Водночас, із цитованих джерел відомо, що за курсового введення інозитулу (а також залежно від дози та шляху введення) ознаки тривожності у тварин зменшуються, також виявляється антидепресивний ефект. Тому, ймовірно, що за більш тривалого курсу введення (або за введення тваринам зі змодельованим порушенням стану ЦНС) ефект інозитулу міг би змінюватися.

Водночас, дуже важливо, що компоненти засобу РубусАрг у дозі 13 мг/кг повною мірою усували зазначений негативний ефект інозитулу.

Ця доза вірогідно забезпечувала зниження вегетативного супроводу поведінкових реакцій.

Також, за результатами тесту «піднесений хрестоподібний лабіринт» під дією РубусАрг в дозі 13 мг/кг спостерігалось збільшення латентного періоду входу до закритого компартмента лабіринту майже в 1,9 рази, а в дозі 6,5 мг/кг в 1,3 рази (табл. 5.13). Середній час перебування у відкритому компартменті для тварин, які отримали РубусАрг в дозі 13 мг/кг збільшився на 43 секунди проти ІК, а РубусАрг в дозі 5 мг/кг на 20 секунд. Це свідчить про наявність у РубусАрг легких протитривожних властивостей.

В той же час інозитол зменшив цей показник в 3 рази. Також РубусАрг зменшив час знаходження у закритому компартменті порівнянно з ІК. Враховуючи те, що інозитол може чинити легку седативну дію, даний ефект РубусАрг зменшує седацію (табл. 5.13).

Як свідчать дані табл. 5.14, гранули РубусАрг у дозі 13 мг/кг в тесті «відкрите поле» виявляв високий ступінь безпечності, не погіршувавши жодного із показників порівняно із даними інтактного контролю.

РубусАрг у меншій дозі та інозитол в даному тесті, як і в розглянутому вище тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту, знижували вегетативний супровід поведінкових реакцій, а саме кількість дефекацій, інозитол також знижував кількість уринацій.

Кількість актів грумінгу не зазнавала змін у всіх експериментальних групах.

На тлі інозитулу достовірно, а на тлі засобу РубусАрг (6,5 мг/кг) у вигляді стійкої тенденції зростала локомоторна активність щурів (за показником кількості перетнутих квадратів). Сума всіх видів активності в цих групах зростала на рівні тенденції.

Отже, результати тесту відкритого поля підтверджують відсутність негативних змін із боку ЦНС на тлі досліджуваних засобів та демонструють зменшення вегетативного супроводу поведінкових реакцій.

Отримані дані свідчать про доцільність подальших досліджень нейротропної дії РубусАрг як перспективної субстанції, так і гранул.

Висновки до розділу 5

1. Використання нативного екстракту пагонів малини ЕПМ та модифікованого L-аргініном РубусАрг за умов експериментально інфаркту міокарда у щурів, викликаного введенням адреналіну гідрохлориду та суспензії гідрокортизону ацетату, вірогідно збільшує виживання тварин, зменшує інтенсивність процесів інтоксикації (зниження рівня МСМ), ВРО (зниження вмісту 8-ізопростану), вірогідно зменшують рівень МФ-КФК, ЛДГ₁, АсАТ та сприяють покращенню показників ЕКГ. За ступенем впливу на КФК-МФ, а також на окисно-відновлювальні, цитолітичні та метаболічні процеси активність РубусАрг була вірогідно вища, ніж катехіну та кверцетину ($p \leq 0,05$).

2. За результатами гістологічних досліджень при застосуванні ЕПМ та РубусАрг у піддослідних тварин спостерігалось зниження/відсутність ознак ішемії, стримування альтерації кардіоміоцитів, прискорення організації осередків некрозу, що позитивно корелювало стан скоротливого апарату клітин. Все це свідчить про наявність у досліджених сполук кардіопротективних властивостей.

3. Позитивний вплив нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини на перебіг експериментальної доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів сприяє покращенню антиоксидантно-прооксидантного індексу, зниженню інтенсивності ВРО, підвищує активність СОД, каталази, збільшує рівень відновленого глутатіону, покращує показники ЕКГ та зменшує летальність. За цими показниками нативний та модифікований L-аргініном екстракт пагонів малини або перевищують або діють на рівні препарату порівняння кверцетин. Максимальна антиокиснювальна дія спостерігалась при застосуванні РубусАрг, що підтверджується вірогідним зниженням рівня 8-ізопростану в 2,1 раза у сироватці крові ($p \leq 0,01$), а в гомогенаті серця показник ТБК-реактивності порівняно з нелікованим контролем зменшився в 1,45 раза.

Також застосування ЕПМ та РубусАрг сприяють відновленню вмісту глікогену в серці, та зменшують прояви гепато- та нефротоксичності доксорубіцину.

3. За умов метаболічного синдрому у щурів, індукованого введенням фруктози встановлено, що ЕПМ та РубусАрг здатні коригувати порушений вуглеводний та ліпідний обмін. Це підтверджено зниженням показника НОМА-IR в 2,06 рази ($p < 0,05$) та вмісту інсуліну сироватки крові у 1,37 раза ($p < 0,05$) відносно тварин з ЕМС при застосуванні ЕПМ та у 2,2 раза та 1,45 раза при застосуванні РубусАрг, відповідно. За впливом на показники вуглеводного обміну РубусАрг тенденційно наближалася за своєю активністю до препарату порівняння метформіну, однак поступався останньому. За здатністю впливати на вміст загальних ліпідів обидва екстракти пагонів малини вірогідно значуще переважали об'єкти порівняння катехін та кверцетин.

5. Експериментально доведено наявність у ЕПМ та РубусАрг помірної нейротропної активності. Результати досліджень в тесті відкритого поля в мишей показали, що досліджувані засоби не лише не чинять пригнічувального впливу на ЦНС, але й виявляють помірну стимулювальну дію на показники

локомоторної та дослідницької активності. Важливо, що цей ефект не супроводжується інтенсифікацією емоційного та вегетативного супроводу поведінкових реакцій. Результати проведеного ротарод-тесту довели відсутність міорелаксувального впливу досліджуваних екстрактів пагонів малини та перспективність подальшого дослідження РубусАрг.

6. Дослідження лікарської форми, а саме гранул РубусАрг, які містили: 500 мг екстракту пагонів малини звичайної (200 мг катехінів у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат), 800 мг L-аргініну і 3700 мг інозиту показали, що РубусАрг у дозі 13 мг/кг зменшував інтенсивність вегетативного супроводу поведінкових реакцій, що дозволяє його рекомендувати за стресорних ситуацій. Збільшення латентного періоду першого входу до темного компартмента та час знаходження тварин у світлому компартменті свідчать про легку протитривожну дію гранул РубусАрг

6. Проведене дослідження свідчить про перспективність застосування модифікованого L-аргініном екстракту пагонів малини, який містить іонізаційні форми (+)-катехіну та епікатехіну для корекції низки уражень міокарда, метаболічного синдрому та як засобу корекції негативних вегетативних реакцій.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1.Деримедвідь Л.В., Горопашна Д.О. Вплив екстрактів пагонів малини на показники вуглеводного обміну за умов експериментального метаболічного синдрому у щурів, індукованого фруктозою. *Лікарська справа*. 2024. Т.84 (1173). С. 5-12. DOI: <https://doi.org/10.31640/LS-2024-4-01>.(

2. Horopashna D., Derymedvid L. Effect of native and L-arginine-modified raspberry shoot extracts on electrocardiogram parameters of rats and status of the antioxidant system under the conditions of experimental doxorubicin

cardiomyopathy in rats. *Annals of Mechnikov's Institute*. 2025. №1. P.25–32. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15011041>.

3. Деримедвідь Л. В., Горопашна Д. О. Вплив екстракту пагонів малини на показники протеїнурії при ураженні доксорубіцином. *Фітофармакологія нирок, печінки та обміну речовин* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 19-20 трав. 2022 р. Харків, НФаУ, 2022. С. 15–16.

4. Горопашна Д. О., Деримедвідь Л. В. Антиокислювальні властивості екстракту пагонів малини за умов медикаментозно-індукованого ураження печінки. *Youth Pharmacy Science* : матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 7-8 груд. 2022 р. Харків : НФаУ, 2022. С. 250.

5. Деримедвідь Л.В., Горопашна Д.О. Пагони малини як перспективний об'єкт з кардіопротекторними властивостями. *Хімія природних сполук*: матеріали VI Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнародною участю, м. Тернопіль, 27-28 жовтня 2022 р. Тернопіль: ТНМУ, 2022. С.109-110.

6. Горопашна Д. О., Деримедвідь Л. В. Нейротропні властивості нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини. *Scientific practice: modern and classical research methods* : Collection of scientific papers «ΛΟΓΟΣ» with Proceedings of the VII International Scientific and Practical Conference, Boston, February14, 2025. Boston-Vinnytsia : Primedia eLaunch& UKRLOGOS Group LLC, 2025. С. 393-394. DOI: 10.36074/logos-14.02.2025.085.

АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

На сьогоднішній день у всьому світі зберігається виразна тенденція до застосування фіто засобів, причому як у нативному вигляді, так і різних модифікацій, особливо з амінокислотами [47, 48]. Перспективними об'єктами для наших досліджень стали екстракти пагонів малини. Пагони малини при зборі врожаю малини обрізають та утилізують [32]. Проведений аналіз вмісту БАР у дворічних пагонах малини показав, що вони містять значну кількість флавоноїдів, насамперед катехінів [13, 59].

Головним джерелом катехінів є листя зеленого чаю, чай не культивується на території України і ця сировина є імпортовою [30]. Відповідно до літературного пошуку, нами було визначено, що похідні катехінів є перспективною групою біологічно активних речовин, які мають протизапальну, антиоксидантну і кардіопротекторну властивості. На території України одним з головних джерел похідних катехінів є пагони малини звичайної. Таким чином, це послужило підставою для вивчення фармакодинамічних властивостей екстрактів пагонів малини звичайної.

На кафедрі загальної хімії та кафедрі фармакогнозії та нутриціології НФаУ під керівництвом проф. Колесника С.В. було проведено якісний і кількісний аналіз фенольних сполук отриманого екстракту пагонів малини звичайної [134]. В процесі дослідження було ідентифіковано епікатехін, (+)-катехін, елаготаніни (сангуїн Н-10 ізомер 1, сангуїн Н-10 ізомер 2, сангуїн Н-6 та ламбертіанін С) та похідні еллаговой кислоти. Катехіни в отриманому нативному екстракті пагонів малини становили більше 70% всіх фенольних сполук, у свою чергу похідні елаготанінів до 5%, а похідні елагової кислоти до 25%.

В той же час у медичній практиці застосовують листя малини [23, 26], в яких сума катехінів у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат, в 2,5 рази менша, ніж в пагонах малини [23, 26, 38], проте листя малини багаті на елагову кислоту та її похідні. В пагонах малини основними фенольними

сполуками є саме катехіни, за якими йдуть похідні гідроксикоричних кислот і флавоноїди. У листі малини навпаки, більше міститься флавоноїдів – кверцетину та ін. [23, 26, 38, 46].

Обидві групи БАР мають високий антиокиснювальний потенціал і широко застосовуються в медичній практиці для корекції патологічних станів, де складовою патологічного процесу є надмірна активація вільнорадикального окиснення.

Одним із таких станів є запалення. При запальних станах надмірна активація ВРО сприяє пошкодженню мембран з наступною активацією фосфоліпази А₂, що сприяє утворенню низки медіаторів запалення, лейкотриєнів, простагландинів тощо. Також процеси ВРО знижують активність антиокисних ферментів, порушують процеси тканинного дихання, чинять цитотоксичну, генотоксичну дію. Тож гальмування цих процесів позитивно впливатиме на перебіг запалення.

На перших етапах нашого експерименту нами було проведено порівняння антиексудативної дії водних та спиртових екстрактів листя та пагонів малини. Це було обумовлено різним складом БАР у цих об'єктах.

За даними наших досліджень водний екстракт пагонів малини звичайної мав найвищий вміст поліфенолів та найвищі значення антиоксидантної активності [64].

В іншому нашому дослідженні було встановлені більш високі антиокиснювальні властивості 69% спиртового екстракту пагонів малини. Аналогічним чином проведені нами дослідження показали більш високу антиоксидантні активність 60% спиртово-водного екстракту листя малини [36].

Нами в однакових умовах було порівняно протизапальну дію настою листя малини; водного екстракту листя малини (ВЕЛМ), 60% водно-спиртового екстракту листя малини (СЕЛМ); водного екстракту пагонів малини (ВЕПМ) та 60% спиртового екстракту пагонів малини – ЕПМ.

Отримані результати дослідження показали вірогідно більшу антиексудативну дію ЕПМ, який мав достатню протизапальну дію впродовж усього терміну досліду. Встановлено, що середня протинабрякова активність за 4 години експерименту ЕПМ (46,2%) практично не відрізнялась від диклофенаку натрію (47,7%), проте вірогідно перевищувала його ефект на 1-у годину досліду. За протинабряковим ефектом ЕПМ у середньому на 20% перевищував ефект екстрактів листя малини, окрім СЕЛМ, де різниця склала 5% на користь ЕПМ. Таким чином, саме пагони малини, які містять катехіни, були обрані для наших подальших досліджень.

Як відомо, (+)-катехін і епікатехін пригнічують активність прозапальних цитокінів, таких як: ІЛ-1, ІЛ-6, ІЛ-1 β і ФНО- α . Крім цього, в наукових дослідженнях *in vitro* [113, 170] було показано, що похідні катехінів гальмують ключові ферменти запальної ланки: фосфоліпазу А2, ЦОГ-2, 5-ЛОГ та eNOS. Також похідні катехінів інгібують NF-kB, який відповідає за «активацію» хронічного запального процесу при таких захворюваннях, як ревматоїдний артрит.

Але, головною перевагою похідних катехінів перед НПЗЗ і стероїдними протизапальними засобами є відсутність побічного ефекту. Наприклад, похідні катехінів не викликають атрофію наднирників, не пригнічують імунітет, як глюкокортикостероїди, не призводять до розвитку виразкової хвороби та бронхоспазму, як при прийомі НПЗЗ [23, 113, 170].

При створенні будь-якого лікарського засобу враховують три основні елементи: активні фармакологічні інгредієнти (АФІ), доза та лікарська форма. Лікарська форма відповідає за біодоступність лікарського засобу до "таргетної" мішені, а АФІ та доза відповідають за фармакологічний ефект. При розробці АФІ приділяють велику увагу хімічній структурі, насамперед до положення замісників у структурі АФІ, оскільки це може впливати, наприклад, на ступінь зв'язування з активним центром ферменту, який АФІ інгібує [23].

Проте не завжди приділяють належну увагу ступеня іонізації речовини. В одному з досліджень з вивчення фармакологічної активності та біодоступності слабких органічних кислот та основ було показано, що іонізаційні форми даних сполук, порівняно з молекулярною формою, мали вищі біодоступність, адсорбцію та ступінь зв'язування з активним центром ферменту, що пов'язано, на думку вчених, з присутністю заряду в іонізаційній формі [63]. Отже, важлива як молекулярна хімічна структура, так й ступінь іонізації АФІ лікарського засобу.

Ця гіпотеза була підтверджена результатами проведеного нами молекулярного докінгу щодо впливу іонізованих катехінів на ключові ферменти запалення: ЦОГ-2, фосфоліпазу А2, 5-ЛОГ та NF- κ B [58], що стало підґрунтям для створення модифікованого L-аргініном екстракту пагонів малини «РубрусАрг».

На моделях карагенінового та зимозанового набряку у щурів експериментально доведено переваги саме іонізованих катехінів перед молекулярною формою. Проте фармакологічна активність і ЕПМ, і РубрусАрг була вірогідно вища, ніж катехіну. На наш погляд, в реалізації протизапального ефекту досліджених екстрактів пагонів малини бере участь багато факторів.

Як відомо, катехіни, особливо епігалокатехін-3-галлат (EGCG), який у своїй структурі має 6 гідроксильних груп, є сильними інгібіторами вільнорадикального окиснення, самі перетворюючись на стабільні тривало живучі радикали, які не продовжують каскад ВРО-деструкції, у тому числі й при запаленні [104, 105, 108] та зменшують прояви оксидативного стресу у тканинах. Загальновідомо, що на відміну від фізіологічної ЦОГ-1, рецепторна ділянка ЦОГ-2 має додаткову бічну гідрофільну порожнину [157], через що можлива взаємодія ЦОГ-2 із EGCG та іншими флавонолами [69].

По-друге, дані молекулярного докінгу переконливо довели інгібувальний вплив катехінів на основні ферменти – чинники запалення (розділ 3.2).

Також у складі ЕПМ та РубрусАрг є інші БАР, насамперед гідроксикоричні кислоти та елаготаніни, які також чинять протизапальну, кардіопротекторну дію [1, 105, 186]. За рахунок ефекту наявних у складі екстрактів флавоноїдів, флавнолів та гідроксикоричних кислот зменшується не лише утворення простагландинів E1, F2 та тромбоксану A2, але й зменшується проникність капілярів, адгезія і міграція лейкоцитів та інші чинники запалення [1, 67, 105]. Ці ж БАР мають мембраностабілізуючі властивості та сприяють пригніченню активності гіалуронідази, що також зменшує ексудацію [1, 105].

Тож, такий синергійний вплив дії компонентів екстрактів і сприяє реалізації протизапальної активності, причому як на початкових стадіях запалення, де максимум припадає на лейкотриєновий каскад, так і на більш пізніх, де залучаються простагландини. Слід зазначити, що іонізований склад РубрусАрг забезпечив максимум протизапальної дії в дозі значно меншій, ніж доза ЕПМ.

Низькорівневе запалення є складовою патогенезу багатьох захворювань серцево-судинної системи (ССС), які на сьогодні займають лідируючі позиції серед основних причин захворюваності та смертності населення у багатьох країнах світу. В Україні, за період 2018-2022 рр, 64,86% загальної смертності населення спричинили саме захворювання системи кровообігу [44]. За даними Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) лише у Європі 42,5% усіх смертей за рік припадає саме на цю категорію захворюваності [19].

Стресорні ураження міокарда є одним з основних факторів розвитку тяжкої коронарної патології [55, 56]. Досить важливу роль у патогенезі коронарної патології відіграє гіперкатехоламінемія, яка може бути як ендогенного генезу (стресогенна), так і екзогенного походження, яка зумовлена надлишком застосування адренергічних препаратів. У патогенезі стресу також значну роль відіграє збільшення рівня кортизолу, який з часом стає одним із чинників розвитку низки кардіологічних захворювань, включаючи метаболічний синдром, артеріальну гіпертензію, ішемічну

хворобу серця тощо [55, 56]. Також високий рівень глюкокортикостероїдів підвищує сенсibilізацію адренорецепторів до дії катехоламінів, що збільшує їх активність.

Активація симпато-адреналової системи та гіперкортицизм ініціюють каскад біохімічних, імунологічних, реологічних та функціональних змін у міокарді та є одними з найчастіших факторів розвитку ішемії міокарда. Також слід зважати і на лікообумовлені ураження міокарда, наприклад, викликані адреноміметиками та/або стероїдами [56, 56].

Саме тому було доцільним вивчити кардіопротекторну активність досліджуваних препаратів на катехолобумовленій моделі ураження міокарда – адреналін-гідрокортизоновому інфаркті міокарда [2].

На сьогодні добре відомо, що патології ССС та, зокрема, міокарда відносяться до ВРО-обумовлених патологій. В першу чергу, це пояснюється тим, що наразі доведено провідну роль активації процесів пероксидації в розвитку запально-деструктивних та дегенеративних процесів, гіпоксії, ішемії, реперфузії та гіперпродукції катехоламінів (в т.ч., при стресі), які мають місце в патогенезі цілої низки захворювань серця, викликаючи нерідко важкі наслідки. ВРО призводить до порушень системи мітохондріального окисного фосфорилування, а енергодефіцит та супутні йому порушення метаболізму жирів, білків, вуглеводів запускають каскад цитодеструктивних чинників, здатних порушувати функцію мембрано зв'язувальних білків, структуру протеїн-ліпідної взаємодії та фізико-хімічні властивості мембран [86, 87, 115, 210]. Це створює передумови для ініціації ПОЛ, що має самостійно виражений мембрано ушкоджувальний ефект і замикає порочне коло пошкодження метаболізму клітини. У результаті активізується утворення гідроперекисів ліпідів, малонового діальдегіду з пригніченням супероксиддисмутази, каталази та загальної антиокиснювальної активності плазми, що супроводжується пошкодженням клітинних мембран з виходом тканинного тромбoplastину в кров та активації системи згортання крові, що, в

свою чергу, призводить до тромбоутворення та погіршує перебіг захворювання чи патологічного стану [87, 115, 144, 161].

До того ж відомо, що ішемія міокарда супроводжується підвищенням експресії молекул адгезії як на ендотеліоцитах ураженої ділянки (ICAM-1, ELAM-1), так і на поліморфноядерних лейкоцитах (CD11b/CD18), що призводить до акумуляції останніх у капілярах ішемізованої області. А при реперфузії лейкоцити спрямовуються через ендотеліальну мембрану всередину ураженої ділянки, що супроводжується їхньою активацією та посиленням продукції активних форм кисню (АФК) [87, 161, 210].

Посилення шкідливої дії АФК нейтрофільного походження сприяє також зниженню продукції NO внаслідок дисфункції ендотеліоцитів, що посилює адгезію гранулоцитів. Порушення генерації NO надалі погіршується безпосередньою інактивацією супероксид-аніоном $O_2^{\bullet-}$, що виділяється активованими поліморфноядерними лейкоцитами. Більш того, пероксинітрит ONOO, що утворюється в результаті взаємодії цих молекул, у високих концентраціях має виражений цитотоксичний ефект [24, 161]. Є припущення, що в умовах ішемії ксантиндегідрогеназа швидко і необоротно трансформується в ксантиноксидазу внаслідок обмеженого протеолізу. Високу швидкість цієї трансформації пояснюють руйнуванням лізосом, розвитком сильного ацидозу або активацією внутрішньоклітинних кальцій-залежних протеаз кардіоміоцитів [86, 87, 115].

Також відомо, що ішемія супроводжується зниженням енергетичного та пластичного потенціалу кардіоміоцитів. Крім цього, ішемія супроводжується акумуляцією арахідонової кислоти внаслідок підвищення активності кальцій-залежних фосфоліпаз; опосередкованого збільшенням концентрації внутрішньоклітинного Ca^{2+} та ацидозом, який сприяє вивільненню фосфоліпаз із лізосом [178, 180]. У нормальних умовах арахідонова кислота або реацетилюється до фосфоліпідів, або метаболізується через цикло- та ліпооксигеназний шлях. При ішемії система реацетилювання порушується внаслідок інактивації лізофосфатидилхолінацилтрансферази, в результаті чого

активізується катаболізм арахідонової кислоти, а при цьому в процесі ліпоксигеназного (а, можливо, і циклооксигеназного) окиснення утворюється ОН-радикал. Поряд з цим, в ході конверсії простагландину H_2 , продукту циклооксигеназної деградації арахідонової кислоти, показано утворення АФК [210].

Ще одним чинником уражень міокарда є те, що постішемична реперфузія супроводжується різким підвищенням вмісту в периферичній крові катехоламінів: відбувається масоване вивільнення норадреналіну з ураженої ділянки, у крові підвищується вміст адреналіну [2]. Вважають, що певну роль в описаних вище патологічних ситуаціях відіграє продукт аутоокиснення катехоламінів – супероксидний аніон-радикал $-O_2^{\bullet}$ [2, 56, 178, 180].

Разом з вищезазначеними змінами явища ішемії-реперфузії супроводжуються ослабленням природного захисту тканин серця від вільно-радикального окиснення. Так, численні експерименти та клінічні спостереження свідчать про зниження активності основних ферментативних та неферментативних (ланка метаболічного антирадикального захисту) антиоксидантів [2, 56]. Отже, низка терапевтичних впливів має на меті непряму інактивацію АФК за допомогою дії на джерела їхньої генерації. Отже, низка терапевтичних впливів має на меті непряму інактивацію АФК за допомогою дії на джерела їхньої генерації [2, 20, 178, 180].

Так, в експериментальних та клінічних дослідженнях показано, що запобігання адгезії гранулоцитів до ендотелію за допомогою субстрату NO-синтази - L-аргініну (входить до складу РубусАрг), донаторів NO – тівортину та ін, тощо, призводило до зменшення розмірів зони інфаркту та поліпшення постішемичного відновлення функцій міокарда та коронарного ендотелію [2, 56, 178, 180].

Для комплексного вивчення кардіопротекторної дії досліджуваних препаратів (РубусАрг і ЕПМ) були обрані 2 моделі з різним механізмом дії і ступенем тяжкості перебігу: субхронічна доксорубіцинова кардіоміопатія та

гостра катехоламінобумовлена модель – адреналін-гидрокортизоновий інфаркт міокарда у щурів. Також метою було порівняти ефективність ЕПМ та РусбусАрг при ураженні міокарда, оскільки вони дещо відрізняються за своїм складом, а як відомо, саме синергічна взаємодія БАР визначає результат загального терапевтичного впливу будь-якого лікарського засобу, в т.ч. й досліджуваних фітопрепаратів [47,48].

Було встановлено, що при всіх модельних патологіях міокарда спостерігався розвиток ексудативних і проліферативних процесів у міокарді, та активації кардіоцитолізу, про що свідчить підвищення показника ВКС (модель ДКМП) та активності ферменту АсАТ (обидві моделі). Введення препаратів ЕПМ та РусбусАрг сприяло значному зменшенню цих процесів в міокарді.

За даними біохімічних досліджень використання ЕПМ та РусбусАрг зменшувало інтенсивність вільнорадикального окиснення (ВРО) та сприяло нормальному функціонуванню антиоксидантного компартменту клітин.

Особливо потрібно визначити вірогідне зниження рівня 8-ізопростану на тлі застосування екстрактів пагонів малини. Як відомо, 8-ізопростан є продуктом метаболізму перекисного окислення арахідонової кислоти, ізомерного простагландину F₂ і його кількість прямо пропорційно рівню утворених вільних радикалів. Також є низка публікацій, які свідчать про те, що ізопростани діють як судинозвужувальні агенти (через активацію простаноїдного рецептора TxA₂), вони є модуляторами низки серцево-судинних захворювань і є відповідальними за підвищення серцево-судинного ризику [98]. Тож зменшення цього ключового показника ліпоперекисної деструкції є вагомим фактором подальших кардіозахисних ефектів екстрактів пагонів малини.

Враховуючи те, що при застосуванні РусбусАрг та ЕПМ зменшуються рівні МВ-КФК, ЛДГ₁ та спостерігається виразна тенденція до покращень ЕКГ – це переконливо свідчить про перспективни застосування екстрактів пагонів малини для профілактики уражень серця.

На моделі адреналін-гідрокортизонового інфаркту міокарда, окрім вищезгаданих показників, кардіопротекторну активність досліджуваних препаратів було підтверджено також гістологічно та встановлено, що розвиток модельної патології характеризувався певними змінами в структурі кардіоміоцитів, а профілактично-лікувальне введення досліджуваних сполук сприятливо впливало на виразність показників, які вивчалися в даному досліді, що проявлялося у зниженні/відсутності ознак ішемії, стримуванні альтерації кардіоміоцитів, прискоренні організації осередків некрозу; позитивно корелювало стан скоротливого апарату клітин [18? 27]. Все це свідчило про наявність у досліджених сполук кардіопротекторних властивостей.

Таким чином, аналізуючи вплив препаратів на всі вказані показники, можна зробити висновок, що на тлі модельної патології – адреналін-гідрокортизонового інфаркту міокарда у щурів, досліджувані фармакологічні препарати не поступалися або переважали ефекти референтних засобів.

Аналогічна дія ЕПМ та РусбусАрг спостерігалась також і на іншій моделі кардіопатології – моделі доксорубіцинової КМП.

За даними ВООЗ, кардіоміопатія – поліетіологічне захворювання, яке виникає переважно у людей молодого віку у віці 25-30 років з прогресуючим перебігом та тяжкими порушеннями скорочувальної функції міокарді. Дане захворювання характеризується первинними дистрофічними змінами міокарда [21, 33, 34]. Клінічними проявами КМП є недостатність скорочувальної функції міокарда в зв'язку з його дистрофією.

Як відомо, антрацикліновий протипухлинний антибіотик доксорубіцин попри свою клінічну ефективність у лікуванні карциноми молочної залози та легень, гострої лейкемії, лімфоми тощо, має низку побічних ефектів, серед яких дуже гостро стоїть кардіотоксичність [14, 31, 37].

Зазвичай кардіотоксичність доксорубіцину дозозалежна, кумулятивна та прогресуюча і зустрічається приблизно у 10% пацієнтів, які отримували препарат. Кардіотоксичність доксорубіцину може супроводжуватись як

прихованими змінами у структурі та функції міокарда, так і проявами дисфункції лівого шлуночка, зниженням фракції викиду лівого шлуночка від 10% до 50%, розвитком тяжкої кардіоміопатії та застійної серцевої недостатності, що може привести до летальних наслідків [14, 21, 37].

Одним із провідних механізмів кардіотоксичності доксорубіцину є активація процесів вільнорадикального окиснення (ВРО), причому як через активні форми кисню (супероксидний аніон-радикал, гідроксильний радикал тощо), так і через систему NO-синтази (NOS) та NADPH-оксидаза (NOX) [29]. За допомогою NOX та/або NOS доксорубіцин може бути відновлений до семіхінону, що також запускає каскад вільнорадикальної деструкції клітинних та субклітинних структур [30] з утворенням пероксинітриту, який є високоактивним окиснювачем ДНК, білків і ліпідів.

Таким чином, доксорубіцин запускає ланцюговий каскад як оксидативного, так і нітрозативного стресу, що на фоні пригнічення активності антиоксидантних ферментів (супероксиддисмутази, каталази, глутатіонредуктази, глутатіонпероксидази, хіонредуктази тощо), зниження кардіоліпіну, накопичення p53, та пошкодження ДНК у мітохондріях з виникненням мітохондріальної дисфункції [25]. Це призводить до роз'єднання окисного фосфорилування та тканинного дихання, зменшення продукції АТФ та розвитку низки дисметаболических процесів, що веде до загибелі клітин міокарда [1, 33, 37].

Активація ВРО також спричиняє вивільнення Ca^{2+} з саркоплазматичного ретикулуму серцевого м'яза та ендотелію судин і збільшення його вмісту у цитозолі, що також сприяє ураженню міокарда [15].

Варто визначити, той факт, що на даній моделі ціла низка вивчених показників під впливом досліджуваних засобів значно поліпшувалась, майже повністю наближаючись до відповідних значень в групі інтактного контролю.

Слід зазначити, що на обох моделях було переконливо доведена суттєва роль антиоксидантного механізму реалізації кардіпротекторного ефекту екстрактів, що підтверджується вірогідним зниженням як в тканинах серця,

так і сироватці крові рівня 8-ізопростана, який на сьогодні вважають «золотим стандартом» інтенсивності ВРО [98].

На наш погляд, більшу ефективність РубусАрг та ЕПМ порівняно з класичним антиоксидантом кверцетином, який широко застосовують в кардіології, можна пояснити складом цих засобів, насамперед значним вмістом флаван-3-олів, основними складовими яких є епікатехін та (+)-катехін [45]. Як було показано вище, фармакологічна активність речовини значною мірою залежить від її хімічної структури та біодоступності, на яку впливає ступінь іонізації. Слід зазначити, що саме іонізовані сполуки внаслідок свого електричного заряду за своїми хімічними та біологічними властивостями можуть істотно відрізняються від властивостей їх незаряджених форм [8, 45, 47]. Це і було підтверджено в наших дослідженнях, де саме іонізована форма препарату РубусАрг проявила найбільшу фармакологічну активність.

Враховуючи те, що молекулярний механізм дії кверцетину та катехіну при серцево-судинних захворюваннях дещо подібні (зменшення рівнів малонового діальдегіду; NF-kB, збільшення GSH; СОД, зменшення рівню TNF- α та ін.) [48, 87], можна припустити, що в реалізації кардіопротекторної дії препаратів на основі екстрактів пагонів малини (мажорним компонентом яких є катехіни) є і інші альтернативні механізми. Насамперед слід враховувати наявність в екстрактах елаготанінів, чий кардіо захисні властивості добре відомі [1, 27, 95].

Також катехіни та галова кислота (які наявні в досліджених екстрактах пагонів малини) можуть хелатувати іони металів, що в свою чергу зменшує інтенсивність процесів ВРО, у тому числі й за доксорубіцинової кардіоміопатії, а також захищають мітохондріальну ДНК від пошкоджень [1, 18, 95].

Як відомо, одним із провідних механізмів кардіотоксичності доксорубіцину є активація процесів вільнорадикального окиснення (ВРО), причому як через активні форми кисню (супероксидний аніон-радикал, гідроксильний радикал тощо), так і через систему NO-синтази (NOS) та

NADPH-оксидаза (NOX) [52]. За допомогою NOX та/або NOS доксорубіцин може бути відновлений до семіхінону, що також запускає каскад вільнорадикальної деструкції клітинних та субклітинних структур [178] з утворенням пероксинітриту, який є високоактивним окиснювачем ДНК, білків і ліпідів.

Також кардіопротекторний ефект екстрактів малини, насамперед модифікованого L-аргініном екстракту РубусАрг, вочевидь обумовлений його впливом на систему NO в ендотелії судин. Як відомо, ендотеліальний NO утворюється при окисненні L-аргініну до L-цитруліну в реакціях, які каталізується ендотеліальною Ca^{2+} -залежною конститутивною ізоформою NO-синтази (eNOS) [18, 20, 53]. Тож гіпотетично РубусАрг можна вважати донатором L-аргініну. За умов дії низки токсикантів та значної кількості активних форм кисню, eNOS починає генерувати супероксид аніон-радикал і запускати розвиток нітрозативного стресу [55, 143, 192].

Зниження інтенсивності процесів ВРО та руйнації мембран (що підтверджено в наших дослідженнях за впливом на рівні 8-ізопростану, ТБК-АП, показники прооксидантно-антиоксидантного індексу, рівні G-SH, активності СОД, каталази) нормалізує систему eNOS-NO, що не лише обмежує прояви як оксидативного, так і нітрозативного стресу, але й зменшує ендотеліальну дисфункцію.

Саме за рахунок полімодального впливу на ключові ланки патогенезу доксорубіцинової кардіоміопатії ми можемо пояснити переваги РубусАрг. Також потрібно враховувати наявність в екстаках і елаготанінів, які мають доведені кардіопротекторні властивості [1].

На моделі метаболічного синдрому у щурів, індукованого введенням фруктози, для ЕПМ та РубусАрг були виявлені властивості зменшувати прояви інсулінорезистентності та покращувати ліпідний профіль експериментальних тварин. У патогенезі даного стану, окрім глюкозотоксичності, також залучені процеси ВРО, що призводить до порушення функціонування мітохондрій, виникнення ендотеліальної

дисфункції, деактивації інсулінових рецепторів, стану переносника глюкози – GLUT4 тощо [29, 53, 79, 116, 184, 190].

На наш погляд, зниження гіперінсулінемії, індексу HOMA-IR, глікозильованого гемоглобіну на тлі використання нативного та модифікованого екстрактів пагонів малини обумовлено дією декількох факторів.

По-перше, це антиоксидантна дія катехінів [207]. У роботах Chen B. et al. вказано, що одним із чинників розвитку інсулінорезистентності є мітохондріальна дисфункція. Катехіни, особливо ацетильовані катехіни, за рахунок інгібування процесів ВРО спроможні захищати мітохондрії від дії окисного стресу і цим забезпечують їх нормальне функціонування [95].

Також є дані літератури про те, що катехіни можуть покращувати чутливість до інсуліну, а також зменшувати дисліпідемію [197]. В роботах Zhang Q. et al., встановлено, що епігалокатехінгалат може зменшувати інсулінорезистентність [95].

По-друге елаготаніни, елагова та кавова кислоти, які наявні у складі як ЕПМ, так і РубусАрг можуть зменшувати резистентність до інсуліну через зменшення інтенсивності запальної реакції та ліпотоксичності [117, 128, 129, 143, 160, 180, 192, 210].

Більша ефективність РубусАрг порівнянно з ЕПМ за цих патологій може бути обумовлена наявністю у складі препарату не тільки іонізованих катехінів, але й L-аргініну. Роль L-аргініну як донатору оксиду азоту та ендотеліопротектору загальновідома [55]. Проте в організмі, особливо за умов окисного стресу утворюються і метильовані структурні аналоги L-аргініну – асиметричний диметиларгінін (ADMA) і монометиларгінін (NMMA), які є ендогенними інгібіторами ендотеліального оксиду азоту (e-NOS) [7]. Цей факт дозволяє пояснити так званий "аргініновий парадокс", оскільки для насичення NOS в присутності її ендогенних інгібіторів може вимагатися більше висока концентрація субстрату, що забезпечується, зокрема, екзогенним надходженням останнього [10, 11]. Проте завжди слід

пам'ятати, що окрім оксидативного, існує ще й нітрозативний стрес, який також запускає каскад цитодеструктивних процесів. Цьому можуть завадити антиоксиданти, тож наявність іонізованих катехінів у складі РубусАрг зменшує як оксидативний, так і нітрозативний стрес.

Для ЕПМ та РубусАрг встановлено слабку нейротропну дію. У ротарод-тесті у інтактних тварин для ЕПМ та РубусАрг було доведено відсутність негативного впливу на м'язовий тонус та координацію рухів піддослідних тварин, а в тесті «відкритого поля» ЕПМ та РубусАрг сприяли незначному збільшенню рухової та орієнтовно-дослідницької активності. Важливо, що цей ефект не супроводжувався інтенсифікацією емоційного та вегетативного супроводу поведінкових реакцій.

В тестах ПХЛ для лікарської форми РубусАрг у вигляді гранул встановлено наявність легкої протитривожної дії, що було підтверджено збільшенням тривалості перебування тварин у відкритому компартменті приладу [49, 167, 168]. Також він зменшував інтенсивність вегетативного супроводу поведінкових реакцій, що дозволяє його рекомендувати за стресорних ситуацій.

Токсикологічні дослідження показали, що нативний та модифікований L-аргініном екстракти пагонів малини є нетоксичними сполуками.

Аналізуючи вищенаведене, можна зробити висновок про те, що за усіма видами активності РубусАрг був більш активним за ЕПМ.

Узагальнюючи результати проведеного нами комплексу токсикологічних фармакологічних та нейрофізіологічних тестів щодо ефективності застосування екстрактів пагонів малини, можна зробити висновок відносно перспектив подальшого поглибленого вивчення РубусАрг як перспективного вітчизняного протизапального, кардіопротекторного засобу для профілактики та комплексної терапії захворювань людини.

ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено нове вирішення актуальної наукової задачі, яке теоретично та експериментально обґрунтувало доцільність та ефективність застосування в медичній практиці нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини звичайної як протизапального, кардіопротекторного та нейротропного засобу.

1. За результатами проведених нами досліджень з вивчення гострої та підгострої токсичності нативного (ЕПМ) та модифікованого L-аргініном (РубрусАрг) екстрактів пагонів малини звичайної встановлено, що LD_{50} для ЕПМ та РубрусАрг становить понад 5000 мг/кг. При введенні даних екстрактів піддослідним тваринам не спостерігалось летальності, змін маси тіла, фізіологічного стану тварин, морфологічного стану внутрішніх органів та змін основних біохімічних показників. Це дозволяє віднести дані речовини до IV класу токсичності сполук за класифікацією Hodge та Sterner (практично нетоксичні речовини - $LD_{50} > 5000$ мг/кг).

2. Проведено порівняльне дослідження протизапальних властивостей водно-спиртових та водних екстрактів пагонів малини з водно-спиртовими та водними екстрактами листя малини. Експериментально доведено більш високу антиексудативну активність 60% водно-спиртового екстракту пагонів малини. На моделі карагенінового набряку було встановлено, що за антиексудативною активністю ЕПМ вірогідно перевищував протинабрякові ефекти як екстрактів листя малини, так і водного екстракту пагонів малини.

На першій годині досліду антиексудативний ефект ЕПМ вірогідно перевищував дію препарату порівняння диклофенаку натрію ($p \leq 0,05$), на другу годину – був порівняний з диклофенаком натрія, проте на третю та четверту годину він йому поступався.

3. Для підтвердження гіпотези щодо більшої фармакологічної активності іонізованих форм катехінів, які є основними компонентами

екстракту пагонів малини, було проведене молекулярне моделювання потенційної протизапальної активності іонізованої та молекулярної форми (+)-катехіну та епікатехіну за впливом на основні ферменти-модулятори запального процесу – фосфоліпазу А₂, циклооксигеназу-2 (ЦОГ-2), 5-ліпооксигеназу (5-ЛОГ). Встановлено, що іонізаційні форми (+)-катехіну та епікатехіну здатні інгібувати ферментні структури в 10 разів краще порівняно з молекулярною формою. Модифікований екстракт пагонів малини, де похідні катехінів були іонізовані слабкою основою – L-аргініном отримав умовну назву «РубусАрг».

4. Порівняльний аналіз антиексудативної дії розрахованих доз РубусАрг порівняно з нативним екстрактом пагонів малини показав, що його антиексудативний ефект на 5,7% (доза 6,5 мг/кг у перерахунку на вміст катехіну) та на 7,3% (доза 13 мг/кг у перерахунку на вміст катехіну) перевищував ефект ЕПМ (доза 26,4 мг/кг у перерахунку на вміст епігалокатехін-3-О-галату), проте доза, в якій виявився антиексудативний ефект ЕПМ була в 4 рази вища, ніж РубусАрг.

У першу годину експерименту антиексудативний ефект РубусАрг та ЕПМ був вірогідно вищим за ефект диклофенаку натрію; з 2-ї години досліджувані дії ЕПМ та РубусАрг в обох досліджуваних дозах була вірогідно вища, ніж катехіну. Це свідчить про комплексний вплив БАРЕкстрактів пагонів малини на перебіг запальної реакції шляхом впливу як на лейкотриєнову, так і на простагландинову фазу запалення.

5. При зимозановому набряку лапи у щурів встановлено, що РубусАрг у 1,3 раза (30 хвилина), у 1,4 раза (1 година), а ЕПМ у 1,2 раза були ефективнішими ніж препарат порівняння кверцетин ($p \leq 0,05$) та в середньому у 2,4 раза перевищували протинабряковий ефект відносно групи тварин, яким застосовували диклофенак натрію ($p \leq 0,05$).

За ступенем зменшення процесу ексудації при зимозановому набряку, активність сполук змінювалась таким чином: РубусАрг > ЕПМ > кверцетин >

катехін > диклофенак натрію. Це підтверджує антилейкотриєн- обумовлений механізм протизапальної дії ЕПМ та РубусАрг.

6. На моделі адреналін-гидрокортизонового ураження міокарда доведено кардіопротекторні ефекти ЕПМ та РубусАрг. Встановлено, що ЕПМ та РубусАрг за лікувально-профілактичного режиму введення вірогідно збільшують виживання тварин, зменшують інтенсивність процесів інтоксикації (зниження рівня МСМ), вільнорадикального окиснення в 1,4 раза та 2,0 раза, відповідно, зменшують рівень МФ-КФК, ЛДГ₁, АсАТ та сприяють покращенню показників ЕКГ. За ступенем впливу на МФ-КФК, а також на окисно-відновнювальні, цитолітичні та метаболічні процеси активність РубусАрг була вірогідно, ніж катехіну та кверцетину ($p \leq 0,05$).

Морфологічними дослідженнями доведено, що застосування ЕПМ та РубусАрг за адреналін-гидрокортизонового ураження міокарда призводить до зниження/відсутності ознак ішемії, стримування альтерації кардіоміоцитів, прискорення організації осередків некрозу, що позитивно корегувало стан скоротливого апарату клітин. Все вищезначене свідчить про наявність у досліджуваних сполук кардіопротективних властивостей. За сукупність впливу на морфологічні показники ураження міокарда, найбільший кардіопротективний ефект проявив РубусАрг, а ефект ЕПМ був на рівні або дещо вищим за дією препарату порівняння кверцетину. Проте і ЕПМ і РубусАрг за впливом на морфологічні ознаки ураження міокарда за умов даної патології переважали дію катехіну.

7. За умов доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів застосування ЕПМ і РубусАрг при лікувально-профілактичному режимі введення вірогідно збільшило виживання тварин у 1,5 раза та 1,33 раза, відповідно.

Позитивний вплив ЕПМ і РубусАрг на перебіг експериментальної доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів сприяв покращенню антиоксидантно-прооксидантного індексу, зниженню інтенсивності ВРО ($p \leq 0,05$), підвищував стан антиоксидантної системи – активність СОД, каталази, збільшував рівень відновленого глутатіона ($p \leq 0,05$), покращував

показники ЕКГ. За цими показниками ЕПМ і РубусАрг перевищували або діяли на рівні препарату порівняння кверцетин, та вірогідно були ефективнішими за катехін. Слід відзначити, що застосування ЕПМ та РубусАрг сприяло відновленню вмісту глікогена у серці та зменшувало прояви гепато- і нефротоксичності доксорубіцину.

Максимальна антиокиснювальна дія спостерігалась за застосування РубусАрг, що підтверджується вірогідним зниженням рівня 8-ізопростана у 2,1 раза в сироватці крові ($p \leq 0,01$), а в гомогенаті міокарда показник ТБК-реактантів порівняно з нелікованим контролем зменшився у 1,45 раза.

8. За умов метаболічного синдрому (МС) у щурів, індукованого введенням фруктози, встановлено, що ЕПМ та РубусАрг здатні коригувати порушений вуглеводний та ліпідний обмін. Це підтверджено зниженням показника НОМА-IR в 2,06 разу ($p < 0,05$) та вмісту інсуліну сироватки крові у 1,37 раза ($p < 0,05$) відносно тварин з МС при застосуванні ЕПМ та у 2,2 раза та 1,45 раза при застосуванні РубусАрг, відповідно. За впливом на показники вуглеводного обміну РубусАрг тенденційно наближався до препарату порівняння метформіну, однак поступався останньому. За здатністю впливати на рівень загальних ліпідів обидва екстракти пагонів малини вірогідно переважали об'єкти порівняння – катехін та кверцетин.

9. Експериментально доведено наявність у ЕПМ та РубусАрг помірної нейротропної активності. Результати досліджень в тесті «відкритого поля» на мишах свідчать, що досліджувані засоби виявляють помірну стимулювальну дію на показники локомоторної та дослідницької активності. Важливо, що цей ефект не супроводжується інтенсифікацією емоційного та вегетативного супроводу поведінкових реакцій. Результати проведеного «ротарод-тесту» довели відсутність міорелаксувального впливу досліджуваних екстрактів пагонів малини. За цими показниками РубусАрг дещо ефективнішим, ніж ЕПМ.

10. Дослідження лікарської форми, а саме гранул РубусАрг, які містили: 500 мг екстракту пагонів малини звичайної (200 мг катехінів у перерахунку на

епігалокатехін-3-О-галат), 800 мг L-аргініну і 3700 мг інозитола у саше вагою 5,0 г в тесті «піднесений хрестоподібний лабіринт» показало, що застосування РубусАрг у дозі 13 мг/кг збільшило тривалість перебування щурів у світлому компартменті, подовжило латентний період першого входу в темний компартмент, а також зменшило інтенсивність вегетативного супроводу поведінкових реакцій. Це дозволяє його рекомендувати при стресорних ситуаціях.

11. Проведене дослідження свідчить про перспективність застосування модифікованого L- аргініном екстракту пагонів малини, який містить іонізаційні форми (+)-катехіну та епікатехіну – РубусАрг для корекції низки запальних процесів, уражень міокарда, метаболічного синдрому та інших патологічних станів, спричинених оксидативним стресом, а також як засобу корекції негативних вегетативних реакцій і створення на його основі препарату для корекції та профілактики вищенаведених станів.

12. Результати дисертаційної роботи впроваджено у науково-дослідну та навчальну роботу низки кафедр фармацевтичного та медичного профілю закладів вищої освіти України. Результати дослідження є підґрунтям для розробки гранул «РубусАрг», які будуть впроваджено у промислове виробництво на ТОВ «ЗДРАВОВЕРМ».

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ветрова К. В., Сахарова Т. С. Оцінка впливу комбінації похідних глюкозаміну з кверцетином на морфофункціональний стан тимусу та селезінки щурів за умов токсичної дії доксорубіцину. *Клінічна фармація*. 2020. Т. 24, № 4. С. 47-54. DOI: 10.24959/cphj.20.1540.
2. Гаман Д. В., Кононенко Н. М., Рибалкін М. В., Гнатюк В. В. Вплив іноксарилу на енергетичний обмін серцевого м'яза в умовах експериментального адреналінгидрокортизонового інфаркту міокарда. *Український біофармацевтичний журнал*. 2012. № 3(20). С. 54-57.
3. Гончаренко В. І. Під *Rubus* L. (Rosaceae Juss.) у флорі заходу України: 4. Підрід *Rubus* секції *Corylifolii* і *Caesii*, підроди *Idaeobatus* та *Cylactis*. *Biological systems*. 2016. Vol. 8, № 1. С.118-121.
4. Горопашна Д. А., Деримедвідь Л. В. Нейротропні властивості нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини. *Scientific practice: modern and classical research methods* : Collection of scientific papers «ΛΟΓΟΣ» with Proceedings of the VII International Scientific and Practical Conference, Boston, February 14, 2025. Boston-Vinnytsia : Primedia eLaunch& UKRLOGOS Group LLC, 2025. С. 393-394. DOI: 10.36074/logos-14.02.2025.085.
5. Горопашна Д. О. Токсикологічні властивості нативного та модифікованого L -аргініном екстрактів пагонів малини. *Theoretical and empirical scientific research: concept and trends*: Collection of scientific papers «ΛΟΓΟΣ» with Proceedings of the VIII International Scientific and Practical Conference, Oxford, March 7, 2025. Oxford-Vinnytsia: P.C. Publishing House & UKRLOGOS Group LLC, 2025. С. 376-377. DOI: <https://doi.org/10.36074/logos-07.03.2025.083>.
6. Горопашна Д. О., Деримедвідь Л. В. Антиокислювальні властивості екстракту пагонів малини за умов медикаментозно-індукованого ураження печінки. *Youth Pharmacy Science* : матеріали III Всеукр. наук.-

практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 7-8 груд. 2022 р. Харків : НФаУ, 2022. С. 250.

7. Горопашна Д.О., Деримедвідь Л.В. Порівняльний аналіз ефективності нативного та модифікованого L- аргініном екстракту пагонів малини за умов зимозанового набряку у щурів. *Research in Science, Technology and Economics: Collection of Scientific Papers "International Scientific Unity" with Proceedings. 2nd International Scientific and Practical Conference. March 5-7, 2025. Luxembourg, Luxembourg.* Р. 65-66.
8. Державна Фармакопея України / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид. Допов. 2. Харків : Державне підприємство «Науковоекспертний фармакопейний центр», 2008. 620 с.
9. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Допов. 5. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2021. 424 с.
10. Державна фармакопея України : в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 490 с.
11. 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», 2015. Т. 1. 1128 с.
12. 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.
13. Деримедвідь Л.В., Горопашна Д.О. Пагони малини як перспективний об'єкт з кардіопротекторними властивостями. *Хімія природних сполук:*

матеріали VI Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Тернопіль, 27-28 жовт. 2022 р. Тернопіль: ТНМУ, 2022. С.109-110.

14. Деримедвідь Л. В., Горопашна Д. О. Вплив екстракту пагонів малини на показники протеїнурії при ураженні доксорубіцином. *Фітофармакологія нирок, печінки та обміну речовин* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 19-20 трав. 2022 р. Харків, НФаУ, 2022. С. 15–16.
15. Деримедвідь Л. В., Горопашна Д. А. Вплив екстрактів пагонів малини на показники вуглеводного обміну за умов експериментального метаболічного синдрому у щурів, індукованого фруктозою. *Лікарська справа*. 2024. № 4 (1173). С. 24-29. DOI: 10.31640/LS-2024-4-01.
16. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.-кор. АМН України О. В. Стефанова. Київ : Видавничий дім "Авіцена", 2001. 528 с.
17. Дослідження антинеопластичної дії нових ізомерних похідних 4-тіазолідинону / В. В. Чумак та ін. *Український біохімічний журнал*. 2014. Т. 86, № 6. С. 96-105.
18. Ель Аараж Ахмад, Зупанець І. А., Шебеко С. К., Отрішко І. А. Вплив комбінації кверцетину з похідними глюкозаміну на перебіг доксорубіцинової кардіоміопатії у щурів. *Клінічна фармація*. 2012. № 3. С. 24-27.
19. Захворювання серцево-судинної системи: фактори ризику та профілактика / МОЗ України. URL: <https://moz.gov.ua/article/health/zahvorjuvannja-sercevo-sudinnoi-sistemi-faktori-riziku-ta-profilaktika>. (дата звернення: 02.12.2024).

Розвиток кардіоонкології в Україні: доцільність, організація та впровадження в клінічну практику

Розвиток кардіоонкології в Україні: доцільність, організація та впровадження в клінічну практику

Розвиток кардіоонкології в Україні: доцільність, організація та впровадження в клінічну практику

20. Кардіотоксичність доксорубіцину та шляхи корекції тіотриазоліном / Т. С. Трофімова та ін. *Запоріжський медичний журнал.* № 5. С. 153-156.
Кожухов С.М. та ін.

21. Кожухов С.М. та ін. Розвиток кардіоонкології в Україні: доцільність, організація та впровадження в практику/ *Український кардіологічний журнал*. 2019. Том 26, № 4. С. 120–128 DOI: <http://doi.org/10.31928/1608-635X-2019.4.120128>.
22. Кобилінська Л. І. Біохімічні механізми протипухлинної дії похідних 4-тіазолідинону за їхньої доставки у клітини нанорозмірним полімерним носієм : дис. на здобуття наук. ступеня д-ра біолог. наук 03.00.04–біохімія. Київ, 2021. 329 с.
23. Компендіум 2023. Довідник лікарських препаратів. Режим доступу: <https://compendium.com.ua/uk/> (дата звернення: 23.12.2024).
24. Коцюрuba А. В., Дорофеєва Н. О., Сагач В. Ф. Неспряження конститутивних NO- синтез викликає окисний стрес та порушення кардіогемодинаміки при гіпертензії (частина I). *Фізіологічний журнал*. 2015. Т. 61, № 3. С. 3-10.
25. Кошурба І. В., Гладких Ф. В., Чиж М. О. Вплив кріоекстракту плаценти на стан білково-ліпідного обміну в слизовій оболонці шлунка за експериментальної стрес-індукованої виразки. *Східноукраїнський медичний журнал*. 2022. № 10(2). С. 155–164. DOI: 10.21272/eumj.2022.
26. Лікарські рослини : енциклопед. довід. / відпов. ред. А. М. Гродзінський. Київ : Голов. ред. УРЕ, 1990. 544 с.
27. Луценко Р. В., Цивунін В. В., Койро О. О., Лар'яновська Ю. Б. Експериментальне дослідження кардіопротекторної дії 2-гідрокси-N-нафтален-1-іл-2-(2-оксо-1,2-дигідро-індол-3-іліден)-ацетаміду. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2019. Т. 13, № 6. С. 407-416.
28. Мамедова С. О., Журавель І. О., Павлій О. І. Дослідження складу токоферолів та жирних кислот *Rubus idaeus*. *Вісник фармації*. 2009. № 2(58). С. 31-34.
29. Мархонь Н. О., Мамчур В. Й., Жилюк В. І., Левих А. Е. Порівняльний аналіз експериментальних підходів у відтворенні метаболічного

- синдрому. *Вісник проблем біології і медицини*. 2015. Вип. 1(117). С.156-162.
30. Маслов О. Ю. Фітохімічне вивчення та стандартизація лікарських засобів антиоксидантної дії з листя зеленого чаю : дис. на здобуття наук. ступеня д-ра філолог. за спец. 226 «Фармація, промислова фармація» (22 – Охорона здоров'я). Харків, 2022. 199 с.
 31. Маслова Г. С., Скрипник І. М. Вплив S-адеметіоніну на патогенетичні механізми розвитку доксорубіцин-індукованого ураження печінки на фоні неалкогольного стеатогепатиту у щурів. *Клінічна та експериментальна патологія*. 2020. Т. 19, № 2(72). С. 11-18. DOI: 10.24061/1727-4338. XIX.2.72.2020.2.
 32. Механізація збирання ягоди. URL: <https://batkivsad.com.ua/mechanizatsiya-uborki-yagodyi-136> (дата звернення: 02.12.2024).
 33. Надрага Б. О, Яценко А. М, Луцик О. Д. Морфофункціональні особливості стінки серця щура при експериментальному інфаркті міокарда. *Морфологія*. 2019. Т. 13, № 1. С. 32–37.
 34. Найпоширеніші серцево-судинні захворювання: як розпізнати та запобігти / Центр громадського здоров'я Міністерства охорони здоров'я України. 17.10.2024. URL: <https://phc.org.ua/news/nayposhirenishi-sercevo-sudinni-zakhvoryuvannya-yak-rozpiznati-ta-zapobigti>. (дата звернення: 02.12.2024).
 35. Основи токсикології та нормування антропогенного навантаження на навколишнє середовище : конспект лекцій / укл.: І. Ю. Аблєєва, О. С. Дроздова. Суми : Сумський державний університет, 2020. 260 с.
 36. Перспективи вивчення застосування препаратів кверцетину в лікуванні COVID-19 / І. А. Зупанець та ін. *Український медичний часопис*. 2020. № 2(136), т. 1–III/IV. С. 75-78. DOI: 10.32471/umj.1680-3051.136.177136.
 37. Повний атлас лікарських рослин / укл. І. С. Алексєєв. Київ : ТОВ «Глорія Трейд», 2013. С. 244.

38. Поліщук І. М. Фітохімічне вивчення малини звичайної та створення на її основі нових лікарських засобів : дис. на здобуття наук. ступеня д-ра філософії. Харків, 2020. 256 с.
39. Прихода І. В. Роль активації симпато-адреналової системи у розвитку гострої лівошлуночкової недостатності у хворих на гострий коронарний синдром без елевації сегмента ST. *Український терапевтичний журнал*. 2006. № 3. С. 36-39.
40. Ракетська О. О., Чекман І. С., Горчакова Н. С., Бєленічев І. Ф. Вплив яктону та мексикору на показники енергетичного обміну у міокарді щурів в умовах доксорубіцинової кардіоміопатії. *Вісник проблем біології та медицини*. 2015. № 2(3). С. 214–217.
41. Рудник А. М. Малина звичайна. *Фармацевтична енциклопедія*. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/6757/malina-zvichajna> (дата звернення: 02.12.2024).
42. Синдром ендогенної інтоксикації при експериментальному перитоніті на тлі цукрового діабету / І. Я. Дзюбановський та ін. *Вісник наукових досліджень*. 2019. № 1. С. 135-139.
43. Сіофор: інструкція для медичного застосування. URL: <https://mozdocs.kiev.ua/likiview.php?id=38861>.
44. Смертність в Україні. URL: <https://index.minfin.com.ua/ua/reference/people/deaths>. (дата звернення: 02.12.2024).
45. Спосіб одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з L-аргініном : пат. 157904 Україна. № u202403321 ; заявл. 24.06.2024 ; опубл. 11.12.2024, Бюл. № 50.
46. Спосіб одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з листя малини звичайної з L-аргініном : пат. 158347 Україна. № u202403413 ; заявл. 01.07.2024 ; опубл. 22.01.2025, Бюл. № 4.
47. Сучасна фітотерапія : навч. посіб. / С. В. Гарна та ін. Харків : «Друкарня Мадрид», 2016. 580 с.

48. Фітотерапія в кардіології : навч. посіб. / Ю. І. Корнієвський та ін. Запоріжжя : Вид-во ЗДМУ, 2017. 470 с.
49. Цивунін В. В., Штриголь С. Ю., Настека М. В., Нехороша Є. О. Порівняльні психотропні та знеболювальні властивості інгібіторів натрійзалежного котранспортера глюкози 2 типу (SGLT2) дапагліфлозину й емпагліфлозину. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2022. Т. 16, № 3. С. 147–158.
50. Фаостат. URL: <https://www.fao.org/faostat/ru/?#data/QCL>.
51. A chromosome-level genome sequence assembly of the red raspberry (*Rubus idaeus* L.) / J. Davik et al. *PLoS ONE*. 2022. Vol. 17, № 3. P. e0265096 1-15.
52. A review of the pathophysiological mechanisms of doxorubicin-induced cardiotoxicity and aging / A. N. Linders et al. *NPJ Aging*. 2024. Vol. 10(1). P. 9. DOI: 10.1038/s41514-024-00135-7.
53. Abdelhamid Y. A., Elyamany M. F., Al-Shorbagy M. Y., Badary O. A. Effects of TNF- α antagonist infliximab on fructose-induced metabolic syndrome in rats. *Hum Exp Toxicol*. 2021 Vol. 40(5). P. 801-811. DOI: 10.1177/0960327120969960.
54. Activation of nuclear factor-kappaB during doxorubicin-induced apoptosis in endothelial cells and myocytes is pro-apoptotic: the role of hydrogen peroxide / S. Wang et al. *Biochem J*. 2002. Vol. 367(Pt 3). P. 729-40. DOI: 10.1042/BJ20020752.
55. Acute intravenous L-arginine infusion decreases endothelin-1 levels and improves endothelial function in patients with angina pectoris and normal coronary arteriograms: correlation with asymmetric dimethylarginine levels / P. Piatti et al. *Circulation*. 2003. Vol. 107(3). P. 429-36. DOI: 10.1161/01.cir.0000046489.24563.79.
56. Adrenaline-induced damage to the myocardium in rats with genetically determined arterial hypertension / A. L. Markel et al. *Biulleten' eksperimental'noi biologii i meditsyny*. 1985. Vol. 99, № 3. P. 356-358.

57. An update on the mechanisms related to cell death and toxicity of doxorubicin and the protective role of nutrients / A. Valera-López et al. *Food Chem Toxicol.* 2019. Vol. 134. P. 110834. DOI: 10.1016/j.fct.2019.110834
58. Anti-Inflammatory and Antioxidant Activity of Pollen Extract Collected by *Scaptotrigona affinis postica*: in silico, in vitro, and in vivo Studies / A. J. O. Lopes et al. *Antioxidants.* 2020. Vol. 9(2). P. 103. DOI: 10.3390/antiox9020103.
59. Anti-inflammatory properties of raspberry shoot extract / L. V. Derymedvid et al. *Pharmacology online.* 2021. Vol. 2. P. 657-662.
60. Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds / J. P. Rauha et al. *Int J Food Microbiol.* 2000. Vol. 56(1). P. 3-12.
61. Antimicrobial, Antifungal, Antioxidant Activity and Phytochemical Investigation of Phenolcarboxylic Acids by GC–MS of Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Shoot Lipophilic Extract / O. Maslov et al. *European Pharmaceutical Journal.* 2024. DOI: 10.2478/afpuc-2024-0006.
62. Antimicrobial, Antifungal, Antioxidant Activity and Phytochemical Investigation of Fatty Acids by GS/MS of Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Shoot Lipophilic Extract / O. Yu. Maslov et al. *International Journal of Biology and Chemistry.* 2024. Vol. 17, № 1. P. 102-107. DOI: 10.26577/ijbch2024v17i1-a11.
63. An analysis of the effect of pH, procaine cation, nonionized procaine and procaine ethylchloride cation upon cardiac conduction time, stimulation threshold, amplitude of contraction and the relationship of these parameters to antiarrhythmic activity/ W.M. Baird et al. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics.* 1961. Vol. 132. P. 382–391.
64. Antioxidant activity of red raspberry shoots (*Rubus idaeus* L.) liquid extracts / O. Maslov et al. *Herba Polonica.* 2023. Vol. 69(4). P. 45-53. DOI: 10.5604/01.3001.0054.1658.

65. Antioxidant and anticancer properties of leaf and fruit extracts of the wild raspberry (*Rubus idaeus* L.) / B. Veljković et al. *Not Bot Horti Agrobo*. 2019. Vol. 47(2). P. 359-367.
66. Antioxidant, anti-inflammatory and cytotoxic activity of phenolic Compound Family Extracted from Raspberries (*Rubus idaeus*): A general review / A. V. Lopez-Corona et al. *Antioxidants*. 2022. Vol. 11(6). P. 1192. DOI: 10.3390/antiox11061192.
67. Antioxidants in raspberry: on-line analysis links antioxidant activity to a diversity of individual metabolites / J. Beekwilder et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2005. Vol. 53, P. 3313-3320. DOI: 10.1021/jf047880b.
68. Aprea E., Biasioli F., Gasperi F. Volatile compounds of raspberry fruit: from analytical methods to biological role and sensory impact. *Molecules*. 2015. Vol. 20. P. 2445-2474.
69. Asakawa T., Matsushita S. Coloring conditions of thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides. *Lipids*. 1980. Vol. 15(3). P. 137–140. DOI: 10.1007/bf02540959.
70. Assessment report on *Rubus idaeus* L., folium / European Medicines Agency. Committee on Herbal Medicinal Products (HMP). 2014. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/herbal-report/final-assessment-report-rubus-idaeus-l-folium_en.pdf. (Date of access: 02.12.2024).
71. Bamford D. S., Percival R. C., Tothill A. U. Raspberry leaf tea: a new aspect to an old problem. *Br J Pharmacol*. 1970. Vol. 40, № 1. P. 161-162.
72. Beckett A. H., Belthle F. W., Fell K. R. The active constituents of raspberry leaves. A preliminary investigation. *J Pharm Pharmacol*. 1954. Vol. 6. P. 785-796.
73. Belew C. Herbs and the childbearing woman. Guidelines for midwives. *J Nurse Midwifery*. 1999. Vol. 44. P. 231–252.

74. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries / S. Skrovankova et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015. Vol. 16. P. 24673–24706.
75. Bioactive compounds, antioxidant activity and mineral composition of fruits of raspberry cultivars grown in subtropical areas in Brazil / L. A. Castilho Maro et al. *Fruits*. 2013. Vol. 68. P. 209–217.
76. Biophysical effects, safety and efficacy of raspberry leaf use in pregnancy: a systematic integrative review / R. Bowman et al. *BMC Complement Med Ther*. 2021. Vol. 21. P. 56.
77. Bobinaitė R., Viškelis P., Venskutonis P.R. Variation of total phenolics, anthocyanins, ellagic acid and radical scavenging capacity in various raspberry (*Rubus* spp.) cultivars. *Food Chem*. 2012. Vol. 132(3). P. 1495–1501. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.11.137
78. Borowska E. J., Narwojsz A. Properties Berry Fruit as Dependent on Raw Material Quality and Technological Processing: A Review. *Functional Plant Science and Biotechnology*. 2009. Vol. 6. P. 39-45.
79. Bovolini A., Garcia J., Andrade M. A., Duarte J. A. Metabolic Syndrome Pathophysiology and Predisposing Factors. *Int J Sports Med*. 2021. Vol. 42(3). P. 99-214. DOI: 10.1055/a-1263-0898
80. Bradley P. R. British herbal compendium: a handbook of scientific information on widely used plant drugs / by P. R. Bradley (editor). vol 2. Bournemouth. British Herbal Medicine Association, Bournemouth : British Herbal Medicine Association, 2006. 411 p.
81. British Herbal Pharmacopoeia. London : British Herbal Medicine Association, 1983. 255 p.
82. Brodowska A. J. Raspberry pomace - composition, properties and application *European Journal of Biological Research*. 2017. Vol. 7(2). P. 86-96.
83. Buczyński K., Kapłań M., Jarosz Z. Review of the Report on the Nutritional and Health-Promoting Values of Species of the *Rubus* L. Genus. *Agriculture*. 2024. Vol. 14(8). P. 1324. DOI: 10.3390/agriculture14081324

84. Buczynski K., Kapłan M., Jarosz Z. Review of the Report on the Nutritional and Health-Promoting Values of Species of the *Rubus* L. *Genus. Agriculture*. 2024. № 14. P. 1324.
85. Burn J. H., Withell E. R. A principle in raspberry leaves which relaxes uterine muscle. *Lancet*. 1941. Vol. 238, № 6149. P. 1–3. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)71348-1
86. Cardioprotection and second malignant neoplasms associated with dexrazoxane in children receiving anthracycline chemotherapy: a systematic review and metaanalysis / F. Shaikh et al. *J Natl Cancer Inst*. 2015. Vol. 108(4). P. djv357. DOI: 10.1093/jnci/djv357
87. Cardioprotective effect of the quercetin on cardiovascular remodeling and atherosclerosis in rodents fed a high-fat diet: A systematic review / D. A. Espírito-Santo et al. *Chem Biol Interact*. 2023. Vol. 384. P. 110700. DOI: 10.1016/j.cbi.2023.110700.
88. Cardiovascular side effects of cancer therapies: a position statement from the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology / T. Eschenhagen et al. *Eur J Heart Fail*. 2011. Vol. 13(1). P 1-10. DOI: 10.1093/eurjhf/hfq213.
89. CASTp 3.0: Computed Atlas of Surface Topography of proteins. URL: <http://sts.bioe.uic.edu/castp/index.html?2011> (Date of access: 22.01.2022).
90. Cervantes Gracia K., Llanas-Cornejo D., Husi H. CVD and oxidative stress. Dasí F. *Journal of Clinical Medicine*. 2017. Vol. 6(2) P. 22. DOI: 10.3390/jcm6020022.
91. Characterization of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) for their physicochemical and morphological properties / I. Augšpole et al. *Agronomy Research*. 2021. Vol. 19(S3). P. 1227–1233. DOI: 10.15159/AR.21.077.
92. Chemical composition and antioxidant activity of small fruits. Chapter 5 / P. Viskelis et al. *Agricultural and Biological Sciences «Horticulture»*. 2012. P. 75–102.

93. Chemical composition and biological activity of *Rubus idaeus* shoots – a traditional herbal remedy of Eastern Europe / M. Krauze-Baranowska et al. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2014. Vol. 14. P. 480.
94. Chemical fruit profiles of different raspberry cultivars grown in specific norwegian agroclimatic conditions / M. Fotirić Akšić et al. *Horticulturae*. 2022. Vol. 8, № 9. P.765.
95. Chen B., Zhang W., Lin C., Zhang L. A Comprehensive Review on Beneficial Effects of Catechins on Secondary Mitochondrial Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*. 2022. Vol. 23(19). P. 11569. DOI: 10.3390/ijms231911569.
96. Czygan F. Ch. Die Himbeere-*Rubus idaeus* L. Portrait einer Arzneipflanze. *Zeitschrift für Phytotherapie*. 1995. Vol. 16. P. 366-374.
97. Daniel R. Mangels, Emile R. Mohler Catechins as Potential Mediators of Cardiovascular Health *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017. Vol. 37. P. 757-763. DOI: 10.1161/ATVBAHA.117.309048.
98. de Faria A. P., Modolo R., Moreno H. Plasma 8-Isoprostane as a Biomarker and Applications to Cardiovascular Disease. *Biomarkers in Cardiovascular Disease*. 2015. P. 467–488. DOI: 10.1007/978-94-007-7678-4_31
99. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits / V. R. De Souza et al. *Food Chem*. 2014. Vol. 156. P. 362-368. DOI: 10.1016/j.foodchem.2014.01.125
100. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes. *Official Journal of the European Communities*. 2010. Vol. L 256. P. 33–79.
101. Doxorubicin-induced cardiomyopathy: From molecular mechanisms to therapeutic strategies / Y. Octavia et al. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. 2012. Vol. 52, № 6. P. 1213-1225. DOI: 10.1016/j.yjmcc.2012.03.006.

102. Einat H., Belmaker R.H. The effects of inositol treatment in animal models of psychiatric disorders. *J Affect Disord.* 2001. №62(1-2).P.113-121.
103. Effect of maternal raspberry leaf consumption in rats on pregnancy outcome and the fertility of the female offspring reproductive / J. R. Johnson et al. *Reprod Sci.* 2009. Vol. 16, № 6. P. 605-609.
104. Effects of dietary supplementation with the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate on insulin resistance and associated metabolic risk factors: randomized controlled trial / A. L. Brown et al. *Br J Nutr.* 2009. Vol. 101(6). P. 886-894. DOI: 10.1017/S0007114508047727.
105. Ellagitannins from rubus berries for the control of gastric inflammation: in vitro and in vivo studies / E. Sangiovanni et al. *PLOS ONE.* 2013.Vol. 8(8). P. e71762.
106. Ellagitannins, flavonoids and other phenolic in red raspberries and their contribution to antioxidant capacity and vasorelaxation properties / W. Mullen et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 2002. Vol. 50(18). P. 5191-5196. DOI: 10.1021/jf020140n.
107. Epicuticular wax composition in relation to aphid infestation and resistance in red raspberry (*Rubus idaeus* L.) / T. Shepherd et al. *Phytochemistry.* 1999. Vol. 52(7). P. 1239-1254. DOI: 10.1016/S0031-9422(99)00413-6
108. Epigallocatechin Gallate: A Review of Its Beneficial Properties to Prevent Metabolic Syndrome / S. Legeay et al. *Nutrients.* 2015. Vol. 7(7). P. 5443-5468. DOI: 10.3390/nu7075230.
109. ESC Scientific Document Group. 2016 ESC position paper on cancer treatments and cardiovascular toxicity developed under the auspices of the ESC Committee for Practice Guidelines: the Task Force for Cancer Treatments and Cardiovascular Toxicity of the European Society of Cardiology (ESC) / J.L. Zamorano et al. *Eur. Heart J.* 2016. Vol. 37. P. 2768–2801. DOI: 10.1093/eurheartj/ehw211.
110. Evaluation of Anti-Inflammatory, Antioxidant Activities and Molecular Docking Analysis of *Rubus idaeus* Leaf Extract / O. Maslov et al. *Jordan*

- Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2024. Vol. 17, № 1. P. 105–122. DOI: 10.35516/jjps.v17i1.1808 .
111. Evaluation of Rubus germplasm resources in China / Y. Gu et al. *Acta. Hortic.* 1993. Vol. 352(45). P. 317–324. DOI: 10.17660/ActaHortic.1993.352.45
 112. Fedorova T. K., Korshunova T. S., Larskaia E. T. Reaction with TBA for determination of blood MA by method of fluorescence. *Lab. Delo*. 1983. № 3. P. 25-28.
 113. Flavan-3-ols, anthocyanins, i inflammation / P. Mena et al. *IUBMB Life*. 2014. Vol. 66 (11). P. 745-58. DOI: 10.1002/iub.1332.
 114. Flavonoids from raspberry and blackberry leaves and their antioxidant activities / V. S. Nikitina et al. *Pharmaceut Chem J*. 2000. Vol. 34(11). P. 596-598.
 115. Flora G. D., Nayak M. K. A Brief Review of Cardiovascular Diseases, Associated Risk Factors and Current Treatment Regimes. *Curr Pharm Des*. 2019. Vol. 25(38). P. 4063-4084. DOI: 10.2174/1381612825666190925163827.
 116. Fructose-induced inflammation, insulin resistance and oxidative stress: A liver pathological triad effectively disrupted by lipoic acid / M. C. Castro et al. *Life Sci*. 2015. Vol. 137. P. 1-6. DOI: 10.1016/j.lfs.2015.07.010
 117. Gallic Acid and Diabetes Mellitus: Its Association with Oxidative Stress / Y. Xu et al. *Molecules*. 2021. Vol. 26(23). P. 7115. DOI: 10.3390/molecules26237115
 118. Gaman D. V., Kononenko N. N., Ribalkin N. V., Hnatiuk V. V. Influence of the inoxaril on the energetic exchange of the cardiac muscle in experimental adrenalinhydrokortizon myocardium heart attack. *Український біофармацевтичний журнал*. 2012. № 3. С. 54-57.
 119. Genetic and genomic resources for Rubus breeding: a roadmap for the future / T. M. Foster et al. *Horticulture Research*. 2019. Vol. 6. P. 116 1-9.

120. Graham R. C. B., Noble R. L. Comparison of in vitro activity of various species of Lithospermum and other plants to inactivate gonadotrophin. *Endocrinology*. 1955. Vol. 56. P. 239-247.
121. Gudej J. Kaempferol and quercetin glycosides from *Rubus idaeus* L. leaves. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. 2003. Vol. 60. P. 313-315.
122. Gudej J., Tomczyc M. Determination of flavonoids, tannins and ellagic acid in leaves from *Rubus idaeus* L. species. *Arch Pharm Res*. 2004. Vol. 27, № 11. P. 1114-1119.
123. Guide for the Care and Use of Laboratory Animals: Eighth Edition. Washington : *National Academies Press*, 2011. DOI: 10.17226/1291.
124. Guide to the Management Hazardous Substances (Appendix B). URL: <https://www.canada.ca/en/employment-social-development/services/health-safety/reports/hazardous-substances.html> (Date of access: 02.12.2024)
125. Heinonen M. Antioxidant activity and antimicrobial effect of berry phenolics – A Finnish perspective. *Molecular Nutrition and Food Research*. 2007. Vol. 51(6). P. 684–691. DOI: 10.1002/mnfr.200700006.
126. Herbal medicines in pregnancy and lactation: an evidence-based approach / E. Mills et al. Toronto : Taylor & Francis, 2006. 364 p.
127. Holst L., Haavik, S., Nordeng, H. Raspberry leaf – Should it be recommended to pregnant women? *Complementary Therapies in Clinical Practice*. 2009. Vol. 15(4). P. 204-208.
128. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man / D. R. Matthews et al. *Diabetologia*. 1985. Vol. 28. P. 412-419.
129. Hou H., Yang W., Bao S., Cao Y. Epigallocatechin Gallate Suppresses Inflammatory Responses by Inhibiting Toll-like Receptor 4 Signaling and Alleviates Insulin Resistance in the Livers of High-fat-diet Rats. *J Oleo Sci*. 2020. Vol. 69(5). P. 479-486. DOI: 10.5650/jos.ess19303.
130. Horopashna D., Derymedvid L. Effect of native and L-arginine-modified raspberry shoot extracts on electrocardiogram parameters of rats and status of

the antioxidant system under the conditions of experimental doxorubicin cardiomyopathy in rats. *Annals of Mechnikov's Institute*. 2025. №1. P.25–32. DOI: <https://doi.org/10.5281/zenodo.15011041>.

131. Identification and quantification of phenolic compounds from red currant (*Ribes rubrum* L.) and raspberries (*Rubus idaeus* L.) / F. Adina et al. *International Journal of Pharmacology, Phytochemistry and Ethnomedicine*. 2017. Vol. 6. P. 30-37. DOI:10.18052/www.scipress.com/IJPPE.6.30
132. Identification of flavonoid and phenolic antioxidants in black currants, blueberries, raspberries, red currants and cranberries / G. Borges et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010. Vol. 58(7). P. 3901-3909. DOI: 10.1021/jf902263n.
133. Influence of postflowering temperature on fruit size and chemical composition of Glen Ample raspberry (*Rubus idaeus* L.) / S. F. Remberg et al. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010. Vol. 58(16). P. 9120-9128. DOI: 10.1021/jf101736q.
134. Investigation the influence of biologically active compounds on the antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) leaf extract / O. Maslov et al. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2022. Vol. 35(4). P. 229-235. DOI: 10.2478/cipms-2022-0040.
135. Jennings D. L. Raspberries and blackberries: their breeding, diseases and growth. London : Academic Press, 1988. P. 230 p.
136. Kamyshnikov V. S. Handbook of clinical and biochemical research and laboratory diagnostics. London : MEDpress-inform, 2009. 896 p.
137. Koleini N., Kardami E. Autophagy and mitophagy in the context of doxorubicin-induced cardiotoxicity. *Oncotarget*. 2017. Vol. 8(28). P. 46663–80. DOI: 10.18632/oncotarget.16944.
138. Koraqi H., Ajazi F. C. Analysis and Characterization of Anthocyanins in Raspberry fruits (*Rubus idaeus* L.). UBT International Conference. 7.

University of Business and Technology in Kosovo. 2020. URL: <https://surl.li/qygrgs>.

139. Kraeuter, A.-K., Guest, P. C., & Sarnyai, Z. The Elevated Plus Maze Test for Measuring Anxiety-Like Behavior in Rodents. In P. C. Guest (Ed.), *Pre-Clinical Models: Techniques and Protocols* 2019. P. 69–74). New York, NY: Springer. DOI:https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8994-2_4.
140. Krondatyuk T. P., Pezzuto J. M. Natural product polyphenols of relevance to human health. *Pharmaceutical Biology*. 2004. Vol. 42. P. 46-63.
141. Kurtto A., Lampinen R., Junikka L. (eds). Atlas Florae Europaeae. Distribution of Vascular Plants in Europe. 13. Rosaceae (Spiraea to Fragaria, excl. Rubus). The Committee for Mapping the Flora of Europe & Societas Biologica Fennica Vanamo. Helsinki, 2004. 320 p.
142. Langhammer A. J., Nilsen, O. G. In vitro inhibition of human CYP1A2, CYP2D6, and CYP3A4 by six herbs commonly used in pregnancy. *Phytotherapy Research*. 2013. Vol. 28(4). P. 603-610.
143. L-Arginine Modulates Glucose and Lipid Metabolism in Obesity and Diabetes / S. Hu et al. *Curr Protein Pept Sci*. 2017. Vol. 18(6). P. 599-608. DOI: [10.2174/1389203717666160627074017](https://doi.org/10.2174/1389203717666160627074017).
144. Larrosa M., García-Conesa M. T., Espín J. C., Tomás-Barberán F. A. Ellagitannins, ellagic acid and vascular health. *Mol Aspects Med*. 2010. Vol. 31(6). P. 513-39. DOI: [10.1016/j.mam.2010.09.005](https://doi.org/10.1016/j.mam.2010.09.005).
145. Lee P. N., Lovel D. Statistics for toxicology. General and applied toxicology / eds. B. Ballantyne et al. London : John Wiley and Sons, Ltd, 2009. P. 675-691.
146. Lipińska L., Klewicka E., Sójka M. Structure, occurrence and biological activity of ellagitannins: a general review. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*. 2014 Vol. 13(3). P. 289–299. DOI: [10.17306/J.AFS.2014.3.7](https://doi.org/10.17306/J.AFS.2014.3.7).
147. Maga J. A., Squire C. K., Hughes H. G. Bramble Dried Leaf Volatiles *Developments in Food Science*. 1992. Vol. 29. P. 145-148.

148. Marinova D., Ribarova F. HPLC determination of carotenoids in Bulgarian berries. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2007. Vol. 20, № 5. P. 370–374.
149. Metabolic Aspects of Anthracycline Cardiotoxicity / M. Russo et al. *Current treatment options in oncology*. 2021. Vol. 22(2). P. 18. DOI: 10.1007/s11864-020-00812-1.
150. Metabolic syndrome and cardiovascular diseases: Going beyond traditional risk factors / J. L. Silveira Rossi et al. *Diabetes Metab Res Rev*. 2022. Vol. 38(3). P. e3502. DOI:10.1002/dmrr.3502.
151. Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology. and Management in 2021 / G. Fahed et al. *Int J Mol Sci*. 2022. Vol. 23(2). P. 786. DOI: 10.3390/ijms23020786.
152. Metabolism of carotenoids and apocarotenoids during ripening of raspberry fruit / J. Beekwilder et al. *Biofactors*. 2008. Vol. 34, № 1. P. 57-66.
153. Metabolism of carotenoids and apocarotenoids during ripening of raspberry fruit / J. Beekwilder et al. *BioFactors*. 2008. Vol. 34. P. 57–66.
154. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the phospholipase A2 enzyme / O. Yu. Maslov et al. *Youth pharmacy science : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 18–19.*
155. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-, epicatechin, and their ionized forms with the 5-lipoxygenase enzyme / O. Maslov et al. *Youth pharmacy science : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 19–20.*
156. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the nuclear factor KB enzyme / O. Maslov et al. *Youth pharmacy science : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 20–21.*

157. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the cyclooxygenase-2enzyme / O. Maslov et al. *Youth pharmacy science* : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С.21–22.
158. Mondal S. K. Manual of Histological Techniques. 2nd ed. Jaypee Brothers Medical Publishers Pvt. Ltd. New Delhi, 2019. 296 p.
159. Morphological changes in the conditions of adrenaline myocardialdystrophy against the background of the introduction of the compound PC-66 and amiodarone to rats / O. V. Dzhyhaliuk et al. *Reports of Morphology*. 2020. Vol. 26, № 1. P. 48-53.
160. Muhammad Abdul Kadar N. N., Ahmad F., Teoh S. L., Yahaya M. F. Caffeic Acid on Metabolic Syndrome: A Review. *Molecules*. 2021. Vol. 26(18). P. 5490. DOI:10.3390/molecules26185490.
161. Nagai K., Fukuno S., Oda A., Konishi H. Protective effects of taurine on doxorubicin-induced acute hepatotoxicity through suppression of oxidative stress and apoptotic responses. *Anticancer Drugs*. 2016. Vol. 27(1). P. 17-23. DOI: 10.1097/C Effects of TNF- α antagonist AD.0000000000000299.
162. New Advances in Metabolic Syndrome, from Prevention to Treatment: The Role of Diet and Food / D. Ambroselli et al. *Nutrients*. 2023. Vol. 15(3). P. 640. DOI: 10.3390/nu15030640.
163. Optical Properties and Antioxidant Effect for Juices of Raspberry (*Rubus Idaeus*) / P. Radusheva et al. *AIP Conference Proceedings*. 2019. Vol. 2075, № 1. P. 1-5. DOI: 10.1063/1.5091346 .
164. Parsons M., Simpson M., Ponton T. Raspberry Leaf and its effect on labour: safety and efficacy. *Aust Coll Midwives Inc J*. 1999. Vol. 12. P. 20-25.
165. Patel A. V., Rojas-Vera J., Dacke C. G. Therapeutic constituents and actions of *Rubus* species. *Med Chem*. 2004. Vol. 11. P. 1501-1512.
166. Preventive Effects of Catechins on Cardiovascular Disease / X. Q. Chen et al. *Molecules*. 2016. Vol. 21(12). P. 1759. DOI: 10.3390/molecules21121759.

167. Podolsky I. M. The dynamics of the antidepressant effect of aripiprazole in the repeated dose study. *Clinical pharmacology*. 2019. Vol. 23(1). P. 19–25. DOI: 10.24959/cphj.19.1488.
168. Podolsky I. M., Shtrygol' S. Yu., & Zubkov, V. O. The psycho- and neurotropic profiling of novel 3-(N-R,R'-aminomethyl)-2-methyl-1H-quinolin-4-ones in vivo. *Saudi Pharmaceutical Journal: SPJ*. 2018. Vol. 26(1). P. 107–114. DOI: /10.1016/j.jsps.2017.10.005
169. Probst J. A review of the nutrient composition of selected Rubus berries. *Nutrition & Food Science*. 2015. Vol. 45(2). P. 242–254.
170. Protective effect of (+)-catechin проти lipopolysaccharide-induced inflammatory response в RAW 264.7 cells через downregulation of NF- κ B и p38 MAPK / M. A. Sunil et al. *Inflammopharmacology*. 2021. Vol. 29(4). P. 1139–1155. DOI: 10.1007/s10787-021-00827-6\$.
171. PubChem. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/> (Date of access: 22.12.2024).
172. Raspberry leaf and hypoglycemia in gestational diabetes mellitus / K. I. Cheang et al. *Obstet Gynecol*. 2016. Vol. 128(6). P. 1421–1424.
173. Raspberry leaf in pregnancy: Its safety and efficacy in labor / M. Simpson et al. *J Midwifery Women's Health*. 2001. Vol. 46(2). P. 51–59.
174. Raspberry. URL: <https://www.drugs.com/npp/raspberry.html>. (Date of access: 22.12.2024).
175. RCSB Protein Data Bank (RCSB PDB). URL: <https://www.rcsb.org/>. (Date of access: 21.02.2022).
176. Red raspberry (*Rubus idaeus*) supplementation mitigates the effects of a high-fat diet on brain and behavior in mice / A. N. Carey et al. *Nutr Neuro*. 2019. Vol. 24(6). P. 406–416. DOI: 10.1080/1028415x.2019.1641284.
177. Research progress of quercetin in cardiovascular disease / W. Zhang et al. *Front Cardiovasc Med*. 2023. Vol. 10. P. 1203713. DOI: 10.3389/fcvm.2023.1203713 .

178. Review and meta-analysis of incidence and clinical predictors of anthracycline cardiotoxicity / M. Lotrionte et al. *Am. J. Cardiol.* 2013.Vol. 112. P. 1980–1984. DOI: 10.1016/j.amjcard.2013.08.026.
179. Ribes nigrum fruit extract shows cardioprotective properties in experimental acute ischemic heart disease / G. I. Gubina-Vakulyck et al. *Studia Universitatis Vasile Goldis Seria Stiintele Vietii* (Life Sciences Series). 2018. Vol. 28(3). P. 122-130.
180. Ríos J. L., Giner R. M., Marín M., Recio M. C. A Pharmacological Update of Ellagic Acid. *Planta Med.* 2018. Vol. 84(15). P. 1068-1093. DOI: 10.1055/a-0633-9492.
181. Rojas-Vera J., Patel A. V., Dacke C. G. Relaxant activity of Raspberry (*Rubus idaeus*) leaf extract in guinea pig ileum *in vitro*. *Phytotherap Res.* 2002. Vol. 16. P. 665-668.
182. Rubus - A Review of its Phytochemical and Pharmacological Profile / G. O. Rocabado et al. *Natural Product Communications.* 2008. Vol. 3 (3). P. 423-436.
183. Shkand T. V., Chizh N. A., Naumova O. V., Sandomirsky B. P. Morphological characteristics of rat's heart at experimental myocardium necrosis. *Морфологія.* 2013. Т. 7, № 2. С. 84-89.
184. Simultaneous hydrolysis of ellagitannins and extraction of ellagic acid from defatted raspberry seeds using natural deep eutectic solvents (NADES) / N. Teslić et al. *Antioxidants.* 2022. Vol. 11(2). P. 254. DOI: 10.3390/antiox11020254.
185. Singh S., Virmani T., Kohli K. Phytochemicals and Medicinal Uses of Red Raspberry: A Review. *J Pharmaceut Res.* 2020. Vol. 5, № 2. P. 48-52. DOI: 10.33140/JPR.05.02.03. ·
186. Slobodianiuk L., Budniak L., Marchyshyn. S., Demydiak O. Investigation of the anti-inflammatory effect of the dry extract from the herb of *Stachys sieboldii* Miq. *Pharmacologyonline.* 2021.Vol. 2. P. 590-597.

187. Study of *Rubus idaeus* juice ellagitannins and its antimicrobial activity / I. Polischuk et al. *International Journal of Pharmacy and Chemistry*. 2019. Vol. 5, № 6. P. 68–71.
188. Study of total antioxidant capacity of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) shoots / O. Maslov et al. *Vitae*. 2023. Vol. 30, № 1. P. 1–8. DOI: 10.17533/udea.vitae.v30n1a351486.
189. Szymanowska U., Baraniak B., Bogucka-Kocka A. Antioxidant, anti-inflammatory, and postulated cytotoxic activity of phenolic and anthocyanin-rich fractions from Polana Raspberry (*Rubus idaeus* L.) fruit and juice – in vitro study. *Molecules*. 2018. Vol. 23. P. 1812
190. Tan J. X., Finkel T. Mitochondria as intracellular signaling platforms in health and disease. *J Cell Biol*. 2020. Vol. 219(5). P. e202002179. DOI: 10.1083/jcb.202002179.
191. The bioactive potential of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) leaves in exhibiting cytotoxic and cytoprotective activity on human laryngeal carcinoma and colon adenocarcinoma / K. Durgo et al. *J Med Food*. 2012. Vol. 15(3). P. 258-268.
192. The effect of L-arginine supplementation on serum resistin concentration in insulin resistance in animal models / M. Szulinska et al. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2014. Vol. 18(4). P. 575-580.
193. The effects of commercial preparations of red raspberry leaf on the contractility of the rat's uterus in vitro / J. Zheng et al. *Reproductive Sciences*. 2010. Vol. 17(5). P. 494-501.
194. The influence of Atherophyton on the development of low-grade inflammation in experimental metabolic syndrome in Syrian golden hamsters / K. Kalko et al. *Rom J Diabetes Nutr Metab Dis*. 2024. Vol. 31(4). P. 454-458. DOI: 10.46389/rjd-2024-1663.
195. The study of phenolic compounds and the antimicrobial action of the alcoholic extract from the cake 8 of the red raspberry fruit / I. Polischuk et al. *Вісник фармацевції*. 2018. № 3 (95). С. 30-33.

196. Theoretical and practical development of the chemical composition and technological production of a *Rubus idaeus* leaves extract with meglumine possessed anti-inflammatory effect / O. Maslov et al. *Phytotherapy Journal*. 2024. № 4. P. 143–155. DOI: 10.33617.
197. Therapeutic potential of green tea on risk factors for type 2 diabetes in obese adults - A review / M. A. Ferreira et al. *Obes. Rev.* 2016. Vol. 17. P. 1316–1328. DOI: 10.1111/obr.12452.
198. Use of herbal drugs during pregnancy among 600 Norwegian women in relation to concurrent use of conventional drugs and pregnancy outcome / H. Nordeng et al. *Complement Ther Clin Pract.* 2011. Vol. 17, № 3. P.147-151.
199. Validation of the alkalimetry method for the quantitative determination of free organic acids in raspberry leaves / O. Y. Maslov et al. *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*. 2021. Vol. 19, № 1(73). P. 53–58.
200. Venskutonis P. R., Dvaranauskaite A., Labokas J. Radical scavenging activity and composition of raspberry (*Rubus idaeus*) leaves from different locations in Lithuania. *Fitoterapia*. 2007. Vol. 78. P. 162-165.
201. Vogel H. G. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays 3rd ed. Berlin Heidelberg, New York : Springer-Verlag, 2007. 2071 p.
202. Wang S. Y., Lin H. S. H. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry with cultivar and developmental stage. *J Agric Food Chem*. 2000. Vol. 48. P. 140-146.
203. Wedig K. E., Whitsett J. A. Down the primrose path: petechiae in a neonate exposed to herbal remedy for parturition. *J Pediatr*. 2008. Vol. 152, № 1. P. 140.
204. Whitehouse B. Fragarine: an inhibitor of uterine action. *BMJ*. 1941. Vol. 2(4210). P. 370-371. DOI: 10.1136/bmj.2.4210.370
205. WHO Traditional Medicine Strategy 2014–2023. Geneva : World Health Organization, 2013. P. 15–56.
206. Wichtl M. Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals. A handbook for practice on a scientific basis. Stuttgart : Medpharm Scientific Publ., 2004.704 p.

207. Williamson G., Sheedy K. Effects of Polyphenols on Insulin Resistance. *Nutrients*. 2020. Vol. 12(10). P. 3135. DOI: 10.3390/nu12103135.
208. Xanthine Oxidoreductase-Derived Reactive Species: Physiological and Pathological Effects / M. G. Battelli et al. *Oxidative Med Cell Longev*. 2016. Vol. 2016. P. 3527579. DOI: 10.1155/2016/3527579.
209. Yurtseven K., Yücecan S. Exploring the Potential of Epigallocatechin Gallate in Combating Insulin Resistance and Diabetes. *Nutrients*. 2024. Vol. 16(24). P. 4360. DOI: 10.3390/nu16244360.
210. Zhao L., Zhang B. Doxorubicin induces cardiotoxicity through upregulation of death receptors mediated apoptosis in cardiomyocytes. *Sci Rep*. 2017. Vol. 7. P. 44735. DOI: 10.1038/srep44735.

ДОДАТКИ

Додаток А

Сисок публікацій здобувача

1. Anti-inflammatory properties of raspberry shoot extract / L. V. Derymedvid, D. O. Horopashna, K. O. Kalko, O. Ya. Mishchenko, I. V. Okipniak, A. M. Komissarenko, M. A. Komisarenko, T. V. Sevastianova. *Pharmacologyonline*. 2021. Vol. 2. P. 657-662. (Scopus Q4). (Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).
2. Investigation the influence of biologically active compounds on the antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) leaf extract / O. Maslov, M. Komisarenko, S. Ponomarenko, D. Horopashna, T. Osolodchenko, S. Kolisnyk, L. Derymedvid, Z. Shovkova, E. Akhmedov. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2022. Vol. 35, No. 4, Pages 229-235. URL: <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-0040> (Scopus Q4). (Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).
3. Theoretical and practical development of the chemical composition and technological production of a *Rubus idaeus* leaves extract with meglumine possessed anti-inflammatory effect / O. Maslov, M. Komisarenko, D. Horopashna, S. Kolisnyk, L. Derymedvid, A. Komissarenko. *Phytotherapy Journal*. 2024. No. 4. P. 143–155. DOI: <https://doi.org/10.33617> (Scopus Q4). (Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, проведення експериментальних

досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

4. Antioxidant activity of red raspberry shoots (*Rubus idaeus* L.) liquid extracts / O. Maslov, M. Komisarenko, D. Horopashna, O. Tkachenko, L. Derymedvid, S. Kolisnyk, O. Kolisnyk. *Herba Polonica*. 2023. Vol. 69(4):45-53. URL: 10.5604/01.3001.0054.1658. (*Особистий внесок здобувача: аналіз*

Продовження додатку А

літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку).

5. Деримедвідь Л.В., Горопашна Д.О. Вплив екстрактів пагонів малини на показники вуглеводного обміну за умов експериментального метаболічного синдрому у щурів, індукованого фруктозою. Лікарська справа. 2024. Т.84 (1173). С. 5-12. DOI: <https://doi.org/10.31640/LS-2024-4-01>. (*Особистий внесок здобувача: аналіз літературних джерел, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, аналіз результатів, підготовка статті до друку*).

6. Спосіб одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з L-аргініном : пат. 157904 Україна. № u202403321 ; заявл. 24.06.2024 ; опубл. 11.12.2024, Бюл. № 50. (*Особистий внесок здобувача: проведення інформаційно-патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, узагальнення результатів та оформлення патенту*).

7. Спосіб одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з листя малини звичайної з L-аргініном : пат. 158347 Україна. № u202403413 ; заявл. 01.07.2024 ; опубл. 22.01.2025, Бюл. № 4. (*Особистий внесок здобувача: проведення інформаційно-патентного пошуку, проведення експериментальних досліджень, статистична обробка даних, узагальнення результатів та оформлення патенту*).

8. Деримедвідь Л. В., Горопашна Д. О. Вплив екстракту пагонів малини на показники протеїнурії при ураженні доксорубіцином. *Фітофармакологія нирок, печінки та обміну речовин* : матеріали міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 19-20 трав. 2022 р. Харків, НФаУ, 2022. С. 15–16.

9. Горопашна Д. О., Деримедвідь Л. В. Антиокислювальні властивості екстракту пагонів малини за умов медикаментозно-індукованого ураження печінки. *Youth Pharmacy Science* : матеріали III Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 7-8 груд. 2022 р. Харків : НФаУ, 2022. С. 250.

Продовження додатку А

10. Деримедвідь Л.В., Горопашна Д.О. Пагони малини як перспективний об'єкт з кардіопротекторними властивостями. *Хімія природних сполук*: матеріали VI Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнародною участю, м. Тернопіль, 27-28 жовтня 2022 р. Тернопіль: ТНМУ, 2022. С.109-110.

11. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the phospholipase A2 enzyme / O. Yu. Maslov, D. O. Horopashna, M. A. Komisarenko, S.V. Kolisnyk, L.V. Derymedvid. *Youth Pharmacy Science* : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 18–19.

12. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the 5-lipoxygenase enzyme / O. Maslov, D. O. Horopashna, M. A. Komisarenko, S.V. Kolisnyk, L.V. Derymedvid. *Youth Pharmacy Science* : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 19–20.

13. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the nuclear factor KB enzyme / O. Maslov, D. O. Horopashna, M. A. Komisarenko, S.V. Kolisnyk, L.V. Derymedvid. *Youth Pharmacy Science*: матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 20–21.

14. Molecular docking of anti-inflammatory activity of (+)-catechin, epicatechin, and their ionized forms with the cyclooxygenase-2enzyme / O. Maslov, D. O.

Horopashna, M. A. Komisarenko, S.V. Kolisnyk, L.V. Derymedvid. *Youth Pharmacy Science* : матеріали V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 10-11 груд. 2024 р. Харків : НФаУ, 2024. С. 21–22.

15. Горопашна Д. О., Деримедвідь Л. В. Нейротропні властивості нативного та модифікованого L-аргініном екстрактів пагонів малини. *Scientific practice: modern and classical research methods* : Collection of scientific papers «ΛΟΓΟΣ» with Proceedings of the VII International Scientific and Practical Conference, Boston, February 14, 2025. Boston-Vinnytsia : Primedia eLaunch&

Продовження додатку А

UKRLOGOS Group LLC, 2025. С. 393-394. DOI: 10.36074/logos-14.02.2025.085

16. Горопашна Д. О. Токсикологічні властивості нативного та модифікованого L -аргініном екстрактів пагонів малини. *Theoretical and empirical scientific research: concept and trends*: Collection of scientific papers «ΛΟΓΟΣ» with Proceedings of the VIII International Scientific and Practical Conference, Oxford, March 7, 2025. Oxford-Vinnytsia: P.C. Publishing House & UKRLOGOS Group LLC, 2025. С. 376-377. DOI: <https://doi.org/10.36074/logos-07.03.2025.083>.

17. Горопашна Д.О., Деримедвідь Л.В. Порівняльний аналіз ефективності нативного та модифікованого L- аргініном екстракту пагонів малини за умов зимозанового набряку у щурів. *Research in Science, Technology and Economics*: Collection of Scientific Papers "International Scientific Unity" with Proceedings. 2nd International Scientific and Practical Conference. March 5-7, 2025. Luxembourg, Luxembourg. P. 65-66.

Апробація результатів дисертації

1. Міжнар. наук.-практ. конф *Фітофармакологія нирок, печінки та обміну речовин* (Харків, 2022 р.; форма участі – публікація тез).
2. III Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю *Youth Pharmacy Science* : (Харків, 2022 р.; форма участі – публікація тез).

3. VI Всеукраїнської наук.-практ. конф. з міжнародною участю, *Хімія природних сполук* (Тернопіль, 2022 р.; форма участі – публікація тез).
4. V Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. Участю *Youth Pharmacy Science* (Харків, 2024 р.; форма участі – публікація тез).
5. VII International Scientific and Practical Conference *Scientific practice: modern and classical research methods* (Boston, 2025; форма участі – публікація тез)

Продовження додатку А

6. VIII International Scientific and Practical Conference *Theoretical and empirical scientific research: concept and trends* (Oxford, 2025; форма участі – публікація тез)
7. 2nd International Scientific and Practical Conference *Research in Science, Technology and Economics*: (Luxembourg , 2025., Luxembourg; форма участі – публікація тез)

Додаток Б

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з науково-педагогічної та
навчальної роботи Вінницького
національного медичного університету
ім. М.І. Пирогова
д.мед.н., проф. І.І. Андрушко

« 20 » грудня 2024р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Протизапальна активність екстрактів пагонів малини (*Rubus idaeus* L.)
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53, аспірантка Д.О. Горопашна
3. **Джерела інформації:**
 1. Anti-inflammatory properties of raspberry shoot extract / L. V. Derymedvid, D. O. Horopashna, K. O. Kalko, O. Ya. Mishchenko, I. V. Okipniak, A. M. Komissarenko, M. A. Komisarenko, T. V. Sevastianova . *Pharmacologyonline*. 2021. Vol. 2. P. 657-662.
 2. Maslov O., Komisarenko M., Ponomarenko S., Horopashna D., Osolodchenko T., Kolisnyk S., Derymedvid L., Shovkova Z., Akhmedov E. Investigation the influence of biologically active compounds on the antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) leaf extract. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.*, 2022, Vol. 35, № 4, P. 229-235. DOI: 10.2478/cipms-2022-004
4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова з 2024-2025 навчального року.
5. **Результат впровадження:** Розширено уявлення щодо фармакологічних властивостей екстракту пагонів малини. Отримана інформація свідчить про наявність у екстракту протизапальної активності та обґрунтовує перспективи використання екстракту у якості протизапального засобу.
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, протокол № 6 від « 20 » грудня 2024р.

Відповідальний за впровадження:

завідувачка кафедри фармакології
Вінницького національного медичного
університету ім. М.І. Пирогова
д. мед. н., професор

Наталія ВОЛОЩУК

Продовження додатку Б

«Затверджую»

Проректор закладу вищої освіти з наукової
роботи Тернопільського національного
медичного університету



імені І. Я. Горбачевського МОЗ України
доктор біологічних наук, професор
І. М. КЛІЩ «8» січня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Антиоксидантні властивості екстрактів пагонів малини (*Rubus idaeus* L.)
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53, аспірантка Д.О. Горопашна
3. **Джерела інформації:**
 1. Maslov O., Komisarenko M., Ponomarenko S., Horopashna D., Osolodchenko T., Kolisnyk S., Derymedvid L., Shovkova Z., Akhmedov E. Investigation the influence of biologically active compounds on the antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) leaf extract. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.*, 2022. Vol. 35, №. 4, P. 229-235. DOI: 10.2478/cipms-2022-004.
 2. Maslov O., Komisarenko M., Horopashna D., Tkachenko O., Derymedvid L., Kolisnyk S., Kolisny O. Antioxidant activity of red raspberry shoots (*Rubus idaeus* L.) liquid extracts. *Herba Pol.* 2023; Vol. 69 № 4. P. 45-53. DOI: 10.5604/01.3001.0054.1658.
4. **Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України з «1» листопада 2024 року.
5. **Результат впровадження:** Розширено та поглиблено знання здобувачів вищої освіти щодо фармакологічних ефектів екстрактів пагонів малини (*Rubus idaeus* L.), на основі яких може бути створений препарат з антиоксидатними та протизапальними властивостями.
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
Обговорено та затверджено на засіданні кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою, Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України протокол № 1 від «14» січня 2024 р.

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри фармакогнозії з
медичною ботанікою
Тернопільського національного
медичного університету
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,
доктор фармацевтичних наук, професор

С. М. Марчишин

Продовження додатку Б



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів дисертаційної роботи здобувача Горопашної Д.О.

- Назва пропозиції для впровадження:** Протизапальні та антиоксидантні властивості екстрактів пагонів малини (*Rubus idaeus* L.)
- Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології та клінічної фармації Національного фармацевтичного університету, 61002, м. Харків, вул. Григорія Сковороди, 53, аспірантка Горопашна Д.О., науковий керівник д.мед.н., проф. Деримедвідь Л.В.
- Джерела інформації:**
 - Anti-inflammatory properties of raspberry shoot extract / L. V. Derymedvid, D. O. Horopashna, K. O. Kalko, O. Ya. Mishchenko, I. V. Okipniak, A. M. Komissarenko, M. A. Komisarenko, T. V. Sevastianova . *Pharmacologyonline*. 2021. Vol. 2. P. 657-662. https://dspace.nuph.edu.ua/bitstream/123456789/25817/1/PhOL_2021_2_A075_Derymedvid.pdf
 - Maslov O., Komisarenko M., Ponomarenko S., Horopashna D., Osolodchenko T., Kolisnyk S., Derymedvid L., Shovkova Z., Akhmedov E. Investigation the influence of biologically active compounds on the antioxidant, antibacterial and anti-inflammatory activities of red raspberry (*Rubus idaeus* L.) leaf extract. *Curr. Issues Pharm. Med. Sci.*, Vol. 35, № 4, P. 229-235. DOI: <https://doi.org/10.2478/cipms-2022-004r>
 - Маслов О.Ю., Колісник С.В., Комісаренко М.А., Деримедвідь Л.В., Горопашна Д.О., Комісаренко А.М. Спосіб одержання засобу з антиоксидантною і протизапальною активністю з L-аргініном: пат. 157904 Україна : А61К 36/73; А61Р 39/06; А61К 135/00; А61Р 29/00. № u202403321 ; заявл. 24.06.2024 ; опубл. 11.12.2024, Бюл. № 50. 4 с.
- Де і коли впроваджено:** в науково-педагогічний процес кафедри інфекційних хвороб та клінічної імунології медичного факультету Харківського національного університету імені В. Н. Каразіна з «01» січня 2025 року.
- Результат впровадження:** Розширено уявлення щодо фармакологічних властивостей екстракту пагонів малини. Отримана інформація свідчить про наявність у екстракту пагонів малини антиокислювальних та протизапальних властивостей та обґрунтовує перспективи використання екстракту у якості антиокислювального та протизапального засобу.
- Ефективність впровадження:** матеріали, що подані до впровадження мають теоретичне і практичне значення для студентів і розширюють уявлення фармакологічні засоби з антиоксидантною та протизапальною активністю.
- Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Завідувач кафедри інфекційних хвороб
та клінічної імунології, к.мед.н., доцент

Ольга ВОЛОБУСВА

Декан медичного факультету, д.мед.н., професор

Тетяна ЛЯДОВА

ДОДАТОК В

"ЗАТВЕРДЖУЮ"

Директор

ТОВ «ЗДРАВООФАРМ»

Марченко А.О.

«14» березня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

Результати наукових досліджень асистента кафедри загальної хімії НФаУ Маслова Олександра Юрійовича та асистента кафедри фармакогнозії та нутриціології НФаУ Комісаренка Миколи Андрійовича були використані при опрацьованні технології виробництва гранул "РубусАрг", наступного складу: 250 мг екстракту пагонів малини звичайної (100 мг катехинів у перерахунку на епігалокатехін-3-О-галат), 400 мг L-аргініну і 1850 мг інозитулу. Опрацювання проходило на промислових потужностях ТОВ "ЗДРАВООФАРМ" згідно проекту технологічної документації. Запропонована технологія повністю відтворюється у промислових умовах.

Було отримано три серії гранул, по 3,7 3,5 та 3,4 кг, які відповідали показникам якості розроблених проектів методик контролю якості. Одержані гранули передані для аналізу на стабільність, визначення терміну зберігання та розробки нових лікарських форм.

Розроблений проект методик контролю якості (МКЯ) на гранули "РубусАрг", був апробований в лабораторних умовах ТОВ «ЗДРАВООФАРМ» та використаний при аналізі якості гранул, які отримані на промисловому обладнанні. При розробці документації були використані матеріали науково-дослідної роботи асистента кафедри загальної хімії НФаУ Маслова Олександра Юрійовича та асистента кафедри фармакогнозії та нутриціології НФаУ Комісаренка Миколи Андрійовича. Запропонована методика повністю відтворюється у промислових умовах.

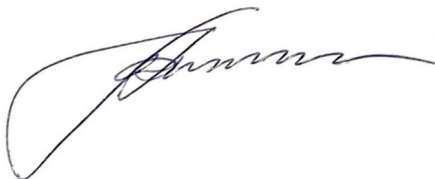
Продовження додатку В

Отримані гранули "РубусАрг" відповідали показникам якості розроблених проектів МКЯ та були передані для дослідження строків придатності.

По результатам наукових досліджень аспірантки кафедри фармакології та клінічної фармації НФаУ Горопашної Дарини Олександрівни було обґрунтовано, що гранули "РубусАрг" у дозі 0,05 г/кг має протизапальну, антиоксидантну, кардіопротекторну, стресопротекторну дію та є не токсичним для організму людини. На основі даних досліджень створено проект інструкції для застосування. Публікації що до експериментальних досліджень та проект інструкції для застосування знаходять у додатках до акту.

Результати дослідження будуть впровадженні у промислове виробництво на ТОВ «ЗДРАВОФАРМ».

Директор
ТОВ «ЗДРАВОФАРМ»



Марченко А.О.

Додаток Г





Додаток Д

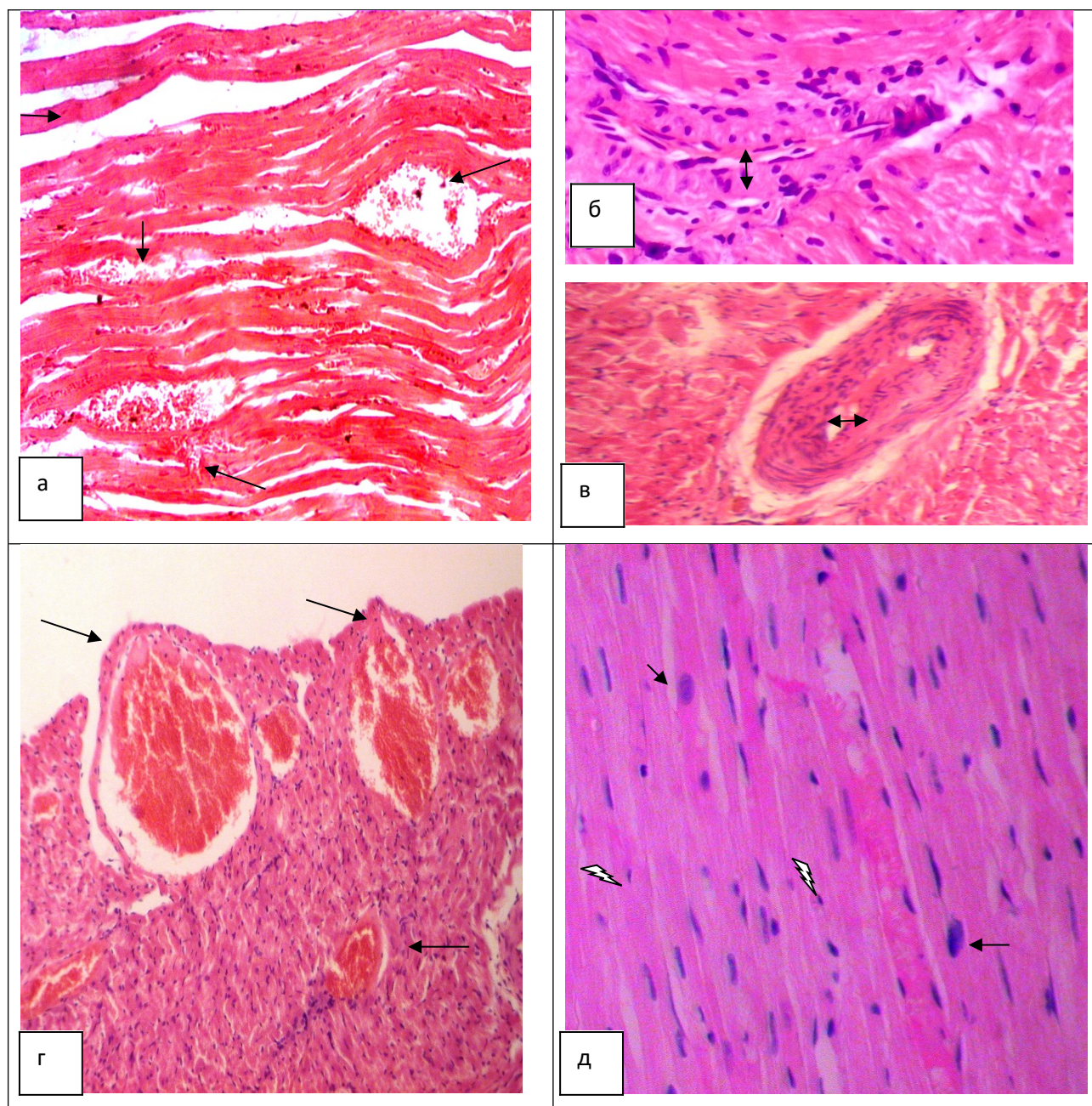


Рис. 5.5 Міокард лівого шлуночка щурів з адреналін-гідрокортизоновим інфарктом: а – паретично розширені, повнокровні кровоносні капіляри (x250); б-в – спазм з виразним звуженням просвіту у середніх інтрамуральних артеріях, потовщення стінки судини (x250, 100); г – розширення, виразна повнокровність венозних судин (x200); д – гіпертрофія (чорні стрілки) та пікноз (білі стрілки) ядер деяких кардіоміоцитів (x400). Гематоксилін-еозин.

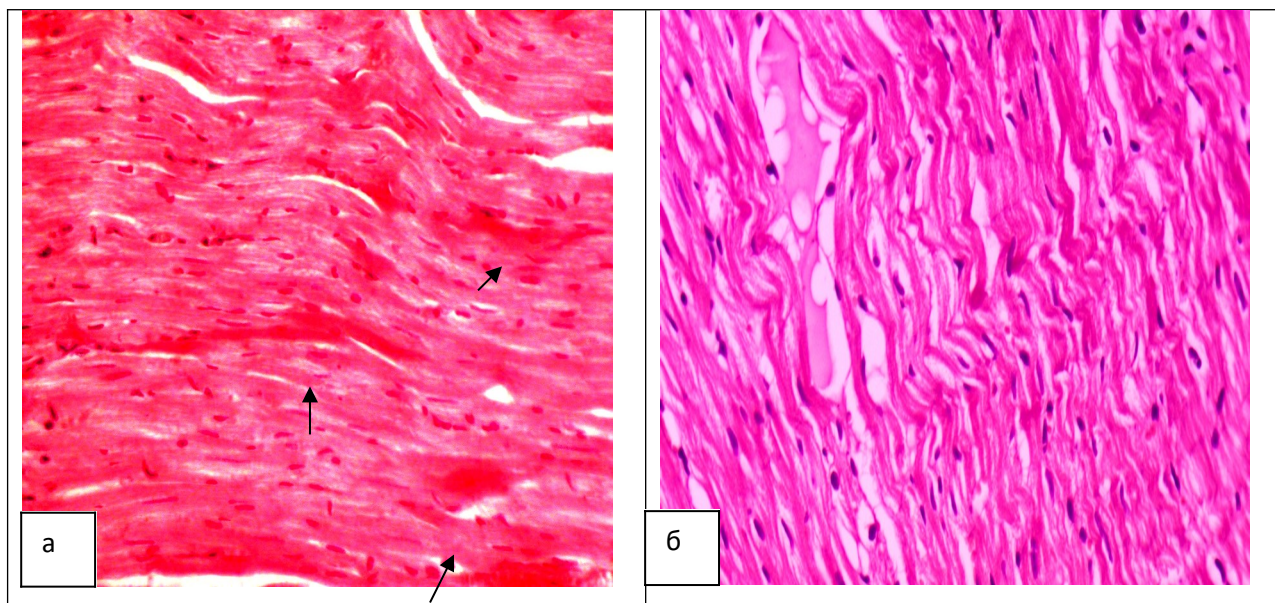


Рис. 5.7 Міокард лівого шлуночка щурів з адреналін-гідрокортизоновим інфарктом: а – контрактурні зміни кардіоміоцитів; б – різні за товщиною звивисті волокна. Гематоксилін-еозин. х200.

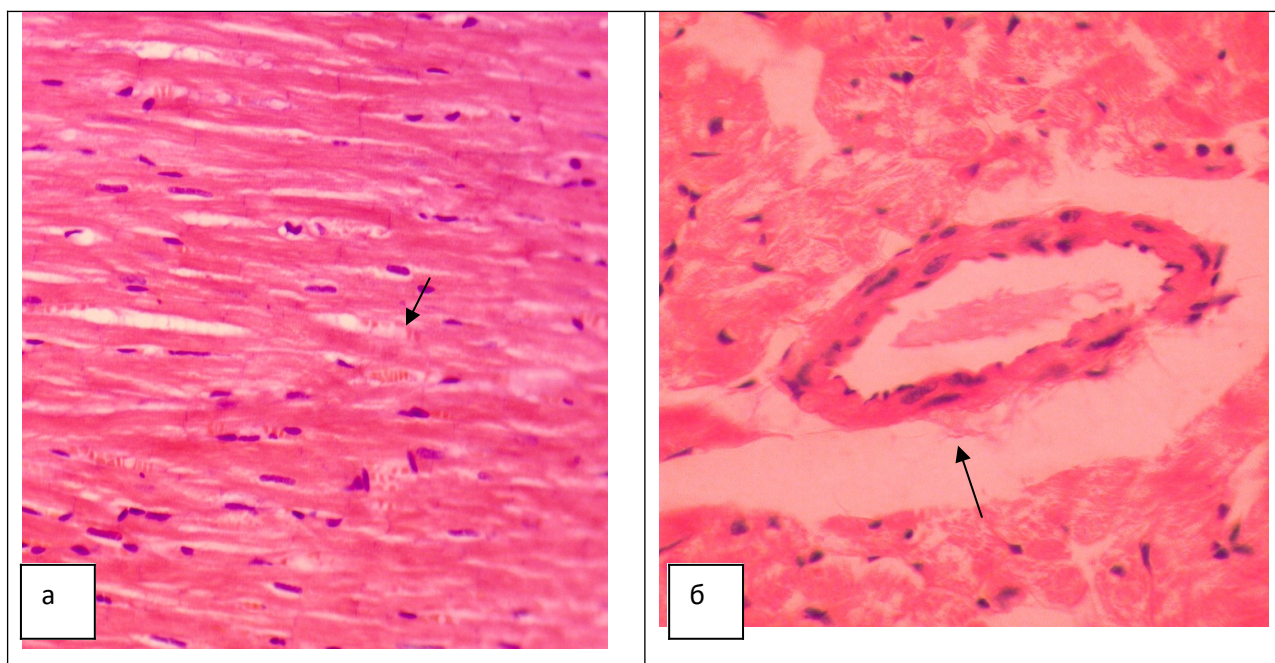


Рис. 5.8. Міокард лівого шлуночка щурів, які у профілактично-лікувальному режимі отримували ЕПМ: нормальний стан капілярів (а) та інтрамуральної артерії (б). Гематоксилін-еозин. х200.

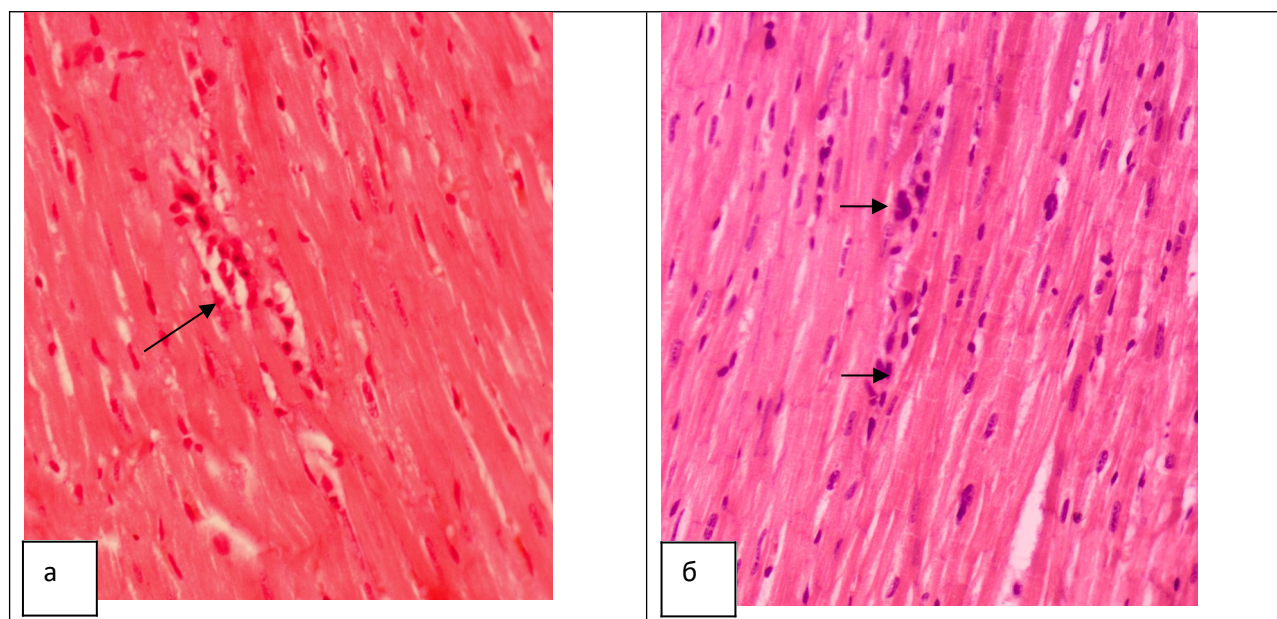


Рис. 5.9 Міокард лівого шлуночка щурів, які у профілактично-лікувальному режимі отримували ЕПМ: дуже дрібні осередки колишнього некрозу, повністю заміщені грануляціями з перевагою молодих фіброblastів (а-б). Гематоксилін-еозин. x200.

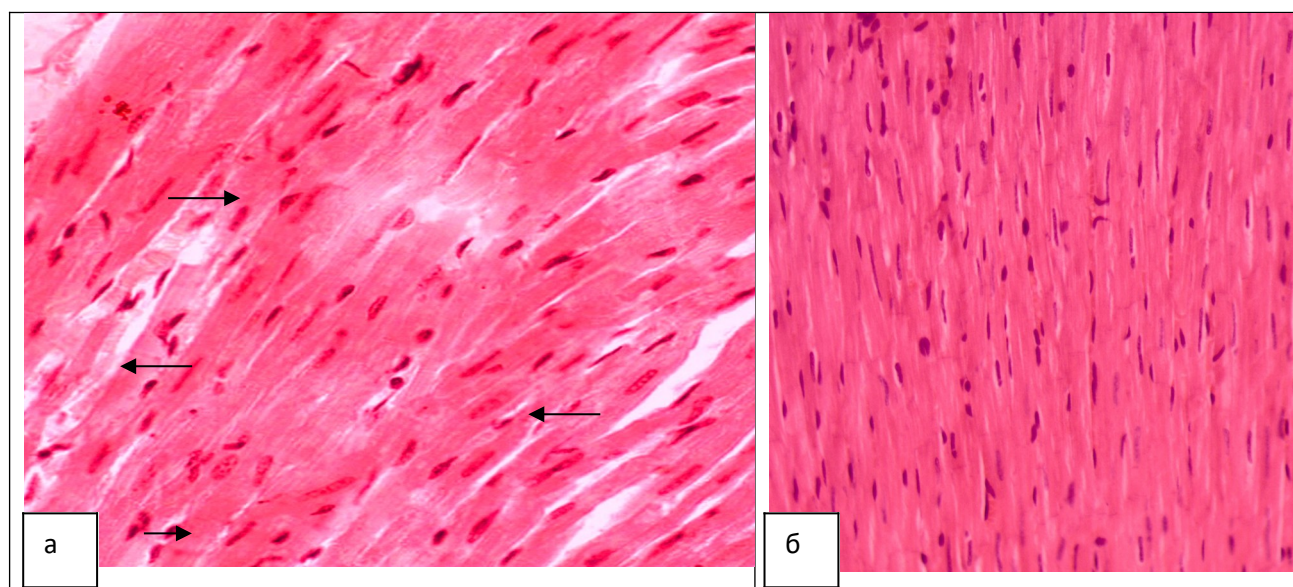


Рис. 5.10. Міокард лівого шлуночка щурів, які у профілактично-лікувальному режимі отримували ЕПМ: а – осередки міоцитолізу; б – нормальний стан волокон. Гематоксилін-еозин. x200.

Ознаки міоцитолізу ще помітні, контрактурні зміни клітин мінімальні. Значні за об'ємом ділянки міокарда мали неушкоджений вигляд (рис. 5.10).

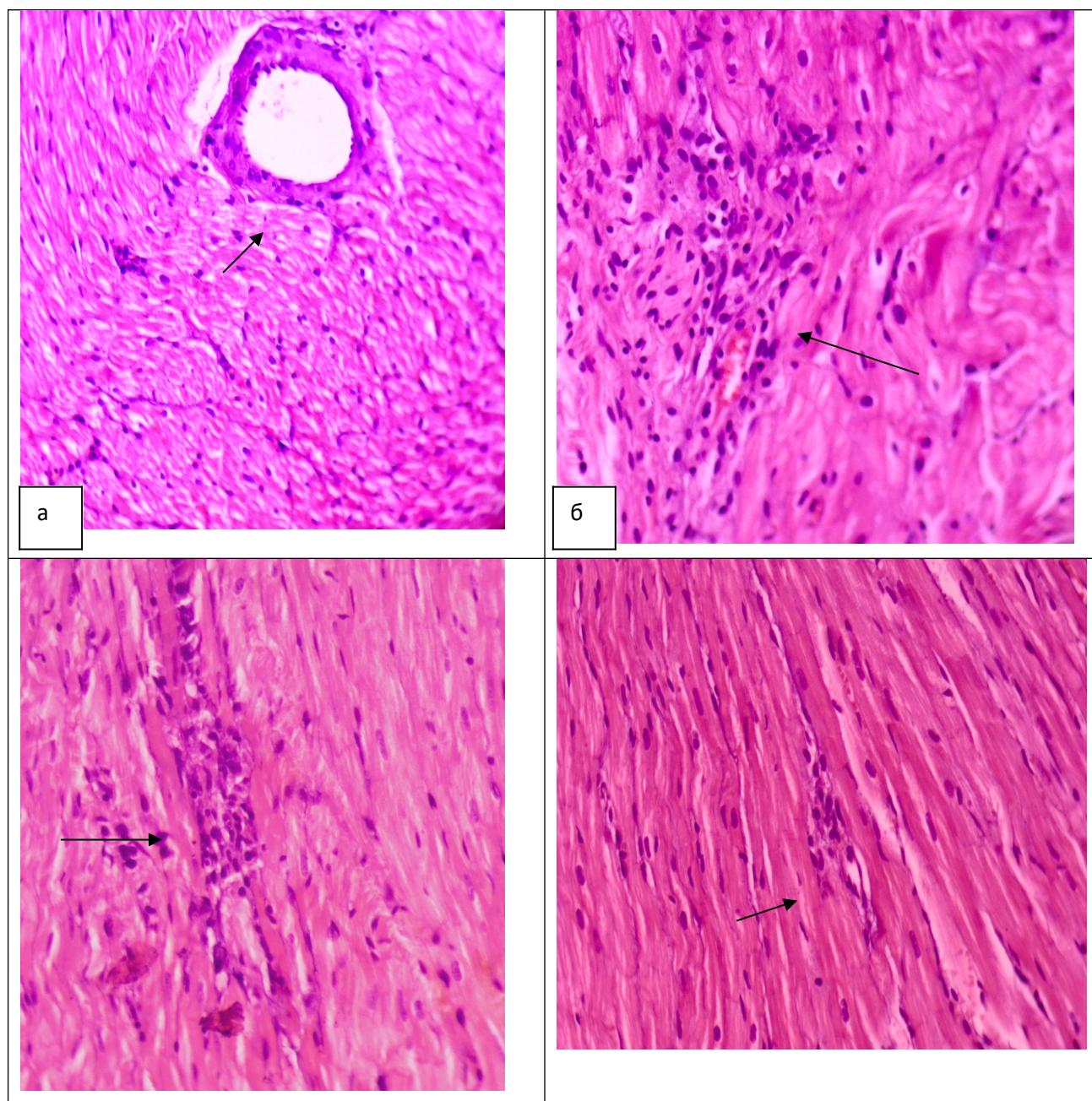


Рис. 5.11. Міокард лівого шлуночка щурів, які у профілактично-лікувальному режимі отримували модифікований L-аргініном екстракт пагонів малини – РубусАрг: а – нормальний стан інтрамуральної артерії; б-г – різні за розміром гранульоми з підвищеним вмістом молодих фібробластів на місці колишнього некрозу. Гематоксилін-еозин. а – x100, б-г – x200.

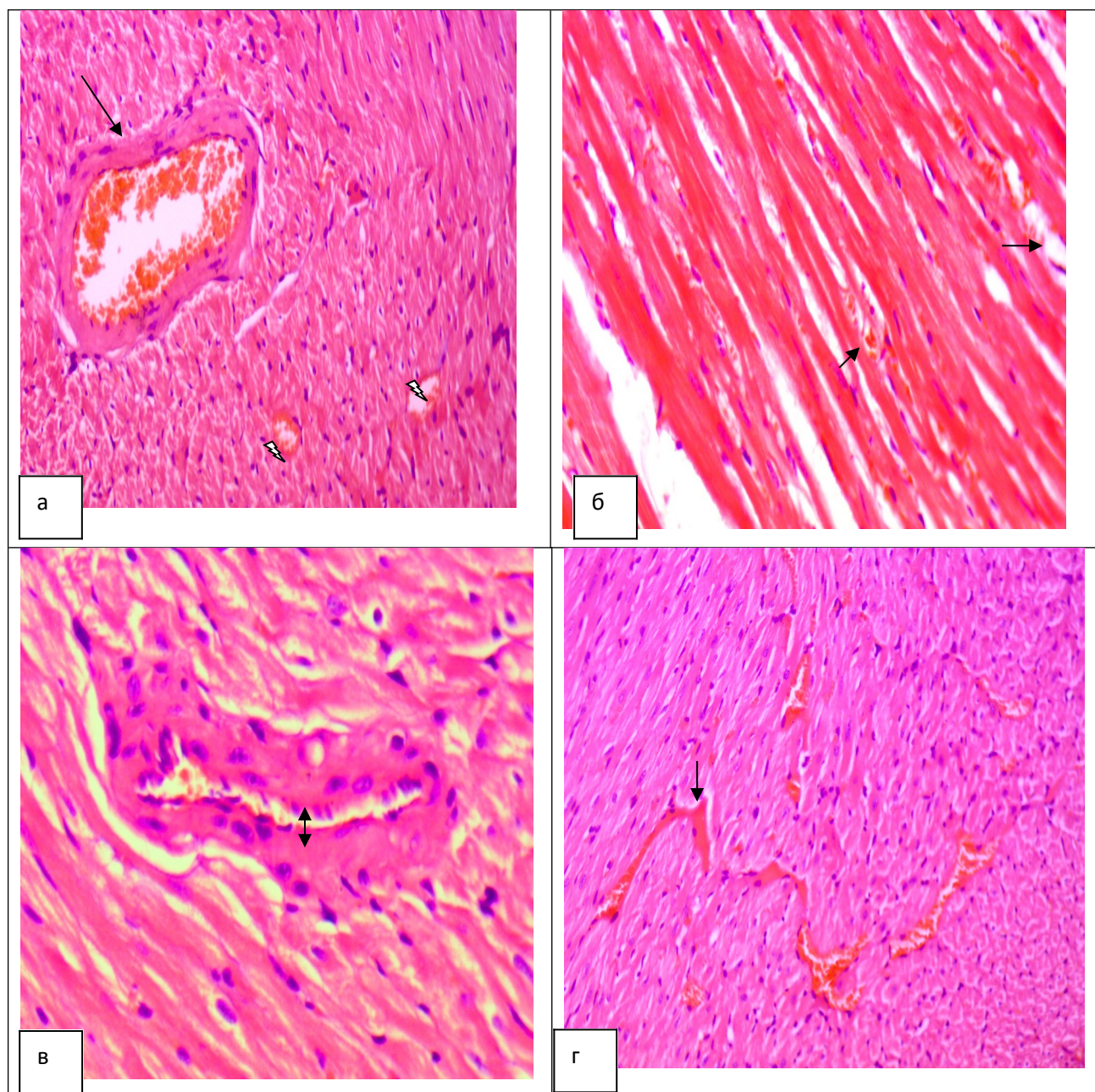


Рис. 5.13. Міокард лівого шлуночка щурів, які у профілактично-лікувальному режимі отримували Катехін: а – відсутність ознак спазму артеріол (біла стрілка) та інтрамуральної артерії (чорна стрілка) (x200); б – капілярна повнокровність у межах нормальної (x250); в – спазм інтрамуральної артерії (x400); г – повнокровність капілярів (x200). Гематоксилін-еозин.

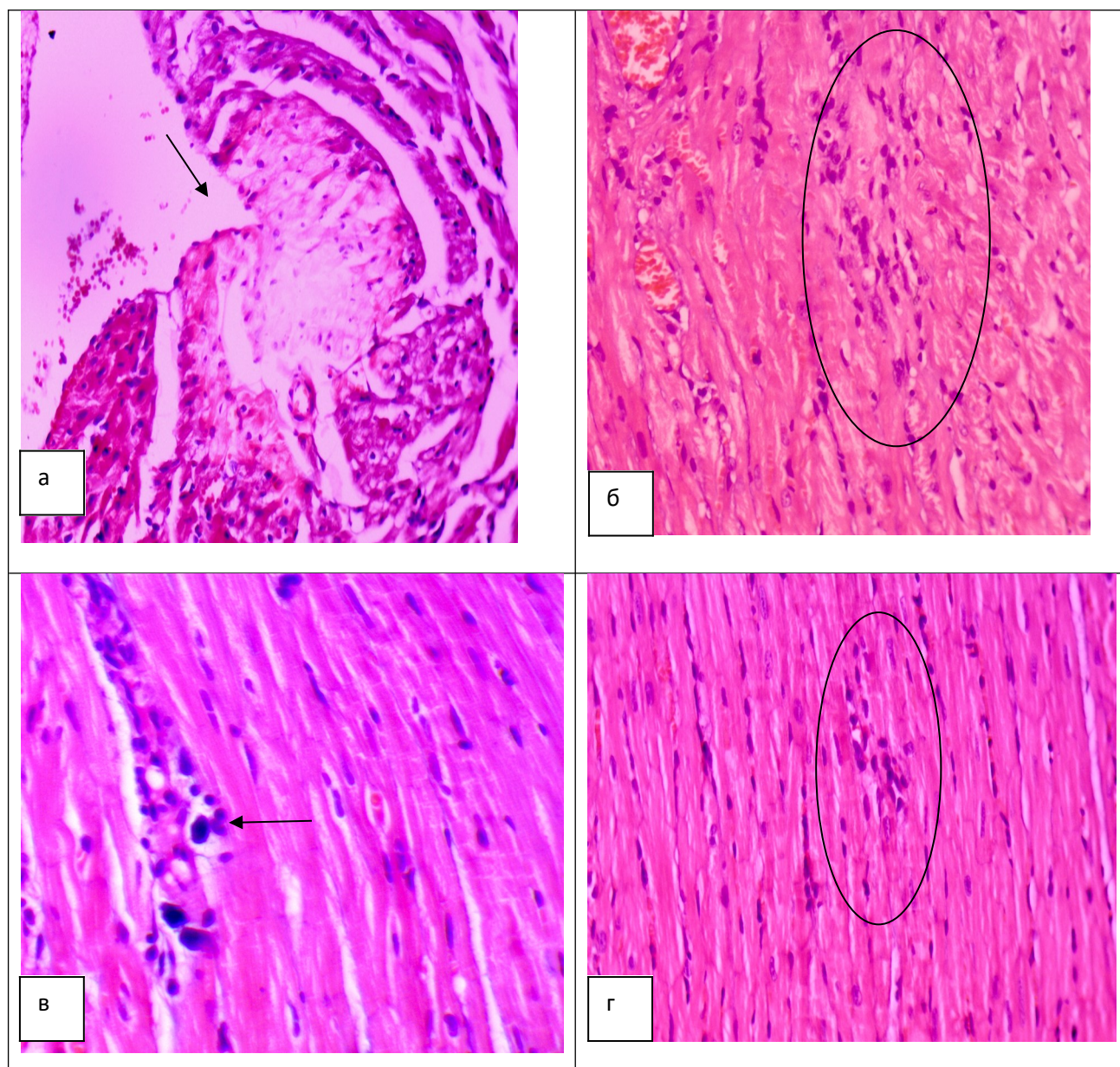


Рис. 5.14. Міокард лівого шлуночка щурів, які у профілактично-лікувальному режимі отримували катехін: а – «свіжий» за часом існування осередок некрозу (x100); б-г – різні за розміром осередки колишнього некрозу, яки заміщені гранульомами, з підвищеним вмістом молодих фібробластів (x250). Гематоксилін-еозин.

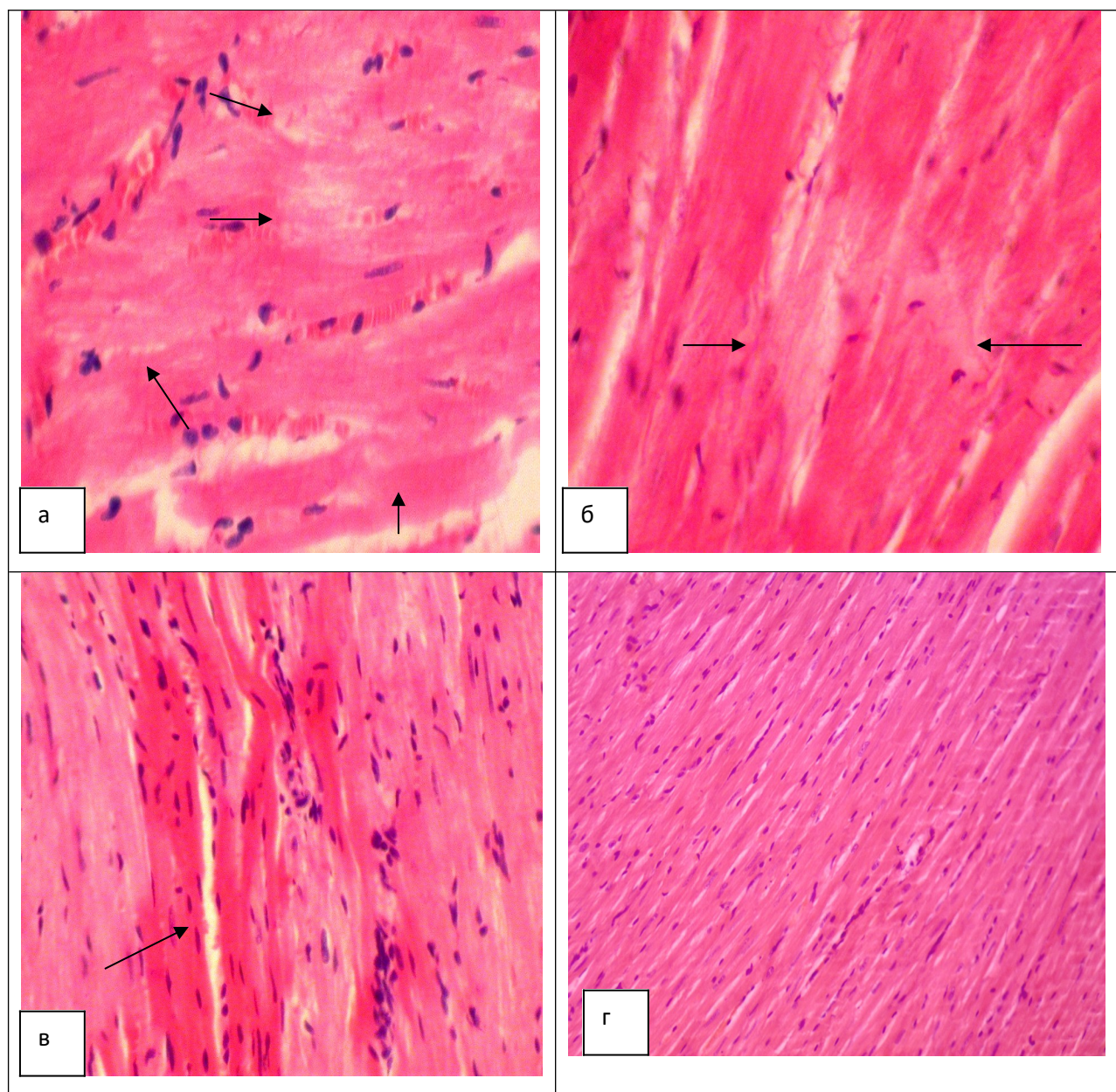


Рис. 5.15. Міокард лівого шлуночка щурів, які у профілактично-лікувальному режимі отримували катехин: а-б – різні за виразністю ознаки міоцитолізу (x250); в – контрактура волокон (x2500); г – нормальний стан серцево-м'язових волокон (x200). Гематоксилін-еозин.

Продовження додатку Д

Таблиця 5.11

**Вплив введення ЕПМ , РубусАрг (триденний курс) та катехіну на поведінкові реакції мишей
у тесті відкритого поля, $M \pm m$; $n=6$**

Показники		Інтактний контроль	ЕПМ	РубусАрг, 6,5 мг/кг	РубусАрг, 13 мг/кг	Катехін
Рухова активність	Кількість перетнутих квадратів	38±2,9	45±1,8 #	43±5,9 #	48±1,2	57±4,1 **
	Кількість стійок	5,7±0,6	7,2±0,5 ###	13±0,8 ***	8,3±0,3 *****	7,8±0,7 ####
Кількість обстежених отворів		25,2±1,8	30,2±1,5	27,1±2,9 #	33,0±3,2 *	35,3±1,4 **
Емоційні та вегетативні реакції	Кількість дефекацій	1,5±0,3	1,3±0,2	1,2±0,5	1,2±0,3	2,3±0,2
	Кількість актів грумінгу	1,2±0,4	0,8±0,3	1,2±0,5	0,8±0,3	1,7±0,4
	Кількість уринацій	0,5±0,2	0,7±0,2	1,2±0,4	0,7±0,2	1,2±0,3
Сума всіх видів активності		71±3,7	85±3,4 ##	86±4,0 *##	88±7,9 *##	109±4,6 ***

Примітки:

1. Статистично значущі відмінності з показником інтактного контролю: * – ($p<0,05$); ** – ($p<0,01$); *** – ($p<0,001$);
 2. Статистично значущі відмінності з показником групи катехіну – # ($p<0,05$); – ## ($p<0,01$); – ### ($p<0,001$);
- ;

**Вплив введення гранул Рубус Арг (триденний курс) та інозитулу на поведінкові реакції щурів
у хрестоподібному піднесеному лабіринті, $M \pm m$; $n=6$**

Показники		ІК	РубусАрг, 13 мг/кг	РубусАрг, 6,5 мг/кг	Інозитол
Латентний період входу до темного компартмента, с		14,9±3,7	28,4±2,5*	28,1±3,0 *	19,1±3,2
Час перебування, с	на центральному майданчику	5,0±3,7	10,6±1,3	15,2±0,8	9,2±1,2
	у закритому компартменті	176±14,8	88,9±10,8	105,4±16,9*	123,8±12,4 *
	у світлому компартменті	101,7±23 #	164,2±18,7	140,6±13,3	32,8±4,7 *
Кількість заглядань за край пристрою		7,6±0,2	8,0±1,4*	2,2±0,4 *	7,2±1,2
Кількість дефекацій		2,6±0,5	0,4±0,2 *	0,4±0,2 *	0 *
Кількість урінацій		2,0±0,3	0	3,6±1,1	1,2±1,0
Кількість актів грумінгу		0	0,2±0,2@	0	0,4±0,1

Примітки:

1. Статистично значущі відмінності з показником ІК: * – ($p<0,05$);
2. Статистично значущі відмінності з показником групи інозитулу – # – ($p<0,05$);
3. Статистично значущі відмінності з групою тварин, що одержували РубусАрг 6,5 мг/кг – ($p<0,05$);

Таблиця 5.14

**Вплив введення гранул Рубус Арг (триденний курс) та інозитулу на поведінкові реакції щурів
у тесті відкритого поля, $M \pm m$; $n=6$**

Показники		Інтактний контроль	РубусАрг, 13 мг/кг	РубусАрг, 6,5 мг/кг	Інозитол
Рухова активність	Кількість перетнутих квадратів	6,8±1,4	12±3,4*	5,0±1,4 ^{##&}	16±1,4 ^{**}
	Кількість стійок	1,0±0,5	0,4±0,2	2,4±0,9	2,0±0,3
Кількість обстежених отворів		0	0	0,6±0,4	1,0±0,8
Емоційні та вегетативні реакції	Кількість дефекацій	2,6±0,7 [#]	2,6±0,8 [#]	0,8±0,2 [*]	0 [*]
	Кількість урінацій	2,2±0,4	2,6±0,8 [#]	1,0±0,5	0 [*]
	Кількість актів грумінгу	0,6±0,4	0,4±0,2	0,4±0,2	0,6±0,4
Сума всіх видів активності		13±1,2	11±1,0	18±4,6	19±2,8

Примітки:

1. Статистично значущі відмінності з показником ІК: * – ($p<0,05$);
2. Статистично значущі відмінності з показником групи інозитулу – # ($p<0,01$);