Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ Здоров’я УКРАЇНИ**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

**УЛАНОВА ВІРА АНАТОЛІЇВНА**

УДК: 615.451.16:582.635.38:615.276:618.15-002

**Експериментальне обгрунтування доцільності**

**створення нового лікарського засобу на основі**

 **екстракту з шишок хмелю звичайного для корекції вагінітів**

**14.03.05 - фармакологія**

**АВТОРЕФЕРАТ**

**дисертації на здобуття наукового ступеня**

**кандидата фармацевтичних наук**

**Харків – 2009**

Дисертацією є рукопис

Робота виконана на кафедрі біології, фізіології та анатомії людини Національного фармацевтичного університету Міністерства охорони здоров’я України, м. Харків.

Науковий керівник: доктор медичних наук, професор

Гладченко Олег Михайлович, Національний

фармацевтичний університет МОЗ України, м. Харків,

 професор кафедри біології, фізіології та

 анатомії людини

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор

 Дроговоз Світлана Мефодіївна, Національний фармацевтичний університет МОЗ України, м. Харків,

 завідувачка кафедри фармакології

 кандидат біологічних наук,

 Носальська Тетяна Миколаївна,

 ДП ДНЦЛЗ МОЗ України, м. Харків,

 старший науковий співробітник лабораторії

 біохімічної фармакології

Захист відбудеться “ 17 ” квітня 2009 року о 12 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.01 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

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

Автореферат розісланий “ 16 ” березня 2009 року

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради,

**доктор біологічних наук, професор Малоштан Л.М.**

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми.** Відомо, що запальні захворювання нижнього відділу жіночої статевої системи, а насамперед вагініти є широко розповсюдженими (Кира Е.Ф., 1999; Гнатко Е.П., 2007). Традиційно місцеве лікування вагінітів обмежується застосуванням здебільшого різних антибактеріальних та протигрибкових засобів (Луб'яна С.С., 2000; Лихачев В.К., 2007), що зумовлює вплив лише на один чинник захворювання та не спричиняє комплексної нормалізуючої дії.

 Отже, на сьогодні проблема успішного лікування вагінітів залишається не до кінця вирішеною, оскільки більшість зі запропанованих засобів є синтетичними, володіє значними побічними ефектами та не приводить до повної і довготривалої нормалізації стану ушкодженого органу (Резниченко Г.И, 2007; Прилепская В.Н.,2000; Гуртовой Б.Л., 1994). Саме тому, питання пошуку та створення ефективних та нешкідливих препаратів комплексної дії, що поєднують протизапальну, репаративну, антимікробну, антиоксидантну дію для лікування вагінітів залишається актуальним.

 Останнім часом зростає зацікавленість дослідників до використання з цією метою засобів рослинного походження, які здавна застосовувались в нардній медицині для лікування запальних захворювань жіночих статевих органів, оскільки їх перевагами є низька токсичність, можливість довготривалого використання без суттєвих побічних явищ, а також висока ефективність та багатофакторність дії (Чекман І.С., 2001; Радзинский В.Е., 2008).

Асортимент вагінальних супозиторіїв вітчизняного виробництва для лікування вагінітів переважно представлений синтетичними препаратами (Кулаков В.И., Серов В.Н., 2005; Zhabits’ka L.A., 2006), а засоби на основі рослинної сировини, нажаль, майже відсутні, що обгрунтовує актуальність та доцільність створення та дослідження нового препарату рослинного походження на основі водного екстракту з шишок хмелю звичайного для лікування вагінітів.

**Зв’язок роботи з науковими роботами, планами, темами.** Робота виконана у рамках науково-дослідної програми Національного фармацевтичного університету з проблем МОЗ України “Фармакологічне дослідження біологічно активних речовин та лікарських засобів синтетичного та рослинного походження та їх застосування в медичній практиці” (№ Державної реєстрації 0103U000478).

**Мета та завдання дослідження.** Метою даного дослідження стало вивчення фармакологічних властивостей водного екстракту з шишок хмелю звичайного і супозиторіїв на його основі та експериментальне обґрунтування їх застосування при вагінітах.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі завдання:

1. провести скринінгові дослідження протизапальної активності та визначити умовнотерапевтичну дозу водного екстракту з шишок хмелю звичайного на моделі карагенінового набряку;
2. дослідити протизапальну дію водного екстракту з шишок хмелю звичайного на різних моделях запалення;
3. вивчити репаративну активність водного екстракту з шишок хмелю звичайного;
4. дослідити анальгезуючі, антиоксидантні, антицитолітичні, мембранопротекторні та антимікробні властивості водного екстракту з шишок хмелю звичайного.
5. вивчити ефективність супозиторіїв на основі водного екстракту з шишок хмелю звичайного на різних моделях вагінітів.
6. вивчити гостру токсичність та місцевоподразнювальну дію водного екстракту з шишок хмелю звичайного.

*Об`єкти дослідження* – водний екстракт з шишок хмелю звичайного та вагінальні супозиторії на його основі.

*Предмет дослідження –* фармакологічні властивості водного екстракту з шишок хмелю звичайного та супозиторіїв на його основі.

*Методи дослідження.* При виконанні дисертаційної роботи використовувались фармакологічні, біохімічні, токсикологічні, мікробіологічні, гістологічні, статистичні методи дослідження.

**Наукова новизна.** Вперше проведене вивчення фармакологічних властивостей водного екстракту з шишок хмелю звичайного. Встановлено, що досліджуваний екстракт чинить значну протизапальну, репаративну, анальгетичну, мембраностабілізувальну, антиоксидантну та антимікробну властивості. На основі екстракту з шишок хмелю звичайного розроблені вагінальні супозиторії. Встановлено, що супозиторії з досліджуваним екстрактом виявляють виразну лікувальну дію в умовах експериментальних вагінітів, підтверджену даними гістологічних та біохімічних досліджень, що обґрунтовує доцільність створення та використання даних супозиторіїв як засобу для лікування вагінітів. Наукова новизна роботи підтверджена патентом № 27270 від 25.10.07 «Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з протизапальною та репаративною активністю».

**Практичне значення одержаних результатів.** Проведені дослідження експериментально обгрунтовують доцільність створення та використання супозиторіїв з екстрактом шишок хмелю звичайного для лікування вагінітів.

Матеріали досліджень впроваджені в науково-педагогічний процес у вищих навчальних закладах III та IV рівня акредитації: на кафедрах Запорізького державного медичного університету, Тернопільського державного медичного університету ім. І.Я. Горбачевського, Житомирського базового фармацевтичного коледжа ім. І.С. Протасовича.

Результати експериментальних досліджень використані при розробці та виданні інформаційного листа № 168-2007 «Спосіб моделювання експериментального вагініту», який впроваджено в науково-дослідну діяльність кафедри фармакології та токсикології Харківської зооветеринарної академії, та у відділі біохімії Інституту проблем кріобіології та кріомедицини НАН України.

**Особистий внесок здобувача.** Авторомсамостійно проведено патентно-інформаційний пошук, аналіз даних літератури з досліджуваної проблеми. Разом з науковим керівником визначена мета та поставлені завдання дослідження, сформульовані висновки дисертаційної роботи. Самостійно проведені експериментальні дослідження, статистична обробка отриманих результатів, їх аналіз та узагальнення, оформлені таблиці та рисунки.

**Апробація роботи.** Матеріали роботи були викладені та обговорені на Міжнародній науково-практичній конференції «Перспективные инновации в науке, образовании, производстве и транспорте» (м. Одеса, 2007); Міжнародній науково-практичній конференції «Научные исследования и их практическое применение. Современное состояние и пути развития» (м. Одеса, 2007); Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів та молодих вчених «Актуальні питання створення нових лікарських засобів» (м. Харків, 2007) та на науково-практичній конференції «Здобутки клінічної і експериментальної медицини» (м. Тернопіль, 2007).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 14 наукових праць, з них 4 статті у фахових виданнях, 8 тез доповідей, 1 патент та 1 інформаційний лист.

**Об’єм та структура дисертації.** Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 3-х розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, загальних висновків та переліку використаної літератури. Робота викладена на 155 сторінках друкованого тексту і включає 22 таблиці та 17 рисунків. Список літератури містить 200 посилань на джерела літератури, з яких 120 – вітчизняних та – 80 іноземних авторів.

**Основний зміст роботи**

**Об'єкти та методи дослідження.** Об’єктами експериментальних досліджень стали водний екстракт з шишок хмелю звичайного (ЕШХ) та супозиторії на його основі. До складу ЕШХ входить комплекс біологічно активних речовин, представлений, головним чином, поліфенолами (складовими яких є фітоестрогени), хмільовими кислотами, а також вітамінами.

Експериментальні дослідження проводили в лабораторії морфо-функціональних досліджень при кафедрі біології, фізіології та анатоміїлюдини НФаУ, яка сертифікована НААУ (атестат № 2Н502, 2006 р.) та ЦНДЛ НФаУ. Екперименти були проведені у відповідності до вимог комісії з біоетики НФаУ та „Загальних етичних принципів експериментів на тваринах” (Україна, 2001), що узгоджуються з положеннями „Європейської конвенції про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей” (Страсбург, 1985).

 Досліди виконано на 309 безпородних білих щурах масою 150-220 г, 126 мишах масою 20-30 г та 15 мурчаках масою 300-330 г. Тварин утримували в стандартних умовах на збалансованому харчуванні у віварії ЦНДЛ НФаУ, обладнаному відповідно до санітарних норм.

Скринінгові дослідження з метою визначення умовнотерапевтичної дози ЕШХ були проведені на моделі гострого ексудативного запалення - карагенінового набряку лапи у мишей та щурів (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001).

З метою уточнення механізму протизапальної дії проводили вивчення антиексудативної активності ЕШХ в умовах гострого запалення, викликаного дією формаліну та зимозану. ЕШХ вводили в умовнотерапевтичній дозі 5мг/кг, яка була визначена у попередніх дослідах. В якості препаратів порівняння були використані альтан у дозі 1 мг/кг, вольтарен у дозі 8 та 3,8 мг/кг (відповідно для щурів та мишей) (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001).

Лікувальні засоби, що застосовуються у терапії вагінітів, поряд з іншими видами фармакологічної активності, повинні зменшувати пошкоджуючий вплив патогенного чинника та підвищувати резистентність слизової оболонки піхви (СОП). Це стало підгрунтям для вивчення антиальтеративної активності ЕШХ на моделі гострого асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини у щурів, викликаного введенням оцтової кислоти (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001).

 Через те, що вагініти супроводжуються запаленням та дуже часто дегенеративними змінами слизової оболонки піхви (СОП), доцільним було вивчення впливу ЕШХ на процеси репарації при експериментальних пошкодженнях слизових оболонок. За для цього було використано гостре ураження шлунку спирто-преднізолоновою сумішшю (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001).

 Вивчення репаративної активності ЕШХ також проводили на моделі «лінійних різаних ран» (Хаджай Л.И., 1983; Кочнєв О.В., Ісаєв В.А., 1994). Через те, що одним із визначальних факторів швидкості репаративної регенерації є білковий обмін, проводили визначення вмісту загального білка в сироватці крові (Камишніков В.С., 2000). Для оцінки впливу ЕШХ на перебіг пластичних процесів на моделі «лінійних різаних ран» у щурів визначали концентрацію ДНК та РНК в гомогенаті шкіри ушкодженої ділянки (Спирин А.С., 1958). В якості референс-препарату при вивченні антиальтеративної та репаративної дії субстанції ЕШХ був використаний препарат альтан у дозі 1 мг/кг.

Вивчення анальгетичної дії ЕШХ проводили на моделі «оцтовокислих корчів» у мишей (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001). Як препарат порівняння був використаний вольтарен у дозі 3,8 мг/кг.

Антиоксидантну та антицитолітичну активність ЕШХ вивчали на моделі гострого ураження печінки тетрахлорметаном (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001). Висновок про виразність антиоксидантної дії робили за вмістом у тканині печінки продуктів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) – ТБК – активних продуктів (ТБК-АП), дієнових кон’югатів (ДК) (Стальная И.Д., Гаришвили Т.Г., 1977). Стан антиоксидантної системи (АОС) оцінювали за вмістом відновленого глутатіону (GSH) (Beutler E.D. at.al., 1963). У сироватці крові визначали активність маркерного ферменту цитолізу - аланінамінотрансферази (АлАТ) (Камишніков В.С., 2000). В якості препарату порівняння використовували гепатопротектор рослинного походження силібор у дозі 25 мг/кг.

Мембраностабілізувальні властивості ЕШХ у порівнянні з альтаном вивчали на моделі спонтанної перекисної деструкції мембран еритроцитів за методом Jager F.C. (Вороніна Л.М. та співавт.,1996).

Антимікробну активність ЕШХ вивчали на кафедрі мікробіології НФаУ під керівництвом проф. Дикого І.Л. методом дифузії в агар у модифікації «колодязів» (ДФУ, 2001; Волянський Ю.Л., 2004).

Метою наступного етапу дослідження стало вивчення ефективності застосування вагінальних супозиторіїв на основі ЕШХ у дозі 5 мг/кг в умовах експериментальних вагінітів у порівнянні з супозиторіями з обліпиховою олією у дозі 17,64 мг/кг, яка була перерахована з терапевтичної дози для людини (Рыболовлев Ю.Р. и соавт., 1979).

Вивчення терапевтичної ефективності супозиторіїв з ЕШХ проводили на моделі «механічного» вагініту у щурів (Дроговоз С.М., 2003). Досліджуваний засіб вводили у дозі 5 мг/кг в лікувальному режимі: одноразово, щодоби протягом 5-ти діб після скарифікування СОП. Висновок про виразність лікувальної дії робили за даними макроскопічного обстеження СОП (площа ураження, виразність запального процесу), динамікою маси тіла та загальним станом тварин. Оцінку протизапальної активності супозиторіїв з ЕШХ проводили наприкінці досліду за динамікою показників периферичної крові у щурів ( швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ), гемоглобін, кількість еритроцитів та лейкоцитів, лейкоцитарна формула) (Камишніков В.С., 2000).

Ефективність супозиторіїв з ЕШХ вивчали також на моделі формалінового вагініту у щурів (Малоштан Л.М, Гладченко О.М., Уланова В.А., 2007). Досліджуваний засіб вводили у дозі 5 мг/кг в лікувально-профілактичному режимі: одноразово, щодоби протягом 3-х діб до та протягом 7-ми діб після введення формаліну. Терапевтичну ефективність супозиторіїв з ЕШХ оцінювали за макроскопічними змінами СОП. Динаміку показників периферичної крові у щурів оцінювали аналогічно моделі «механічного» вагініту на 3-у та 7-у добу після введення формаліну. З метою детальнішого вивчення лікувальної дії супозиторіїв з ЕШХ проводили визначення показників, які характеризують інтенсивність процесів ПОЛ та стан АОС (ТБК-АП, ДК і GSH) у тканині печінки та активність АлАТ (маркер цитолізу) у сироватці крові. Морфоструктуру зрізів СОП вивчали на базі ЦНДЛ НФаУ під керівництвом професора Яковлєвої Л.В. за допомогою стандартних методів світлової мікроскопії (Меркулов Г.А., 1969; Волкова О.В., 1971).

Вивчення гострої токсичності з розрахунком середньолетальних доз ЕШХ при одноразовому внутрішньошлунковому та внутрішньоочеревинному введенні проводили за методом Пастушенко Т.В. та співавт. (1978) на мишах та щурах. Ступінь токсичності визначали за класифікацією Сидорова К.К. (1973).

Місцевоподразнювальну дію субстанції ЕШХ вивчали згідно методики (Доклінічні дослідження лікарських засобів, 2001).

Одержаний фактичний матеріал оброблений методами параметричної та непараметричної статистики (Лапач С.М. та співавт., 2001; Реброва О.Ю., 2006).

**Результати досліджень та їх обговорення.**

На початковому етапі роботи проведені скринінгові дослідження протизапальної активності ЕШХ в діапазоні доз від 1 до 50 мг/кг на моделі гострого ексудативного запалення, викликаного введенням карагеніну на мишах та щурах, в ході яких було здійснено порівняльне вивчення антиексудативних властивостей досліджуваної субстанції та визначення умовнотерапевтичної дози.

Встановлено, що ЕШХ виявляє виразні антиексудативні властивості в дозах 5, 10, 25 та 50 мг/кг, та помірно виражені – у дозі 1 мг/кг.

 Доведено, що найвищій гальмівний вплив на розвиток ексудативного запалення ЕШХ виявляє в дозі 5 мг/кг, хоча і поступається препарату порівняння вольтарену. Зазначена доза була обрана для проведення подальших досліджень як умовнотерапевтична.

 Результати проведених досліджень свідчать про здатність досліджуваного екстракту пригнічувати біосинтез простагландинів, оскільки на третю годину експерименту ЕШХ у дозі 5 мг/кг зменшував набряк ураженої кінцівки на 53,95% в дослідах на мишах та 50,89% в дослідах на щурах.

З метою з’ясування впливу ЕШХ у дозі 5 мг/кг на активність ліпооксигеназної системи та здатність до стабілізації мембран клітин проведено вивчення антиексудативної активності ЕШХ в умовах гострого запалення, викликаного зимозаном та формаліном (рис. 1).

ЕШХ у дозі 5 мг/кг виявив високу антиексудативну активність на моделі зимозанового набряку стопи у щурів. Досліджуваний екстракт зменшував виразність набряку через 0,5 години після введення 2% суспензії зимозану на 48,2%. Враховуючи той факт, що на ранніх етапах зимозанового запалення ключову роль відіграє активація ліпооксигеназної системи та утворення лейкотриєнів, можна зробити висновок про наявність у ЕШХ антилейкотриєнових властивостей (рис. 1).

Встановлено, що ЕШХ виявляв також достатньо виражену протизапальну дію на моделі формалінового набряку: введення ЕШХ у дозі 5 мг/кг супроводжувалось зменшенням набряку на 44,77% порівняно з групою контрольної патології. За виразністю антиексудативної дії в умовах формалінового набряку ЕШХ не поступається референс-препаратам вольтарену (52,82 %) та альтану (39,32 %) (рис. 1).

Дослідження впливу ЕШХ на перебіг альтеративної запальної реакції на моделі асептичного запалення шкіри та підшкірної клітковини у щурів показало, що ЕШХ у дозі 5мг/кг при тривалому застосуванні чинить антиальтеративну дію та виявляє перевагу над препаратом порівняння альтаном у дозі 1 мг/кг. Повне загоєння ран при застосуванні ЕШХ спостерігалось на 19-ту добу лікування, в той час як при застосуванні альтана це відбувалося на 21-у добу лікування.

Наступним кроком наших досліджень стало вивчення репаративної активності ЕШХ.

При вивченні репаративної активності ЕШХ на моделі спирто-преднізолонового пошкодження слизової оболонки шлунка у щурів було встановлено, що ЕШХ у дозі 5 мг/кг проявив виражену противиразкову активність - 88,99% та не поступався референс-препарату альтану, противиразкова дія якого складає 95,78%.

Рис.1. Протизапальна активність ЕШХ на моделях гострого ексудатив ного запалення, викликаного карагеніном, формаліном та зимозаном.

Примітки:

1. \*- відхилення достовірне щодо контрольної патології (р≤0,05);

2. \*\*- відхилення достовірне щодо вольтарену (р≤0,05).

Наявність репаративного ефекту ЕШХ, була підтверджена також на моделі «лінійних різаних ран». За даними ранотензіометрії, репаративна активність ЕШХ у дозі 5 мг/кг становила 77,33% і перевищувала майже в 2 рази таку у препарата порівняння альтан у дозі 1 мг/кг, репаративна дія якого склала – 39,54 % (рис. 2).

Здатність ЕШХ стимулювати репарацію ушкоджених тканин підтверджувалась також змінами біохімічних показників: вміст загального білка в сироватці крові тварин, яким вводили ЕШХ у дозі 5 мг/кг, збільшувався у порівнянні з групою контрольної патології на 20%. В той самий час, збільшення вмісту білка в сироватці крові тварин, яким вводили альтан, становило 16%. Концентрація РНК в гомогенаті шкіри ураженої ділянки у тварин, яким вводили ЕШХ, збільшувалась на 31,84%, а у тварин, яким вводили референс-препарат альтан, - на 27,09 %, що свідчить про інтенсифікацію процесів біосинтезу білка. Концентрація ДНК в гомогенаті шкіри ураженої ділянки у тварин, яких лікували ЕШХ, збільшувалась на 56,22%, а у тварин, лікованих препаратом порівняння, - лише на 14,43%. Останнє свідчить про значну, майже у 4 рази, перевагу ЕШХ над референс-препаратом за здатністю стимулювати мітотичні процеси в ушкодженій тканині.

Аналіз результатів, отриманих на моделі «оцтовокислих корчів» у мишей, свідчить про здатність ЕШХ у дозі 5 мг/кг пригнічувати розвиток больового синдрому на 58,34%. За виразністю анальгетичної активності ЕШХ перевершує ефект препарата порівняння альтану у 1,9 разу та знаходиться на рівні препарата порівняння вольтарену, активність якого склала 61,62% (рис. 2).

**Рис. 2**. Вплив ЕШХ на репаративні процеси та больовий синдром.

Примітки:

1. \*- відхилення достовірне щодо відповідної групи контрольної патології (р≤0,05);

2. \*\*- відхилення достовірне щодо альтану (р≤0,05);

3. \*\*\*- відхилення достовірне щодо вольтарену (р≤0,05).

Вивчення антиоксидантних та антицитолітичних властивостей, проведене на моделі гострого тетрахлорметанового гепатиту, дозволило встановити, що ЕШХ запобігає активації процесів ПОЛ, зменшуючи вміст у тканині печінки ДК та ТБК-АП на 29,15% та 30,46% відповідно. Досліджуваний екстракт також сприяв відновленню фонду редукованого глутатіону, збільшуючи його вміст у тканині печінки на 90,5%. В умовах гострого тетрахлорметанового ураження печінки ЕШХ чинив антицитолітичну дію, зменшуючи активність АлАТ у сироватці крові дослідних тварин на 34,2%. За виразністю антиоксидантної та антицитолітичної дії ЕШХ знаходиться на рівні препарату порівняння силібору (рис. 3).

Дослідження мембраностабілізувальної дії ЕШХ на моделі спонтанного гемолізу еритроцитів виявило, що ЕШХ у дозі 5 мг/кг сприяє стабілізації мембран еритроцитів та зменшує ступінь їх перекисного гемолізу на 50,26%. За виразністю мембраностабілізувальної дії ЕШХ знаходиться на рівні препарату порівняння альтану, активність якого 46,59%.

**Рис.3.** Вплив ЕШХ на деякі функціонально-біохімічні показники при гострому тетрахлорметановому гепатиті у щурів.

Примітки:

1. \*- відхилення достовірне щодо інтактного контролю (р≤0,05);

2. \*\*- відхилення достовірне щодо контрольної патології (р≤0,05);

3. \*\*\*- відхилення достовірне щодо силібору (р≤0,05).

Наявність інфекційного компоненту в патогенезі вагінітів (Абрамченко В.В., 1994; Sobel J.D.,1996) обумовлює доцільність вивчення антимікробних властивостей ЕШХ. У дослідженнях in vitro було встановлено наявність антимікробної активності даної субстанції по відношенню до патогенних штамів Staphylococcus aureus.

Вивчення специфічної фармакологічної активності супозиторіїв на основі ЕШХ проводили на моделях «механічного» та формалінового вагінітів у щурів.

В умовах «механічного» вагініту у щурів установлено, що супозиторії з ЕШХ у дозі 5 мг/кг виявляють виражений терапевтичний ефект. Так, при макроскопічному вивченні СОП наприкінці експерименту було встановлено, що у тварин, яким у лікувальному режимі вводили супозиторії з ЕШХ, відносне значення загальної площі ушкодженої ділянки СОП зменшувалось порівняно з тваринами групи контрольної патології приблизно у 3 рази, а виразність запалення - майже у 2,5 рази.

Використання препарату порівняння - супозиторіїв з обліпиховою олією - також сприяло зниженню інтенсивністі запально-деструктивних змін СОП у щурів на тлі «механічного» вагініту, хоча і менш виразно: відносне значення загальної площі ушкодженої ділянки СОП зменшувалось приблизно у 2,2 рази, а виразність запального процесу - у 2,1 рази.

Лікувальний ефект супозиторіїв з ЕШХ та препарату порівняння на моделі «механічного» вагініту супроводжувався також стабілізацією загальнотрофічних процесів, про що свідчить відсутність помітної втрати ваги тіла у піддослідних тварин протягом всього експерименту порівняно з групою контрольної патології. Результати дослідження гематологічних показників також свідчать про пригнічення запального процесу.

Дослідження ефективності супозиторіїв з ЕШХ у дозі 5 мг/кг продовжене на моделі формалінового вагініту у щурів.

Встановлено, що застосування супозиторіїв з ЕШХ на тлі формалінового вагініту призвело до зниження виразності запального процесу. Так, при лікуванні спостерігалось зменшення набряку, гіперемії. Виразність запалення СОП у тварин, яким вводили супозиторії з ЕШХ, зменшувалась порівняно з тваринами групи контрольної патології у 2,54 рази. В той же час, значення цього показника у тварин, яким вводили препарат порівняння, зменшувалось у 1,75 рази. Кількість тварин з некротичними змінами у СОП в групі, лікованій супозиторіями з ЕШХ, зменшувалась у 5 разів, а в групі лікованій супозиторіями з обліпиховою олією, – у 2,5 рази. Крім цього, середня площа некротичного ураження СОП у тварин, яким вводили супозиторії з ЕШХ, була у 8 разів меншою ніж у тварин з групи контрольної патології, та в 3 рази нижче, ніж при застосуванні препарату порівняння (рис. 4).

Результати дослідження гематологічних показників свідчать про пригнічення запального процесу на тлі застосування супозиторіїв з ЕШХ: достовірно в порівнянні з групою контрольної патології знижується ШОЕ та загальна кількість лейкоцитів, відновлюються показники лейкоцитарної формули, спостерігається тенденція до збільшення кількісті еритроцитів і рівня гемоглобіну. При цьому під впливом препарату порівняння також спостерігається нормалізація гематологічних показників, але менш виразно.

Морфологічне дослідження СОП щурів свідчить, що супозиторії з ЕШХ значною мірою запобігають ураженню слизової оболонки формаліном. Зменшується не тільки кількість тварин з некротичними дефектами СОП (12,5% проти 62,5% в групі контрольної патології), але й виразність деструктивних та запальних проявів.

Дані, отримані за допомогою методів світлової мікроскопії, свідчать, що застосування супозиторіїв з ЕШХ стимулює епітелізацію поверхні ерозивних пошкоджень та сприяє появі більш зрілої грануляційної тканини у дефектах СОП. Все це прискорює загоєння та відновлення фізіологічного стану СОП. Під впливом супозиторіїв з ЕШХ також відновлюється здатність клітин епітелію до накопичення глікогену. За даними морфологічних досліджень встановлено, що препарат порівняння - супозиторії з обліпиховою олією - також виявляє протекторну дію на СОП щурів, але за її потужністю поступається супозиторіям з ЕШХ.

Узагальнюючи експериментальні дані, можна зробити висновок про високу терапевтичну ефективність супозиторіїв з ЕШХ в умовах модельних вагінітів, оскільки за більшістю вивчених показників супозиторії з ЕШХ виявляють значно переважають ефективність препарату порівняння.

В ході визначеннягострої токсичності ЕШХ встановити ЛД50 досліджуваного екстракту при внутрішньошлунковому введенні не вдалось. Але встановлено ЛД50 ЕШХ при внутрішньоочеревинному введенні, яка складала 4310 (3510-5120) мг/кг для мишей та 4650 (3850-5460) мг/кг для щурів. Це дозволяє віднести досліджуваний ЕШХ до класу «відносно нешкідливих» речовин за класифікацією К.К. Сидорова.

**Рис.4.** Вплив супозиторій з ЕШХ на стан СОП щурів при експериментальному формаліновому вагініті.

Примітки:

1. \*- відхилення достовірне щодо контрольної патології (р≤0,05);

2. \*\*- відхилення достовірне щодо супозиторіїв з обліпиховою олією (р≤0,05).

Вивчення можливої місцевоподразнювальної дії показало відсутність у ЕШХ названої дії при нанесенні його у різних концентраціях на слизову оболонку ока дослідних тварин.

Таким чином, різнобічне фармакологічне дослідження ЕШХ свідчить про наявність у нього виражених протизапальних, репаративних, антиоксидантних, антицитолітичних, антимікробних, мембраностабілізувальних, анальгетичних властивостей, що обгрунтовує доцільність створення на його основі супозиторіїв комплексної дії для лікування вагінітів, ефективність яких також встановлена у наших дослідженнях.

 **ВИСНОВКИ**

У дисертаційній роботі викладено результати різнобічного експериментального дослідження фармакологічних властивостей водного екстракту з шишок хмелю звичайного та супозиторіїв на його основі. У роботі теоретично та експериментально обґрунтовано доцільність створення та використання супозиторіїв на основі екстракту шишок хмелю звичайного для лікування вагінітів.

1. Скринінгові дослідження, проведені на моделі гострого карагенінового набряку, дозволили визначити умовнотерапевтичну дозу ЕШХ, що становить 5 мг/кг та забезпечує виразний протизапальний ефект.

2. Встановлено, що ЕШХ виявляє виражену протизапальну активність на моделях гострого ексудативного запалення, викликаного формаліном та зимозаном. Протизапальні властивості ЕШХ, ймовірно, пов’язані з пригніченням утворення та вивільнення медіаторів запалення, а саме простагландинів, лейкотриєнів, а також зі здатністю стабілізувати клітинні мембрани.

3. Доведено, що досліджуваний ЕШХ у дозі 5 мг/кг чинить значну антиальтеративну активність, оскільки прискорює загоєння ран у щурів, викликаних асептичним запаленням при введенні оцтової кислоти та виявляє виражену репаративну активність на моделі «лінійних різаних ран» у щурів, що за ефективністю перевищує препарат порівняння альтан. Про репаративну дію також свідчить наявність противиразкової активності (88,99%), встановленої на моделі спирто-преднізолонової виразки шлунка.

4. Встановлено, що ЕШХ у дозі 5 мг/кг виявляє антиоксидантні, антицитолітичні, мембраностабілізувальні властивості, що сприяє пригніченню запальної реакції. За виразністю мембраностабілізувальної дії на моделі спонтанного перекисного гемолізу еритроцитів, ЕШХ не поступається препарату порівняння альтан; в умовах тетрахлорметанового гепатиту чинить виразну антиоксидантну та антицитолітичну дію і не поступається препарату порівняння силібор.

5. Доведено також, що ЕШХ виявляє анальгетичні та помірні антимікробні властивості.

6. На моделях «механічного» та формалінового вагінітів у щурів було доведено значний терапевтичний ефект супозиторіїв з ЕШХ, обумовлений їх протизапальними, репаративними, антиоксидантними, антицитолітичними, мембраностабілізувальними та антимікробними властивостями.

7. Патоморфологічний аналіз зразків СОП підтвердив, що застосування супозиторіїв з ЕШХ призводить до зменшення виразності деструктивних процесів, запальних проявів та прискорює регенерацію СОП. Встановлено, що при застосуванні супозиторіїв з ЕШХ спостерігається більш виражений лікувальний ефект, ніж при застосуванні супозиторіїв з обліпиховою олією.

8. Встановлено, що, за класифікацією К.К. Сидорова, ЕШХ належить до класу «відносно нешкідливих» речовин та не чинить місцевоподразнювальної дії.

**СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Експериментальне дослідження репаративних властивостей екстрактів з листя та шишок хмелю звичайного / В.А. Уланова, О.М. Гладченко, С.І. Берестова, Е.А. Єфременко // Запорізький медичний журнал. – 2007. – №4 (43). – С. 164-166. *Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*.

2. Уланова В.А. Вивчення противиразкової дії екстракту шишок хмелю звичайного / В.А. Уланова, О.М. Гладченко // Клінічна фармація. – 2007.– № 4.– С. 48-50. *Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*.

3. Експериментальне вивчення протизапальних властивостей екстрактів з листя та шишок хмелю звичайного / В.А. Уланова, О.М. Гладченко, С.І. Берестова, Е.А. Єфременко // Вісник фармації. – 2008. – № 1(53).– С. 72-75. *Особистий внесок здобувача: проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті*.

4. Уланова В.А. Вплив супозиторіїв шишок хмелю звичайного на перебіг експериментального вульвовагініту у щурів самиць / В.А.Уланова, О.М. Гладченко // Запорізький медичний журнал. – 2008. – №4 (49).– С. 49-54. *Особистий внесок: проведення експерименту, аналіз отриманих даних, написання статті.*

5. Пат. 27270 Україна, МПК А61К 36/18, 36/185, 131/00. Спосіб одержання комплексу біологічно активних речовин з протизапальною та репаративною активністю / С.В. Ковальов, В.М. Ковальов, С.І. Берестова, Л.М. Малоштан, О.М. Гладченко, В.А. Уланова; заявник та власник Національний фармацевтичний університет. – № u 2007 06253; заявл. 06.06.2007; опубл. 25.10.2007. Бюл. № 17 – 4 с. *Особистий внесок: участь у патентному пошуку, проведення експериментальних досліджень,*  *підготовка опису до патенту.*

6. Уланова В.А. Репаративна дія екстрактів з листя та шишок хмелю звичайного / В.А. Уланова, О.М. Гладченко // Створення, виробництво, стандартизація, фармакоекономічні дослідження лікарських засобів та біологічно активних добавок : II міжнар. наук.-практ. конф., 12-13 жовт. 2006 р. : матеріали. – Х.: НФаУ, 2006. – С.196.

7. Уланова В.А. Анальгетична активність екстрактів з листя та шишок хмелю звичайного / В.А. Уланова, О.М. Гладченко // Здобутки клінічної та експериментальної медицини : наук.-практ. конф., 8 червня 2007 р. : матеріали. – Тернопіль, 2007. – С. 150-151.

8. Уланова В.А. Експериментальне вивчення противиразкових властивостей екстрактів хмелю звичайного / В.А. Уланова, О.М. Гладченко // Перспективные инновации в науке, образовании, производстве и транспорте 2007 : міжнар. наук.-практ. конф., 1-15 червня 2007 р. : матеріали. – О., 2007. – С.70-71.

 9. Уланова В.А. Дослідження протизапальної активності екстрактів з шишок хмелю звичайного на моделі карагенінового набряку у щурів / В.А. Уланова, О.М. Гладченко // Клінічна фармація у Україні : VII всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 26-28 березня 2007 р. : матеріали. – Х., 2007 – С.175.

10. Уланова В.А. Вивчення протизапальної активності екстрактів з листя та шишок хмелю звичайного / В.А. Уланова, О.М. Гладченко // Актуальні питання створення нових лікарських засобів: всеукр. наук.-практ. конф. студ. та молодих вчених, 17-18 травня 2007 р. : матеріали. – Х.: НФаУ, 2007. – С.206.

11. Уланова В.А. Експериментальне дослідження ранозагоюючих властивостей екстрактів хмелю звичайного / В.А. Уланова, О.М. Гладченко // Научные исследования и их практическое применение. Современное состояние и пути развития : міжнар. наук.-практ. конф., 1-15 жовтня 2007 р. : матеріали. – О.: Черноморье, 2007. – С.51.

12. Уланова В.А. Изучение антиоксидантных свойств экстракта из шишек хмеля обыкновенного / В.А. Уланова, О.М. Гладченко // Актуальні питання створення нових лікарських засобів : всеукр. наук.-практ. конф. студ. та молодих вчених, 16-17 квіт. 2008 р. : матеріали. – Х.: НФаУ, 2008. – С.430.

13. Уланова В.А. Дослідження впливу супозиторіїв з екстракту шишок хмелю звичайного на перебіг експериментального вагініту / В.А. Уланова, О.М. Гладченко // Клінічна фармація в Україні: VIII всеукр. наук.-практ. конф. за участю міжнар. спеціалістів, 6-7 листопада 2008 р. : матеріали. – Х.: НФаУ, 2008. – С.32.

14. Уланова В.А. Спосіб моделювання експериментального вагініту : інформ. лист / В.А. Уланова, Л.М. Малоштан, О.М. Гладченко. – К.: Центр «Укрмедпатентінформ» МОЗ України, 2007. – № 168-2007 – 3 с. *Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, підготовка до друку.*

**АНОТАЦІЯ**

**Уланова В.А. Експериментальне обгрунтування доцільності ствoрення нового лікарського засобу на основі екстракту з шишок хмелю звичайного для корекції вагінітів**. - Рукопис.

Дисертація на здобуття вченого ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. - Національний фармацевтичний університет, Харків, 2009.

Дисертація присвячена вивченню фармакологічних властивостей водного екстракту з шишок хмелю звичайного та супозиторіїв на його основі. Встановлено, що в дозі 5 мг/кг досліджуваний екстракт виявляє широкий спектр фармакологічної активності. Доведено, що екстракт з шишок хмелю звичайного (ЕШХ) чинить виразну антиексудативну, антиальтеративну, репаративну, анальгетичну, антиоксидантну, антицитолітичну, мембраностабілізувальну та антимікробну дію.

Специфічну активність екстракту з шишок хмелю звичайного вивчали в умовах експериментальних вагінітів. Встановлено, що застосування супозиторіїв на основі ЕШХ у дозі 5 мг/кг зменшує виразність запальної реакції, призводить до нормалізації гематологічних показників, знижує виразність цитодеструктивних процесів та позитивно впливає на морфологічний стан слизової оболонки піхви.

Вивчення параметрів гострої токсичності ЕШХ дозволило віднести його до класу «відносно нешкідливих» сполук за класифікацією К.К. Сидорова. Встановлено також, що досліджуваний екстракт не чинить місцевоподразнювальної дії.

Ключові слова: екстракт шишок хмелю звичайного, вагініти.

**АННОТАЦИЯ**

**Уланова В.А.** **Экспериментальное обоснование целесообразности создания нового лекарственного средства на основе экстракта из шишек хмеля обыкновенного для лечения вагинитов.** - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет, Харьков, 2009.

Диссертация посвящена изучению фармакологических свойств водного экстракта из шишек хмеля обыкновенного и суппозиториев на его основе. Проведенные исследования свидетельствуют, что водный экстракт из шишек хмеля обыкновенного (ЭШХ) проявляет широкий спектр фармакологической активности.

Установлено, что ЭШХ проявляет выраженные противовоспалительные свойства на моделях острого экссудативного воспаления, вызванного разными флогогенами. При изучении противовоспалительной активности на модели острого каррагенинового отека была установлена условнотерапевтическая доза ЭШХ, которая составляет 5 мг/кг.

 Доказано, что ЭШХ в дозе 5мг/кг проявляет репаративную, антиальтеративную, анальгетическую, антиоксидантную, антицитолитическую, мембраностабилизирующую и антимикробную активность.

Специфическую активность ЭШХ и суппозиториев на его основе изучали в условиях экспериментальных вагинитов, вызванных действием механического и химического повреждающих факторов. Установлено, что суппозитории на основе ЭШХ в дозе 5 мг/кг оказывают выраженный терапевтический эффект, проявляющийся нормализацией гематологических показателей, уменьшением деструктивно-некротических процессов в слизистой оболочке влагалища, что также подтверждается данными гистологических исследований. Установлено, что по выраженности лечебного эффекта в условиях «механического» и формалинового вагинитов суппозитории на основе ЭШХ в дозе 5 мг/кг не уступают препарату сравнения - суппозиториям с облепиховым маслом.

Изучение параметров острой токсичности ЭШХ позволило классифицировать исследуемый экстракт как «практически безвредный». Установлено также, что ЭШХ не оказывает местнораздражающего действия.

Ключевые слова: экстракт шишек хмеля обыкновенного, вагинит.

**SUMMARY**

**Ulanova V.A.** **Experimental substantiation of creation expediency of new medicine containing of hop extract for vaginitis treatment.** – Manuscript.

Thesis for PhD in Pharmacy, speciality 14.03.05 – pharmacology. National University of Pharmacy, Kharkiv, 2009.

Thesis deals with the invetstigation of pharmacological properties of hop extract and hop extract containing suppositories. It was established that the investigated extract has a wide range of pharmacologicаl activity in dose 5 mg/kg. It was proved, that hop extract has antiinflammatory, antialterative, reparative, anti-oxydant, membrane-stabilizing and antibacterial properties.

Specific activity of hop extract and hop extract containing suppositories was studied in experimental vaginitis, caused by mechanical and chemical irritative factor.

It has been determined that suppositories with hop extract in dose 5 mg/kg have therapeutic effect, characterized by normalization of haematologic markers, decrease of destructivanol-necrotic processes in vagina mucous membrane, which is confirmed by the hystomorphological research data.

Studying the acute toxicity parameters of hop extract it was proved that investigated substance belongs to «practically harmless» substances class according to Sidorov K. K. classification. It was established, that investigated extract in dose 5 mg/kg does not have local irritative effect.

Key words: vaginitis; hop extract.

 Для заказа доставки данной работы воспользуйтесь поиском на сайте по ссылке: <http://www.mydisser.com/search.html>