

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ОДЕСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

**ЗАХАРІЯ Андрій Віталійович**

УДК (615.322:582.734.4).07.03:615.252

**ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕРСТАЧУ БІЛОГО ЯК  
ПЕРСПЕКТИВНОГО ЗАСОБУ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ  
ЗАХВОРЮВАНЬ ЩИТОВИДНОЇ ЗАЛОЗИ**  
(експериментальне дослідження)

14.03.08 - фармакологія

**А в т о р е ф е р а т**

дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата біологічних наук

Одеса - 1997



00752367 (U)

Дисертацією є рукопис

Робота виконана у Львівському державному медичному університеті і МОЗ України і в Інституті ендокринології та обміну речовин ім. В.П. Комісаренка АМН України.

Науковий керівник доктор медичних наук, старший науковий співробітник  
КОРПАЧОВ Вадим Валерійович

Науковий консультант доктор фармацевтичних наук, професор  
РОГОВСЬКА Любов Яківна

## Офіційні опоненти:

доктор медичних наук, старший науковий співробітник СОТНІКОВА Олена Петрівна, завідувача лабораторією фармакології тканинних препаратів Інституту очних хвороб і тканинної терапії ім. В.П.Філатова АМН України

доктор біологічних наук, професор НАПХАНЮК Володимир Клеонтіївич, завідуючий кафедрою гістології, цитології та ембріології Одеського державного медичного університету МОЗ України

Провідна організація Запорізький державний медичний університет МОЗ України

Захист відбудеться «17» червня 1997 р. на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 05.04.02 при Одеському державному медичному університеті (270100, м. Одеса, пров. Валіховський, 2)

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеського державного медичного університету (270100, м. Одеса, пров. Валіховський, 2)

Автореферат розісланий «14» травня 1997 р.

Вчений секретар  
спеціалізованої вченої ради

Годлевський Л.С.

Ac. 37.767

1

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. В Україні після катастрофи на Чорнобильській АЕС різко зросла частота захворювань щитовидної залози [О.І.Авраменко, Т.П.Сиваченко, 1993; В.Неводник та інші, 1994; Н.Н.Мищенко и др., 1996], в тому числі на рак цього органа серед дітей та молоді [А.Е.Оксанов и др., 1994; Ю.М.Стернюк, А.І.Кравець, 1996]. Почастішали випадки тиреотоксичного зоба та аутоімунних тиреоїдитів [А.П.Калинин, Т.П.Киселева, 1991; Г.Н.Еременко та інші, 1992]. Збільшення частоти патології щитовидної залози пов'язане також із погіршенням екологічної ситуації [L. Simionescu et al., 1977; Л.Гербільський та інші, 1994; J.Thomas et al., 1995].

Арсенал лікарських препаратів, що використовуються для лікування гіперфункції щитовидної залози, дуже обмежений. Зараз майже не застосовуються метилтіоурацил та калію перхлорат через їх високу токсичність. Основним антитиреоїдним препаратом є мерказоліл (1-метил-2-меркаптоїмідазол), застосування якого часто викликає важкі побічні ефекти [Д.И.Кривицкий, В.В.Гущин, 1986; А.В.Епишин и др., 1989; Э.И.Гаспарян и др. 1991]. Лікування антитиреоїдними препаратами у комплексі з  $\beta$ -адреноблокаторами, імуномодуляторами та іншими засобами не завжди супроводжується видужанням і в багатьох випадках вдаються до струмектомії [А.В.Тофт, 1985; И.И.Дедов и др. 1992; М.Гембицки, 1994].

Виходячи із вищенаведеного, надзвичайно актуальною проблемою є пошук нових, високоефективних і малотоксичних, засобів для лікування гіперфункції щитовидної залози. В сучасній офіциальній медицині не застосовують препаратів рослинного походження з антитиреоїдною дією. Народна медицина для лікування захворювань, що супроводжуються гіперфункцією щитовидної залози, використовує рослину перстач білий (*Potentilla alba* L.), з родини Rosaceae [Г.К.Смик, 1975, 1991]. Рослина неофіциальна. В умовах експерименту антитиреоїдна дія перстачу білого досі не досліджувалась.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана у відповідності з планом науково-дослідних робіт Львівського державного медичного університету і включена в державну програму «Фармація» (№ держреєстрації 01.91.00.19.91.6; шифр теми ІН.10.06.0001.91).

Мета і задачі дослідження. Метою роботи було вивчити антитиреоїдну дію, токсичність, нешкідливість та біологічну активність

ДНБ ім. В. Стефаника  
АН України

препаратів з перстачу білого (п.білого) для введення рослини в офіційнальну медицину.

Для досягнення мети вирішувались такі задачі:

- розробити способи одержання сумарних витяжок та біологічно активних фракцій з п.білого;
- вивчити вплив препаратів з п.білого на функціональну активність щитовидної залози;
- дослідити токсичність, нешкідливість та біологічну активність препаратів з п.білого;
- вивчити вплив фракцій, одержаних з п.білого, на перебіг гострої променевої хвороби у білих щурів;
- провести фітохімічне дослідження п.білого та одержаних з нього витяжок і фракцій;
- вивчити перспективні шляхи одержання сировини п.білого;
- розробити проекти нормативно-технічної документації на новий вид лікарської рослинної сировини - траву і кореневище з коренями п.білого.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше в умовах експерименту доведена антиіреодна дія відвару п.білого та гідрофільної фракції з підземної частини рослини. Встановлена їх мала токсичність та відсутність шкідливих впливів на функції та мікроструктуру різних органів і систем білих щурів при тривалому пероральному введенні відвару п.білого. Вперше виявлена радіопротекторна дія фракцій, виділених з підземної частини п.білого. Вивчено оптимальні умови екстракції та динаміку вивільнення екстрактивних речовин із сировини п.білого. Розроблено способи одержання сумарних витяжок та фракцій біологічно активних речовин із кореневищ з коренями та трави п.білого. Досліджено хімічний склад рослини. Визначені числові показники, що характеризують доброякісність сировини. Вперше проведено вирощування кореневищ п.білого у культурі *in vitro*.

Практичне значення одержаних результатів. П.білий рекомендується як антиіреодний та радіопротекторний засіб. Відвар п.білого дозволений Фармакологічним комітетом МОЗ України для клінічних досліджень як антиіреодний засіб (протокол № 9 від 28.10.93 р.). Перша фаза його клінічних досліджень засвідчила високу антиіреодну ефективність та відсутність побічної дії. Фармакологічним комітетом прийнято рішення провести другу фазу клінічних досліджень відвару п.білого як антиіреодного засобу (протокол № 8 від 31.10.96 р.).

Результати досліджень використані для розробки проекту тимчасової фармакопейної статті на траву і кореневище з коренями п.білого. Запропоновано експрес-метод виявлення катехінів у лікарській рослинній сировині.

Особистий внесок здобувача.

- в експериментах на тваринах і культурі тканин щитовидної залози доведена антитиреоїдна дія відвару та гідрофільної фракції з п.білого;

- встановлено малу токсичність відвару та гідрофільної фракції з п.білого при одноразовому введенні. Досліджено хронічну токсичність та вплив відвару п.білого на функції і мікроструктуру різних органів та систем і доказана нешкідливість цього препарату. Відвар не проявив алергізуючої дії;

- вивчено вплив фракцій, виділених з п.білого на перебіг гострої променевої хвороби у білих щурів, виявлена їх радіопротекторна дія;

- розроблено способи одержання сумарних витяжок та фракцій біологічно активних речовин з п.білого. Досліджено хімічний склад рослини. Вивчено перспективні шляхи одержання сировини п.білого;

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи викладені на: Третій Українській конференції з медичної ботаніки (Київ, 1992), Першій міждержавній конференції «Біомінералогія - 92» (Луцьк, 1992), науково-практичній конференції «Актуальні питання використання лабораторних тварин у медико-біологічних дослідженнях» (Чернівці, 1992), 1-ій Українській конференції «Народна і нетрадиційна медицина і шляхи її розвитку» (Полтава, 1993), науково-практичній конференції «Перспективи створення і виробництва лікарських засобів в Україні» (Одеса, 1993), 1-му Конгресі світової федерації українських фармацевтичних товариств (Львів, 1994), 5-му і 6-му Конгресах світової федерації українських лікарських товариств (Дніпропетровськ, 1994; Одеса, 1996), 1-му Національному конгресі анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України (Івано-Франківськ, 1994), науково-практичному семінарі-симпозіумі «Медико-біологічні проблеми адаптації в сучасних умовах існування організму» (Кузнецовськ, 1995), 3-му Українському з'їзді гематологів і трансфузіологів (Суми, 1995), науковій конференції анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України «Актуальні проблеми функціональної анатомії судинної системи» (Львів, 1995) та на міжкафедральному засіданні кафедр фармакогнозії з курсом ботаніки, фармакології,

ендокринології з курсом клінічної фармакології і ЦНДЛ Львівського державного медичного університету (Львів, 1996).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 4 наукові статті і 17 тез доповідей на наукових конференціях, конгресах та з'їздах.

Структура і обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 202 сторінках машинопису (з них 134 стор. тексту), складається з вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи досліджень», 4-х розділів експериментальних досліджень, обговорення одержаних результатів, висновків, списку літератури і додатків. У дисертації наведено 15 рисунків, 29 таблиць і 9 додатків. Список літератури включає 333 джерела, з них 68 іноземних авторів.

## ЗМІСТ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

### Матеріали і методи досліджень

При розробці способів одержання сумарних витяжок та фракцій біологічно активних речовин з п.білого використано методи фільтраційної екстракції [Г.П.Попова, В.І.Литвиненко, 1995] та ліофільної сушки. Фітохімічні дослідження п.білого проводили за допомогою якісних реакцій, хроматографії на папері, УФ-спектроскопії, мас-спектрометрії, криоскопії, кислотного гідролізу. Мікро- та макроелементний склад вивчали за допомогою атомно-абсорбційної спектрофотометрії та спектрографії. Числові показники сировини п.білого визначали за методами, описаними у Державній фармакопії XI. Вирощування п.білого в культурі *in vitro* проводили за методами М.М. Yeoman et al., 1980; Y.C.Hong et al., 1989; Д.Драйпер, Р.Скот, 1991.

Вплив препаратів, одержаних з п.білого, на функціональну активність щитовидної залози вивчали на білих щурах - самцях лінії Вістар, масою 135 - 180 г. Для з'ясування механізму специфічної дії відвару перстачу білого (ВПБ) на біосинтез тиреоїдних гормонів використано методіку культивування тканин щитовидної залози *in vitro* [С.К. Aterwill et al. 1991; F.Mattioli et al., 1992]. Антитиреоїдну дію препаратів з п.білого оцінювали на підставі зниження рівня тироксину (Т<sub>4</sub>) у плазмі крові піддослідних тварин, зменшення кількості Т<sub>4</sub> і трийодтироніну (Т<sub>3</sub>) у середовищі культивування тканин щитовидної залози. Визначення рівня тиреоїдних гормонів проводили радіоімунологічним методом [А.Г.Резников, 1980] з використанням

стандартного набору реактивів РІО-Т<sub>4</sub>-ПГ та РІО-Т<sub>3</sub>-ПГ (ІБОХ АН Беларусі). Вивчали також зміни відносної маси та мікроструктури щитовидної залози білих щурів після тривалого введення ВПБ.

Гостру токсичність препаратів з п.білого та хронічну токсичність ВПБ досліджували загальноновизнаними методами. При вивченні хронічної токсичності досліджували вплив ВПБ на показники крові [В.В.Меньшиков и др., 1987], гістологічну структуру внутрішніх органів (препарати фарбували гематоксилін-еозином). Функціональний стан ЦНС вивчали методом вироблення умовнорефлекторної реакції на швидкість виходу щурів з водного лабіринту та оцінки рухової активності й емоційності методом «відкритого поля» за Холлом. Для вивчення функції нирок визначали добовий діурез, рН, вміст сечовини, білка, цукру, ацетону в сечі уніфікованими методами. Видільну функцію печінки досліджували вираховуванням кліренсу бромсульфогалейну за методом Rosental, Winter у модифікації Б.В.Олійника (1970), а білоксинтезуючу функцію за рівнем білка в плазмі крові біуретовим методом [В.Г.Колб, В.С.Камышников, 1982]. Алергізуючу дію ВПБ вивчали методом відтворення реакції загальної анафілаксії у морських свинок [Р.В.Петров и др., 1981].

Радіопротекторну дію фракцій, виділених з п.білого, досліджували на нелінійних білих щурах - самцях, масою 170 - 220 г, у яких відтворювали гостру променеву хворобу (ГПХ) шляхом одноразового тотального опромінення рентгенівськими променями на установці РУМ-17 дозою 9,5 Гр. Піддослідні тварини 11 діб до опромінення та протягом життя після опромінення ентерально одержували фракції I і II з п.білого в дозі 80 мг/кг. Важкість перебігу ГПХ оцінювали шляхом реєстрації змін у поведінці та зовнішньому вигляді тварин. Досліджували вміст гемоглобіну і клітинний склад крові, кількість білка та білкових фракцій плазми крові, вміст кровотворних клітин у кістковому мозку стегнової кістки (препарати фарбували методом Папенгейма) і гістологічну структуру внутрішніх органів. Ультраструктуру щитовидної залози та кровотворного кісткового мозку досліджували за допомогою електронного мікроскопа УЕМБ-100К (Україна).

Одержані цифрові величини обробляли методом варіаційної статистики із застосуванням критерію Стьюдента.

Розробка способів виділення біологічно активних речовин,  
фітохімічне вивчення та перспективи одержання  
сировини перстачу білого

Досліджено динаміку вивільнення екстрактивних речовин та вивчено оптимальні умови екстракції сировини п.білого. Підбрано такі концентрації і співвідношення екстрагентів, які вивільняли із сировини максимальну кількість екстрактивних речовин.

Для з'ясування питання, яка саме група біологічно активних речовин п.білого проявляє дію на функцію щитовидної залози, розроблено спосіб одержання з підземної частини рослини ліпофільної і гідрофільної фракцій (відповідно фракції I і II). Доведено, що для виділення гідрофільної фракції не бажано зберігати кореневища з коренями п.білого у подрібненому стані, бо при цьому значно знижується її вихід, в той час як вихід ліпофільної фракції практично не змінювався. Встановлено, що ліпофільна фракція вміщує мономерні катехіни, а до складу гідрофільної фракції входять поліфеноли (полярні полімерні флаволами) з молекулярною масою  $M \approx 1258$  і сумарною формулою  $C_{52}H_{70}O_{35}$ .

Із сировини п.білого одержано також ліофілізовані екстракти у вигляді дрібнопластинчатого порошку. Застосування ліофільної сушки дозволило отримати сухі екстракти, які зручні для використання і можуть зберігатися довгий час. Ліофілізати з п.білого вміщують значну кількість дубильних речовин (до  $39,0 \pm 0,15$  % з підземної частини і до  $16,6 \pm 0,16$  % із трави), тому їх можна також рекомендувати як в'язучий та протизапальний середник.

З п.білого виділено полісахаридний комплекс і вивчено його моносахаридний склад. Вміст суми полісахаридів у підземній частині складає в середньому  $8,05 \pm 0,35$  %, а у траві  $5,30 \pm 0,30$  %. Встановлено, що до складу полісахаридів входять арабіноза, галактоза, глюкоза, ксилоза. Рамнозу виявлено тільки у полісахаридах з підземної частини рослини.

Фітохімічними дослідженнями у підземній частині п.білого виявлено конденсовані дубильні речовини, катехіни, проантоціанідини та галову кислоту. В траві знайдено флавоноли (кверцетин та його глікозид рутин, кемпферол, ізорамнетин) і кумарини (скополетин, умбеліферон). В п.білому знайдено комплекс мікро- і макроелементів (марганець, мідь, цинк, кобальт, хром, нікель, літій, бор, калій, фосфор),

залізо). Рослина містить значну кількість марганцю (до  $40,07 \pm 0,50$  мкг/г), цинку (до  $16,55 \pm 0,57$  мкг/г), заліза (до  $2,68 \pm 0,08$  мг/г). У ліофілізатах водних екстрактів з п.білого якісний склад мікроелементів зберігається, але кількість їх становить тільки 20 - 30 % від вмісту в сировині. У фракції, виділені з підземної частини п.білого, переходять усі мікроелементи за винятком хрому.

Розроблено експрес-метод виявлення катехинів безпосередньо у лікарській рослинній сировині (ЛРС) за допомогою якісної проби з 1 % розчином ваніліну в концентрованій хлоридній кислоті. Ця реакція може бути застосована в аналітичній практиці для швидкого розпізнавання домішок до ЛРС, які не вміщують катехинів.

Визначено основні числові показники сировини п.білого, зібраної з різних місць зростання: вологість, вміст загальної золи та дубильних речовин. Кореневища з коренями п.білого вміщують значну кількість дубильних речовин - від  $15,6 \pm 0,13$  до  $19,93 \pm 0,17$  %, у траві дубильних речовин  $5,09 \pm 0,18$  % -  $5,95 \pm 0,15$  %. Результати досліджень використані для розробки проекту тимчасової фармакопейної статті на траву і кореневище з коренями п.білого та пояснювальної записки до неї. Одержані дані можуть мати практичне значення при розробці заводської технології випуску препаратів з цієї рослини.

Досліджено окремі місця зростання п.білого. Виявлено, що рослина проростає не тільки в світлих лісах, але і при значній затіненості серед густого чагарника. Інтродукційними дослідженнями встановлено, що з культивованих рослин п. білий найкраще розмножувати вегетативним способом, кореневищними черешками, довжиною 3 - 5 см з верхівковою листяною розеткою і висаджувати їх безпосередньо в ґрунт весною або восени, у вересні.

Здійснено вирощування кореневищ п.білого в культурі *in vitro*, одержано калусну біомасу та суспензійну культуру клітин. Підібрано оптимальні культуральні умови та комбінації і концентрації фітогормонів, які максимально ініціювали приріст калусної біомаси. В умовах культури клітин добре ростуть також сегменти надземної частини п.білого.

Вплив препаратів з перстачу білого на  
функціональну активність щитовидної залози

У першій серії дослідів визначали рівень тироксину в плазмі крові щурів після довільного споживання ними питної води з додатком різних кількостей ВПБ (табл. 1).

Таблиця 1 - Вплив трьохтижневого довільного споживання питної води з додатком відвару перстачу білого на рівень тироксину в плазмі крові білих щурів

| Групи тварин  | n | Концентрація Т <sub>4</sub><br>нмоль/л (M ± m) | % від рівня Т <sub>4</sub> у<br>контрольних<br>щурів |
|---|---|--|--|
| Контрольні  | 6 | 129,3 ± 11,42                                  | 100,0  |
| Щурі, що споживали<br>відвар у розведенні<br>1:1000 | 6 | 85,2 ± 8,54<br>p<0,05                          | 65,9   |
| Контрольні  | 6 | 118,5 ± 14,28                                  | 100,0  |
| Щурі, що споживали<br>відвар у розведенні<br>1:250  | 7 | 52,7 ± 7,58<br>p<0,05                          | 44,5   |

Отже, як видно з даних табл. 1, щурі, що споживали воду з додатком ВПБ, мали значно нижчий рівень тироксину в плазмі крові у порівнянні з контрольними тваринами. Більш істотне зниження Т<sub>4</sub> було у піддослідних тварин, які одержували більшу концентрацію ВПБ (1:250).

У другій серії дослідів встановлено, що після 30-добового ентерального введення ліофілізованого ВПБ рівень тироксину в плазмі крові щурів знижувався прямо пропорційно із збільшенням дози: при введенні 20 мг/кг сухої речовини відвару рівень Т<sub>4</sub> складав 76,7 %, при введенні 30 мг/кг - 67,5 %, а при введенні 120 мг/кг - 48,9 % від рівня цього гормону в контрольних тварин.

Вивчено вплив 30-добового ентерального введення малої (80 мг/кг) і великої (160 мг/кг) доз фракцій I і II, отриманих з підземної частини п.білого, на рівень тироксину в плазмі крові білих щурів (табл. 2).

Таблиця 2 - Вплив 30-ти добового ентерального введення фракцій I і II, отриманих з підземної частини перстачу білого, на рівень тироксину в плазмі крові білих щурів

| Групи тварин, що отримували: | Дози, мг/кг | n | Концентрація T <sub>4</sub> , нмоль/л (M ± m) | p      | Відносна концентрація, % |
|------------------------------|-------------|---|---|--------|--------------------------|
| Контрольні                   | -           | 7 | 93,9 ± 2,47                                   | -      | 100,0                    |
| фракцію I                    | 80          | 6 | 83,5 ± 6,39                                   | >0,1   | 89,0                     |
| фракцію I                    | 160         | 6 | 78,6 ± 8,86                                   | <0,1   | 83,7                     |
| фракцію II                   | 80          | 6 | 35,2 ± 5,26                                   | <0,001 | 37,5                     |
| фракцію II                   | 160         | 6 | 72,2 ± 6,64                                   | <0,05  | 76,8                     |

Після застосування малих і великих доз фракції I концентрація T<sub>4</sub> знижувалась статистично недостовірно. Під впливом фракції II наставало зниження рівня T<sub>4</sub> в плазмі крові, причому більш істотне у щурів, що одержували малу дозу (80 мг/кг).

Через тиждень після припинення одномісячного введення зондом обох доз фракції II, рівень T<sub>4</sub> в плазмі крові піддослідних щурів був нижчим, ніж у контрольних, а вміст цього гормону у щурів, що одержували малі і великі дози фракції I не відрізнявся від цього показника у контрольних тварин (табл. 3).

Таблиця 3 - Рівень тироксину в плазмі крові білих щурів через 7 діб після припинення одномісячного ентерального введення фракцій I і II, отриманих з підземної частини перстачу білого

| Групи тварин, що отримували: | Дози, мг/кг | n | Концентрація T <sub>4</sub> , нмоль/л (M ± m) | p     | Відносна концентрація, % |
|------------------------------|-------------|---|---|-------|--------------------------|
| Контрольні                   | -           | 7 | 94,1 ± 3,02                                   | -     | 100,0                    |
| фракцію I                    | 80          | 6 | 95,4 ± 4,05                                   | >0,5  | 101,4                    |
| фракцію I                    | 160         | 6 | 88,3 ± 3,17                                   | >0,1  | 93,8                     |
| фракцію II                   | 80          | 6 | 59,7 ± 9,47                                   | <0,05 | 63,4                     |
| фракцію II                   | 160         | 6 | 64,1 ± 5,57                                   | <0,05 | 68,1                     |

Вивчення впливу різних концентрацій ВПБ на секрецію тиреоїдних гормонів органною культурою щитовидної залози новонароджених поросят показало, що базальна секреція тироксину і трийодтироніну пригнічується (табл. 4).

Таблиця 4 - Вплив різних концентрацій відвару перстачу білого на секрецію тиреоїдних гормонів органною культурою щитовидної залози новонароджених поросят

| Концентрація відвару п.білого в живильному середовищі, % | Секреція тиреоїдних гормонів |      |                             |      |
|--|------------------------------|------|-----------------------------|------|
|  | Тироксин                     |      | Трийодтиронін               |      |
|  | нмоль/л, $M \pm m$ ,<br>n=7  | %    | нмоль/л, $M \pm m$ ,<br>n=7 | %    |
| 0,0  | 37,0 $\pm$ 16,1              | 100  | 3,7 $\pm$ 1,1               | 100  |
| 0,3  | 16,2 $\pm$ 7,8               | 43,8 | 2,3 $\pm$ 0,2*              | 61,7 |
| 1,5  | 9,6 $\pm$ 5,3*               | 25,9 | 2,1 $\pm$ 0,2*              | 57,1 |
| 3,0  | 14,0 $\pm$ 3,3*              | 37,8 | 2,7 $\pm$ 0,2               | 74,0 |

Примітки: \* -  $p < 0,05$  порівняно з контролем.

Найбільше пригнічення синтезу  $T_3$  і  $T_4$  органною культурою щитовидної залози виявлено при концентрації ВПБ в середовищі культивування - 1,5 %. Вивчено вплив 1,5 % і 3,0 % концентрацій ВПБ на стимульовану тиреотропним гормоном (ТТГ) секрецію  $T_3$  і  $T_4$  органною культурою щитовидної залози новонароджених поросят. Встановлено, що під впливом ВПБ ТТГ-стимульована секреція тироксину і трийодтироніну знижувалась незначно. Ці результати вказують на пряму інгібуючу дію ВПБ на біосинтез тиреоїдних гормонів тироцитами.

У щурів, яким протягом двох і трьох місяців вводили малі (84 мг/кг) і великі (252 мг/кг) дози ліофілізованого ВПБ, відносна маса щитовидної залози, порівняно з контрольними тваринами, зменшувалась. Після трьохмісячного введення великих доз ВПБ у гістологічній структурі щитовидної залози виявлялися ознаки послаблення функціональної активності фолікул.

Одержані дані вказують на виражену антитиреоїдну дію відвару та фракції II, одержаних з п.білого.

## Вивчення токсичності, нешкідливості та біологічної активності препаратів з перстачу білого

Дослідження гострої токсичності на білих мишах показали, що відвар та фракція II з п.білого є малотоксичними. При пероральному введенні гідрофільної фракції середня смертельна доза дорівнювала  $4150 \pm 249$  мг/кг.

Хронічну токсичність досліджували при щодобовому введенні малих (84 мг/кг) і великих (252 мг/кг) доз ліофілізованого ВПБ протягом 90 діб. Ознак інтоксикації і загибелі білих шурів не було. Не виявлено змін вмісту гемоглобіну та морфологічних показників крові, не констатовано порушень функцій ЦНС, печінки, нирок, не наставало гістологічних змін у внутрішніх органах, що свідчить про малу токсичність і нешкідливість ВПБ. У дослідах на морських свинках ВПБ не виявляв алергізуючого впливу.

Біологічна активність ВПБ виявлялась у слабкій нейротропній дії та у істотному пригніченні функціональної активності щитовидної залози.

### Вивчення впливу фракцій, одержаних з перстачу білого на перебіг гострої променевої хвороби у білих шурів

Виходячи із даних літератури [А.Ю.Матвеев і др., 1991; В.І.Малюк та інші, 1994] про те, що окремі види перстачу виявляють радіопротекторну дію, нами проведено вивчення впливу фракцій I і II з п.білого на перебіг ГПХ у білих шурів. Під дією обох фракцій, порівняно з контрольною групою тварин, клінічна картина ГПХ перебігала значно легше, не наставало різкого вздуття шлунка і кишківника, тривалість життя продовжувалась. У меншій мірі знижувався вміст загального білка, рівень альбумінів і альфа-2-глобулінів та підвищувався вміст гамма-глобулінів плазми крові. Крім цього, лейкопенія, гранулоцитопенія та тромбоцитопенія у тварин, що одержували фракції I і II були меншими, ніж у контрольних шурів. Курсове введення фракцій ослабило негативний вплив іонізуючого опромінення на мієлопоез і сприяло збереженню окремих вогнищ кровотворення, запобігало виникненню спустошення кісткового мозку, яке констатувалось у тварин контрольної групи.

Гістологічними дослідженнями встановлено, що при ГПХ у білих шурів фракція II послаблювала виникнення крововиливів та розвиток

дистрофічних змін у внутрішніх органах, попереджувала появу виразок слизової оболонки тонких і товстих кишок, спостерігався розвиток круглоклітинної інфільтрації у легенях, проліферація клітин сполучної тканини. В селезінці цієї групи тварин з'являлися вогнища кровотворення, у сім'яних залозах частково зберігався сперматогенез і виявлялися сперматозоїди, чого не було у шурів контрольної групи. За допомогою електронної мікроскопії встановлено, що під впливом фракції II була значно збережена ультраструктура щитовидної залози, в той час як у контрольних тварин фолікули, тироцити та їх субклітинні органели знаходились у стані розпаду. Частково зберігалась ультраструктура кровотворного кісткового мозку.

Одержані факти вказують на виражений радіопротекторний ефект фракції II. Фракція I проявила дещо слабшу радіопротекторну дію.

Таким чином, проведеними дослідженнями встановлена мала токсичність, нешкідливість та істотна антитиреоїдна дія препаратів, одержаних з п.білого. На основі цих даних обґрунтовано доцільність вивчення ВПБ, як антитиреоїдного засобу в клінічних умовах. Фармакологічний комітет МОЗ України дозволив провести клінічні дослідження, перша фаза яких успішно завершена. Клінічні результати підтвердили дані експериментальних досліджень про антитиреоїдну ефективність і малу токсичність ВПБ. Фармакологічним комітетом прийнято рішення провести другу фазу клінічних досліджень ВПБ.

## ВИСНОВКИ

1. Трьохтижнєве довільне споживання питної води з додатком відвару перстачу білого та одномісячне введення зондом ліофілізованого відвару з цієї рослини істотно знижували рівень тироксину в плазмі крові білих шурів у прямій залежності від дози.

2. Одномісячне ентеральне введення гідрофільної фракції, отриманої з підземної частини перстачу білого, у дозах 80 мг/кг і 160 мг/кг знижувало рівень тироксину в плазмі крові білих шурів. Через 7 діб після припинення введення цієї фракції знижений рівень тироксину зберігався, що свідчить про досить тривалу антитиреоїдну дію. Ліпофільна фракція з перстачу білого не виявила суттєвого впливу на рівень тироксину в плазмі крові білих шурів.

3. Відвар перстачу білого пригнічував базальну секрецію тироксину і трийодтироніну органною культурою щитовидної залози

новонароджених поросят і мало впливав на ТТГ-стимульовану секрецію цих гормонів, що свідчить про його пряму інгібуючу дію на біосинтез гормонів тироцитами.

4. Щодобове введення, на протязі 2-х і 3-х місяців, відвару перстачу білого в малих (84 мг/кг) і великих (252 мг/кг) дозах призводило до зменшення відносної маси щитовидної залози білих щурів. Після трьохмісячного введення великих доз відвару у гістологічній структурі щитовидної залози виявлялися ознаки послаблення функціональної активності фолікул.

5. Відвар та гідрофільна фракція, одержані з перстачу білого, при їх одноразовому введенні білим мишам виявили малу токсичність,  $LD_{50}$  гідрофільної фракції при пероральному введенні становила  $4150 \pm 294$  мг/кг.

6. Введення відвару перстачу білого в малих і великих дозах протягом трьох місяців не викликало ознак інтоксикації і загибелі білих щурів, не впливало негативно на функції центральної нервової системи, нирок, печінки, не змінювало вмісту гемоглобіну та клітинного складу крові, не спричиняло гістологічних змін у внутрішніх органах. Відвар перстачу білого не виявив алергізуючої дії. Все це вказує на його малу токсичність і нешкідливість.

7. Під впливом гідрофільної і ліпофільної фракцій з перстачу білого гостра променева хвороба у білих щурів перебігала значно легше у порівнянні з контрольними: менш істотними були лейкопенія, тромбоцитопенія, гранулоцитопенія, у меншій мірі знижувався рівень загального білка та альбумінів, підвищувався вміст гамма-глобулінів плазми крові. Введення фракцій сприяло збереженню окремих вогнищ кровотворення та запобігало виникненню спустошення кровотворного кісткового мозку, яке спостерігалось у контрольних тварин. Менше пошкоджувалась мікроструктура внутрішніх органів, у селезінці з'являлись вогнища кровотворення, частково зберігався сперматогенез у сім'яних залозах. Більш виражену радіопротекторну дію виявила гідрофільна фракція.

8. Електронно-мікроскопічними дослідженнями встановлено, що під впливом гідрофільної фракції з перстачу білого при гострій променевої хворобі у білих щурів у значній мірі зберігалась ультраструктура щитовидної залози, в той час як у контрольних тварин фолікули, тироцити та їх субклітинні органели знаходились у стані розпаду. Частково зберігалась ультраструктура кровотворного кісткового мозку.

9. Розроблено способи одержання сумарних витяжок та фракцій біологічно активних речовин з перстачу білого. Фітохімічними дослідженнями в рослині виявлено конденсовані дубильні речовини, катехіни, проантоціанідини, флавоноли (кверцетин та його глікозид рутин, кемпферол, ізорамнетин), кумарини (скополетин, умбеліферон), фенолкарбонові кислоти (галола кислота), полісахариди (до складу яких входять арабіноза, галактоза, глюкоза, ксилоза, рамноза) та комплекс макро- і мікроелементів. Запропоновано експрес-метод виявлення катехінів у лікарській рослинній сировині. Вивчено окремі місця зростання перстачу білого та проведено інтродукційні дослідження рослини. Здійснено вирощування перстачу білого в культурі *in vitro*, одержано калусну біомасу та суспензійну культуру клітин рослини.

10. На основі проведених досліджень перстач білий рекомендується як анти tireoїдний та радіопротекторний засіб.

## ПУБЛІКАЦІЇ ОСНОВНИХ ПОЛОЖЕНЬ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

1. До питання стандартизації та контролю якості сировини і фітопрепаратів імуномодулюючої та тиреотропної дії / Гриценко О.М., Тодорова В.І., Захарія А.В., Корпачов В.В., Курик М.В. // Фармац. журн.-1993.-№ 6.- С. 50-52.

2. Захарія А.В. Експрес-метод виявлення катехінів у лікарській рослинній сировині // Фармац. журн.-1995.-№ 6.- С. 71-73.

3. Захарія А.В. Радіопротекторна дія перстачу білого (*Potentilla alba L.*) : Повідомлення I. Гематологічно-біохімічне дослідження // Актуальні проблеми медицини, біології, ветеринарії і сільського господарства. -Львів: Віче, 1996.- С. 17-19.

4. Вирощування клітин перстачу білого в культурі *in vitro* / Коваленко П.Г., Захарія А.В., Шуман Н.В., Пономаренко С.П. // Фармац. журн.-1997.- №1.- С. 99-103.

5. Захарія А.В. Лікарські рослини - концентратори мікроелементів і можливість їх застосування при гіпомікроелементозах // Тезиси першої міжгосударственной конференції Биоминералогия -92.-Луцк, 1992.- С. 70.

6. Захарія А.В., Корпачов В.В., Полікарпова Н.І. Використання білих щурів для вивчення анти tireoїдної дії фітотерапевтичних зг обів // Актуальні питання використання лабораторних тварин в медико-

біологічних дослідженнях: Матеріали науково-практ. конф.-Чернівці, 1992.-Т.2.- С. 172.

7. Захарія А.В. Изучение макро- и микроэлементного состава лапчатки белой (*Potentilla alba* L.) // Третя Українська конференція з медичної ботаніки: Тези доп. - Київ, 1992.-Ч.1.- С. 61.

8. Исследование химического состава лапчатки белой / Роговская Л.Я., Литвиненко В.И., Ковалишин В.И., Попова Т.П., Захарія А.В., Гордий П.Д. // Там же.- С. 123.

9. Захарія А.В., Роговська Л.Я., Ковалишин В.І. Фітотерапевтичні засоби в лікуванні захворювань щитовидної залози // Народная и нетрадиционная медицина и пути ее развития: Тез. докл. I Украинской конф.-Полтава, 1993.- Т.1.- С. 65-66.

10. Захарія А.В. Невідомі народні назви деяких лікарських рослин // Актуальні проблеми медичної термінології: Тези доп. I-ої міжнар. наук. конф. - Львів, 1993.- С. 88-89.

11. Влияние отвара лапчатки белой (*Potentilla alba* L.) на функциональное состояние культивируемой тиреоидной ткани / Корпачев В.В., Пастер И.П., Шостак И.Н., Тодорова В.И., Захарія А.В. // Перспективы создания и производства лекарственных средств в Украине: Тез. докл. научно-практ. конф., г. Одесса, 4-8 октября, 1993 г.- Харьков, 1993. - С. 249-250.

12. Культура тканин перстачу білого (*Potentilla alba* L.) - перспектива використання у фітофармакології / Коваленко П., Медведєва Т., Шуман Н., Захарія А. // I Конгрес світової федерації українських фармацевтичних товариств: Тези доп.- Львів, 1994.- С. 312 - 313.

13. Експериментально-морфологічні дослідження радіопротекторної дії рослини перстач білий (*Potentilla alba* L.) при гострій променевої хвороби / Ковалишин В., Захарія А., Грицько І., Макара В., Западнюк Б. // Там же.- С. 386-387.

14. Вплив біологічно активної фракції з рослини перстач білий (*Potentilla alba* L.) на процеси кровотворення при гострій променевої хвороби / Ковалишин В., Роговська Л., Захарія А., Грицько І., Западнюк Б. // Там же.- С. 443-444.

15. Ковалишин В., Захарія А. Ультраструктура кровотворного кісткового мозку при гострій променевої хвороби із застосуванням нового радіопротектора // 5 Конгрес СФУЛТ: Матеріали.- Дніпропетровськ, 1994.- С. 35.

16. Ультраструктура кісткового мозку при гострій променевої хворобі в умовах профілактичного застосування рослини перстачу білого / Ковалишин В.І., Захарія А.В., Грицько І.Я., Чаговець Є.Ф., Кухарук Л.О. // Актуальні питання морфології: Тези доп. І Національного конгресу анатомів, гістологів, ембріологів та топографоанатомів України.- Івано-Франківськ, 1994.- С. 79.

17. Ультраструктура слизової оболонки великої кривизни тіла шлунку білих шурів при гострій променевої хворобі в умовах застосування вітаміну Е (альфа-токоферолу ацетату) / Ковалишин В.І., Панасюк Є.М., Гаталяк Б.В., Захарія А.В., Куцик Л.Б., Мисаковець О.Г., Петришин Ю.С., Чаговець Є.Ф., Антонів О.І. // Медико-біологічні проблеми адаптації в сучасних умовах існування організму: Матеріали науково-практ. семінару-симпозіуму, м.Кузнецовськ, 14-16 березня, 1995 р. - Львів, 1995.- С. 19.

18. Ультраструктура щитовидної залози при гострій променевої хворобі із застосуванням фракції, виділеної з перстачу білого (*Potentilla alba L.*) / Ковалишин В.І., Захарія А.В., Грицько І.Я., Чаговець Є.Ф., Кухарук Л.О., Ковалишин С.В.// Актуальні проблеми функціональної анатомії судинної системи: Матеріали наук. конф. анатомів, гістологів, ембріологів і топографоанатомів України, присвяченої 100-річчю від дня народження проф. А.П.Любомудрова.- Львів, 1995.- С. 61.

19. Захарія А.В. Про доцільність застосування фітотерапевтичних засобів радіопротекторної дії в умовах санаторно-курортного лікування // Нові підходи до організації і проведення лікування, реабілітації та рекреації в умовах курорту: Матеріали міжнар. науково-практ. конф.-Трускавець, 1995.- С. 137-138.

20. Стан мієлопоезу при гострій променевої хворобі та застосування препарату рослинного походження / Захарія А.В., Ковалишин В.І., Роговська Л.Я., Западнюк Б.В.// 3 Український з'їзд гематологів і трансфузіологів: Тези доп., м. Суми, 23-25 травня, 1995 р.-Київ, 1995.- С. 112-113.

21. Захарія А., Ковалишин В. Новий радіопротекторний засіб рослинного походження // 6 Конгрес СФУЛТ: Тези доп.- Одеса, 1996.- С. 166-167.

## АНОТАЦІЯ

Захарія А.В. Дослідження перстачу білого як перспективного засобу для лікування захворювань щитовидної залози (експериментальне дослідження). - Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 14.03.08 - фармакологія. - Одеський державний медичний університет МОЗ України, Одеса, 1997.

В дисертації представлені результати фармакологічного вивчення перстачу білого (ПБ). Відвар і фракція II з ПБ знижували рівень тироксину в плазмі крові білих щурів (БЩ). Відвар перстачу білого (ВПБ) пригнічував базальну секрецію тироксину і трийодтироніну органною культурою щитовидної залози і мало впливав на стимульовану тиреотропіном секрецію цих гормонів, що вказує на пряму антитиреоїдну дію. Під впливом тривалого введення ВПБ зменшувалась відносна маса щитовидної залози БЩ та з'являлись морфологічні ознаки послаблення її функціональної активності. Встановлена мала токсичність і нешкідливість препаратів з ПБ. Фракції з ПБ полегшували прояви гострої променевої хвороби у БЩ. Вивчено хімічний склад рослини. Здійснено вирощування ПБ в культурі тканин. ПБ рекомендується як антитиреоїдний та радіопротекторний засіб.

**Ключові слова:** перстач білий, відвар, фракції, щитовидна залоза, антитиреоїдна та радіопротекторна дія.

## АННОТАЦИЯ

Захария А.В. Исследование лапчатки белой как перспективного средства для лечения заболеваний щитовидной железы (экспериментальное исследование). - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 14.03.08 - фармакология. - Одесский государственный медицинский университет МЗ Украины, Одесса, 1997.

В диссертации представлены результаты фармакологического изучения лапчатки белой (ЛБ). Отвар и фракция II из ЛБ снижали уровень тироксина в плазме крови белых крыс (БК). Отвар лапчатки белой (ОЛБ) угнетал базальную секрецию тироксина и трийодтиронина органичной культурой щитовидной железы и мало влиял на стимулированную тиреотропином секрецию этих гормонов, что указывает на прямое анти тиреоидное действие. Длительное введение ОЛБ приводило к уменьшению относительной массы щитовидной железы БК и появлению морфологических признаков ослабления ее функциональной активности. Установлена малая токсичность и безвредность препаратов из ЛБ. Фракции из ЛБ облегчали проявления острой лучевой болезни у БК. Изучен химический состав растения. Проведено выращивание ЛБ в культуре тканей. ЛБ рекомендуется в качестве анти тиреоидного и радиопротекторного средства.

**Ключевые слова:** лапчатка белая, отвар, фракции, щитовидная железа, анти тиреоидное и радиопротекторное действие.

## SUMMARY

Zakhariya A.V. The study of White cinquefoil as a perspective means for the treatment of thyroid gland diseases (experimental investigation). - Manuscript.

Thesis for academic degree of candidate of biological sciences on the speciality 14.03.08 - pharmacology. - Odesa state medical university of Ministry of Public Health of Ukraine, Odesa, 1997.

Results of pharmacological investigations of White cinquefoil (WC) are presented in the thesis. Decoction and fraction II from WC reduced thyroxine level in blood plasma of white rats (WR). White cinquefoil decoction (WCD) decreased basal secretion of thyroxine and triiodothyronine by organ culture of thyroid gland and had little influence on stimulated by thyrotropin secretion of these hormones indicating direct antithyroid action. Prolonged WCD administration reduced comparative mass of thyroid gland of WR and caused morphological manifestations of weakening its functional activity. Low toxicity and innocuousness of WC drugs were established. WC fractions loosened manifestation of acute radiation disease in WR. Chemical composition of the plant was studied. Growing of WC tissue culture was carried out. WC is recommended to be used as an antithyroid and radioprotective remedy.

**Key words:** White cinquefoil, decoction, fractions, thyroid gland, antithyroid and radioprotective action.

A. Zakhariya



Підп. до друку 08.05.97 Формат 60х90  
Умов. друк. арк. Обл. вид. арк.

Папір друк. Друк офсетний  
Зам. № 211 Тираж 100

---

Віддруковано у виробничо-поліграфічному відділі Льв ЦНТЕІ

135802

AB 37.767