МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСТИТЕТ ІМЕНІ І. І. МЕЧНИКОВА

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

МОЛОДАН ЮЛІЯ ОЛЕГІВНА

УДК 616-002:615.276:591.1(043.5)

ДИСЕРТАЦІЯ

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ОЦІНКА ПРОТИЗАПАЛЬНОЇ ДІЇ ІННОВАЦІЙНОГО АЛКОКСИПОХІДНОГО 1,4-БЕНЗОДІАЗЕПІНУ В КОМБІНАЦІЇ З ФЛАВОНОЇДОМ

091 Біологія
09 Біологія

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії.

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

_____Ю. О. Молодан
(підпис)

Наукові керівники:
Макаренко Ольга Анатоліївна, д.б.н., с.н.с., зав. каф. фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти
ОНУ імені І. І. Мечникова
Ларіонов Віталій Борисович, д.б.н., ст. досл., зав. лабораторії молекулярної фармакології та медицини відділу біомедицини
Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України

Одеса-2026

АНОТАЦІЯ

Молодан Ю.О. Експериментальна оцінка протизапальної дії інноваційного алкоксипохідного 1,4-бензодіазепіну в комбінації з флавоноїдом.

Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 091 Біологія – Одеський національний університет імені І. І. Мечникова, Одеса, 2026.

Дисертаційна робота присвячена експериментальному обґрунтуванню протизапальної, антиульцерогенної та антиоксидантної ефективності комбінованого застосування біофлавоноїду кверцетину та інноваційного алкоксипохідного 1,4-бензодіазепіну пропоксазепаму за умов гострих і хронічних запальних порушень та доповненню уявлень про патогенез перхлорат-індукованої інтоксикації.

Для досягнення мети та вирішення завдань дисертаційної роботи проведено серію експериментальних досліджень на лабораторних тваринах із використанням двох моделей запального процесу, а також виконано комп'ютерне моделювання *in silico*. Робота з експериментальними тваринами проводилися з дотриманням норм Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей (EST №123, 1986), Закону України «Про захист від жорстокого поводження» №1759-VI від 15.12.2009 р., Директиви Європейського Парламенту та Ради 2010/63/ЄС щодо захисту тварин, які використовуються для наукових цілей, а також наказу Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України від 01.03.2012 №249. Лабораторних щурів утримували на стандартному раціоні харчування з вільним доступом до питної води у віварії ОНУ ім. І. І. Мечникова.

Перший етап дослідження включав прогнозування токсичності перхлорату калію та фармакокінетичних характеристик пропоксазепаму і

молекулярної взаємодії кверцетину з білковими мішенями методами комп'ютерного моделювання *in silico*. Із застосуванням платформи ProTox 3.0, програмного забезпечення QikProp (Schrödinger), AutoDock та AutoDock Vina, а також платформ pkCSM, admetSAR і SwissADME проведено прогнозування властивостей перхлорату калію, пропоксазепаму та кверцетину.

За результатами прогнозування перхлорат калію має високу ймовірність імунотоксичності (0,99), гепатотоксичності (0,98), кардіотоксичності (0,97) та нейротоксичності (0,91), а також канцерогенної (0,80), мутагенної (0,75) і цитотоксичності (0,73) дії; помірної нефротоксичності (0,62) та респіраторної токсичності (0,61). У межах аналізу потенційних мішеней ProTox 3.0 виявлено взаємодію з натрій-йодидними симпортером (NIS, 0,94) тиреоїдними рецепторами THRα (0,81), а також показник проникнення через гематоенцефалічний бар'єр (BBB, 0,91), що підтверджує потенціал індукції системних оксидативно-запальних порушень.

Оцінка ADME-параметрів пропоксазепаму за допомогою QikProp показала високу молекулярну масу 405,678 Да, високу пероральну абсорбцію (Human Oral Absorption = 3; Percent = 100%), коефіцієнт розподілу октанол/вода QPlogPo/w = 4,452, водну розчинність QPlogS = −6,082, високу проникність крізь кишковий бар'єр (QPPCaco = 1703,58 нм/с) та через клітини (QPPMDCK = 4273,74 нм/с), показник розподілу мозок/плазма QPlogBB = 0,05, прогноз інгібування QPlogHERG = −5,337, та #metab = 4, що свідчить про сприятливий фармакокінетичний профіль і потенційну біодоступність сполуки.

Молекулярний докінг кверцетину до естрогенового рецептора (1ERR), виконаний у програмах AutoDock та AutoDock Vina, продемонстрував низькі значення енергетичного зв’язування (-8,7 а за Vina; GScore= −9,38) та формування стабільних водневих зв'язків з амінокислотними залишками GLU353, ASP351 і HIE524, що вказує на

агоністичний характер взаємодії. Параметри, отримані за допомогою pkCSM admetSAR та SwissADME, дозволяють прогнозувати кишкову абсорбцію 77,2 %, відсутність AMES-токсичності та відповідність кверцетину критеріям лікоподібності за правилом Ліпінського. Сукупність результатів *in silico* підтверджує молекулярне обґрунтування використання кверцетину та пропоксазепаму для подальших експериментальних досліджень їх протизапальної та антиоксидантної ефективності *in vivo*.

Другий етап дослідження був спрямований на експериментальну оцінку протизапальної активності досліджуваних сполук на моделі гострого карагінан-індукованого запалення у щурів і включав два послідовних підетапи.

На першому підетапі проведено порівняльну оцінку біофлавоноїду кверцетину та референтного нестероїдного протизапального засобу диклофенаку натрію. Субплантарне введення 1% λ-карагінану спричиняло розвиток вираженого ексудативного набряку з максимумом на 4-ту годину. Одночасно у сироватці крові підвищувалася активність еластази на 54,2%, кислої фосфатази − на 80,0%, рівня малонового діальдегіду − на 80,6%, що свідчить про розвиток системної запальної реакції та активацію процесів ліпопероксидації. Профілактичне введення кверцетину зменшувало товщину ураженої кінцівки на 17,9% та супроводжувалося зниженням активності еластази на 21,8 %, кислої фосфатази − на 21,4 % і рівня малонового діальдегіду − на 35,5%. Диклофенак натрію забезпечував більш виражене пригнічення морфометричних проявів запалення та зменшував активність еластази на 27,2 % і кислої фосфатази на 27,6 %, тоді як антиоксидантний ефект за рівнем малонового діальдегіду був менш вираженим і становив 19,8%.

Другий підетап був спрямований на оцінку впливу пропоксазепаму, кверцетину та їх комбінованого застосування на перебіг гострого карагінан-індукованого запалення з визначенням можливого синергічного ефекту. Профілактичне введення кверцетину (80 мг/кг) та пропоксазепаму (2 мг/кг)

зменшувало вираженість ексудативної реакції, причому висота лапи через 2 години після індукції запалення була нижчою від контрольних значень на 18 % і 17 %, відповідно. Комбіноване застосування кверцетину та пропоксазепаму забезпечувало більш значне пригнічення розвитку набряку (на 26,3 %) порівняно з кожною з монокорекцій, що проявлялося більш вираженим зниженням висоти ураженої кінцівки на всіх часових точках спостереження.

За показником ширини набряку протизапальні ефекти були менш вираженими: у групі кверцетину зменшення становило близько 9 % через 24 години, а пропоксазепам демонстрував подібну динаміку без істотних відмінностей від кверцетину у ранні терміни експозиції. Комбіноване введення забезпечувало більш виражене зменшення ширини лапи порівняно з параметрами після окремого введення обох препаратів у більшості часових точок, що свідчить про потенційне взаємопідсилення протизапальної дії досліджуваних сполук. Референтний препарат диклофенак натрію проявляв найвищу протинабрякову активність, забезпечуючи практичне відновлення морфометричних показників до вихідного рівня через 24 години після індукції запалення. За результатами однофакторного дисперсійного аналізу встановлено наявність статистично значущих міжгрупових відмінностей, при цьому комбіноване застосування кверцетину та пропоксазепаму демонструвало більш виражений ефект за показником висоти набряку, що може свідчити про синергічний характер їх взаємодії.

Третій етап дослідження був присвячений комплексній оцінці системних і локальних запальних змін за умов тривалої інтоксикації перхлоратом калію та їх фармакологічної корекції L-тироксином або комплексом квертулін з пропоксазепамом. Встановлено, що інтоксикація супроводжувалася розвитком вираженої системної запальної відповіді, що проявлялося затримкою приросту маси тіла, зниженням кількості еритроцитів на 24,8 %, змінами лейкоцитарної формули периферичної крові – зростанням числа лейкоцитів на 39,3 %, підвищенням частки еозинофілів

на 80,0 %, зменшенням відносного вмісту моноцитів на 47,4 % та зниженням паличкоядерних нейтрофілів на 25,0 %. Вказані зміни супроводжувалися зростанням інтегральних індексів системного запалення у 1,6–2,7 рази. Паралельно відзначали активацію оксидативного стресу та запальних процесів у системному кровотоці. У сироватці крові рівень малонового діальдегіду зростав на 107,8 %, активність каталази – на 50,0 %, еластази – на 40,8 % та лужної фосфатази – на 42,8 %, що свідчить про генералізований характер запально-деструктивних процесів.

У слизових оболонках травного тракту інтоксикація перхлоратом викликала поширені локальні запальні зміни. Перш за все, морфологічна оцінка слизової оболонки шлунка показала формування ерозивно-виразкових ушкоджень у тварин групи перхлорату: середня кількість дефектів становила близько 58±4,1 площею 41,7±3,8 мм² з індексом Паулса 41,7 ум. од.

Після тривалого введення перхлорату калію у травному тракті щурів підвищилася активність еластази у порожнини рота на 38,9 %, у шлунку – на 32,8 %, у тонкій кишці – на 14,2 %, у товстій кишці – на 42,7 %, що відображає активацію нейтрофільного протеолізу. Інший маркер запалення активність кислої фосфатази також збільшився у порожнині рота на 33,0 %, у шлунку – на 50,5 %, у тонкій кишці – на 24,8 %, у товстій кишці – на 53,5 %. Активність уреази у слизових оболонках травного тракту зросла суттєво: у порожнині рота – у 2,1 рази, у шлунку та тонкій кишці – у 1,8 раза, у товстій кишці – у 4,7 разів. Одночасно вміст малонового діальдегіду у слизових оболонках різних відділів травного тракту зростав у середньому на 46,7–76,7 %, що підтверджувало розвиток локального пероксидного ушкодження на тлі збільшення активності каталази на 10,4-25,2 % (компенсація пероксидації) й її зниження у шлунку на 28,6 % (виснаження антиоксидантного захисту).

Квертулін з пропоксазепамом забезпечував стабілізацію динаміки маси тіла тварин, нормалізацію гематологічних показників та лейкоцитарної формули, зменшував індекси системного запалення. Фармакологічна корекція комплексом сприяла послабленню локальних проявів запалення:

зменшила кількість виразкових дефектів у 5,3 рази, площу ушкоджень – у 7,2 рази та індекс Паулса – у 17,4 разів. Використання L-тироксину на тлі інтоксикації перхлоратом калію мало низький гастропротекторний потенціал ($p < 0,05$). Застосування квертуліну у комбінації з пропоксазепамом знижувало рівень малонового діальдегіду у слизових оболонках травного тракту на 25,6–35,6 %, активність еластази – на12,9–22,6 %, активність кислої фосфатази – на 17,7–27,5 %, активність уреази – на 35,7–68,2 %, що свідчить про виражений протизапальний, антиоксидантний та антидисбіотичний ефект. Ефективність L-тироксину за зазначеними маркерами була дещо нижчою, але за спосібністю нормалізувати активність каталази у травному тракті обидва види корекції були ідентичні ($p > 0,05$).

Отримані результати вказують на реалізацію перхлорат-індукованого ушкодження через поєднання системного тиреоїдного порушення й оксидативного стресу, а також локального запального ульцерогенного процесу, дисбіозу у слизових оболонках травного тракту, тоді як комбіноване застосування квертуліну та пропоксазепаму забезпечує комплексний протизапальний, антиоксидантний та антиульцерогенний ефект, що відкриває перспективу подальших досліджень у клінічній практики, які мають бути спрямовані на підтвердження цих ефектів для створення перспективних протизапальних засобів нового покоління.

Ключові слова: щури, травний тракт, запалення, оксидативний стрес, *in silico*-аналіз, карагінан, перхлорат калію, пропоксазепам, кверцетин, протизапальна, антиоксидантна дія.

ABSTRACT

Molodan Yu. O. Experimental evaluation of the anti-inflammatory effect of an innovative alkoxy derivative of 1.4-benzodiazepine in combination with flavonoid

Qualification scientific work in the form of a manuscript.

Manuscript for the degree of Doctor of Philosophy in the specialty 091 Biology - Odesa I.I. Mechnikov National University, Odesa, 2026.

The dissertation is devoted to the experimental substantiation of the anti-inflammatory, anti-ulcerogenic and antioxidant efficacy of the combined use of the bioflavonoid quercetin and the innovative alkoxy derivative 1,4-benzodiazepine propoxazepam in conditions of acute and chronic inflammatory disorders and supplementing the understanding of the pathogenesis of perchlorate-induced intoxication.

In order to achieve the goal and solve the tasks of the dissertation, a series of experimental studies were conducted on laboratory animals using two models of the inflammatory process, as well as computer modelling in silico. Work with experimental animals was carried out in compliance with the European Convention for the Protection of Vertebrate Animals used for Experimental and other Scientific Purposes (EST No. 123, 1986), the Law of Ukraine "On Protection from Cruel Treatment" No. 1759-VI on 15 December 2009, Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes, and Order No. 249 of the Ministry of Education and Science, Youth and Sports of Ukraine dated 1 March 2012. Laboratory rats were kept on a standard diet with free access to drinking water in the vivarium of the I.I. Mechnikov ONU.

The first stage of the study involved predicting the toxicity of potassium perchlorate and the pharmacokinetic characteristics of propoxazepam and quercetin using *in silico* computer modelling methods. Using the ProTox 3.0 platform, QikProp (Schrödinger), AutoDock and AutoDock Vina software, as well

as the pkCSM, admetSAR and SwissADME platforms, the properties of potassium perchlorate, propoxazepam and quercetin were predicted.

According to the prediction results, potassium perchlorate has a high probability of immunotoxicity (0.99), hepatotoxicity (0.98), cardiotoxicity (0.97) and neurotoxicity (0.91), as well as carcinogenic (0.80), mutagenic (0.75) and cytotoxic (0.73) effects; moderate nephrotoxicity (0.62) and respiratory toxicity (0.61). Within the analysis of potential targets, ProTox 3.0 revealed a predicted interaction with sodium-iodide symporter (NIS, 0.94), thyroid receptors THRα (0.81), as well as the blood-brain barrier (BBB) penetration index (0.91), confirming the potential for induction of systemic oxidative-inflammatory disorders.

The assessment of propoxazepam ADME parameters using QikProp showed a high molecular weight of 405.678 Da, high oral absorption (Human Oral Absorption = 3; Percent = 100%), octanol/water partition coefficient QPlogP/w = 4.452, water solubility QPlogS = −6.082, high permeability through the intestinal barrier (QPPCaco = 1703.58 nm/s) and through cells (QPPMDCK = 4273.74 nm/s), brain/plasma distribution ratio QPlogBB = 0.05, inhibition prediction QPlogHERG = −5.337, and #metab = 4, indicating a favourable pharmacokinetic profile and potential bioavailability of the compound.

Molecular docking of quercetin to the estrogen receptor (1ERR), performed in AutoDock and AutoDock Vina, showed low binding energy values (-8.7 for Vina; GScore= −9.38) and the formation of stable hydrogen bonds with amino acid residues GLU353, ASP351 and HIE524, indicating an agonistic nature of the interaction. The parameters obtained using pkCSM admetSAR and SwissADME showed a predicted intestinal absorption of 77.207%, no AMES toxicity, and quercetin's compliance with the Lipinski's rule of thumb criteria. The combination of in silico results confirms the molecular rationale for using quercetin and propoxazepam for further experimental studies of their anti-inflammatory and antioxidant efficacy *in vivo*.

The second stage of the study was aimed at experimentally evaluating the

anti-inflammatory activity of the studied compounds in a model of acute carrageenan-induced inflammation in rats and included two consecutive sub-stages.

In the first sub-stage, a comparative evaluation of the bioflavonoid quercetin and the reference non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac sodium was performed. Subplantar administration of 1% λ-carrageenan caused the development of pronounced exudative oedema, peaking at 4 hours. At the same time, the activity of elastase in the blood serum increased by 54.2%, acid phosphatase by 80.0%, and malondialdehyde by 80.6%, indicating the development of a systemic inflammatory response and activation of lipoperoxidation processes. Prophylactic administration of quercetin reduced the thickness of the affected limb by 17.9% and was accompanied by a decrease in elastase activity by 21.8%, acid phosphatase by 21.4% and malondialdehyde by 35.5%. Diclofenac sodium provided more pronounced suppression of morphometric manifestations of inflammation and reduced elastase activity by 27.2% and acid phosphatase activity by 27.6%, while the antioxidant effect in terms of malondialdehyde level was less pronounced and amounted to 19.8%.

The second sub-stage was aimed at assessing the effect of propoxazepam, quercetin and their combined use on the course of acute carrageenan-induced inflammation with the determination of a possible synergistic effect. Prophylactic administration of quercetin (80 mg/kg) and propoxazepam (2 mg/kg) reduced the severity of the exudative reaction, with paw height 2 hours after inflammation induction being 18% and 17% lower than control values, respectively. The combined use of quercetin and propoxazepam provided a more significant suppression of oedema development (by 26.3%) compared to each of the monotherapy treatments, which was manifested by a more pronounced decrease in the height of the affected limb at all observation time points.

In terms of edema width, the anti-inflammatory effects were less pronounced: in the quercetin group, the reduction was about 9% after 24 hours, and propoxazepam showed similar dynamics without significant differences from

quercetin in the early stages of exposure. Combined administration provided a more pronounced reduction in paw width compared to the parameters after separate administration of both drugs at most time points, indicating a potential synergistic anti-inflammatory effect of the studied compounds. The reference drug diclofenac sodium showed the highest anti-edema activity, ensuring practical restoration of morphometric parameters to baseline levels 24 hours after inflammation induction. According to the results of a one-factor analysis of variance, statistically significant intergroup differences were found, with the combined use of quercetin and propoxazepam demonstrating a more pronounced effect in terms of edema height, which may indicate the synergistic nature of their interaction.

The third stage of the study was devoted to a comprehensive assessment of systemic and local inflammatory changes under conditions of prolonged potassium perchlorate intoxication and their pharmacological correction. It was found that perchlorate intoxication was accompanied by the development of a pronounced systemic inflammatory response, manifested by a delay in body weight gain, a decrease in the number of erythrocytes by 24.8%, changes in the leukocyte formula of peripheral blood – an increase in the number of leukocytes by 39.3%, an increase in the proportion of eosinophils by 80.0%, a decrease in the relative content of monocytes by 47.4% and a decrease in stab neutrophils by 25.0%. These changes were accompanied by a 1.6–2.7-fold increase in the integral indices of systemic inflammation. At the same time, activation of oxidative stress and inflammatory processes in the systemic bloodstream was noted. In blood serum, the level of malondialdehyde increased by 107.8%, catalase activity by 50.0%, elastase by 40.8% and alkaline phosphatase by 42.8%, which indicated the generalised nature of inflammatory-destructive processes.

Perchlorate intoxication caused widespread local inflammatory changes in the mucous membranes of the digestive tract. First of all, morphological assessment of the gastric mucosa showed the formation of erosive and ulcerative lesions in animals of the perchlorate group: the average number of defects was

58±4.1 with an area of 41.7±3.8 mm² and a Pauls index of 41.7 arb. units.

After prolonged administration of potassium perchlorate in the digestive tract of rats, elastase activity increased by 38.9% in the oral cavity, by 32.8% in the stomach, by 14.2% in the small intestine, and in the large intestine by 42.7%, reflecting the activation of neutrophil proteolysis. Another marker of inflammation, acid phosphatase activity, also increased in the oral cavity by 33%, in the stomach by 50.5%, in the small intestine by 24.8%, and in the large intestine by 53.5%. Urease activity in the mucous membranes of the digestive tract increased significantly: in the oral cavity – 2.1 times, in the stomach and small intestine – 1.8 times, in the large intestine – 4.7 times. At the same time, the content of malondialdehyde in the mucous membranes of various parts of the digestive tract increased by an average of 46.7–76.7%, confirming the development of local peroxide damage against the background of an increase in catalase activity by 10.4–25.2% (compensation for peroxidation) and its decrease in the stomach by 28.6% (depletion of antioxidant protection).

Kvertulin with propoxazepam stabilized the dynamics of body weight in animals, normalized hematological parameters and leukocyte formula, and reduced systemic inflammation indices. Pharmacological correction contributed to the alleviation of local manifestations of inflammation: it reduced the number of ulcerative defects by 5.3 times, the area of damage by 7.2 times, and the Pauls index by 17.4 times. The use of L-thyroxine against the background of potassium perchlorate intoxication had low gastroprotective potential ($p < 0.05$). The use of kvertulin in combination with propoxazepam reduced the level of malondialdehyde in the mucous membranes of the digestive tract by 25.6–35.6%, elastase activity by 12.9–22.6%, acid phosphatase activity by 17.7–27.5%, and urease activity by 35.7–68.2%, indicating a pronounced anti-inflammatory, antioxidant, and antidysbiotic effect. The efficacy of L-thyroxine according to these markers was slightly lower, but in terms of the ability to normalise catalase activity in the digestive tract, both types of correction were identical ($p > 0.05$).

The results obtained indicate that perchlorate-induced damage occurs

through a combination of systemic thyroid dysfunction and oxidative stress, as well as local inflammatory ulcerogenic processes and dysbiosis in the mucous membranes of the digestive tract, while the combined use of kvertulin and propoxazepam provides a comprehensive anti-inflammatory, antioxidant and anti-ulcerogenic effect, which opens up prospects for further research in clinical practice aimed at confirming these effects in order to create promising new-generation anti-inflammatory drugs.

Keywords: rats, gastrointestinal tract, inflammation, oxidative stress, in silico analysis, carrageenan, potassium perchlorate, propoxazepam, quercetin, anti-inflammatory, antioxidant effects..

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації

1. Молодан Ю. О., Ларіонов В. Б., Борисюк І. Ю. і Макаренко О. А. Тваринні моделі *in-vivo* для скринінгу потенційних протизапальних та знеболювальних засобів (Огляд літератури). *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. 2023. Т. 28, вип. 2(53). С. 113–127. https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).293327

2. Larionov V. B., Golovenko M. Ya., Akisheva A. S., Valivodz I. P., Borysiuk I. Yu., Molodan Yu. O., Makarenko O. A. Molecular Insights into Propoxazepam Interaction with TRPV1 Receptors: A Docking Analysis. *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2023. Т. 28, № 2 (53). С. 99-112. https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).293324

3. Акішева А. С., Сідлецький О. С., Молодан Ю. О., Макаренко О. А. Прогнозування механізмів взаємодії кверцетину, α-циперметрину та його похідних з α-рецептором естрогену (дослідження in silico). *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2024. Т. 29, вип. 1(54). С. 81 – 105. https://doi.org/10.18524/2077-1746.2024.1(54).309040

4. Молодан Ю. О., Ларіонов В. Б. Порівняльна оцінка активності кверцетину та диклофенаку натрію на моделі карагінанового запалення у щурів. *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2024. Т. 29, вип. 2(55). С. 87–99. https://doi.org/10.18524/2077-1746.2024.2(55).320489

5. Akisheva, A. S., Larionov, V. B., Golovenko, M. Y., Makarenko, O. A., Valivodz, I. P., Borysiuk, I. Y., Molodan, Y. O. In silico exploration of antinociceptive activity of 1,4-benzodiazepines: Molecular docking on α1 A-adrenoceptor, and phospho-diesterase 4. *Regul. Mech. Biosyst*. 2024. 15(2).327–336. ISSN 2520-2588. https://doi.org/10.15421/022447

6. Макаренко О. А., Молодан Ю. О. Антиульцерогенна ефективність квертуліну та пропоксазепаму у слизовій оболонці шлунку щурів в умовах інтоксикації перхлоратом калію. *Актуальні проблеми*

транспортної медицини. 2025. № 2 (80), С. 131-139. https://zenodo.org/records/15648916

7. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б. Дослідження впливу кверцетину, пропоксазепаму та їх спільного застосування на перебіг експериментального карагінанового запалення у щурів. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2025. № 4 (82), С. 150-155. https://zenodo.org/records/18023464

8. Молодан Ю., Макаренко О., Ларіонов В. Експериментальне обгрунтування профілактики запалення у травному тракті щурів в умовах інтоксикації перхлоратом калію. *Вісник Київського національного університету ім. Т. Шевченка*. *Біологія.* 2025. № 4 (103), С. 58-65. https://doi.org/10.17721/1728.2748.2025.103.58-65

Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Акішева А. С., Ларіонов В. Б., Валіводзь І. П., Борисюк І. Ю. Перспективи створення нових вітчизняних протизапальних лікарських засобів на основі похідних 1,4-бенздіазепінів у комбінації з кверцетином. *V науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю – «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації». – 18.05.2023.* – С. 228-229.

2. Ларіонов В. Б., Макаренко О. А., Молодан Ю. О. Дослідження протизапальних ефектів речовин 1,4-бенздіазепінового ряду та їх комбінації з біофлавоноїдом кверцетином. *Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні тенденції розвитку науки, освіти, технології та суспільства».* – 12.09.2023 р. – С. 57-58.

3. Молодан Ю. О., Акішева А. С., Макаренко О. А., Валіводзь І. П., Ларіонов В. Б. Моделі *in-vivo* для дослідження протизапальних властивостей потенційних сполук. *XI Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми фармакології та медицини».* – 22.09.2023. – С. 47-50.

4. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б., Борисюк І. Ю. Модель карагінан-індукованого запалення у щурів як один з методів оцінки протизапальної активності біофлавоноїду кверцетину. *Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку [Електронний ресурс] : тези допов. всеукр. наук.-практич. конф. з міжнарод. участю*, 9–12 квітня 2024, ОНУ ім. І.І. Мечникова, м. Одеса, Україна, С. 110-112.

5. Molodan Yu. O. Conparative evalution of the bioflavanoid quercetin and diclofenac sodium effects on inflammation in rats. *Proceedings of IX International Scientific and Practical Conference*, 6-8 May 2024. – P. 45-49.

6. Molodan Yu. O. Analysis of the influence of the bioflavanoid quercetin and diclofenac sodium on the course of the inflammation process in the carrageenan inflammation model in rats under diffetent conditions of administration. *VI науково-практична конференція студентів та молодих вчених з*

*міжнародною участю «Від експеременталь*ної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації. – 16.05.24. – С. 41-42.

7. Молодан Ю. О., Макаренко О. А. Дослідження протизапальної дії кверцетину. VII науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «*Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція»*, Харків. – матеріали internet-конференції, м. Харків, 14 листопада 2024 р. Х.: НФаУ. – 2024, – С. 243-244.

8. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б. Зміни біохімічних показників сироватки крові щурів при експериментальному гіпотиреозі на тлі прийому L-тироксину і в комбінації квертулін та пропоксазепам. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* [Електронний ресурс] : матеріали VII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Харків, 15 травня 2025 р. Х. : НФаУ, 2025. 328 с.204-206.

9. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В.Б. Антиульцерогенні властивості пропоксазепаму і квертуліну в умовах інтоксикації щурів перхлоратом калію. *XXIV–і читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції* (15-16 травня 2025 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2025. С.198- 199.

10. Молодан Ю.О., Макаренко О.А., Ларіонов В.Б. Захисна дія комбінації пропоксазепаму та квертуліну на стан слизових оболонок травного тракту щурів в умовах інтоксикації перхлоратом калію. *Proceedings of II International Scientific and Practical Conference Vancouver, Canada*. 29-31 October 2025. – P. 292-297.

11. Молодан Ю. О. Нові підходи до фармакологічної корекції запалення: експериментальне обґрунтування ефективності комбінацій кверцетину, пропоксазепаму та диклофенаку натрію. *Міжнародний науково-практичний форум «Медицина сьогодення і майбутнього: тенденції, виклики та перспективи розвитку системи охорони здоров'я*. 05.12.2025. – С.199- 201. https://doi.org/10.36059/978-966-397-559-7-60

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ……. 20
ВСТУП…… 22
РОЗДІЛ 1. ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ЗАПАЛЕННЯ. МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ПОХІДНИХ 1,4 БЕНЗОДІАЗЕПІНОВОГО РЯДУ І КВЕРЦЕТИНУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)…….. 31
1.1 Загальна характеристика запалення як типового патологічного процесу…… 31
1.2 Оксидативний стрес і пероксидне ушкодження при запаленні……... 42
1.3 Сучасна фармакотерапія запалення: протизапальні засоби та їх обмеження…… 46
1.4 Потенційні протизапальні властивості новаторського засобу похідного 1,4-бензодіазепінового ряду – пропоксазепаму…… 49
1.5 Біофлавоноїд кверцетин – перспективний протизапальний препарат…… 51
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ……... 57
2.1 Умови проведення експерименту……. 57
2.2 Досліджувані речовини……. 59
2.3 Методика підрахунку лейкоцитарної формули…….. 61
2.4 Методика комп’ютерного моделювання…… 63
2.5 Морфометричні дослідження……... 64
2.5.1 Морфометрична оцінка набрякової реакції при карагінан-індукованому запаленні …… 64
2.5.2 Морфометрична оцінка ушкоджень слизової оболонки шлунка…….. 64
2.6 Біохімічні методи дослідження…….. 65
2.6.1 Визначення активності еластази……. 65
2.6.2 Визначення активності кислої фосфатази…… 66
2.6.3 Визначення активності уреази……... 66
2.6.4 Визначення вмісту малонового діальдегіду (МДА)…… 66
2.6.5 Визначення активності каталази……... 66
2.7 Статистична обробка даних…….. 67
РОЗДІЛ 3 ПРОГНОЗУВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ ПЕРХЛОРАТІВ, ФАРМАКОКІНЕТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ (ADME) ПРОПОКСАЗЕПАМУ ТА КВЕРЦЕТИНУ (ДОСЛІДЖЕННЯ *IN*

SILICO)…… 68
3.1 Прогнозування токсичності перхлорату калію методами комп'ютерного моделювання…… 67
3.2 Оцінка ADME-характеристик пропоксазепаму за допомогою програмного забезпечення QikProp…….. 72
3.3 Докінг аналіз кверцетину, як метод прогнозування його протизапальної дії…… 75
РОЗДІЛ 4 ПРОТИЗАПАЛЬНА ДІЯ КОМБІНАЦІЇ ПРОПОКСАЗЕПАМУ ТА КВЕРЦЕТИНУ НА МОДЕЛІ ГОСТРОГО КАРАГІНАНОВОГО ЗАПАЛЕННЯ…….. 80
4.1 Дослідження протизапальні властивості кверцетину у порівнянні з диклофенаком натрію…… 80
4.2 Обґрунтування протизапальної дії комбінації пропоксазепаму та кверцетину…… 87
РОЗДІЛ 5 ПРОТИЗАПАЛЬНА, АНТИУЛЬЦЕРОГЕННА ТА АНТИОКСИДАНТНА ЕФЕКТИВНІСТЬ КВЕРТУЛІНУ ТА ПРОПОКСАЗЕПАМУ У СЛИЗОВИХ ОБОЛОНКАХ ТРАВНОГО ТРАКТУ ЩУРІВ ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ ПЕРХЛОРАТОМ КАЛІЮ……. 97
5.1 Динаміка маси тіла щурів за умов перхлорат-індукованої інтоксикації та її фармакологічної корекції……. 97
5.2 Аналіз лейкоцитарної формули периферійної крові щурів та індексів системного запалення…….. 99
5.3 Стан системних біохімічних маркерів оксидативного стресу та запалення у сироватці крові…… 105
5.4 Морфологічна оцінка ерозивно-виразкових уражень слизової оболонки шлунка щурів при перхлорат-індукованій інтоксикації та за умов фармакологічної корекції…… 108
5.5 Біохімічні показники запалення та окислювального стресу в слизових оболонках травного тракту щурів при інтоксикації перхлоратом калію та її фармакологічній корекції…….. 110
РОЗДІЛ 6 АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ……. 123
ВИСНОВКИ……. 146
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ…….. 149
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ…… 169
ДОДАТОК А СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ…….. 170

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АФК – активні форми кисню

КФ – кисла фосфатаза

ЛГ – лютеїнізуючий гормон

МДА – малоновий діальдегід

НПЗЗ – нестероїдні протизапальні засоби

ОС – оксидативний стрес

ПОЛ – пероксидне окиснення ліпідів

p38 – p38-кіназа

СОД – супероксиддисмутаза

ССС – серцево-судинна система

Т3 – трийодтиронин

Т4 – тироксин

ТТГ – тиреотропний гормон

ФСГ – фолікулостимулюючий гормон

ЦОГ – циклооксигеназа

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

4-HNE – 4-гідроксиноненаль

ADME – Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion

AMES-тест – тест Еймса

AP-1 – транскрипційний фактор AP-1

FcεRI – високоафінний рецептор IgE (FcεRI)

ICAM-1 – міжклітинна молекула адгезії 1

IFN-γ – інтерферон-γ

IL-1β, IL-4, IL-6, IL-8, IL-1α – інтерлейкіни (відповідних типів)

iNOS – індуцибельна NO-синтаза

JNK – JNK-сигнальний шлях

LPS – ліпополісахарид

MAPK14 – мітоген-активована протеїнкіназа 14

MMP-2, MMP-9 – металопротеїнази 2 і 9

MyD88 – адаптерний білок MyD88

NIS – натрій-йодидний симпортер

NF-κB – транскрипційний фактор

Nrf2– транскрипційний фактор

$O_2^{\bullet -}$ – супероксидний аніон-радикал

PG – простагландини

PI3K – фосфоінозитид-3-кіназа

PPARγ – ядерний рецептор PPARγ

Th1/Th2 – субпопуляції Т-хелперів 1/2

TLR4 – Toll-like receptor 4

TNF-α – фактор некрозу пухлини α

VCAM-1 – судинна молекула адгезії 1

ВСТУП

Актуальність дослідження.

Запалення належить до фундаментальних типових патологічних процесів і є універсальною реакцією організму на ушкодження, що реалізується через взаємодію судинних, клітинних, гуморальних та метаболічних механізмів. За умов гострої запальної відповіді провідними є ексудативні реакції та медіаторні каскади, тоді як хронічне запалення характеризується персистенцією ушкодження, ремоделюванням тканин і формуванням системних порушень, що зумовлює високу медико-біологічну значущість проблеми та визначає потребу у пошуку ефективних засобів фармакологічної корекції [27, 65].

Однією з ключових патогенетичних ланок запалення є оксидативний стрес, який супроводжується надмірною генерацією активних форм кисню, виснаженням систем антиоксидантного захисту та активацією перекисного окиснення ліпідів. Зазначені процеси не лише підтримують локальне тканинне ушкодження, але й формують «самопідтримуючий» каскад запальної активації, пригнічення якої є патогенетично обґрунтованим шляхом застосування сполук із поєднаними протизапальними та антиоксидантними властивостями [96].

У клінічній практиці застосовується широкий спектр протизапальних засобів, проте їх тривале використання часто супроводжується розвитком побічних ефектів, зокрема гастротоксичності, нефротоксичності та метаболічних порушень [100]. Водночас, застосування окремих препаратів як єдиного коригувального чинника не завжди забезпечує достатню ефективність, що визначає актуальність пошуку нових фармакологічних підходів, зокрема їх комбінованого використання зі сполуками з різними механізмами дії.

Перспективними агентами для комплексної фармакологічної корекції запалення є біофлавоноїди та похідні 1,4-бензодіазепінового ряду. Кверцетин

– природний поліфенольний флавоноїд, який проявляє антиоксидантні, мембраностабілізуючі та протизапальні властивості, знижує інтенсивність перекисного окиснення ліпідів і модулює активність ферментів запального каскаду [35, 39, 51]. Алкоксипохідне 1,4-бензодіазепіну пропоксазепам розглядається як інноваційну сполуку з мультимодальним фармакологічним профілем, що здатна впливати на простагландинові та брадикінінові механізми запальної відповіді [17, 51, 54]. Поряд із цим пропоксазепам реалізує протизапальний ефект через модуляцію нейромедіаторних систем (ГАМК-, гліцинергічної, адренергічної) та активацію калієвих каналів, що свідчить про залучення нейрогенного компонента регуляції запальної відповіді [17, 149]. Поєднання цих агентів потенційно може забезпечувати синергічний ефект завдяки одночасній модуляції мембраностабілізуючих, ферментативних та редокс-залежних процесів.

Для обґрунтування протизапальної ефективності нових засобів застосовують моделі експериментального відтворення різних фаз запальної реакції, що дозволяє оцінити як гострий ексудативний компонент, так і системні прояви хронічного ушкодження. Модель карагінан-індукованого запалення широко застосовують для дослідження ранніх фаз ексудації та змін біохімічних маркерів запалення [35]. Відтворення хронічного запального процесу здійснюють шляхом використання багатьох етіологічних чинників, але особливу увагу привернули перхлорати через їх токсичність та забруднення ними навколишнього середовища.

Перхлорати – солі перхлоратної кислоти $HClO_4$, які містять перхлорат-аніон ClO_4^- й широко використовують у виробництві ракетного палива, феєрверків, боєприпасів як потужні окислювачі. Вони накопичуються в ґрунтових водах, потрапляють у питну воду та їжу через промислові джерела [73, 110, 122]. Це створює проблему забруднення, адже перхлорати токсичні для людей і тварин через ендокринні механізми та потужні окислювальні властивості [127]. Вони здатні приймати електрони від інших молекул з утворенням активних форм кисню (АФК), які пошкоджують білки, ліпіди

мембран та ДНК. Як ендокринні деструктори, перхлорати порушують функцію щитоподібної залози навіть у низьких концентраціях шляхом інгібування натрій-йодидного симпортеру (NIS) на мембрані тиреоцитів, блокування надходження йодиду в клітини щитоподібної залози, гальмування утворення тироксину (Т4) та трийодтироніну (Т3) [127]. Тиреостатичні ефекти перхлоратів раніше використовували для лікування тиреотоксикозу та гіпертиреозу, але нині їх не застосовують через їх потужні окислювальні властивості [92]. За умов тиреоїдної дисфункції під впливом перхлоратів формується комплексний патологічний процес, що включає зміни показників периферійної крові, активацію процесів ліпопероксидації та локальні запально-деструктивні ушкодження органів-мішеней [55]. Проте недостатньо з'ясовано через яку саме ланки патогенезу (прямого окислювального пошкодження або через гіпофункцію щитоподібної залози) перхлорати індукують каскад порушень в організмі.

Аналіз сучасної літератури свідчить про значний обсяг даних щодо протизапальної активності флавоноїдів і окремих похідних бензодіазепінового ряду, однак комплексна оцінка їх комбінованого застосування на різних типах запалення залишається недостатньо з’ясованим. Зокрема, обмежена кількість робіт присвячена дослідженню синергічної дії цих сполук на моделях гострого ексудативного запалення та хронічних токсично-індукованих ушкоджень слизових оболонок травного тракту.

У зв’язку з актуальністю пошуку та впровадження більш ефективних та безпечних протизапальних засобів представлене дослідження спрямоване на експериментальне обґрунтування протизапальної, антиоксидантної та цитопротекторної ефективності комбінованого застосування кверцетину та пропоксазепаму на моделях гострого та хронічного запалення, а також уточнення патогенезу перхлоратної інтоксикації.

Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.

Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних робіт кафедри фізіології, здоров’я і безпеки людини та природничої освіти

Одеського національного університету імені І. І. Мечникова «Дослідження лікувально-профілактичних властивостей раковин молюсків Чорного моря», № ДР 0119U000499, «Дослідження механізмів розвитку патологічних станів у людини та тварин під впливом ксенобіотиків», № держ. реєстрації 0124U004566. Здобувач була співвиконавцем окремих фрагментів НДР.

Мета дослідження – обґрунтування протизапальної ефективності комбінованого застосування кверцетину та пропоксазепаму за умов гострих і хронічних запальних порушень у щурів та з'ясування особливостей патогенезу перхлорат-індукованої інтоксикації.

Для досягнення поставленої мети були сформульовані наступні **завдання:**

1. Провести *in silico* прогнозування широкого спектру токсичності перхлорату калію для виявлення невідомих ефектів та обґрунтування адекватної моделі експериментальної інтоксикації із запальним та ульцерогенним компонентами.
2. Виконати *in silico*-аналіз фармококінетичних властивостей (ADME) пропоксазепаму та кверцетину за допомогою програмного забезпечення QikProp.
3. Виконати докінг-аналіз кверцетину з естрогеновим рецептором для доповнення відомих уявлень про молекулярні механізми їх протизапальної ефективності.
4. Встановити відмінності протизапальної дії диклофенаку натрію та кверцетину на моделі гострого карагінан-індукованого набряку у щурів за морфометричними та біохімічними показниками.
5. Оцінити вплив кверцетину, пропоксазепаму та їх комбінації на перебіг гострої ексудативної реакції у карагінан-індукованому запаленні щурів у порівняні з диклофенаком натрію за морфометричними показниками.
6. Визначити загальнотоксичні, гематологічні та біохімічні показники системного запалення у щурів за умов тривалої інтоксикації перхлоратом калію, а також ефективність застосування композиції квертуліну з

пропоксазепамом у порівнянні з L-тироксином.

7. Дослідити гастропротекторні, протизапальні та антиоксидантні ефекти комбінації квертуліну та пропоксазепаму у слизових оболонках травного тракту щурів при інтоксикації перхлоратом калію.

8. Провести інтегральну оцінку протизапальної, антиоксидантної та гастропротекторної ефективності комбінації квертуліну з пропоксазепамом у порівнянні з L-тироксином для визначення пріоритетних шляхів патогенезу перхлорат-індукованої інтоксикації.

Об'єкт дослідження – патогенез запальних процесів різного генезу, протизапальна терапія.

Предмет дослідження – морфометричні, гематологічні, біохімічні показники сироватки крові, ділянки набряку та слизових оболонок травного тракту щурів за умов гострого і хронічного ушкодження; параметри токсичності перхлоратів та лікоподібності кверцетину й пропоксазепаму за аналізом *in silico* (комп'ютерне моделювання); протизапальні, антиоксидантні та антиульцерогенні властивості пропоксазепаму у комбінації з кверцетином.

Методи дослідження – експериментально-біологічні методи моделювання гострого карагінан-індукованого запалення та хронічної перхлоратної інтоксикації у щурів; морфометричні методи оцінки набрякової реакції та структурно-функціонального стану тканин; гематологічні методи дослідження, біохімічні методи визначення активності еластази, кислої фосфатази, каталази, уреази та рівня малонового діальдегіду; статистичні методи обробки результатів.

Наукова новизна отриманих результатів.

У дисертаційній роботі вперше здійснено комплексну експериментальну оцінку протизапальної ефективності комбінованого застосування інноваційного алкоксипохідного 1,4-бензодіазепіну пропоксазепаму з флавоноїдом кверцетином на моделях гострого карагінан-індукованого запалення та хронічної перхлоратної інтоксикації.

На підставі *in silico*-прогнозування ефектів перхлоратів (платформа ProTox 3.0) виявлено високий потенціал щодо імуно-, гепато-, кардіо- та нейротоксичності, ймовірність канцерогенної, мутагенної, цитотоксичної дії та можливе втручання у функцію гонад шляхом впливу на рецептори естрогенів. Взаємодія перхлоратів з ферментами цитохрому P450 може порушувати метаболізм ксенобіотиків та посилювати токсичну дію. Токсикологічні ефекти перхлоратів обґрунтовують доцільність їх використання як фактора запалення в експериментальній моделі.

In silico-аналіз ADME-параметрів пропоксазепаму QikProp (Schrödinger) спрогнозував його високу пероральну біодоступність, здатність проникати через кишковий епітелій і гематоенцефалічний бар'єр, помірно низьку водну розчинність, високу мембранну проникність, збалансований профіль метаболізму, помірний рівень зв'язування з альбуміном крові.

За параметрами ADME прогнозується помірна абсорбція кверцетину в травному тракті, формування водневих зв'язків з амінокислотами GLU353, HIE524 та ASP351 активного центру рецепторів естрогену, що поряд з його агоністичною дією вказує на потенціал модуляції запальної відповіді через ендокринні механізми. Кверцетин відповідає основним критеріям лікоподібності «drug-like», а AMES-токсичний тест засвідчив відсутність мутагенного ефекту, що обґрунтовує можливість його використання у тривалій терапії запалення.

Вперше показано, що гостре карагінан-індуковане запалення викликає не тільки локальне пошкодження у вигляді набряку, але й системну запальну та прооксидантну реакцію за показниками активності еластази, кислої фосфатази та вмісту малонового діальдегіду.

На моделі гострого карагінан-індукованого запалення у щурів встановлено більш виражене пригнічення ексудативної реакції та стабілізація біохімічних показників під впливом комбінованої фармакологічної корекції у порівнянні із окремим застосуванням пропоксазепаму або кверцетину.

Встановлені нові дані про дисбаланс імунної реактивності, анемію,

ульцерогенез, активацію лізосомальних та протеолітичних ферментів, посилення ліпопероксидації, компенсаторну активацію антиоксидантного захисту та розвиток дисбіозу у реалізації токсикологічного впливу перхлоратів на травний тракт, який виникає переважно внаслідок прямої ушкоджуючої дії речовини, і значно меншою мірою – через пригнічення функції щитоподібної залози. На відміну від антиоксидантного захисту, порушення якого перхлорати викликають рівнозначно обома шляхами.

Отримані результати розширюють уявлення про мультимодальні механізми протизапальної дії алкоксипохідних 1,4-бензодіазепіну та обґрунтовують перспективність їх комбінованого застосування з флавоноїдами у терапії тривалого запалення.

Практичне значення отриманих результатів.

Результати дослідження можуть бути використані в експериментальній та клінічній фармакології для подальшого вивчення механізмів дії похідних 1,4-бензодіазепіну та їх потенційного застосування у корекції запальних процесів і оксидативно-стресових порушень. Отримані дані обґрунтовують доцільність комбінованого використання пропоксазепаму з кверцетином як перспективного підходу до фармакологічної корекції запальних уражень слизових оболонок травного тракту.

Особистий внесок дисертанта.

Автором здійснено пошук, аналіз та узагальнення сучасної наукової літератури за темою дисертаційного дослідження. Мету та завдання дослідження роботи сформульовано спільно з науковими керівниками – д.б.н., с.н.с., О. А. Макаренко та д.б.н., ст. досл. В. Б. Ларіоновим. За участю наукових керівників проведено інтерпретацію результатів і сформульовано висновки.

Дисертантом самостійно виконано експериментальну частину роботи, що включала моделювання гострого карагінан-індукованого запалення та хронічної перхлорат-індукованої інтоксикації у щурів, введення

досліджуваних препаратів (пропоксазепаму, кверцетину та їх комбінації), морфометричні дослідження, збір біологічного матеріалу, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів.

Науковий керівник О. А. Макаренко здійснювала наукове керівництво роботою, брала участь у постановці експериментальних завдань, обговоренні результатів та формулюванні висновків. Інший науковий керівник – В. Б. Ларіонов брав участь у науковому консультуванні щодо механізмів дії досліджуваних сполук, інтерпретації отриманих результатів та підготовці наукових публікацій. Автором підготовлено наукові публікації та текст дисертаційної роботи.

Експериментальні дослідження проведені на базі:

– Одеського національного університету імені І. І. Мечникова (кафедра фізіології, здоров'я і безпеки людини та природничої освіти);

– Фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського НАН України (відділ біомедицини).

Висловлюємо щиру подяку за допомогу у проведенні комп'ютерного моделювання колишній аспірантці біологічного факультету ОНУ імені І. І. Мечникова, доктору філософії за спеціальністю 091 Біологія – Акішевій А. С. Також щиро дякуємо за допомогу у проведені експериментальних досліджень на базі Фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського к.б.н., науковому співробітнику лабораторії молекулярної фармакології та медицини (відділу біомедицини) – І. П. Валіводзь.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були оприлюднені на: V науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 2023); міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні тенденції розвитку науки, освіти, технології та суспільства» (Полтава, 2023); XI міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми фармакології та медицини» (2023); всеукраїнській науково-практичній конференції з

міжнародною участю «Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку» (Одеса, 2024); IX International Scientific and Practical Conference (2024); VI науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 2024); VII науково-практичній internet-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція» (Харків, 2024); VII науково-практичній конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації» (Харків, 2025); XXIV–х читаннях ім. В. В. Підвисоцького (Одеса, 2025); у II International Scientific and Practical Conference (Vancouver, Canada, 2025); міжнародному науково-практичному форумі «Медицина сьогодення і майбутнього: тенденції, виклики та перспективи розвитку системи охорони здоров'я» (2025).

Публікації.

За результатами дисертації опубліковано 19 наукових праць: 7 статей у наукових фахових виданнях України, 1 стаття у журналі, що входить до наукометрічної бази Scopus та Web of Science та 11 тез доповідей у матеріалах конференцій.

Структура та обсяг дисертації.

Дисертація викладена на 174 сторінках комп'ютерного тексту і складається з анотацій, вступу, огляду літератури, матеріалів і методів дослідження, результатів власних досліджень, аналізу та обговорення результатів, висновків, списку використаних джерел. Дисертація ілюстрована 10 рисунками і 22 таблицями. Перелік використаних джерел містить 160 найменувань (67 кирилицею і 93 латиницею).

РОЗДІЛ 1
ТЕОРЕТИЧНІ ОСНОВИ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ КОРЕКЦІЇ ЗАПАЛЕННЯ. МОЖЛИВОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ПОХІДНИХ 1,4 БЕНЗОДІАЗЕПІНОВОГО РЯДУ І КВЕРЦЕТИНУ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Загальна характеристика запалення як типового патологічного процесу

Запалення (*inflammatio*, від лат. *inflammare* – запалювати) – є типовим патологічним процесом, що сформувався в ході еволюції як універсальна реакція організму на ушкодження тканин. Його біологічне призначення полягає у локалізації, знешкодженні та елімінації ушкоджуючого чинника (флогогена), а також у створенні умов для відновлення або заміщення пошкоджених тканин [31, 50]. У межах загальної патології запалення розглядається як багатофазний процес, що характеризується закономірною сукупністю альтераційних, судинно-ексудативних та проліферативних реакцій, які перебувають у тісному взаємозв´язку в перебігу запального процесу [22].

Етіологічними чинниками запалення є флогогени – екзогенні або ендогенні фактори, здатні спричиняти ушкодження тканин. До екзогенних флогогенів належать біологічні агенти (бактерії, віруси, гриби, паразити), фізичні фактори (механічна травма, дія високих або низьких температур, іонізуюче випромінювання) та хімічні речовини (кислоти, луги, токсини, ксенобіотики) [49, 50]. Ендогенні флогогени представлені осередками некрозу, гематомами, відкладеннями солей, імунними комплексами та іншими структурами, що розпізнаються організмом як ушкоджувальні [139, 140]. Залежно від природи флогогена розрізняють інфекційне (септичне) та неінфекційне (асептичне) запалення [53].

Класичні місцеві ознаки запалення, описані ще в античному періоді

Цельсом і Галеном, включають почервоніння (*rubor*), набряк (*tumor*), локальне підвищення температури (*calor*), біль (*dolor*), порушення функції (*functio laesa*). Поряд із місцевими змінами запальна реакція супроводжується загальними проявами, до яких належать лихоманка, лейкоцитоз, прискорення швидкості осідання еритроцитів, метаболічні зрушення, зміни імунологічної реактивності та явища ендогенної інтоксикації [4, 5, 49].

Структурною основою запалення є три взаємопов'язані компоненти: альтерація (пошкодження клітин і тканин), ексудація з порушеннями мікроциркуляції та проліферація (ділення й відновлення цілісності тканин). Провідною ланкою, що визначає ініціацію запального процесу є альтерація – ушкодження клітин і тканин у зоні дії флогогенного чинника [50].

Розрізняють первинну та вторинну альтерацію, які послідовно формують морфологічну та метаболічну основу запалення. Первинна альтерація виникає безпосередньо під впливом етіологічного фактора та характеризується порушенням цілісності мембран, дисфункцією іонних насосів, ушкодженням лізосом і мітохондрій, зрушеннями кислотно-основного стану та активацією внутрішньоклітинних гідролаз [5, 57]. Унаслідок цих змін у вогнищі ушкодження накопичуються продукти неповного окиснення, формується локальний метаболічний ацидоз, зростають осмотичний та онкотичний тиск, що створює умови для подальших судинних і клітинних реакцій та підтримання запального каскаду [50].

Вторинна альтерація розвивається на тлі вже розгорнутого запального процесу і зумовлюється дією медіаторних, ферментативних та оксидативних механізмів, які активуються у відповідь на первинне ушкодження. До провідних факторів вторинної альтерації належать:

- вивільнення лізосомальних ферментів (кислих гідролаз, протеаз, ліпаз) із ушкоджених клітин;
- активація пероксидного окиснення ліпідів у мембранах під впливом активних форм кисню;

- дія біогенних амінів, кінінів, цитокінів, компонентів комплементу та інших медіаторів запалення;
- порушення мікроциркуляції, гіпоксія та метаболічний ацидоз у зоні запалення [31, 77].

На цьому етапі ушкодження тканин підтримується не стільки первинним флогогеном, скільки власними ферментативними й медіаторними механізмами, що зумовлює явище «самоушкодження» та визначає ризик прогресування і хронізації запального процесу [139].

Отже, первинна альтерація відображає безпосередню реакцію тканини на дію флогогенного агента і визначає запуск запалення, тоді як вторинна альтерація формується в межах уже активованого запального осередку і підтримується за рахунок самих механізмів запалення – медіаторів, ферментів, порушень мікроциркуляції, гіпоксії та оксидативного стресу (рис. 1.1). Саме взаємодія первинної і вторинної альтерації зумовлює прогресування або, навпаки, згасання запальної реакції [25].

Вплив флогогенного агента на тканини передусім реалізується на рівні клітинних мембран, у тому числі на мембранах лізосом. Порушення їхньої цілісності має принципове патологічне значення, оскільки супроводжується вивільненням лізосомальних ферментів – кислих гідролаз, здатних гідролізувати основні біополімери клітини (білки, нуклеїнові кислоти, вуглеводи та ліпіди). У подальшому ці ферменти, як під впливом первинного етіологічного чинника, так і автономно, підтримують та поглиблюють процес альтерації (деструкції), сприяючи утворенню продуктів обмеженого протеолізу й ліполізу, а також формуванню низки біологічно активних сполук, що набувають властивостей медіаторів запалення [3, 22].

Рис. 1.1 Схема взаємозв'язку первинної та вторинної альтерації у вогнищі запалення за Колесник Ю.М. [25]

Представлена схема ілюструє послідовність і взаємозв’язок клітинних та медіаторних механізмів, що лежить в основі розвитку альтеративної фази запального процесу. Таким чином, стадію альтерації доцільно розглядати як результат взаємодії первинних ушкоджень, індукованих флогогеном, і компенсаторно-захисних реакцій організму, які за умов дисбалансу набувають патологічного характеру [57, 139].

У перебігу альтерації виділяють дві фази – біохімічну та **м**орфологічну. На ранніх етапах розвиток запалення провідне значення мають біохімічні й фізико-хімічні зрушення у вогнищі ушкодження, що супроводжуються істотними порушеннями клітинного та тканинного метаболізму. Для цієї фази характерними є інтенсифікація катаболізму вуглеводів, ліпідів і білків (значною мірою зумовлена активацією лізосомальних гідролаз), посилення

анаеробного гліколізу, порушення тканинного дихання та роз'єднання процесів біологічного окиснення і фосфорилювання, що поєднується зі зниженням активності анаболічних реакцій [3, 50].

Наслідком зазначених змін є підвищення теплопродукції, розвиток відносного дефіциту макроергічних сполук і накопичення недоокиснених метаболітів – α-кетоглутарової, яблучної та молочної кислот, низькомолекулярних полісахаридів, поліпептидів, вільних амінокислот, кетонових тіл. У вітчизняній патофізіології такий тип метаболічних зрушень описується терміном «пожежа обміну», що відображає інтенсивний, але енергетично неефективний характер обмінних процесів у зоні запалення [27].

Запалений процес ініціюється стадією посиленого катаболізму, однак у подальшому, зі зменшенням інтенсивності альтернативних змін, поступово змінюється спрямованість метаболічних реакцій. Якщо на ранніх етапах домінують процеси розпаду, то на пізніших стадіях активуються синтетичні процеси, що забезпечують репарацію ушкоджених тканин. Анаболічні реакції включаються відносно рано, однак їх переважання спостерігається у фазі репарації, коли формуються умови для відновлення структури тканин. У цей період зростає активність ферментів синтезу ДНК і РНК, а також функціональна активність гістіоцитів і фібробластів [3, 4].

Фізико-хімічні зрушення у вогнищі запалення характеризуються розвитком ацидозу, гіперосмії, гіперонкії, дисонії та змінами поверхневого заряду і мембранних потенціалів клітин. Первинний короткочасний ацидоз, зумовлений ішемією та накопиченням кислих продуктів метаболізму, у фазі артеріальної гіперемії частково компенсується, однак у подальшому формується тривалий метаболічний ацидоз. У міру прогресування запального процесу виснаження буферних систем призводить до розвитку некомпенсованого ацидозу зі зростанням концентрації вільних водневих іонів [31, 50].

Під час альтерації клітин у міжклітинний простір вивільняється значна кількість внутрішньоклітинного калію, що разом зі зростанням концентрації

протонів зумовлює розвиток гіперіонії в осередку запалення та підвищення осмотичного тиску у вогнищі запалення. Одночасно накопичення оліго- і монопептидів унаслідок активації протеолізу сприяє зростанню онкотичного тиску. Сукупність зазначених зрушень, а також інтенсифікація літичних процесів під впливом лізосомальних ферментів і активних форм кисню, призводять до подальшого ушкодження клітинних мембран, що, з одного боку, поглиблює альтерацію, а з іншого – підвищує проникність судинної стінки та тканин під впливом медіаторів запалення [3, 139].

Структурно-функціональні зміни при запаленні можуть варіювати від маловиражених дистрофічних порушень до коагуляційного або коліквaційного некрозу і проявляються на різних рівнях організації – субклітинному, клітинному, тканинному та органному. Біологічний сенс цих змін полягає в активації механізмів, спрямованих на локалізацію, інактивацію та елімінацію ушкоджувального чинника, а також у створенні передумов для наступних етапів запального процесу – судинних реакцій, ексудації, еміграції лейкоцитів, фагоцитозу, проліферації клітин та репарації ушкодженої тканини [49, 57].

Медіатори запалення посідають центральне місце в регуляції всіх фаз запальної реакції та визначають її інтенсивність, тривалість і характер перебігу. Доведено, що динаміка розвитку запалення значною мірою залежить від спектра біологічно активних речовин, які синтезуються або вивільнюються в осередку ушкодження та опосередковують міжклітинні взаємодії. Саме медіатори запалення модифікують судинний тонус і проникність судинної стінки, рівень місцевого кровопостачання, процеси еміграції та адгезії формених елементів крові, фагоцитарну активність лейкоцитів, а також чутливість ноцицепторів, формуючи клітинні й морфологічні прояви запальної відповіді [3, 31, 50].

Медіаторів запалення класифікують за кількома принципами. Залежно від хімічної природи виділяють біогенні аміни (гістамін, серотонін), поліпептиди (брадикінін, каллідін), білкові медіатори (лізосомальні

ферменти, компоненти системи комплементу, катіонні білки гранулоцитарного походження, цитокіни), а також похідні поліненасичених жирних кислот – ейкозаноїди (простагландини, тромбоксани, лейкотрієни) запалення [3, 139].

За походженням медіатори поділяють на клітинні, що утворюються або вивільняються тучними клітинами, нейтрофілами, макрофагами, лімфоцитами та тромбоцитами (гістамін, серотонін, фактори гранулоцитів, монокіни, лімфокіни), і гуморальні (плазмові), до яких належать компоненти системи комплементу (С3а, С5а), фактори кінінової системи та системи згортання крові). Гуморальні медіатори чинить більш генералізований вплив, тоді як клітинні переважно діють локально в осередку запалення [22, 50].

За механізмом вивільнення медіаториподіляють на нецитотоксичного вивільнення, які секретуються шляхом фізіологічного екзоцитозу у відповідь на активацію специфічних рецепторів, та медіатори цитотоксичного вивільнення, що надходять у міжклітинне середовище при ушкодженні або лізисі клітини.

За швидкістю включення в запальний процес виділяють медіатори миттєвої дії (кініни, анафілатоксини) та медіатори сповільненої дії (монокіни, фактори мононуклеарних фагоцитів).

За тривалістю ефекту розрізняють медіатори прямої дії, які вивільняються безпосередньо під впливом флогогенного чинника (гістамін, серотонін, брадикінін) та непрямої дії, що активуються пізніше у відповідь на дії первинних медіаторів (окремі цитокіни, фактори нейтрофілів) [3, 28].

До провідних медіаторів вазорегуляції належать гістамін і серотонін, що вивільняються з тучних клітин, тканинних базофілів і тромбоцитів. Вони спричиняють артеріальну вазодилатацію та підвищення проникності переважно посткапілярних венул, визначаючи ранню стадію судинних реакцій при гострому запаленні. Концентрація гістаміну в осередку запалення швидко зростає і так само швидко знижується протягом першої години від початку реакції [50].

Система кінінів представлена насамперед брадикініном – кінцевим продуктом перетворення кініногенів під дією калікреїну, який утворюється з прекалікреїну внаслідок активації фактора Хагемана. Брадикінін підвищує проникність судинної стінки, індукує вазодилатацію та відіграє провідну роль у формуванні больового синдрому при запаленні [3, 50].

Системи згортання крові та фібринолізу тісно пов'язані з розвитком запальної реакції. Утворення фібрину сприяє обмеженню осередку ушкодження, тоді як продукти його деградації (фібринопептиди) проявляють вазоактивні й хемотаксичні властивості, підвищують проникність судин і залучають нейтрофіли до зони запалення запаленні [50, 66].

Активація система комплементу (класичним чи альтернативним шляхом) супроводжується утворенням анафілатоксинів С3а і С5а, які стимулюють дегрануляцію тучних клітин, підвищують судинну проникність та є потужними хемотоксичними чинниками для нейтрофілів і макрофагів. Фрагмент С3b виконує функцію ключового опсоніну, забезпечуючи фагоцитоз мікроорганізмів [139].

Метаболіти арахідонової кислоти – простагландини (PG), тромбоксани, лейкотрієни – формують другу хвилю медіаторної відповіді. PG, зокрема PGE_2, і простациклін переважно викликають вазодилатацію, посилюють набряк і сенсибілізують ноцицептори, тоді як тромбоксан A_2 сприяє вазоконстрикції та агрегації тромбоцитів. Лейкотрієни відіграють важливу роль у розвитку набряку, хемотаксисі та скороченні гладеньких м'язів [8, 9, 139].

Фактори нейтрофілів представлені широким спектром біологічно активних речовин – протеазами, активними формами кисню (АФК), хемотаксичними факторами та цитокінами. Вони забезпечують мікробоцидну функцію нейтрофілів, що може поглиблювати альтеративні зміни у тканинах [25]. Медіатори плазмового та клітинного походження функціонують як єдина регуляторна система, утворюючи складні каскади взаємодій. Зміна профілю медіаторів у часі визначає послідовність залучення клітин до

запального осередку: від нейтрофільної фази до активації макрофагів і фібробластів, що забезпечує перехід від альтернативно-ексудативних реакцій до проліферації та репарації тканин [3, 25].

Основні властивості та походження провідних медіаторів запалення наведено у табл. 1.1.

Таблиця 1.1

Загальна характеристика медіаторів запалення

	Назва	**Механізм дії**	**Походження**
Клітинні медіатори	Серотонін	спазм посткапілярних венул та підвищення проникності їх стінки.	хромафінні клітини слизової оболонки травного каналу, тромбоцити
	Гістамін	локальне розширення судин, збільшення їхньої проникності, особливо в малих венах, свербіж, біль	гранули тучних клітин, тканинних базофілів, частково тромбоцити
	Катіонні білки	підвищення проникності судинної стінки, цитотоксична дія	нейтрофільні гранулоцити
	Лізосомальні ферменти	додаткове пошкодження, хемотаксис	нейтрофіли, макрофаги, тучні клітини
Гуморальні медіатори	Брадікінін і каллідін	капіляри розширяються і збільшується проникність, з'являється біль	α_2-глобуліни крові
	Фрагменти С3а, С5а	Підвищення судинної проникності (через вивільнення гістаміну), анафілактоїдні реакції хемотаксис	Системи комплементу плазми крові
Похідні арахідонової кислоти (ейкозаноїди)	Простагландини (ПГЕ1)	Вазодилатація, підвищення судинної проникності, посилення болю, опосередкований хемотаксис	арахідонова кислота мембран клітин (ендотеліоцити, лейкоцити)
	Простациклін ($ПГI_2$)	Вазоконстрикцію, посилення агрегації тромбоцитів, впливає на запалення	ендотеліоцити
	Тромбоксан ($ТХА_2$)	Згортання крові, агрегація тромбоцитів	тромбоцити
	Лейкотрієни	Набряк, хемотаксис, скорочення гладких м'язів	лейкоцити, тучні клітини, макрофаги

Ексудація (від лат. *exsudre* – випотівати) є однією з ключових ланок запаленої реакції та охоплює комплекс взаємопов'язаних судинних і клітинних процесів. Вона включає зміни мікроциркуляції в осередку запалення, підвищення проникності судинної стінки з виходом рідкої частини крові та плазмових білків у міжклітинний простір, а також еміграцію формених елементів крові, передусім лейкоцитів, із подальшою активацією фагоцитозу [25, 50, 139].

Судинна реакція при запаленні має типовий, послідовний характер. На початковому етапі спостерігається короткочасний артеріолярний спазм, зумовлений рефлекторною дією катехоламінів та тромбоксану A_2, що супроводжується транзитною ішемією тканин. Надалі розвивається артеріальна гіперемія, обумовлена вазодилатацією під впливом гістаміну, брадикініну та PG (переважно PGE_2), що призводить до посилення місцевого кровопостачання та підвищення температури тканин. Також супроводжується підвищенням проникності посткапілярних венул і уповільнення або повної зупинки кровотоку в мікроциркуляторному русі [3, 25, 139].

Типова особливість судинної фази запалення – поєднання короткочасної вазоконстрикції з наступною тривалою вазодилатацією, що зумовлюється дією гістаміну, простагландинів, лейкотрієнів і тромбоксану A_2. Ці речовини забезпечують формування ексудату [50, 77].

Ексудат виконує низку важливих біологічних функцій:

- забезпечує доставку в осередок запалення плазмових білків, зокрема імуноглобулінів, компонентів системи комплементу та факторів згортання крові, що сприяє локалізації ушкодження;

- створює умови для хемотаксису й еміграції лейкоцитів, активації фагоцитозу та лізису мікроорганізмів;

- сприяє видаленню токсичних метаболітів і продуктів тканинного розпаду;

- на пізніших етапах формує мікросередовище, необхідне для

репаративних реакцій, зокрема активації фібробластів, ангіогенезу та синтезу компонентів міжклітинного матриксу [5, 139].

Запалення має подвійне біологічне значення. З одного боку, воно є універсальною захисно-пристосувальною реакцією, спрямованою на елімінацію ушкоджувального чинника, видалення некротично змінених клітин і ініціацію процесів репарації. З іншого боку, надмірна або дисрегульована запальна відповідь може набувати патологічного характеру, сприяючи вторинному ушкодженню тканин, хронізації процесу, розвитку фіброзу та системних порушень, включно з лихоманкою, інтоксикацією, анемією та кахексією [25, 31, 77, 139].

Захисна функція запалення реалізується насамперед через активацію клітинних і гуморальних механізмів імунної відповіді. Вона включає фагоцитарну елімінацію мікроорганізмів і некротично змінених клітин, обмеження поширення ушкоджувального процесу шляхом локальної коагуляції, фібринової ексудації та формування тканинних бар'єрів. Важливою складовою захисної дії запалення є також стимуляція репаративних процесів, що забезпечуються активацією фібробластів, синтезом колагену, ангіогенезом і ремоделюванням міжклітинного матриксу. Крім того, запальна реакція відіграє регуляторну роль в імунній системі через продукцію цитокінів і медіаторів, які координують взаємодію клітин вродженого та адаптивного імунітету [46, 65, 139].

Водночас за умов надмірної інтенсивності, тривалого перебігу або порушення механізмів регуляції запалення набуває патологічного характеру. Дисрегульована запальна відповідь супроводжується вторинним ушкодженням тканин, зумовленим цитотоксичною дією активованих нейтрофілів і макрофагів, надлишковою продукцією АФК, активацією пероксидного окиснення ліпідів і вивільненням протеолітичних ферментів. Такі механізми сприяють хронізації запального процесу, розвитку фіброзу та структурно-функціональних порушень органів і тканин [25, 66].

Патологічне запалення лежить в основі багатьох хронічних і системних

захворювань, зокрема аутоімунних процесів, ревматоїдного артриту, хвороби Крона, бронхіальної астми, атеросклерозу та метаболічних порушень. У разі генералізації запальної відповіді можливий розвиток системних проявів – лихоманки, ендогенної інтоксикації, анемії хронічного захворювання, кахексії та поліорганної дисфункції [50, 139, 145].

Отже, запалення є фундаментальним типовим патологічним процесом, який має вирішальне значення як для підтримання гомеостазу, так і для формування патологічних станів. Баланс між захисним та ушкоджувальними механізмами запальної реакції визначає її біологічну доцільність, а порушення цього балансу лежить в основі багатьох захворювань, що обґрунтовує актуальність пошуку ефективних підходів фармакологічної регуляції запалення.

1.2 Оксидативний стрес і пероксидне ушкодження при запаленні

Оксидативний стрес (ОС) у сучасній патофізіології розглядають як універсальний механізм клітинного ушкодження та регуляторний компонент запальної відповіді, що реалізується через дисбаланс між утворенням реактивних форм кисню та азоту і можливостями антиоксидантної системи їх нейтралізувати. За фізіологічних умов АФК беруть участь у регуляції клітинної сигналізації та забезпеченні захисних реакцій, однак при запаленні їх надмірна генерація призводить до розвитку вторинної альтерації, порушення структурної цілісності клітин і підтримання патологічного процесу [96, 57].

Встановлено, що саме оксидативний компонент визначає глибину ушкодження тканин при гострому запаленні та значною мірою зумовлює ризик його хронізації [47, 95].

Основними джерелами АФК у вогнищі запалення є активовані нейтрофіли та макрофаги, у яких відбувається так званий «респіраторний вибух». Активація NADPH-оксидазного комплексу (NOX2) призводить до

швидкого утворення утворення супероксидного аніону-радикала ($O_2^{\bullet -}$), який у подальших реакціях трансформується в пероксид водню та інші високоактивні радикальні сполуки. Паралельно функціонує мієлопероксидазна система нейтрофілів, у межах якої пероксид водню використовується для утворення гіпохлориту (HOCl) – потужного ендогенного окисника, здатного ушкоджувати ліпіди, білки та нуклеїнові кислоти. Надмірна активація цих механізмів у запальному осередку сприяє розвитку вторинної альтерації та підтриманню ушкоджувального каскаду при гострому й хронічному запаленні [96].

Вагомий внесок у формування ОС роблять мітохондрії, функціонування яких порушується під впливом прозапальних цитокінів, гіпоксії та токсичних агентів. Дисфункції електронтранспортного ланцюга супроводжується витоком електронів і генерацією супероксиду, що призводить до деполяризації мітохондріальної мембрани, відкриття пори переходу проникності та активації апоптичних механізмів. У цьому контексті мітохондріальний ОС розглядають не лише як наслідок запалення, а й як самостійний чинник його підтримання [95].

Особливе значення у поглибленні ушкоджувальної дії АФК мають реактивні форми азоту. Індукція індуцибельної NO-синтази (iNOS) у клітинах запального осередку призводить до надмірного синтезу оксиду азоту, який при взаємодії із супероксидом утворює пероксинітрит – високореактивний агент, здатний спричиняти окисно-нітрозативні модифікації білків, інгібувати ключові ферменти енергетичного обміну та викликати пошкодження ДНК. Акумуляція пероксинітриту асоціюється з тяжчим перебігом запалення та формуванням незворотних структурних змін тканин [84].

Характеристика основних джерел та властивостей АФК у вогнищі запалення наведена в таблиці 1.2.

Таблиця 1.2

Основні джерела АФК та їх патофізіологічне значення при запаленні

Джерело АФК	Основні радикали	Клінічне / біологічне значення
NADPH-оксидаза (NOX2)	$O_2^{\bullet -}$	Респіраторний вибух, фагоцитоз, неконтрольоване ушкодження тканин
Мієлопероксидаза нейтрофілів	HOCl	Потужний бактерицидний агент, руйнує білки й ліпіди
Мітохондрії	$O_2^{\bullet -}$, H_2O_2	Дисфункція, апоптоз, хронізація запалення
Індуцибельна NO-синтаза (iNOS)	NO, $ONOO^-$	Нітрозативний стрес, судинні ушкодження
Ксантиноксидаза	$O_2^{\bullet -}$	Ураження ендотелію, ішемія-реперфузія
Перекисне окиснення ліпідів	ROO•, LO•	Мембранна деструкція, сигнальні порушення

Одним із центральних наслідків оксидативного стресу є активація пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ), яке розглядають як провідний механізм мембранної деструкції при запаленні. Поліненасичені жирні кислоти фосфоліпідів клітинних мембран є основною мішенню радикальних реакцій, що призводить до утворення ліпідних гідропероксидів і вторинних токсичних продуктів. На відміну від первинних радикалів, продукти ПОЛ характеризуються відносною стабільністю, здатністю дифундувати від місця утворення та пролонгувати ушкодження клітинних структур [97].

Найбільш інформативними маркерами інтенсивності ПОЛ вважають малоновий діальдегід (МДА) та 4-гідроксиноненаль (4-HNE), рівень яких корелює з тяжкістю тканинного ушкодження та ступенем клітинної дисфункції.

Узагальнену характеристику основних продуктів ліпідної пероксидації та їх біологічні ефекти наведені у таблиці 1.3.

Таблиця 1.3

Основні продукти ліпідної пероксидації та їх патофізіологічні ефекти

Метаболіт	Джерело	Біологічні ефекти
МДА	Пероксидація поліненасичених жирних кислот	Мутагенність, ушкодження ДНК, білкові аддукти, порушення ферментів
4-HNE	Порушення мембран	Активація мітоген-активованих протеїнкіназ, апоптоз, цитокіновий каскад
Аліфатичні альдегіди	Розрив мембран	Деградація білків, порушення мембранного транспорту
Ліпопероксиди (ROOH)	Первинні продукти ЛП	Ініціація нових радикальних реакцій

Продукти ПОЛ не лише порушують бар'єрні властивості біомембран, змінюють проникність для іонів і функціювання мембранних ферментів, але й виконують сигнальні функції. Зокрема, 4-HNE та споріднені реактивні альдегіди здатні моделювати активність редокс-чутливих транскрипційних факторів (NF-κB, AP-1 та Nrf2). Активація цих сигнальних шляхів асоціюється з підвищенням експресії прозапальних цитокінів, хемокінів, а також ферментів циклооксигенази-2 (ЦОГ-2) та індуцибельної NO-синтази (iNOS), що сприяє формуванню самопідтримуваного каскаду запальної реакції та її хронізації [10, 65, 66].

Особливе значення мають вторинні продукти ПОЛ – МДА та 4-HNE, які характеризуються високою реакційною здатністю та здатністю формувати ковалентні комплекси з білками та нуклеїновими кислотами. Їх накопичення розглядається як маркер вираженого оксидативного ушкодження та предиктор розвитку апоптозу й некрозу клітин. Крім того, МДА та 4-HNE здатні інгібувати ключові ферменти антиоксидантного захисту, що сприяє подальшому прогресуванню пероксидного каскаду [97].

Показано, що інтенсифікація ПОЛ супроводжується ушкодженням мітохондрій, пригніченням комплексів I та III електронтранспортного

ланцюга, зниженням продукції АТФ та формуванням мітохондріальної дисфункції. Відкриття пори MPTP індукує вивільнення цитохрому c, що активує каспази, що запуска.ть апоптотичний шлях загибелі клітин [141].

Важливим наслідком ПОЛ є ремоделювання позаклітинного матриксу, опосередковане через активацію металопротеїназ (MMP-2, MMP-9). Надмірна активність цих ферментів при хронічному запаленні асоціюється з порушенням міжклітинних контактів, розвитком набряку та лейкоцитарної інфільтрації тканин.

Таким чином, ОС і ПОЛ при запаленні формують багатокомпонентний патогенетичний каскад, у якому поєднані альтерація, дизрегуляція сигнальних шляхів та запуск механізмів клітинної смерті. ПОЛ у цьому контексті виступає не лише наслідком ОС, а й активним механізмом підтримання запальної реакції, що зумовлює його ключове значення для обґрунтування антиоксидантно-орієнтованих фармакологічних стратегій у лікуванні запальних уражень.

1.3 Сучасна фармакотерапія запалення: протизапальні засоби та їх обмеження

Запалення є універсальним патологічним процесом, що лежить в основі розвитку та прогресування широкого спектру гострих та хронічних захворювань різної етіології. Його фармакологічна корекція залишається однією з ключових задач сучасної медицини, оскільки запальна реакція супроводжується складним комплексом клітинних, медіаторних, судинних і метаболічних порушень [25, 91]. З огляду на багатокомпонентність патогенезу запалення, сучасна фармакотерапія спрямована на модифікацію окремих ланок цього процесу, однак жоден із наявних фармакологічних підходів не забезпечує повноцінного контролю запальної відповіді без ризику розвитку побічних ефектів.

До основних груп протизапальних засобів належать нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ), глюкокортикоїди, імунобіологічні препарати

та таргетні інгібітори цитокінів, а також сполуки з антиоксидантною активністю, включаючи природні поліфеноли та флавоноїди [14, 15].

Найбільш широко застосовуваними в клінічній практиці залишаються НПЗЗ. Їх фармакологічна дія пов’язана з інгібуванням циклооксигеназ (ЦОГ-1 та ЦОГ-2) – ключових ферментів біосинтезу PG, тромбоксанів і простацикліну. Зменшення утворення PG супроводжується пригніченням судинної реакції, ексудації та сенсибілізації ноцицепторів, що забезпечує протизапальний, анальгезуючий і жарознижувальний ефекти [8]. Саме ці властивості визначають високу клінічну ефективність НПЗЗ при запальних і больових синдромах різного походження.

Водночас терапевтична дія НПЗЗ тісно пов’язана з розвитком дозозалежних і механізм-асоційованих побічних реакцій. Основу їх токсичності становить пригнічення синтезу PG, які виконують важливі фізіологічні функції, зокрема забезпечують гастропротекцію, регуляцію ниркового кровотоку та підтримання судинного гомеостазу [76, 146]. Внаслідок цього застосування НПЗЗ асоціюється з ураженням шлунково-кишкового тракту (ШКТ), нирок, серцево-судинної системи (ССС) та печінки [12].

За даними клінічних та епідеміологічних досліджень, ознаки гастроінтестинальної токсичності реєструють у 30–40 % пацієнтів, які тривалий час приймають НПЗЗ [107]. Патогенез НПЗЗ-індукованих уражень включає пригнічення синтезу гастропротекторних PG, зменшення секреції слизу та бікарбонатів, порушення мікроциркуляції, підвищення проникності епітеліального бар’єра та активацію ОС з розвитком мітохондріальної дисфункції. Клінічно це проявляється ерозивно-виразковими ураженнями, кровотечами, а також розвитком НПЗЗ-асоційованої ентеропатії та коліту [33, 146].

Суттєвим обмеженням застосування НПЗЗ є їх нефротоксичність. Простагландини відіграють ключову роль у підтриманні адекватного ниркового кровотоку, особливо за умов гіповолемії, серцевої недостатності

або порушень мікроциркуляції. Інгібування їх синтезу спричиняє вазоконстрикцію аферентних артеріол, зниження швидкості клубочкової фільтрації та ризик розвитку гострого ушкодження нирок [88]. Клінічні прояви включають затримку натрію і води, розвиток набряків, гіперкаліємію та підвищення артеріального тиску.

Окрему проблему становлять серцево-судинні ускладнення, особливо при застосуванні селективних інгібіторів ЦОГ-2. Порушення балансу між простацикліном (PGI_2) й тромбоксаном A_2 (TXA_2) сприяє підвищенню тромботичного ризику та ішемічного інсульту [3, 79]. Найвищий ризик спостерігається у пацієнтів із супутніми серцево-судинними захворюваннями та метаболічними порушеннями.

Гепатотоксичність НПЗЗ пов’язують з утворенням реактивних метаболітів та індукцією ОС в гепатоцитах. Найчастіше такі ускладнення описані для диклофенаку та німесуліду, проявляються транзиторним підвищенням активності ферментів і гепатоцелюлярним ушкодженням [108].

Незважаючи на ефективність глюкокортикоїдів та імунобіологічних препаратів, їх застосування обмежується ризиком серйозних системних ускладнень, зокрема імуносупресії, метаболічних порушень і підвищеної схильності до інфекції [116]. Це зумовлює обмежене використання таких засобів у довготривалій терапії та стимулює пошук альтернативних фармакологічних підходів.

Таким чином, сучасна фармакотерапія запалення, незважаючи на значний арсенал ефективних засобів, характеризується істотними обмеженнями, пов’язаними з токсичністю та впливом на фізіологічні регуляторні механізми організму. Це обґрунтовує актуальність розробки нових протизапальних стратегій, спрямованих на багатоланкову корекцію запального процесу з урахуванням ролі оксидативного стресу, пероксидного ушкодження та порушень клітинного метаболізму.

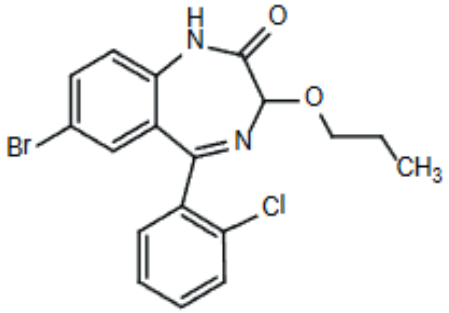
1.4 Потенційні протизапальні властивості новаторського засобу похідного 1,4-бензодіазепінового ряду - пропоксазепаму

Похідні 1,4-бензодіазепінового ряду (1,4-БДЗ) займають важливе місце серед гетероциклічних біологічно активних сполук, що використовуються у фармакотерапії як анксіолітичні, седативні, протисудомні та міорелаксуючі засоби [58, 146]. Класичні бензодіазепіни реалізують свої фармакологічні ефекти переважно шляхом алостеричної модуляції ГАМК-А-рецепторів, що забезпечує посилення інгібіторної нейротрансмісії у центральній нервовій системі та формування седативно-анксіолітичного та протисудомного ефектів [149].

Разом із тим результати фундаментальних і прикладних досліджень останніх десятиліть свідчать про істотне розширення уявлень щодо фармакологічного потенціалу похідних 1,4-БДЗ. Зокрема, встановлено наявність виражених анальгезуючих властивостей окремих представників цього ряду [1, 63], а також їх здатність впливати на перебіг запальних процесів шляхом модуляції активності ключових ланок патогенезу запалення [69, 148, 160]. Це зумовило зростання інтересу до дослідження похідних 1,4-БДЗ як потенційних засобів фармакологічної корекції больового синдрому та запальної реакції.

Важливим етапом розвитку даного напряму стали дослідження серії 3-заміщених похідних 1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону, синтезованих у Фізико-хімічному інституті ім. О.В. Богатського НАН України. На основі скринінгу анальгетичної та протизапальної активності встановлено, що окремі представники цієї серії виявляють високу ефективність на класичних моделях гострого запалення. Зокрема, показано, що введення найбільш активних сполук цієї у дозі 3 мг/кг на моделі карагінан-індукованого набряку лапи щура супроводжується вираженим інгібіторним ефектом, порівняним з диклофенаком натрію у дозі 10 мг/кг, що обґрунтувало доцільность подальшого вибору найбільш перспективних сполук для подальшого поглибленого фармакологічного вивчення [63, 71].

На підставі зазначених результатів досліджень було відібрано низку найбільш перспективних сполук, серед яких особливу увагу привернула сполука 7-бром-3-прокси-5-(2-хлорфеніл)-1,3-дигідробензо[e][1,4-діазепін-2-он, відома як «сполука 007» або пропоксазепам (рис. 1.2) [1, 63]. Для проведення доклінічних досліджень ТВД «Інтерхім» відповідно до вимог Державного експертного центру МОЗ України було розроблено технологічний регламент синтезу сполуки для експериментального вивчення, а також методи її якісного і кількісного контролю [17, 63].



Пропоксазепам

Рис. 1.2 Хімічна структура пропоксазепаму

За результатами доклінічних досліджень пропоксазепам характеризується полімодальним характером дії, поєднуючи анальгетичні, протисудомні та протизапальні властивості, що відрізняє його від класичних представників бензодіазепінового ряду [63].

У дослідженнях M. Ya. Golovenko та співавт. продемонстровано наявність протизапальної активності в експеримнтальних моделях запалення *in vivo*, що підтверджує його вплив на ключові механізми розвитку запальної реакції [71]. Результати молекулярного докінгу, наведені V. B. Larionov та співавт., свідчать про можливість взаємодії пропоксазепаму з мішенями, пов'язаними з простагландиновими та брадикініновими механізмами запалення, а також з рецептором TRPV1, залученим до регуляції нейрогенного компонента запальної відповіді [54, 112]. Дані А. С. Акішевої доповнюють ці висновки, демонструючи на основі результатів *in silico*

аналізу потенційну участь декількох рецепторних і медіаторних зв'язків у фармакологічній дії пропоксазепаму [1]. Водночас фармакологічна активність пропоксазепаму не обмежується його впливом на простагландин- і кінін-опосередковані механізми. Згідно з узагальненими даними літератури, вона також пов'язана з модуляцією нейромедіаторних систем, зокрема ГАМК-ергічної, гліцинергічної та адренергічної, а також впливом на калієві канали, що може опосередковувати участь центральних і периферичних регуляторних механізмів у формуванні запальної реакції [149]. Сукупність цих даних дозволяє розглядати протизапальну дію пропоксазепаму як мультимодальну і реалізовану через комплексну модифікацію медіаторних ланок запалення.

Таким чином, наявні літературні дані дозволяють розглядати пропоксазепам як перспективний представник похідних 1,4-БДЗ з полімодальним фармакологічним профілем і потенційною протизапальною активністю. Подальший пошук шляхів підвищення ефективності його дії та розширення терапевтичних можливостей обґрунтовує доцільність дослідження комбінованих підходів у фармакологічній корекції запальних процесів. У цьому контексті особливий інтерес становлять біофлавоноїди природного походження, зокрема кверцетин, фармакологічні властивості якого розглянуто у наступному підпункті.

1.5 Біофлавоноїд кверцетин – перспективний протизапальний препарат

Кверцетин (3,3′,4′,5,7-пентагідроксифлванон) належить до класу флавонолів і є одним з найбільш поширених природних поліфенолів рослинного походження (рис. 1.3) [11, 61]. Агліконна форма кверцетину характеризується наявністю п’яти гідроксильних груп, що обумовлює високу реакційну здатність, антиоксидантні, хелатуючі та мембраностабілізуючі властивості. Кон'югована система ароматичних кілець забезпечує локалізацію π5-електронів і стабілізацію флавоксильного радикала, що є

ключовим структурним чинником високої радикал-поглинаючої активності цієї сполуки [61, 132, 137].

У природі кверцетин переважно зустрічається у формі глікозидів, зокрема рутину (кверцетин-3-О-рутозид), кверцитрину (кверцетин-3-О-рамнозид) та гіперозиду (кверцетин-3-О-галактозид). Глікозиди мають високу водорозчинність та стабільність сполуки, тоді як агліконна форма проявляє більш виражену біодоступність та антиоксидантну активність, проте характеризується нижчою розчинністю у воді [103, 132]. Найбільший вміст кверцетину виявлено в цибулі, яблуках, броколі, томатах, зеленому чаї, темних ягодах та червоному вині [103].

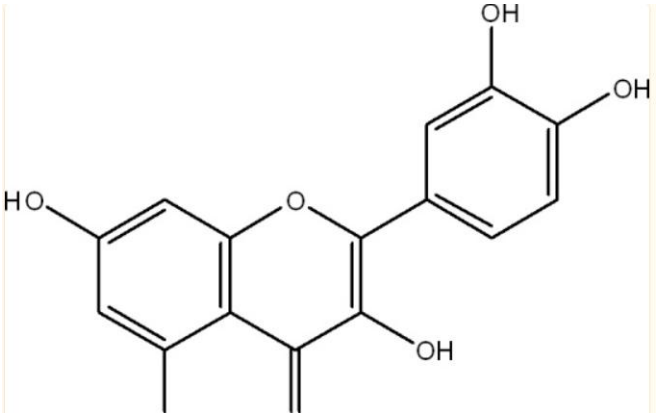


Рис. 1.3 Хімічна будова кверцетину

Антиоксидантна активність кверцетину розглядається як одна з провідних фармакологічних властивостей сполуки. Кверцетин ефективно нейтралізує супероксидний, гідроксильний і пероксильний радикали, інгібує реакції Фентона шляхом хелатоутворення з іонами Fe^{2+} та Cu^{2+} та знижує інтенсивність ліпідної пероксидації, що проявляється зменшенням утворення МДА та 4-HNE – маркерів оксидативного ушкодження мембран [144, 147]. Крім того, кверцетин здатний моделювати активність ендогенних ферментів антиоксидантного захисту, зокрема супероксиддисмутази (СОД), каталази та глутатіонпероксидази, що сприяє відновленню клітинного редокс-гомеостазу [103, 138].

Протизапальні властивості кверцетину реалізуються як через

антиоксидантні механізми, так і через прямий вплив на ключові ферментативні та сигнальні ланки запальної відповіді. Встановлено, що кверцетин інгібує активність ЦОГ-1, ЦОГ-2 та 5-ліпоксигенази, пригнічуючи синтез простагландинів і лейкотрієнів із арахідонової кислоти, що зумовлює зменшення вазодилатації, набряку та больової чутливості [61].

На клітинному рівні кверцетин гальмує продукцію прозапальних цитокінів, зокрема TNF-α, IL-1β, IL-6, IL-8, а також хемокінів, залучених у рекрутування лейкоцитів у вогнище запалення. У моделях LPS-індукованого запалення продемонстровано здатність кверцетину знижувати експресію генів TNF-α та IL-1α у макрофагах і гліальних клітинах, що супроводжується зменшенням вираженості нейрозапальної реакції та апоптозу нейронів [91, 129].

Важливою мішенню для кверцетину є транскрипційний фактор NF-κB, який регулює експресію великої кількості прозапальних генів. Показано, що кверцетин блокує активацію NF-κB та AP-1, перешкоджаючи фосфорилюванню білків сигнальних каскадів ERK та JNK і формуванню комплексу TLR4/MyD88/PI3K у макрофагах. Паралельно описано здатність кверцетину підвищувати активність ядерного рецептора PPARγ, який функціонально антагонізує NF-κB та AP-1, що додатково гальмує транскрипцію прозапальних цитокінів (рис. 1.4) [94].

Кверцетин також чинить стабілізуючий вплив на тучні клітини, зменшуючи FcεRI-опосередковану дегрануляцію та вивільнення гістаміну, триптази та IL-6, що обумовлено пригніченням кальцієзалежних процесів та активності протеїнкінази C. В ендотеліальних клітинах продемонстровано зниження експресії адгезивних молекул (VCAM-1, ICAM-1) за умов оксидативного або цитокін-індукованого стресу, що сприяє зменшенню адгезії та міграції лейкоцитів через судинну стінку [137, 153].

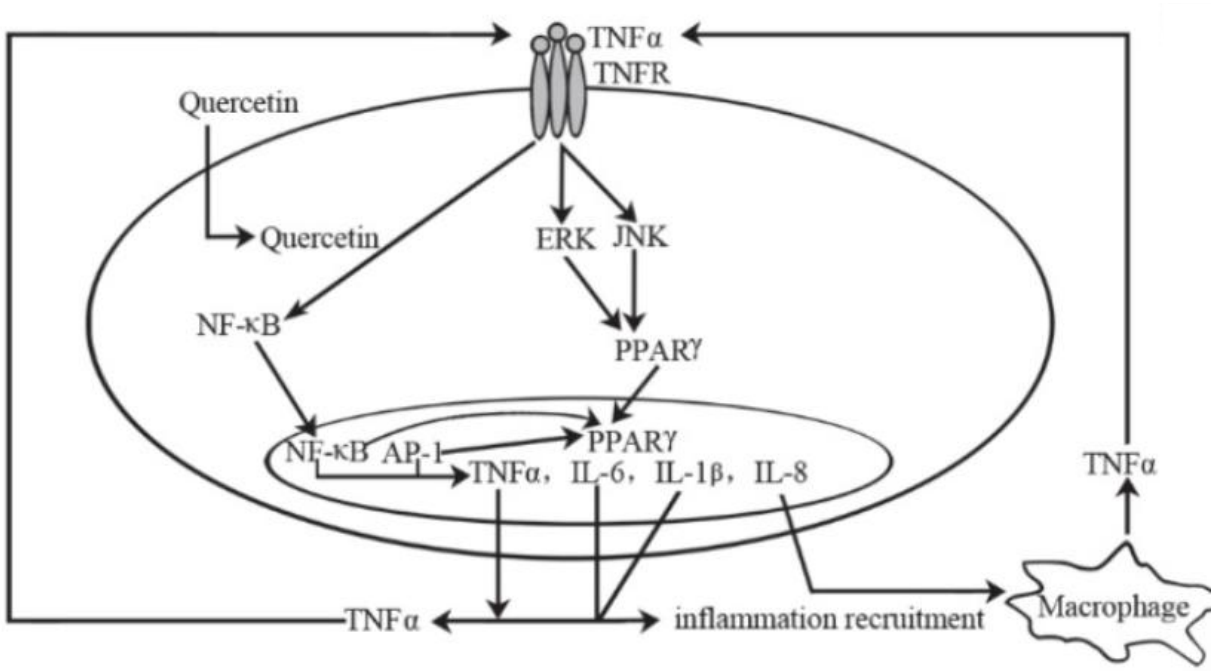


Рис. 1.4 Робоча модель сигнально-модулюючої дії кверцетину у запальній відповіді (цитування за Li, Yao [137])

Кверцетин модулює Т-клітинну ланку імунітету, сприяючи зміщенню балансу Th1/Th2. Показано індукцію продукції IFN-γ та одночасне зниження рівнів IL-4 у мононуклеарах периферичної крові людини, що розглядають як один із механізмів імунокоригувальної дії флавоноїду [78, 81].

Цитопротекторний ефект кверцетину пов'язаний не лише з антиоксидантною та протизапальною активністю, а й із прямим впливом на клітинні механізми виживання. За даними експериментальних досліджень *in vitro* та *in vivo*, кверцетин здатний пригнічувати каспазозалежні шляхи апоптозу, стабілізувати мітохондріальні мембрани та зменшувати вивільнення цитохрому с, що запобігає програмованій загибелі клітин у відповідь на дію оксидативного чи запального стресу [78, 103].

Особливу увагу приділяють гастропротекторному потенціалу кверцетину. Встановлено, що антиульцерогенний ефект сполуки реалізується через зменшення утворення АФК та інтенсивності ПОЛ у слизовій оболонці шлунка, підвищення рівня PGE_2 та стимуляцію секреції слизу, зниження агресивного впливу шлункового соку, а також пригнічення росту

Helicobacter pylori [11, 61].

За даними сучасних оглядових і докінгових досліджень, кверцетин здатний безпосередньо взаємодіяти з низкою білків-мішеней, залучених у реалізацію запальної відповіді, зокрема індуцибельної NO-синтазою (iNOS), мітоген-активованою протеїнкіназою p38 (MAPK14), сиртуїном-1 (SGR-1), ЦОГ-2 та 5-ліпоксигеназою. Така мультитаргентна взаємодія обґрунтовує розгляд кверцетину як перспективного флавоноїду для фармакологічної корекції запальних, нейродегенеративних і токсико-індукованих ушкоджень органів-мішеней, що підтверджується результатами молекулярного докінгу та *in silico*-скринінгу його афінності до ключових сигнальних і ферментативних мішеней [72, 136].

Отже, сукупність експериментальних і теоретичних даних дозволяє розглядати кверцетин як перспективний протизапальний і цитопротекторний агент з мультимодальним механізмом дії. Поєднання його антиоксидантних, мембраностабілізуючих і сигнально-модулюючих властивостей створює наукове підґрунтя для використання кверцетину як компонента комбінованих фармакологічних засобів, спрямованих на корекцію запалення та оксидативного стресу [51].

Виходячи з сучасних протизапальних стратегій, спрямованих на багатоланкову корекцію запального процесу з урахуванням ролі оксидативного стресу та порушень клітинного метаболізму, можна припустити, що полімодальний характер анальгетичної, протисудомної та протизапальної дії пропоксазепаму у поєднанні з антиоксидантними, мембраностабілізуючими, антиульцерогенними і сигнально-модулюючими властивостями кверцетину, може стати ефективною та безпечною композицією для гальмування запального генезу.

Результати досліджень наведених у даному розділі викладені в публікаціях автора:

1. Молодан Ю.О., Макаренко О.А., Акішева А.С., Ларіонов В.Б., Валіводзь І.П., Борисюк І.Ю. Перспективи створення нових вітчизняних

протизапальних лікарських засобів на основі похідних 1,4-бенздіазепінів у комбінації з кверцетином. *V науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю – «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації», 18.05.2023.* С. 228-229.

РОЗДІЛ 2
МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Умови проведення експерименту

Експериментальну роботу проводили *in vivo* на лабораторних щурах *Wistar*. Тварин утримували у стандартних умовах віварію біологічного факультету Одеського національного університету імені І.І. Мечникова. Утримування тварин здійснювали в стандартних умовах віварію з вільним доступом до стандартного лабораторного корму та питної води (*ad libitum*).

Усі експериментальні дослідження виконували відповідно до положень Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 18 березня 1986 р., ETS № 123), Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 1759-VI від 15.12.2009 р.) та «Директиви 2010/63/EU» щодо захисту тварин, які використовуються для наукових цілей [21, 24, 83].

Дослідження проводили в кілька етапів.

Експериментальну частину робіт перших двох етапів виконували на базі Фізико-хімічного інституту імені О.В. Богатського НАН України. Дослідження проводили на статевозрілих щурах-самцях віком 7 місяців (маса тіла 180-220 г).

Метою першого етапу дослідження було проведення порівняльної оцінки протизапальної активності біофлавоноїду кверцетину та референтного НПЗЗ диклофенаку натрію на моделі гострого карагінан-індукованого запалення.

Тварин розподілили на три групи по п’ять тварин в кожній: 1-ша – контрольна (тваринам вводили еквівалентну кількість фізіологічного розчину), 2-га – щури, яким внутрішньочеревинно вводили кверцетин у дозі 80 мг/кг одноразово за 1 годину до моделювання запалення, 3-тя – щури, яким внутрішньочеревинно вводили диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг одноразово за годину до індукції запалення.

Перед індукцією запалення у тварин проводили вимірювання вихідного об’єму лапи. Гостре асептичне запалення моделювали у лабораторних щурів шляхом субплантарного введення у задню лапу 0,1 мл 1% розчину λ-карагінану [63]. Протизапальну ефективність препаратів оцінювали за динамікою розвитку набряку лапи. Морфометричні показники (висоту та ширину кінцівки) вимірювали за допомогою інженерного штангенциркуля через 2, 4, 6 та 24 години після введення флогогену. Додатково визначали показники запалення у сироватці крові та тканині ділянки набряку: активність еластази, кислої фосфатази та вмісту малонового діальдегіду.

На другому етапі дослідження визначали вплив пропоксазепаму, кверцетину та їх спільного застосування на перебіг карагінан-індукованого запалення з метою оцінки синергічного ефекту та порівняння ефективності окремого й комбінованого застосування препаратів. Тварини були розділені на п’ять експериментальних груп: 1-ша – контрольна патологія, тваринам вводили фізіологічний розчин з Твін-80 (n=5), 2-га – кверцетин у дозі 80 мг/кг (n=5), 3-тя – пропоксазепам в дозі 2 мг/кг (n=5), 4-та – кверцетин 80 мг/кг + пропоксазепам 2 мг/кг (n=5) та 5-та – диклофенак натрію в дозі 8 мг/кг (n=5).

Досліджувані речовини вводили внутрішньочеревинно у вигляді суспензій щоденно протягом 7 діб до моделювання запального стану, останнє введення здійснювали за 2 години до індукції запалення. Тварини контрольної групи отримували еквівалентний об’єм фізіологічного розчину з Твін-80 за аналогічною схемою.

Метою третього етапу дослідження була оцінка протизапальної ефективності кверцетин-вмісного препарату квертулін у поєднанні з пропоксазепамом на моделі хронічного токсично індукованого запального процесу шляхом тривалої пероральної інтоксикації перхлоратом калію, що супроводжується розвитком морфофункціональних змін слизових оболонок, активацією протеолітичних ферментів, порушенням мікробіоценозу та інтенсифікацією процесу перекисного окиснення ліпідів [55].

Моделювання хронічної перхлоратної інтоксикації проводили на самках щурів віком 7 місяців із середньою масою тіла 230 г. Тварини були поділені на чотири експериментальні групи: 1-ша – інтактна (n=7), 2-га – інтоксикація перхлоратом калію (n=7), 3-тя – інтоксикація перхлоратом + L-тироксин у дозі 10 мг/кг (n=8), 4-та – інтоксикація перхлоратом калію з корекцією квертуліном у дозі 400 мг/кг та пропоксазепамом у дозі 200 мкг/кг.

Хронічну інтоксикацію моделювали шляхом введення перхлорату у вигляді 1 %-го розчину з питною водою протягом 40 діб. Препарати L-тироксин, квертулін і пропоксазепам вводили щоденно перорально у вигляді суспензії відповідно до схеми експерименту [32, 38]

Для корекції дози препаратів та моніторингу загальної токсичності перхлорату, щурів зважували щотижнево. Відносний приріст маси тіла визначали як абсолютний приріст: початкову масу х 100.

Наприкінці експерименту у щурів з хвостової вени отримували зразки периферичної крові для гематологічного аналізу [46].

Після завершення досліду щурів виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом кровопускання з серця. Зібрану кров центрифугували для отримання сироватки.

Виділяли слизові оболонки порожнини рота, шлунка, тонкої та товстої кишок. Ізольовані слизові оболонки гомогенізували у 0,05 М трис-HCl буферу (pH 7,5) з отриманням гомогенатів із розрахунку 50 мг тканини на 1 мл буферу. Отримані гомогенати використовували для визначення біохімічних показників [32]. У слизових оболонках порожнини рота, шлунка, тонкої та товстої кишок щурів визначали активність кислої фосфатази, еластази, уреази та каталази, а також вміст малонового діальдегіду (МДА). В сироватці крові тварин оцінювали активність еластази та лужної фосфатази.

2.2 Досліджувані речовини

В експерименті використовували пропоксазепам – похідне 1,4-бензодіазепінового ряду, синтезоване у Фізико-хімічному інституті ім. О.В.

Богатського НАН України. Пропоксазепам застосовували у вигляді субстанції для проведення досліджень *in vivo*. Для отримання необхідної концентрації пропоксазепам попередньо змішували з Твін-80 (фірма «FERAK», Німеччина), прогрівали до однорідної консистенції, після чого доводили об'єм фізіологічним розчином.

Дози пропоксазепаму, використані у різних експериментальних моделях (2 мг/кг у моделі гострого карагінанового запалення та 0,2 мг/кг у моделі хронічного запального процесу, індукованого перхлоратом калію), обирали на підставі раніше встановлених експериментальних ефектів похідних 1,4-бензодіазепінового ряду (зокрема пропоксазепаму), описаних в літературі [63, 70, 71, 149]. Корекцію дози проводили індивідуально залежно від маси тіла щурів.

З метою посилення протизапальної дії пропоксазепаму та зниження ризику розвитку побічних ефектів в роботі застосовували біофлавоноїд кверцетин, який було обрано з огляду на його виражені протизапальні та антиоксидантні властивості, а також відмінність біохімічних механізмів дії цих сполук, що створює передумови для потенційного синергічного ефекту [85, 93, 137]. Доцільність комбінованого застосування кверцетину і пропоксазепаму обґрунтована посиленням протизапальної ефективності та зменшення ефективних доз кожного з компонентів з метою зниження ризику розвитку побічних ефектів [101].

У дослідженні застосовували препарат кверцетину: «Квертулін» (НВА «Одеська біотехнологія»), що було зумовлено різними патогенетичними умовами перебігу експериментального запального процесу у використаних моделях. У моделі гострого карагінан-індукованого запалення кверцетин застосовували як чисту речовину у дозі 80 мг/кг для оцінки його протизапальної активності за умов гострої ексудативної запальної реакції. У моделі хронічної інтоксикації перхлоратом калію кверцетин застосовували у складі препарату Квертулін в дозі 400 мг/кг (40 мг кверцетину/кг), який містить кверцетин з плодів софори, пребіотик інулін з коріння цикорію та

цитрат кальцію, що зумовлює його застосування для зменшення інтенсивності запалення, перекисного окиснення ліпідів, дистрофічних змін і розвитку дисбіозу слизових оболонок травного тракту за умов токсико-індукованого ураження [151]. Обрані дози відповідали діапазонам, у яких речовини виявляли свої фармакологічні властивості без розвитку небажаних ефектів у щурів.

Перхлорат калію ($KClO_4$) використовували як хімічний агент для відтворення моделі хронічної інтоксикації. Розчин перхлорату готували у вигляді 1%-го розчину, який тварини отримували з питною водою. Такий режим застосування забезпечував моделювання умов тривалого перорального надходження токсиканта та формування стабільних змін у слизових оболонках травного тракту [55, 90, 92, 123].

З метою виключення тиреостатичних ефектів перхлорату калію та впливу гіпофункції щитоподібної залози як стороннього чинника, тваринам однієї з дослідних груп додатково вводили L-тироксин у дозі 10 мг/кг перорально щоденно протягом всього експерименту.

Диклофенак натрію використовували як референтний НПЗЗ на моделі карагінанового запалення у щурів. Препарат вводили тваринам внутрішньочеревинно у дозі 8 мг/кг. Залежно від експериментальної серії диклофенак натрію застосовували у вигляді суспензії або розчину, що було зумовлено особливостями експерементального дизайну та схемою введення досліджуваних сполук.

2.3 Методика підрахунку лейкоцитарної формули

Підрахунок лейкоцитарної формули проводили за загальноприйнятою методикою. Кров у щурів відбирали з хвостової вени після попереднього прогрівання хвоста у теплій воді. У периферичній крові щурів визначали кількість еритроцитів, лейкоцитів та тромбоцитів.

Кількість еритроцитів у периферичній крові щурів підраховували за допомогою лічильної камери Горяєва під мікроскопом. Кров розводили 3 %

розчином натрію хлориду і заповнювали камеру Горяєва. Підрахували клітини у 5 великих квадратах, розташованих по діагоналі. Обчислення кількості еритроцитів проводили за формулою [30]:

$$X = (E \times 4000 \times 200) / 80$$

Кількість лейкоцитів рахували під мікроскопом у лічильній камері Горяєва. Периферичну кров розводили у 10 разів з 5 % розчином оцтової кислоти, підфарбований метиленовим синім. Для обчислення кількості лейкоцитів використовували формулу [30]:

$$X = (Л \times 4000 \times 10) / 400$$

Кількість тромбоцитів рахували за методом Фоніо у пофарбованих по Романовському - Гімзе мазках крові. Рахували тромбоцити у мазках під світловим мікроскопом з імерсійним об'єктивом. Кількість тромбоцитів розраховували за формулою [30]:

$$X = (A*B) / 1000».$$

Мазки крові готували шляхом нанесення краплі крові на знежирене предметне скло з подальшим рівномірним розподілом її за допомогою шліфованого предметного скла. Мазки висушували на повітрі, фіксували у суміші Нікіфорова (96%-ий етиловий спирт і діетиловий ефір), після чого забарвлювали за методом Романовського-Гімзи протягом 30-40 хвилин.

Лейкоцитарну формулу визначали у пофарбованих мазках крові під імерсійною системою світлового мікроскопа (об'єктив х 90). Диференціювання клітин проводили за методом «меандру» шляхом послідовного перегляду полів зору від країв мазка до його середини. Підраховували не менше 100 лейкоцитів у кожному мазку з подальшим розрахунком відсоткового вмісту нейтрофілів, лімфоцитів, моноцитів, еозинофілів і базофілів. Результати виражали у відсотках від загальної кількості лейкоцитів [45, 46].

Індекси системного запалення у периферичній крові щурів розраховували за відсотковим вмістом лейкоцитів:

- Н/Л співвідношення паличкоядерних нейтрофілів до лімфоцитів,

- Т/Л співвідношення тромбоцитів до лімфоцитів,
- М/Л співвідношення моноцитів до лімфоцитів,
- SII індекс системного імунного запалення: тромбоцити х Н/Л,
- SIRI індекс відповіді на системне запалення: Н х М/Л [16].

2.4 Методика комп'ютерного моделювання

Дослідження в умовах *in silico* застосовували для прогнозування токсичності, оцінки фармакокінетичних (ADME) властивостей та молекулярного докінгу досліджуваних сполук з метою обґрунтування потенційних механізмів їх дії [13, 82].

Розрахунок токсичності для перхлорату калію було проведено за допомогою віртуальної лабораторії ProTox 3.0 на основі алгоритмів машинного навчання [128].

ADME-властивості пропоксазепаму були проаналізовані за допомогою інструменту QikProp з пакету Schrödinger (https://www.schrodinger.com/lifescience/).

Для *in silico* дослідження фармакокінетичних властивостей (Caco2 проникність, кишкова абсорбція (%) та токсичності (AMES токсичність хронічна токсичність (LOAEL) кверцетину були використані платформи pkCSM (https://biosig.lab.uq.edu.au/pkcsm/), онлайн сервер SwissADME (http://www.swissadme.ch/) із налаштуваннями за замовчуванням шляхом подання хімічних структур у форматі SMILE [56, 109].

Було проведено докінг кверцетину: розташування референтного ліганду використовували для визначення автоматичного виявлення сайту зв'язування. Окрім цього, використовували три різних пакети програмного забезпечення для докінгу: Schrödinger Maestro –2023–2 Glide (trial license), AutoDock 4.2.6 (https://autodock.scripps.edu/download-autodock4/) та AutoDock Vina-1.2.5 (http://vina.scripps.edu). Структури лігандів, таких як кверцетин та референтні ліганди отримували з бази даних PubChem

https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/ [53, 56].

2.5 Морфометричні дослідження

2.5.1 Морфометрична оцінка набрякової реакції при карагінан-індукованому запаленні

Вираженість гострої набрякової реакції у щурів оцінювали за динамікою набряку задньої лапи після субплантарного введення 1% розчину λ-карагінану. Перед індукцією запалення у тварин визначали вихідний об'єм лапи. Подальші вимірювання у тварин проводили через 2, 4, 6 та 24 години експерименту.

Оцінку набряку здійснювали шляхом прямого механічного вимірювання лінійних розмірів лапи – висоти та ширини – з використанням інженерного штангенциркуля. Протизапальну ефективність досліджуваних сполук визначали за ступенем зменшення приросту морфометричних показників набряку у дослідних групах тварин порівняно з відповідними значеннями у групі контрольної патології [29, 34, 62, 63].

2.5.2 Морфометрична оцінка ушкоджень слизової оболонки шлунка

Антиульцерогенну ефективність досліджуваних препаратів оцінювали за морфометричними показниками стану слизової оболонки шлунка. Після виведення тварин з експерименту шлунок розкривали по великій кривизні, промивали фізіологічним розчином і проводили візуальне обстеження слизової оболонки з реєстрацією виразкових і ерозивних уражень.

Визначали: відсоток тварин із виразковими ураженнями, кількість виразок та ерозій, середню площу виразкових ушкоджень на одну тварину, а також індекс Паулса (ум. од.). Площу виразкових дефектів визначали планіметрично з урахуванням їх геометричних розмірів.

Індекс Паулса розраховували за формулою

$$\text{ІП} = \frac{\text{A x B}}{100\ \%},$$

де А – площа виразок на 1 щура, В – % щурів з виразками.

Отримані показники використовували для кількісної оцінки тяжкості ураження слизової оболонки шлунка та порівняльної характеристики антиульцерогенної ефективності досліджуваних засобів [52, 152].

2.6 Біохімічні методи дослідження

Для оцінки інтенсивності запальних, оксидативних і дисбіотичних процесів у слизових оболонках травного тракту у гомогенатах слизових оболонок порожнини рота, шлунка, тонкої та товстої кишок визначали комплекс біохімічних маркерів, що характеризують активність локального запалення, стан мікробної контамінації та інтенсивність перекисного окиснення ліпідів [32].

Вибір досліджуваних показників ґрунтувався на патогенетичній ролі запалення, оксидативного стресу та дисбіотичних порушень при токсико-індукованих ураженнях слизових оболонок за умов інтоксикації перхлоратом калію [6, 19, 48, 60].

У гомогенатах слизових оболонок визначали активність еластази та кислої фосфатази як маркери локального запалення і деструкції тканин; активність уреази як показник мікробної контамінації, активність каталази – маркер антиоксидантного захисту, а також вміст МДА, як індикатор інтенсивності перекисного окиснення ліпідів [32].

2.6.1 Визначення активності еластази

Активність еластази визначали у сироватці крові та гомогенатах тканин як показник інтенсивності запального процесу та протеолітичної активності. Визначення проводили за швидкістю гідролізу специфічного хромогенного субстрату N-тосил-L-аланін-р-нітрофенілового ефіру з утворенням п-

нітрофенолу. Оптичну густину інкубаційної суміші вимірювали фотометрично при довжині хвилі (λ) 410 нм. Активність еластази виражали у мккат/кг тканини [32, 48, 60].

2.6.2 Визначення активності кислої фосфатази

Активність кислої фосфатази визначали у сироватці крові та гомогенатах тканин як маркер інтенсивності запального процесу та лізосомальної активності. Визначення проводили за швидкістю гідролізу субстрату п-нітрофенілфосфату з утворенням п-нітрофенолу у кислому середовищі. Оптичну густину інкубаційної суміші вимірювали спектрофотометрично при λ = 405 нм. Активність ферменту виражали у мккат/кг тканини [6, 19, 32].

2.6.3 Визначення активності уреази

Активність уреази визначали у гомогенатах слизових оболонок як показник мікробної контамінації. Визначення проводили за кількістю аміаку, що утворюється внаслідок гідролізу сечовини під дією уреази. Вміст аміаку оцінювали колориметричним методом з використанням реактиву Несслера. Оптичну густину вимірювали при λ = 410 нм. Активність уреази виражали у мккат/кг тканини [18, 32, 67].

2.6.4 Визначення вмісту малонового діальдегіду (МДА)

Вміст МДА визначали за реакцією з тіобарбітуровою кислотою з утворенням забарвленого триметилового комплексу. Оптичну густину вимірювали спектрофотометрично при довжині хвилі λ = 532 нм. Концентрацію МДА розраховували за молярним коефіцієнтом екстинкції та виражали у ммоль/кг тканини [32].

2.6.5 Визначення активності каталази

Принцип методу аналізу активності каталази у слизових оболонках

травного тракту та сироватці крові щурів полягає у тому, що пероксид водню, що залишився після дії каталази, вступає у реакцію з солями молібдену з утворенням стабільного комплексу, інтенсивність забарвлення якого обернено пропорційна активності каталази. Активність каталази визначали у мкат/кг тканини [32].

2.7 Статистична обробка даних

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням однофакторного дисперсійного аналізу (ANOVA). Розраховували середнє арифметичне значення (M) та похибку середнього арифметичного значення (m); дані наводили у вигляді M ± m.

Нормальність розподілу перевіряли за критерієм Шапіро-Уілка. Для порівняння показників між експериментальними групами застосовували ANOVA, у разі виявлення статистично значущих відмінностей ($p < 0,05$) проводили подальший post-hoc аналіз із використанням критерію Тьюкі для множинних порівнянь. Статистично значущими вважали відмінності при $p < 0,05$ [58, 59].

Результати досліджень наведених у даному розділі викладені в публікаціях автора:

1. Молодан Ю. О., Ларіонов В. Б., Борисюк І. Ю. і Макаренко О. А. Тваринні моделі *in-vivo* для скринінгу потенційних протизапальних та знеболювальних засобів (Огляд літератури). *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. 2023. Т. 28, вип. 2(53). С. 113–127. https://doi.org/10.18524/2077–1746.2023.2(53).293327

2. Молодан Ю.О., Акішева А.С., Макаренко О.А., Валіводзь І.П., Ларіонов В.Б. Моделі *in-vivo* для дослідження протизапальних властивостей потенційних сполук. *XI Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми фармакології та медицини»*. 22.09.2023. С. 47-50.

РОЗДІЛ 3
ПРОГНОЗУВАННЯ ТОКСИЧНОСТІ ПЕРХЛОРАТІВ, ФАРМАКОКІНЕТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ (ADME) ПРОПОКСАЗЕПАМУ ТА КВЕРЦЕТИНУ (ДОСЛІДЖЕННЯ *IN SILICO*)

3.1 Прогнозування токсичності перхлорату калію методами комп'ютерного моделювання

Перший етап роботи був спрямований на *in silico* дослідження токсичної дії перхлорату калію як моделі токсико-індукованого ураження організму.

З метою обґрунтування його використання в експериментальних дослідженнях було проведено прогнозування його токсикологічного профілю з використанням платформи ProTox 3.0, заснованої на алгоритмах машинного навчання. Зазначена платформа дозволяє оцінювати потенційні токсикологічні ефекти як нових, так і відомих хімічних сполук, а також прогнозувати можливі біологічні мішені їх дії. Результати такого аналізу не відображають встановлені механізми токсичності, а формують гіпотетичні асоціації, які потребують подальшої експериментальної верифікації [128].

Узагальнені показники загальної токсичності, а також прогнозованої взаємодії з біологічними мішенями перхлорату калію отримані за допомогою платформи ProTox 3.0 наведені в таблиці 3.1. Аналіз загальної токсичності показав високу ймовірність розвитку імунотоксичності (0,99), гепатотоксичності (0,98), кардіотоксичності (0,97) та нейротоксичності (0,91), що узгоджується з даними літератури про системний характер токсичної дії перхлоратів [123, 126]. Помірна ймовірність нефротоксичності (0,62) та респіраторної токсичності (0,61) свідчить про залучення систем виділення, а саме нирок і дихальної системи до патологічного процесу.

Таблиця 3.1

Прогнозування токсичності перхлорату калію

Токсичність	**Ймовірність**
Гепатотоксичність	0,98
Нейротоксичність	0,91
Нефротоксичність	0,62
Респіраторна токсичність	0,61
Кардіотоксичність	0,97
Канцерогенність	0,80
Імунотоксичність	0,99
Мутагенність	0,75
Цитотоксичність	0,73
BBB-бар’єр	0,91
Харчова токсичність	0,62
AhR	1
AR	1
AR-LBD	0,99
Ароматаза	0,99
ER	1
ER-LBD	0,98
PPAR-Gamma	0,99
nrf2/ARE	1
HSE	1
MMP	0,99
Tumor Supressor p^{53}	0,98
ATAD5	0,99
THRα	0,85
THRβ	0,81
TTR	0,58
RYR	0,97
GAR	0,71
NMDAR	0,90
AMPAR	0,99
KAR	1
AChE	0,58
CAR	0,99
PXR	0,59

продовження таблиці 3.1

Токсичність	**Ймовірність**
NADHOX	0,69
VGSC	0,8
NIS	0,94
CYP1A2	0,92
CYP2C19	0,88
CYP2C9	0,54
CYP2D6	0,88
CYP3A4	0,98
CYP2E1	0,96

Примітка: AhR – арилвуглеводневий рецептор; *AR* – андрогеновий рецептор; *AR-LBD* – ліганд-зв'язуючий домен андрогенового рецептора; *ER* – естрогеновий рецептор; *ER-LBD* – ліганд-зв'язуючи домен естрогенового рецептора; PPAR-Gamma – рецептор, активований проліфераторами пероксисом γ; *Nrf2/ARE* – ядерний фактор Nrf2/антиоксидантний відповідальний елемент; *HSE* – елемент відповіді теплового шоку; *MMP* – мітохондріальний мембранний потенціал; *p53* – фосфопротеїн-супресор пухлин; *ATAD5* – білок родини АТФаз з ААА-доменом; *THRα* – тиреоїдний рецептор-α; *THRβ* – тиреоїдний рецептор-β; *TTR* – транстиретин; *RYR* – ріанодиновий рецептор; GAR – рецептор γ-аміномасляної кислоти; *NMDAR* – глутаматний N-метил-D-аспартатний рецептор; *AMPAR* – рецептор α-аміно-3-гідрокси-5метил-4-ізоксазолпропіонової кислоти; KAR – каїнатний рецептор; *AChE* – ацетилхолінестераза, CAR – конститутивний адростановий рецептор; *PXR* – рецептор прегнану X; *NADHOX* – НАДН-хіноноксидоредуктаза; *VGSC* – потенціалкерований натрієвий канал; *NIS* – натрій-йодидний симпортер; *CYP* – ізоформи ферментних систем P450.

Прогнозування також виявило значну ймовірність канцерогенної (0,80), мутагенної (0,75) та цитотоксичної (0,73) дії, що може бути пов'язано з індукцією оксидативного стресу, порушенням клітинного циклу та пошкодженням ДНК. Особливо важливим є високий показник імунотоксичності, який узгоджується з відомими даними щодо впливу перхлоратів на імунну регуляцію та запальні реакції [128].

Аналіз прогнозованих взаємодій з клітинними сигнальними шляхами вказує на можливу активацію естрогенового рецептора (ER) та транстиретину (TTR), а також на його потенційну здатність проникати через гематоенцефалічний бар'єр (BBB, 0,91). Сукупність цих асоціацій може бути пов'язана з ендокринними порушеннями та нейротоксичними проявами дії перхлорату калію, однак такі ефекти мають гіпотетичний характер і потребують експериментального підтвердження.

Особливу увагу привертає прогнозований вплив перхлорату калію на

натрій-йодидний симпортер (NIS, 0,94), що відповідає відомому механізму його тиреоїдної токсичності, пов’язаному з блокадою поглинання йодиду щитоподібною залозою та порушенням синтезу тиреоїдних гормонів [116]. Цей механізм підтверджується експериментальними даними щодо здатності перхлорату калію індукувати гіпотиреоїдні стани та вторинні метаболічні порушення.

Разом із цим, за результатами ProTox 3.0 прогнозується потенційна активність перхлорату калію щодо ER, TTR та ядерного рецептора прегнану (PXR). Однак аналіз наукової літератури не виявив експериментальних доказів прямого впливу $KClO_4$ на зазначені молекулярні мішені.

Водночас, прогнозується значна взаємодія перхлорату калію з ферментами системи цитохрому P450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP2E1), що може спричиняти порушення метаболізму ксенобіотиків та посилення токсичного навантаження на організм [123].

Таким чином, аналіз прогнозування засвідчив, що перхлорат калію характеризується високим ймовірнісним токсикологічним потенціалом, що підтверджує доцільність його застосування для індукції системного запалення та ушкодження органів-мішеней. Так, результати *in silico* прогнозування токсичності перхлорату калію відображають не встановлені механізми дії, а потенційні напрями біологічних ефектів, що узгоджуються з відомою тиреоїдною та системною токсичністю цієї сполуки. Отримані результати *in silico* прогнозування токсичності свідчать про виражений системний токсикологічний потенціал, що супроводжується ймовірною індукцію оксидативного стресу та запальних реакцій. Сукупність цих ефектів обґрунтовує доцільність його використання як експериментальної моделі для вивчення гастроінтестинальних уражень та оцінки гастропротекторної ефективності препаратів.

3.2 Оцінка ADME-характеристик пропоксазепаму за допомогою програмного забезпечення QikProp

З метою оцінки фармакокінетичних властивостей пропоксазепаму було проведено *in silico* моделювання його ADME-параметрів (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion) з використанням програмного забезпечення QikProp (Schrödinger), яке широко застосовується для прогнозування абсорбції, розподілу, метаболізму та екскреції потенційних лікарських засобів на різних етапах розробки [86, 111]. Також він дозволяє розрахувати фізико-хімічні та фармакокінетичні показники, що корелюють з біодоступністю та проникністю сполук у біологічних системах [113].

Отримані результати свідчать про загалом сприятливий профіль абсорбції, розподілу та мембранної проникності пропоксазепаму (табл. 3.2).

Молекулярна маса пропоксазепаму становить 405,68 Да, що відповідає допустимим значенням для перорально активних лікарських засобів. Полярна площа поверхні молекули (PSA = 62,31 Å²), а також кількість донорів і акцепторів водневих зв’язків (1 та 4 відповідно) узгоджуються з вимогами правил Ліпінського, але при цьому порушень Rule of Five не виявлено, що свідчить про потенційну хорошу біодоступність [89]. Проте, розрахункові параметри розчинності (QPlogS = −6,08; CIQPlogS = −6,52) вказують на помірно низьку водну розчинність, що є характерним для ліпофільних сполук із нейротропною активністю й може компенсуватися високою мембранною проникністю [159].

Показники проникності через біологічні мембрани свідчать про високу абсорбційну здатність пропоксазепаму. Значення QPPCaco = 1703,58 нм/с й QPPMDCK = 4273,74 нм/с істотно перевищують порогові значення, що дозволяє класифікувати сполуку як добре проникну через кишковий епітелій і гематоенцефалічний бар’єр. Це також підтверджується прогнозованим показником QPlogBB = 0,05 й параметром CNS = 1, що вказують на потенційну здатність препарату проникати до ЦНС [86, 159].

Таблиця 3.2

Розрахунок ADME-параметрів пропоксазепаму за допомогою QikProp

Параметри	Пропоксазепам
CNS	1
mol_MW	405.678
Dipole, D	3.105
SASA (Solvent-Accessible surface area)	596.699
FOSA	134.693
FISA	80.622
PISA	256.085
WPSA	125.298
volume $Å^3$	1055.73
donorHB	1
accptHB	4
dip^2/V	0.0091335
ACxDN^.5/SA	0.0067036
glob	0.8403208
QPpolrz	37.9
QPlogPC16	11.499
QPlogPoct	16.716
QPlogPw	8.673
QPlogPo/w	4.452
QPlogS	-6.082
CIQPlogS	-6.523
QPlogHERG	-5.337
QPPCaco, нм/с	1703.58
QPlogBB	0.05
QPPMDCK, нм/с	4273.742
QPlogKp	-2.007
IP(eV)	9.357
EA(eV)	0.713
#metab	4
QPlogKhsa	0.676
HumanOralAbsorption	3 (high)

продовження таблиці 3.2

Параметри	**Пропоксазепам**
PercentHumanOralAbsorption, %	100
SAfluorine	0
SAamideO	0
PSA, Å²	62.307
#NandO	0
RuleOfFive	0
#ringatoms	17
#in34	0
#in56	12
#noncon	1
#nonHatm	24
RuleOfThree	1
Jm	0.003

Примітка: *ADME* – параметри розраховані за допомогою QikProp (Schrödinger); *CNS* – прогнозована здатність проникнення до ЦНС; *mol_MW* – молекулярна маса, Да; *dipole* – дипольний момент; *SASA* – площа поверхні, доступна для розчинника; *FOSA* – площа гідрофобної поверхні;, *FISA* – площа гідрофільної поверхні; *WPSA* – площа слабополярної поверхні*; PISA* – площа полярної поверхні; *volume* – молекулярний об'єм, Å³; *donorHB/accptHB* – донори/акцептори Н-зв'язку; *QPpolrz* – поляризовність; *QPlogPo/w* – коефіцієнт розподілу октанол/вода; *QPlogS* – прогнозована водна розчинність; *CIQPlogS* – скоригована водна розчинність; *QPPCaco* – проникність крізь моношар клітин Caco-2; *QPPMDCK* – проникність через клітини MDCK; *QPlogBB* – розподіл у мозку та плазмі крові; *QPlogHERG* – прогноз інгібування hERG-каналів; *QPlogKp* – коефіцієнт проникнення через шкіру; *#metab* – кількість прогнозованих метаболічних перетворень; *QPlogKhsa* – зв'язування з альбуміном плазми; *Human Oral Absorption* – рівень пероральної абсорбції у людини; *Percent Human Oral Absorption* – відсоток прогнозованої пероральної абсорбції; *Rule Of Five* – правило Ліпінського; *Rule Of Three* –відповідність правилу трьох; *Jm* – прогнозований транспорт через мембрану.

Високий значення показників прогнозованої пероральної абсорбції у людини (Human Oral Absorption = 3; Percent = 100%) вказують на потенційне ефективне всмоктування пропоксазепаму при пероральному застосуванні, що є важливою характеристикою для фармакологічно активних сполук із системною дією.

Оцінка метаболічного потенціалу засвідчила наявність помірної кількісті передбачуваних шляхів біотрансформації (#metab = 4), що може свідчити про збалансований профіль метаболізму без ознак надмірної метаболічної нестабільності. Прогнозований показник зв'язування з альбуміном плазми крові (QPlogKhsa = 0,676) свідчить про помірний рівень плазмового протеїн-зв'язування, який може забезпечити достатній рівень

розподілу препарату в організмі [86, 102].

Показники потенційної кардіотоксичності на рівні hERG-каналів (QPlogHERG = −5,34) не досягає критичних порогових значень, що дозволяє розглядати ризик подовження інтервалу QT як низький у межах *in silico* оцінки. Окрім цього, значення коефіцієнтів ліпофільності (QPlogPo/w = 4,45) характеризує пропоксазепам як помірно ліпофільну сполуку, що узгоджується з його мембранною проникністю та фармакологічними властивостями [104, 159].

Узагальнюючи результати ADME-аналізу, можна відзначити, що пропоксазепам демонструє сприятливий фармакокінетичний профіль, який поєднує високу прогнозовану пероральну абсорбцію, добру мембранну проникність і прийнятний метаболічний потенціал. У сукупності з його відомими молекулярними механізмами дії це обґрунтовує доцільність подальших доклінічних досліджень у комбінації з кверцетином (квертуліном).

3.3 Докінг аналіз кверцетину, як метод прогнозування його протизапальної дії

Наступним етапом дослідження було проведення молекулярного докінгу аналізу кверцетину з естрогеновим рецептором (ER), що було обґрунтовано результатами *in silico* прогнозування токсичності перхлорату калію. За даними платформи ProTox 3.0, $KClO_4$ характеризується високим імунотоксичним потенціалом і здатністю індукувати системну запальну відповідь, у тому числі через порушенням функції тиреоїдних рецепторів та розвитку ендокринної дисрегуляції [128]. Ендокринний протизапальний шлях патогенної дії перхлоратів може реалізуватися через гіпоталамо-гіпофізарну систему (посилене вироблення ТТГ), втручатися в гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникову вісь, порушує секрецію гонадотропінів ФСГ, ЛГ та пригнічує вироблення естрогенів [106].

З огляду на те, що естрогенові рецептори відіграють ключову роль у

регуляції імунної відповіді та контролі синтезу прозапальних цитокінів TNF-α, IL-6, IL-1β [26, 99, 105] докінг кверцетину до ER дозволяє оцінити його потенційну здатність пригнічувати запальні процеси, індуковані перхлоратом. Такий підхід забезпечує молекулярне обґрунтування протизапальної дії кверцетину і виправдовує його подальше використання як компонента профілактичних та гастропротекторних засобів. Відповідно до літературних даних, кверцетин може проявляти агоністичну активність щодо естрогенового рецептора (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Молекулярна взаємодія кверцетину з естрогеновим рецептором, його прогнозована абсорбція та токсичність (*in silico*)

Параметр	Значення
Білкова мішень для докінгу	1ERR
Енергія зв'язування з ER (ккал/моль)	−8,7 (AutoDock) / −9,4 (Vina)
GScore	-9,38
Амінокислотні залишки, що беруть участь у взаємодії	ALA350, ASP351, GLU353, ILE424, LEU346, LEU349, LEU384, LEU387, LEU391, LEU525, MET 388, MET 421, HIE524
Прогнозована дія (агоніст/антагоніст)	Агоніст
Проникність Caco-2 (log Papp)	−0,229 (pkCSM) / 0,2245 (admetSAR)
Кишкова абсорбція (%)	77,207 (pkCSM)
AMES-токсичність	Ні (pkCSM)
Хронічна токсичність (LOAEL)	2,612 log мг/кг_м.т./день (pkCSM)

Молекулярний докінг продемонстрував високу спорідненість кверцетину до ліганд-зв'язуючого естрогенового рецептору. Кверцетин формує стабільні комплекси з низькими значеннями енергії зв'язування, зокрема з кристалічною структурою 1ERR (–8,7 ккал/моль за AutoDock та –9,4 ккал/моль за Vina), що вказує на термодинамічну вигідну взаємодію [112, 133].

У процесі зв'язування кверцетин формує водневі зв'язки з важливими

амінокислотними залишками активного центру рецептора, зокрема GLU353, HIE524 та ASP351, які відіграють важливу роль у стабілізації ліганд-рецепторного комплексу та передачі сигналу.

Оцінка параметрів ADME показала помірну здатність кверцетину до абсорбції в ШКТ. Так, проникність через кишковий бар'єр Caco-2 склала −0,229 log Papp за pkCSM та 0,2245 log Papp за admetSAR, а прогнозована кишкова абсорбція − 77,2 % [128].

Показники токсикологічного профілю свідчать про відсутність мутагенного ефекту за результатами AMES-токсичного тесту, тоді як хронічна токсичність (LOAEL) становить 2,612 log мг/кг маси тіла на день, що відповідає помірному рівню токсичності [133].

Висока афінність кверцетину до естрогенового рецептора (ER, білкова мішень 1ERR) у поєднанні з його прогнозованою агоністичною активністю вказує на потенціал модуляції запальної відповіді на молекулярному рівні. Добра кишкова абсорбція та сприятливий профіль безпеки (відсутність мутагенності за AMES, помірна хронічна токсичність, обґрунтовують можливість використання кверцетину у тривалій профілактичній терапії запальних станів та підтверджують доцільність його включення до складу гастропротекторних засобів.

Аналіз фізико-хімічних характеристик кверцетину, у свою чергу, засвідчив його відповідність основним критеріям лікоподібності, сформульованих у межах «правила п'яти» К. А. Ліпінського [56, 89]. Згідно з результатами *in silico* за допомогою програми SwissADME, молекулярна маса кверцетину становить 302,24 г/моль, що не перевищує рекомендованого порогового значення для перорально активних сполук. Кількість донорів водневого зв'язку дорівнює 5, а акцепторів − 7, що узгоджується з встановленими обмеженнями. Показник ліпофільності (LogP = 1,23) свідчить про помірну гідрофільність сполуки, яка є сприятливою з погляду її потенційної біодоступності.

Значення молярного коефіцієнта заломлення (78,03) також перебуває у

межах рекомендованого діапазону, що додатково характеризує кверцетин як фізико-хімічно збалансовану молекулу [7, 53].

Сукупність наведених параметрів підтверджує фармакокінетичну доцільність кверцетину та обґрунтовує можливість його використання як біологічно активного компонента у складі лікувально-профілактичних засобів, зокрема при патологічних станах, асоційованих із запальними процесами.

Результати *in silico* прогнозування токсичності перхлорату калію підтверджують його виражений токсичний та імунотоксичний потенціал, що супроводжується порушенням ендокринної регуляції, індукцією оксидативного стресу та запальних реакцій. Це обґрунтовує використання перхлорату калію як адекватної моделі експериментальної інтоксикації для дослідження гастропротекторної та антиульцерогенної дії квертуліну.

In silico аналіз ADME-параметрів пропоксазепаму спрогнозував його високу пероральну біодоступність, здатність проникати через кишковий епітелій і гематоенцефалічний бар'єр, помірно низьку водну розчинність, високу мембранну проникність, збалансований профіль метаболізму, помірний рівень зв'язування з альбуміном крові, що обґрунтовує його використання у складі комбінованих гастропротекторних препаратів.

Агоністична здатність кверцетину щодо ERα та «drug-like» властивості свідчать про доцільність його застосування для корекції ендокринних і пов'язаних запальних порушень.

Результати досліджень наведених у даному розділі викладені в публікаціях автора:

1. Larionov V. B., Golovenko M. Ya., Akisheva A. S., Valivodz I. P., Borysiuk I. Yu., Molodan Yu. O., Makarenko O. A. Molecular Insights into Propoxazepam Interaction with TRPV1 Receptors: A Docking Analysis. *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2023. Т. 28, № 2 (53). С. 99-112. https://doi.org/10.18524/2077–1746.2023.2(53).293324

2. Акішева А. С., Сідлецький О. С., Молодан Ю. О., Макаренко О. А. Прогнозування механізмів взаємодії кверцетину, α-циперметрину та його похідних з α-рецептором естрогену (дослідження in silico). *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2024. Т. 29, вип. 1(54). С. 81-105. https://doi.org/10.18524/2077-1746.2024.1(54).309040

3. Akisheva A. S., Larionov V. B., Golovenko M. Y., Makarenko, O. A., Valivodz I. P., Borysiuk I. Y., Molodan Y. O. In silico exploration of antinociceptive activity of 1,4-benzodiazepines: Molecular docking on α1 A-adrenoceptor, and phospho-diesterase 4. *Regul. Mech. Biosyst*. 2024. 15(2). 327–336. ISSN 2520-2588. https://doi.org/10.15421/022447

РОЗДІЛ 4
ПРОТИЗАПАЛЬНА ДІЯ КОМБІНАЦІЇ ПРОПОКСАЗЕПАМУ ТА КВЕРЦЕТИНУ НА МОДЕЛІ ГОСТРОГО КАРАГІНАНОВОГО ЗАПАЛЕННЯ

4.1 Дослідження протизапальні властивості кверцетину у порівнянні з диклофенаком натрію

На підставі потужних антиоксидантних властивостей біофлавоноїдів, відсутності негативних побічних ефектів навіть при тривалому використанні та ролі активних форм кисню і пероксидів ліпідів у патогенезі запалення, на другому етапі роботи досліджували протизапальну дію біофлавоноїду кверцетину у порівнянні з диклофенаком натрію на моделі запалення, яке викликали у щурів шляхом введення у лапу 0,1 мл 1% карагінану. Кверцетин та диклофенак натрію вводили внутрішньоочеревинно одноразово за 1 годину до моделювання запалення [11].

Оцінку інтенсивності запального процесу проводили на підставі морфометричних показників висоти та ширини набряку уражених кінцівок щурів у різні строки після індукції карагінанового запалення. Відповідні результати наведено в таблиці 4.1.

Після субплантарного введення карагінану у тварин контрольної групи спостерігався виражений запальний набряк лапи, інтенсивність якого поступово зростала протягом перших годин експозиції. Так, товщина (висота) ураженої кінцівки через 2 години після моделювання запалення збільшилась на 62,5 %, а через 4 години – на 70,8 % відносно вихідного рівня. Надалі відзначали тенденцію до часткового зменшення набряку: через 6 годин товщина лапи залишилась підвищеною на 63,9 %, а через 24 години – на 52,8% порівняно з початковими значеннями.

Аналогічну динаміку зміни спостерігали і за показниками ширини ураженої кінцівки. Так, через 2 години після індукції запалення ширина лапи збільшилась на 13,2 %, через 4 години – 28,6 %, через 6 годин – 26,4 %, а через 24 години – 28,6 % відносно вихідного рівня (табл. 4.1). Максимальна

вираженість набряку у щурів контрольної групи фіксували на 4-ту годину після моделювання гострого запалення. У ділянці ураження спостерігали ознаки локальної запальної реакції, зокрема ціаноз тканин. Поведінкові реакції тварин свідчили про наявність больових відчуттів: щури уникали опори на уражену задню кінцівку під час переміщення у стерильні бокси, відзначалися часті облизування лапи, а також характерне підтягування кінцівки при ходьбі.

Таблиця 4.1

Динаміка змін морфометричних показників уражених кінцівок щурів при карагінановому запаленні та за умов профілактичного введення кверцетину і диклофенаку

Групи щурів	**Строки дослідження, години**				
	перед	**2**	**4**	**6**	**24**
Модель запалення (контроль) (n =5)	**висота лапи, см**				
	0,72 ± 0,01	1,17±0,05 p < 0,001	1,23±0,05 p < 0,001	1,18±0,04 p < 0,001	1,10±0,05 p < 0,001
Кверцетин + модель запалення (n =5)	0,75 ± 0,02 p_1 > 0,05	0,96±0,03 p < 0,001 p_1 < 0,05	1,10±0,02 p < 0,001 p_1 < 0,05	0,98±0,05 p < 0,001 p_1 < 0,05	0,86±0,03 p < 0,001 p_1 < 0,05
Диклофенак + модель запалення (n =5)	0,69 ± 0,03 p_1 > 0,05	0,71±0,04 p > 0,05 p_1<0,05 p_2 < 0,05	0,96±0,03 p < 0,05 p_1 < 0,05 p_2 < 0,05	0,94±0,06 p < 0,05 p_1 < 0,05 p_2 > 0,05	0,73±0,05 p > 0,05 p_1 < 0,05 p_2 < 0,05
Модель запалення (контроль) (n =5)	**ширина лапи, см**				
	0,91 ± 0,02	1,03±0,04 p < 0,001	1,17±0,03 p < 0,001	1,15±0,05 p < 0,001	1,17±0,04 p < 0,001
Кверцетин + модель запалення (n =5)	1,03 ± 0,08 p_1 > 0,05	1,01±0,02 p < 0,05 p_1 > 0,05	1,12±0,08 p < 0,05 p_1 > 0,05	1,05±0,04 p < 0,05 p_1 > 0,05	1,01±0,02 p > 0,05 p_1 < 0,05
Диклофенак + модель запалення (n =5)	0,94 ± 0,04 p_1 > 0,05	0,97±0,06 p > 0,05 p_1 < 0,05 p_2 > 0,05	1,03±0,06 p > 0,05 p_1 < 0,05 p_2 > 0,05	1,03±0,04 p > 0,05 p_1 < 0,05 p_2 > 0,05	1,03±0,06 p > 0,05 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05

Примітка: p – вірогідність відхилень показнику від значень перед введенням карагінану;
p_1 – вірогідність відхилень показнику від значень у контролі;
p_2 – вірогідність відхилень між значенням показників у групах «кверцетин» і «диклофенак».

Загальновідомо, що запалення розвивається протягом першої години після ін'єкції, опосередковується вивільненням гістаміну та серотоніну, далі характеризується прогресуванням набряку внаслідок активації синтезу простагландинів, лейкотрієнів, брадикініну та інших медіаторів запалення. Окрім цього, друга фаза є чутливою як до стероїдних, так і до нестероїдних протизапальних засобів, що обґрунтовує використання цієї моделі для оцінки протизапальної активності досліджуваних сполук [20, 36, 63].

У щурів 2-ї групи, яким до моделювання запалення профілактично вводили суспензію кверцетину, динаміка розвитку набряку загалом зберігала фазовий характер, притаманний контрольній групі, з максимальним підвищенням морфометричних показників на 4-ту годину після введення карагінану. Вже через 2 години після індукції запалення товщина ураженої кінцівки у тварин цієї групи достовірно зросла, однак була на 17,9 % меншою порівняно з відповідним показником у щурів контрольної групи ($p_1 < 0,05$). На подальших етапах спостереження (4, 6 і 24 години) товщина лапи у тварин, які отримували кверцетин, також залишалася статистично значуще нижчою від аналогічних значень у групі з моделювання запалення без лікування ($p_1 < 0,05$), що свідчить про виражену протиексудативну активність досліджуваного флавоноїду.

Аналіз показника ширини кінцівки у 2-й групі продемонстрував його достовірне збільшення після субплантарного введення карагінану ($p < 0,05$). Водночас у більшості термінів спостереження цей параметр не відрізнявся статистично значуще від відповідних значень у контрольній групі тварин, за винятком 24-ї години, коли ширина набряку лапи була на 8,2 % меншою, ніж у групі з модельованим запаленням ($p_1 < 0,05$). У однієї тварини 2-ої групи на 24-ту годину експерименту клінічні ознаки запалення не реєструвалися.

У тварин 3-ї групи, які отримували диклофенак натрію, морфометричні ознаки запалення мали менш виражений характер. Збільшення товщини кінцівки на 39,1 % відносно вихідного рівня фіксували лише на 4-ту годину

після введення карагінану. Подібний рівень зберігався і на 6-ту годину експозиції, при цьому ширина лапи у тварини цієї групи протягом усього періоду спостереження не відрізнялася від вихідних значень ($p > 0,05$). Через 24 години після моделювання запального процесу у щурів, які отримували диклофенак, не виявляли ознак набряку як за показником товщини, так і за шириною кінцівки ($p > 0,05$, табл.4.1). У всіх тварин 3-ї групи на цьому терміні спостереження клінічні прояви запалення були відсутні.

Порівняльний аналіз протизапальної ефективності досліджуваних препаратів засвідчив більш виражену протиексудативну дію диклофенаку за показником товщини лапи. Так, у тварин 3-ї групи цей показник був статистично значуще меншим через 2, 4 і 24 години після введення карагінану порівняно з відповідними значеннями у щурів, які отримували кверцетин ($p_2 < 0,05$, табл. 4.1), що свідчить про вищу інтенсивність протизапального ефекту диклофенаку натрію в умовах гострого карагінан-індукованого запалення.

Введення розчину карагінану у лапу через 24 години викликало загальну запальну реакцію у щурів, яку визначили у сироватці крові тварин за показниками активності еластази, кислої фосфатази та вмісту малонового діальдегіду. Результати цього дослідження наведені у таблиці 4.2.

Відтворення запалення за допомогою карагінану викликало у сироватці крові щурів збільшення активності еластази на 54,2 % ($p < 0,05$) у порівнянні з рівнем в крові інтактних тварин, що вважається ознакою запалення оскільки еластаза має нейтрофільні походження. Профілактичне застосування кверцетину у щурів сприяло гальмуванню активності сироваткової еластази на 21,8 % ($p_1 < 0,05$), хоча її значення перевищували рівень у інтактній групі ($p < 0,05$). Попереднє введення диклофенаку знизило активність еластази на 27,2 % ($p_1 < 0,05$). Цей маркер запалення після використання диклофенаку відповідав рівню у крові інтактної групи ($p > 0,05$). Незважаючи на те, що статистично значущої різниці між активністю еластази у сироватці крові щурів, яким ввели кверцетин або диклофенак, не

встановлено ($p_2 > 0,5$ табл. 4.2), можна вважати про переваги протизапальної дії диклофенаку натрію.

Таблиця 4.2

Активність еластази, кислої фосфатази та вміст малонового діальдегіду у сироватці крові щурів при гострому запаленні та після введення кверцетину і диклофенаку

Показник	**Групи тварин**			
	Інтактна (n =5)	Модель запалення (контроль) (n =5)	Кверцетин + модель запалення (n =5)	Диклофенак + модель запалення (n =5)
Активність еластази, мккат/л	3,10 ± 0,22	4,78 ± 0,35 $p < 0,05$	3,74 ± 0,21 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	3,48 ± 0,26 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
Активність КФ, мккат/л	1,95 ± 0,23	3,51 ± 0,27 $p < 0,05$	2,76 ± 0,23 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	2,54 ± 0,18 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
Вміст МДА, ммоль/л	0,67 ± 0,05	1,21 ± 0,07 $p < 0,001$	0,78 ± 0,05 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	0,97 ± 0,06 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примітка: p – вірогідність відхилень показнику від значень у інтактній групі;
p_1 – вірогідність відхилень показнику від значень у контролі запалення;
p_2 – вірогідність відхилень між значенням показників у групах «кверцетин» і «диклофенак».

Відомо, що запальна реакція викликає руйнування лізосом зі вивільненням лізосомальних гідролаз, зокрема кислої фосфатази (КФ), активність якої збільшується у тканинах і сироватці крові в залежності від інтенсивності запального процесу. Тому цей фермент також вважають маркером запалення. В сироватці крові щурів, яким відтворили модель запалення, активність КФ зросла на 80,0 % ($p < 0,05$) у порівнянні зі рівнем у інтактній групі. Після попереднього введення кверцетину активність сироваткової КФ була на 21,4 % нижчі ніж у щурів з моделлю гострого запалення ($p_1 < 0,05$). А у сироватці крові тварин, яким вводили перед карагінаном диклофенак, активність КФ була нижчі на 27,6 % ніж значення у контролі зі запаленням. За активністю КФ у сироватці крові тварин

протизапальна ефективність кверцетину і диклофенаку була приблизно однаковою ($p_2 > 0,05$, табл.4.2).

Введення у лапу щурів карагінану призвело до збільшення вмісту малонового діальдегіду (МДА) у сироватці крові. Відомо, що запалення супроводжується спалахом пероксидного окиснення ліпідів (ПОЛ) та накопиченням його кінцевого продукту – МДА. Рівень МДА у сироватці крові тварин після введення карагінану зріс на 80,6 % ($p < 0,001$). Профілактичне застосування кверцетину сприяло зниженню вмісту МДА у сироватці крові на 35,5 % ($p_1 < 0,05$), а диклофенаку – на 19,8 % ($p_1 < 0,05$). Отримані результати свідчать про більш значну здібність кверцетину ніж диклофенаку гальмувати пероксидне окиснення ліпідів, яке розвивається при гострому карагінановому запаленні ($p_2 < 0,05$; табл. 4.2).

В гомогенатах ділянки набряку лап досліджуваних щурів визначали ті ж маркери запалення, результати яких представлено у табл. 4.3. Моделювання гострого запалення за допомогою карагінану викликало у ділянці набряку на лапах тварин зростання усіх досліджуваних показників. Так, активність еластази у пошкоджених лапах тварин збільшилася на 76,3 % ($p < 0,001$), активність КФ – на 76,1 % ($p < 0,001$), а рівень МДА – на 80,2 % ($p < 0,001$).

Профілактичне застосування кверцетину сприяло ефективному гальмуванню активності еластази, а саме на 26,5 %. Активність КФ у ділянці набряку щурів після введення кверцетину була нижчі на 21,1 % ніж у контрольній групі запалення. Попереднє використання диклофенаку викликало більш суттєве зменшення маркерів запалення у ділянці запалення лап щурів. Активність еластази була нижчі на 63,1 % ($p_1 < 0,05$), а КФ – на 30,6 % ($p_1 < 0,05$), що статистично менш ніж після введення кверцетину ($p_2 < 0,05$). Концентрація МДА у ділянці набряку лап щурів, навпаки, більш значніше знизилася після попереднього введення кверцетину – на 34,0 % ($p_1 < 0,05$), тоді як диклофенак зменшив цій маркер пероксидного окиснення ліпідів на 15,8 % ($p_1 < 0,05$; $p_2 < 0,05$; табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Активність еластази, кислої фосфатази та вміст малонового діальдегіду у ділянці набряку кінцівок щурів при гострому запаленні та після введення кверцетину і диклофенаку

Показник	**Групи тварин**			
	Інтактна (n =5)	Модель запалення (контроль) (n =5)	Кверцетин + модель запалення (n =5)	Диклофенак + модель запалення (n =5)
Активність еластази, мккат/л	45,2 ± 1,9	79,7 ± 3,8 $p < 0,001$	58,6 ± 2,1 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	50,3 ± 3,2 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Активність КФ, мккат/л	65,8 ± 4,2	115,9 ± 4,7 $p < 0,001$	91,4 ± 3,0 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$	80,4 ± 2,5 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$
Вміст МДА, ммоль/л	23,2 ± 2,1	41,8 ± 3,0 $p < 0,001$	27,6 ± 2,3 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$	35,2 ± 2,6 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примітка: p – вірогідність відхилень показнику від значень у інтактній групі;
p_1 – вірогідність відхилень показнику від значень у контролі запалення;
p_2 – вірогідність відхилень між значенням показників у групах «кверцетин» і «диклофенак».

Таким чином, дослідження протизапальної дії кверцетину у порівнянні з диклофенаком на моделі гострого карагінанового запалення у щурів в загалі виявило більш високу здібність диклофенаку попереджувати розвиток набряку за метричними показниками, а також гальмувати зростання маркерів запалення (активності еластази і кислої фосфатази) у сироватці крові та ділянці набряку лап тварин. При цьому антиоксидантна ефективність кверцетину у пошкодженій карагінаном кінцівці та сироватці крові тварин, яку визначали за здатністю препаратів гальмувати ПОЛ за рівнем малонового діальдегіду, була набагато вище ніж після введення диклофенаку.

Ефективність лікарських засобів включає не тільки фармакологіний профіль, але й їхню нешкідливість. Добре відомо, що тривале застосування диклофенаку асоціюється з ураженням травного тракту, нирок, та печінки.

Для кверцитину, навпаки, доказані антиульцерогенний ефекти, які реалізується через зменшення утворення АФК та інтенсивності ПОЛ у слизовій оболонці шлунка, підвищення рівня PGE_2, стимуляцію секреції слизу. Тому отримані результати поряд з відомими побічними ефектами диклофенаку та антиульцерогенною дією кверцетину дозволяють продовжити дослідження протизапальних властивостей кверцетину у комбінації з препаратами, які впливають на інші патогенетичні ланки запального процесу, зокрема пропоксазепаму, для створення ефективної та безпечної протизапальної композиції.

4.2 Обґрунтування протизапальної дії комбінації пропоксазепаму та кверцетину

Динаміку розвитку запального процесу оцінювали за морфометричними показниками висоти (табл. 4.4). та ширини (табл. 4.5) набряку уражених кінцівок щурів після субплантарного введення карагінану.

Після субплантарного введення карагінану у тварин контрольної групи розвивався виражений запальний набряк ураженої кінцівки, максимальна інтенсивність якого реєструвалася на 4-ту годину моделювання патологічного процесу. Так, висота лапи зростала на 60 % через 2 години після індукції запалення та на 71 % через 4 години після індукції запалення, тоді як через 6 і 24 години вона перевищувала базові показники відповідно на 64 % та 53 % ($p < 0,05$), що свідчить про розвиток гострої ексудативної запальної реакції.

У щурів групи кверцетину (80 мг/кг) також спостерігали максимальну вираженість набряку на 4-ту годину експозиції, однак інтенсивність була статистично достовірно нижчою порівняно з контрольною групою. Зокрема, через 2 години висота ураженої кінцівки була на 18 % меншою, ніж у групі контролю ($p < 0,05$). На всіх наступних часових точках різниця зберігалася статистично достовірною, що вказує на стабільний протизапальний ефект

кверцетину.

Таблиця 4.4

Динаміка змін висоти уражених кінцівок щурів при карагінановому запаленні та за умов профілактичного введення кверцетину, пропоксазепаму та диклофенаку

Група щурів	Строки дослідження, години				
	перед	2 год	4 год	6 год	24 год
Модель запалення (контроль)	0,71 ± 0,02	1,14 ± 0,03 $p < 0,05$	1,21 ± 0,04 $p < 0,05$	1,16 ±0,03 $p < 0,05$	1,09±0,02 $p < 0,05$
Кверцетин+ модель запалення	0,74 ± 0,03	0,94 ± 0,04 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	1,10± 0,03 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	0,99 ± 0,03 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	0,83 ± 0,02 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_5 < 0,05$
Пропокса-зепам+ модель запалення	0,73 ± 0,03	0,95 ± 0,03 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	1,11 ± 0,04 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	1,00 ± 0,03 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	0,84 ± 0,02 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_5 < 0,05$
Комбінація Кверцетин+ Пропокса-зепам+ модель запалення	0,75 ± 0,03	0,84 ± 0,04 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	0,98 ± 0,05 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	0,90 ± 0,03 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	0,77 ± 0,03 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_5 < 0,05$
Диклофе-нак+ модель запалення	0,70 ± 0,02	0,72 ± 0,03 $p < 0,05$ $p_4 < 0,05$	0,89 ± 0,04 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	0,86 ± 0,03 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	0,72 ± 0,02 $p_4 < 0,05$

Примітка: p – вірогідність відхилень показнику від значень перед введенням карагінану;
p_1 – вірогідність відхилень показнику від значень від значень у контролі;
p_2 – вірогідність відхилень показнику від значень у групі «кверцетин»
p_3 – вірогідність відхилень показнику від значень у групі «пропоксазепаму»
p_4 – вірогідність відхилень показнику від значень у групі комбінації «кверцетин+пропоксазепам»;
P_5 – вірогідність відхилень показнику від значень у групі «диклофенаку».

В групі пропоксазепаму (2 мг/кг) характер динамічних змін був подібним до такого у групі кверцетину. Через 2 години після індукції запалення висота кінцівки була на 17 % нижчою, ніж у контрольній групі

($p < 0,05$). На 4-ту та 6-ту годину показники також достовірно відрізнялися від контрольних значень. Водночас за рівнем набряку пропоксазепам не демонстрував статистично значущих відмінностей порівняно з кверцетином ($p < 0,05$), що свідчить про подібну ефективність цих препаратів у контролі висоти лапи.

Комбіноване застосування кверцетину і пропоксазепаму характеризувалося найбільш вираженим протинабряковим ефектом серед досліджуваних речовин (за винятком диклофенаку). Значення висоти лапи на всіх часових точках, окрім вихідної, були достовірно нижчими як порівняно з контрольною групою, так і з обома варіантами однокомпонентної корекції ($p < 0,05$). У щурів цієї групи не відзначали вираженого ціанозу, больової реакції чи підтягування кінцівки.

Диклофенак натрію у дозі 8 мг/кг проявляв найвираженіший протинабряковий ефект, що супроводжувалося швидким зменшенням висоти лапи порівняно з усіма іншими групами. Через 24 години після введення препарату показник висоти ураженої кінцівки не відрізнявся від вихідного рівня. У завершальний період досліду у жодної тварини не спостерігали клінічних ознак запалення.

Динаміка змін ширини ураженої кінцівки загалом відповідав динаміці змін показника висоти набряку, проте вираженість ефектів досліджуваних препаратів за цим параметром була меншою (табл. 4.5). У щурів контрольної групи після субплантарного введення карагінану відзначали поступове збільшення ширини лапи на 24 %, 42 %, 33 % і 29 % через 2, 4, 6 та 24 години відповідно, що свідчить про формування периферичного запального набряку ($p < 0,05$).

У групі щурів, які отримували кверцетин, після введення карагінану також відзначали статистично значуще збільшення ширини ураженої кінцівки ($p < 0,05$).

Таблиця 4.5

Динаміка змін ширини уражених кінцівок щурів при карагінановому запаленні та за умов профілактичного введення кверцетину, пропоксазепаму та диклофенаку

Група щурів	Строки дослідження, години				
	перед	2 год	4 год	6 год	24 год
Модель запалення (контроль)	0,90 ± 0,03	1,12 ± 0,03 $p < 0,05$	1,28 ± 0,04 $p < 0,05$	1,20 ± 0,04 $p < 0,05$	1,17 ± 0,03 $p < 0,05$
Кверцетин+ модель запалення	1,02 ± 0,04	1,01 ± 0,03 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$ $p_5 < 0,05$	1,16 ± 0,05 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$ $p_5 < 0,05$	1,12 ± 0,03 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	1,07 ± 0,03 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$ $p_5 < 0,05$
Пропокса-зепам+ модель запалення	1,06 ± 0,03	1,01 ± 0,03 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_5 < 0,05$	1,14 ± 0,04 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_5 < 0,05$	1,09 ± 0,03 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_5 < 0,05$	1,06 ± 0,03 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$ $p_4 < 0,05$
Комбінація Кверцетин+ Пропокса-зепам+ модель запалення	1,00 ± 0,03	1,05 ± 0,04 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	1,10 ± 0,05 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_5 < 0,05$	1,06 ± 0,04 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	1,02 ± 0,03 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$
Диклофе-нак+ модель запалення	0,93 ± 0,03	0,95 ± 0,03 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	0,96 ± 0,03 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$ $p_4 < 0,05$	0,95 ± 0,03 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$ $p_3 < 0,05$	0,94 ± 0,02 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примітка: p – вірогідність відхилень показнику від значень перед введенням карагінану;
p_1 – вірогідність відхилень показнику від значень від значень у контролі;
p_2 – вірогідність відхилень показнику від значень у групі «кверцетин»
p_3 – вірогідність відхилень показнику від значень у групі «пропоксазепаму»
p_4 – вірогідність відхилень показнику від значень у групі комбінації «кверцетин+пропоксазепам»;
P_5 – вірогідність відхилень показнику від значень у групі «диклофенаку».

Водночас у ранні терміни спостереження ці показники не відрізнялися від відповідних значень у контрольній групі. Лише через 24 години після

індукції запалення ширина лапи у тварин цієї групи була на 9 % меншою порівняно з контролем ($p < 0,05$), що свідчить про відносно помірний вплив кверцетину на поперечний компонент запального процесу. При цьому міжгрупові порівняння за показниками ширини лапи в ранні терміни спостереження не виявили статистично значущих відмінностей між групами кверцетину, пропоксазепаму та комбінованого лікування.

У тварин, які отримували пропоксазепам, також відзначали зменшення ширини ураженої кінцівки порівняно з показниками контрольної групи. Водночас статистично значущих відмінностей між ефектами пропоксазепаму та кверцетину за цими показником не виявлено ($p < 0,05$), що свідчить про зіставну протизапальну активність обох сполук щодо поперечного компонента ексудативної фази запалення. Аналіз міжгрупових відмінностей показав, що за більшістю часових точок показники ширини лапи в групі пропоксазепаму не відрізнялися від відповідних значень у групі кверцетину, незважаючи на достовірні відмінності порівняно з контрольною групою.

Комбіноване застосування кверцетину та пропоксазепаму забезпечувало більш виражене зменшення ширини ураженої кінцівки порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$) та виявляло статистично значущу перевагу над окремим введенням кверцетину у всі часові точки спостереження від 2 до 24 годин ($p < 0,05$). Водночас, на відміну від показників висоти набряку (табл. 4.4), ефективність комбінації за параметром ширини лапи була менш чітко вираженою у порівнянні з іншими схемами лікування, що свідчить про варіабельний характер міжгрупових відмінностей. Зокрема, статистично значущі відмінності між комбінованою терапією та ізольованим застосуванням пропоксазепаму за показником ширини лапи мали нестабільний характер і не у всі часові точки досягали рівня достовірності, що узгоджується з даними таблиці 4.5.

Диклофенак натрію, застосований у дослідженні як референтний протизапальний препарат, проявляв виражену здатність до пригнічення

розвитку запального набряку. Упродовж усього періоду спостереження ширина ураженої кінцівки залишалася на рівні, близькому до вихідних показників, і не зазнавала статистично значущих змін ($p > 0,05$). Водночас на всіх часових точках показники ширини лапи у тварин були статистично достовірно нижчими порівняно з контрольною групою та групами, що отримували досліджувані сполуки ($p < 0,05$). Через 24 години після індукції запалення у тварин цієї групи не виявляли клінічних ознак запального процесу, що свідчить про найвищу протинабрякову ефективність диклофенаку в межах моделі карагінан-індукованого запалення.

За результатами однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA встановлено наявність статистично значущих відмінностей між усіма п’ятьма експериментальними групами як за показниками висоти, так і ширини набряку лапи щурів ($p < 0,05$). Подальший *post hoc* тест Тьюкі показав, що диклофенак натрію забезпечував найбільш виражене пригнічення запального процесу на всіх часових етапах дослідження порівняно як з контрольною групою, так і з групами тварин, які отримували досліджувані сполуки ($p < 0,05$).

Кверцетин, пропоксазепам та їх комбіноване застосування достовірно зменшували прояви запалення порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). При цьому поєднане введення кверцетину та пропоксазепаму демонструвало статистично значущу перевагу над окремим введенням кожного з препаратів за показником висоти набряку лапи (табл. 4.4), що може свідчити про потенційну синергічну взаємодію цих сполук. Водночас за параметром ширини ураженої кінцівки (табл. 4.5) перевага комбінованого застосування зберігалася, проте була менш вираженою, ніж за показником висоти, що вказує на різну чутливість морфометричних параметрів до терапевтичного впливу [40].

Спираючись на вище сказане, результати однофакторного дисперсійного аналізу підтвердили наявність статистично значущої протизапальної дії кверцетину, пропоксазепаму та їх комбінованого

застосування на моделі карагінан-індукованого запалення, а також відмінності у ступені їх ефективності. Найбільш виражений терапевтичний ефект забезпечував референтний препарат диклофенак натрію, який практично нівелював прояви набряку на фінальному етапі спостереження.

Профілактичне семиденне введення кверцетину у дозі 80 мг/кг, пропоксазепаму - 2 мг/кг та їх комбінації сприяло достовірному зменшенню інтенсивності запального процесу порівняно з контрольною групою ($p < 0,05$). Комбіноване застосування досліджуваних сполук характеризувалось більш вираженим протизапальним ефектом порівняно з окремим введенням кожної сполуки, що може вказувати на наявність синергічного механізму дії, особливо за показником висоти набряку лапи.

Дані результати [35, 40, 44, 113, 114] узгоджуються з даними попередніх досліджень [63, 71], за якими похідні бензодіазепінового ряду демонстрували периферичну протизапальну активність. Ймовірно, механізм дії цих сполук пов'язаний зі зменшенням вивільнення прозапальних медіаторів, інгібуванням ЦОГ-2 та стабілізацією клітинних мембран, тоді як кверцетин може додатково потенціювати цей ефект завдяки вираженим антиоксидантним властивостям і здатності знижувати рівень оксидативного стресу в запальних тканинах [36, 44].

Проте, незважаючи на високу протинабрякову ефективність диклофенаку натрію, комбіноване застосування кверцетину та пропоксазепаму може розглядатися як перспективний варіант для тривалого протизапального лікування. Це зумовлено тим, що тривале застосування диклофенаку не усуває патогенетичних механізмів запального процесу та асоціюється з ризиком численних побічних ефектів. У зв’язку з цим розробка та впровадження безпечних лікарських засобів із протизапальною дією залишається актуальним завданням сучасної медицини та фармації.

За результатами дослідження на моделі гострого карагінан-індукованого запалення встановлено, що субплантарне введення 1 %

карагінану викликає виражений ексудативний набряк ураженої кінцівки щурів із максимумом на 4-ту годину, що підтверджувалося достовірним зростанням морфометричних показників висоти та ширини. Одночасно розвивалася системна запальна реакція та активація пероксидного окиснення ліпідів: у сироватці крові та в тканинах ділянки набряку підвищувалась активність еластази й кислої фосфатази, а також зростав вміст МДА.

Профілактичне застосування кверцетину забезпечувало достовірне зменшення інтенсивності набряку, більш виражене за показником висоти, ніж ширини, та супроводжувалося зниженням біохімічних маркерів запалення і, особливо, вмісту МДА, що свідчить про значну антиоксидантну дію кверцетину в умовах гострого запального процесу. Диклофенак натрію характеризувався найвищою протинабряковою ефективністю і практично нівелював морфометричні прояви запалення до 24-ї години, водночас за показником антиоксидантного ефекту (вміст МДА) кверцетин демонстрував більш виражене гальмування ліпопероксидації.

Пропоксазепам проявляв протинабрякову активність, зіставну з кверцетином, і також зменшував прояви запальної реакції за морфометричними та біохімічними критеріями. Найбільш виражений ефект серед досліджуваних схем (за винятком референтного препарату) забезпечувала комбінація кверцетину з пропоксазепамом: показники набряку були достовірно нижчими порівняно не лише з контролем, але й з окремим введенням кожної сполуки, що може вказувати на потенційне взаємопідсилення протизапальної дії, особливо за параметром висоти лапи.

Таким чином, кверцетин, пропоксазепам і їх поєднання достовірно знижували прояви карагінан-індукованого запалення; комбіноване застосування забезпечувало більш виражене зменшення набряку порівняно з однокомпонентною корекцією, що обґрунтовує перспективність подальшого дослідження цієї комбінації в умовах хронічних станів.

Результати досліджень наведених у даному розділі викладені в публікаціях автора:

1. Молодан, Ю. О., Ларіонов, В. Б. Порівняльна оцінка активності кверцетину та диклофенаку натрію на моделі карагінанового запалення у щурів. *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2024. Т. 29, вип. 2(55). С. 87–99. https://doi.org/10.18524/2077-1746.2024.2(55).320489.

2. Молодан Ю. О., Макаренко О. А. Ларіонов, В. Б. Дослідження впливу кверцетину, пропоксазепаму та їх спільного застосування на перебіг експериментального карагінанового запалення у щурів. *Актуальні проблеми транспортної медицини.* 2025. № 4 (82), С. 150-155. *DOI:* https://zenodo.org/records/18063468.

3. Молодан Ю. О., Макаренко О. А.1, Ларіонов В. Б., Борисюк І. Ю. Модель карагінан-індукованого запалення у щурів як один з методів оцінки протизапальної активності біофлавоноїду кверцетину. *Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку [Електронний ресурс] : тези допов. всеукр. наук.-практич. конф. з міжнарод. участю,* 9–12 квітня 2024, Одеса . Одес. нац. ун-т ім. І.І. Мечникова, м. Одеса, Україна, С. 110-112.

4. Molodan Yu. O. Conparative evalution of the bioflavanoid quercetin and diclofenac sodium effects on inflammation in rats. *Proceedings of IX International Scientific and Practical Conference,* 6-8 May 2024. – P. 45-49.

5. Molodan Yu. O. Analysis of the influence of the bioflavanoid quercetin and diclofenac sodium on the course of the inflammation process in the carrageenan inflammation model in rats under diffetent conditions of administration. *VI науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації.* – 16.05.24. – С. 41-42.

6. Молодан Ю. О., Макаренко О. А. Дослідження протизапальної дії кверцетину. VII науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «*Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція»*, Харків. – матеріали internet-конференції, м. Харків, 14 листопада 2024 р. Х.: НФаУ. – 2024, – С. 243-244.

7. Молодан Ю. О. Нові підходи до фармакологічної корекції запалення:

експериментальне обґрунтування ефективності комбінацій кверцетину, пропоксазепаму та диклофенаку натрію. *Міжнародний науково-практичний форум «Медицина сьогодення і майбутнього: тенденції, виклики та перспективи розвитку системи охорони здоров'я*. 05.12.2025. – С.199- 201. https://doi.org/10.36059/978-966-397-559-7-60

РОЗДІЛ 5
ПРОТИЗАПАЛЬНА, АНТИУЛЬЦЕРОГЕННА ТА АНТИОКСИДАНТНА ЕФЕКТИВНІСТЬ КВЕРТУЛІНУ ТА ПРОПОКСАЗЕПАМУ У СЛИЗОВИХ ОБОЛОНКАХ ТРАВНОГО ТРАКТУ ЩУРІВ ПРИ ІНТОКСИКАЦІЇ ПЕРХЛОРАТОМ КАЛІЮ

За умов тиреоїдної дисфункції під впливом перхлоратів формується комплексний патологічний процес, що включає зміни показників периферійної крові, активацію процесів ліпопероксидації та локальні запально-деструктивні ушкодження органів-мішеней [23, 55]. Раніше перхлорати застосовували як засоби при тиреотоксикозі та гіпертиреозі, але нині їх не використовують через потужні окислювальні властивості. Вони здатні приймати електрони від інших молекул з утворенням АФК, що пошкоджують білки, ліпіди мембран та ДНК. Наші результати прогнозування токсичності перхлоратів *in silico* показали виражений системний токсикологічний потенціал цих сполук, який супроводжується індукцію оксидативного стресу та запальних реакцій.

Слизові оболонки травного тракту першими контактують з перхлоратами при надходження їх із води чи їжі. У зв’язку з цим у даному розділі проведено комплексну оцінку протизапальної, антиоксидантної та антиульцерогенної ефективності квертуліну та пропоксазепаму з аналізом системних гематологічних і біохімічних показників, а також морфологічних і тканинних біохімічних змін слизових оболонок порожнини рота, шлунка, тонкої та товстої кишки щурів за умов перхлорат-індукованої інтоксикації.

5.1 Динаміка маси тіла щурів за умов перхлорат-індукованої інтоксикації та її фармакологічної корекції

Для оцінки загальної реакції організму на тривалу інтоксикацію перхлоратом калію було проаналізовано динаміку маси тіла щурів (табл. 5.1).

Таблиця 5.1

Динаміка маси тіла щурів за умов інтоксикації перхлоратом калію та її профілактичній корекції

Групи щурів	Маса тіла щурів		Абсолютний приріст маси тіла, г	Відносний приріст маси тіла, %
	на початок досліду, г	через 40 днів, г		
інтактна	210,7 ± 9,2	232,8 ± 8,5	22,1 ± 1,7	10,5
Перхлорат калію	231,5 ± 10,7 p > 0,05	229,3 ± 9,1 p > 0,05	-1,2 ± 0,3 p < 0,001	0,52 p < 0,001
Перхлорат калію + L-тироксин	223,6 ± 9,4 p > 0,05 p_1 > 0,05	250,5 ± 11,2 p > 0,05 p_1 > 0,05	26,9 ± 2,9 p > 0,05 p_1 < 0,001	12,0 p > 0,05 p_1 < 0,001
Перхлорат калію + квертулін + пропоксезепам	224,3 ± 8,9 p > 0,05 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05	249,7 ± 10,8 p > 0,05 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05	25,4 ± 1,9 p > 0,05 p_1 < 0,001 p_2 > 0,05	11,3 p > 0,05 p_1 < 0,001 p_2 > 0,05

Примітка: p − достовірність відмінностей до показника інтактної групи; p_1 – достовірність відмінностей до показника групи «перхлорат калію»;
p_2 – достовірність відмінностей до показника групи «перхлорат калію + L-тироксин».

Аналіз динаміки маси тіла щурів показав, що тривале введення перхлорату калію супроводжувалося вираженим порушенням приросту маси тіла тварин. Якщо у інтактній групі за 40 днів експерименту маса тіла збільшувалася з 210,7 ± 9,2 г до 232,8 ± 8,5 г, а абсолютний приріст становив 22,1 ± 1,7 г (відносний – 10,5 %), то у щурів групи перхлорату калію приріст маси тіла практично був відсутній. Кінцева маса тіла цих тварин становила 229,3 ± 9,1 г, що статистично не відрізнялося від початкового рівня (p > 0,05), тоді як абсолютний приріст набував від'ємного значення (–1,2 ± 0,3 г; p < 0,001), а відносний приріст складав лише 0,52 %. Такі зміни свідчать про пригнічення анаболічних процесів та розвиток метаболічних порушень за умов тривалої інтоксикації перхлоратом калію.

Введення L-тироксину на тлі інтоксикації перхлоратом калію супроводжувалося відновленням приросту маси тіла щурів. Через 40 днів

експерименту маса тіла у цій групі зростала до 250,5 ± 7,2 г ($p > 0,05$), а абсолютний приріст становив 26,9 ± 2,9 г, що достовірно перевищувало показники в групі перхлорату калію ($p_1 < 0,001$) і навіть перевищувало значення інтактних тварин. Відносний приріст маси тіла досягав 12,0 %, що може бути пов'язано з активацією обмінних процесів під впливом гормональної корекції.

У групі щурів, які отримували комбінацію квертуліну з пропоксазепамом, також відзначали виражене відновлення приросту маси тіла. Кінцева маса тіла становила 249,7 ± 6,8 г, що було достовірно вищим порівняно з групою перхлорату калію ($p_1 < 0,01$). Абсолютний приріст маси тіла досягав 25,4 ± 1,9 г, перевищуючи значення інтоксикованих тварин ($p_1 < 0,001$) та не відрізняючись від показників групи L-тироксину ($p_2 > 0,05$). Відносний приріст становив 11,3 %, що наближалося до інтактного рівня.

Таким чином, встановлено, що у тварин групи перхлорату калію відзначалося зниження темпів приросту маси тіла порівняно з інтактною групою, що може бути пов'язано з розвитком тиреоїдної дисфункції та метаболічних порушень за умов хронічного впливу токсиканта [38, 41]. Застосування L-тироксину сприяло нормалізації маси тіла, що узгоджується з його гормональним впливом на метаболічні процеси. Водночас профілактичне введення квертуліну у поєднанні з пропоксазепамом забезпечувало стабілізацію показників маси тіла без ознак надмірної гормональної стимуляції, що може свідчити про м'який системний коригуючий ефект комбінованої терапії.

5.2 Аналіз лейкоцитарної формули периферійної крові щурів та індексів системного запалення

Для оцінки системних порушень, індукованих тривалим введенням перхлорату калію, було проаналізовано гематологічні показники периферійної крові щурів, зокрема кількість еритроцитів, лейкоцитів і тромбоцитів. Коливання цих параметрів відображають стан життєво

важливих функцій організму, таких як енергозабезпечувальна, захисна та гемостатична. У зв'язку з цим на даному етапі роботи було визначено вплив перхлорату калію та різних варіантів фармакологічної корекції на особливості гематологічних показників та лейкоцитарної формули периферичної крові щурів. Результати цього дослідження наведені у таблиці 5.2.

Тривала інтоксикація перхлоратом калію призвела до зниження кількості еритроцитів на 24,8 % у крові щурів, що говорить про формування анемічного стану (6,52 ± 0,26 проти 4,90 ± 0,18; $p < 0,01$). Цей факт пояснюється гальмуванням еритропоезу в умовах тиреоїдної недостатності. Загальне число лейкоцитів у крові щурів, яким моделювали інтоксикацію перхлоратом калію, збільшилося на 39,3 % ($p < 0,01$), що може свідчити про розвиток імунної дисфункції зі схильністю до інфекцій у цих тварин. Зміни кількості тромбоцитів були статистично не значущі як в умовах інтоксикації перхлоратом калію, так після фармакокорекції ($p > 0,05$, табл. 5.2).

Введення L-тироксину щурам з інтоксикацію перхлоратом калію, викликало зріст числа еритроцитів у крові тварин 3-ої групи на 26,1 % до рівня у інтактних тварин ($p > 0,05$), при цьому відмінності порівняно з групою перхлорату калію були статистично значущими ($p_1 < 0,05$). Це підтверджує участь тироксину в регуляції еритропоезу. Подібний протианемічний ефект у вигляді тенденції до збільшення кількості еритроцитів на 21,6 % спостерігали і за умов профілактичного застосування квертуліну в комбінації з пропоксазепамом, однак ці зміни не досягли рівня статистичної достовірності порівняно зі значеннями у групі перхлорату калію ($p_1 > 0,05$) та не відрізнялись від показників інтактної групи ($p > 0,05$).

У крові тварин на тлі інтоксикації перхлоратом під впливом L-тироксину намітилася тенденція до зниження кількості лейкоцитів на 8,9 %, однак ці зміни не досягли статистичної достовірності ($p_1 > 0,05$).

Таблиця 5.2

Гематологічні показники периферійної крові щурів при інтоксикації перхлоратом калію та її корекції

Показник	Групи тварин			
	Інтактна (n = 7)	Перхлорат калію (n = 7)	Перхлорат калію + L-тироксин (n = 8)	Перхлорат калію + квертулін+ пропоксазепам (n = 7)
Еритроцити, 10^{12}/л	6,52 ± 0,26	4,90 ± 0,18 p < 0,01	6,18 ± 0,34 p > 0,05 p_1 < 0,05	5,96 ± 0,47 p > 0,05 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05
Лейкоцити, 10^9/л	64,15± 2,48	89,37 ± 5,21 p < 0,01	81,42 ± 4,35 p < 0,05 p_1 > 0,05	70,05 ± 3,84 p > 0,05 p_1 < 0,05 p_2 > 0,05
Тромбоцити, 10^9/л	169,1± 14,7	148,2 ± 9,25 p > 0,05	162,4 ± 12,7 p > 0,05 p_1 > 0,05	153,9 ± 10,8 p > 0,05 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05
Нейтрофіли п/я,%	2,00 ± 0,15	1,50 ± 0,10 p < 0,05	1,00 ± 0,08 p < 0,001 p_1 < 0,05	2,40 ± 0,08 p > 0,05 p_1 < 0,01 p_2 < 0,01
Нейтрофіли с/я,%	19,50 ±1,50	17,25 ±1,25 p > 0,05	28,75 ± 1,75 p < 0,01 p_1 < 0,001	21,50 ± 1,50 p > 0,05 p_1 > 0,05 p_2 < 0,01
Еозинофіли, %	1,25 ± 0,10	2,25 ± 0,12 p < 0,01	3,00 ± 0,15 p < 0,001 p_1 < 0,01	2,60 ± 0,20 p < 0,01 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05
Лімфоцити, %	72,50 ±2,50	76,50 ±2,75 p > 0,05	62,50 ±2,50 p < 0,05 p_1 < 0,01	69,25 ± 2,25 p > 0,05 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05
Моноцити, %	4,75 ± 0,30	2,50 ± 0,20 p < 0,01	4,75 ± 0,25 p > 0,05 p_1 < 0,001	4,25 ± 0,30 p > 0,05 p_1 < 0,001 p_2 > 0,05

Примітка: п/я – паличкоядерні, с /я – сегментоядерні нейтрофіли,
p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі;
p_1 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію».
p_2 – достовірність відмінностей від показників групи «перхлорат калію + L-тироксин».

Більш ефективно попередило розвиток імунної дисфункції, викликаної перхлоратом калію, регулярне введення щурам комплексу квертулін і пропоксазепам – кількість лейкоцитів знизилася на 21,6 % і відповідала значенням у крові інтактних тварин ($p > 0,05$), водночас була достовірно нижчою порівно з групою перхлорату калію ($p_1 < 0,05$, табл. 5.2).

Аналіз лейкоцитарної формули показав, що у щурів, які отримували 1 % розчин перхлорату калію**,** відбувалися достовірні зміни у співвідношенні основних популяцій лейкоцитів. Зокрема, відзначали зсув лейкоцитарної формули, що свідчить про розвиток системних імунних порушень за умов тривалого впливу перхлорату калію. Отримані результати вказують на залучення клітинної ланки імунної системи до реалізації патологічних ефектів перхлорату, що узгоджується з уявленнями про системний характер тиреоїд-індукованих імунних зрушень.

Із наведених у таблиці 5.2 даних можна заключити, що тривале введення перхлорату калію призводить до достовірних змін окремих показників лейкоцитарної формули периферичної крові щурів. Так, у тварин, які отримували 1 % розчин перхлорату калію, відносний вміст еозинофілів достовірно збільшувався на 80,0 % ($p < 0,01$). Водночас кількість моноцитів знижувалася майже на 47,4 % ($p < 0,01$), що може свідчити про пригнічення моноцитарної ланки імунної відповіді. Вміст паличкоядерних нейтрофілів у цій групі зменшувався на 25,0 % ($p < 0,05$), тоді як зміни сегментоядерних нейтрофілів та лімфоцитів мали характер тенденції та не досягали рівня статистичної достовірності ($p > 0,05$, табл. 5.2). Таким чином, дія перхлорату калію супроводжувалася розвитком помірних імунних зрушень, що проявлялися переважно змінами еозинофільної та моноцитарної фракцій лейкоцитів.

Застосування L-тироксину на тлі інтоксикації перхлоратом калію призводило до суттєвої перебудови лейкоцитарної формули. У цій групі відзначалося достовірне зростання сегментоядерних нейтрофілів на 66,7 % ($p_1 < 0,001$). Одночасно відносний вміст лімфоцитів знижувався на 18,3 % (p_1

< 0,01), що свідчить про зменшення лімфоцитарного компоненту імунної відповіді та активацію фагоцитарної ланки імунітету.

У групі щурів, у яких на тлі введення перхлорату калію застосовували комбінацію квертуліну з пропоксазепамом, також реєстрували нормалізацію лейкоцитарного профілю. Зокрема, вміст лімфоцитів зменшувався на 9,5 % (p_1 < 0,05), тоді як кількість моноцитів зростала на 70,0 % (p_1 < 0,001), досягаючи рівня в інтактній групі (p > 0,05). Тобто під впливом комплексу відбулася нормалізація порушеної перхлоратом калію лімфоцитарної та моноцитарної фракцій лейкоцитів. Частка сегментоядерних нейтрофілів збільшилася на 24,6 % (p_1 < 0,05) і відповідала нормальному рівню (p > 0,05), однак залишалася нижчою, ніж показник у групі L-тироксину (p_2 < 0,01). Кількість паличкоядерних нейтрофілів також зросла на 37,5 % (p_1 < 0,01) і не відрізнялася від показників інтактних тварин (p > 0,05, табл. 5.2).

Відносний вміст еозинофілів у групі фармакологічної корекції квертуліном і пропоксазепамом залишилися підвищеними по відношенню до рівня в інтактній групі (p < 0,01, табл. 5.1). Водночас абсолютні значення еозинофілів відповідали фізіологічному діапазону (< 5 %), що не свідчить про формування виражених алергічних або токсичних реакцій.

Сучасні дослідження вказують на важливу роль системного запалення як індуктора розвитку поліорганних порушень в організмі за умов інтоксикації хімічними чинниками. У ході своїх досліджень взаємодії між гематологічними та запальними маркерами у пацієнтів з гіпоксичними станами Годованець О. С. запропонував ряд розрахункових індексів у якості основних інструментів для оцінки системного запалення та ефективності терапевтичних заходів [16]. А саме: співвідношення паличкоядерних нейтрофілів до лімфоцитів (Н/Л), співвідношення тромбоцитів до лімфоцитів (Т/Л), співвідношення моноцитів до лімфоцитів (М/Л), SII індекс системного імунного запалення (Т х Н/Л) і SIRI індекс відповіді на системне запалення (Н х М/Л). На підставі цього провели аналіз зазначених індексів у крові щурів, яких піддавали інтоксикації перхлоратом калію, та у тварин з

фармакокорекцією L-тироксином або квертуліном і пропоксазепамом (табл. 5.3).

Результати табл. 5.3 свідчать про значні порушення співвідношення показників загального аналізу крові та індексів системного запалення у щурів в умовах тривалого введення 1 % розчину перхлорату калію. Зокрема інтоксикація перхлоратом викликала зниження співвідношення Н/Л на 28, 6 %, Т/Л – на 16,7 %, М/Л – на 49,2 %. При цьому у крові щурів 2-ої групи індекс системного імунного запалення знизився у 1,6 рази, а індекс відповіді на системне запалення – у 2,7 рази.

Таблиця 5.3

Індекси системного запалення у периферійній крові щурів при інтоксикації перхлоратом калію та її профілактики

Індекси	**Групи тварин**			
	Інтактна	Перхлорат калію	Перхлорат калію + L-тироксин	Перхлорат калію + квертулін+ пропоксазепам
Співвідношення п/я нейтрофілів до лімфоцитів (Н/Л)	0,028	0,020	0,016	0,034
Співвідношення тромбоцитів до лімфоцитів (Т/Л)	2,33	1,94	2,60	2,22
Співвідношення моноцитів до лімфоцитів (М/Л)	0,065	0,033	0,076	0,061
Індекс системного імунного запалення (SII = T x Н/Л)	4,73	2,96	2,59	5,23
Індекс відповіді на системне запалення (SIRI = Н x М/Л)	0,130	0,049	0,076	0,146

Примітка: Н – п/я нейтрофіли, Л – лімфоцити, Т – тромбоцити, М – моноцити

Корекція L-тироксином сприяла відновленню у крові щурів 3-ої групи співвідношення Т/Л та М/Л до рівня близького у інтактних тварин, а також збільшила у 1,6 рази індекс відповіді на системне запалення, хоча він залишався значно нижчий від нормальних значень. На індекс системного

імунного запалення та співвідношення Н/Л введення L-тироксину не мало істотного впливу.

Застосування комплексу квертулін з пропоксазепамом у щурів 4-ої групи надало більш ефективну коригуючу дію на індекси системного запалення. Усі знижені перхлоратом калію показники під впливом регулярного введення квертуліну і пропоксазепаму збільшилися і відповідали значенням у крові інтактних тварин.

Таким чином, проведений аналіз гематологічних показників щурів підтвердив токсичну дію перхлорату калію, який викликав зниження кількості еритроцитів на тлі зросту числа лейкоцитів. Перхлорат калію призвів до розвитку помірних імунних зрушень, що проявлялися переважно змінами еозинофільної та моноцитарної фракцій лейкоцитів. Зрушення індексів системного запалення свідчить про недостатність імунної реактивності, схильності до інфекції та високий ризик розвитку поліорганної патології у тварин, які зазнали інтоксикацію перхлоратом калію протягом 40 днів. Застосування L-тироксину, у більшому ступеню комплексу квертуліну та пропоксазепаму, проявило профілактичні властивості до гематологічних показників, сприяючи їх нормалізації.

5.3 Стан системних біохімічних маркерів оксидативного стресу та запалення у сироватці крові

Оксидативно-запальні порушення розглядають як один із провідних механізмів ушкодження тканин за умов перхлорат-індукованої тиреоїдної дисфункції. У зв’язку з цим було проведено аналіз біохімічних показників сироватки крові, що відображають інтенсивність процесів ліпопероксидації, антиоксидантного захисту та запальної активності (табл. 5.4).

Аналіз отриманих результатів показав, що тривале введення 1 % розчину перхлорату калію призвело до виражених та статистично достовірних порушень процесів оксидативного гомеостазу та активації запальних процесів. Так, у сиротватці щурів з інтоксикацією перхлоратом

калію вміст малонового діальдегіду (МДА) достовірно підвищувався на 107,8 % ($p < 0,001$). Оскільки МДА є одним з кінцевих продуктів ліпопероксидації, його зростання розглядають як надійний маркер розвитку системного оксидативного стресу.

Таблиця 5.4

Біохімічні показники сироватки крові щурів на тлі введення перхлорату калію та після фармакологічної корекції

Показник	**Групи тварин**			
	Інтактна (n = 7)	Перхлорат калію (n = 7)	Перхлорат калію + L-тироксин (n =8)	Перхлорат калію + квертулін + пропоксазепам (n = 7)
Вміст МДА, ммоль/л	0,51 ± 0,04	1,06 ± 0,08 $p < 0,001$	0,85 ± 0,05 $p < 0,001$ $p_1 < 0,05$	0,58 ± 0,04 $p > 0,05$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$
Активність каталази, мкат/л	0,18 ± 0,01	0,27 ± 0,02 $p < 0,001$	0,24 ± 0,02 $p < 0,05$ $p_1 > 0,05$	0,21 ± 0,01 $p < 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
Активність еластази, мккат/л	169,4 ± 14,3	238,6 ± 19,8 $p < 0,05$	213,0 ± 16,3 $p > 0,05$ $p_1 > 0,05$	188,6 ± 15,4 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
Активність лужної фосфатази, мккат/л	1,73 ± 0,14	2,47 ± 0,18 $p < 0,01$	2,49 ± 0,21 $p < 0,01$ $p_1 > 0,05$	1,80 ± 0,15 $p > 0,05$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$

Примітка: p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі; p_1 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію».
p_2 – достовірність відмінностей від показників групи «перхлорат калію + L-тироксин».

Паралельно у сироватці крові тварин відзначали достовірне підвищення активності каталази на 50 % ($p < 0,001$), що свідчить про компенсаторну активацію антиоксидантної системи у відповідь на надмірне утворення активних форм кисню. Разом із цим активність еластази та лужної фосфатази, які є маркерами запалення та тканинної деструкції, також достовірно зросли – відповідно на 40,8 % ($p < 0,05$) та на 42,8 % ($p < 0,01$).

Сукупність цих змін свідчить про розвиток системних оксидативно-запальних порушень за умов перхлорат-індукованої інтоксикації.

Застосування L-тироксину як засобу фармакологічної корекції сприяло частковій нормалізації досліджуваних біохімічних показників у сироватці крові щурів. Зокрема, вміст МДА знизився на 19,8 % ($p_1 < 0,05$), хоча залишився достовірно вищим за показник у інтактній групі ($p < 0,001$). Активність каталази зменшилася до 0,24 ± 0,02 мкат/л, однак статистично не відрізнялася від рівня у групі перхлорату калію ($p_1 > 0,05$), що свідчить про збереження антиоксидантної напруги. Водночас активність еластази та лужної фосфатази у цій групі також не зазнавала достовірних змін ($p_1 > 0,05$), що вказує на обмежений вплив гормональної корекції на системні запально-деструктивні процеси.

Найбільш виражений нормалізуючий ефект було встановлено у групі щурів, яким на тлі інтоксикації перхлоратом калію вводили комбінацію квертуліну з пропоксазепамом. У сироватці крові цих тварин вміст МДА знизився на 45,3 % ($p_1 < 0,01$; $p_2 < 0,01$) і не відрізнявся від рівня в інтактній групі ($p > 0,05$), що свідчить про ефективне гальмування процесів ліпопероксидації. Активність каталази достовірно знизилася порівняно з показником у групі перхлорату калію, при цьому її рівень відповідав значенню у інтактних тварин. Одночасно спостерігалося статистично значуще зменшення активності еластази, а також зниження активності лужної фосфатази, рівень якої був нижче ніж у групі перхлорату калію, так і у групі L-тироксину. Це свідчить про пригнічення системної запальної та деструктивної активності.

Узагальнюючи дані таблиці 5.4, можна зробити висновок, що тривале введення 1 % розчину перхлорату калію зумовлює формування системного оксидативного стресу та активацію запально-деструктивних процесів, що проявляється підвищенням вмісту МДА і зростанням активності каталази, еластази та лужної фосфатази у сироватці крові [42]. Застосування L-тироксину забезпечило часткову корекцію оксидативного компонента, однак

мало обмежений вплив на маркери запальної активності. Натомість комбіноване введення квертуліну з пропоксазепамом сприяє більш повній нормалізації системних біохімічних показників.

5.4 Морфологічна оцінка ерозивно-виразкових уражень слизової оболонки шлунка щурів при перхлорат-індукованій інтоксикації та за умов фармакологічної корекції

На наступному етапі дослідження було проведено оцінку антиульцерогенної ефективності різних варіантів фармакологічної корекції за морфологічними показниками стану слизової оболонки шлунка щурів. Результати дослідження узагальнені в таблиці 5.5.

Таблиця 5.5

Показники виразкового ураження слизової оболонки шлунка щурів при інтоксикації перхлоратом калію та після фармакологічної корекції

Групи щурів	% щурів з виразками	Кількість виразок і ерозій, n	Площа виразок на 1 щура, мм2	Індекс Паулса, ум. од
Інтактна	0	0	0	0
Перхлорат	100	58 ± 4,1 p < 0,001	41,65 ± 3,76 p < 0,001	0,58 ± 0,4 p < 0,001
Перхлорат + L-тироксин	71,4 (5 з 7)	32 ± 2,8 p < 0,001 p_1 < 0,01	24,56 ± 2,43 p < 0,001 p_1 < 0,001	0,32 ± 0,4 p < 0,001 p_1 < 0,001
Перхлорат +квертулін пропоксезепам	42,8 (3 з 7)	11 ± 1,8 p < 0,001 p_1 < 0,001 p_2 < 0,001	5,83 ± 0,64 p < 0,01 p_1< 0,001 p_2 < 0,001	0,11 ± 0,02 p > 0,05 p_1< 0,001 p_2 < 0,05

Примітка: p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі;
p_1 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію»,
p_2 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію + L-тироксин».

Аналіз даних, наведених у таблиці, свідчить, що тривала інтоксикація перхлоратом калію призводить до розвитку вираженого ерозивно-виразкового ураження слизової оболонки шлунка. У 100 % щурів цієї групи виявляли наявність виразок та ерозій, загальна кількість яких становила 58 ±

4,1, а площа виразкових дефектів на одного щура досягала 41,7 ± 3,8 мм². Індекс Паулса в умовах перхлорат-індукованої інтоксикації зростав до 41,7 ± 3,4, що достовірно перевищувало показники інтактної групи ($p < 0,001$) і вказує на істотне порушення бар'єрної функції слизової оболонки шлунка.

Застосування L-тироксину на тлі інтоксикації перхлоратом калію супроводжувалося частковим зменшенням вираженості виразкового процесу. У цій групі частка тварин з ерозивно-виразковими ушкодженнями знижувалася до 71,4 %, кількість виразок і ерозій – до 32 ± 2,8, а площа уражень на одного щура – до 24,6 ± 2,4 мм². Індекс Паулса зменшувався більш ніж у 2 рази порівняно з групою перхлорату калію і становив 17,6 ± 0,9 ($p_1 < 0,001$). Водночас зазначені показники залишалися достовірно вищими за значення інтактної групи ($p < 0,001$), що свідчить про обмежену антиульцерогенну ефективність терапії L-тироксином.

Найбільш виражений захисний ефект щодо слизової оболонки шлунка було встановлено у групі щурів, у яких на тлі інтоксикації перхлоратом калію застосовували комбінацію квертуліну з пропоксазепамом. У цій групі ерозивно-виразкові ураження виявляли лише у 42,8 % тварин, а загальна кількість виразок і ерозій зменшувалася до 11 ± 1,8, що у 5,3 рази менше ніж у групі перхлорату калію ($p_1 < 0,001$) та у 2,9 рази менше порівняно з рівнем у групі L-тироксину ($p_2 < 0,001$). Площа виразкових дефектів на одного щура знижувалася до 5,8 ± 0,6 мм², а індекс Паулса – до 2,4 ± 0,3, що було достовірно нижчим як по відношенню до значень у групі перхлорату калію ($p_1 < 0,001$), так і у групі L-тироксину ($p_2 < 0,05$).

Результати табл. 5.5 свідчать про розвиток виражених структурних порушень слизової оболонки шлунка у щурів, яким тривало вводили перхлорат калію, що може бути зумовлено індукцією системного оксидативного стресу та активацією запальних процесів [38]. Зниження захисних властивостей гастродуоденальної слизової оболонки за таких умов створює передумови формування ерозивно-виразкових уражень.

5.5 Біохімічні показники запалення та окислювального стресу в слизових оболонках травного тракту щурів при інтоксикації перхлоратом калію та її фармакологічній корекції

Слизові оболонки травного тракту є важливою бар'єрною системою організму, що першою реагує на дію токсичних чинників і відображає розвиток локальних запально-деструктивних та оксидативних змін за умов системних метаболічних порушень. Тривала інтоксикація перхлоратом калію, як показано вище, призводить до порушення структури, трофіки слизової оболонки шлунку, що може бути наслідком активації запальних процесів та інтенсифікації перекисного окиснення ліпідів у травного тракту.

З метою комплексної оцінки характеру локальних ушкоджень було проведено визначення біохімічних маркерів запалення, дисбіозу та оксидативного стресу в слизових оболонках порожнини рота, шлунка, тонкої та товстої кишки щурів. Аналіз здійснювали за активністю кислої фосфатази та еластази – показників запальної реакції, активністю уреази – маркера мікробного дисбалансу, а також за вмістом малонового діальдегіду, що відображає інтенсивність процесів ліпопероксидації та активністю каталази – ферменту антиоксидантного захисту.

Активність кислої фосфатази розглядають як один із провідних біохімічних маркерів розвитку запально-деструктивних процесів у слизових оболонках травного тракту. Даний фермент відображає інтенсивність лізосомальних реакцій та макрофагально-нейтрофільної активації у тканинах, що супроводжує формування локального запалення. Результати дослідження активності кислої фосфатази у слизових оболонках порожнини рота, шлунка, тонкої та товстої кишки щурів представлені у таблиці 5.6.

За умов тривалої інтоксикації перхлоратом калію у слизових оболонках травного тракту щурів відзначалося достовірне підвищення активності кислої фосфатази (табл. 5.4). Зокрема, у слизовій оболонці порожнини рота показник зростав на 33,0 % ($p < 0,05$), у шлунку – на 50,5 % ($p < 0,01$), у тонкій кишці – на 24,8 % ($p < 0,01$), а у товстій кишці – на 53,5 %, $p < 0,001$).

Отримані дані свідчать про активацію лізосомальних ферментативних систем та розвиток запального процесу у слизових оболонках травного тракту щурів, що індуковано тривалим введенням перхлорату калію.

Таблиця 5.6

Активність кислої фосфатази у слизових оболонках травного тракту щурів при моделюванні перхлоратної інтоксикації та після фармакологічної корекції, мккат/кг

Групи щурів	**Слизова оболонка**			
	порожнини рота	шлунка	тонкої кишки	товстої кишки
Інтактна (n = 7)	15,42 ± 1,25	27,59 ± 1,34	39,71 ± 1,88	12,57 ± 0,96
Перхлорат калію (n = 7)	20,50 ± 1,82 p < 0,05	41,50 ± 2,17 p < 0,01	49,66 ± 2,24 p < 0,01	19,29 ± 1,20 p < 0,001
Перхлорат калію + L-тироксин (n=8)	18,77 ± 1,32 p < 0,05 p_1 > 0,05	38,99 ± 2,12 p < 0,01 p_1 > 0,05	43,05 ± 1,92 p > 0,05 p_1 < 0,05	16,18 ± 1,10 p < 0,05 p_1 > 0,05
Перхлорат калію + квертулін + пропоксазепам (n = 7)	16,88 ± 1,18 p > 0,05 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05	30,08 ± 2,24 p > 0,05 p_1 < 0,01 p_2 < 0,05	41,55 ± 2,15 p > 0,05 p_1 < 0,05 p_2 > 0,05	15,10 ± 1,22 p > 0,05 p_1 < 0,05 p_2 > 0,05

Примітка: p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі;
p_1 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію»,
p_2 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію + L-тироксин».

Використання L-тироксину на тлі перхлоратної інтоксикації окреслило тенденцію до зниження активності кислої фосфатази відносно рівня цього показника у групі інтоксикації: у слизовій оболонці порожнини рота маркер запалення зменшився на 8,4 % (p_1 > 0,05), у шлунку – на 6,1 % (p_1 > 0,05), у тонкій кишці – на 13,3 % (p_1 < 0,05) та у товстій кишці – на 16,2 % (p_1 > 0,05). Статистично значуще зменшення активності кислої фосфатази спостерігалося тільки у слизовій оболонці тонкої кишки (p_1 < 0,05), тоді як у інших відділах травного тракту вірогідних відмінностей від рівня показника у групі з інтоксикацією не виявлено (p_1 > 0,05).

Комбіноване застосування квертуліну з пропоксазепамом призвело до

більш вираженого зниження активності кислої фосфатази, причому у порожнині рота показник знизився на 17,7 % (хоча $p_1 > 0,05$) і не відрізнявся від інтактної групи ($p > 0,05$). У шлунку активність ферменту зменшилася на 27,5 % ($p_1 < 0,01$; $p_2 < 0,05$), що свідчить про більш виражений коригувальний ефект порівняно з однокомпонентною корекцією L-тироксином. У тонкій кишці та товстій кишці активність кислої фосфатази була меншою від рівня маркеру у 2-ої групі на 16,3 % та 21,7 %, відповідно. Рівень активності кислої фосфатази після профілактики комплексом препаратів відповідав нормальним значенням у всіх слизових оболонках травного тракту тварин, яких піддавали інтоксикації перхлоратом калію ($p > 0,05$, табл. 5.6).

Аналогічно до змін активності кислої фосфатази, при тривалій інтоксикації перхлоратом калію у слизових оболонках травного тракту щурів встановлено підвищення активності еластази – одного з ключових ферментативних маркерів запалення та деструкції тканин (табл. 5.7).

У тварин групи 2-ої групи з інтоксикацією перхлоратом калію активність еластази достовірно зростала відносно рівня в інтактній групі в усіх досліджуваних відділах травного тракту: у слизовій оболонці порожнини рота – на 38,9 % ($p < 0,01$), у шлунку на 32,8 % ($p < 0,01$), у тонкій кишці - на 14,2 % ($p < 0,01$), а у товстій кишці – на 42,7 % ($p < 0,01$).

Оскільки нейтрофільна еластаза – провідна ефекторна протеїназа, яка пошкоджує епітеліальний бар'єр та викликає запалення в слизових оболонках травного тракту при захворюваннях, отримані результати свідчать про активацію протеолітичних процесів та формування вираженої запальної відповіді у тканинах слизових оболонок на тлі перхлорат-індукованих метаболічних порушень.

Профілактичне введення L-тироксину щурам 3-ої групи не супроводжувалося достовірним зниженням активності еластази відносно значень цього маркеру в групі інтоксикації ($p_1 > 0,05$). При цьому рівень активності ферменту залишався достовірно вищим за показником у інтактній групі у всіх досліджуваних відділах травного тракту ($p < 0,01$-$0,05$), що

свідчить про активний процес запалення (табл. 5.7).

Отримані результати свідчать про збереження високої інтенсивності протеолітичних процесів та недостатню ефективність окремого введення тироксину щодо нормалізації локального запалення слизових оболонок.

Таблиця 5.7

Активність еластази у слизових оболонках травного тракту щурів на тлі введення перхлорату калію та після фармакологічної корекції, мккат/кг

Групи щурів	**Слизова оболонка**			
	порожнини рота	шлунка	тонкої кишки	товстої кишки
Інтактна (n = 7)	90,2 ± 6,32	107,8 ± 5,19	1,30 ± 0,05	105,30 ± 9,20
Перхлорат калію (n = 7)	125,3 ± 6,84 p < 0,01	143,2 ± 7,26 p < 0,01	1,85 ± 0,10 p < 0,01	150,25 ±11,43 p < 0,01
Перхлорат калію + L-тироксин (n =8)	109,8 ± 3,06 p < 0,05 p_1 > 0,05	141,6 ± 6,22 p < 0,01 p_1 > 0,05	1,60 ± 0,09 p < 0,05 p_1 > 0,05	130,44 ± 9,10 p < 0,05 p_1 > 0,05
Перхлорат калію + квертулін + пропоксазепам (n = 7)	97,0 ± 3,14 p > 0,05 p_1< 0,01 p_2 < 0,05	124,7 ± 8,30 p > 0,05 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05	1,48 ± 0,11 p > 0,05 p_1 < 0,05 p_2 > 0,05	118,53 ± 10,22 p > 0,05 p_1 < 0,05 p_2 > 0,05

Примітка: p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі;
p_1 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію»,
p_2 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію + L-тироксин».

Більш виражений коригувальний ефект запальних процесів встановлено при комбінованому застосуванні квертуліну з пропоксазепамом у щурів з інтоксикацією перхлоратом калію. У тварин 4-ї групи активність еластази у слизовій оболонці порожнини рота знижувалася на 22,6 % і не відрізнялася від рівня у здорових тварин (p > 0,05; p_1 < 0,01). Аналогічна тенденція до нормалізації спостерігалася у тонкій та товстій кишках, де показник знизився на 20,0 % та 21,2 %, відповідно, (p > 0,05; p_1 < 0,05). У слизовій оболонці шлунку активність ферменту зменшилася на 12,9 % та залишилася дещо підвищеною по відношенню до рівня в інтактній групі.

Отримані результати (табл. 5.6 і 5.7) свідчать про індукцію перхлоратом калію запальних процесів у травному тракті щурів, яка проявляється зростанням активності кислої фосфатази та еластази у слизових оболонках ШКТ. Профілактичне введення композиції препаратів квертулін і пропоксазепам ефективно гальмувало збільшення маркерів запалення у травному тракті щурів в умовах інтоксикації перхлоратом та викликало більш виражений протизапальний ефект порівняно з L-тироксином. Гормонзамісна профілактика L-тироксином за показниками активності кислої фосфатази і еластази не призвела суттєвих протизапальних ефектів у травному тракті за умов інтоксикації перхлоратом, що вказує на пряму ушкоджуючу запальну дію перхлорату калію у слизових оболонках. Отримані результати вказують також на перспективність застосування комбінації препаратів квертулін і пропоксазепам для профілактики запальних уражень травного тракту різного генезу.

Уреаза є продуктом умовно-патогенних бактерій й не виробляється тканинами тваринного організму чи нормобіотою, що дозволяє розглядати її як біохімічний індикатор бактеріальної контамінації слизових оболонок травного тракту. Дослідження активності уреази у слизових оболонках травного тракту щурів представлено в таблиці 5.8. За умов тривалої інтоксикації перхлоратом калію в слизових оболонках травного тракту щурів відзначалося істотне підвищення активності уреази порівняно з інтактною групою, що свідчить про зростання бактеріального обсіменіння та розвиток дисбіотичних змін ($p < 0,001$).

Зокрема, у слизовій оболонці порожнини рота цей показник збільшився у 2,1 рази ($p < 0,001$), у шлунку та тонкій кишці – у 1, 8 разів ($p < 0,001$), а у товстій кишці – у 4,7 разів ($p < 0,001$). Найбільш виражені зміни реєстрували у порожнині рота та товстій кишці, що може свідчити про підвищену чутливість цих відділів травного тракту до розвитку мікробного дисбалансу під впливом перхлорату калію.

Таблиця 5.8

Показники уреази у слизових оболонках травного тракту щурів на тлі введення перхлорату калію та після фармакологічної корекції, мккат/кг

Групи щурів	**Слизова оболонка**			
	порожнини рота	шлунка	тонкої кишки	товстої кишки
Інтактна (n = 7)	0,91 ± 0,06	0,48 ± 0,03	3,54 ± 0,23	0,238 ± 0,012
Перхлорат калію (n = 7)	1,92 ± 0,11 p < 0,001	0,86 ± 0,05 p < 0,001	6,50 ± 0,31 p < 0,001	1,121 ± 0,08 p < 0,001
Перхлорат калію + L-тироксин (n =8)	1,69 ± 0,09 p < 0,001 p_1 > 0,05	0,71 ± 0,04 p < 0,01 p_1 < 0,05	5,47 ± 0,28 p < 0,001 p_1 < 0,05	0,768 ± 0,015 p < 0,001 p_1< 0,001
Перхлорат калію + квертулін + пропоксазепам (n = 7)	1,20 ± 0,10 p < 0,05 p_1< 0,001 p_2 < 0,01	0,55 ± 0,03 p > 0,05 p_1 < 0,01 p_2 < 0,01	4,09 ± 0,30 p > 0,05 p_1 < 0,001 p_2 < 0,01	0,357 ± 0,018 p < 0,01 p_1< 0,001 p_2 < 0,001

Примітка: p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі;
p_1 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію»,
p_2 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію + L-тироксин».

Профілактичне введення L-тироксину на тлі перхлоратної інтоксикації супроводжувалося частковим зниженням активності уреази. У порожнині рота показник зменшився на 12,0 %, однак достовірних відмінностей від його рівня у групі перхлорату калію не виявлено (p_1 > 0,05), що свідчить про недостатню ефективність однокомпонентної корекції в цьому відділі. У слизових оболонках шлунка та тонкої кишки відзначалося помірне зниження активності уреази на 17,4 % і 15,8 %, відповідно (p_1 < 0,05), тоді як у товстій кишці відзначалося більш виражене зменшення показника – на 31,5 % (p_1 < 0,001). Незважаючи на позитивну динаміку, значення активності уреази залишалися достовірно вищими за показники у інтактній групі (p < 0,001-0,01), що демонструє збільшену присутність умовно-патогенних бактерій та неповну нормалізацію мікробного балансу у травному тракті щурів, які отримували L-тироксин на тлі перхлорату калію.

Комбіноване застосування квертуліну з пропоксазепамом забезпечувало більш виражений коригувальний ефект активності уреази. У

слизовій оболонці порожнини рота активність ферменту знизилася на 35,7 % ($p < 0,05$; $p_1 < 0,001$), у шлунку – на 36,0 %, ($p > 0,05$, $p_1 < 0,01$), а у тонкій кишці – на 37,0 % ($p > 0,05$, $p_1 < 0,001$), що не відрізнялося від рівня в інтактній групі. У слизовій оболонці товстої кишки щурів 4-ої групи показник бактеріального обсіменіння знизився на 68,2 %, хоча і залишався дещо підвищеним по відношенню до значень у інтактних тварин ($p < 0,01$), але був достовірно нижчим за рівнем цього маркеру у групах перхлоратної інтоксикації та L-тироксину ($p_1 < 0,001$; $p_2 < 0,001$). Порівняння ефективності двох методів профілактики по відношенню до активності уреази показало статистично значущу перевагу комбінації квертуліну з пропоксазепамом над L-тироксином в усіх відділах травного тракту ($p_2 < 0,01$ або $p_2 < 0,001$, табл. 5.8). Отримані данні щодо змін активності уреази у слизових оболонках свідчать про здатність перхлоратів напряму пригнічувати нормобіоту травного тракту, а також про те, що дія цих токсинів на сапрофітну мікробіоту не опосередкована втручанням у функцію щитовидної залози.

Малоновий діальдегід є кінцевим продуктом пероксидації ліпідів, тому його рівень відображає ступень оксидативного стресу. Дослідження вмісту МДА продемонструвало суттєві зміни рівня цього маркера у слизових оболонках травного тракту щурів за умов перхлоратної інтоксикації та при застосуванні різних варіантів фармакологічної корекції (табл. 5.9).

За тривалого введення перхлорату калію у всіх досліджуваних відділах травного тракту спостерігалося достовірне підвищення вмісту МДА відносно його рівня в інтактній групі. Зокрема, у слизовій оболонці порожнини рота показник зріс на 46,7 % ($p < 0,01$), у шлунку – на 75,8 % ($p < 0,01$), у тонкій кишці – на 76,7 % ($p < 0,001$), а у товстій кишці – на 75,6 % ($p < 0,001$). Найбільш виражене відносне зростання показника відзначалося у шлунку, тонкій та товстій кишках, що свідчить про активацію процесів ліпопероксидації та формування оксидативного стресу у слизових оболонках травного тракту під впливом перхлорату калію та може бути одним із провідних механізмів їх ушкодження.

Таблиця 5.9

Показники малонового діальдегіду у слизових оболонках травного тракту щурів на тлі введення перхлорату калію та після фармакологічної корекції, ммоль/кг

Групи щурів	**Слизова оболонка**			
	порожнини рота	шлунка	тонкої кишки	товстої кишки
Інтактна (n = 7)	17,31 ± 1,20	6,00 ± 0,48	3,44 ± 0,20	6,80 ± 0,24
Перхлорат калію (n = 7)	25,40 ± 1,75 p < 0,01	10,55 ± 0,86 p < 0,01	6,08 ± 0,31 p < 0,001	11,94 ± 0,68 p < 0,001
Перхлорат калію + L-тироксин (n =8)	21,92 ± 1,84 p > 0,05 p_1 > 0,05	8,73 ± 0,80 p < 0,01 p_1 > 0,05	4,98 ± 0,21 p < 0,001 p_1< 0,01	9,05 ± 0,35 p < 0,001 p_1 < 0,01
Перхлорат калію + квертулін + пропоксазепам (n = 7)	17,43 ± 1,32 p > 0,05 p_1< 0,01 p_2 > 0,05	7,85 ± 0,61 p < 0,05 p_1 < 0,05 p_2 > 0,05	4,25 ± 0,27 p < 0,05 p_1< 0,001 p_2< 0,05	7,69 ± 0,52 p > 0,05 p_1 < 0,001 p_2 < 0,05

Примітка: p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі;
p_1 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію»,
p_2 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію + L-тироксин».

Профілактичне введення L-тироксину супроводжувалося частковим зниженням вмісту МДА порівняно з цим маркером у групі перхлоратної інтоксикації. У слизовій оболонці порожнини рота показник знизився на 13,7 % і становив 21,92 ± 1,84 ммоль/кг, при цьому достовірних відмінностей від значень групі патології та інтактній не виявлено (p > 0,05, p_1 > 0,05. У шлунку концентрація МДА зменшилася на 17,3 %, але залишалася достовірно вищою за рівнем в інтактній групі (p < 0,01). У тонкій та товстій кишках L-тироксин виявляв більш виражений ефект – рівень МДА знизився на 18,1 % та 24,2 %, відповідно (p_1 < 0,01), проте в обох відділах він залишався підвищеним відносно рівня в інтактній групі (p < 0,001). Отримані дані свідчать про помірний антиоксидантний ефект тироксину без повної нормалізації процесів перекисного окислення ліпідів.

Найбільш виражене гальмування інтенсивності ліпопероксидації

встановлено при комбінованому застосуванні квертуліну з пропоксазепамом. У слизовій оболонці порожнини рота рівень МДА знизився на 31,4 % і не відрізнявся від показника в інтактній групі і ($p > 0,05$), що свідчить про нормалізацію процесів ПОЛ у цьому відділі. У шлунку та тонкій кишці значення МДА також зменшилися на 25,6% та 30,1%, відповідно, що було достовірно нижче значень у групі перхлорату калію ($p_1 < 0,05$ та $p_1 < 0,001$), однак залишалися дещо підвищеними відносно рівня в інтактній групі ($p < 0,05$). У товстій кишці вміст МДА знизився на 35,6 %, не відрізняючись від рівня в інтактній групі ($p > 0,05$), що свідчить про майже повну стабілізацію оксидативного статусу.

Результати табл. 5.10 вказують на зріст активності каталази у слизових оболонках щурів 4-ої групи: у порожнині роту – на 25,2 % ($p_1 < 0,05$), у тонкій кишці – на 18,9 % ($p_1 < 0,05$), у товстій кишці – незначно, на 10,4 % ($p_1 > 0,05$). Збільшення активності каталази може бути компенсаторною відповіддю антиоксидантного захисту слизових оболонок травного тракту на активацію пероксидації ліпідів, викликану перхлоратом калію. Але у слизовій оболонці шлунка щурів, яких піддавали інтоксикації перхлоратом, активність каталази навпаки була зниженою на 28,6 % ($p_1 < 0,05$), що свідчить про виснаження ферментативної ланки антиоксидантної системи слизовій оболонки шлунка в умовах тривалої дії перхлорату калію та більшу чутливість цього відділу до окислювальних ефектів перхлорату (табл. 5.10).

Використання L-тироксину в умовах перхлоратної інтоксикації суттєво не вплинуло на активність каталази у слизових оболонках ротової порожнини та кишечнику, але збільшило цей показник антиоксидантного захисту у слизовій оболонці шлунку на 27,6 % (хоча $p_1 > 0,05$). Антиоксидантний вплив комплексу квертулін з пропоксазепамом на слизові оболонки травного тракту щурів 4-ої групи не відрізнявся від дії L-тироксину ($p_2 > 0,05$), окрім суттєвого збільшення на 36,7 % активності каталази у слизовій оболонці шлунку ($p_1 < 0,05$; $p_2 > 0,05$; табл. 5.10).

Таблиця 5.10

Активність каталази у слизових оболонках травного тракту щурів на тлі введення перхлорату калію та після профілактики, мкат/кг

Групи щурів	Слизова оболонка			
	порожнини роту	шлунка	тонкої кишки	товстої кишки
Інтактна, n = 7	7,97 ± 0,46	2,94 ± 0,22	4,40 ± 0,18	2,41 ± 0,11
Перхлорат калію, n = 7	9,98 ± 0,74 p < 0,05	2,10 ± 0,16 p < 0,05	5,23 ± 0,12 p < 0,01	2,66 ±0,36 p > 0,05
Перхлорат калію + L-тироксин, n = 8	9,84 ± 0,58 p < 0,05 p_1 > 0,05	2,68 ± 0,21 p > 0,05 p_1 > 0,05	5,13 ± 0,21 p < 0,05 p_1 > 0,05	2,71 ± 0,22 p > 0,05 p_1 > 0,05
Перхлорат калію + квертулін + пропоксазепам, n = 7	10,76 ± 0,72 p < 0,05 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05	2,87 ± 0,18 p > 0,05 p_1 < 0,05 p_2 > 0,05	5,15 ± 0,23 p < 0,05 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05	3,10 ±0,27 p > 0,05 p_1 > 0,05 p_2 > 0,05

Примітка: p – достовірність відмінностей від показників в інтактній групі;
p_1 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію»,
p_2 – достовірність відмінностей від показників у групі «перхлорат калію + L-тироксин».

Результати щодо змін активності каталази вказують на те, що перхлорати викликають порушення в антиоксидантно-прооксидантній системі як через пряму шкідливу дію на слизові оболонки, так і через ендокринний контроль щитоподібної залози над системою антиоксидантного захисту травного тракту. Отримані дані обґрунтовують доцільність використання запропонованої комбінації для профілактики оксидативного ушкодження слизових оболонок травного тракту при інтоксикації перхлоратом калію як альтернативи гормональної профілактики L-тироксином [37, 38, 43, 44].

Тривала перхлорат-індукована інтоксикація супроводжувалася формуванням системних і локальних оксидативно-запальних порушень, що проявлялися задержкою приросту маси тіла тварин, змінами показників периферійної крові, активацією процесів ліпопероксидації, розвитком запально-деструктивних уражень та дисбіозу у слизових оболонках травного

тракту. Встановлені зрушення лейкоцитарної формули та індексів системного запалення поряд зі затримкою росту, свідчать про виражені токсичні властивості перхлорату калію, а також дисбаланс імунної реактивності та участь клітинної ланки імунітету у реалізації патологічного процесу, викликаного перхлоратом як через пригнічення функції щитоподібної залози, так внаслідок прямої ушкоджуючої дії речовини.

Фармакологічна корекція L-тироксином, а також і комбінацією квертуліну з пропоксазепамом ефективно попереджували гальмування приросту маси тіла тварин, порушення гематологічних показників, індексів системного запалення та імунної реактивності у щурів, які зазнали інтоксикацію перхлоратом калію. Отримані результати вказують на те, що зниження маси тіла, кількості еритроцитів, зрушення у складі лейкоцитів тварин пов’язано як з загальними метаболічними порушеннями так і з тиреоїдною дисфункцією за умов хронічного впливу токсиканта [121].

Біохімічний аналіз сироватки крові встановив розвиток системного оксидативного стресу та активацію запальних ферментів за умов тривалого введення перхлорату калію. Профілактичне застосування квертуліну у поєднанні з пропоксазепамом сприяло більш вираженій стабілізації системних біохімічних змін. Натомість L-тироксин забезпечував корекцію оксидативних показників, однак його вплив на маркери запальної активності був обмеженим, що свідчить про пряму токсичну дію перхлорату, у меншому ступені пов'язану з тиреоїдною гіпофункцією.

Морфологічна оцінка слизової оболонки шлунка встановила розвиток ерозивно-виразкових уражень за умов інтоксикації перхлоратом калію. Фармакологічна корекція L-тироксином зменшувала вираженість ушкоджень, однак найбільш виражений антиульцерогенний ефект спостерігали при застосуванні комбінації квертуліну з пропоксазепамом. Неоднакова ефективність різних видів профілактики вказує на більш значну патологічну роль перхлорату шляхом прямого пошкодження слизової оболонки шлунку, ніж через пригнічення функції щитоподібної залози. Хоча,

враховуючу деяку антиульцерогенну профілактичну дію L-тироксину, не можна також виключати і роль дефіциту тиреоїдних гормонів в розвитку ерозивно-виразкових уражень в шлунку, що викликано перхлоратом калію.

На рівні слизових оболонок травного тракту інтоксикація перхлоратом калію супроводжувалася активацією лізосомальних та протеолітичних ферментів, посиленням процесів ліпопероксидації та розвитком дисбіотичних змін, що відображало формування локального запалення. Комбіноване застосування квертуліну з пропоксазепамом виявило більш виражені протизапальні та антидисбіотичний ефекти порівняно з монокорекцією L-тироксином, забезпечуючи тенденцію до нормалізації тканинних біохімічних показників у різних відділах травного тракту. Отримані данні щодо змін маркерів запалення та активності уреази у слизових оболонках свідчать про здатність перхлоратів напряму викликати локальне запалення та пошкоджувати нормобіоту травного тракту, а не через пригнічення функції щитоподібної залози. При цьому антиоксидантні ефекти композиції квертуліну і пропоксазепаму та L-тироксину за більшістю показників були однакові, що вказує на окислювальну функцію перхлорату калію як шляхом безпосереднього впливу на слизові оболонки травного тракту, так і через пригнічення вироблення гормонів щитоподібною залозою.

Загалом, комбінована негормональна корекція квертуліном і пропоксазепамом чинить комплексний протизапальний, антиоксидантний та гастропротекторний вплив, забезпечуючи більш повну нормалізацію системних і локальних порушень порівняно з ізольованою гормональною корекцією.

Результати досліджень наведених у даному розділі викладені в публікаціях автора:

1. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б. Зміни біохімічних показників сироватки крові щурів при експериментальному гіпотиреозі на тлі прийому L-тироксину і в комбінації квертулін та пропоксазепам. *Від*

експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації [Електронний ресурс] : матеріали VII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Харків, 15 травня 2025 р. Х. : НФаУ, 2025. С. 204-206.

2. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б. Антиульцерогенні властивості пропоксазепамау і квертуліну в умовах інтоксикації щурів перхлоратм калію. *XXIV–і читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції*, 15-16 травня 2025 року. Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2025. С.198- 199.

3. Макаренко О. А., Молодан Ю. О. Антиульцерогенна ефективність квертуліну та пропоксазепаму у слизовій оболонці шлунку щурів в умовах інтоксикації перхлоратом калію. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2025. № 2 (80), С. 131-139. https://zenodo.org/records/15648750.

4. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В.Б. Захисна дія комбінації пропоксазепаму та квертуліну на стан слизових оболонок травного тракту щурів в умовах інтоксикації перхлоратом калію. *Proceedings of II International Scientific and Practical Conference Vancouver, Canada*. 29-31 October 2025. – P. 292-297.

5. Молодан Ю., Макаренко О., Ларіонов В. Експериментальне обгрунтування профілактики запалення у травному тракті щірів в умовах інтоксикації перхлоратом калію. *Вісник Київського національного університету ім. Т. Шевченка*. *Біологія.* № 4 (103), 2025 р, С. 58-65. https://doi.org/10.17721/1728.2748.2025.103.58-65.

РОЗДІЛ 6
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ ОТРИМАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Розробка нових ефективних протизапальних засобів із мультимодальним механізмом дії є одним із пріоритетних напрямів сучасної експериментальної фармакології, що зумовлено складністю патогенезу запальних процесів і їхньою ключовою роллю у розвитку більшості патологічних станів організму. Запалення розглядається як універсальна реакція організму, яка реалізується через активацію клітин імунної системи, продукцію цитокінів, простагландинів та реактивних форм кисню, що призводить до структурно-функціональних змін тканин [50, 95].

Сучасні уявлення про патогенез запалення свідчать, що ключову роль у підтриманні патологічного процесу відіграє оксидативний стрес, який характеризується надмірною генерацією активних форм кисню, виснаженням антиоксидантних систем та активацією процесів ліпідної пероксидації. Утворення продуктів перекисного окиснення ліпідів супроводжується пошкодженням клітинних мембран, активацією протеолітичних ферментів і подальшим посиленням запальної реакції, що формує замкнене патологічне коло [96, 158]. За таких умов перспективним напрямом фармакологічної корекції є застосування сполук із поєднанням протизапальних і антиоксидантних властивостей.

Проведене дослідження було спрямоване на експериментальне обґрунтування протизапальної ефективності пропоксазепаму (інноваційного алкоксипохідного 1,4-бензодіазепіну) у комбінації з флавоноїдом кверцетином за умов гострого та хронічного запальних порушень різного генезу. Інтерес до пропоксазепаму зумовлений його мультимодальним механізмом дії, що включає вплив на простагландинові та брадикінінові шляхи реалізації [17, 54]. Такий спектр фармакологічної активності дозволяє розглядати пропоксазепам не лише як анальгетичний агент, але й як перспективний протизапальний засіб із полімодальною дією.

Біофлавоноїд кверцетин, у свою чергу, характеризується здатністю пригнічувати активацію NF-κB-залежних сигнальних шляхів, знижувати продукцію прозапальних цитокінів, інгібувати активність циклооксигенази та ліпоксигенази, а також проявляти виражені антиоксидантні властивості за рахунок нейтралізації вільних радикалів і стабілізації мембранних структур [11, 132, 147]. За нашим припущенням, поєднання пропоксазепаму та кверцетину створює передумови для формування синергічного ефекту, який може реалізовуватися через одночасний вплив на медіаторні, ферментативні та редокс-залежні механізми запалення.

При виборі моделей запалення нашу увагу привернули перхлорати. Перхлорат-аніони ClO_4^- відомі як надзвичайно потужні окиснювачі завдяки вмісту хлору у ступені окиснення +7. Високу енергію окиснення перхлоратів використовують у вибухових реакціях, у ракетному паливі, у піротехніці для забезпечення інтенсивного горіння. Локально у травному тракті перхлорати викликають оксидативний стрес у клітинах епітелію та його пошкодження [64]. Після потрапляння у кров ці речовини ендокринним шляхом через втручання у функцію щитоподібної залози, зокрема інгібування натрій-йодидного симпортеру NIS на мембрані тиреоцитів, порушують метаболізм і викликають розвиток патології [122, 123, 124].

Для обґрунтування використання перхлорату в експериментальній моделі запалення на першому етапі роботи було проведено прогнозування *in silico* його більш широкого токсикологічного профілю з використанням платформи ProTox 3.0, заснованої на алгоритмах машинного навчання. Аналіз продемонстрував високий патологічний потенціал перхлорату калію щодо імуно-, гепато-, кардіо- та нейротоксичності, що узгоджується з даними про системний характер шкідливої дії перхлоратів [123, 126]. Прогнозування також виявило значну ймовірність канцерогенної, мутагенної та цитотоксичної дії цих речовин, що може бути пов’язано з індукцією оксидативного стресу, порушенням клітинного циклу та пошкодженням ДНК. Передбачено також взаємодія перхлорату калію з ферментами системи

цитохрому P450 (CYP1A2, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP2E1), що може спричиняти порушення метаболізму ксенобіотиків та посилення токсичного навантаження на організм [128]. За результатами ProTox 3.0 прогнозується потенційна активність перхлорату калію щодо ER. Отримані результати *in silico* вказують на виражений системний токсикологічний потенціал, який, індукується оксидативним стресом та запальними реакціями. Сукупність цих ефектів обґрунтовує доцільність його використання як фактора запалення в експериментальній моделі (табл. 6.1).

За допомогою досліджень *in silico* також було проведено прогнозування фармакокінетичних властивостей пропоксазепаму та кверцетину. Для оцінки фармакокінетичних властивостей пропоксазепаму було проведено *in silico* моделювання його ADME-параметрів з використанням програмного забезпечення QikProp та (Schrödinger). Проведений аналіз прогнозував сприятливі фармакокінетичні властивості препарату: високу пероральну біодоступність, здатність проникати через кишковий епітелій і гематоенцефалічний бар'єр, помірно низьку водну розчинність, яка компенсується високою мембранною проникністю, збалансований профіль метаболізму без ознак надмірної метаболічної нестабільності, помірний рівень зв'язування з альбуміном плазми крові, який може забезпечити достатній рівень розподілу препарату в організмі [111].

Прогнозовані фармакокінетичні властивості суттєво доповнюють відомий полімодальний профіль пропоксазепаму, що здійснюється через взаємодію з гальмівними нейромедіаторами (ГАМК- та гліцинові рецептори), потенціал-залежними калієвими каналами, NMDA-рецепторамии, α-1 адренорецепторамии, дофамінергічною системою, що знижує передачу больових і запальних сигналів [17]. Докінг-аналіз показав здатність пропоксазепаму взаємодіяти з циклооксигеназами, тобто знижувати продукцію простагландинів, та системою брадикініну, знижуя сенситизацію і набряк [54]. У підсумку, спрогнозовані нами *in silico* фармакокінетичні властивості пропоксазепаму разом з його відомим полімодальним

фармакологічним профілем обґрунтовує використання препарату у складі комбінованих протизапальних комплексів (табл. 6.1).

Прогнозування фармакокинетичних властивостей кверцетину *in silico* ґрунтувалося, перш за все, на його афінності до естрогенних рецепторів (ER). Оскільки естрогени приймають участь у регуляції імунної відповіді та контролі синтезу прозапальних цитокінів TNF-α, IL-6, IL-1β [26], докінг кверцетину до ER дозволив оцінити його потенційну здатність пригнічувати запальні процеси, індуковані перхлоратом. Адже прозапальний шлях перхлоратів реалізується також через їх втручання в гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникову вісь, порушення секреції гонадотропінів та пригнічення вироблення естрогенів [106].

Оцінка параметрів ADME показала помірну здатність кверцетину до абсорбції в ШКТ. У процесі зв’язування з ER кверцетин формує водневі зв’язки з важливими залишками амінокислот активного центру ER (GLU353, HIE524 та ASP351), які відіграють важливу роль у стабілізації ліганд-рецепторного комплексу та передачі сигналу. Висока афінність кверцетину до ER у поєднанні з його прогнозованою агоністичною активністю вказує на потенціал модуляції запальної відповіді на молекулярному рівні. Показники токсикологічного профілю свідчать про відсутність мутагенного ефекту за результатами AMES-токсичного тесту. Аналіз фізико-хімічних характеристик кверцетину засвідчив його відповідність основним критеріям лікоподібності («drug-like»), сформульованих у межах «правила п’яти» Ліпінського. Взагалі, добра кишкова абсорбція, висока афінність до ER з агоністичною активністю, сприятливий профіль безпеки, відсутність мутагенності обґрунтовують можливість використання кверцетину у тривалій профілактичній терапії запальних станів (табл. 6.1).

Таким чином, дослідження *in silico* дозволили спрогнозувати виражений системний токсикологічний потенціал перхлоратів шляхом прямої активації оксидативного стресу, запальних реакцій, а також через можливість блокувати ER та впливати на гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникову

вісь, що істотно підвищує роль цих деструкторів у якості запальних агентів. Сукупність токсикологічних ефектів перхлоратів обґрунтовує доцільність їх використання для моделювання патології на щурах з метою уточнення патогенезу перхлорат-індукованого запалення та оцінки протизапальних та антиульцерогенних ефектів кверцетину у комбінації з пропоксазепамом (табл. 6.1).

Таблиця 6.1

Токсичні ефекти перхлоратів, фармакологічний профіль пропоксазепаму та кверцетину

Речовина	**Відомі властивості**	**Прогноз *in silico***
Перхлорат калію	↓ транспорту йоду, ↓ синтезу Т3 і Т4, порушення метаболізму, ↑ IL-6 і TNF-α, ↓ IL-10, ↑ ФСГ і ЛГ ↓ естрогенів ↑АФК→ оксидативний стрес	імунотоксичність, гепатотоксичність, кардіотоксичність нейротоксичність цитотоксичність, мутагенність канцерогенність блокування ER
Пропоксазепам	Взаємодія: з ГАМК- та гліциновими рецептори, потенціал-залежними калієвими каналами, NMDA-рецепторамии, α-1 адренорецепторами, дофамінергічною системою, ↓ брадикініну, ↓ ЦОГ	висока пероральна біодоступність, проникність через кишковий епітелій і ГЕБ, помірно низька водна розчинність, висока мембранна проникність, зв’язування з альбуміном крові
Кверцетин	↓NF-κB-залежних сигнальних шляхів, ↓ IL-6 і TNF-α, ↓ ЦОГ та ліпооксигенази ↓ АФК ↓ оксидативного стресу антиульцерогенна дія	зв’язування та агонізм до ER, «drug-like» ефекти, помірна абсорбція в ШКТ

Спрогнозовані *in silico* сприятливі фармакокінетичні властивості, висока пероральна біодоступність та здатність пропоксазепаму проникати

через біологічні бар'єри разом із агоністичною активністю кверцетину щодо ER і «drug-like» ефектами обґрунтовують доцільність їх застосування у складі комбінованих протизапальних препаратів.

Встановлені *in silico* й відомі токсикологічні властивості перхлоратів поряд с протизапальною дію кверцетину та пропоксазепаму аргументують необхідність підтвердження ефектів цих речовин в експериментах *in vivo*. Вибір моделей запалення у роботі базувався на сучасних уявленнях про етапність розвитку запальної відповіді та необхідність оцінки фармакологічних ефектів у різних патогенетичних умовах.

Тому на другому етапі роботи проводили дослідження на моделі карагінан-індукованого набряку, який дозволяє відтворити класичну картину гострого ексудативного запалення, що супроводжується формуванням двофазної запальної відповіді. Перша фаза, що розвивається протягом першої години після ін'єкції, опосередковується вивільненням гістаміну та серотоніну, тоді як друга фаза характеризується прогресуванням набряку внаслідок активації синтезу простагландинів, лейкотрієнів, брадикініну та інших медіаторів запалення. Окрім цього, друга фаза є чутливою як до стероїдних, так і до нестероїдних протизапальних засобів [20, 63], що обґрунтовує використання цієї моделі для оцінки протизапальної активності досліджуваних сполук. Карагінан також змінює метаболізм жирних кислот через активацію Sirtuin1 у мишей, що може впливати на баланс між окисленням і накопиченням ліпідів [80]. Протизапальну ефективність кверцетину, пропоксазепаму та їх поєднання досліджували у порівнянні з референтним препаратом диклофенак у дві серії.

Спочатку оцінювали протизапальну дію кверцетину у порівнянні з диклофенаком натрію на моделі за умов субплантарного введення щурам 0,1 мл 1% карагінану. Препарати вводили за 1 годину до карагінану одноразово внутрішньоочеревинно [11]. Інтенсивність запалення оцінювали за морфометричними показниками висоти та ширини набряку уражених кінцівок щурів через 2, 4, 6 і 24 години після ін'єкції карагінану.

Порівняльний аналіз протизапальної ефективності досліджуваних препаратів продемонстрував більш виражену протиексудативну дію диклофенаку. У тварин, яким ввели диклофенак, розміри набряку були статистично значуще меншими через 2, 4 і 24 години після введення карагінану порівняно з показниками у щурів, які отримали кверцетин ($p < 0,05$). Інтенсивність протизапального ефекту препаратів оцінювали також за маркерами запалення у ділянці набряку та крові щурів. Застосування кверцетину сприяло гальмуванню активності еластази на 26,5 %, а диклофенаку – на 63,1 % ($p < 0,05$), активності кислої фосфатази – на 21,1 % та 30,6 % ($p < 0,05$), відповідно. Це вказує на більш суттєве зменшення маркерів запалення у ділянці набряку лап щурів після використання диклофенаку. У сироватці крові тварин протизапальні ефекти кверцетину також були менш значні, ніж диклофенаку. Але вміст малонового діальдегіду (маркеру пероксидації ліпідів) у ділянці набряку лап щурів, навпаки, більш істотніше знизився після попереднього введення кверцетину – на 34,0 %, тоді як диклофенак загальмував цій маркер на 15,8 % ($p < 0,05$). Така ж тендеція спостерігалася і у крові тварин, що засвідчує про більш активні антиоксидантні властивості кверцетину порівняно з диклофенаком.

Низка побічних ефектів диклофенаку поряд зі встановленими антиексудативними та вираженими антиоксидантними властивостями кверцетину обумовлюють доцільність проведення більш ретельних дослідженнь для доказу протизапальної дії кверцетину у комбінації з препаратами, які впливають на інші ланки патогенезу запалення, зокрема пропоксазепаму, для створення ефективної та безпечної протизапальної композиції.

Отже у другій серії карагінан-індукованого набряку лапи у щурів порівнювали протизапальну дію пропоксазепаму, кверцетину, їх комбінації та диклофенаку. Препарати вводили 7 днів до моделювання запалення: кверцетин 80 мг/кг, пропоксазепам 2 мг/кг та диклофенак 8 мг/кг, ефективність яких оцінювали за розмірами набряку через 2, 4, 6 і 24 години.

Комбіноване застосування кверцетину та пропоксазепаму сприяло більш вираженому гальмуванню розвитку набряку, індукованого карагінаном, порівняно з монокорекцією ($p < 0,05$), особливо за показником висоти набряку лапи, що вказує на наявність синергічного механізму дії. Однофакторний дисперсійний аналіз підтвердив наявність статистично значущої протизапальної дії кверцетину, пропоксазепаму та їх комбінованого застосування за умов карагінан-індукованого запалення, а також відмінності у ступені їх ефективності. Найбільш виражений ефект проявив референтний диклофенак натрію, який нівелював прояви набряку на фінальному етапі спостереження. Механізм дії пропоксазепаму пов'язаний зі зменшенням вивільнення прозапальних медіаторів, інгібуванням ЦОГ-2 та стабілізацією клітинних мембран [53]. Антиоксидантні властивості кверцетину, завдяки потужної здатності знижувати рівень оксидативного стресу в запальних тканинах [29, 130] можуть додатково потенціювати протизапальний ефект пропоксазепаму. Незважаючи на високу протинабрякову ефективність диклофенаку натрію, його тривале застосування не усуває патогенез запалення та асоціюється з численними побічними ефектами. Тому комбіноване застосування кверцетину та пропоксазепаму може розглядатися як перспективний варіант для тривалого протизапального лікування.

Для підтвердження цього на заключному третьому етапі роботи визначали протизапальну ефективність композиції кверцетину та пропоксазепаму за умов тривалого введення перхлорату калію. Модель перхлорат-індукованої інтоксикації обґрунтовано нами у дослідженні *in silico,* яке дозволило спрогнозувати виражений системний токсикологічний потенціал перхлоратів, через ймовірну активацію оксидативного стресу цитотоксичності та запальних реакцій.

Моделювання перхлорат-індукованого запалення проводили на самках щурів віком 7 місяців, яким вводили 1 %-го розчин перхлорату калію з питною водою протягом 40 діб. Для виключення тиреостатичних ефектів перхлорату калію тваринам однієї з дослідних груп вводили L-тироксин 10

мг/кг. В якості джерела кверцетину використовували препарат квертулін 400 мг/кг у поєднанні с пропоксазепамом 200 мкг/кг. Препарати вводили щоденно перорально у вигляді суспензії відповідно до схеми експерименту. Для моніторингу загальної токсичності перхлорату та корекції доз препаратів щурів зважували щотижнево. Ефективність комплексу квертуліну та пропоксазепаму за умов перхлорат-індукованої інтоксикації оцінювали за аналізом системних гематологічних і біохімічних показників, а також морфологічних і біохімічних змін слизових оболонок порожнини рота, шлунка, тонкої та товстої кишки щурів.

У щурів, яким вводили токсикант, був повністю відсутній приріст маси тіла на тлі абсолютного збільшення маси інтактних щурів на 22,1 г, що може бути пов’язано з розвитком тиреоїдної дисфункції та метаболічних порушень, викликаних перхлоратом калію. L-тироксин попереджував затримку приросту маси тіла завдяки його гормональної компенсації й впливу на метаболічні процеси. Квертулін у поєднанні з пропоксазепамом теж забезпечували стабілізацію маси тіла без ознак гормональної стимуляції, ймовірно, завдяки неспецифічної поліфункціональної здатності кверцетину нормалізувати порушені перхлоратом метаболічні шляхи [42, 114].

Аналіз гематологічних показників щурів підтвердив токсичну дію перхлорату калію, який викликав зниження кількості еритроцитів на 24,8 %, зріст числа лейкоцитів на 39,3 %, зменшення еозинофілів на 80,0 %, паличкоядерних нейтрофілів на 25,0 % та збільшення моноцитарної фракцій лейкоцитів 47,4 %. Також спостерігали порушення індексів системного запалення: зниження співвідношення Н/Л на 28,6 %, Т/Л – на 16,7 %, М/Л – на 49,2 %, індексу системного імунного запалення – у 1,6 рази та індексу відповіді на системне запалення – у 2,7 рази. Таке зрушення індексів системного запалення свідчить про недостатність імунної реактивності, схильності до інфекції та високий ризик розвитку поліорганної патології.

Застосування L-тироксину, у більшому ступеню комплексу квертуліну та пропоксазепаму, проявило коригуючі властивості до гематологічних

показників. Обидва види профілактики викликали зріст числа еритроцитів на 21,6-26,1 %, зниження кількості лейкоцитів на 8,9 % після введення L-тироксину та на 21,6 % – після застосування квертуліну і пропоксазепаму. Вміст лімфоцитів зменшився на 9,5 % ($p < 0,05$), кількість моноцитів зростала на 70,0 % ($p < 0,001$), тобто комплекс сприяв нормалізації порушеної перхлоратом лімфоцитарної та моноцитарної фракцій лейкоцитів. Частка сегментоядерних нейтрофілів збільшилася на 24,6 %, а паличкоядерних нейтрофілів – на 37,5 % ($p < 0,01$). Усі знижені перхлоратом калію індекси системного запалення під впливом квертуліну і пропоксазепаму збільшилися до нормальних значень.

Встановлені коригуючі властивості L-тироксину та комплексу щодо порушень гематологічних показників зі поряд затримкою росту щурів, виражених токсичних властивостей перхлорату калію, а також дисбалансу імунної реактивності та участі клітинної ланки імунітету у здійсненні патологічного процесу, викликаного перхлоратом, реалізуються як через пригнічення функції щитоподібної залози, так й, у більшому ступеню, внаслідок прямої ушкоджуючої дії речовини.

Аналіз біохімічних маркерів інтенсивності запалення, ліпопероксидації та антиоксидантного захисту у сироватці крові тварин показав, що тривале введення 1 % розчину перхлорату калію призвело до підвищення вмісту МДА на 107,8 % ($p < 0,001$), активності каталази – на 50,0 % ($p < 0,01$), еластази – на 40,8 % ($p < 0,05$) та лужної фосфатази – на 42,8 % ($p < 0,01$). Сукупність цих змін свідчить про розвиток системного оксидативно-запального ушкодження, індукованого перхлоратом калію. Зріст активності каталази у крові вважається компенсаторною реакцією антиоксидантного захисту як відповідь на надмірне утворення активних форм кисню за умов перхлоратного навантаження. Профілактика L-тироксином забезпечила часткову корекцію оксидативного компонента (зниження вмісту МДА на 19,8 %), однак мала обмежений вплив на маркери запалення. Натомість комбіноване введення квертуліну з пропоксазепамом сприяло більш

ефективній стабілізації системних показників, зокрема відбулося зменшення рівня МДА на 45,3 %, активності еластази – на 21,0 % і лужної фосфатази – на 27,1 % , що свідчить про переважно пряму токсичну дію перхлорату, у меншому ступені – пов'язану з тиреоїдною гіпофункцією.

Морфологічна оцінка слизової оболонки шлунка виявила розвиток ерозивно-виразкових уражень за умов інтоксикації перхлоратом калію: наявність виразок та ерозій у всіх щурів (100 %), загальна кількість поразок становила 58 ± 4,1, площа виразкових дефектів на щура досягала 41,7 ± 3,8 мм², а індекс Паулса зростав до 41,7 ± 3,4 ($p < 0,001$), що вказує на істотне порушення бар'єрної функції слизової оболонки шлунка. Фармакологічна корекція L-тироксином частково зменшувала вираженість ушкоджень: частка тварин з ерозивно-виразковими ураженнями знизилася до 71,4 %, кількість виразок і ерозій – до 32 ± 2,8, площа уражень – до 24,6 ± 2,4 мм², а індекс Паулса – більш ніж у 2 рази ($p_1 < 0,001$), але зазначені показники залишалися достовірно високими за значення норми ($p < 0,001$), що свідчить про обмежену антиульцерогенну ефективність L-тироксину за умов перхлоратної інтоксикації. Більш виражений захисний ефект встановлено після застосування комбінації квертуліну з пропоксазепамом: ерозивно-виразкові ураження виявляли лише у 42,8 % тварин, кількість виразок і ерозій зменшувалася у 5,3 рази, що було у 2,9 рази менш ніж у групі L-тироксину. Площа виразкових дефектів знизилася до 5,8 ± 0,6 мм², а індекс Паулса – до 2,4 ± 0,3, що було достовірно нижчим до значень у групі L-тироксину ($p_2 < 0,05$). Нерівнозначна ефективність двох видів корекції вказує на більш суттєву патологічну роль перхлорату шляхом прямого пошкодження слизової оболонки шлунку, ніж через пригнічення функції щитоподібної залози. Хоча, враховуючі деяку антиульцерогену дію L-тироксину, не можна виключати і роль дефіциту тиреоїдних гормонів в розвитку ерозивно-виразкових уражень в шлунку, індукованих перхлоратом калію.

У сучасних вітчизняних та зарубіжних джерелах активність нейтрофільної еластази, лізосомальної кислої фосфатази та уреази широко

використають як маркери запалення, які є інформативними при пошкодженні слизових оболонок травного тракту лабораторних тварин. Зокрема, рівень активності еластази корелює з кількістю лейкоцитів у слизових оболонках травного тракту та ступенем розвитку запального процесу. Її активність в організмі складає майже 80 % від сумарної активності протеолітичних гідролаз. Нейтрофільна еластаза – провідна ефекторна протеїназа, яка пошкоджує епітеліальний бар'єр та викликає запалення в товстій кишці при захворюваннях кишечнику [68, 90]. Еластаза має широкий спектр дії: активно гідролізує еластин, колаген, фібронектин, завдяки чому піддержує розвиток запалення, сприяє секреції слизу та прогресуванню бактеріальної контамінації.

Локалізацію кислої фосфатази описано в слизових оболонках стравоходу, шлунку та кишечника [87]. Цей маркер відноситься до первинних медіаторів запалення, тому рівень його активності корелює зі ступенем руйнування та пошкодження клітин слизової оболонки травного тракту, його активність змінюється в колоноцитах при виразковому коліті [98].

Уреаза виробляється умовно-патогенними бактеріями *Proteus vulgaris*, *Klebsiella aerogenes*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Corynebacterium urealyticum* та ін. [18, 67, 151]. Активність уреази у шлунку – ключовий діагностичний маркер гастриту, асоційованого з *H. pylori* [18]. Тоді як уреаза бактеріального походження в кишечнику відіграє патогенетичну роль у загостренні запалення при хворобі Крона та розвитку дисбіозу [67, 98].

На рівні слизових оболонок травного тракту інтоксикація перхлоратом калію викликала активацію лізосомальних та протеолітичних ферментів, посиленням процесів ліпопероксидації та розвиток дисбіотичних змін. Про це заключили за збільшенням активності кислої фосфатази від 24,8 % у тонкій кишці до 53,5 % у товстій кишці, еластази – від 14,2 % у тонкій кишці до 42,7 % у товстій кишці, уреази – від 2,1 рази у порожнині рота до 4,7 разів у товстій кишці, вмісту МДА – на 46,7 % у ротовій порожнині та у всіх

нижніх відділах травного тракту – у середньому на 76,0 %. Треба підкреслити, що більш значна активація маркерів запалення, пероксидації ліпідів та дисбіозу відбулася у слизовій оболонці товстої кишки, що говорить про чутливість цього відділу травного тракту до токсичної дії перхлорату. Ймовірно це відбувається через пригнічення захисної дії нормобіоти, 90 % якої від усіх мікроорганізмів травного тракту зосереджено в товстому кишечнику, де саме створюються оптимальні умови для росту й функціонування бактерій: нейтральне або слабколужне середовище, повільне просування харчових мас і достатня кількість поживних речовин [19, 33].

Активність антиоксидантного ферменту каталази у слизових оболонках порожнини рота, тонкої та товстої кишки щурів, яким моделювали інтоксикацію перхлоратами збільшилася від 10,4 % у товстій кишці до 25,2 % у ротовій порожнині, що можна пояснити компенсаторною активацією антиоксидантного захисту в умовах надлишкового відтворення АФК. Але у слизовій оболонці шлунку перхлорат калію викликав зниження активності каталази на 28,6 %, а значить і виснаження цієї ланки антиоксидантного захисту у цьому відділі. Досліди інших авторів підтверджують, що запалення у травному тракті при тривалому надходженні перхлорату калію ініціює утворення надлишку АФК, посилення процесів ПОЛ та шляхом пригнічення експресії ферментів антиоксидантного захисту [2, 119, 125]. В свою чергу надлишок АФК та неспроможність антиоксидантів індукує запалення, апоптоз клітин та порушення функцій у травному тракті [75, 142].

Корекція препаратами попереджувала активацію досліджуваних маркерів з явною перевагою комплексу квертуліну та пропоксазепаму. Якщо активність кислої фосфатази у слизових оболонках ШКТ зменшилася після використання L-тироксину на 6,1-16,2 %, то після застосування комплексу – на 16,3-27,5 % (рис. 6.1).

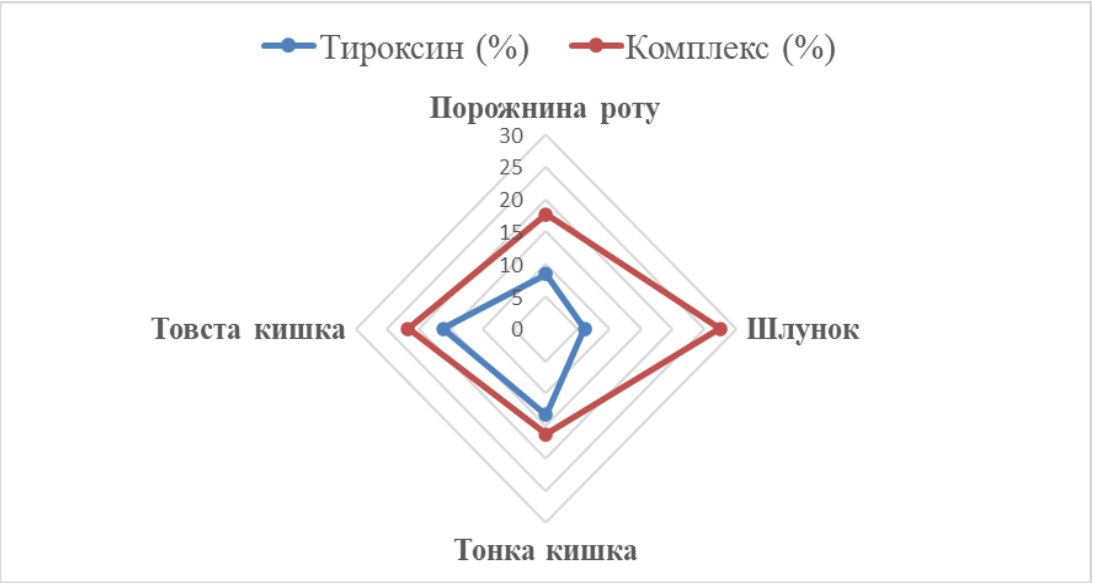


Рис. 6.1 Гальмування активності кислої фосфатази у слизових оболонках травного тракту щурів після корекції за умов інтоксикації перхлоратом калію

L-тироксин знизив активність еластази у травному тракті на 1,1-13,5 %, а квертулін у поєднанні з пропоксазепамом – на 12,9-22,6 % (рис. 6.2).

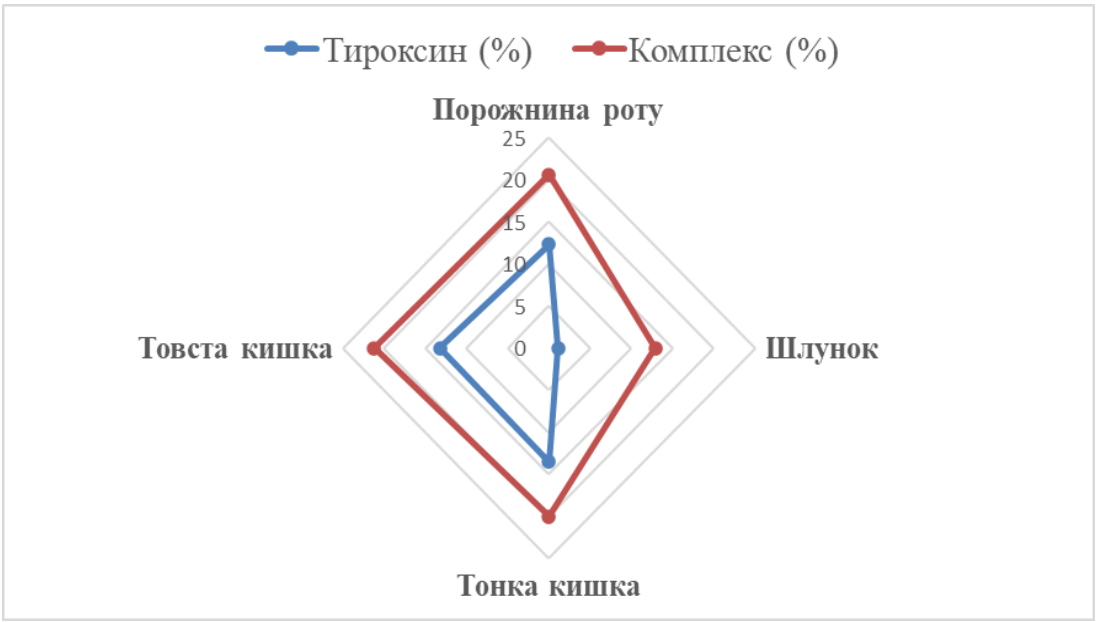


Рис. 6.2 Гальмування активності еластази у слизових оболонках травного тракту щурів після корекції за умов інтоксикації перхлоратом калію

Гормонозамісна профілактика L-тироксином за показниками активності кислої фосфатази і еластази призвела не дуже суттєву протизапальну дію у травному тракті за умов інтоксикації перхлоратом на відміну від комплексу квертулін й пропоксазепам, що вказує на пряму ушкоджуючу запальну дію перхлорату калію у слизових оболонках.

Більш істотна ефективність фармакокорекції комплексом квертуліну з пропоксазепамом відмічена також й за змінами активності уреази у слизових оболонках травного тракту. L-тироксин сприяв зниженню активності уреази, а значить і числу умовно-патогенних бактерій, на 12,0-31,5 %, введення комплексу – на 35,7-68,2 % (рис. 6.3).

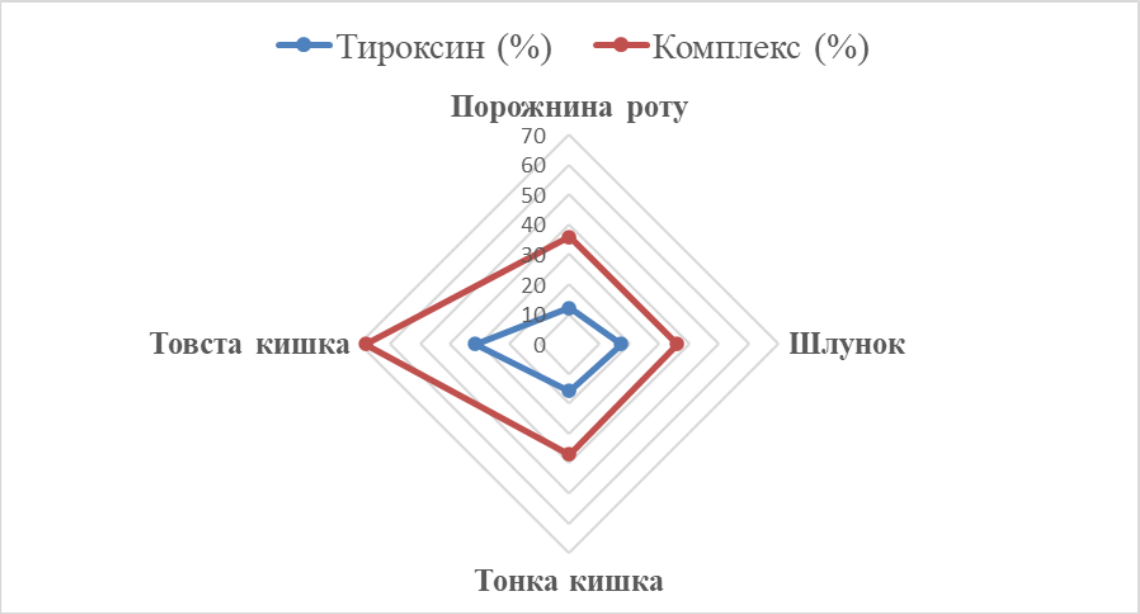


Рис. 6.3 Гальмування активності уреази у слизових оболонках травного тракту щурів після корекції за умов інтоксикації перхлоратом калію

Більш суттєве гальмування досліджуваних маркерів зазначено у слизовій оболонці товстої кишки: на 31,5 % – після корекції L-тироксином та на 68,2 % – після застосування комплексу, що підтверджує позитивну роль кишкової мікробіоти у контролі запальних процесів. Позитивну роль у стабілізації кишкової мікробіоти в умовах перхлоратної інтоксикації забезпечили компоненти квертуліну – кверцетин та пребіотик інулін [151]. Отримані данні щодо змін активності уреази у слизових оболонках свідчать

про здатність перхлоратів напряму пригнічувати нормобіоту травного тракту, а також про те, що дія цих токсинів на сапрофітну мікробіоту у меншому ступені залежить від втручання перхлоратів у функцію щитовидної залози.

Зменшення вмісту МДА у слизових оболонках ШКТ також було більш вираженим після корекції комплексом – на 25,6-35,6 % проти діапазону 13,7-24,2 %, що здійснився під впливом L-тироксину (рис. 6.4). Регулярне застосування комбінації квертуліну з пропоксазепамом в умовах інтоксикації виявило більш виражений ефект порівняно з L-тироксином за вмістом МДА у сироватці крові та у всіх відділах ШКТ, що вказує на більш значну пряму окислювальну дію перхлорату, ніж на порушення через гормональну депресію щитоподібної залози.

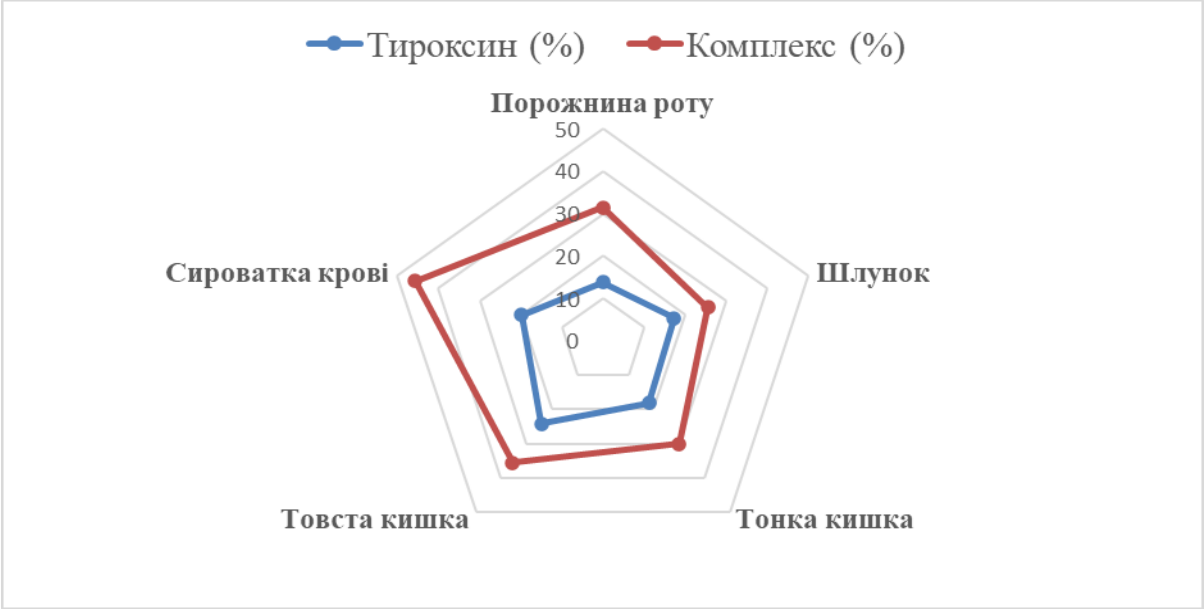


Рис. 6.4 Зниження вмісту МДА у слизових оболонках травного тракту щурів та сироватці крові щурів після корекції за умов інтоксикації перхлоратом калію

Збільшена активність каталази у ротовій порожнині та відділах кишечнику суттєво не змінилася після обох видів профілактики ($p > 0,05$). Але у слизовій оболонці шлунку активність каталази збільшилася на 27,6 % після введення L-тироксину й на 36,7 % після застосування квертуліну у поєднанні з пропоксазепамом (рис. 6.5). Антиперекисну дію комплексу

препаратів можна пояснити потужними антиоксидантними властивостями кверцетину (компонента квертуліну), а також протизапальною та мембраностабілізуючою дією пропоксазепаму [17]. А L-тироксин шляхом компенсації тиреоїдної гіпофункції здатний стабілізувати антиоксидантний статус слизових оболонок травного тракту та організму у цілому.

Рис. 6.5 Зміни активності каталази у слизових оболонках травного тракту та сироватці крові щурів після корекції за умов інтоксикації перхлоратом калію

Практично однакова ефективність L-тироксину і комплексу щодо нормалізації активності каталази у шлунку та її стабільно високих значень у слизових оболонках інших відділів ШКТ щурів за умов інтоксикації перхлоратом калію (рис. 6.5) свідчить про те, що токсикант викликає зміни у антиоксидантній системі як через пряму шкідливу дію на слизові оболонки, так і через ендокринний контроль щитоподібної залози над системою антиоксидантного захисту травного тракту.

Взагалі порівняння ефективності двох методів корекції за досліджуваними показниками у слизових оболонках, за виключенням активності каталази, виявило статистично значущу перевагу комбінації

квертуліну з пропоксазепамом над L-тироксином в усіх відділах травного тракту ($p < 0,001 - 0,01$). Це дозволяє зробити висновок про те, що активація лізосомальних та протеолітичних ферментів, а також розвиток дисбіотичних змін ініціюється переважно шляхом прямого пошкодження перхлоратами слизових оболонок, і лише частково – через гормональний механізм пригнічення тиреоїдної функції. У той час як порушення у системі антиоксидантного захисту викликаються перхлоратами як шляхом прямої дії, так і завдяки ендокринному контролю щитоподібної залози над системою антиоксидантного захисту організму. На відміну від процесів ліпопероксидації, посилення яких здійснюється переважно прямим втручанням перхлорату у якості потужного окиснювача.

У підсумку, проведені дослідження показали високу коригуючу антитоксичну, протизапальну, антианемічну, імуностабілізуючу, противиразкову, антиоксидантну та антидисбіотичну ефективність комплексу квертулін і пропоксазепам за умов тривалої перхлорат-індукованої інтоксикації.

Встановлені порушення гематологічних показників зі поряд затримкою росту щурів свідчать про виражені токсичні властивості перхлорату калію, а також про дисбаланс імунної реактивності та участь клітинної ланки імунітету у реалізації патологічного процесу, викликаного перхлоратом як через пригнічення функції щитоподібної залози, так й, у більшому ступеню, внаслідок прямої ушкоджуючої дії токсину. Більш значні антиульцерогенні властивості комплексу ніж L-тироксину вказують також на пряме пошкодження перхлоратом слизової оболонки шлунку, хоча дефіцит тиреоїдних гормонів зробив певний внесок у розвиток ерозивно-виразкового процесу.

У той час як рівнозначна коригуюча антиоксидантна ефективність L-тироксину та комплексу квертулін з пропоксазепамом дозволяють вважати, що порушення у системі антиоксидантного захисту викликаються перхлоратами як шляхом прямої дії, так і завдяки ендокринному контролю

щитоподібної залози над системою антиоксидантного захисту організму. На відміну від процесів ліпопероксидації, посилення яких здійснюється переважно прямим втручанням перхлорату у якості потужного окиснювача.

Активація запального процесу у травному тракті поряд з розвитком дисбіотичних явищ, здебільш у товстій кишці, ініціюється переважно шляхом прямого пошкодження перхлоратами слизових оболонок, і лише частково – через гормональний механізм пригнічення тиреоїдної функції.

Таким чином, перхлорат калію здійснює одночасно локальний вплив на травний тракт та системні метаболічні і тиреоїдні порушення, що супроводжуються розвитком хронічного оксидативного стресу, запальних реакцій, дисбіотичних змін та структурних ушкоджень слизових оболонок травного тракту.

На підставі отриманих результатів та даних літератури основні ланки патогенезу перхлорат-індукованого запалення, а також механізми протизапальної ефективності квецетину та пропоксазепаму можна зазначити у загальної схемі на рис. 6.6.

В організмі перхлорати запускають подвійний механізм запалення через місцеву та системну дію. Травний тракт першим контактує з перхлоратами при пероральному надходженні. Вони досить стійкі, не руйнуються у кислому середовищі шлунку й всмоктуються у тонкому кишечнику. Завдяки гарній розчинності у воді перхлорати через слизову оболонку кишечника швидко потрапляють у кров [122]. Локально у травному тракті перхлорати викликають оксидативний стрес у клітинах епітелію, що призводить до його пошкодження. Ушкоджені клітини вивільняють сигнальні прозапальні цитокіни (IL-1β, TNF-α, IL-6), що стимулює місцеве запалення. Як сильні окислювачі, перхлорати можуть впливати на баланс кишкових бактерій, потенційне порушуючи мікробіоту кишечника [123].

Рис. 6.6 Патогенез перхлорат-індукованого запалення та механізм протизапальної дії кверцетину та пропоксазепаму

Системний механізм запалення проявляється після потрапляння перхлоратів у кров і здійснюється шляхом ендокринної тиреоїдної гіпофункції та індукції оксидативного стресу у організмі. Дефіцит тиреоїдних гормонів через дисбаланс цитокінів (зріст прозапальних IL-6 та TNF-α й зниження протизапальних IL-10) зменшує ефективність клітинного імунітету, що підтримує хронічне запалення [115, 157]. Оксидативний шлях ушкодження приєднається до ендокринного, викликаючи системне запалення. Обидва шляхи сходяться у системному запальному каскаді, що призводить до ураження органів (рис. 6.6).

Додатково ендокринний прозапальний механізм дії перхлоратів через гіпоталамо-гіпофізарну систему й збільшення секреції ТТГ втручається в гіпоталамо-гіпофізарно-яєчникову вісь, порушує секрецію гонадотропінів ФСГ, ЛГ та пригнічує вироблення естрогенів [106]. Дефіцит тиреоїдних гормонів викликає порушенням овуляції, естрогенного балансу та репродуктивній функції жінок [156]. Взаємодію тиреоїдних і статевих гормонів підтверджує кореляція підвищеного ризику гіпотиреозу з ранньою менопаузою [74].

Гіпоестрогенія ще сильніше зменшує вироблення протизапальних цитокінів IL-10, тому баланс зміщується в бік запалення. Естрогени підтримують цілісність епітелію кишечнику та щільні міжклітинні контакти. При їх нестачі кишкова стінка стає більш проникною ("leaky gut"), що дозволяє бактеріальним продуктам потрапляти в кров і стимулювати запалення. Гіпотиреоз з свого боку уповільнює регенерацію слизової оболонки кишечнику [120]. Обидва стани асоціюються з дисбіозом: зменшенням кількості *Bifidobacterium, Lactobacillus* і зростанням умовно-патогенних бактерій. У свою чергу дисбіоз одночасно впливає на функцію щитоподібної залози та метаболізм естрогенів. Це створює замкнене коло: гормональний дисбаланс (гіпотиреоз й гіпоестрогенія) → дисбіоз → запалення → ще більший гормональний дисбаланс (рис. 6.6) [99, 143, 150].

В підсумку, патогенез запалення у травному тракті внаслідок дії

перхлоратів складається з локальної ланки та системного ендокринного впливу через гіпофункцію щитоподібної залози, яка підсилює прозапальні сигнали, викликає гіпоестрогенію, котра погіршує бар'єрну функцію кишківника ("leaky gut"), зменшує вироблення протизапальних цитокінів IL-10. Разом гіпотиреоз й гіпоестрогенія, індуковані перхлоратною інтоксикацією, формують окислювальний стрес та дисбіоз й, як результат, сприятливі умови для хронічного запалення у травному тракті (рис. 6.6).

Шляхом спільних та відмінних підходів до контролю запалення пропоксазепам і кверцетин у композиції дозволяють моделювати, контролювати та лікувати перхлорат-індуковані запальні процеси. Пропоксазепам виконує центральну дію шляхом впливу на медіатори запалення, таким чином здійснює потужне фармакологічне втручання у процес запалення. Кверцетин, працює як на центральному рівні шляхом впливу на рецептори естрогенів та на антиоксидантну систему, так й на локальному рівні через антидисбіотичні та антиоксидантні властивості.

Центральна дія пропоксазепаму має полімодальний ефект через взаємодію з кількома біологічними мішенями: ГАМК- та гліцинові рецептори (гальмівні нейромедіатори), потенціал-залежні калієві канали, NMDA-рецептори (глутаматна система), α-1 адренорецептори, дофамінергічна система, що знижує передачу больових і запальних сигналів. Препарат зменшує прояви запальної реакції через пригнічення активації NF-κB та продукції цитокінів TNF-α та IL-6 (рис. 6.6). Є також дані про зниження рівня IL-17, що важливо для аутоімунних процесів та хронічного запалення [17]. Молекулярний докінгу прогнозує здатність пропоксазепаму взаємодіяти з циклооксигеназами, гальмуя продукцію простагландинів, та системою брадикініну, пригнічуя больову чутливість (сенситизацію) і набряк. Отже, центральна дія пропоксазепаму як протизапального агенту полягає у комбінованому впливі на нейромедіаторні системи та медіатори запалення, що робить його унікальним серед протизапальних засобів [54] .

Кверцетин нейтралізує вільні радикали, зменшуючи оксидативний стрес, який стимулює запалення, стабілізує мембрани, інгібує активність ЦОГ та ліпооксигенази, здійснює імунорегуляцію через підтримку балансу між про- та протизапальними сигналами, посилює активність фагоцитів і лімфоцитів, але водночас блокує надмірну імунну відповідь. [117, 118, 154]. Сполука додатково впливає на окремі ланки перхлорат-індукованого запалення. По-перш, завдяки естрогеноподібним властивостям, кверцетин здатний моделювати та контролювати запалення. За нашими даними *in silico* висока афінність кверцетину до естрогенового рецептора (ER, білкова мішень 1ERR) у поєднанні з його прогнозованою агоністичною активністю вказує на потенціал модуляції запальної відповіді на молекулярному рівні [144, 155]. По-друге, антиульцерогенний ефект сполуки реалізується через зменшення утворення АФК та інтенсивності ПОЛ у шлунку, підвищення рівня PGE_2 та стимуляцію секреції слизу, зниження агресивного впливу шлункового соку, а також пригнічення росту *Helicobacter pylori* [11, 61]. По-третє, кверцетин спроможний відновлювати цілісність кишкового епітелію та змінювати склад мікробіоти, що встановлено на моделях діабету у мишей [130]. За умов моделювання ожиріння та антибіотик-індукованого дисбіозу кверцетин здатний нормалізувати баланс мікробів та навіть впливав на метаболізм і когнітивні функції [131, 134, 135].

Таким чином, композиція поєднує фармакологічне полімодальне пригнічення запалення пропоксазепамом з природним гальмуванням запального процесу кверцетином. Спільні протизапальні ефекти препаратів здійснюються через гальмування активації шляху NF-κB й ЦОГ та стабілізацію мембран. Окремо пропоксазепам через вплив на брадикінінову системи запалення**,** а кверцетин завдяки потужної антиоксидантної, естрогеноподібної дії, а також здібності відновлювати цілісність кишкового епітелію та змінювати склад мікробіоти, створюють мультимодальну фармакологічну композицію як перспективний засіб для корекції запальних процесів.

ВИСНОВКИ

За результатами проведених експериментальних досліджень здійснено комплексну оцінку протизапальної ефективності комбінованого застосування інноваційного алкоксипохідного 1,4-бензодіазепіну пропоксазепаму з біофлавонаїдом кверцетином, а також поглиблені уявлення щодо ролі системних та локальних порушень у патогенезе токсичної дії перхлоратів, а саме:

1. *In silico*-прогнозування ефектів перхлоратів (платформа ProTox 3.0) виявило високий потенціал щодо імуно-, гепато-, кардіо- та нейротоксичності (0,91-0,99), ймовірність канцерогенної (0,80), мутагенної (0,75), цитотоксичної (0,73) дії, впливу на рецептори естрогенів, взаємодію з ферментами цитохрому Р450.
2. Результати ADME-аналізу пропоксазепаму за допомогою QikProp (Schrödinger) спрогнозували його високу пероральну біодоступність, здатність проникати через кишковий епітелій і гематоенцефалічний бар’єр, помірно низьку водну розчинність, високу мембранну проникність, збалансований профіль метаболізму, помірний рівень зв’язування з альбуміном крові.
3. Молекулярний докінг продемонстрував високу спорідненість кверцетину до ліганд-зв’язуючого естрогенового рецептору (–8,7 ккал/моль за AutoDock та –9,4 ккал/моль за Vina) шляхом формування водневих зв’язків з амінокислотами GLU353, HIE524 та ASP351 активного центру рецепторів. Докінг-аналіз за параметрами ADME спрогнозував помірну абсорбцію кверцетину в травному тракті, а AMES-токсичний тест засвідчив відсутність мутагенного ефекту. Кверцетин відповідає основним критеріям лікоподібності «drug-like», сформульованим «правилом п’яти» Ліпінського.
4. У моделі карагінан-індукованого запалення кверцетин у порівнянні з диклофенаком натрію за морфометричними та біохімічними показниками

у ділянці набряку проявив менш значуще пригнічення ексудативної реакції та маркерів запалення: активність кислої фосфатази знизилася на 21,1 % проти 30,6 %, еластази на 26,5 % проти 63,1 %. И, навпаки, кверцетин проявив найбільш виражений антиоксидантний ефект: вміст малонового діальдегіду зменшився на 34,0 % проти 15,8 % після застосування референтного диклофенаку. Подібні зміни встановлені у сироватці крові.

5. Комбіноване застосування кверцетину та пропоксазепаму за умов карагінанового запалення сприяло більш вираженому зменшенню ширини та висоти набряку щурів у порівнянні з відповідними параметрами після окремого введення кожного компоненту комплексу у всіх часових точках спостереження від 2 до 24 годин ($p < 0,05$).
6. Тривала інтоксикація перхлоратом калію призвела до затримки приросту маси тіла, зниження кількості еритроцитів на – 24,8 %, частки моноцитів на – 47,4 %, індексу системного імунного запалення – у 1,6 рази, індексу відповіді на системне запалення – у 2,7 рази на тлі підвищення числа лейкоцитів на 39,3 %, частки еозинофілів на 80,0 %, вмісту малонового діальдегіду на 107,8 %, активності каталази на 50,0 %, еластази – на 40,8 % та лужної фосфатази – на 42,8 % у крові щурів. Комбіноване застосування квертуліну та пропоксазепаму попередило затримку приросту маси тіла щурів, сприяло більш вираженій стабілізації гематологічних показників, індексів та маркерів системного запалення, оксидативного стресу ніж застосування L-тироксину ($p < 0,01$-$0,05$). За здатністю стабілізувати активність каталази у сироватці крові обидва види корекції були рівнозначні ($p > 0,05$).
7. Інтоксикація перхлоратом калію викликала у щурів розвиток ульцерогенних ушкоджень у шлунку: появу 58±4,1 виразок площею 41,7±3,8 мм² з індексом Паулса 41,7. Комбіноване застосування квертуліну з пропоксазепамом зменшувало кількість виразкових дефектів у 5,3 рази, площу ушкоджень – у 7,2 рази та індекс Паулса – у 17,4 разів.

Використання L-тироксину на тлі інтоксикації перхлоратом калію мало дуже низький гастропротекторний потенціал ($p < 0,001$-$0,05$).

8. У слизових оболонках травного тракту щурів перхлоратна інтоксикація викликала підвищення маркерів запалення: кислої фосфатази на 24,8-53,5 %, еластази – на 14,2-42,7 %, зростання рівня малонового діальдегіду – на 46,7-76,7 % та активності уреази – у 1,8-4,7 рази на тлі зростання активності каталази на 10,4-25,2 % й її зниження у шлунку на 28,6 %. Застосування комбінації квертуліну з пропоксазепамом сприяло зменшенню проявів запалення, пероксидації ліпідів, стабілізації мікробної контамінації. Ефективність L-тироксину за зазначеними маркерами була дещо нижчою ($p < 0,001$-$0,05$). Але за спосібністю нормалізувати активність каталази у травному тракті обидва види корекції були ідентичні ($p > 0,05$).
9. Інтегральна порівняльна оцінка протизапальної, антиоксидантної та гастропротекторної ефективності комбінації квертуліну з пропоксазепамом та L-тироксину дозволяє висловити припущення щодо подвійної участі перхлоратів у патогенезе запалення в травному тракті – через місцеву та системну дію. Локально перхлорати як потужні окиснювачі здійснюють пряме пошкодження слизових оболонок травного тракту, а системно – шляхом тиреоїдної гіпофункції та через вплив на антиоксиданту систему організму.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Акішева А. С. In silico аналіз механізмів реалізації анальгетичного та протизапального ефектів алкоксипохідних 1,4-бензодіазепіну : дис. … д-ра філос. : 091.09 / Одес. нац. ун-т імені І. І. Мечникова. Одеса, 2025. 159 с.

2. Андрусишина І. М., Голуб І. О. Перхлорати та щитоподібна залоза: відоме та невирішені проблеми (Огляд літератури та власні дослідження). *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2010. Вип. 4 (22). С. 92–101. http: //dspace.nbuv.gov.ua/handle/123456789/23236.

3. Атаман О. В. Патофізіологія: підручник: у 2-х т. Т.2: Патофізіологія органів і систем / О.В. Атаман. 2-тє вид. Вінниця: Нова Книга, 2019. 448 с.

4. Атаман О. В. Патологічна фізіологія в запитаннях і відповідях: Навчальний посібник / О.В. Атаман. 6-те вид., оновлене та доповнене. Вінниця : Нова Книга. 2021. 568 с.

5. Білки гострої фази як біомаркери запалення за умов моделювання термічної травми / І. Г. Літовка [та ін.]. *Physiological Journal/Fiziologichnyi Zhurnal*. 2025. Вип. 71(3). С. 67–72.

6. Бучко П. І., Марущак, М. І. Маркери лізосомального ушкодження за умови комбінованої дії к-карагінану та натрію глутамату в експерименті. *Медична та клінічна хімія*. 2021. Вип. 23(2). С. 48–54. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Med_chim_2021_23_2_9.

7. Валіводзь І. П., Акішева А. С. Молекулярний докінг пропоксазепаму з рецепторною системою холецистокініну (CCKAR) – потенційною мішенню анальгетичних лікарських засобів / XIV Всеукраїнська конференція молодих вчених, студентів та аспірантів з актуальних питань хімії, 10–12 жовтня м. Харків. 2023. С.14.

8. Велієва Л. П. Роль простагландинів Е2 та D2 у патогенезі запалення / Медицина третього тисячоліття : Фестиваль молодіжної науки : збірник тез конференції, Харків, 13–15 лютого 2023 / Харківський національний медичний університет. Харків : ХНМУ, 2023. С. 343–344.

9. Велієва Л. П. Роль простацикліну PGI2 у патогенезі запалення / Перший крок в науку. матеріали XX Наукової конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, 21–22 квітня, 2023. Вінниця, 2023. С. 128 –129.

10. Взаємозв'язки метаболітів кишкової мікробіоти з біомаркерами оксидантного стресу при цукровому діабеті 2 типу. Огляд / Шишкань-Шишова К. О. [та ін.]. *Clinical endocrinology and endocrine surgery*. 2024. №1(2). С. 45–52.

11. Винярська А. В. Кверцетин: біологічна активність, терапевтичний потенціал та перспективи використання. Науковий вісник ЛНУВМБ імені С. З. Ґжицького. Серія: Ветеринарні науки, 2024, Т. 26, № 116. С. 242–247. https://doi.org/10.32718/nvlvet11635.

12. Вісь кишечник – печінка: шляхи збереження гомеостазу організму. Історичні аспекти та сучасний стан проблеми. Огляд літератури / О. І. Бабенко, В. Я. Камінський, П. Р. Герич, І. В. Стойка, І. М. Івасишин. *Сучасна гастроентерологія*. 2024. Вип. 24(2). С. 46–55. https://doi.org/10.30978/MG-2024-2-46.

13. Возняк В. З. Оцінка ADME-Tox властивостей молекул. Методи та моделі графових нейронних мереж : магістерська дис. : 124 Системний аналіз. Київ, 2022. 123 с.

14. Вплив нестероїдних протизапальних препаратів на верхні відділи шлунково-кишкового тракту (Огляд літератури та властні спостереження) / С. П. Ходаківська [та ін.]. In The 1 st International scientific and practical conference "Modern problems of science, education and society" (March 26-28, 2023) SPC "Sci-conf. com. ua", Kyiv, Ukraine. 2023. p. 174.

15. Гладких Ф. В. Нестероїдні протизапальні засоби: терапевтичні та небажані ефекти, шляхи їх оптимізації. Вінниця : Твори, 2022. 216 с. https://doi.org/10.46879/2022.1.

16. Годованець О. С. Аналіз індексів системного запалення на основі показників периферичної крові у передчасно народжених дітей при

перинатальній патології. *Неонотологія, хірургія та перинатальна медицина*. 2024. № 3(53). 56–62. https://doi.org/10.24061/2413-4260.XIV.3.53.2024.8.

17. Головенко М. Я. Пропоксазепам – новаторський анальгетичний засіб, що гальмує гострий та хронічний біль і має полімодальний механізм дії. Вісник Національної академії наук України. 2021. № 4. С. 76–90. https://doi.org/10.15407/visn2021.04.076.

18. Дослідження активності маркерів стану місцевої неспецифічної реактивності та рівня мікробного обсіменіння у ротовій рідині пацієнтів з періімплантитами на тлі лікувально-профілактичного комплексу / А. Ю. Адубецька [та ін.]. *Вісник стоматології. Терапевтична стоматологія.* 2024. Вип. 128(3), С. 30–34. https://visnyk.od.ua/index.php/mainjournal/article/view/513/459.

19. Дослідження впливу бактеріального лізату на показники оксидативного стресу при експериментальному пародонтиті у щурів / М. С. Євтушенко, О. [та ін.]. *Лікарська справа.* 2020. Вип. 7–8. С. 50–55. http://nbuv.gov.ua/UJRN/LiSp_2020_7-8_8.

20. Дослідження фізико-хімічних властивостей гідрогелів на основі карагінану та їх вплив на процеси загоєння ран / І. І. Іванова [та ін.]. *Фізико-хімічний журнал*. 2018. № 92(3). С. 45–52. https://doi.org/10.1007/s00323-018-0145-6.

21. Європейська конвенція про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідницьких або інших наукових цілей від 18.03.1986р.:Верховна Рада України, офіційний веб-портал: Міжнародні документи (Рада Європи). Електронний ресурс. Режим доступу: http://zakon4.rada.gov.ua.

22. Загальна патофізіологія : метод. реком. для викладачів щодо підготов. до практ. занять студентів (спеціальність «Медицина» та «Стоматологія») / М. С. Мирошниченко [та ін.] Харків : ХНМУ, 2023. 104 с.

23. Задерей О. В., Макаренко О. А. Дослідження ефективності профілактики порушень у слизовій оболонці тонкої кишки щурів за

експериментального гіпотиреозу. *Актуальні проблеми транспортної медицини*. 2022. № 2 (68). С.114–120. http: //dx.doi.org/10.5281/zenodo.6814974

24. Закон України № 3447-IV «Про захист тварин від жорстокого поводження». Відомості Верховної Ради України. Офіц. вид. 2009. № 27. С. 990, ст. 230. (Бібліотека офіційних видань).

25. Запалення. Модуль № 1. Загальна патофізіологія. Змістовний модуль : Загальна нозологія : метод. рекомендації з самостійної підготовки для студентів 3 курсу мед. ф-ту спеціальності «Педіатрія» / Ю. М. Колесник [та ін.] ; за ред. проф. Ю. М. Колесника. Запоріжжя : [ЗДМУ], 2017. 87 с.

26. *In silico* аналіз молекулярних механізмів фармакологічної дії кверцетину / Л. С. Бобкова, Т. А. Бухтіарова, З. С. Суворова, О. Є. Ядловський. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2023, Вип. 17 (6). С. 359–375. https://doi.org/10.33250/17.06.359.

27. Інтегративна нутрицевтична стратегія використання незамінних амінокислот у регуляції запалення, стресу та болю (огляд літератури) / Д. Г. Рекалов [та ін.]. *Pain, Joints, Spine*. 2025. № 15(4). С. 211-222. https://doi.org/10.22141/pjs.15.4.2025.488

28. Карпінчик, Л. С., Жерносєкова, І. В., Єгорова, С. Ю. Цитокіни та цитокінотерапія як спосіб сповільнення старіння (огляд літератури). *Перспективи та інновації науки.* Серія «Медицина». 2024. № 12 (46). С. 1647–1681.

29. Ларіонов В. Б., Макаренко О. А., Молодан Ю. О. Дослідження протизапальних ефектів речовин 1,4-бензодіазепінового ряду та їх комбінації з біофлавоноїдом кверцетином. Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні тенденції розвитку науки, освіти, технології та суспільства». 12.09.2023 р. С. 57-58.

30. Клінічна лабораторна діагностика : підручник / Л. Є. Лаповець [та ін.]. Київ «Медицина». 2019. 472 с.

31. Макаренко О.А. Типові патологічні процеси: конспект лекцій. – Одеса : видавець С. Л. Назарчук, 2024. 111 с. https://dspace.onu.edu.ua/handle/123456789/38078.

32. Методи дослідження стану кишечнику та кісток у лабораторних щурів. Довідник / О. А. Макаренко [та ін.]. Одеса: Одеський національний університет імені І. І. Мечникова. 2022. 81 с. https://dspace.onu.edu.ua/handle/123456789/34310.

33. Мікробіом і запалення: взаємозв'язок та вплив на фізіологічні процеси. / О. Ю. Кошова, В. В. Чікіткіна, Т. К. Юдкевіч, І. О. Лебедінець. Науково-практична міжнародна дистанційна конференція. Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині, 21 березня 2025 року, Харків. С. 114–116.

34. Моделі *in-vivo* для дослідження протизапальних властивостей потенційних сполук / Молодан Ю. О. [та ін.]. XI Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми фармакології та медицини». 22.09.2023. С. 47–50.

35. Модель карагінан-індукованого запалення у щурів як один з методів оцінки протизапальної активності біофлавоноїду кверцетину / Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б., Борисюк І. Ю. Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку [Електронний ресурс] : тези допов. всеукр. наук.-практич. конф. з міжнарод. участю, 9–12 квітня 2024, ОНУ ім. І.І. Мечникова, м. Одеса, Україна, С. 110–112.

36. Молодан Ю. О., Ларіонов В. Б. Порівняльна оцінка активності кверцетину та диклофенаку натрію на моделі карагінанового запалення у щурів. *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2024. Т. 29, Вип. 2(55). С. 87–99. https://doi.org/10.18524/2077-1746.2024.2(55).320489.

37. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б. Антиульцерогенні властивості пропоксазепаму і квертуліну в умовах інтоксикації щурів перхлоратом калію. *XXIV–і читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції* (15-16 травня 2025 року). – Одеса: УкрНДІ

медицини транспорту, 2025. С.198- 199.

38. Молодан Ю. О., Макаренко О. А. Антиульцерогенна ефективність квертуліну та пропоксазепаму у слизовій оболонці шлунку щурів в умовах інтоксикації перхлоратом калію. *Актуальні проблеми транспортної медицини.* 2025. № 2 (80), С. 131-139. https://zenodo.org/records/15648750.

39. Молодан Ю. О., Макаренко О. А. Дослідження протизапальної дії кверцетину. VII науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «*Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція»*, Харків. – матеріали internet-конференції, м. Харків, 14 листопада 2024 р. Х.: НФаУ. 2024. С. 243–244.

40. Молодан Ю. О., Макаренко О. А. Ларіонов, В. Б. Дослідження впливу кверцетину, пропоксазепаму та їх спільного застосування на перебіг експериментального карагінанового запалення у щурів. *Актуальні проблеми транспортної медицини.* 2025. № 4 (82), С. 150-155. https://zenodo.org/records/18063468.

41. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б. Захисна дія комбінації пропоксазепаму та квертуліну на стан слизових оболонок травного тракту щурів в умовах інтоксикації перхлоратом калію. *Proceedings of II International Scientific and Practical Conference Vancouver, Canada*. 29-31 October 2025. – P. 292-297.

42. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б. Зміни біохімічних показників сироватки крові щурів при експериментальному гіпотиреозі на тлі прийому L-тироксину і в комбінації квертулін та пропоксазепам. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* [Електронний ресурс] : матеріали VII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Харків, 15 травня 2025 р. Х. : НФаУ, 2025. С. 204–206.

43. Молодан Ю., Макаренко О., Ларіонов В. Експериментальне обґрунтування профілактики запалення у травному тракті щурів в умовах інтоксикації перхлоратом калію. *Вісник Київського національного*

університету ім. Т. Шевченка. Біологія. 2025. № 4 (103), С. 58-65. https://doi.org/10.17721/1728.2748.2025.103.58-65.

44. Молодан Ю. О. Нові підходи до фармакологічної корекції запалення: експериментальне обґрунтування ефективності комбінацій кверцетину, пропоксазепаму та диклофенаку натрію. Міжнародний науково-практичний форум «Медицина сьогодення і майбутнього: тенденції, виклики та перспективи розвитку системи охорони здоров'я. 05.12.2025. С.199–201. https://doi.org/10.36059/978-966-397-559-7-60

45. Морфологія клітин крові лабораторних тварин і людини: Атлас / В. М. Запорожан [та ін.]. Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2002. 118 с.

46. Новосад Н.В. Лабораторні тварини і техніка біологічного експерименту: Навчально-методичний посібник для студентів біологічного факультету денного та заочного відділень (напрям підготовки: «Біологія»; галузь знань: «Природничі науки»). Запоріжжя: ЗНУ, 2011. 85 с.

47. Оксидативний стрес при захворюваннях шкіри й місце антиоксидантів у їх лікуванні / О. М. Важнича [та ін.]. *Полтавський державний медичний університет. Медичні перспективи.* 2025. Вип. 30 (3). С. 68–81. https://doi.org/10.33250/17.06.359.

48. Панасюкова О. Р., Кадан Л. П. Роль медіаторів запалення у патогенезі хронічного обструктивного захворювання легень. Український хіміотерапевтичний журнал. 2009. Вип. 3. С. 10–15. http://www.ifp.kiev.ua/ftp1/original/2009/panasiukova2009.pdf.

49. Патологічна фізіологія : підручник для студентів вищого фармацевтичного навчального закладу та фармацевтичних факультетів вищих медичних навчальних закладів / за ред. М.С. Регеда [та ін.]. 2-є вид., доп. і перероб. Львів, 2020. 490 с.

50. Патофізіологія: підручник / за ред. М. Н. Зайко, Ю.В. Биць [та ін.]; 6-тє вид., переробл. і доповн. Київ : ВСВ «Медицина», 2017. 736 с.

51. Перспективи створення нових вітчизняних протизапальних лікарських засобів на основі похідних 1,4-бенздіазепінів у комбінації з кверцетином /

Молодан Ю. О. [та ін.]. V науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю – «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації». 18.05.2023. С. 228–229.

52. Петренко О. А., Петренко І. В., Левицький А. П. Гастропротекторна ефективність антидисбіотичних засобів у щурів з преднізолоновим імунодефіцитом. *Вісник морської медицини*. 2016. Вип. 1 (70). С. 105–110.

53. Прогнозування механізмів взаємодії кверцетину, α-циперметрину та його похідних з α-рецептором естрогену (дослідження in silico). / А. С. Акішева, О. С. Сідлецький, Ю. О. Молодан, О. А. Макаренко. *Вісник ОНУ. Біологія.* 2024. Т. 29, Вип. 1(54). С. 81–105. https://doi.org/10.18524/2077 1746.2024.1(54).309040.

54. Простагландиновий і брадикініновий механізми анальгетичної та протизапальної дії пропоксазепаму: дані молекулярного докінгу / В. Б. Ларіонов [та ін.]. *Medical and Clinical Chemistry*. 2022. № 1. С. 9–19. https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2022.i1.13033.

55. Сакалюк О. В. Обґрунтування профілактики порушень у кістковій та травній системах щурів при гіпотиреозі: дис. … доктора філософії: 091.09 / Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова. Одеса. 2023. 164 с.

56. Сідлецький О. С. Стан кісток самок щурів при порушенні функції яєчників та його корекція : дис. … д-ра філос. : 091.09 / Одес. нац. ун-т імені І. І. Мечникова. Одеса, 2025. 199 с.

57. Сімеонова Н. К. Патофізіологія: підручник (ВНЗ III—IV р. а.) / за ред. В.А. Міхньова. 3-є вид., випр. Видавництво: Всеукраїнське спеціалізоване видавництво «Медицина», 2017. 544 с.

58. Скрипник С., Рибак В. Математичні методи статистики в біологічних дослідженнях. Психолого-педагогічні проблеми сучасної школи. 2024. № 2 (12). С. 93–99. https://doi.org/10.31499/2706-6258.2(12).2024.315019.

59. Статистичні методи в біології: підручник / Ю.І. Прилуцький, О.В. Ільченко, О.В. Цимбалюк, С.О. Костерін. К.: Наук. думка, 2017. 216 с.

60. Степанов Ю. М., Псарьова І. В. Роль біомаркерів у діагностиці хронічних запальних захворювань кишечника. *Гастроентерологія*. 2017. №51(1). С. 56–63. http://nbuv.gov.ua/UJRN/gastro_2017_51_1_10.

61. Суворова З. С. Протизапальна активність ліпосомальної форми кверцетину. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2024.Т. 18 (№ 3). С. 185–190. https://doi.org/10.33250/18.03.185.

62. Тваринні моделі *in vivo* для скринінгу потенційних протизапальних та знеболювальних засобів (огляд літератури) / Ю. О. Молодан [та ін.]. *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2023. Т. 28. Вип. 2(53). С. 113–127.

63. Халімова О. І. Анальгетичні властивості похідних 3-заміщених 1,2-дигідро-3н- 1,4- бенздіазепін-2-онів [Текст] : дис. .. канд. біол. наук : 14.03.05 / Фіз.-хім. ін-т ім. О. В. Богатського НАН України. Одеса: 2016. 158 с.

64. Цвях О. О., Чеботар Л. Д. Оксидативний стрес у тканинах шлунка щурів при моделюванні гастропатій на тлі нестачі та надлишку мелатоніну. *Буковинський медичний вісник*. 2016. Т. 20, № 3 (79), С. 190–196.

65. Шевченко В. О. Запалення і коагуляція. Медицина третього тисячоліття : Фестиваль молодіжної науки : збірник тез конференції, Харків, 13–15 лютого 2023 р. / ХНМУ. Харків, 2023. С. 394–395. https://repo.knmu.edu.ua/handle/123456789/32059.

66. Шевченко В. О, Павлова О. О. Динаміка змін клітинного складу вогнища хронічного запалення на тлі введення дабігатрену етексилату. *Клінічна анатомія та оперативна хірургія.* 2024. № 23(3). С. 29–40.

67. Шухтіна І. М. Роль дисбіозу в розвитку патології гепатобіліарної системи у хворих на хронічний гелікобактеріоз : дис. … д-ра мед. наук: 14.03.04. патол. фізіологія: Одес. нац. мед. ун-т. Одеса. 2024. 287 с.

68. Acute inflammation in IBD and neutrophil elastase–mediated epithelial injury / J.-P. Motta [et al.]. *Mucosal Immunology*. 2021. Vol. 14. P. 706–719. https://doi.org/10.1038/s41385-021-00375-w

69. Analgesic Effects of 3-Substituted Derivatives of 1,4-Benzodiazepines and their Possible Mechanisms / V.I. Pavlovsky [et al.]. *Neurophysiology*. 2013. Vol. 45. P. 427–432. https://doi.org/10.1007/s11062-013-9389-y.

70. Animal Models of Inflammation for Screening of Antiinflammatory Drugs: Implications for the Discovery and Development of Phytopharmaceuticals / K.R. Patil [et al.]. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. Vol. Vol. 20 (18). P. 43–67. doi:10.3390/ijms20184367

71. Anti-inflammatory effects of propoxazepam on different model of inflammation / M.Y. Golovenko [et al.]. *International Journal of Medicine and Medical Research* 2020. Vol. 5. (2). P. 105–112. https://doi.org/10.11603/ijmmr.2413-6077.2019.2.10900

72. Anti-inflammatory potential of quercetin: From chemistry and mechanistic insight to nanoformulations / D. Aggarwal [et al.]. *Current Research in Pharmacology and Drug Discovery*. 2025. Vol. 8. e100217. doi: 10.1016/j.crphar.2025.100217.

73. A review of perchlorate (ClO_4^-) occurrence in fruits and vegetables / R. Calderón, F. Godoy, M. Escudey, P. Palma. *Environmental monitoring and assessment*. 2017. Vol. 189(2). P. 82. doi:10.1007/s10661-017-5793-x.

74. Associations between age at natural menopause and risk of hypothyroidism among postmenopausal women from the Canadian Longitudinal Study on Aging (CLSA) / D. Kesibi, M. Rotondi, H. Edgell, H. Tamim. *PLoS One*. 2025. Vol. 20(5). e0324635. doi:10.1371/journal.pone.0324635

75. Aviello G., Knaus U. G. ROS in gastrointestinal inflammation: Rescue Or Sabotage? *British Journal of Pharmacology*. 2016. Vol. 174(12). P. 1704–1718. https://doi.org/10.1111/bph.13428

76. Bindu S., Mazumder S., Bandyopadhyay U. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and organ damage: A current perspective. *Biochemical pharmacology*. 2020, Vol. 180. P. 114–147. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2020.114147.

77. Biology and therapeutic prospects “Revisiting IL-2” / Abbas Abul K. [et al.]. *Science immunology*. 2018. Vol. 3(25). eaat1482. doi:10.1126/sciimmunol.aat1482.

78. Catalá Á. Lipid peroxidation modifies the assembly of biological membranes "The Lipid Whisker Model". *Front Physiol*. 2015. Vol. 5. P. 520. doi:10.3389/fphys.2014.00520.

79. Cardiovascular Safety of Celecoxib, Naproxen, or Ibuprofen for Arthritis / S.E. Nissen [et al.]. *The New England journal of medicine.* 2016. Vol. 375(26) P. 2519–2529. doi:10.1056/NEJMoa1611593.

80. Carrageenan in meat: improvement in lipid metabolism due to Sirtuin1-mediated fatty acid oxidation and inhibited lipid bioavailability / Z. Huang, Y. Ma, Y. Xie, D. Zhao, C. Li. *Food & Function*. 2023. Vol. 14(11). P. 5404–5416.

81. Comprehensive and critical view on the anti-inflammatory and immunomodulatory role of natural phenolic antioxidants / Pisoschi A.M. [et al.]. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2023. Vol. 265. P. 18–23. https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2023.116075.

82. Computational protein–ligand docking and virtual drug screening with the AutoDock suite / S. Forli [et al.]. *Nat Protoc.* 2016. Vol. 11. P. P. 905–919. https://doi.org/10.1038/nprot.2016.051.

83. Council Directive 2010 / 63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Communities. 2010. L 276. P. 33–79.

84. Curtin N. J, Szabo C. Poly (ADP-ribose) polymerase inhibition: past, present and future. *Nature reviews. Drug discovery.* 2020. Vol. 19(10). P. 711–736. doi:10.1038/s41573-020-0076-6.

85. D'Andrea G. Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *retracted in: Fitoterapia*. 2015. Vol. 1106. P. 256–271. doi: 10.1016/j.fitote.2024.106320.]. doi:10.1016/j.fitote.2015.09.018.

86. Daina A., Michielin O., Zoete V. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules. *Sci Rep*. 2017. Vol. 3(7). e42717. doi: 10.1038/srep42717.

87. Distribution of lysosomal enzymes in esophagus, stomach and intestines / L. H. Faccioli [et al.]. *Acta Histochemica*. 2016. Vol. 118(8). P. 740–747. https://doi.org/10.1016/j.acthis.2016.08.001

88. Edoardo Marcucci, Valerio Gatta, Michela Le Pira. Gamification design to foster stakeholder engagement and behavior change: An application to urban freight transport. *Transportation Research Part A: Policy and Practice*. 2018. Vol. 118. P. 119–132. https://doi.org/10.1016/j.tra.2018.08.028.

89. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings / C. A. Lipinski [et al.]. *Advanced drug delivery reviews.* 2001. Vol. 46 (1–3). P. 3–26. https://doi.org/10.1016/S0169-409X(00)00129-0.

90. Elastic fiber degradation and inflammatory infiltration in colitis / A. Denadai-Souza. [et al.]. *Scientific Reports*. 2018. Vol. 8. P. 2646. https://doi.org/10.1038/s41598-018-26282-y

91. Exosomal PD-L1 contributes to immunosuppression and is associated with anti-PD-1 response / Gang Chen [et al.]. *Nature.* 2018. Vol. 560 (7718). P. 382–386. doi:10.1038/s41586-018-0392-8.

92. Exposure to perchlorate, nitrate and thiocyanate, and prevalence of diabetes mellitus / Liu G., Zong G., Dhana K. [et al.]. *International Journal of Epidemiology*. 2017. Vol. 46(6), P. 1913–1923. doi:10.1093/ije/dyx188

93. Flavonoids as anti-inflammatory agents / M. Serafini [et al.]. *The Proceedings of the Nutrition Society.* 2010. Vol. 69 (3). P. 273-278. doi:10.1017/S002966511000162X.

94. Flavonoids as Potential Anti-Inflammatory Molecules: A Review. / J. M. Al-Khayri [et al.]. *Molecules (Basel, Switzerland.* 2022. Vol. 27(9). P. 2901. https://doi.org/10.3390/molecules27092901

95. Forman H. J., Zhang H. Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature reviews. Drug discovery*. 2019. Vol. 25(12). P. 1822–1832. doi:10.1038/s41591-019-0675-0.

96. Forman H. J., Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature reviews. Drug discovery*. 2021. Vol. 20(9). P. 689–709. doi:10.1038/s41573-021-00233-1.

97. Gaschler M. M., Stockwell B. R. Lipid Peroxidation in Cell Death. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2017. Vol. 482. P. 419–425. doi: 10.1016/j.bbrc.2016.10.086.

98. Gut microbiota and IBD: bacterial urease links dysbiosis to inflammation / J. Ni [et al.]. *Science Translational Medicine*. 2017. Vol. 9(416). eaah6888. https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aah6888

99. Harding A. T., Heaton N. S. The impact of estrogens and their receptors on immunity and inflammation during infection. *Cancers*. 2022. Vol. 14(4). P. 909. doi:10.3390/cancers14040909

100. Harirforoosh S., Asghar W., Jamali F. Adverse effects of nonsteroidal antiinflammatory drugs: an update of gastrointestinal, cardiovascular and renal complications. *J Pharm Pharm Sci*. 2013. Vol. 16(5). P. 821–847. https://doi.org/10.18433/J3VW2F.

101. Heeba G. H., Mahmoud M. E., Hanafy A. A. Anti-inflammatory potential of curcumin and quercetin in rats: role of oxidative stress, heme oxygenase-1 and TNF-α. *Toxicol Ind Health.* 2014. Vol. 30(6). P. 551–560. doi:10.1177/0748233712462444.

102. Identification of Potential C-kit Protein Kinase Inhibitors Associated with Human Liver Cancer: Atom-based 3D-QSAR Modeling, Pharmacophores-based Virtual Screening and Molecular Docking Studies / K.A.R. Kouassi [et al.]. *American Journal of Pharmacological Sciences.* 2021. Vol. 9(1). P. 1–29. DOI: 10.12691/ajps-9-1-1.

103. Important Flavonoids and Their Role as a Therapeutic Agent / A. Ullah [et al.]. *Molecules.* 2020. Vol. 25(22). P. 5243. doi:10.3390/molecules25225243

104. *In silico* exploration of antinociceptive activity of 1,4-benzodiazepines: Molecular docking on α1 A-adrenoceptor, and phospho-diesterase 4 / A. S. Akisheva [et al.]. *Regul. Mech. Biosyst*. 2024. 15(2). 327–336. ISSN 2520-2588. https://doi.org/10.15421/022447

105. Investigation of the potential effects of estrogen receptor modulators on immune checkpoint molecules / N. Abramenko [et al.]. *Sci Rep*. 2024. Vol. 14. P. 3043. https://doi.org/10.1038/s41598-024-51804-2.

106. Krassas G. E., Poppe K., Glinoer D. Thyroid function and human reproductive health. *Endocr Rev*. 2010. Vol. 31(5). P. 702–755. doi:10.1210/er.2009-0041

107. Lana A., Chan F. K. L. Peptic ulcer disease. *Lancet*. 2017. Vol. 390 (10094). P. 613–624. doi:10.1016/S0140-6736(16)32404-7.

108. Licata A. Adverse drug reactions and organ damage: The liver. *European journal of internal medicine*. 2016. Vol. 28. P. 9–16. doi:10.1016/j.ejim.2015.12.017.

109. Lipid metabolism within the bone microenvironment is closely associated with bone metabolism in physiological and pathophysiological stages / B. Wang [et al.]. *Lipids in Health and Disease*. 2022. Vol. 21(5). P. 1–14. https://doi.org/10.1186/s12944-021-01615-5.

110. Maffini, M. V., Trasande, L., Neltner, T. G. Perchlorate and diet: human exposures, risks, and mitigation strategies. *Current environmental health reports*. 2016. Vol. 3(2). P 107–117. doi:10.1007/s40572-016-0090-3

111. Molecular docking studies and biological evaluation of isoxazole-carboxamide derivatives as COX inhibitors and antimicrobial agents / M. Hawash [et al.]. *Biotech*. 2022. Vol. 12. P. 342.

112. Molecular Insights into Propoxazepam Interaction with TRPV1 Receptors: A Docking Analysis / V. B. Larionov [et al.] *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2023. Т. 28, № 2 (53). С. 99-112. https://doi.org/10.18524/2077–1746.2023.2(53).293324

113. Molodan Yu. O. Analysis of the influence of the bioflavanoid quercetin and diclofenac sodium on the course of the inflammation process in the carrageenan inflammation model in rats under diffetent conditions of administration. VI науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації. 16.05.24. С. 41–42.

114. Molodan Yu. O. Conparative evalution of the bioflavanoid quercetin and diclofenac sodium effects on inflammation in rats. *Proceedings of IX International Scientific and Practical Conference*, 6-8 May 2024. P. 45–49.

115. Montesinos M. D. M., Pellizas, C. G. Thyroid hormone action on innate immunity. *Frontiers in endocrinology*. 2019. Vol. 10, P. 350. doi:10.3389/fendo.2019.00350

116. Nonsteroidal Anti-Inflammatory Therapy: A Journey Toward Safety / C. Pereira-Leite [et al.]. *Med Res Rev.* 2017. Vol. 37(4). P. 802–859. doi:10.1002/med.21424

117. Nyarko K. Investigating the Antioxidant Properties of Quercetin. *Quercetin-Effects on Human Health*. 2024. Vol. 5 (218) P. http://dx.doi.org/10.5772/intechopen.1004648

118. Overview of biological effects of Quercetin on ovary / Z. Rashidi [et al.]. *Phytotherapy Research*. 2020. Vol. 35(1). P. 33 – 49. https://doi.org/10.1002/ptr.6750

119. Oxidative stress in Perna perna and other bivalves as indicators of environmental stress in the Brazilian marine environment: antioxidants, lipid peroxidation and DNA damage / A. E. Almeida [et al.]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology.* 2007. Vol. 146(4). P.588–600. doi:10.1016/j.cbpa.2006.02.040

120. Park S. L., Kim M. S., Kim T. H. Gut microbiome and estrogen. *Journal of Menopausal Medicine*. 2025. Vol. 31(2). P. 95. doi:10.6118/jmm.24024

121. Perchlorate and thyroid function / N. S. Handler [et al.]. *Current Opinion in Endocrine and Metabolic Research*. 2025. Vol. 41. P. 100589. https://doi.org/10.1016/j.coemr.2025.100589.

122. Perchlorate: Ecological and human health effects / J. Clarkson, S. B. Sager, Yu L. Locey., E. Silberhorn. Ecotoxicology, Ecological Risk Assessment and Multiple Stressors. *Dordrecht: Springer Netherlands*. 2006. P. 73–93.

123. Perchlorate - properties, toxicity and human health effects: an updated review / P. Niziński [et al.]. *Rev Environ Health*. 2020. Vol. 36(2). P. 199–222. doi:10.1515/reveh-2020-0006.

124. Perchlorate versus other environmental sodium/iodide symporter inhibitors: potential thyroid-related health effects / De B. Groef [et al.]. *European Journal of Endocrinology*. 2006. Vol. 155(1). P. 17–25. doi:10.1530/eje.1.02190

125. Permethrin-induced oxidative stress and toxicity and metabolism. A review / X. Wang [et al.]. *Environmental research*. 2016. Vol. 149. P. 86–104. https://doi.org/10.1016/j.envres.2016.05.003

126. Physiologically-based toxicokinetic model for the prediction of perchlorate distribution and its application / L. Zhang, J. Jiang, W. Jia [et al.]. *Environ Pollut.* 2023. Vol. 318. e. 120856. doi:10.1016/j.envpol.2022.120856.

127. Pleus R. C., Corey L. M. Environmental exposure to perchlorate: a review of toxicology and human health. *Toxicology and applied pharmacology*. 2018. Vol. 358. P. 102–109. doi:10.1016/j.taap.2018.09.001

128. ProTox 3.0: A webserver for the prediction of toxicity of chemicals / P. Banerjee [et al.]. *Nucleic Acids Research*. 2024. Vol. 52(1). P. 513–520. https://doi.org/10.1093/nar/gkae303/.

129. Quercetin abrogates lipopolysaccharide-induced depressive-like symptoms by inhibiting neuroinflammation via microglial NLRP3/NFκB/iNOS signaling pathway / O. A. Adeoluwa [et al.]. *Behavioural Brain Research*. 2023. Vol. 450. P. 114503. https://doi.org/10.1016/j.bbr.2023.114503

130. Quercetin Alleviates Insulin Resistance and Repairs Intestinal Barrier in *db*/*db* Mice by Modulating Gut Microbiota / M. Yuan [et al.]. *Nutrients*. 2024. Vol. 16(12). P. 1870. https://doi.org/10.3390/nu16121870

131. Quercetin ameliorates gut microbiota dysbiosis that drives hypothalamic damage and hepatic lipogenesis in monosodium glutamate-induced abdominal obesity / L. Zhao [et al.]. *Frontiers in nutrition*. 2021. Vol. 8. P. 671353. https://doi.org/10.3389/fnut.2021.671353

132. Quercetin and derivatives: useful tools in inflammation and pain management / G. Carullo, A. R. Cappello [et al.]. *Future. Med. Chem*. 2017. Vol. 9 (1). P. 79–93. https://doi.org/10.4155/fmc-2016- 0186

133. Quercetin and Ferulic Acid Elicit Estrogenic Activities In Vivo and In Silico / M. Slighoua [et al.]. *Molecules.* 2023. Vol. 28(13). P. 5112. doi: 10.3390/molecules28135112.

134. Quercetin hybrid-hydrogel microparticles modulate gut microbiota and improve memory in an antibiotic-induced dysbiosis rat model / S. J. Parappilly [et al.]. *Scientific Reports*. 2025. Vol. 15. P. 424–429. https://doi.org/10.1038/s41598-025-26608-7.

135. Quercetin Improves Inflammation, Oxidative Stress, and Impaired Wound Healing in Atopic Dermatitis Model of Human Keratinocytes / B. Beken [et al.]. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol*. 2020. Vol. 33(2). P. 69-79. doi:10.1089/ped.2019.1137

136. Quercetin inhibits macrophage polarization through the p-38α/β signalling pathway and regulates OPG/RANKL balance in a mouse skull model / Yu-Wei Ge [et al.]. *Journal of Cellular and Molecular Medicine.* 2020. Vol. 24 (5). P. 3203–3216. https://doi.org/10.1111/jcmm.14995.

137. Quercetin, Inflammation and Immunity / Li Yao [et al.]. *Nutrients.* 2016. Vol. 8(3). P. 167. doi:10.3390/nu8030167.

138. Quercetin: Its Main Pharmacological Activity and Potential Application in Clinical Medicine / D. Yang [et al.]. Oxidative medicine and cellular longevity. 2020. Vol. 2020. e. 8825387. doi:10.1155/2020/8825387.

139. Robbins and Cotran Pathologic Basis of Disease / V. Kumar [et al.]. Elsevier Inc. All rights reserved. 10th ed. (S. l). 2021. 672 p.

140. Roh J. S., Dong H. S. Damage-Associated Molecular Patterns in Inflammatory Diseases. *Immune network.* 2018. Vol. 18 (4) e27. doi:10.4110/in.2018.18.e27.

141. Rottenberg H., Hoek J. B. The path from mitochondrial ROS to aging runs through the mitochondrial permeability transition pore. *Aging cell*. 2017. Vol. 16 (5). P. 943-955. doi:10.1111/acel.12650.

142. Sedative-hypnotic and muscle relaxant activities of propoxazepam in animal models and investigation on possible mechanisms. / M. Y. Golovenko [et al.]. *Drug Discovery.* 2020. Vol. 14(33): 155–162.

143. Sex hormones, intestinal inflammation, and the gut microbiome: major influencers of the sexual dimorphisms in obesity / H. Brettleet [et al.]. *Frontiers in immunology*. 2022. Vol. 13. P. 971048. doi:10.3389/fimmu.2022.971048

144. Selected Phytoestrogens Distinguish Roles of ERα Transactivation and Ligand Binding for Anti-Inflammatory Activity / H. Liu [et al.] *Endocrinology*. 2018. Vol. 159(9). P. 3351 – 3364. https://doi.org/10.1210/en.2018-00275\

145. Stewart A. G., Beart P. M. Inflammation: maladies, models, mechanisms and molecules. *British Journal of Pharmacology*. 2016. Vol. 173 (4). P. 631–634. doi:10.1111/bph.13389

146. STW 5 is effective against nonsteroidal anti-inflammatory drugs induced gastro-duodenal lesions in rats / M. T. Khayyal [et al.]. *World J Gastroenterol.* 2019. Vol. 25(39). P. 5926–5935. doi:10.3748/wjg.v25.i39.5926.

147. Synergistic anti-inflammatory effects of quercetin and catechin via inhibiting activation of TLR4–MyD88-mediated NF-κB and MAPK signaling pathways / T. Li [et al.]. *Phytother. Res.* 2019. Vol. 33. P. 756–767. https://doi.org/10.1002/ptr.6268

148. Synthesis, structure and affinity of novel 3-alkoxy-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones for CNS central and peripheral benzodiazepine receptors / S.

Andronati [et al.]. *European journal of medicinal chemistry*. 2010. Vol. 45(4). P. 1346–1351. doi:10.1016/j.ejmech.2009.12.027.

149. The discovery and development of propoxazepam, a novel anal-gesic and anticonvulsant with multimodal mechanism of action: review of own preclinical data / M. J. Golovenko [et al.]. *EAS Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2020. Vol. 23(3). P. 57–64. https://doi.org/10.36349/easjpp.2020.v02i03.13.

150. The impact of the gut microbiota on the reproductive and metabolic endocrine system / X. Qi, C. Yun, Y. Pang, J. Qiao. *Gut microbes*. 2021. Vol. 13(1). P. 1894070. doi:10.1080/19490976.2021.1894070

151. Therapeutic and preventive effectiveness of oral application of phitogels "Kvertulin", "Biotrit" and "Dubovy" in inflammatory complications in the digestive system of rats treated with thermoperoxide sunflower oil / A. P. Levitsky [et al.]. *Journal of Education, Health and Sport*. 2021. Vol. 11(2). P. 81–88. https://repo.odmu.edu.ua/xmlui/handle/123456789/9550.

152. Therapeutic and preventive effects of polyfunctional antidisbiotics drugs on the condition of periodontal bone tissue of rats, who have consumed thermoperoxide sunflower oil for a long time / A. P. Levitsky [et al.]. 2021. *Pharmacology Online*. Vol. 3. P. 668-673. https://repo.odmu.edu.ua/xmlui/handle/123456789/12831

153. Therapeutic Effects of Quercetin on Inflammation, Obesity, and Type 2 Diabetes / S. Chen [et al.]. *Mediators Inflamm*. 2016. Vol. 2016. e9340637. doi:10.1155/2016/9340637.

154. Therapeutic potential of flavonoids in inflammatory bowel disease: A comprehensive review / A. Salaritabar [et al.] *World journal of gastroenterology*. 2017. Vol. 23(28). P. 5097. doi:10.3748/wjg.v23.i28.5097

155. The roles of estrogen and estrogen receptors in gastrointestinal disease / C. Chen [et al.] *Oncology letters*. 2019. Vol. 18(6). P. 5673–5680. https://doi.org/10.3892/ol.2019.10983).

156. Thyroid disorders and polycystic ovary syndrome: An emerging relationship / U. Sinha [et al.] *J. Hum Reprod Sci.* 2013. Vol. 6(4). P. 228–233. doi:10.4103/2230-8210.146860

157. Thyroid hormones interaction with immune response, inflammation and non-thyroidal illness syndrome / D. R. Luca [et al.]. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2021. Vol. 8. P. 614030. doi:10.3389/fcell.2020.614030

158. Vassalle C., Maltinti M., Sabatino L. Targeting Oxidative Stress for Disease Prevention and Therapy: Where Do We Stand, and Where Do We Go from Here. *Molecules.* 2020. Vol. 25(11). P. 2653. doi: 10.3390/molecules25112653.

159. Waterbeemd V. H., Gifford E. ADMET in silico modelling: towards prediction paradise?. *Nat Rev Drug Discov.* 2003. Vol. 2(3). P. 192–204. doi:10.1038/nrd1032.

160. Zeilhofer H. U., Benke D., Yevenes G. E. Chronic pain states: pharmacological strategies to restore diminished inhibitory spinal pain control. *Annual review of pharmacology and toxicology*. 2012. Vol. 52. P. 111–133. https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-010611-134636.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

Пропоксазепам розглядається як багатообіцяючий фармакологічний засіб, який наразі проходить клінічні випробування в Україні, тому отримані експериментальні дані щодо його комбінованого застосування з кверцетином (квертуліном) можуть бути використані для подальшого обґрунтування створення нових протизапальних, антиоксидантних і цитопротекторних композицій із мультимодальним механізмом дії. Результати роботи доцільно застосовувати при плануванні доклінічних та клінічних досліджень, а також у навчальному процесі та науково-дослідній діяльності у галузі експериментальної фармакології.

ДОДАТОК А

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні результати дисертації

1. Молодан Ю. О., Ларіонов В. Б., Борисюк І. Ю. і Макаренко О. А. Тваринні моделі *in-vivo* для скринінгу потенційних протизапальних та знеболювальних засобів (Огляд літератури). *Вісник Одеського національного університету. Біологія*. 2023. Т. 28, вип. 2(53). С. 113–127. https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).293327

2. Larionov V. B., Golovenko M. Ya., Akisheva A. S., Valivodz I. P., Borysiuk I. Yu., Molodan Yu. O., Makarenko O. A. Molecular Insights into Propoxazepam Interaction with TRPV1 Receptors: A Docking Analysis. *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2023. Т. 28, № 2 (53). С. 99-112. https://doi.org/10.18524/2077-1746.2023.2(53).293324

3. Акішева А. С., Сідлецький О. С., Молодан Ю. О., Макаренко О. А. Прогнозування механізмів взаємодії кверцетину, α-циперметрину та його похідних з α-рецептором естрогену (дослідження in silico). *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2024. Т. 29, вип. 1(54). С. 81 – 105. https://doi.org/10.18524/2077-1746.2024.1(54).309040

4. Молодан Ю. О., Ларіонов В. Б. Порівняльна оцінка активності кверцетину та диклофенаку натрію на моделі карагінанового запалення у щурів. *Вісник Одеського національного університету. Біологія.* 2024. Т. 29, вип. 2(55). С. 87–99. https://doi.org/10.18524/2077-1746.2024.2(55).320489

5. Akisheva, A. S., Larionov, V. B., Golovenko, M. Y., Makarenko, O. A., Valivodz, I. P., Borysiuk, I. Y., Molodan, Y. O. In silico exploration of antinociceptive activity of 1,4-benzodiazepines: Molecular docking on α1 A-adrenoceptor, and phospho-diesterase 4. *Regul. Mech. Biosyst*. 2024. 15(2).327–336. ISSN 2520-2588. https://doi.org/10.15421/022447

6. Макаренко О. А., Молодан Ю. О. Антиульцерогенна ефективність квертуліну та пропоксазепаму у слизовій оболонці шлунку щурів в умовах

інтоксикації перхлоратом калію. *Актуальні проблеми транспортної медицини.* 2025. № 2 (80), С. 131-139. https://zenodo.org/records/15648916

7. Молодан Ю. О., Макаренко О. А. Ларіонов, В. Б. Дослідження впливу кверцетину, пропоксазепаму та їх спільного застосування на перебіг експериментального карагінанового запалення у щурів. *Актуальні проблеми транспортної медицини.* 2025. № 4 (82), С. 150-155. https://zenodo.org/records/18023464

8. Молодан Ю., Макаренко О., Ларіонов В. Експериментальне обгрунтування профілактики запалення у травному тракті щурів в умовах інтоксикації перхлоратом калію. *Вісник Київського національного університету ім. Т. Шевченка. Біологія.* 2025. № 4 (103), С. 58-65. https://doi.org/10.17721/1728.2748.2025.103.58-65

Наукові праці, що засвідчують апробацію матеріалів дисертації

1. Молодан Ю.О., Макаренко О.А., Акішева А.С., Ларіонов В.Б., Валіводзь І.П., Борисюк І.Ю. Перспективи створення нових вітчизняних протизапальних лікарських засобів на основі похідних 1,4-бенздіазепінів у комбінації з кверцетином. *V науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю – «Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації»,18.05.2023.* С. 228-229.

2. Ларіонов В.Б., Макаренко О.А., Молодан Ю.О. Дослідження протизапальних ефектів речовин 1,4-бенздіазепінового ряду та їх комбінації з біофлавоноїдом кверцетином. *Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні тенденції розвитку науки, освіти, технології та суспільства»,* 12.09.2023. – С. 57-58.

3. Молодан Ю. О., Акішева А. С., Макаренко О. А., Валіводзь І. П., Ларіонов В. Б. Моделі *in-vivo* для дослідження протизапальних властивостей потенційних сполук. *XI Міжнародної науково-практичної конференції «Сучасні проблеми фармакології та медицини»,* 22.09.2023. С. 47-50.

4. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б., Борисюк І. Ю. Модель карагінан-індукованого запалення у щурів як один з методів оцінки протизапальної активності біофлавоноїду кверцетину. *Сучасна фармація: реалії сьогодення та перспективи розвитку [Електронний ресурс] : тези допов. всеукр. наук.-практич. конф. з міжнарод. участю,* 9–12 квітня 2024, Одеса . Одес. нац. ун-т ім. І.І. Мечникова, м. Одеса, Україна, С. 110-112.

5. Molodan Yu. O. Conparative evalution of the bioflavanoid quercetin and diclofenac sodium effects on inflammation in rats. *Proceedings of IX International Scientific and Practical Conference,* 6-8 May 2024. – P. 45-49.

6. Molodan Yu. O. Analysis of the influence of the bioflavanoid quercetin and diclofenac sodium on the course of the inflammation process in the carrageenan inflammation model in rats under diffetent conditions of administration. *VI*

науково-практична конференція студентів та молодих вчених з міжнародною участю «Від експеременталної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації. – 16.05.24. – С. 41-42.

7. Молодан Ю. О., Макаренко О. А. Дослідження протизапальної дії кверцетину. VII науково-практична internet-конференція з міжнародною участю «*Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їх фармакологічна корекція»*, Харків. – матеріали internet-конференції, м. Харків, 14 листопада 2024 р. Х.: НФаУ. – 2024, – С. 243-244.

8. Молодан Ю. О., Макаренко Т. О., Ларіонов В. Б. Зміни біохімічних показників сироватки крові щурів при експериментальному гіпотиреозі на тлі прийому L-тироксину і в комбінації квертулін та пропоксазепам. *Від експериментальної та клінічної патофізіології до досягнень сучасної медицини і фармації* [Електронний ресурс] : матеріали VII науково-практичної конференції студентів та молодих вчених з міжнародною участю, м. Харків, 15 травня 2025 р. Х. : НФаУ, 2025. 328 с.204-206.

9. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б. Антиульцерогенні властивості пропоксазепаму і квертуліну в умовах інтоксикації щурів перхлоратм калію. *XXIV–і читання В. В. Підвисоцького: Бюлетень матеріалів наукової конференції* (15-16 травня 2025 року). – Одеса: УкрНДІ медицини транспорту, 2025. С.198- 199.

10. Молодан Ю. О., Макаренко О. А., Ларіонов В. Б. Захисна дія комбінації пропоксазепаму та квертуліну на стан слизових оболонок травного тракту щурів в умовах інтоксикації перхлоратом калію. *Proceedings of II International Scientific and Practical Conference Vancouver, Canada*. 29-31 October 2025. – P. 292-297.

11. Молодан Ю. О. Нові підходи до фармакологічної корекції запалення: експериментальне обгрунтування ефективності комбінацій кверцетину, пропоксазепаму та диклофенаку натрію. *Міжнародний науково-практичний форум «Медицина сьогодення і майбутнього: тенденції, виклики та перспективи розвитку системи охорони здоров'я*. 05.12.2025. – С.199- 201.

https://doi.org/10.36059/978-966-397-559-7-60