

УДК: 616-00126/28+615.01

Г. М. Войтенко<sup>1</sup>, А. А. Калашніков<sup>1</sup>, Н. В. Курділь<sup>1</sup>✉, В. Л. Савицький<sup>2</sup>, Л. А. Устінова<sup>2</sup>,  
О. Г. Луценко<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України, Інститут експериментальної токсикології та медико-біологічних досліджень, вул. Героїв оборони, 6, м. Київ, 03680, Україна

<sup>2</sup>Українська військово-медична академія, вул. Генерала Алмазова (Московська) 45/1, 33, Київ, 01015, Україна

<sup>3</sup>Державна установа «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України», вул. Юрія Ілленка, 53, м. Київ, 04050, Україна

## ПЕРСПЕКТИВИ СТВОРЕННЯ ЗАСОБІВ РАДІОЗАХИСНОЇ ДІЇ НА ОСНОВІ КОМПОЗИЦІЙ ПРИРОДНИХ ПОЛІФЕНОЛЬНИХ СПОЛУК І ПОЛІСАХАРИДІВ

Високий рівень радіаційно-ядерних загроз в сучасному світі визначає необхідність пошуку дієвих засобів фармакологічного захисту здоров'я військовослужбовців і цивільного населення від дії іонізуючого випромінювання. Особливий науковий інтерес в цьому аспекті представляють природні поліфеноли як перспективні сполуки для розробки фармпрепаратів радіозахисної дії.

**Мета.** Обґрунтування перспектив створення засобів радіозахисної дії на основі композицій рослинних поліфенольних сполук (ПФС) і полісахаридів.

**Матеріал та методи.** Експерименти проведено на 130 лабораторних білих статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar масою 180–240 г. Тварини одноразово отримали загальне рентгенівське опромінення в дозі, еквівалентній 4,25 Гр. Досліджували вплив кверцетину і патулатену на репаративну регенерацію на моделі лінійних ран шкіри на фоні опромінення та на фоні пригнічення Бутадіоном. Показники в групах дослідження порівнювали за допомогою t-критерію Стьюдента для незалежних вибірок; відмінності вважали статистично значущими при  $\leq 0,05$ .

**Результати дослідження.** Різноманітні біологічні властивості кверцетину, зокрема спроможність зв'язувати гідроксильні радикали, є потенціалом для розробки на його основі радіозахисних засобів. При пероральному введенні поліфенольних сполук та їх композицій з пектином білим щурам за 30 хв до введення бутадіону спостерігали посилення процесів репаративної регенерації в клітинах покривного епітелію стравоходу. При цьому найбільш виражену дію чинили кверцетину гранули, які збільшували статистично достовірну величину мітотичного індексу на 78,5 % порівняно з групою тварин, яким вводили бутадіон (контроль). На другому етапі дослідження вивчався вплив поліфенольних сполук (ПФС) та їх композицій з пектином на процеси репаративної регенерації у інтактних і опромінених білих щурів на моделі лінійних ран шкіри. Профілактичне введення кверцетину гранул і обробка ран 20 % стерильним гелем кверцетину значно прискорювало процес загоєння ран. Експериментальні дані свідчать про здатність кверцетину гранул посилювати процеси репаративної регенерації, особливо при одночасному застосуванні перорально і місцево.

**Висновки.** Результати досліджень вказують на перспективність розробки радіозахисних препаратів, здатних стимулювати процеси репаративної регенерації на основі композицій рослинних поліфенольних сполук і полісахаридів у різних якісних і кількісних співвідношеннях.

**Ключові слова:** медичний захист, протирадіаційний захист, радіомодифікатори, кверцетин, патулатен.

*Проблеми радіаційної медицини та радіобіології. 2020. Вип. 25. С. 309–320. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-309-320*

✉ Курділь Наталія Віталіївна, e-mail: kurdil\_nv@ukr.net

G. N. Voitenko<sup>1</sup>, A. A. Kalashnikov<sup>1</sup>, N. V. Kurdil<sup>1</sup>✉, V. L. Savytskyi<sup>2</sup>, L. A. Ustinova<sup>2</sup>,  
O. G. Lutsenko<sup>3</sup>

<sup>1</sup>*L. I. Medved's Scientific Center for Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety of the Ministry of Health of Ukraine, Institute of Experimental Toxicology and Biomedical Research, 6 Heroiv Oborony St., Kyiv, 03680, Ukraine*

<sup>2</sup>*Ukrainian Military Medical Academy, Department of Military Toxicology, Radiology and Medical*

<sup>3</sup>*State Institution «National Research Center for Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», 53 Yurii Illienka St., Kyiv, 04050, Ukraine*

## **PROSPECTS FOR CREATION OF RADIOPROTECTIVE MEANS BASED ON NATURAL POLYPHENOLS AND POLYSACCHARIDES**

The high level of nuclear radiation threats in the modern world determines the need to find new means of pharmacological protection of the health of military personnel and civilians from the effects of ionizing radiation. Of particular scientific interest in this aspect are natural polyphenols as a promising basis for the development of new drugs, radiomodifiers.

**Objective.** Justification of the prospects of creating radioprotective agents based on compositions of plant polyphenolic substances (PPS) and polysaccharides.

**Material and methods.** The experiments were performed on 130 laboratory white rats-male of Wistar line sexually mature weighting 180–240 g. Animals once received a total X-ray dose equivalent to 4.25 Gy. The effects of quercetin and patulaten to the processes of reparative regeneration under conditions of X-ray irradiation and against the background of butadione suppression were investigated. Indicators in the study groups were compared using the Student's *t*-test for independent samples; the differences were considered statistically significant at  $p \leq 0.05$ .

**Results.** The various biological properties of quercetin, in particular, the ability to bind hydroxyl radicals, is the potential for developing radioprotective agents based on it. At the first stage of the study, the effect of PPS and their compositions with polysaccharides on reparative regeneration was studied against the background of its suppression in intact and irradiated animals. With the oral administration of PPS and their compositions with pectin to white rats, 30 minutes before the administration of butadion, an increase in the processes of reparative regeneration in the cells of the covering epithelium of the esophagus was observed. At the same time, quercetin granules caused the most expressive effect, which increased the statistically significant value of the mitotic index by 78.5 % in relation to the group of animals injected with butadion. At the second stage of the study, the effect of polyphenolic substances and their compositions with pectin on the processes of reparative regeneration in intact and irradiated white rats was studied on a model of linear skin wounds. The prophylactic administration of quercetin granules and the treatment of wounds with 20 % sterile quercetin gel significantly accelerated the healing process. Experimental data indicate that quercetin granules have the ability to stimulate the processes of reparative regeneration, quercetin showed the greatest efficiency with simultaneous use inside and topically.

**Conclusions.** The research results indicate the promise of developing radioprotective drugs that can stimulate reparative regeneration processes based on compositions of plant polyphenolic substances and polysaccharides in various qualitative and quantitative ratios.

**Key words:** medical protection, radiation protection, radio modifiers, quercetin, patulaten.

*Problems of Radiation Medicine and Radiobiology. 2020;25:309-320. doi: 10.33145/2304-8336-2020-25-309-320*

### **ВСТУП**

Високий рівень радіаційно-ядерних загроз у сучасному світі обґрунтовує необхідність продовження наукових розробок у сфері захисту здоров'я військовослужбовців і цивільного населення у випадку впливу іонізуючого випромінювання.

### **INTRODUCTION**

The high level of radiation and nuclear threats to the modern world justifies the need to continue scientific developments in the field of health protection of military personnel and civilians in the event of ionizing radiation exposure.

✉ Natalia V. Kurdil, e-mail: [kurdil\\_nv@ukr.net](mailto:kurdil_nv@ukr.net)

Українська військово-медична академія при партнерстві з Науковим центром превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л. І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України (Науковий центр) обрали спільний напрям наукових досліджень з метою створення засобів захисту військовослужбовців в умовах хімічної, біологічної, радіаційної і ядерної небезпеки в сучасних умовах. В рамках наукової співпраці передбачено створення нового продукту, здатного зменшити вплив іонізуючого випромінювання на людину та об'єкти біосистеми.

Враховуючи, що сучасна наука володіє широким спектром даних щодо біопротекторних властивостей природних поліфенолів, вочевидь, нові засоби мають бути створені з урахуванням існуючих знань про біологічні властивості тих природних поліфенольних сполук, які всебічно вивчені та пройшли належну клінічну апробацію.

Основу механізмів реалізації біопротекторних і протирадіаційних ефектів поліфенольних сполук складають процеси підвищення загальної неспецифічної резистентності організму та модифікації рівня його радіочутливості без прояву побічних ефектів, що обумовило вибір природних поліфенолів в якості предмету дослідження.

Упродовж 80 років кверцетин є об'єктом наукових досліджень. В період з кінця 1980-х і до початку 2000-х років були доведені гепато-, радіо-, кардіо-, нефро- та нейропротекторні властивості, антидіабетична, антиатерогенна, антиостеопорозна дія препаратів на основі кверцетину [1–8].

Природні поліфеноли здатні проявляти біологічну ефективність, що визначається підвищенням порогу радіорезистентності в умовах дії малих доз іонізуючого випромінювання [9–13]. Радіозахисні ефекти реалізуються шляхами: стимуляції нейроендокринної і імунної систем з активацією їхніх окремих ланок (гіпофіз, гіпоталамус, тимус, надниркові залози, щитоподібна залоза та ін.); активації ендогенних антиоксидантних систем; стимуляції синтетичних та метаболічних процесів при пострадіаційній репарації тканин; регулювання процесу тканинного дихання і процесів перекисного окиснення ліпідів у мембранних структурах та ін.

Чисельність наукових досліджень, присвячених різним ефектам природних поліфенолів, постійно зростає. В останні роки активно досліджуються протиракові та онкопротекторні ефекти кверцетину [14, 15].

Ukrainian Military Medical Academy in partnership with L.I. Medved's Scientific Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety of the Ministry of Health of Ukraine (Scientific Center) has chosen a common direction of scientific research with the purpose of creation of means of protection of military personnel in the conditions of chemical, biological, radiation and nuclear dangers in modern conditions. Scientific cooperation envisages the creation of a new competitive product that can reduce the impact of ionizing radiation on humans and biosystems.

Given that modern science has a wide range of data on the bioprotective properties of natural polyphenols, it is obvious that new agents should be created considering the existing knowledge about the biological properties of those natural polyphenolic compounds that have been comprehensively studied and have undergone appropriate clinical testing.

Natural polyphenols were chosen as a subject of study not by chance. The mechanisms of realization of the bioprotective and anti-radiation effects of polyphenolic compounds are based on the processes of increasing the general nonspecific resistance of an organism and modifying the level of its radiosensitivity without showing side effects.

For more than 80 years, quercetin has been the subject of scientific research, since the late 1980s and the early 2000s hepato-, radio-, cardio-, nephro-, neuroprotective properties, antidiabetic, antiatherogenic, antiosteoporosis action of Quercetin-based drugs [1-8].

Natural polyphenols are able to exhibit biological efficiency, which is determined by the increase of the radioresistance threshold under the conditions of low-intensity radiation exposure/at low doses of ionizing radiation [9–13]. Radioprotective effects are realized through the following ways: stimulation of the nervous, endocrine and immune systems with activation of their individual units (pituitary, hypothalamus, thymus, adrenal glands, thyroid gland, etc.); activation of endogenous antioxidant systems; stimulation of synthetic and metabolic processes in post-radiation tissue repair; regulation of tissue respiration and lipid peroxidation processes in membrane structures, etc.

The number of scientific studies devoted to the various effects of natural polyphenols has been steadily increasing, and the anti-cancer and oncoprotective effects of quercetin have been actively investigated in recent years [14, 15].

Базуючись на вищезазначеному, об'єктом даного дослідження були обрані біопротекторні, адаптогенні, радіозахисні властивості природних поліфенолів в композиції з полісахаридами. Антиоксидантні властивості препаратів кверцетину у поєднанні з пектином, їх здатність зв'язувати гідроксильні радикали, є важливими чинниками, що дозволяють розглядати їх в якості радіомодифікаторів.

Завданням даного дослідження було підтвердження біопротекторних і радіозахисних (радіомодифікуючих) ефектів препаратів кверцетину в композиції з пектином експериментальним шляхом, за результатами якого планується створити фармакологічний засіб захисту від дії іонізуючого випромінювання на основі вітчизняної сировини.

Визначена методологія створення засобу протирадіаційного захисту відповідає вимогам, визначеним державою для наукового супроводу процесу розробки критичних технологій для сучасних потреб Збройних Сил України у засобах протирадіаційного захисту.

Робота є частиною НДР Наукового центру превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України: «Наукове обґрунтування безпечності для здоров'я людини пестицидів та агрохімікатів, нових технологій, речовин, матеріалів, виробів, об'єктів довкілля, харчових продуктів та продовольчої сировини; розробка відповідних медичних критеріїв і показників (санітарних та епідеміологічних); санітарно-хімічна, токсиколого-гігієнічна оцінка, регламентація, нормування» (№ державної реєстрації 0112U001133). Фрагмент: «Токсикологічний супровід створення інноваційних дієтичних добавок — адаптогенів, здатних підвищувати захисні можливості організму, при шкідливому впливі середовища життєдіяльності».

## МЕТА

Обґрунтування перспектив створення засобів радіозахисної дії на основі композицій рослинних поліфенольних сполук (ПФС) і полісахаридів.

## МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

Досліджували вплив композицій природних ПФС і полісахаридів (кверцетину гранул) на процеси репаративної регенерації у білих щурів в умовах експерименту: на фоні опромінення рентгенівськими променями і на фоні пригнічення бутадіоном. Досліди проведено на 130 лабораторних білих статевозрілих щурах-самцях лінії Wistar масою 180–240 г. Тварини розведені у віварії ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені

Based on the above, the object of this study was to select the bioprotective, apoptogenic, radioprotective properties of natural polyphenols in polysaccharide compositions. The antioxidant properties of quercetin preparations and the combination with apple pectin, their ability to bind hydroxyl radicals, is an important factor that allows them to be regarded as radio modifiers.

The objective of this study was to confirm the bioprotective and radioprotective (radiomodifying) effects of quercetin preparations in a pectin composition in an experimental manner, the results of which would create an alternative pharmacological remedy for ionizing radiation on the basis of domestic raw materials.

The methodology of creation of anti-radiation protection equipment meets the requirements set by the state for scientific support of the process of development of critical technologies and takes into account the modern needs of the Armed Forces of Ukraine in the means of radiation protection.

This study is part of the scientific research is called «Scientific substantiation of safety for human health of pesticides and agrochemicals, new technologies, substances, materials, products, environmental objects, foodstuffs and food raw materials; development of appropriate medical criteria and indicators (sanitary and epidemiological); sanitary-chemical, toxicological-hygienic assessment, regulation, regulation» (state registration number 0112U001133). Fragment: «Toxicological support for the creation of innovative dietary supplements — adaptogens capable of enhancing the protective capabilities of the body, with the harmful effects of the environment».

## OBJECTIVE

Substantiation of prospects for the creation of radioprotective agents based on compositions of plant polyphenolic substances (PPS) and polysaccharides.

## MATERIAL AND METHODS

The effect of compositions of natural polyphenolic compounds and polysaccharides (Quercetin granules) on the processes of reparative regeneration in white nonlinear rats under experimental conditions against the background of X-ray irradiation and against the background of butadione suppression were investigated. The experiments were performed on 130 laboratory nonlinear white adult male rats weighting 180–240 g. The animals were kept in the

академіка Л.І. Медведя МОЗ України». Тварин утримували в стаціонарних умовах віварію Наукового центру на штучному світловому дні (12-годинний день/12-годинна ніч) та стандартному харчовому раціоні віварію, що складався із сухого корму та питної води в необхідній кількості. Тварин одноразово опромінювали рентгенівськими променями за допомогою мобільної рентгенівської установки (РУМ-4) в дозі, еквівалентній 4,25 Гр. Мітотичну активність тканин (мітотичний індекс) досліджували відповідно п.1.5 наказу МОЗ України від 13.03.2007 №116 «Про затвердження методичних рекомендацій «Обстеження та районування території за ступенем впливу антропогенних чинників на стан об'єктів довкілля з використанням цитогенетичних методів».

Перший етап дослідження передбачав вивчення процесів репаративної регенерації в клітинах покривного епітелію стравоходу у щурів-самців в умовах пригнічення репаративної активності бутадіоном. Введення бутадіону здійснювали одноразово внутрішньоочеревинно (як аналог внутрішньовенному введенню) в дозі 200 мг/кг маси тіла. Препарати кверцетину вводили одноразово перорально в дозі 100 мг/кг маси тіла за 30 хв до введення бутадіону. Інтенсивність процесів репаративної регенерації визначали у проміле (кількість випадків мітозу на 1000 клітин).

Другий етап дослідження складався з 4 серій дослідів і передбачав вивчення процесів репаративної регенерації покривного епітелію у білих щурів на моделі опромінення рентгенівськими променями. Контрольній групі тварин (інтактній групі) в ділянці правого стегна за допомогою скальпеля були нанесені шкірні рани розміром 2,0 × 0,5 см (площа рани – 1,0 см<sup>2</sup>). Спостерігали процес загоєння ран і кожні 5 діб визначали площу ран.

В першій серії дослідів тваринам перед нанесенням ран на шкіру проводили разове опромінення.

В другій серії дослідів шкірні рани наносили тваринам через 30 діб після разового опромінення. Після нанесення шкірних ран тваринам вводили перорально кверцетину гранули в дозі 200 мг/кг маси тіла. За тваринами спостерігали протягом 60 діб.

В перших двох серіях дослідів тваринам вводили щоденно перорально кверцетину гранули протягом всього періоду спостереження.

В третій серії дослідів кверцетину гранули вводили тваринам перорально в дозі 200 мг/кг маси тіла впродовж 10 діб перед опроміненням в дозі,

vivarium of the L.I. Medved's Scientific Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety of the Ministry of Health of Ukraine at an artificial light day (12-hour day/12-hour night) and a standard vivarium food diet consisting of feed and drinking water in the required amount. Animals were subjected to single irradiation using a mobile X-ray unit (RUM-4). The rats were completely irradiated at a single dose equivalent to 4.25 Gy. The Mitotic Activity of tissues (Mitotic index) was investigated according to item 1.5 of the order of the Ministry of Health of Ukraine of March 13, 2007 No. 116 «On approval of methodological recommendations «Survey and zoning of the territory by the degree of influence of anthropogenic factors on the state of environmental objects using cytogenetic methods».

The first stage of the study involved the study of reparative regeneration processes in the cells of the esophageal epithelium of the male rats under the conditions of inhibition of reparative activity by butadione. The administration of butadione was performed once intraperitoneally (as analogous to intravenous administration) at a dose of 200 mg/kg mass. Quercetin preparations were administered orally once at a dose of 100 mg/kg mass 30 minutes prior to the administration of butadione. The intensity of the processes of reparative regeneration was determined in ppm (number of cases of mitosis per 1000 cells).

The second stage of the study consisted of 4 series of experiments and involved the study of the processes of reparative regeneration in white rats on a model of X-ray irradiation. The control group of animals (intact group) were inflicted skin wounds of size 2.0 × 0.5 cm (wound area – 1.0 cm<sup>2</sup>) in the area of the right thigh with a scalpel. The wound healing process was observed and the wound area was determined every 5 days.

In the first series of experiments, animals were irradiated once before inflicting wounds on the skin.

In the second series of experiments, the wounds were inflicted to the skin of animals 30 days after single irradiation. After the infliction of the skin wounds, the animals were administered oral pellets of 200 mg/kg orally. The animals were observed for 60 days.

In the first two series of experiments, animals were administered oral pellets of quercetin daily throughout the observation period.

In the third series of experiments, quercetin granules were administered to the animals orally at a dose of 200 mg/kg mass for 10 days before irradi-

еквівалентній 4,25 Гр, і нанесенням шкірних ран. Після опромінення і нанесення ран продовжували давати кверцетину гранули в тій самій дозі і змащували рани гелем, виготовленим на основі кверцетину, тобто застосовували препарат внутрішньо і місцево.

В четвертій серії дослідів тваринам вводили кверцетину гранули впродовж 7 діб до опромінення, потім опромінювали тварин і продовжували вводити препарат 25 діб в дозі 250 мг/кг маси тіла. Через 30 діб після опромінення наносили шкірні рани. Враховували показники виживаності тварин і динаміку загоєння шкірних ран.

Експерименти на тваринах було здійснено відповідно до Конвенції Ради Європи щодо захисту хребетних тварин, яких використовують у наукових цілях. Показники в групах дослідження порівнювали за допомогою *t*-критерію Стьюдента для незалежних вибірок; відмінності вважали статистично значущими при  $p \leq 0,05$ . Аналізували отримані дані за допомогою стандартних статистичних інструментів Microsoft Excel 2007.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В науковій літературі існують свідчення про те, що окремі природні флавоноїди і препарати із рослин мають виражену здатність стимулювати процеси репаративної регенерації в багатьох органах і тканинах організму тварин і людини. Виконана серія дослідів з вивчення впливу ПФС та їх композицій з пектином на процеси репаративної регенерації в клітинах покривного епітелію стравоходу білих щурів на фоні її пригнічення бутадіоном, який вводили щурам разово внутрішньоочеревинно в дозі 200 мг/кг маси тіла.

Досліджували дію двох ПФС: кверцетину і патулатену. Кверцетин – флавоноїд рослинного походження, що міститься в багатьох рослинах переважно червоного, багряного кольору, в деяких сортах меду (евкаліптовому, чайного дерева); патулатен – препарат із суцвіть чорнобривців (лат. *Tagetes*). Кверцетин і патулатен вводили перорально разово в дозі 100 мг/кг маси тіла за 30 хв до внутрішньоочеревинного введення бутадіону.

Встановлено, що при внутрішньоочеревинному введенні бутадіону виникає пригнічення інтенсивності репаративних процесів у слизовій оболонці стравоходу білих щурів. Зменшення величини мітотичного індексу у тварин на фоні пригнічення бутадіоном є статистично достовірним по відношенню до групи інтактних тварин (табл. 1).

ation at a dose equivalent to 4.25 Gy and the infliction of skin wounds. After irradiation and wounding, quercetin granules were continued to be given at the same dose and the wounds were lubricated with a quercetin-based gel, i.e. quercetin was administered internally and locally.

In the fourth series of experiments, quercetin granules to animals were injected for 7 days before irradiation, then irradiated animals and continued to enter the drug for 25 days at a dose of 250 mg/kg mass. After 30 days, skin wounds were applied after irradiation. They took into account the animal survival rates and the dynamics of skin wound healing.

Animal experiments were carried out in accordance with the Council of Europe Convention on the Protection of Vertebrate Animals, which is used for scientific purposes. Indicators in the study groups were compared using the Student's *t*-test for independent samples; the differences were considered statistically significant at  $p \leq 0.05$ . Analyzed the data obtained using standard Microsoft Excel 2007 statistical tools.

## RESULTS AND DISCUSSION

There is evidence in the scientific literature that certain natural flavonoids and preparations from plants have a distinct ability to stimulate the processes of reparative regeneration in many organs and tissues of the body of animals and humans. A series of experiments to study the effect of polyphenolic compounds and their compositions with pectin on the processes of reparative regeneration in the cells of the esophageal epithelium of white rats against the background of its inhibition by butadione, administered to rats once intraperitoneally at a dose of 200 mg/kg body weight.

The effect of two PPS was studied: quercetin andp. Quercetin – a flavonoid of plant origin, found in many plants mainly red, purple, in some varieties of honey (eucalyptus, tea tree); patulaten – a preparation of inflorescences of velvets (marigolds, lat. *Tagetes*). Quercetin and patulaten were administered orally once at a dose of 100 mg/kg mass 30 minutes before the intraperitoneal injection of butadione.

It is established that with an intraperitoneal injection of butadione, there is a suppression of the intensity of reparative processes in the mucous membrane of the esophagus of white rats. The decrease in the magnitude of the mitotic index in this group of animals is statistically significant relative to the group of intact animals (table 1).

**Таблиця 1**

**Вплив ПФС та їх композицій з пектином на мітотичну активність клітин покривного епітелію стравоходу щурів на фоні її пригнічення бутадіоном (n = 7)**

**Table 1**

**The effect of PPS and their compositions with pectin on the mitotic activity of cells of the rat epithelium of the esophagus of rats against the background of its inhibition by butadione (n = 7)**

№ / #	Умови експерименту Experiment conditions	Показник / index	Мітотична активність (проміле) Mitotic activity (ppm)
	Інтактні тварини / intact animals	M ± m	11,9 ± 1,3
	Бутадіон (контроль) / Butadione (control)	M ± m	7,17 ± 0,83
1	Бутадіон + патулатен / Butadione + Patulaten	M ± m	11,5 ± 2,1
2	Бутадіон + кверцетин / Butadione + Quercetin	M ± m	8,44 ± 0,79
3	Бутадіон + кверцетину гранули / Butadione + Quercetin granules	M ± m	12,8 ± 1,24*

Примітка. \* – статистична достовірність різниці по відношенню до контролю (введення бутадіону),  $p \leq 0,05$ .  
Note. \* – the statistical significance of the difference with respect to control (Butadione administration),  $p \leq 0.05$ .

При пероральному введенні тваринам ПФС та їх композицій з пектином (кверцетину гранули) за 30 хвилин до введення бутадіону спостерігали посилення процесів репаративної регенерації в клітинах покривного епітелію стравоходу. При цьому найбільший ефект викликали кверцетину гранули, котрі статистично достовірно збільшували показник мітотичного індексу на 78,5 % порівняно з групою тварин, яким вводили бутадіон (група контролю). Препарати флавоноїдів, такі як патулатен і кверцетин також збільшували мітотичний індекс на 60,4 % і 17,7 % відповідно, однак це збільшення не було статистично достовірним.

Таким чином, проведені дослідження дозволяють дійти висновку, що ПФС та їх композиції з пектином мають здатність стимулювати процеси репаративної регенерації в слизовій оболонці стравоходу експериментальних тварин (білі щури). Найбільший стимулюючий вплив мав композиційний препарат, створений на основі кверцетину і яблучного пектину (кверцетину гранули). Ці обставини свідчать про перспективність розробки препаратів, здатних стимулювати процеси репаративної регенерації, на основі композицій рослинних поліфенольних речовин і полісахаридів у різних якісних і кількісних співвідношеннях.

З метою об'єктивної оцінки здатності ПФС та їх композицій з пектином стимулювати процеси репаративної регенерації проведено дослідження впливу кверцетину гранул на процеси репаративної регенерації у білих щурів на моделі лінійних ран шкіри.

В першій серії дослідів дію Кверцетину оцінювали у інтактних тварин. Тваринам в ділянці правого стегна наносили на шкіру рану розміром 2,0 × 0,5 см

Oral administration to animals of PPS and their compositions with pectin (quercetin granules) 30 minutes prior to the administration of butadione observed an increase in the processes of reparative regeneration in the cells of the esophageal epithelium. The greatest effect was caused by quercetin granules, which statistically significantly increased the mitotic index by 78.5 % with respect to the group of animals to which butadione (control group) was administered. Flavonoid preparations such as patulaten and quercetin also increased the mitotic index by 60.4 % and 17.7 %, respectively, however, this increase was not statistically significant.

Thus, the conducted studies allow concluding that PPS and their compositions with pectin have the ability to stimulate the processes of reparative regeneration in the mucous membrane of the esophagus of experimental animals (white rats). The greatest stimulating effect was caused by a composite preparation made on the basis of quercetin and apple pectin (quercetin granules). These circumstances point to the prospect of developing drugs that can stimulate the processes of reparative regeneration, based on compositions of plant PPS and polysaccharides in different qualitative and quantitative ratios.

In order to objectively evaluate the ability of PPS and their compositions with pectin to stimulate the processes of reparative regeneration, the effect of quercetin granules on the processes of reparative regeneration in white rats on a model of linear skin wounds was conducted.

In the first series of experiments, the effect of quercetin was evaluated in intact animals. Animals in

(площа – 1,0 см<sup>2</sup>). Спостерігали процес загоєння ран і кожні 5 діб вимірювали та реєстрували їхню площу. На 5-ту добу у тварин починався розвиток грануляційної тканини і зменшення площі рани більш ніж у 2 рази (первинна площа рани – 1 см<sup>2</sup>, через 5 діб – 0,47 см<sup>2</sup>). На 10-ту добу спостереження рани виявилися сухими з добре розвинутою грануляційною тканиною, середня площа рани складала 0,13 см<sup>2</sup> (у 7,7 раза менше за первинну). На 13-ту добу у всіх тварин спостерігали повне загоєння ран.

В таблиці 2 наведені дані про вплив кверцетину гранул при його пероральному введенні тваринам в дозі 200 мг/кг маси. Введення препарату значно прискорювало загоєння ран. На 5-ту добу площа рани була аналогічна тій, що спостерігали на 10-ту добу у тварин контрольної групи. На 10-ту добу у всіх тварин рани повністю загоїлися, тобто на 5 діб раніше, ніж у контрольній групі.

З'ясовано, що опромінення тварин в дозі, еквівалентній 4,25 Гр, значно погіршує репаративні процеси і уповільнює терміни загоєння ран. Так, на третю добу після нанесення ран опромінені тваринам грануляції були відсутні, спостерігався гнійний запальний процес. Через 10 діб грануляції також були відсутні, в ряді випадків – нагноєння. На 15-ту добу з'являлися поодинокі грануляції, на 20-ту добу – рани загоїлися, у 5 щурів було відмічене гнійне запалення ран, 4 тварини загинули (таблиця 2).

В групі тварин, яким після опромінення вводили перорально кверцетину гранули в дозі 200 мг/кг маси тіла, загоєння шкірних ран відбувалося значно швидше. В даній групі тварин на 5–10-ту добу спостереження рани були з наявністю грануляцій, однак гнійного запалення не спостерігалось, на відміну від контрольної групи.

На 15-ту добу з'являлися активні грануляції, на 20-ту добу рани повністю рубцювалися. В даній групі з 20 тварин загинула лише одна.

В другій серії дослідів кверцетину гранули вводили тваринам перорально в дозі 200 мг/кг маси тіла впродовж 10 діб перед опроміненням і нанесенням шкірних ран. Після опромінення і нанесення шкірних ран продовжували давати кверцетину гранули в тій же дозі і змащували рани желеподібною масою препарату, тобто застосовували препарат перорально і місцево.

Отримані результати щодо стану тварин в цій групі показали, що профілактичне введення кверцетину гранул і змащування ран желеподібною масою препарату значно прискорюють

the area of the right thigh were wounded on the skin 2.0 × 0.5 cm (area – 1.0 cm<sup>2</sup>). The wound healing process was monitored and their area measured and recorded every 5 days. On day 5, the animals began to develop granulation tissue and reduce the area of the wound more than 2 times (the primary area of the wound – 1 cm<sup>2</sup>, after 5 days – 0.47 cm<sup>2</sup>). On the 10<sup>th</sup> day of observation, the wounds were dry with well-developed granulation tissue, the average wound area was 0.13 cm<sup>2</sup> (7.7 times less than the primary one). On the 13<sup>th</sup> day, all animals had complete wound healing.

Table 2 shows the effect of quercetin granules when administered orally to animals at a dose of 200 mg/kg mass. The injection of the drug significantly accelerated wound healing. On day 5, the wound area was similar to that observed at day 10 in control animals. On the 10<sup>th</sup> day in all animals, the wounds were completely healed, i.e. 5 days earlier than in the control group.

It has been found that irradiation of animals at a dose equivalent to 4.25 Gy significantly impairs the reparative processes and slows down the time of wound healing. Thus, on the third day after wounding, irradiated animals had no granulation, a purulent inflammatory process was noted. After 10 days, granulations were also absent, in some cases suppuration. On the 15<sup>th</sup> day, single granulations appeared, on the 20<sup>th</sup> day, the wounds healed, 5 rats had purulent wound inflammation, and 4 animals died (Table 2).

In the group of animals treated with oral quercetin granules at a dose of 200 mg/kg after irradiation, the healing of skin wounds was much faster. In this group of animals for 5–10 days, the wounds were observable with «loose» granulations, however, no purulent inflammation was observed, unlike the control group.

On the 15<sup>th</sup> day, active granulations appeared and on the 20<sup>th</sup> day the wounds were completely scarred. In this group of 20 animals, only 1 was died.

In the second series of experiments, quercetin granules were administered to the animals orally at a dose of 200 mg/kg of weight for 10 days before irradiation and skin wounds. After irradiation and application of skin wounds, quercetin granules were continued to be given at the same dose and the wounds were gelled with the drug, i. e., the drug was administered orally and topically.

The results obtained from the animals in this group showed that the prophylactic administration of quercetin granules and the entrapment of the wounds with a jelly-like mass significantly acceler-





процес загоєння ран порівняно з попередньою серією експериментів. Вже на 5-ту добу після опромінення і нанесення ран з'являлися грануляції, на 10-ту добу відмічалися активні грануляції, на 15-ту добу спостерігалось повне загоєння ран.

В третій серії дослідів тваринам наносили шкірну рану через 30 діб після опромінення. Із 20 тварин, яким були нанесені рани, до кінця місячного спостереження вижили лише 12 щурів. В цій групі тварин на 5–10-ту добу після нанесення ран грануляцій не відмічалось, місцями відмічалось гнійне запалення. На 15-ту добу з'являлися грануляції, на 25-ту добу відбувалося загоєння рани.

Іншій групі щурів після опромінення через 30 діб наносили шкірні рани і вводили перорально кверцетину гранули в дозі 200 мг/кг маси тіла. Після опромінення за тваринами спостерігали впродовж 60 діб, із 20 тварин вижило 14. Введення кверцетину гранул посилювало грануляції, рани не нагноювалися, однак площа рани і час загоєння суттєво не відрізнялися від показників у контрольній групі тварин.

В четвертій групі тварин кверцетину гранули вводили впродовж 7 діб до опромінення, після чого опромінювали тварин одноразово в дозі, еквівалентній 4,25 Гр, і продовжували вводити препарат впродовж 25 діб в дозі 250 мг /кг маси тіла. Через 30 діб після опромінення наносили шкірні рани. В даній групі тварин із 30 щурів вижило 16. Вже на 5-ту добу після нанесення ран з'являлися грануляції. На 10-ту добу рани були без виділень, сухі, спостерігалась виражена грануляційна тканина. На 25-ту добу рани повністю загоювалися.

Таким чином, наведені експериментальні дані свідчать про наявність у кверцетину гранул (композиція кверцетин + пектин) здатності стимулювати процеси репаративної регенерації на моделі лінійних ран шкіри у інтактних і опромінених тварин. Найбільшу ефективність препарат проявляє при одночасному застосуванні перорально і місцево.

## ВИСНОВКИ

Поліфенольні сполуки та їх композиції з пектином мають здатність стимулювати процеси репаративної регенерації в клітинах покривного епітелію стравоходу білих щурів-самців. Експериментально продемонстрована здатність кверцетину гранул (композиція кверцетин + пектин) стимулювати процеси репаративної регенерації на моделі лінійних ран шкіри у інтактних і опромінених тварин. Встановлено, що найбільшу ефективність

ates the wound healing process compared with the previous series of experiments. Already on the 5<sup>th</sup> day after irradiation and the application of wounds granulation appeared, on the 10<sup>th</sup> day juicy and bright granulations were observed, on the 15<sup>th</sup> day, there was complete healing of wounds.

In the third series of experiments, the animals were wounded 30 days after irradiation. Of the 20 animals involved in the experiment, only 12 rats survived by the end of the month-to-month follow-up. In this group of animals for 5–10 days after the application of wounds granulation was not observed, occasionally marked purulent inflammation. Granules appeared on the 15<sup>th</sup> day and wound healing was noted on the 25<sup>th</sup> day.

In the other group of rats, skin wounds were applied after irradiation after 30 days and oral pellets of 200 mg/kg were administered orally. Rats were observed after irradiation for 60 days, out of 20 animals survived 14. The introduction of quercetin granules increased the granulation, the wounds were not festering, however, the wound area and healing time were not significantly different from control.

In the fourth group of animals, quercetin pellets were administered for 7 days before irradiation, after which the animals were irradiated once at a dose of 42.5 Gy and continued to administer the drug for 25 days at a dose of 250 mg/kg mass. After 30 days, skin wounds were applied after irradiation. In this group of animals, 30 rats survived 16. As early as 5 days after the wounding, granulations appeared. On the 10<sup>th</sup> day, the wounds were clear, dry, and distinct granulation tissue was observed. On the 25<sup>th</sup> day, the wounds were completely healed.

Thus, the experimental data indicate that quercetin granules (the composition of quercetin + apple pectin) have the ability to stimulate the processes of reparative regeneration in the model of linear skin wounds in intact and irradiated animals. The greatest effectiveness of the drug shows with the simultaneous use of oral and topical.

## CONCLUSIONS

Polyphenolic substances and their compositions with pectin have the ability to stimulate the processes of reparative regeneration in the mucous membrane of the esophagus of white male rats. The ability of quercetin granules (the composition of quercetin + apple pectin) to stimulate the processes of reparative regeneration in a model of linear skin wounds in intact and irradiated animals has been experimentally demonstrated. The greatest effec-

препарат проявляє при одночасному застосуванні перорально і місцево.

Отримані результати підтверджують перспективність подальших досліджень радіозахисних властивостей композицій рослинних поліфенольних сполук і полісахаридів в різних якісних і кількісних співвідношеннях.

### Конфлікт інтересів

Автори декларують відсутність конфлікту інтересів.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Ulusoy H.G., Sanlier N. A minireview of quercetin: from its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. *Crit. Rev. Food. Sci. Nutr.* 2019. Vol. 4. P. 1–14. doi: 10.1080/10408398.2019.1683810.
2. D'Andrea G. Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia.* 2015. Vol. 106. P. 256–271. DOI:10.1016/j.fitote.2015.09.018.
3. Kawabata K., Mukai Rishisaka A. Quercetin and related polyphenols: new insights and implications for their bioactivity and bioavailability. *Food Funct.* 2015. Vol. 6, no. 5. P. 1399–1417. DOI:10.1039/c4fo01178c.
4. Quercetin oxidation paradoxically enhances its antioxidant and cytoprotective properties / J. Fuentes, E. Atala, E. Pastene, C. Carrasco-Pozo, H. Speisky. *J. Agric. Food Chem.* 2017. Vol. 65, no. 50. P. 11002–11010. DOI:10.1021/acs.jafc.7b05214.
5. Quercetin, Inflammation and Immunity / Y. Li, J. Yao, C. Han, J. Yang, M. T. Chaudhry, S. Wang et al. *Nutrients.* 2016. Vol. 8, no. 3. P. 167. DOI: 10.3390/nu8030167.
6. Costa L. G., Garrick J. M., Roque P. J., Pellacani C. Mechanisms of neuroprotective on by quercetin: counteracting oxidative stress and more. *Oxid. Med. Cell Longev.* 2016. Vol. 2016. P. 2986796. DOI:10.1155/2016/2986796.
7. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent / R. V. Patel, B. M. Mistry, S. K. Shinde et al. *Eur. J. Med. Chem.* 2018. Vol. 155. P. 889–904. DOI:10.1016/j.ejmech.2018.06.053.
8. Novel quercetin derivatives: From redox properties to promising treatment to oxidative stress related diseases / P. Zizkova, M. Stefek, L. Rackova et al. *Chem. Biol. Interact.* 2017. Vol. 265. P. 36–46. DOI:10.1016/j.cbi.2017.01.019.
9. In vitro screening of radioprotective properties in the novel glucosylated flavonoids / H. Yu, J. S. Haskins, C. Su et al. *Int. J. Mol. Med.* 2016. Vol. 38, no. 5. P. 1525–1530. DOI:10.3892/ijmm.2016.2764.
10. Does quercetin protect human red blood cell membranes against  $\gamma$ -irradiation? / H. M. Zbikowska, A. Antosik, M. Szejka et al. *Redox Rep.* 2014. Vol. 19(2). P. 65–71. DOI:10.1179/1351000213Y.0000000074.
11. Patil S. L., Mallaiah S. H., Patil R. K. Antioxidative and radioprotective potential of rutin and quercetin in Swiss albino mice exposed to gamma radiation. *J. Med. Phys.* 2013. Vol. 38, no. 2. P. 87–92. DOI:10.4103/0971-6203.111321.

tiveness of the drug shows with the simultaneous use of oral and topical.

The obtained results confirm the prospect of further studies of radioprotective properties of compositions of plant polyphenolic compounds and polysaccharides in different qualitative and quantitative ratios.

### Conflict of interest statement

The authors declare no conflicts of interest

### REFERENCES

1. Ulusoy HG, Sanlier N. A minireview of quercetin: from its metabolism to possible mechanisms of its biological activities. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2019;4:1-14. doi: 10.1080/10408398.2019. 1683810.
2. D'Andrea G. Quercetin: A flavonol with multifaceted therapeutic applications? *Fitoterapia.* 2015;106:256-271. DOI:10.1016/j.fitote. 2015.09.018.
3. Kawabata K, Mukai Rishisaka A. Quercetin and related polyphenols: new insights and implications for their bioactivity and bioavailability. *Food Funct.* 2015;6(5):1399-1417. DOI:10.1039/c4fo01178c.
4. Fuentes J, Atala E, Pastene E, Carrasco-Pozo C, Speisky H. Quercetin oxidation paradoxically enhances its antioxidant and cytoprotective properties. *J Agric Food Chem.* 2017;65(50):11002-11010. DOI:10.1021/acs.jafc.7b05214.
5. Li Y, Yao J, Han C, Yang J, Chaudhry MT, Wang S, et al. Quercetin, inflammation and immunity. *Nutrients.* 2016;8(3):167. DOI:10.3390/nu8030167.
6. Costa LG, Garrick JM, Roque PJ, Pellacani C. Mechanisms of neuroprotective on by quercetin: counteracting oxidative stress and more. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:2986796. DOI:10.1155/2016/2986796.
7. Patel RV, Mistry BM, Shinde SK, Syed R, Singh V, Shin HS. Therapeutic potential of quercetin as a cardiovascular agent. *Eur J Med Chem.* 2018;155:889-904. DOI:10.1016/j.ejmech.2018.06.053.
8. Zizkova P, Stefek M, Rackova L, Prnova M, Horakova L. Novel quercetin derivatives: From redox properties to promising treatment to oxidative stress related diseases. *Chem Biol Interact.* 2017;265:36-46. DOI:10.1016/j.cbi.2017.01.019.
9. Yu H, Haskins JS, Su C, Allum A, Haskins AH, Salinas VA, et al. In vitro screening of radioprotective properties in the novel glucosylated flavonoids. *Int J Mol Med.* 2016;38(5):1525-1530. DOI:10.3892/ijmm.2016.2764.
10. Zbikowska HM, Antosik A, Szejka M, Bijak M, Olejnik AK, Saluk J, et al. Does quercetin protect human red blood cell membranes against  $\gamma$ -irradiation? *Redox Rep.* 2014;19(2):65-71. DOI:10.1179/1351000213Y.0000000074.
11. Patil SL, Mallaiah SH, Patil RK. Antioxidative and radioprotective potential of rutin and quercetin in Swiss albino mice exposed to gamma radiation. *J Med Phys.* 2013;38(2):87-92. DOI:10.4103/0971-6203.111321.

12. Preventive and therapeutic effects of quercetin on experimental radiation induced lung injury in mice / J. Wang, Y. Y. Zhang, J. Cheng et al. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 2015. Vol. 16, no. 7. P. 2909–2914. DOI:10.7314/apjcp.2015.16.7.2909.
13. Study of the potential radiomitigator effect of quercetin on human lymphocytes / W. N. de Siqueira, F. T. Dos Santos, T. F. de Souza et al. *Inflammation.* 2019. Vol. 42, no. 1. P. 124–134. DOI:10.1007/s10753-018-0878-4.
14. Sak K. Site-specific anticancer effects of dietary flavonoid quercetin. *Nutr. Cancer.* 2014. Vol. 66, no. 2. P. 177–193. DOI:10.1080/01635581.2014.864418.
15. Selective effects of quercetin on the cell growth than antioxidant defense system in normal versus transformed mouse hepatic cell lines / Y. O. Son, K. Y. Lee, S. H. Kook et al. *Eur. J. Pharmacol.* 2004. Vol. 502, no. 3. P. 195–204. DOI:10.1016/j.ejphar.2004.09.012.
12. Wang J, Zhang YY, Cheng J, Zhang JL, Li BS. Preventive and therapeutic effects of quercetin on experimental radiation induced lung injury in mice. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2015;16(7):2909-2914. DOI:10.7314/apjcp.2015.16.7.2909.
13. de Siqueira WN, Dos Santos FT, de Souza TF, de Vasconcelos Lima M, Silva HAMF, de Oliveira PS, et al. Study of the potential radiomitigator effect of quercetin on human lymphocytes. *Inflammation.* 2019;42(1):124-134. DOI:10.1007/s10753-018-0878-4.
14. Sak K. Site-specific anticancer effects of dietary flavonoid quercetin. *Nutr Cancer.* 2014;66(2):177-93. DOI:10.1080/01635581.2014.864418.
1. Son YO, Lee KY, Kook SH, Lee JC, Kim JG, Jeon YM, et al. Selective effects of quercetin on the cell growth than antioxidant defense system in normal versus transformed mouse hepatic cell lines. *Eur J Pharmacol.* 2004;502(3):195-204. DOI:10.1016/j.ejphar.2004.09.012.

### ІНФОРМАЦІЯ ПРО АВТОРІВ

**Войтенко Георгій Миколайович**, доктор медичних наук, професор, провідний науковий співробітник ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України»

**Калашніков Андрій Андрійович**, доктор медичних наук, професор, провідний науковий співробітник ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України»

**Курділь Наталія Віталіївна**, кандидат медичних наук, старший науковий співробітник ДП «Науковий центр превентивної токсикології, харчової та хімічної безпеки імені академіка Л.І. Медведя Міністерства охорони здоров'я України»

**Савицький Валерій Леонідович**, доктор медичних наук, професор, полковник медичної служби, начальник Української військово-медичної академії

**Устінова Людмила Анатоліївна**, доктор медичних наук, професор, полковник медичної служби, кафедри військової токсикології, радіології та медичного захисту, Української військово-медичної академії

**Луценко Олександр Геннадійович**, кандидат медичних наук, старший науковий співробітник лабораторії гігієни харчування та безпеки їжі, ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини Національної академії медичних наук України»

### INFORMATION ABOUT AUTHORS

**Georgiy M. Voitenko**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Leading Researcher at State Institution «L.I. Medved's Scientific Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety of the Ministry of Health of Ukraine»

**Andrey A. Kalashnikov**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Leading Researcher at State Institution «L.I. Medved's Scientific Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety of the Ministry of Health of Ukraine»

**Natalia V. Kurdil**, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher at State Institution «L.I. Medved's Scientific Center of Preventive Toxicology, Food and Chemical Safety of the Ministry of Health of Ukraine»

**Valeriy L. Savitskiy**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Colonel of Medical Service, Head of Ukrainian Military Medical Academy

**Lyudmila A. Ustinova**, Doctor of Medical Sciences, Professor, Colonel of Medical Service, Head of the Department of Military Toxicology, Radiology and Medical Protection of the Ukrainian Military Medical Academy

**Alexander G. Lutsenko**, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Laboratory for Food Hygiene and Food Safety, State Institution «National Scientific Center of Radiation Medicine of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine»