

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ
Фармацевтичний факультет
Кафедра загальної хімії

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
_____ Григорій Загричук

«__» _____ 2024 р.

УДК 615.244.03:615.322:615.451.1:582.562:581.45:616.36-002-099-092.9

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

На тему:

**«Дослідження гепатопротекторної та протизапальної
активностей**

густого екстракту з канни садової листя»

Виконала здобувачка вищої освіти 5 курсу
заочної форми навчання
спеціальності 226 Фармація, промислова фармація
_____ Василина Страшкулич

Науковий керівник:
канд. біол. наук, доц., доц. кафедри загальної хімії
_____ Лариса Бойко

Науковий консультант:
доктор біол наук, проф., завідувач кафедри фармації ФПО
_____ Людмила Фіра

Тернопіль 2024

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	4
ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1 ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ РОСЛИННИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ЗА ТОКСИЧНИХ УРАЖЕНЬ ПЕЧІНКИ (огляд літератури)	8
1.1 Механізми розвитку токсичного тетрахлорметанового гепатиту	8
1.2 Використання антиоксидантів при хімічному ураженні печінки	9
1.3 Використання гепатопротекторів при ураженні печінки ксенобіотиками	11
1.4 Ботанічна характеристика рослини канна садова.....	12
1.5. Хімічний склад рослини канни садової	13
1.6. Застосування канни садової у традиційній та доказовій медицині	15
РОЗДІЛ 2 МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	18
2.1 Матеріали дослідження	18
2.2 Методи дослідження.....	18
2.2.1. Визначення гострої токсичності густого екстракту з канни садової листя	18
2.2.2. Вивчення протизапальної дії густого екстракту з канни садової листя	19
РОЗДІЛ 3 ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З КАННИ САДОВОЇ ЛИСТЯ.....	23
3.1 Дослідження гострої токсичності густого екстракту з канни садової	23
листя	23
3.2. Підбір мінімально діючої дози густого екстракту з канни садової листя на моделі тетрахлорметанового ураження печінки.....	25

3.3 Дослідження гепатопротекторних властивостей густого екстракту з канни садової листя.....	30
3.4 Вивчення протизапальної активності густого екстракту з канни садової листя на моделі карагенінового набряку лапи щурів.....	41
ВИСНОВКИ.....	43
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	45

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

- АЛАТ – аланінамінотрансфераза;
АсАТ – аспартатамінотрансфераза;
АОЗ – антиоксидантний захист;
АФК – активні форми кисню;
БАР – біологічно активні речовини;
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;
ВР – вільні радикали;
ГЕКСЛ – густий екстракт з канни садової листя
ЕП – еритроцитарний індекс інтоксикації;
ІК – інтактний контроль;
КП – контрольна патологія;
ЛЗ – лікарські засоби;
ЛРС – лікарська рослинна сировина;
МСМ – молекули середньої маси;
ПВК – піровиноградна кислота;
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів;
СОД – супероксиддисмутаза;
ТБК – тіобарбітурова кислота;
ЦП – церулоплазмін.

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Однією з актуальних проблем сучасності є пошук патогенетично обґрунтованих методів лікування токсичних гепатитів, які зумовлені зростанням гострих отруєнь в осіб працездатного віку при потраплянні в організм токсичних речовин – ксенобіотиків.

Окисно-відновні реакції лежать в основі усіх метаболічних процесів в організмі людини. Особливу роль відіграють вільнорадикальні реакції, внаслідок яких утворюються перекисні сполуки з високою реакційною здатністю. Утворенню останніх сприяють вільні радикали (ВР) – молекули та фрагменти молекул, що мають неспарений електрон в одному з атомів кисню. Вони отримали назву активні форми кисню (АФК). АФК приймають активну участь в метаболічних процесах [16, 22]. Активація процесів вільнорадикального окиснення є одним із головних чинників у патогенезі захворювань.

Розвиток токсичних уражень печінки супроводжується синдромом ендогенної інтоксикації. При дії ксенобіотиків на організм змінюються показники антиоксидантної системи, відбувається руйнування клітинних та субклітинних мембран, що призводить до погіршення функціонального стану печінки, її здатності до біоконверсії та поступленню в системний кровообіг великої кількості токсичних речовин [6, 15].

Для корекції уражень печінки використовується досить різноманітний арсенал препаратів, що різнобічно діють на клітини печінки – гепатопротектори, антиоксиданти, ентеросорбенти, але при цьому, в першу чергу, перевага надається препаратам рослинного походження, що пов'язано з певною токсичністю синтетичних лікарських засобів, більшість з яких мають побічну дію на організм і викликають алергічні реакції [8].

Лікарські рослини характеризуються малою токсичністю, м'якою дією, легкістю засвоєності організмом і можливістю тривалого застосування без ризику виникнення побічних ефектів. Велика кількість різних за походженням

біологічно активних речовин (БАР), що містяться в рослинах надають їм різнобічні фармакологічні властивості [18].

Перспективним джерелом природних антиоксидантів є канна садова (*Canna hybrida x Hort.*). Розрізнені дані літератури свідчать про переважання в її хімічному складі сполук із антиоксидантними властивостями. Тому актуальним є дослідити антиоксидантні, гепатопротекторні та протизапальні властивості рослини канни садової на моделі гострого токсичного гепатиту.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Наукова робота виконана в рамках науково-дослідної міжкафедральної роботи на тему «Експериментальні дослідження метаболічних порушень в організмі за дії екзогенних токсикантів та при різних патологічних станах» № держреєстрації 0120U104148.

Мета та завдання дослідження.

Метою досліджень було встановити гепатопротекторні, антиоксидантні активності густого екстракту з канни садової листя (ГЕКСЛ) в експерименті на тваринах із модельованим тетрахлорметановим гепатитом.

Для досягнення даної мети були поставлені наступні завдання:

1. Проаналізувати джерела літератури щодо ботанічної характеристики, хімічного складу, фармакологічної дії канни садової.
2. Провести дослідження гострої токсичності густого екстракту з канни садової листя.
3. Встановити умовно терапевтичну дозу ГЕКСЛ в умовах експериментального тетрахлорметанового гепатиту.
4. Дослідити антиоксидантну активність екстракту в експерименті на тваринах із модельованим тетрахлорметановим гепатитом.
5. Встановити гепато- та мембранопротекторні властивості екстракту та вивчити їх ефективність за умов ураження даним ксенобіотиком.
6. Вивчити протизапальну активність екстракту на моделі карагенінового набряку лапи щурів.

Об'єкт дослідження: фармакотерапія гострих токсичних уражень печінки, фармакотерапія запальних процесів.

Предмет дослідження: антиоксидантна, гепатопротекторна, протизапальна дія густого екстракту з канни садової листя.

Методи дослідження: біохімічні, спектрофотометричні, статистичні (метод варіаційної статистики з використанням t-критерію Стьюдента).

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше обгрунтовано можливість використання ГЕКСЛ, як джерела отримання БАР для створення лікарських препаратів з гепатопротекторними властивостями та застосування лікарської сировини в медичній практиці.

Практичне значення одержаних результатів. Обгрунтовано перспективність подальшого дослідження густого екстракту канни садової листя з метою створення на основі її біологічно активних речовин лікарських засобів з гепатопротекторною активністю.

Обсяг і структура роботи. Наукова робота складається зі вступу, огляду літератури, експериментальної частини, висновків та списку використаних джерел літератури. Обсяг основного тексту наукової роботи складає 47 сторінок друкованого тексту. Робота ілюстрована 10 таблицями та 9 рисунками. Перелік використаних джерел містить 42 найменування, з яких 22 кирилицею, латиною - 20.

РОЗДІЛ 1

ПЕРСПЕКТИВНІСТЬ ЗАСТОСУВАННЯ РОСЛИННИХ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ЗА ТОКСИЧНИХ УРАЖЕНЬ ПЕЧІНКИ (огляд літератури)

1.1 Механізми розвитку токсичного тетрахлорметанового гепатиту

Отруєння хімічними речовинами призводить до хімічного ураження печінки. До ксенобіотиків, здатних зумовлювати ураження печінки відносяться хімічні речовини, синтетичні лікарські засоби, пестициди, промислові отрути, миючі засоби, тощо.

Одним із найнебезпечніших ксенобіотиків з високим ступенем вибіркової гепатотоксичності є тетрахлорметан (CCl_4), токсична дія якого пов'язана з прооксидантною дією утворених в процесі його біотрансформації високотоксичних радикальних метаболітів – трихлорметильного $\text{CCl}_3\cdot$ та високо реактивного $\text{CCl}_3\text{OO}\cdot$, що мають здатність ковалентно зв'язуватися з біомакромолекулами, ініціювати перекисне окиснення ліпідів (ПОЛ), білків, генерувати високотоксичні активні форми кисню (АФК) та здатні започатковувати нові ланцюги вільнорадикальних реакцій [33]. Розвиток ланцюгових реакцій призводить до глибоких порушень функціональних властивостей мембран – пригнічення активностей мембранозв'язуючих ензимів, виходу цих ензимів в кров, декомпартменталізації кальцію та в результаті – до некрозу та апоптозу гепатоцитів [38]. Індукований тетрахлорметаном окиснювальний стрес (ОС) поглиблюється пригніченням активностей антиоксидантних ензимів та посиленням витрат і зниженням вмісту в клітині таких пріоритетних антиоксидантів як α -токоферол і відновлена форма убіхінону [14, 26].

При інтоксикації CCl_4 активуються мембранодеструктивні процеси, про що свідчать підвищення активностей АлАТ і АсАТ в плазмі крові та зниження їх у печінці, поглиблюється ендотоксемія, розвивається цитоліз клітин.

Даний ксенобіотик, як індуктор ПОЛ, призводить до деструкції та деформації лізосомальних мембран, відбувається модифікація поверхні мембран і як наслідок - порушення їх рецепторної функції.

Ключову роль в механізмі регуляції вільнорадикальних та пероксидних процесів відіграють ензими-антиоксиданти. Найпотужнішим природнім антиоксидантом і ензимом першої ланки антиоксидантного захисту є супероксиддисмутаза (СОД), яка здійснює реакцію дисмутації супероксидних аніон-радикалів та перетворює їх на менш реакційно здатні молекули – H_2O_2 . Зміна активності даного ензиму характеризує глибину тканинного ураження та порушення метаболізму, що зумовлена дією тетрахлорметану.[16].

Одним із компонентів ферментативної антиоксидантної системи є церулоплазмін (ЦП). Виявлено підвищення вмісту ЦП при цирозі печінки, хронічному гепатиті та токсичному ураженні печінки, що свідчить про протекторну дію ЦП на мембрани і пригніченням інтенсивності ПОЛ.

Отже, для вивчення коригуючих властивостей БАР з листя канни садової, а саме мембранопротекторних та антиоксидантних, була обрана модель тетрахлорметанового гепатиту, яка є класичною моделлю токсичного ураження печінки, в основі патогенезу якої лежить деструкція клітинних та субклітинних мембран внаслідок активації процесів ПОЛ.

1.2 Використання антиоксидантів при хімічному ураженні печінки

Вплив токсичних речовин на організм людини та розвиток інтоксикацій різного генезу роблять доцільним та актуальним пошук нових ефективних методів терапії за умов поліорганної патології. Активація ксенобіотиками окиснювальних процесів призводить до порушення ліпідного обміну, структури мембран, сприяє посиленню лізису клітин, окисненню сульфгідрильних груп білків і призводить до розвитку патологічних змін в організмі.

Комплексна терапія за даної патології потребує включення лікарських засобів, що сприяють стабілізації систем гомеостазу. До таких препаратів

належать антиоксиданти, які широко використовуються в медицині. В механізмі дії антиоксидантів лежить їх здатність взаємодіяти з активними радикалами з утворенням малоактивних радикалів, виводити їх з організму, зменшувати швидкість окиснення органічних речовин [2].

Антиоксидантний захист (АОЗ) реалізується завдяки ендогенним антиоксидантним системам, до складу яких входять водо- та жиророзчинні антиоксидантні вітаміни (аскорбінова кислота, альфа-токоферол, бета-каротин, лимонна та нікотинова кислоти) та їх ферменти (КТ, СОД, глутатіонтрансфераза, глутатіонпероксидаза, глутатіонредуктаза) і мікроелементи (селен, цинк, купрум), які беруть участь у різних ланках реалізації АОЗ. Вищевказані сполуки є основним компонентом препаратів з антиоксидантними властивостями, що використовуються при різних захворюваннях, в тому числі і при гепатиті.

Важлива роль в АОЗ належить вітамінам, таким як А, Е, С, Р, В₆. Одним із найбільш вивчених і широко використовуваних препаратів є жиророзчинний вітамін Е – альфа-токоферол. Крім антирадикальної дії, альфа-токоферол має здатність стабілізувати мембрани і утворювати комплекси з жирними кислотами, що сприяє підвищенню стійкості мембран до процесів вільнорадикального окиснення.

Антиоксидантні властивості проявляє аскорбінова кислота, тіолові сполуки, вітамін А, селенвмісні препарати та синтетичні антиоксиданти [17].

Класифікація ЛЗ та БАР з антиоксидантною дією поповнюється. До них відносяться метаболічні засоби, гормональні, ферментні препарати, фітопрепарати.

Із синтетичних антиоксидантів широкого застосування набув іонол (дибунол), ефект якого перевищує альфа-токоферол, тіотриазолін, мексидол [5].

Пошуки нетоксичних, стійких інгібіторів окиснення ведуться в усьому світі, і щорічно десятки й сотні нових найменувань додаються до відомих на світовому ринку антиоксидантів.

Проте майбутнє цієї проблеми – за природними антиоксидантами, оскільки вони відіграють надзвичайно велику роль у захисті біологічних структур від окиснення.

1.3 Використання гепатопротекторів при ураженні печінки ксенобіотиками

Механізм дії гепатопротекторних засобів включає мембраностабілізуючу, протизапальну, антиоксидантну дії. Терапевтичний ефект гепатопротекторів проявляється у відновленні метаболічних процесів при цирозі печінки, гострому та хронічному гепатитах.

Гепатопротектори класифікують на препарати рослинного та тваринного походження, препарати, які містять амінокислоти та есенціальні фосфоліпіди; препарати синтетичного походження та гомеопатичні. Гепатопротектори інгібують процеси вільнорадикальної деструкції гепатоцитів, проявляючи антиоксидантну дію, стабілізують мембранні структури, зменшуючи цитоліз клітин. Відновлюючи функціонування монооксигеназних систем гепатоцитів посилюють процеси детоксикації та кон'югації.

Позитивний ефект при захворюваннях печінки проявляють гепатопротектори біофлавоноїдної природи, до яких відноситься силібор. [7].

Силібор – гепатопротектор вітчизняного виробництва, який містить в собі суму флавоноїдів плодів росторопши плямистої.

Силібор сприяє зниженню активності амінотрансфераз в сироватці крові, знижує вміст продуктів ПОЛ в печінці, нормалізує детоксикуючу функцію печінки, білковий та ліпідний обміни, зменшує деструктивні зміни в печінці.

Зважаючи на широке застосування рослинних препаратів за різних патологічних станах є актуальним вивчення нових властивостей рослинних субстанцій в модельних експериментах на тваринах.

1.4 Ботанічна характеристика рослини канна садова.

Канна садова (*Canna hybrida x Hort.*) – це збірна назва садових гібридів рослин роду Канна (*Canna L.*) одноіменної монотипної родини Каннові (*Cannaceae Juss.*), із порядку імбіроцвіті. [23, 24].



Рис. 1.1. Канна садова (*Canna hybrida x Hort.*)

Канна садова – однодольна, багаторічна, кореневищна, трав'яниста, прямостояча рослина, яка у висоту може сягати до 3 м [20].

Розгалужене горизонтально кореневище симподіальне бульбоподібної форми розташовується під землею та може заглиблюватись до 60 см та до 10-12 см у діаметрі. Ззовні кореневище бурого або рожевого кольору, що поділене на м'ясисті білі або жовті сегменти, що вкриті лускоподібними листочками. Від кожного сегмента відходять волокнисті корені циліндричної форми діаметром 3-6 мм пісочного кольору з багатьма бічними ниткоподібними коренями [24].

Листки канни садової великі, 25-50 см завдовжки і до 30 см завширшки, які мають забарвлення від світло-зеленого до бурого кольорів та можуть набувати бронзового відтінку та смугастості. Листова пластинка цілокрая у контурі, еліптичної або видовжено-овальної форми, злегка асиметрична для якої характерний дуговий тип жилкування. Розташування листків почергове [36, 37].

Квітки канни садової асиметричні, великі, трубчасті, довжиною 4-4,5 см і до 10 см у діаметрі, від жовтого до червоного забарвлення, які утворюють

складний завиток із нерівномірним типом розгалуження [37]. Квітка тричленна і складається із п'яти мутовок. Квітки гермафродитні, здатні до самозапилення [20,33].

Плоди мають форму округлих або видовжених трикамерних коробочок завдовжки до 4 см і завширшки 2,5 см, м'яко-колючі, бородавчасті, можуть мати блідо-зелений колір. В процесі дозрівання колір може змінюватись від зелено-червоного до чорного [24, 37].

Насіння у діаметрі до 2 см, кулястої форми, вкрите гладенькою, здерев'янілою оболонкою. На початку дозрівання білого кольору та з часом темніє, стає чорним із коричневими плямами [24, 37].

Батьківщиною рослини є тропічні та субтропічні регіони США, Індії. У дикорослому вигляді канни зростають у Китаю, Індії, Центральній та Південній Америці, Індонезії. В Україні вирощується як декоративна рослина та не є фармакопейною.

1.5. Хімічний склад рослини канни садової

Рослини роду Канн є перспективним джерелом отримання сучасних фітотерапевтичних препаратів та дієтичних добавок. Науковці ряду країн вивчають їх хімічний склад і біологічну активність.

За даними літератури хімічний склад рослин роду Канна представлений більш ніж 120 сполуками, серед яких сапоніни, серцеві глікозиди, флавоноїди, полісахариди, терпенові та стероїдні сполуки, алкалоїди, мінеральні речовини [30]. Корені канни садової містять вітаміни, ензими.

Метаболічні процеси в організмі людини пов'язані з активною участю мінеральних речовин, які виконують структурну, регуляторну функції, є складовою частиною багатьох ферментів, регулюють процеси гомеостазу.

Дослідження Тимофєєвої С. В. довели накопичення мікро- та макроелементів у кореневищах, коренях та листі канни садової [22]. Так за кількісним вмістом у кореневищах канни садової накопичувались та переважали – калій, натрій, кальцій, магній, фосфор, стронцій, силіцій, ферум, алюміній,

цинк, манган. На другому місці у листі – накопичувались калій, кальцій, магній, силіцій, ферум, алюміній, цинк, манган. Найменший вміст мінеральних речовин виявився у коренях рослини. За результатом експерименту у складі сировини, що аналізувалась, визначено 14 мінеральних елементів: 6 макро- та 8 мікроелементів. Вміст токсичних елементів не перевищував припустимі концентрації, встановлених стандартами. [22]

За результатами досліджень методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) досліджено вміст фенолкарбонових кислот в листках, кореневищах та коренях канни садової та ідентифіковано галову, кофейну та розмаринову кислоти. Відомо, що фітозасоби на основі даної групи БАР використовуються як протимікробні, антиоксидантні, протизапальні, кровоспинні, сечогінні засоби [21].

Згідно даних наукової літератури петролейноестерні витяжки з надземних частин рослини накопичують фенольні сполуки що виявляють антиоксидантні, спазмолітичні властивості, зокрема флавоноїди (рутин, нарінгенін та ін.) [30, 42].

Індійськими дослідниками методом ВЕРХ було встановлено, що в квітках канни садової накопичуються антоціанові сполуки, які підвищують тонус кровоносних судин, чинять судинорозширювальну дію, знижують рівень загального холестерину і тригліцеридів у крові, пригнічують утворення вільних радикалів – глюкозиди, галактозиди ціанідину [24, 25].

Українські вчені методом хроматографічного дослідження довели, що в рослині міститься велика кількість фотосинтезувальних пігментів і каротиноїдів, які істотно впливають на організм людини. Вони проявляють ранозагоювальну, антиканцерогенну, протимікробну, протизапальну дію, запобігають утворенню конгломератів у нирках [10].

За результатами досліджень індійських вчених доведена антиоксидантна, гепатопротекторна дія густого екстракту канни садової та підтверджена її цитотоксична активність [35].

Вміст стероїдних сполук, що виявляють протизапальну дію у сировині канни садової досліджували на кафедрі хімії природних сполук Харківського національного фармацевтичного університету. За результатами досліджень в коренях рослини ідентифіковано 15 стероїдних сполук, в кореневищах – 11, в листках – 12 та в квітках – 3 речовини стероїдної природи. Харківські дослідники виявили та ідентифікували в коренях ненасичені жирні кислоти, які впливають на біосинтез холестерину, підтримують гомеостаз, мають антиоксидантну, антиаритмічну, ангіопротекторну активність. – ліноленова, олеїнова, пальмітолеїнова, вміст яких становив 53,11 %. Серед насичених кислот домінували пальмітинова та бегенова кислоти (27,45 % та 12,84 % відповідно). Загальний вміст насичених кислот дорівнював 46,29 % [24, 21].

1.6. Застосування канни садової у традиційній та доказовій медицині

Завдяки вмісту БАР та мінеральних речовин серед яких флавоноїди, органічні кислоти, антоціанові сполуки, макро- та мікроелементи рослини роду *Canna L.* привертають увагу наукової спільноти.

Канна широко використовується в традиційній медицині багатьох країн світу. Багато видів роду *Canna L.* застосовують як антибактеріальний, противірусний, глистогінний, протизапальний, болезаспокійливий, імуномодулюючий, антиоксидантний, цитотоксичний, кровоспинний, гепатопротекторний, протизапальний засіб [41].

В Індокитаї та Філіппінах відвари кореневищ канни використовують як кровоспинний та сечогінний засоби. В Конго даний відвар застосовують для регулювання менструального циклу [24, 30]. Відвар зі свіжих кореневищ призначають в Гонконзі при лікуванні гострих форм гепатиту, гонореї, а при діареї – сік тертого кореневища [20, 42].

При простудних захворюваннях, гарячці, малярії використовують порошок коренів к. садової, як потогінний та жарознижуючий засіб в Індії [24]. Відвар з листя канн використовують в Нігерії при лікуванні малярії, а відвар квітів для зупинки кровотеч, при лікуванні захворювань очей. В Коста-

Ріці при виразках шкіри, артритах, ревматичних болях застосовують ванни з свіжим нарізаним листям. Як сечогінний засіб використовують настоянку з листя канни [29]. У Камбоджі при лікуванні інфекційних та гнійно-запальних захворюваннях застосовують мазі на основі відварів з листя та кореневищ канни. Пасту з трави канни використовують при тонзилітах у Бангладеш. Припарки з розтертого насіння використовують при головних болях на острові Ява [20, 24].

За результатами досліджень пакистанських та індійських вчених антиоксидантна активність екстрактів коренів канни при вживанні у дозі 181 мкг/мл сповільнює вільнорадикальні процеси, стимулює синтез каталази, відновлює кисневий баланс тканин головного мозку [40].

Вчені з Китаю довели, що метанольні витяжки з квіток канни садової пришвидшують згортання крові та зменшують проникність капілярів на одному рівні з філохіноном [24, 30].

За результатами індійських дослідників екстракти з кореневищ к. садової у дозі 200 мг/кг виявляли протівірусну активність по відношенню до ВІЛ-1 у дослідах *in vitro*. Стероїдні сполуки, виділені з листя канни, показали цитотоксичну активність при лейкемії [24]. Водні екстракти коренів канни в дозі 0,1-0,5 мг/мл підсилювали синтез білків, відповідальних за транспорт глюкози [20, 24, 32].

В народній медицині латиноамериканських країн канну використовують для лікування синців, порізів, при захворюваннях на малярію, дизентерію, діарею. Як потогінний та сечогінний засіб широко застосовують водний екстракт з коренів канни садової при лихоманці та водянці. Ефективним є сік з насіння канни садової, який має знеболюючі властивості та використовується при хворобах вух. При лікуванні запальних захворювань очей визнаним є екстракт з квітів канни.

Згідно з літературними джерелами, на батьківщині канн Центральної і Південної Америки, надземна і підземна частини рослини здавна

використовувалися в їжу. Рослини роду Канна є одним із найбагатших у світі джерел крохмалю [33].

Проаналізувавши літературні дані, можна зробити висновок, що у представників роду Канна багатий вміст біологічно активних речовин, які, за даними проведених досліджень різних авторів, зумовлюють широкий спектр фармакологічної активності рослин цього роду.

Нашу увагу привернула канна садова, яка, як показують результати досліджень науковців, містить у своєму складі сапоніни, серцеві глікозиди, флавоноїди, полісахариди, терпенові та стероїдні сполуки, алкалоїди, мінеральні речовини. Зважаючи на це, доцільним є вивчення фармакологічної активності канни садової з метою створення на її основі нових лікарських засобів.

Таким чином, враховуючи різноманітний хімічний склад канни садової листя, ми вважали за доцільне вивчити антиоксидантні та гепатопротекторні властивості густого екстракту на моделі токсичного ураження печінки тетрахлорметаном та протизапальні властивості на моделі карагенінового набряку лапи щурів з метою більш широких доклінічних досліджень та рекомендації проведення клінічних досліджень. Це дозволить створити нові лікарські засоби для лікування токсичних гепатитів та захворювань, що супроводжуються запальними процесами в організмі.

Вищесказане спонукало нас до досліджень, які наведені в наступних розділах і сформульовані як мета та завдання у вступі даної роботи.

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Матеріали дослідження

Матеріалом дослідження був обраний ГЕКСЛ, який був одержаний під керівництвом професорки закладу вищої освіти кафедри фармакогнозії та нутриціології Національного фармацевтичного університету Журавель І.О.

Гепатопротекторні, антиоксидантні та протизапальні властивості екстракту досліджували на моделі ураження тварин тетрахлорметаном.

Відбір тварин для дослідження. Досліди проведені на білих безпородних щурах масою тіла 175–200 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію Тернопільського національного медичного університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України. В процесі роботи використано 120 тварин.

Усі дослідження проводили з дотримання правил «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та наукових цілей» (м. Страсбург, 1986 р.) [9].

2.2 Методи дослідження

2.2.1. Визначення гострої токсичності густого екстракту з канни садової листя

З метою визначення показника ЛД₅₀ вивчали гостру токсичність екстракту з листя канни з використанням експрес-методу Пастушенко Т. В. і співав. та методу найменших квадратів за Прозоровським Б. В

Дослідження гострої токсичності починали з введення ГЕКСЛ у об'ємі 5 мл, який вводили частинами відповідно 3 рази на день у фізіологічно допустимому об'ємі протягом дня з інтервалом 2-4 години [19]. Іншій групі тварин вводили еквівалентну кількість питної води.

Дослідження екстракту проведено на білих безпородних щурах обох статей масою тіла 175–200 г. Тварини були розділені на чотири групи для кожної

статі, по шість тварин у групі. Термін спостереження за тваринами становив два тижні.

З метою диференціювання можливих токсичних ефектів на організм екстракту канни садової щурів самців та самиць, стан їх порівнювали з групами щурів обох статей:

- контроль № 1, яким вводили еквівалентну кількість питної води;
- контроль № 2, яким вводили еквівалентну кількість екстракту канни садової.

Додатково враховували результати клінічних спостережень, що включали показники фізіологічного стану тварин: дихання; рухова активність, судоми, серцево-судинні симптоми, показники стану ШКТ, стан шкіри [19].

2.2.2. Вивчення протизапальної дії густого екстракту з канни садової листя

Протизапальну активність густого екстракту з канни садової листя вивчали на моделі карагенінового набряку, що характеризує циклооксигеназний шлях запалення.[19].

Вивчення протизапальної дії проводили у порівнянні з препаратом «Диклофенак натрію» - нестероїдного протизапального засобу, який вважається «золотим стандартом» протизапальної терапії. Гостре ексудативне запалення індукували субплантарним введенням у праву задню лапу щурів 0,1 мл 1,0 % водного розчину карагеніну – сульфатизований полісахарид, виділений з ірландського моху *Chondrus*.

Водний розчин екстракту з канни вводили в дозі 150 мг/кг, таблетки диклофенаку натрію – у дозі 8 мг/кг (ЛД₅₀). Препарати вводили перорально за 1 годину до ін'єкції карагеніну. Одна з груп тварин замість досліджуваних чинників отримувала еквівалентну кількість води. За розвитком набряку спостерігали через 1, 3, 6 і 24 години. В кожний термін спостереження вимірювали об'єм лап за допомогою механічного онкометра [19].

Вплив екстрактів оцінювали за здатністю пригнічувати набряк лапки щурів. Протизапальну ефективність розраховували за формулою:

$$\% \text{ пригнічення запалення} = (V_k - V_0) / V_k \cdot 100,$$

де V_k – середнє збільшення об'єму набряклої лапки в контролі;

V_0 – середнє збільшення об'єму набряклої лапки у лікованих тварин (2.1)

Визначення вмісту ТБК–активних продуктів (ТБК-АП)

Принцип методу: в кислому середовищі при високій температурі малоновий диальдегід реагує з тіобарбітуровою кислотою, утворюючи забарвлений комплекс червоного кольору з максимумом поглинання при довжині хвилі 532 нм. Кількість малонового диальдегіду розраховували, виходячи з коефіцієнта молярної екстинкції забарвленого комплексу, який дорівнює $1,56 \times 10^5 \text{ см}^{-1} \text{ м}^{-1}$ і виражали в мкмоль/л сироватки крові або мкмоль/кг тканини [4].

Визначення еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ)

В основі методу лежить твердження про еритроцит як адсорбент, тобто здатність еритроцитарною мембраною поглинати і пропускати забарвлені речовини [10]. Кількість поглинутого барвника (у %) вираховували за формулою:

$$A = 100 - \frac{C \cdot 100}{B} \quad (2.2)$$

A – кількість поглинутого барвника (у %),

B – оптична густина вихідного розчину (метилена синька) в одиницях екстинкції,

C – оптична густина розчину барвника після інкубації з еритроцитами (в од. екстинкції),

100 – відсоток щільності мембрани в нормі.

Визначення активності аланінамінотрансферази (АлАТ)

Принцип методу: внаслідок амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аланіном, яке відбувається під дією аланінамінотрансферази, утворюються L-глутамінова та піровиноградна кислоти. При взаємодії ПВК з 2,4-динітрофенілгідразином в лужному середовищі утворюються 2,4-динітрофенілгідразони, що мають високий коефіцієнт молярної екстинції, тому оптична щільність їх, яка реєструється на фотоелектроколориметрі, прямопропорційна активності ферменту [38].

Розрахунок активності ензиму проводили за калібрувальним графіком, побудованим за вмістом піровиноградної (ПВК) і виражали в мкмоль/(л·год).

Визначення активності аспаратамінотрансферази (АсАТ)

Принцип методу: в результаті амінування 2-оксоглутарової кислоти L-аспарагіновою кислотою, яке проходить під дією аспаратамінотрансферази, утворюються L-глутамінова і щавелево-оцтова кислоти. Остання самовільно декарбоксилюється з утворенням ПВК [38].

Визначення базується на вимірюванні оптичної густини 2,4-динітрофенілгідразонів 2-оксоглутарової та ПВК у лужному середовищі. Оскільки гідразон піровиноградної кислоти має більш високий коефіцієнт молярної екстинції, спостерігається прямо пропорційна залежність оптичної густини реакційного розчину від активності фермента.

Розрахунок активності ензиму проводили за калібрувальним графіком, побудованим за вмістом ПВК і виражали в мкмоль/(л·год).

Визначення вмісту молекул середньої маси (МСМ)

Метод полягає у виділенні кислоторозчинної фракції молекул середньої маси з наступною детекцією десятикратно розведеної надосадової рідини при довжинах хвиль 254 та 280 нм [1].

Результати виражали в умовних одиницях, чисельно рівних показникам екстинкції, які були отримані спектрофотометрично.

Визначення активності супероксиддисмутази (СОД)

Принцип методу – здатність ферменту інгібувати відновлення нітротетразолію синього. Відсоток інгібування розраховували за формулою:

$$(E_k - E_d) 100 / E_k, \quad (2.3)$$

де E_k – екстинція контрольної проби,

E_d – екстинція дослідної проби.

Таку кількість ферменту, що здатна інгібувати відновлення нітротетразолію синього на 50 % приймали за 1 ум. од. активності.

Визначення вмісту церулоплазміну (ЦП) в сироватці крові

Принцип методу базується на здатності п-фенілендіаміну в присутності церулоплазміну окиснюватись з утворенням забарвлених сполук рожевого кольору. Кількість церулоплазміну пропорційна інтенсивності забарвлення.

Обчислення проводили за формулою:

$$C = E \times 87,5, \text{ де} \quad (2.4)$$

C- вміст церулоплазміну в мг/л сироватки крові

E – екстинція проби.

Методи математичного аналізу

Результати досліджень піддавали статистичному аналізу з використанням критерію Ст'юдента, використовуючи метод варіаційної статистики за участю програми Statistica 6.0.

РОЗДІЛ 3

ВИВЧЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ ГУСТОГО ЕКСТРАКТУ З КАННИ САДОВОЇ ЛИСТЯ

3.1 Дослідження гострої токсичності густого екстракту з канни садової листя

Згідно до Методичних рекомендацій ДФЦ МОЗ України [8] при вивченні фармакологічної активності важливою характеристикою є оцінка ступеня оксичності препарату, для оцінки ступеня його нешкідливості. Отже, було доцільним вивчити гостру токсичність ГЕКСЛ.

Дослідження гострої токсичності починали з введення водного розчину ГЕКСЛ у об'ємі 5 мл, який вводили частинами відповідно 3 рази на день у фізіологічно допустимому об'ємі протягом дня з інтервалом 2-4 години.

Результати дослідження подані в таблицях 3.1, 3.2

Таблиця 3.1

Рандомізація щурів в експерименті з вивчення гострої токсичності густого екстракту з канни садової листя

Групи тварин	Доза, мл/кг	Кількість щурів	
		самці	самки
Контроль №1, питна вода	5	6	6
Контроль №2, ГЕКСЛ	5	6	6

Встановлено, що після внутрішньошлункового введення екстракту тваринам ознак інтоксикації в день введення та протягом 14 діб у щурів обох статей не виявлено: тварини були активними, охайними, порушення дихання та судом не виявили.

Ефект оцінювали за співвідношенням «загибель тварин/кількість тварин у групі». Загибелі тварин обох статей при введенні шурам екстракту в дозі 5000 мг/кг не спостерігалось, що свідчить про нешкідливість даної лікарської форми.

Таблиця 3.2

Дослідження гострої токсичності густого екстракту з канни садової листя при одноразовому внутрішньошлунковому введенні білим щурам обох статей

Умови досліджу	Доза, мл/кг	Самці	Самки
		Спостережуваний ефект, кількість загиблих тварин/загальна кількість тварин у групі	Спостережуваний ефект, кількість загиблих тварин/загальна кількість тварин у групі
Контроль № 1, питна вода	5,0	0/6	0/6
Контроль № 2, ГЕКСЛ	5,0	0/6	0/6

Клас токсичності визначали за класифікацією Сидорова К.К. [27].

Протягом 14-ти діб проводилось визначення маси тіла дослідних тварин, яку оцінювали в динаміці (перед початком експерименту, через 3-и, 7 та 14 днів від початку введення екстракту). Дослідження динаміки маси тіла тварин показало, що у щурів після внутрішньошлункового введення даного лікарського засобу та у групах інтактних тварин протягом терміну спостереження відбувається незначне збільшення маси тіла відносно вихідних даних (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Динаміка маси тіла щурів (в г) обох статей при одноразовому внутрішньошлунковому введенні при вивченні гострої токсичності густого екстракту з канни садової листя

Групи тварин	Вихідні дані	3 дні	7 днів	14 днів
Самці				
Контроль № 1, питна вода	170,5±2,35	172,0±3,15	180,5±3,75	186,3±4,15*
Контроль № 2, ГЕКСЛ	175,2±3,15	178,3±2,75	183,5±4,10	188,3±3,25*
Самиці				
Контроль № 1, питна вода	172,0±2,85	175,5±3,25	178,0±3,15	182,5±3,30*
Контроль №2, ГЕКСЛ	176,5±2,75	180,2±4,25	185,5±3,35	190,5±2,95*

*- відхилення показника достовірне щодо вихідних даних ($p \leq 0,05$).

Через 14 діб після закінчення експерименту тварин піддавали евтаназії під тіопенталовим наркозом. Проведено макроскопічний огляд внутрішніх органів. Під час розтину всі тварини мали незмінений шерстний покрив та слизові оболонки природних отворів. Поверхня печінки, нирок та наднирників гладенька. Колір, форма та розмір всіх органів звичайний.

При аналізі внутрішніх органів щурів-самців відмічено незначне збільшення маси печінки та серця, хоча ці зміни не були вірогідними. Маса нирок, легень та сім'яників залишалась на вихідному рівні. Можна вважати, що змін внутрішні органи самців не зазнали після введення екстракту з листя канни.

Вірогідних змін у масових коефіцієнтах органів самок, які отримували екстракт, в порівнянні з інтактними тваринами, не зареєстровано.

Таким чином, проведені дослідження з вивчення гострої токсичності ГЕКСЛ підтвердили відсутність його токсичної дії при одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам в дозі 5000 мг/кг.

Встановлено, що LD_{50} для екстракту становить понад 5000 мг/кг. Згідно з токсикологічною класифікацією речовин К.К. Сидорова ГЕКСЛ при внутрішньошлунковому введенні належить до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини.

3.2. Підбір мінімально діючої дози густого екстракту з канни садової листя на моделі тетрахлорметанового ураження печінки

Наступним етапом нашого дослідження було підбір умовно терапевтичної дози ГЕКСЛ. Для проведення експерименту ми використали модель ураження тварин тетрахлорметаном.

Досліди проведені на білих безпородних щурах-самцях масою тіла 180 - 200 г, які утримувались на стандартному раціоні віварію. У процесі роботи використано 36 тварин.

Аналіз даних літератури показав, що розвиток метаболічних порушень в організмі тварин на 4-ту добу тетрахлорметанового гепатиту максимальний, тому відповідні дослідження ми проводили саме в цей термін [6, 15].

Для підбору мінімальної діючої дози ГЕКСЛ брали 6 груп щурів (по шість тварин у кожній). Вивчали вплив екстракту у дозах 50 мг, 100 мг, 150 мг та 200 мг на кілограм маси тіла тварини, що становить 1/100, 1/50, 1/33 та 1/25 від встановленого ЛД₅₀ (> 5000 мг/кг) на метаболічні порушення в організмі тварин. Активність процесів ліпопероксидації в організмі тварин після введення екстракту оцінювали за вмістом ТБК-АП, активність мембранодеструктивних процесів – за активністю амінотрансфераз АсАТ та АлАТ та відсотком еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІІ), стан антиоксидантної системи за вмістом церулоплазмину (ЦП) та активністю супероксиддисмутази (СОД), ступінь ендогенної інтоксикації – за вмістом МСМ - СМ₁ та СМ₂.

Ураження печінки щурів тетрахлорметаном призвело до активації вільнорадикальних процесів у організмі, зокрема ліпопероксидації, про що свідчить збільшення вмісту ТБК-АП як у сироватці крові, так і в печінці уражених тварин.

Введення тетрахлорметану в організм тварин призводить до вірогідного зростання вмісту ТБК-активних продуктів у сироватці крові, що свідчить про розвиток вільнорадикальних реакцій в організмі після ураження печінки токсикантом.

На 4 добу розвитку токсичного гепатиту даний показник зростає у сироватці крові в 2 рази відносно інтактних тварин ($p \leq 0,05$) (табл.3.4). У цей же час вірогідно ($p \leq 0,05$) збільшується даний показник у печінці уражених тварин (в 1,7 раза).

Застосування ГЕКСЛ позитивно вплинуло на вміст продуктів ліпопероксидації у досліджуваних тканинах. Після введення в уражений організм дози 50 мг та 100 мг/кг як у сироватці крові, так і печінці вміст ТБК-АП знижувався, але зміни не були вірогідними.

Таблиця 3.4

Біохімічні показники у щурів, уражених тетрахлорметаном, та вплив на них доз густого екстракту з канни садової листя (M±m; n=36)

Показник	Групи тварин					
	ІК	КП	Уражені+ 50 мг/кг ГЕКСЛ	Уражені+ 100мг/кг ГЕКСЛ	Уражені+ 150мг/кг ГЕКСЛ	Уражені+ 200 мг/кг ГЕКСЛ
Сироватка крові						
ТБК-АП, мкмоль/л	2,80± 0,20	5,60± 0,40*	5,25± 0,45	4,50± 0,30	3,85± 0,50**	3,25± 0,25**
ЦП мг/л	2,20± 0,17	4,50± 0,18*	4,35± 0,22	3,90± 0,21	3,15± 0,14**	2,45± 0,15**
СОД мкмоль/л	5,20± 0,13	3,75± 0,12*	3,90± 0,13	4,20± 0,11**	4,55± 0,14**	4,90± 0,13**
АЛАТ, мкмоль/л год	0,60± 0,02	0,95± 0,04*	0,90± 0,03	0,84± 0,02	0,72± 0,02**	0,68± 0,03**
АсАТ, мкмоль/л год	0,45± 0,03	0,75 ± 0,03*	0,70± 0,04	0,66± 0,02	0,58± 0,02**	0,52± 0,03**
ЕП, %	26,3 ±0,90	68,50 ±1,20*	63,70 ±1,15	59,50 ±1,45**	42,75 ±1,20**	36,50 ±0,95**
Печінка						
ТБК-АП, мкмоль/л	1,60± 0,05	2,75± 0,09*	2,45± 0,09	2,35± 0,14	1,95± 0,13**	1,80± 0,05**
СОД мкмоль/л	7,80± 0,35	5,50± 0,23*	5,85± 0,21	6,20± 0,17	6,85± 0,18**	9,60± 0,25**
АЛАТ, мкмоль/ кг год	1,30± 0,05	0,75± 0,06*	0,82± 0,07	0,88± 0,09	1,00 ± 0,07**	1,20± 0,08**
АсАТ, мкмоль/ кг год	0,95± 0,06	0,68± 0,07*	0,72± 0,06	0,78± 0,08	0,88± 0,07	0,93± 0,05**

Примітки:

* вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$);

** вірогідні зміни між ураженими та лікованими екстрактом тваринами ($p \leq 0,05$).

Ефективний вплив на даний показник проявили дози 150 мг та 200 мг/кг маси тіла, після використання яких вміст ТБК-АП знизився у сироватці крові в 1,45 та 1,72 раза відповідно (рис. 3.1)

Дані дози виявились ефективними і для печінки. Вміст продуктів ліпопероксидації знизився після застосування дози 150 мг/кг у 1,4 раза, дози 200 мг/кг – у 1,53 раза.

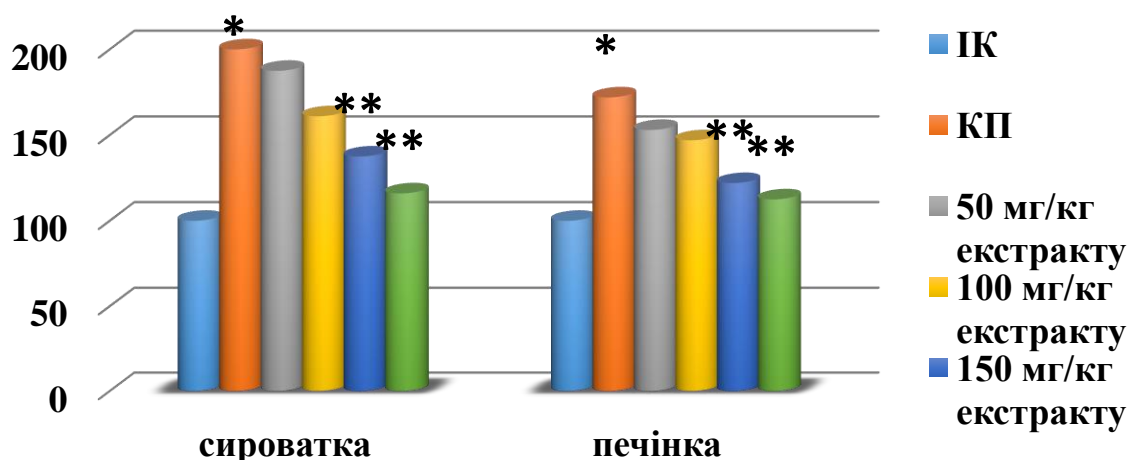


Рис. 3.1 Вміст ТБК – активних продуктів у сироватці крові та печінці тварин (4 доба) CCl_4 , та після застосування екстракту, %

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$); ** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

Ураження печінки щурів тетрахлорметаном викликає дисбаланс у функціонуванні про- та антиоксидантної системи. Доцільним в умовах токсичного гепатиту є дослідження активності антиоксидантних ензимів.

Один із основних антиоксидантів плазми крові – церулоплазмін (ЦП) – купрумвмісний білок альфа 2-глобулінової фракції крові. Особливістю цього білка є висока стабільність до токсичної дії АФК, що дозволяє йому зберігати біологічну активність за умов їх інтенсивної генерації [27].

Після потрапляння в організм тетрахлорметану ми відмітили підвищення вмісту церулоплазміну у сироватці крові щурів – у 2 рази. Вірогідне зниження даного показника ($p \leq 0,05$) викликали дози екстракту з канни 150 мг та 200 мг/кг маси тіла тварин, після застосування яких даний показник зменшився у 1,4 та 1,8 рази відповідно. Дози екстракту 50 мг та 100 мг/кг ефективного впливу на вміст ЦП не проявили.

З таблиці 3.2 видно, що ураження печінки ксенобіотиком супроводжується зниженням у сироватці крові активності одного з наймогутніших ензимів

антиоксидантного захисту – СОД, яка здійснює рекомбінацію O_2 з утворенням менш токсичних продуктів пероксидації ліпідів: пероксиду водню та триплетного кисню [39].

В уражених тетрахлорметаном щурів відмічається зниження супероксиддисмутазної активності у сироватці крові та печінці в 1,4 раза. Ефективний вплив на даний показник проявили дози 150 мг та 200 мг/кг екстракту з канни, після застосування яких активність даного ензиму зазнала підвищення.

На порушення структури та функцій клітинних мембран вказують результати досліджень активності цитозольних ферментів (АлАТ та АсАТ) у сироватці крові. Як відомо, пошкодження плазматичних мембран призводить до виходу органоспецифічних ензимів із цитозоля, і їхній вміст свідчить про ступінь пошкодження плазматичних мембран гепатоцитів [11].

Ураження тетрахлорметаном печінки щурів супроводжується підвищенням активності АлАТ та АсАТ у сироватці крові. Активність обох ензимів підвищилась в 1,6 раза. Ступінь підвищення амінотрансферазної активності сироватки крові вказує на вираженість цитолітичного синдрому. До вірогідного їх зниження у сироватці крові призвели дози досліджуваного екстракту 150 та 200 мг/кг маси тіла тварини.

Одночасно ми відмітили зниження активності амінотрансфераз у печінці щурів після її ураження гепатотропною отрутою. Активність АлАТ у даному органі знизилась у 1,7 рази, АсАТ – у 1,4 рази, що підтверджує гепатотропність використаного нами токсиканта.

Ефективний вплив на активність АсАТ проявила доза екстракту 200 мг/кг маси тіла, на АлАТ – дози 150 мг та 200 мг/кг. Після застосування двох останніх доз активність АлАТ у печінці підвищилась у 1,3 та 1,6 рази відповідно.

Доцільним було дослідити ступінь проникнення еритроцитарних мембран після ураження щурів тетрахлорметаном, на який вказує ЕП. Відмічено, що після ураження він збільшується у крові на 42 %. Дози екстракту з канни 100 мг,

150 мг та 200 мг/кг маси тіла викликали вірогідне зменшення відсотку проникнення еритроцитарної мембрани. Доза 50 мг/кг виявилась не ефективною.

Отже, аналізуючи отримані дані, можна констатувати, що ГЕКСЛ проявляє антиоксидантні та мембраностабілізуючі властивості в залежності від використаної дози. Проведені дослідження показали, що враховуючи вплив екстракту на всі дослідні показники, мінімально діючою дозою за умов тетрахлорметанового гепатиту є доза екстракту 150 мг/кг маси тіла тварин.

3.3 Дослідження гепатопротекторних властивостей густого екстракту з канни садової листя

В експерименті на щурах, уражених тетрахлорметаном, вивчали фармакологічні властивості екстракту з листя канни, а зокрема проводили дослідження антиоксидантних та мембранопротекторних властивостей даного фармакологічного препарату.

Для проведення відповідних досліджень тварини були розділені на 4 групи: 1-а – інтактні тварини; 2-а – тварини, уражені тетрахлорметаном (50 % олійний розчин) в дозі 1,0 мл/кг маси тіла (дворазово – через добу), шлях введення – внутрішньоочеревинно; 3-я – уражені тварини тетрахлорметаном та ліковані екстрактом з листя канни в дозі 150 мг/кг маси тіла, шлях введення – інтрагастрально; 4-а - уражені тварини тетрахлорметаном та ліковані препаратом «Силібором» (виробництва ТОВ "Фармацевтична компанія "Здоров'я", м. Харків) в дозі 50 мг/кг маси.

На четвертий та сьомий день від останнього введення тетрахлорметану тварин піддавали евтаназії з використанням тіопенталу натрію.

Для досліджень обрали сироватку крові та печінку щурів, у яких вивчали інтенсивність процесів вільнорадикального окиснення та стан захисних систем організму, а також проникність клітинних мембран та ступінь ендогенної інтоксикації після ураження та лікування коригуючими чинниками.

Будь-яка стресова реакція організму в нормі супроводжується короточасним збільшенням кількості АФК [11, 27]. Відомо, що за умов

гіперпродукції АФК активуються процеси вільнорадикального окиснення, а зокрема, ліпопероксидації. Вільнорадикальне окиснення є універсальним механізмом, за допомогою якого контролюються найважливіші гомеостатичні фізико-хімічні параметри клітини: в'язкість, вибіркова проникність і цілісність клітинних мембран.

Вміст одного із показників перекисного окиснення ліпідів, ТБК-АП, ми дослідили у сироватці крові та печінці щурів, уражених тетрахлорметаном (табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Вміст ТБК-АП у сироватці крові (мкмоль/л) та печінці тварин (мкмоль/кг), уражених тетрахлорметаном, після введення густого екстракту з канни садової листя та силібору ($M \pm m$; $n = 42$)

Група тварин	ТБК-АП			
	Сироватка крові		Печінка	
	4-та доба	7-ма доба	4-та доба	7-ма доба
ІК	2,50± 0,12		0,80± 0,04	
КП	5,27± 0,18*	5,50± 0,16*	1,80± 0,05*	1,90± 0,07*
Ліковані ГЕКСЛ, 150 мг/кг	4,90± 0,14	4,75± 0,15**	1,65± 0,06	1,50± 0,04**
Ліковані силібором, 50 мг/кг	4,25± 0,14**	4,20± 0,12**	1,40± 0,04**	1,15± 0,05**

Примітка: * - вірогідні відмінності між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$);
** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

На 4 та 7 доби дослідження у сироватці крові щурів, уражених токсикантом, вірогідно зростає вміст ТБК-АП. Застосування екстракту з канни призвело до зниження даного показника на 4 добу дослідження, але вірогідних змін не відмічено. На 7 добу експерименту екстракт проявив ефективний вплив на вміст продуктів ліпопероксидації, знижуючи їх у 1,2 раза після ураження. Застосування силібору призвело до ще більшого зниження вмісту ТБК-АП (у 1,3 раза) у сироватці крові.

Аналогічне підвищення вмісту продуктів ПОЛ ми спостерігали у печінці щурів після ураження тетрахлорметаном. У обидва досліджувані терміни даний показник вірогідно ($p \leq 0,05$) підвищувався. Після застосування екстракту вміст ТБК-

АП зазнав вірогідного зниження у печінці на 7 добу експерименту. У цей термін він знизився в 1,3 раза. Ще більш ефективним був силібор, після потрапляння якого до організму досліджуваний показник знизився в 1,65 раза відносно рівня уражених тварин.

Активація вільнорадикальних процесів при дії тетрахлорметану на печінку піддослідних тварин супроводжується порушенням функціонування ензимних і неензимних антиоксидантів, що пов'язане як із виснаженням їх резервів, у зв'язку з інтенсивним споживанням у реакціях детоксикації, так і з порушенням синтезу [18].

При дослідженні активності СОД у сироватці крові та печінці щурів після ураження тетрахлорметаном відмічено його зниження в обидва терміни дослідження (табл.3.6).

Таблиця 3.6

Активність СОД у сироватці крові (мкмоль/л) та печінці (мкмоль/кг) щурів уражених тетрахлорметаном, та після введення густого екстракту з канни садової листя та силібору ($M \pm m$; $n=42$)

Групи тварин	Сироватка крові		Печінка	
	Терміни дослідження, доби			
	4-а	7-а	4-а	7-а
ІК	42,30±2,40		44,90±2,15	
КП	32,50±1,70*	30,10±1,80*	34,70 ±2,50*	30,75±3,20*
Уражені+ліковані ГЕКСЛ, 150 мг/кг	34,50±1,40	37,80±2,15**	37,45±3,45	38,80±3,60
Уражені + ліковані силібором, 50 мг/кг	39,20±1,70**	41,50±2,10**	38,75±2,75	41,15±2,00**

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$);

** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

У сироватці крові активність СОД прогресуюче знижувалась до кінця експерименту (7 доба) і становила 71 % від рівня інтактних тварин. Вірогідне підвищення даного показника після застосування екстракту з канни відмічено через 7 діб від початку розвитку тетрахлорметанового гепатиту. Активність ензиму у цей термін підвищилась до 89 %. Після введення в уражений організм

силібору активність СОД вірогідно підвищувалась в обидва терміни дослідження і наприкінці експерименту практично досягла рівня інтактних тварин (98%).

У печінці щурів після ураження їх тетрахлорметаном активність ензиму виражено знижувалась протягом усього експерименту ($p \leq 0,05$), що підтверджує гепатотропність досліджуваного токсиканта. Після застосування екстракту з канни спостерігалась тенденція до підвищення активності СОД, але вірогідних змін не відмічено. Силібор позитивно вплинув на даний показник у кінцевий термін дослідження, підвищуючи його у 1,3 раза порівняно з групою уражених щурів (рис.3. 2).

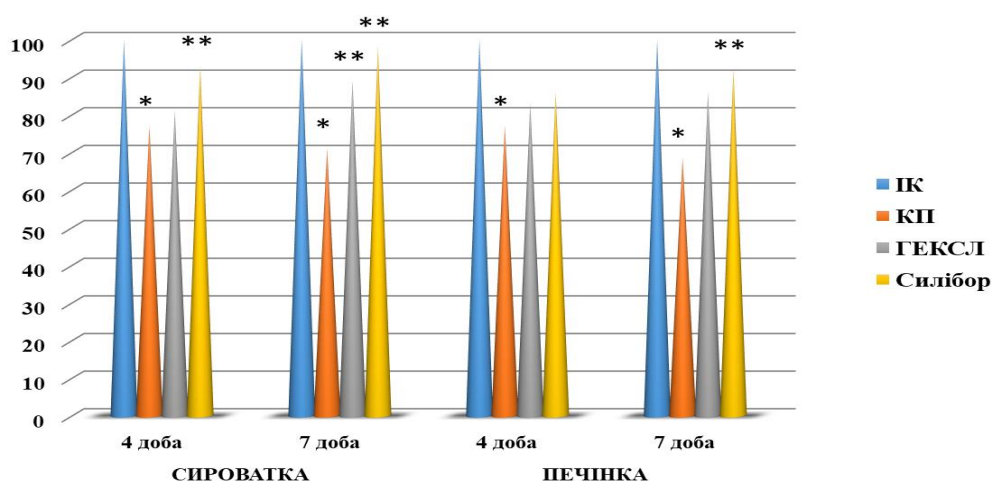


Рис. 3.2 Активність СОД у сироватці крові та печінці уражених тварин, після введення екстракту та силібору, %

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$); ** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

Поряд з активацією окиснювальних процесів, зокрема ліпопероксидації, відмічено зміни в ензимній ланці антиоксидантної системи. Ми дослідили у щурів після ураження токсикантом вміст ЦП – протеїну з ензиматичною активністю, який бере участь у знешкодженні АФО на початку зародження вільнорадикального ланцюга.

Результати дослідження вмісту ЦП у сироватці крові щурів після ураження наведені на рис. 3.3.

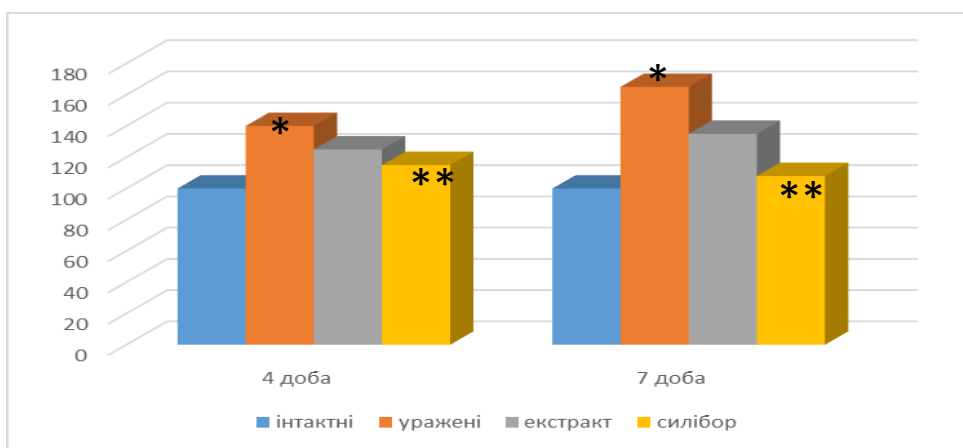


Рис. 3.3 Вміст церулоплазміну у сироватці крові щурів, уражених тетрахлометаном, та після застосування коригуючих чинників, %

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$);
 ** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

Через 4 доби від початку експерименту вміст ЦП зріс на 40 %, через 7 діб – на 65 %. Досліджуваний екстракт після потрапляння до ураженого організму викликав зниження вмісту ЦП на 15% та 30 % у відповідні терміни експерименту. Більш ефективним був силібор, після потрапляння якого в організм вміст ЦП знижувався на 25 % та 57 % через 4 та 7 доби ураження відповідно.

Отже, обидва коригуючі чинники позитивно впливали на показники антиоксидантної системи в ураженому організмі, проте екстракт проявив дещо нижчу активність у порівнянні з силібором.

Ми дослідили активність органоспецифічних ензимів печінки АлАТ, АсАТ за умов ураження щурів тетрахлометаном, а також відсоток проникності еритроцитарних мембран (ЕП). Результати досліджень наведені у таблиці (3.7).

При ушкодженні печінки тетрахлометаном активність амінотрансферез в сироватці крові значно зростає, що вказує на розвиток цитолітичного процесу в даному органі і вихід органоспецифічних ензимів у кров.

Таблиця 3.7

Активність амінотрансфераз у сироватці крові та еритроцитарний індекс інтоксикації у щурів, уражених тетрахлорметаном, та після введення густого екстракту з канни садової листя та силібору (M±m; n=42)

Групи тварин	АлАТ, мкмоль/л год		АсАТ, мкмоль/л год		ЕП, %	
	Терміни дослідження, доби					
	4-а	7-а	4-а	7-а	4-а	7-а
ІК	0,75 ±0,03		0,65 ±0,02		23,50±1,20	
КП	1,10± 0,03*	1,45± 0,02*	0,92± 0,03*	1,05± 0,03*	52,30± 2,25*	65,00± 3,00*
Уражені + ліковані ГЕКСЛ, 150 мг/кг	0,98± 0,04	0,93± 0,03**	0,86± 0,04	0,80± 0,04**	42,50± 3,15	48,00± 3,50**
Уражені + ліковані силібором, 50 мг/кг	0,90± 0,02**	0,86± 0,03**	0,80± 0,03**	0,70± 0,03**	38,15± 2,40**	40,25± 3,35**

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$);

** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

Проведені дослідження показали, що при розвитку модельного токсичного гепатиту у сироватці крові спостерігалось достовірне зростання активності АлАТ відносно інтактних тварин протягом усього експерименту. На 7-му добу після отруєння тетрахлорметаном активність АлАТ зросла в 1,9 раза. Застосування досліджуваного екстракту призвело до зниження даного показника на 69 %. Активність АлАТ у сироватці крові лікованих силібором щурів знизилась у 1,7 раза відносно групи уражених тварин (рис. 3.4)

Аналогічні зміни відмічені і для АсАТ, активність якої після ураження вірогідно зростала ($p \leq 0,05$), та на кінець експерименту збільшилась на 61%.

Після використання коригуючих чинників активність ензиму знижувалась у сироватці крові. Ефективність екстракту більше проявилась у останній термін дослідження. (рис. 3.4)

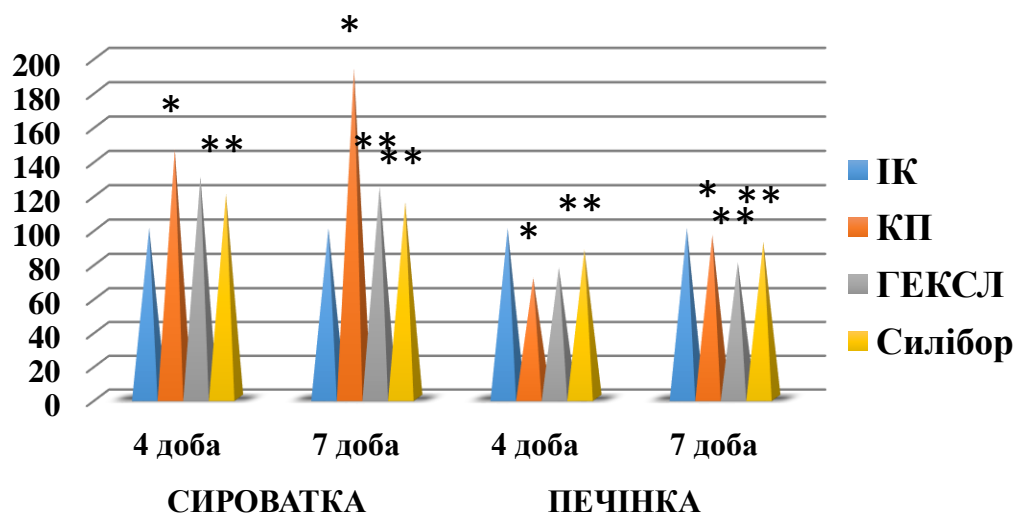


Рис. 3.4 Активність АЛАТ в сироватці крові та печінці тварин, уражених CCl_4 , та після застосування екстракту та силібору %

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$); ** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

Після ураження щурів тетрахлорметаном у печінці різко знижується активність АЛАТ та АсАТ, що підтверджує цитоліз гепатоцитів в умовах токсичного ураження печінки гепатотропною отрутою (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Активність амінотрансфераз у печінці щурів, уражених тетрахлорметаном, та після введення густого екстракту канни садової листя та силібору ($M \pm m$; $n=42$)

Групи тварин	АЛАТ, мкмоль/кг год		АсАТ, мкмоль/кг год	
	Терміни дослідження, доби			
	4-а	7-а	4-а	7-а
ІК	1,20±0,05		0,95±0,03	
КП	0,85± 0,03*	0,80± 0,03*	0,70± 0,03*	0,65± 0,03*
Уражені + ліковані ЕК, 150 мг/кг	0,92± 0,04	0,96± 0,03**	0,78± 0,04	0,85± 0,04**
Уражені + ліковані силібором, 50 мг/кг	1,05± 0,04**	1,10± 0,02**	0,90± 0,03	0,92± 0,03**

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$); ** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

На кінець експерименту активність АЛАТ та АсАТ у печінці після дії ксенобіотики знизилась в 1,5 раза (рис. 3.5).

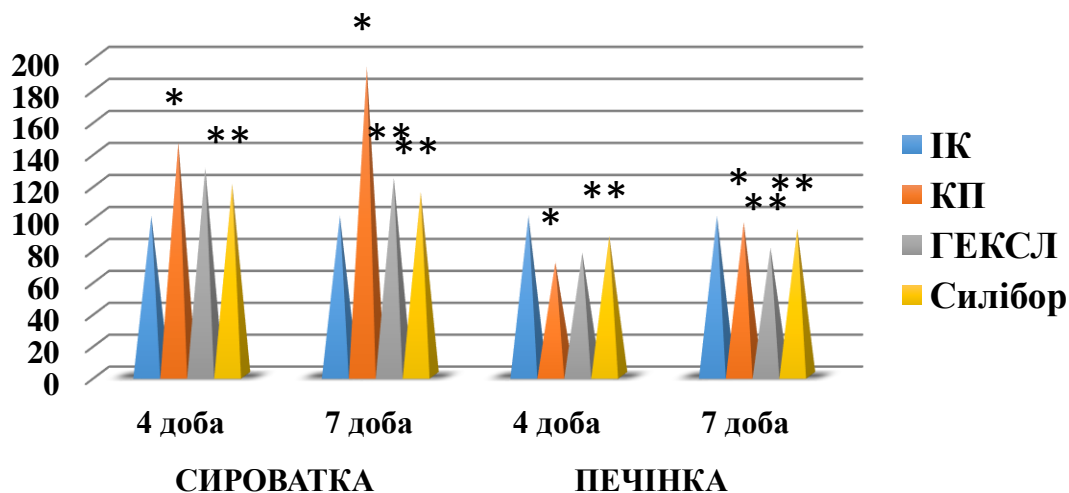


Рис. 3.5 Активність АсАТ в сироватці крові та печінці тварин, уражених CCl_4 , та після застосування екстракту та силібору %

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$); ** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

Досліджуваний екстракт з листя канни садової ефективно вплинув на активність обох ензимів через 7 днів від початку ураження, підвищуючи її порівняно з ураженими тваринами. Активність АЛАТ у цей термін підвищилася у 1,2 раза, АсАТ – у 1,3 раза. Силібор вірогідно підвищував активність амінотрансфераз в обидва терміни дослідження.

Нами встановлено, що після ураження тварин тетрахлорметаном підвищується відсоток проникнення мембрани еритроцитів, на що вказує збільшення ЕП. На 4-ту та 7-му доби дослідження ЕП збільшився в 2,2 та в 2,8 рази відносно інтактних тварин. Це вказує на те, що після ураження при дії токсичних чинників відбувається деструкція та зміна проникності мембран еритроцитів (рис. 3.6).

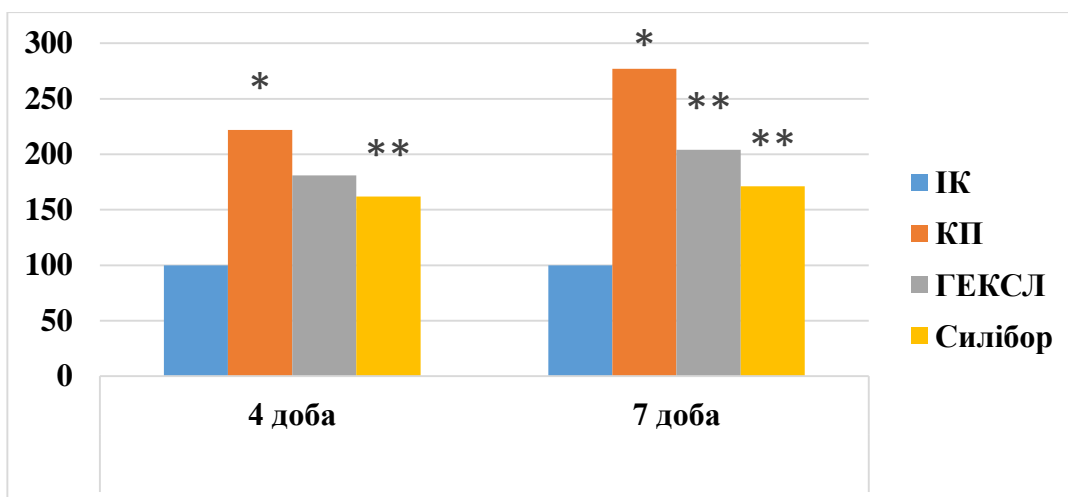


Рис. 3.6 Еритроцитарний індекс інтоксикації в крові уражених CCl_4 щурів, та після введення коригувальних чинників, %

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$);
** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

Ефективність екстракту більше проявилась у останній термін дослідження. Ступінь проникнення еритроцитарної мембрани знизився на 7-му добу в 1,3 раза розвитку гепатиту відносно уражених тварин. Препарат порівняння вірогідно знижував ступінь проникнення еритроцитарної мембрани в обидва терміни дослідження.

Очевидно, для прояву більш позитивного ефекту екстракту з листя канни садової необхідне більш тривале його застосування.

Внаслідок активації вільнорадикальних та посилення деструктивних процесів в організмі нагромаджується велика кількість ендogenous токсинів, які викликають деградацію біомакромолекул. Утворюються молекули середньої маси, які можуть бути продуктами розпаду білків, ферментів, нуклеїнових кислот, пігментів та гормонів [1].

Нами досліджено вміст молекул середньої маси, які є маркерами ендogenous інтоксикації. Накопичення МСМ є не тільки маркером ендogenous інтоксикації, в подальшому вони посилюють перебіг патологічного процесу, набуваючи роль вторинних токсинів, впливаючи на життєдіяльність всіх систем і органів. Показник рівня МСМ вважають основним біохімічним маркером, що відображає рівень патологічного білкового метаболізму [1].

Ми вивчили вміст обох фракцій МСМ (СМ₁ та СМ₂) (табл. 3.9).

Таблиця 3.9

Вміст молекул середньої маси (ум.од/л) у сироватці крові щурів, уражених тетрахлорметаном, та після введення густого екстракту з канни садової листя та силібору (M±m; n=42)

Групи тварин	Терміни дослідження, доби			
	4-а	7-а	4-а	7-а
	СМ ₁		СМ ₂	
ІК	11,00±0,75		12,35±0,90	
КП	15,65± 0,85*	17,35± 0,70*	17,85± 0,90*	18,55± 0,65*
Уражені + ліковані ГЕКСЛ, 150 мг/кг	14,40± 0,45	13,50± 0,60**	15,35± 0,75	13,20± 0,50**
Уражені + ліковані силібором, 50 мг/кг	14,00± 0,60	12,80± 0,45**	14,90± 0,90	12,80± 0,55**

Примітки * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$);

** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

При вивченні вмісту СМ₁ (переважають ланцюгові амінокислоти) встановлено їх підвищення у сироватці крові щурів уражених тетрахлорметаном, протягом усього експерименту. З таблиці 3.8 випливає, що вміст СМ₁ на 7-му добу експерименту зріс в 1,58 раза після отруєння щурів тетрахлорметаном. Використані нами для корекції порушень ГЕКСЛ та силібор достовірно знизили ($p \leq 0,05$) вміст цієї фракції тільки на 7-му добу експерименту після використання екстракту на 35 %, після використання силібору вміст ланцюгових амінокислот знизився на 42 % щодо рівня уражених тварин (рис. 3.7).

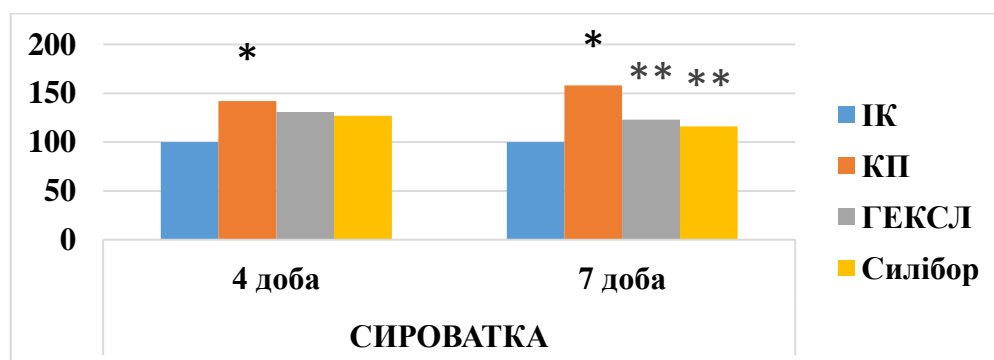


Рис.3.7 Вміст МСМ (СМ₁) у сироватці крові тварин уражених ССl₄ та після введення коригувальних чинників.

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$);

** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

Аналогічного підвищення зазнав вміст CM_2 . До кінця експерименту вміст фракції CM_2 збільшився у сироватці крові в 1,5 раза. Після застосування екстракту, у уражених тваринах вміст CM_2 знизився на 43 %, після корекції силібором – на 46 % (рис. 3.8).

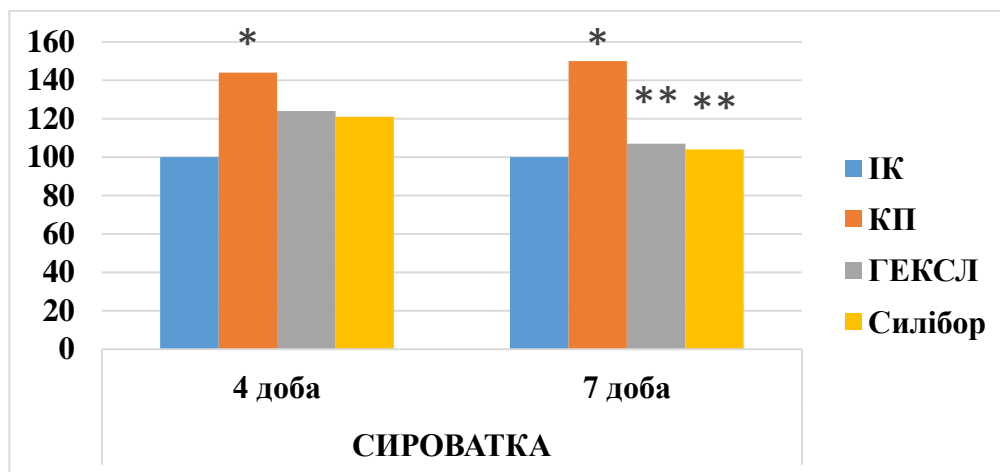


Рис.3.8 Вміст МСМ (CM_2) у сироватці крові тварин уражених CCl_4 та після введення коригувальних чинників.

Примітка: * вірогідні зміни між контрольними та ураженими тваринами ($p \leq 0,05$);
** - вірогідні відмінності між ураженими та лікованими тваринами ($p \leq 0,05$).

Отже як ГЕКСЛ, так і силібор проявляють однонапрямленість дії стосовно молекул середньої маси, чим опосередковано знижують ступінь ендогенної інтоксикації в ураженому тетрахлорметаном організмі.

Проведені дослідження дозволили відмітити позитивний вплив екстракту на показники процесу ліпопероксидації, стан ендогенної антиоксидантної системи та ступінь ендогенної інтоксикації в ураженому тетрахлорметаном організмі. Застосування ГЕКСЛ призвело до відновлення проникності мембран еритроцитів та гепатоцитів, що вказує на мембранопротекторний вплив даного фармакологічного препарату. Ефективність використаного нами екстракту дозволила підтвердити його антиоксидантні властивості, через які на нашу думку, реалізується гепатопротекторний вплив даного засобу на печінку.

3.4 Вивчення протизапальної активності густого екстракту з канни садової листя на моделі карагенінового набряку лапи щурів

Протизапальну дію канни садової пов'язують із наявністю у її складі флавоноїдів та дубильних речовин [21].

Водний розчин екстракту з канни вводили в дозі 150 мг/кг, таблетки диклофенаку натрію – у дозі 8 мг/кг. Препарати вводили перорально за 1 годину до ін'єкції карагеніну. Одна з груп тварин замість досліджувального чинника отримувала еквівалентну кількість води. За розвитком набряку спостерігали через 1, 3, 6 і 24 години.

Результати, наведені у табл. 3.10 показують, що у контрольній групі, яка отримувала воду розвиток запальної реакції спостерігався вже на 1-й годині від початку введення карагеніну і досягав максимуму на 3-й годині. До 24-ї години експерименту набряк зменшувався.

Таблиця 3.10

Протизапальна активність густого екстракту з канни садової листя (M±m; n=18)

Групи тварин		Динаміка розвитку запалення, години			
		1	3	6	24
Контрольні тварини	ΔV	6,50±0,40	9,50±0,50	9,00±0,45	8,60±0,60
	ГЕКСЛ, 150 мг/кг	ΔV	6,20±0,35	7,45±0,50*	6,80±0,30*
	Активність, %	5	21,50	24,40	21,50
Диклофенак натрію, 8 мг/кг	ΔV	5,80±0,15	6,70±0,35*	6,65±0,15*	6,30±0,11*
	Активність, %	10,70	29,50	26,10	26,80

Примітка: ΔV – величина набряку;

* - відхилення показника вірогідно по відношенню до контрольної групи, $p < 0,05$.

У групі тварин, які отримували екстракт з листя канни, максимальний позитивний вплив на розвиток набряку спостерігався на 6-й годині від початку запалення (24,40 %) і тривав до кінця експерименту.

Через 24 год від початку розвитку запалення ефект від застосування екстракту з канни був на рівні ефекту на 3 год експерименту. Не проявлявся вплив екстракту на набряк лапи щурів лише на 1 год від початку дослідження.

Ефективний вплив проявив диклофенак натрію, ефект від його застосування проявився уже на 1-ій годині від початку експерименту (10,70 %) і тривав протягом усього терміну дослідження. Максимальне зменшення набряку лапи було зареєстровано на 3-ю год після введення флогогенного агента (29,50 %) при застосуванні препарату порівняння.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про помірну протизапальну дію ГЕКСЛ, яка може бути обумовлена пригніченням синтезу простагландинів у вогнищі запалення. Антиексудативну активність об'єкт дослідження, ймовірно, проявляє за рахунок стабілізації клітинних мембран, пригнічення продукції фактора некрозу (TNF-alpha) та прозапального цитокіну (інтерлейкіну IL-6), зниження рівня оксиду азоту (NO), а також часткового інгібування циклооксигенази.

ВИСНОВКИ

У кваліфікаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної наукової задачі щодо експериментального обґрунтування доцільності та ефективності застосування густого екстракту з канни садової листя як гепатопротекторного засобу при токсичних ураженнях печінки, а також як протизапального засобу в умовах карагенінового набряку лапи щурів. Це дозволило зробити наступні висновки.

1. Проведені дослідження з вивчення гострої токсичності ГЕКСЛ підтвердили відсутність його токсичної дії при одноразовому внутрішньошлунковому введенні щурам в дозі 5000 мг/кг. Встановлено, що ЛД₅₀ для екстракту становить понад 5000 мг/кг. Густий екстракт належить до V класу токсичності – практично нешкідливі речовини.

2. Експериментальними дослідженнями встановлено, що мінімально діючою дозою за умов тетрахлорметанового гепатиту є доза ГЕКСЛ 150 мг/кг маси тіла тварин.

3. При дії екстракту на уражений тетрахлорметаном організм знижується проникність плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів, підтвердженням чому є зменшення активностей амінотрансфераз та ЕП.

4. На моделі тетрахлорметанового гепатиту ГЕКСЛ проявив антиоксидантні властивості, що підтверджується достовірним зниженням ТБК-АП у сироватці крові в 1,2 раза та печінці в 1,3 раза після його впливу, а також зниженням вмісту церулоплазміну на 57 % на кінець експерименту.

5. Даний екстракт ефективно знижує вміст МСМ в сироватці крові щурів уражених тетрахлорметаном, що дозволяє передбачити застосування густого екстракту з канни садової листя для зниження ендогенної інтоксикації в ураженому організмі з подальшим використанням при інтоксикаціях різного генезу.

6. Встановлена протизапальна активність густого екстракту з канни садової листя на моделі карагенінового набряку лапи щурів, яка найбільш

ефективно проявилася на 6 год розвитку набряку і становила 24,4% , тоді як диклофенак натрію у цей термін проявив активність на рівні 26,10%.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Андрейчин М. А. Методи дослідження ендогенної інтоксикації організму. Методичні рекомендації МОЗ України. / М. А. Андрейчин, М. Д. Бех, В. В. Дем'яненко, А. З. Ничик, Н. А. Ничик // — Київ, 1998. — С. 1—31.
2. Бойко Л. А. Вплив мексидолу на показники ендогенної інтоксикації та проникність клітинних мембран за одночасного ураження тварин карбофосом та тетрахлорметаном / Л. А. Бойко, Л. С. Фіра, Н. І. Бурмас // Фітотерапія. Часопис. — 2019. — № 2. — С. 20–23.
3. Бойко Л. А. Особливості перебігу окиснювальних процесів у щурів, уражених тетрахлорметаном на тлі інтоксикації карбофосом / Л. А. Бойко, Л. С. Фіра, Н. І. Бурмас, І. Р. Бекус // Український біофармацевтичний журнал. — 2017. — №2 (49). — С.9-13.
4. Галенова Т. І. Зміна біохімічного профілю за умов тетрахлорметан — індукованого ураження печінки у щурів / Т. І. Галенова, Н. Г. Ракша, О. М. Савчук // ScienceRise. Biological science. — 2016. — №2. — С.47-54.
5. Горчакова Н. О. Антиоксидантні засоби – необхідні компоненти комплексної фармакотерапії / Н. О. Горчакова, С. А. Олійник, К. Г. Гаркава // Фітотерапія в Україні. — 2000. — № 1. — С. 7-13.
6. Гріднев О. Є. Перекисне окиснення ліпідів і печінка / О. Є. Гріднев // Сучасна гастроентерологія. — 2005. — Т. 25, № 5. — С. 80-83.
7. Гудзенко О. П. Дослідження асортименту гепатопротекторів, представлених на вітчизняному фармацевтичному ринку / О. П. Гудзенко, І. О. Левченко, К. І. Козицька // укр. мед. альм. — 2015. — № 16(2) — С.114-116.
8. Експериментальне вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів / В. М. Коваленко, О. Ф. Стефанов, О. В. Максимов [та ін.] // у кн. Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації); [за редакцією член.-кор. АМН України О. Ф. Стефанова]. — К.: Авіцена, 2001. — С. 74-97.

9. Етика лікаря та права людини: положення про використання тварин у біомедичних дослідках // Експериментальна та клінічна фізіологія та біохімія. – 2003. – Т. 22, № 2. – С.108-109.
10. Кисличенко О. А. Дослідження фотосинтезувальних пігментів трави канни садової деяких сортів /О. А. Кисличенко, В. В. Процька, І. О. Журавель // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2019. – Т. 12, №2(30)
11. Колісник М. І. Активні форми кисню та їх роль у метаболізмі клітин / М. І. Колісник, Г. В. Колісник, Є. І. Нідзюлка [та ін.] // Біологія тварин. – 2009. – Т. 11, № 1-2. – С. 59-70.
12. Лавришин Ю. Ю. Біологічне значення системи антиоксидантного захисту організму тварин / Ю. Ю. Лавришин, І. С. Вархоляк, Т. В. Мартишук // Наук. вісн. Львів. нац. ун-ту ветеринарної медицини та біотехнологій імені С. З. Гжицького. – 2016. – № 18 (2). – С. 100–111.
- 13.Линда О. С. Вплив настойки з хости ланцетолистої на показники цитолізу клітинних мембран у щурів, уражених тетрахлорметаном / О. С. Линда, Л. С. Фіра, І. П. Кузьмак // Укр. біофармац. журн. – 2017. – № 6. – С. 56–60.
- 14.Линда О. С. Дослідження антиоксидантних властивостей екстрату з хости ланцетолистої на моделі тетрахлорметанового ураження печінки щурів / О.С. Линда, Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький, Л. А. Бойко // Фітотерапія – 2018. – №1. – С.45-47.
- 15.Лісничук Н. Є. Дослідження параметрів вільнорадикального окиснення та стан антиоксидантної системи білих щурів з експериментальним токсичним ураженням печінки / Н. Є. Лісничук // Вісник проблем біології і медицини. – 2007. – Вип. 2. – С. 83-88.
- 16.Мацьопа І. В. Кореляційний зв'язок показників вільнорадикального окиснення і антиоксидантної системи в нирках щурів при інтоксикації тетрахлорметаном / І. В. Мацьопа, Н. П. Григор'єва, А. Я. Велика // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. — 2016. — Т. 7, № 4. — С. 78-79.

17. Никифорок А. Я. Дослідження антиоксидантних властивостей екстракту зі шпинату городнього листа на моделі тетрахлорметанового ураження печінки / Л. С. Фіра, П. Г. Лихацький // Медична та клінічна хімія. — 2018. — Т. 20. № 4. — С. 36-43.
18. Середюк К. М. Дослідження антиоксидантної активності екстрактів лікарських рослин / К. М. Середюк, Н. Є. Стадницька, О. С. Яремкевич // Вісн. нац. ун-ту “Львівська політехніка”. — 2016. — № 841. — С. 228–232
19. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів: методичні рекомендації / О. В. Стефанов. — К. : Авіцена, 2001. — 528 с.
20. Тимофєєва С. В. Вивчення жирнокислотного складу коренів канни садової (*Canna × hybrida Hort.*) / С. В. Тимофєєва, О. А. Кисличенко, І. О. Журавель // Фітотерапія. Часопис – № 2, 2016 – С.54–56.
21. Тимофєєва С. В. Вивчення фенолкарбонових кислот в листках, кореневищах та коренях канни садової методом високоефективної рідинної хроматографії / С. В. Тимофєєва, О. А. Кисличенко, І. О. Журавель // Зб. наук. прац. співробіт. НМАПО імені П. Л. Шупика – № 28, 2017 – С.464–468.
22. Тимофєєва С. В. Мікро- та макроелементарний склад кореневищ, коренів та листя канни садової (*Canna × Hybrida Hort.*) / С. В. Тимофєєва, Я. В. Дьяконова, І. О. Журавель // Фітотерапія. Часопис – № 1, 2016 – С.72–74.
23. A pharmacognostic and pharmacological review on *Canna indica* Linn / Shrinivas K. S., Kushewati I., Shinde A., Bhutnar P. International journal of research in pharmacy and chemistry. 2019. № 9(3). P. 61-77
24. Al-Snafi, A. E. Bioactive components and pharmacological effects of *Canna indica* – an overview [Text] / A. E. Al-Snafi // International Journal of Pharmacology & Toxicology. – 2015. – Vol. 5 (2). – P. 71–75.
25. Amancharla I. P. *Canna indica* (L.): A plant with potential healing powers: a review. International Journal of Pharma and Bio Sciences. 2015. № 6(2). P. 1-8.
26. Belcastro E. Oxidative stress enhances and modulates protein S-nitrosation in smooth muscle cells exposed to S-nitrosoglutathione / E. Belcastro, W. Wu, I. Fries-Raeth [et al.] // Nitric Oxide Biol. Chem. – 2017. – (69). – P. 10–21.

27. Boyko Larysa Dynamics of antioxidant system activity after applying enterosgel in simultaneous affection of rats with carbofos and carbon tetrachloride / L. Boyko, L. Fira, N. Garlitska, P. Lykhatskyi // *PharmacologyOnline*. – 2021. – Volume 3 – P.170 –177.
28. *Canna indica* L. attenuates high-glucose- and lipopolysaccharide-induced inflammatory mediators in monocyte/macrophage / H. J. Chen, C. N. Chen, M. L. Sung, Y. C. Wu et al. *J Ethnopharmacol*. 2013. Vol. 148 (1). P. 317-321.
29. Cytoprotective and antioxidant effects of ethanolic extract of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) and carrot (*Daucus carota* L.) / N. I. Hanifa, R. Sismindari, N. Fakhrudin et al. *American Institute of Physics*. 2016. № 1755. P. 1-6.
30. Darsini A. I. P., Shamshad S., John M. P. *Canna indica* (L.): a plant with potential healing powers: a review. *International Journal of Pharma and Bio Sciences*. 2015. № 6 (2). P. 1-8.
31. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose. Strasburg, Council of Europe, Publication and Documents Division. Printed in France. Edition November; 1987.
32. Grajeda-Iglesias C., Aviram M. Cardiovascular diseases and atherogenesis via protection against macrophage foam cell formation: review article. *Rambam Maimonides Med. J*. 2018. Vol. 9, Iss. 3. P. 0022-0033.
33. Kanase V., Vishwakarma S. Treatment of various diseases by *canna indica* L.-a promising herb. *Asian. J. Pharm. Clin. Res*. 2018. Vol. 11, Iss. 12. P. 51-56.
34. Li R, Zhang P, Li C, Yang W, Yin Y, Tao K. Tert-butylhydroquinone mitigates Carbon Tetrachloride induced Hepatic Injury in mice. *Int J Med Sci*. 2020;17(14):2095-103. doi: 10.7150/ijms. 45842.
35. Longo F. Hepatoprotective effects of *canna indica* L. rhizome against acetaminophen (paracetamol) / Teuwa A., Kouam Fogue S., Spitteller M., Etoundi Ngoa L.S. // *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences* . – 2015. – Vol 4, Issue 05 – P. 1609-1624.

36. Morphological and anatomical investigation among six variants of *Canna indica* L. / N. Sultana, A. S. Sultana, A. Hassan, R. M. Oliur *Bangladesh J. Plant Taxon.* 2019. № 26 (2). P. 219-230.
37. Organogenesis and ultrastructural features of in vitro grown *Canna indica* L. / N. W. Sharifah, M. T. Rosna, M. Sadegh, M. Noraini et al. *BioMedResearchInternational.* 2016. V. 2016. P. 1-9.
38. Pavlov O. O. Effect of antihypoxant actovegin on dynamics of markers of the oxygen cascade / O. O. Pavlov // *Klin Khir.* — 2008. — № 9. — P. 57-59.
39. Pickering A, Vojtovich L, Tower J. Oxidative stress adaptation with acute, chronic, and repeated stress. *Free Radic Biol Med* 2013; 55: 109–118. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2012.11.001.
40. Protective effect of *Canna indica* on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats / R. T. Mallikarjuna, N. K. Kishore, N. V. S. Viswanadha, Murthy M.etal. *Agricultureand Natural Resources.* – 2017. – № 5. P1-22.
41. Srivastava J. Carotenoids: as natural food colorant from *Canna* flowers / J. Srivastava, P. S. Vankar // *Pigment & Resin Technology.* – 2015. – 44 (1). – P. 13-18.
42. Sowmia C., Anbarasi G. In-Vitro study on phytochemical screening of *Avena sativa*. L. and *Canna indica*. L. amalgamation and antioxidant potential. *World Journal of Pharmaceutical Research.* – 2018. Vol. 7, Iss. 11. P. 1077-1089.