

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ЛИНДА ОЛЕСЯ СЕРГІЇВНА

УДК 615.014.417:615.322:582.585.14:615.244/.322

ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФІТОЗАСОБІВ З ХОСТИ
ЛАНЦЕТОЛИСТОЇ (HOSTA LANCIFOLIA ENGL.)

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»

Науковий керівник: доктор біологічних наук, професор
ФІРА Людмила Степанівна,
ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»,
завідувач кафедри фармації Навчально-наукового інституту післядипломної освіти (ННІ ПО)

Офіційні опоненти: доктор фармацевтичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
ЯКОВЛЄВА Лариса Василівна,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри фармакоелектрофізіології

доктор медичних наук, професор
МАМЧУР Віталій Йосипович,
ДЗ «Дніпропетровська медична академія
МОЗ України» (м. Дніпро),
проректор з наукової та лікувальної роботи

Захист відбудеться «24» травня 2019 р. о 13.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.

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

Автореферат розісланий «22» квітня 2019 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д. фарм. н., професор

Т. С. Сахарова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Індустріалізація та розвиток промисловості призводять до зростання хворих із токсичними ураженнями печінки, що супроводжуються суттєвими порушеннями перебігу окиснювальних процесів. Активація останніх характеризується як оксидативний стрес (ОС) (Л. В. Савченкова, В. В. Рокотянська, 2012; Т. Rahman et al., 2012). Довготривалий стан ОС є однією з патогенетичних ланок серцево-судинних та гепатобіліарних патологій, хімічних інтоксикацій, запальних процесів різного генезу, онкозахворювань тощо (А. А. Трохимович та співавт., 2011; Т. І. Галенова, 2016; І. А. Крячок та співавт., 2016; Т. В. Мартишук, 2016).

На даний час існує багато факторів, що викликають захворювання печінки, зокрема вплив навколишнього середовища, спосіб та темп життя сучасної людини та токсичність лікарських засобів (Є. О. Михайлюк, 2015).

Як відомо, пусковим механізмом для метаболічних змін при серцево-судинних захворюваннях є різного роду стресогенні фактори, які ініціюють зростання рівня ендогенних катехоламінів в організмі (О. О. Маркова, 1998; В. В. Барабаш та співавт., 2007). Адреналін у високих концентраціях сприяє порушенню кровопостачання, провокує метаболічний дисбаланс, зокрема активує систему перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ), викликає появу активних форм кисню (АФО), збільшує накопичення іонів кальцію та ін. (М. Н. Бизенкова та співавт., 2006; Н. Л. Воронцова та співавт., 2006; А. М. Мусієнко, 2018).

Як при токсичних ураженнях печінки, так і при токсичному ураженні міокарда розвивається ОС, за якого генерація АФО переважає їх елімінацію ензимними та неензимними системами антиоксидантного захисту клітин (U. Forstermann, 2008; Ozougwu et al., 2016).

Пошук нових ефективних препаратів, які можна було б застосовувати при патологіях, що супроводжуються розвитком вільнорадикальних процесів, набуває все більшої актуальності (А. Бугаєва, 2008; М. А. Хильчук та співавт., 2012; І. С. Чекман та співавт., 2014). Значне місце в клінічній практиці займають препарати рослинного походження. Лікарські рослинні засоби мають широкий спектр фармакологічної активності та діють полівалентно. До їх складу входять природні сполуки, які мають високу спорідненість із людським організмом та характеризуються низьким ступенем токсичності та алергенності (С. В. Гарна, 2016).

Проведені маркетингові дослідження свідчать, що на світовому та вітчизняному фармацевтичному ринках існує обмежена кількість препаратів на основі рослинної сировини, що проявляють комплексний гепатопротекторний, антиоксидантний та антитоксичний ефекти, тому розробка таких препаратів є пріоритетним напрямком фармацевтичної галузі (А. В. Волкова, 2015).

Патогенетично обґрунтованим у фармакотерапії токсичних гепатитів є використання гепатозахисних лікарських засобів, які б проявляли антиоксидантну дію, коригували порушення метаболічних процесів та підвищували антитоксичні властивості печінки (В. П. Попович, 2012). Більшість

уражень гепатобіліарної системи, незалежно від чинників, призводять до значних змін секреції жовчі, що поглиблюються за рахунок пошкодження дрібних жовчних ходів (В. А. Грищенко, 2007; І. М. Гарасимів, 2014).

На даний час не втрачає актуальності проблема профілактики, діагностики та лікування серцево-судинних захворювань через їх значну поширеність і серйозні наслідки. У комплексній терапії захворювань найбільш широкого застосування знаходять лікарські рослинні засоби з антиоксидантними властивостями, зокрема флавоноїдної природи (І. В. Давидова, 2016).

Враховуючи вищезазначене, як перспективну сировину було вибрано листя хости ланцетолистої, яка містить фенольні сполуки, вітаміни, органічні кислоти, полісахариди та інші біологічно активні речовини, що можуть забезпечити гепатопротекторну та кардіопротекторну дії (В. В. Процька, 2017).

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри фармації ННІ ПО ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» в рамках теми «Біохімічні механізми порушень метаболізму за умов надходження до організму токсикантів різного генезу» (№ держреєстрації 0116U003353), та науково-дослідної роботи кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» в рамках теми «Маркетингові, фармакоекономічні та технологічні дослідження із створення лікарських засобів. Вивчення впливу фізико-хімічних, фармако-технологічних, біофармацевтичних, біологічних показників перспективних біологічно активних речовин, маркетингові дослідження та фармакоекономічний аналіз схем лікування хворих при різних патологічних станах» (№ держреєстрації 0115U001530).

Мета і завдання дослідження. *Мета* – експериментально обґрунтувати доцільність створення ефективного та безпечного лікарського засобу із гепатопротекторними та кардіопротекторними властивостями з хости ланцетолистої.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *завдання*:

1. Вивчити гостру токсичність сухого екстракту та настойки з листя хости ланцетолистої.

2. Підібрати умовно-терапевтичні дози сухого екстракту та настойки з листя хости ланцетолистої на моделі токсичного ураження печінки та дослідити ульцерогенну, місцевоподразнювальну та протизапальну активність обох лікарських засобів.

3. Провести поглиблене вивчення гепатопротекторної активності настойки та сухого екстракту з листя хости в експерименті на тваринах з модельованим тетрахлорметановим гепатитом.

4. Дослідити особливості структурної організації печінки щурів за умов токсичного ураження тетрахлорметаном та після корекції сухим екстрактом і настойкою з листя хости ланцетолистої.

5. Встановити кардіопротекторну активність сухого екстракту з листя хости за умов адреналінової міокардіодистрофії.

б. Дослідити зміни структурної організації міокарда за умов адреналінової міокардіодистрофії та після корекції сухим екстрактом з листя хости ланцетолистої.

Об'єкт дослідження – фармакологічна корекція токсичних уражень печінки та серця.

Предмет дослідження – фармакологічна активність і механізм гепатопротекторної та кардіопротекторної дій сухого екстракту та настойки з листя хости ланцетолистої.

Методи дослідження. Фармакологічні (моделювання гострого токсичного гепатиту тетрахлорметаном (ТХМ), адреналінової міокардіодистрофії (АМД), вивчення знешкоджувальної функції печінки, вивчення протизапальної, ульцерогенної та місцевоподразнювальної активностей настойки з хости ланцетолистої (НХЛ) та сухого екстракту з листя хости ланцетолистої (СЕХЛ), вивчення жовчовидільної (об'єм жовчі, швидкість секреції жовчі) та жовчоутворювальної (концентрація жовчних кислот (ЖК) та вміст загального білірубіну (ЗБ)) функцій, токсикологічні (дослідження гострої токсичності), біохімічні (визначення супероксиддисмутазної (СОД), каталазної (КТ) активностей, визначення активностей аланінамінотрансферази (АлАТ), аспартатамінотрансферази (АсАТ), лужної фосфатази (ЛФ), креатинфосфокінази (КФК); вмісту ТБК-активних продуктів (ТБК-АП), продуктів окиснювальної модифікації протеїнів (ОМП), церулоплазміну (ЦП), відновленого глутатіону (ВГ), молекул середньої маси (МСМ); відсоток еритроцитарного індексу інтоксикації (ЕІ); морфологічні (дослідження фрагментів печінки і міокарда); інструментальні (ЕКГ) та статистичні методи дослідження.

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі вперше проведено фармакологічні дослідження настойки (НХЛ) та сухого екстракту з листя хости ланцетолистої (СЕХЛ) як потенційних лікарських засобів із гепатопротекторними та кардіопротекторними властивостями.

Отримані дані щодо токсикологічної характеристики фітозасобів із хости. За умов одноразового внутрішньошлункового введення СЕХЛ належить до V класу токсичності (практично нетоксичні речовини), НХЛ належить до VI класу токсичності (відносно нешкідливі речовини).

Отримані нові дані щодо наявності протизапальної дії фітозасобів з хости, за вираженістю якої досліджувані об'єкти розташувались у такому ряді: СЕХЛ (33,3%) > НХЛ (28,9%).

Експериментально підтверджені гепатопротекторні властивості СЕХЛ та НХЛ у щурів з тетрахлорметановим гепатитом, що проявляється коригуючим впливом на вміст ТБК-АП і продуктів ОМП та на активність маркерних ензимів печінки: АлАТ та ЛФ. Визначено, що в основі гепатопротекторних властивостей НХЛ та СЕХЛ є їх антиоксидантна дія, на що вказує вірогідне ($p \leq 0,05$) підвищення СОД та КТ активностей у групах тварин, яким проводили корекцію НХЛ. Застосування СЕХЛ призвело до вірогідного підвищення СОД активності, відносно групи тварин з контрольною патологією, на 27,5% у кінці експерименту (14-та доба дослідження). На моделі тетрахлорметанового ураження печінки доведена жовчогінна активність НХЛ та СЕХЛ, які дещо поступаються

препарату порівняння фламіну. Під впливом сухого екстракту та настойки відбувалось відновлення знешкоджувальної функції печінки про що свідчить скорочення тривалості гексеналового сну. Морфологічними дослідженнями підтверджено позитивний вплив НХЛ та СЕХЛ на структурні компоненти печінки за умов тетрахлорметанового ураження, що проявляється підвищенням регенеративної здатності гепатоцитів та їх відновленням. За більшістю показників як СЕХЛ, так і НХЛ проявляли активність на рівні препарату порівняння силімарину.

Отримані нові дані щодо кардіопротекторної активності СЕХЛ за умов ураження міокарду підвищеними дозами адреналіну. Експериментально доведено, що СЕХЛ проявляє антиоксидантні властивості (на 70% знизився вміст ТБК-АП, на 27% підвищилась СОД активність у сироватці крові). Встановлено вірогідне зниження активності АсАТ у сироватці крові на 48 годину дослідження на 48% щодо групи тварин з контрольною патологією та вірогідне зниження у цей же термін дослідження активності КФК у сироватці крові (в 1,6 раза). На ЕКГ шурів відмічено, що через 48 годин з моменту ураження адреналіном після застосування СЕХЛ відбувається зменшення збудливості синусового вузла, що спричинює зменшення частоти серцевих скорочень (ЧСС) і подовження інтервалів, зростання процесів деполяризації та реполяризації шлуночками. Встановлено, що після корекції СЕХЛ спостерігалось пригнічення розвитку дистрофічно-некротичних змін у кардіоміоцитах, що підтверджує його кардіопротекторний ефект. На моделі адреналінової міокардіодистрофії підтверджена кардіопротекторна активність СЕХЛ у дозі 100 мг/кг та встановлено ефективність дії на рівні препарату порівняння корвітину.

Практичне значення отриманих результатів. За результатами досліджень запропоновано застосування сухого екстракту з хости ланцетолистої за умов токсичного ураження печінки як гепатопротекторного та антиоксидантного засобу (патент України на корисну модель № 127775 від 27.08.2018 р.; інформаційний лист МОЗУ про нововведення в сфері охорони здоров'я № 218-2018).

Результати дисертаційної роботи впроваджені у науково-дослідну і науково-педагогічну роботу кафедри фармакології з клінічною фармакологією Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (протокол № 8 від 12.09.2018 р.), кафедри фармакології Івано-Франківського національного медичного університету (протокол № 1 від 29.08.2018 р.), кафедри фармакології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (протокол № 2 від 25.09.2018 р.).

Особистий внесок здобувача. Разом із науковим керівником визначено мету та завдання дослідження, розроблено методичні підходи до їх реалізації. Автор самостійно провела огляд наукової літератури за темою дисертації, обґрунтувала актуальність проблеми, виконала експериментальні дослідження, провела статистичний аналіз одержаних цифрових даних та їх узагальнення. Співавторами наукових праць є науковий керівник проф. Л. С. Фіра та науковці, спільно з якими проведені деякі дослідження – П. Г. Лихацький, О. Б. Рицик, Л. А. Бойко, І. П. Кузьмак.

Експериментальну частину роботи виконано на базі Центральної науково-дослідної лабораторії ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (атестат акредитації – серія КДЛ № 00478 від 17.12.2008 р. та № 053/13 від 04.03.2013 р.). (зав. лабораторією доц. Лісничук Н. Є.). Гістоморфологічні дослідження проведено на базі кафедри патологічної анатомії з секційним курсом та судовою медициною ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» за консультативної допомоги к. мед. н., доц. Т. В. Дацко. Зміни електрокардіограми (ЕКГ) щурів з адреналіновим пошкодженням серця проведено на базі кафедри патологічної фізіології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» за консультативної допомоги д. мед. н., професора О. В. Денефіль. Дисертант вдячний усім науковцям за консультативну та практичну допомогу.

Об'єкти для проведення фармакологічних досліджень виготовлені та надані для досліджень кафедрою хімії природних сполук Національного фармацевтичного університету під керівництвом д. фарм. н., проф. В. С. Кисличенко. У дисертаційній роботі Процької В. В. «Фармакогностичне дослідження хости подорожникової та хости ланцетолістої» (науковий керівник проф. Журавель І. О.) не представлені матеріали та результати досліджень, які наведені у дисертаційній роботі Линди О. С.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення роботи викладено та обговорено на XX Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 25-27 квітня 2016 р.), VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р.), XXI Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених присвяченому 60-річчю Тернопільського Державного Медичного Університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль, 24-26 квітня 2017 р.), 5th International Conference and Workshop «Plant – the source of research material» (Lublin, Poland, 21-24 June 2017), III Міжнародній науково-практичній Інтернет-конференції «Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії» (м. Харків, 14-15 листопада 2017 р.), I-шій Міжнародній науково-практичній Інтернет-конференції «Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження» (м. Харків, 5 квітня 2018 р.).

Публікації. За матеріалами дисертаційної роботи опубліковано 14 наукових праць: 6 статей, з них 5 статей у наукових фахових виданнях, рекомендованих МОН України, 1 стаття у зарубіжному науковому фаховому виданні, 1 патент України на корисну модель, 1 інформаційний лист, 6 тез доповідей.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота викладена на 240 сторінках комп'ютерного тексту, складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали та методи

дослідження», 3 розділів результатів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», висновків, списку використаних джерел (кирилицею – 200, латиною – 73), додатків. Робота проілюстрована 47 таблицями, 38 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Фармакологічні дослідження виконані на 438 білих безпородних щурах (408 – самців, 30 – самок) масою тіла 180-200±20 г, яких утримували на стандартному раціоні віварію ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України». Комісією з біоетики ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» на етапі планування (витяг з протоколу № 32 від 25.11.2015 р.), на завершальному етапі (витяг з протоколу № 47 від 01.06.2018 р.) порушень правил біоетики в роботі з тваринами не виявлено.

Для фармакологічних досліджень використовували настойку з листя хости ланцетолистої (НХЛ) та сухий екстракт з листя хости ланцетолистої (СЕХЛ).

Способи одержання та стандартизації настойки та сухого екстракту з листя хости ланцетолистої висвітлені у кандидатській дисертації Процької В. В. «Фармакогностичне дослідження хости подорожникової та хости ланцетолистої», яка виконана під керівництвом проф. Журавель І. О. (В. В. Процька, 2017).

Дизайн проведення фармакологічних досліджень наведений на рис. 1.

Вивчення гострої токсичності НХЛ та СЕХЛ проводили на щурах самцях та самках, яким внутрішньошлунково вводили досліджувані фармакологічні препарати, використовуючи експрес-метод Т. В. Пастушенко та співавт. (1985). Клас токсичності, до якого віднесені НХЛ та СЕХЛ, визначали за класифікацією К. К. Сидорова (1973).

Для скринінгових досліджень використовували модель жирової дистрофії печінки, на тлі введення тетрахлорметану (ТХМ). ТХМ тварини отримували дворазово через день внутрішньочеревно у вигляді 50% олійного розчину в дозі 1,0 мл/кг маси тіла тварини. НХЛ вводили щурам внутрішньошлунково в дозах 0,1 мл/кг, 0,15 мл/кг, 0,2 мл/кг та 0,25 мл/кг маси тіла. СЕХЛ щурам вводили внутрішньошлунково в дозах 50 мг/кг, 100 мг/кг, 150 мг/кг, 200 мг/кг та 250 мг/кг маси тіла. Антиоксидантні та гепатопротекторні властивості настойки та сухого екстракту оцінювали за вмістом ТБК-АП (В. І. Луцак та співавт., 2004), КТ активністю (М. А. Королюк и соавт., 1988), вмістом ЦП (І. Ф. Беленічев, 2000), активністю АсАТ та АлАТ (тест-набори ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна) та за величиною ЕП (М. А. Андрейчин, 1998; В. В. Чаплик, 2006). За результатами досліджень обрана умовно-терапевтична доза для НХЛ (0,15 мл/кг) та СЕХЛ (100 мг/кг), які в подальшому використовувались у фармакологічних експериментах.

Вивчення протизапальної активності НХЛ та СЕХЛ проводили в умовно-терапевтичних дозах на моделі карагенінового набряку лапи щурів (О. В. Стефанов, 2002). Препаратом порівняння були таблетки диклофенаку

натрію («Ортофен», таблетки вкриті оболонкою по 25 мг, ПрАТ «Технолог», Україна) у дозі 8 мг/кг (ЕД₅₀) (О. В. Стефанов, 2001).

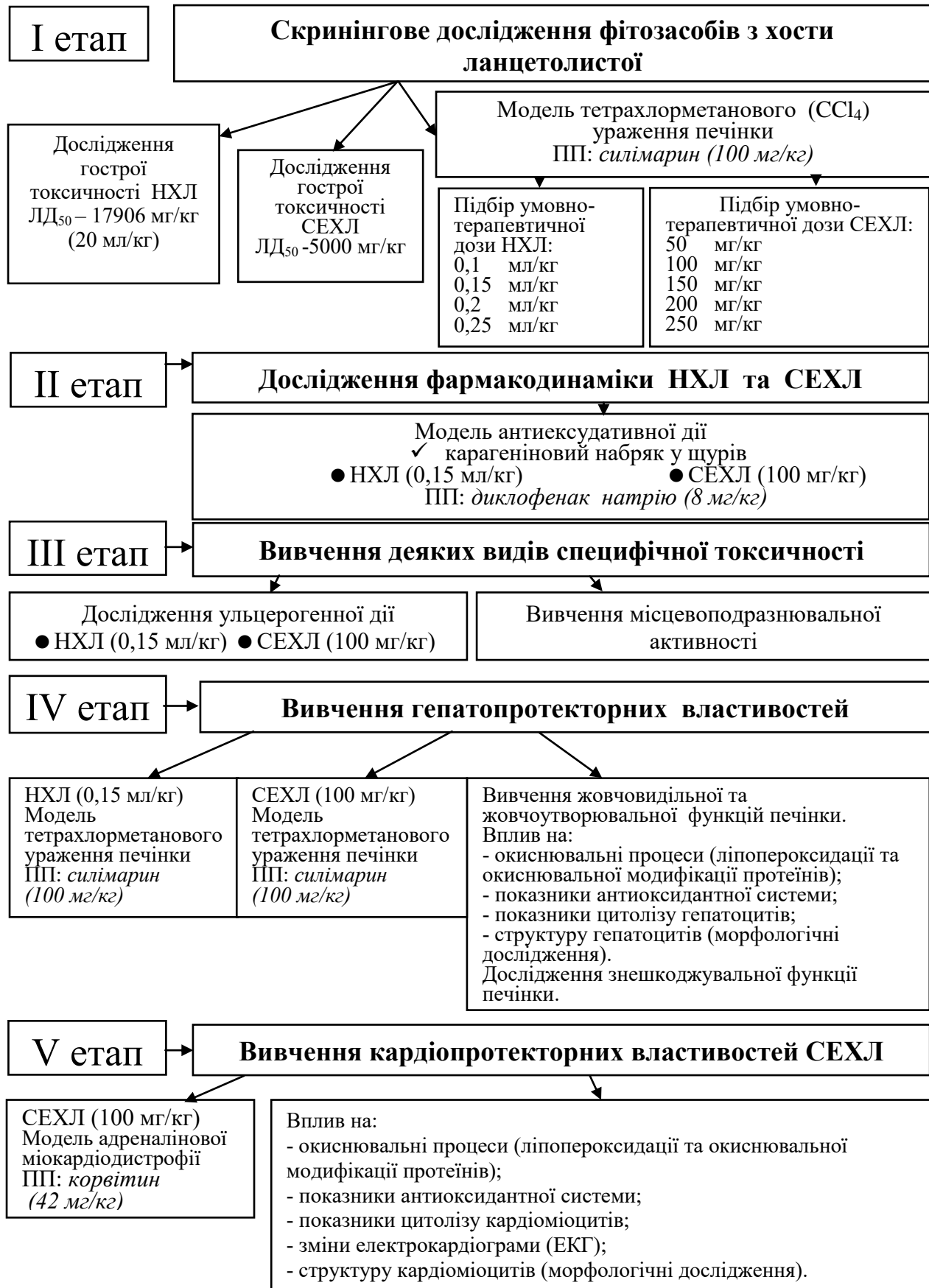


Рис. 1 Схема дизайну проведення фармакологічних досліджень

Місцевоподразнювальну дію НХЛ та СЕХЛ проводили відповідно до методичних рекомендацій в умовно-терапевтичних дозах (О. В. Стефанов, 2002).

Враховуючи внутрішньошлункове введення НХЛ та СЕХЛ, досліджували вплив даних фармакологічних засобів в умовно-терапевтичних дозах на слизову оболонку шлунка (А. И. Андреева, 1978).

Гепатопротекторні властивості НХЛ та СЕХЛ вивчали на моделі тетрахлорметанового ураження печінки (І. І. Медвідь, 2012). Активність порівнювали із гепатопротектором рослинного походження силімарином («Карсил», таблетки вкриті оболонкою по 22,5 мг, АТ «Sopharma», Болгарія), який шури отримували у вигляді 1% крохмальної суспензії у дозі 100 мг/кг (О. Н. Потеряева и соавт., 2012; О. Р. Грек и соавт., 2014). Тварин виводили з експерименту під тіопенталовим наркозом на 4-ту, 7-му та 14-ту доби експерименту, проводили біохімічні дослідження сироватки крові та гомогенату печінки.

У сироватці крові та гомогенаті печінки шури вивчали вміст ТБК-АП (В. І. Лушак та співавт., 2004), продуктів ОМП (2,4-ДНФГ₃₇₀ (нейтрального характеру) та 2,4-ДНФГ₄₃₀ (основного характеру)) (О. Ю. Дубініна, 2001). Активність антиоксидантної системи вивчали за КТ активністю у сироватці крові та гомогенаті печінки (М. А. Королук и соавт., 1988), СОД активністю у гомогенаті печінки (С. Чевари та співавт., 1985), вмістом ЦП у сироватці крові (В. С. Камышников, 2009), вмістом ВГ як у сироватці крові, так і у гомогенаті печінки (В. С. Камышников, 2009). Ступінь цитолізу оцінювали за активністю АЛАТ, АсАТ та ЛФ (тест-набори ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна) у сироватці крові та гомогенаті печінки. Оцінку функціонального стану плазматичних мембран еритроцитів вивчали за показником ЕП (А. А. Тогайбаев, 1988). Ступінь ендогенної інтоксикації за вмістом МСМ (В. А. Никольская, 2013).

Проводили вивчення жовчовидільної та жовчоутворювальної функції печінки та вплив на неї НХЛ та СЕХЛ, які тварини отримували в умовно-терапевтичних дозах. Як препарат порівняння використовували фламін («Фламін», таблетки по 50 мг, АТ «Галичфарм», Україна), який тваринам вводили внутрішньошлунково у дозі 250 мг/кг (Т. В. Бородіна, 1999). Досліджували об'єм та швидкість секреції жовчі (С. М. Дроговоз та співавт., 2001), а також вміст ЖК (В. В. Влізло та співавт., 2012), та ЗБ (тест-набір ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна) у сироватці крові тварин.

Оцінку стану детоксикуючої функції печінки проводили методом гексеналового сну. Дослідження проводили на 4-ту добу розвитку тетрахлорметанового гепатиту. Реєстрували тривалість сну тварин (у хвиликах) (О. В. Стефанов, 2002).

Для підтвердження функціональних змін структури печінки проводили гістологічні дослідження на 4-ту, 7-му та 14-ту доби після розвитку тетрахлорметанового гепатиту та корекції НХЛ, СЕХЛ та силімарином (Ю. И. Афанасьева, 1999).

Для вивчення кардіопротекторної дії СЕХЛ обрали експериментальну модель міокардіодистрофії. Досліджуваний об'єкт вводили в умовно-терапевтичній дозі, яка визначена за антиоксидантною активністю. Гостре

дистрофічне пошкодження міокарда моделювали шляхом одноразового внутрішньом'язового введення 0,18%-го розчину адреналіну тартрату («Адреналін-Дарниця», розчин для ін'єкцій по 1 мл в ампулах, ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна) тваринам з розрахунку 0,5 мг/кг (І. Р. Мисула, 1996). Евтаназію тварин проводили з використанням тіопенталу натрію через 24 та 48 год від моменту введення адреналіну.

При вивченні кардіопротекторної активності досліджуваного сухого екстракту як препарат порівняння використовували корвітин («Корвітин», порошок ліофілізований по 0,5 г у флаконах, ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна), який вводили внутрішньовенно в дозі 42 мг/кг маси тіла (А. Л. Штробля, 2013). СЕХЛ тварини отримували в дозі 100 мг/кг маси тіла внутрішньошлунково.

У процесі виконання роботи були досліджені процеси ліпопероксидації та окисної модифікації протеїнів, стан антиоксидантної системи та рівень ендогенної інтоксикації. Для виявлення можливих мембранопротекторних властивостей СЕХЛ вивчали ступінь проникності мембран кардіоміоцитів за активністю органоспецифічних ензимів міокарду – АсАТ (тест-набір ТОВ НВП «Філісіт-Діагностика», Україна) та КФК (В. В. Влізло та співавт., 2012).

ЕКГ реєстрували за допомогою пристрою “Кардіолаб” (Харків, Україна) через 24 та 48 год з моменту потрапляння адреналіну до організму після тіопентало-натрієвого наркозу ($40 \text{ мг} \cdot \text{кг}^{-1}$ маси тіла тварини внутрішньочеревно).

Гістологічні дослідження міокарда проводили на 24 та 48 години після введення адреналіну та досліджуваних препаратів — СЕХЛ та корвітину.

Результати досліджень піддавали статистичному аналізу (С. Н. Лапач, 2000) за допомогою статистичної програми Statistica 6.0 з використанням параметричного критерію Ст'юдента з поправкою Бонфероні та непараметричного критерію Вілкоксона для зв'язаних вибірок. Зміни вважали достовірними при $p \leq 0,05$.

Результати та їх обговорення. За результатами дослідження гострої токсичності встановлено, що за умов одноразового внутрішньошлункового введення НХЛ можна віднести до VI класу токсичності ($\text{ЛД}_{50} > 15000 \text{ мг/кг}$) – відносно нешкідливі речовини, СЕХЛ до V класу токсичності ($\text{ЛД}_{50} > 5000 \text{ мг/кг}$) – практично нетоксичні речовини.

В експерименті на щурах, уражених ТХМ (на 4 добу розвитку токсичного гепатиту) встановлені умовно-терапевтичні дози НХЛ та СЕХЛ, які становили 0,15 мл/кг та 100 мг/кг відповідно.

Протизапальну активність НХЛ та СЕХЛ вивчали у динаміці на 1, 3, 6 та 24 години. У коригуючих чинників вона проявлялась протягом усього терміну дослідження, але їх коригувальний вплив на розвиток запалення був менш вираженим, ніж у диклофенаку натрію. Активність НХЛ та СЕХЛ зростала на 24 годину дослідження, при цьому більш виражений протизапальний ефект проявлявся у СЕХЛ.

Обидва фармакологічні препарати (НХЛ та СЕХЛ) не проявляють ульцерогенних властивостей, на що вказує відсутність змін між слизовою шлунка групи тварин інтактного контролю та тих які отримували НХЛ та СЕХЛ в умовно-терапевтичних дозах.

Вивчення місцевоподразнювальних властивостей НХЛ та СЕХЛ показало, що досліджувані лікарські засоби не проявляють подразнювального ефекту при контакті зі слизовою оболонкою ока.

Дослідження гепатопротекторних властивостей настойки з листя хости ланцетолистої. Встановлено, що у щурів з тетрахлорметановим гепатитом вміст ТБК-АП вірогідно ($p \leq 0,05$) підвищувався у всі терміни дослідження як у сироватці крові, так і в гомогенаті печінки уражених тварин.

Щоденне застосування НХЛ призвело до зниження вмісту ТБК-АП: на 4-ту добу дослідження – на 13,1% у сироватці крові та на 28,9% у гомогенаті печінки відносно рівня контрольної патології (КП), на 14-ту добу встановлено незначне зниження даного показника у сироватці крові, проте в гомогенаті печінки дослідних тварин після застосування коригуючого чинника вміст ТБК-АП вірогідно знизився (на 83%) відносно рівня тварин з КП. НХЛ та препарат порівняння (ПП) силімарин на 4-ту добу експерименту проявили однакову активність щодо вмісту ТБК-АП у гомогенаті печінки.

При визначенні вмісту продуктів ОМП у групах тварин, уражених ТХМ, відмічено вірогідне підвищення обох їх фракцій (2,4-ДНФГ₃₇₀ та 2,4-ДНФГ₄₃₀) у всі три періоди дослідження як у сироватці крові, так і в гомогенаті печінки дослідних тварин.

Застосування НХЛ призвело до нормалізації у сироватці крові вмісту 2,4-ДНФГ₃₇₀, на 4-ту добу цей показник був меншим у 1,7 раза порівняно з КП. На 7-му та 14-ту доби також відмічено вірогідне зниження ($p \leq 0,05$) вмісту 2,4-ДНФГ₃₇₀.

При визначенні вмісту 2,4-ДНФГ₄₃₀ встановлено, що НХЛ та силімарин на 4-ту та 14-ту доби досліджень проявили однакову ефективність щодо вмісту даного показника. У сироватці крові дослідних тварин та у гомогенаті печінки відмічено вірогідне зниження вмісту ОМП як основного, так і нейтрального характеру.

Відомо, що антиоксидантна система захисту організму контролює та гальмує всі етапи вільнорадикальних реакцій, починаючи від їх ініціації і закінчуючи утворенням гідроперекисів та МДА (В. О. Губерук, 2008).

На 4-ту добу після ураження ТХМ спостерігалось незначне зниження СОД активності у гомогенаті печінки. Максимально активність ензиму знижувалась на 14-ту добу досліджень і становила 67,5%, що на 32,5% нижче від активності у тварин ІК. Застосування НХЛ призвело до вірогідних змін СОД активності на 14-ту добу, підвищуючи активність даного ензиму практично до рівня ІК.

Окрім зниження СОД активності, на пригнічення антиоксидантної системи захисту після ураження ТХМ вказує зниження у сироватці крові та гомогенаті печінки щурів КТ активності: на 7-му добу експерименту у сироватці крові на 63,2% відносно рівня ІК. У гомогенаті печінки щурів після ураження КТ активність знижувалась практично однаково у всі терміни дослідження.

Застосування НХЛ призвело до вірогідного підвищення ($p \leq 0,05$) КТ активності у сироватці крові щурів лише на 14-ту добу експерименту. КТ

активність у цей термін дослідження підвищилась на 12,6%, після використання силімарину даний показник вірогідно підвищувався у всі три терміни дослідження.

У гомогенаті печінки застосування НХЛ призвело до вірогідного підвищення ензиму на 7-му та 14-ту доби дослідження, причому на 7-му добу експерименту НХЛ та ПП проявили однакову ефективність та підвищили КТ активність на 10 % порівняно з групою КП.

Встановлено, що ураження щурів ТХМ призвело до значного підвищення вмісту ЦП у сироватці крові. Виразне підвищення даного показника відмічено на 4-ту та 14-ту доби експерименту (на 61,8% та 95%) відповідно. Щоденне застосування НХЛ та силімарину позитивно вплинуло на даний показник у сироватці крові, на 4-ту добу експерименту вміст ЦП зменшився на 36% та 47%, на 7-му добу на 28,5 % та 29% і на 14-ту добу на 69,7% та 76,7% після використання НХЛ та ПП відповідно.

Результати досліджень показали, що в групах тварин, уражених ТХМ, протягом усього експерименту зменшувався вміст ВГ. НХЛ проявила позитивний вплив на показники антиоксидантної системи, що підтверджує доцільність її застосування за патологічних станів, які супроводжуються розвитком ОС та зниженням захисно-компенсаторних сил організму.

Нами відмічено, що у сироватці крові щурів вірогідно підвищувалась ($p \leq 0,05$) активність АлАТ на 4-ту, 7-му та 14-ту доби досліджень, що підтверджує гепатотропність ТХМ (Т. І. Галенова, 2016). Після застосування НХЛ на 4-ту добу експерименту активність АлАТ у сироватці крові уражених щурів зменшилась у 3,6 раза, на 7-му добу експерименту – у 3,8 раза. Вірогідне зниження ($p \leq 0,05$) активності АлАТ спостерігали на 14 добу експерименту.

Вірогідно зменшувались активності АлАТ та АсАТ у гомогенаті печінки тварин з групи КП у всі терміни дослідження. Застосування НХЛ та силімарину позитивно вплинуло на активності амінотрансфераз, підвищуючи їх протягом усього експерименту.

Після ураження щурів ТХМ спостерігалось підвищення у сироватці крові та зниження у гомогенаті печінки активності ЛФ. На 14-ту добу експерименту НХЛ виявилась більш ефективною, ніж силімарин. Активність ЛФ у сироватці крові після застосування НХЛ знизилась на 172%, після застосування силімарину – на 158%.

Дослідження гепатопротекторних властивостей сухого екстракту з листя хости ланцетолистої. У дослідах з вивчення гепатопротекторних властивостей СЕХЛ на моделі гострого ураження щурів ТХМ встановлено, що після застосування СЕХЛ в дозі 100 мг/кг вміст ТБК-АП у сироватці крові вже на 4-ту добу експерименту був на 38,7% меншим від рівня в групі КП. Максимальний коригуючий ефект СЕХЛ проявив на 7-му добу, знизивши вміст ТБК-АП на 58,4% щодо групи тварин КП. У гомогенаті печінки дослідних тварин введення СЕХЛ та силімарину також нормалізувало вміст ТБК-АП (рис. 2). На 14-ту добу експерименту обидва чинники проявили практично однакову ефективність, вірогідно знижуючи вміст продуктів ліпопероксидації.

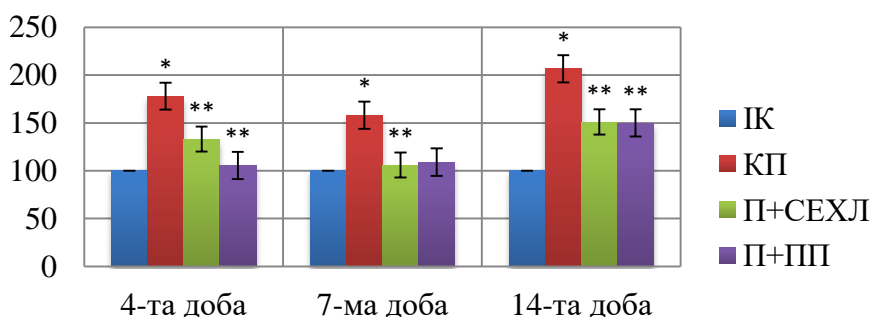


Рис. 2 Вміст ТБК-АП у гомогенаті печінки щурів, уражених тетрахлорметаном, та після корекції сухим екстрактом з хости ланцетолистої та силімарином, %

Примітка. * - вірогідні зміни між ІК та КП ($p \leq 0,05$); ** - вірогідні зміни між тваринами КП та тваринами, які отримували СЕХЛ або ПП ($p \leq 0,05$).

Протягом усіх термінів дослідження у сироватці крові щурів в умовах тетрахлорметанового отруєння прогресуюче зростає вміст обох окиснених фракцій похідних протеїнів (нейтральної та основної). На 4-ту добу тетрахлорметанового гепатиту у групі тварин, яким проводили корекцію СЕХЛ, вміст 2,4-ДНФГ₃₇₀ у сироватці крові зменшився у 2 рази, на 7-му добу дослідження – у 1,5 рази. У ці терміни ефективність застосування силімарину була на одному рівні з СЕХЛ. На 14-ту добу експерименту застосування СЕХЛ призвело до вірогідного зменшення даного показника, проте було менш ефективним ніж ПП. У гомогенаті печінки застосування СЕХЛ на 7-му та 14-ту доби експерименту призвело до вірогідного зниження 2,4- ДНФГ₃₇₀ в 1,3 рази та в 2 рази відповідно.

Відомо, що про- та антиоксидантна системи перебувають у взаємозалежності та зсув останньої у бік пригнічення призводить до розвитку ОС в організмі (Е. Е. Дубинина, А. В. Пустыгина, 2007).

При дослідженні СОД активності у гомогенаті печінки щурів, уражених ТХМ, відмічалось її зниження протягом усього експерименту. Після застосування СЕХЛ на 4-ту добу СОД активність збільшилась на 23,3%, на 7-му – на 18,8%, на 14-ту – на 27,5% відносно СОД активності у тварин групи КП.

Протягом усього експерименту як у сироватці крові, так і в гомогенаті печінки щурів після ураження токсикантом прогресуюче знижувалась КТ активність. На 4-ту добу дослідження введення СЕХЛ призвело до незначних змін активності даного ензиму у сироватці крові дослідних тварин. Ефективнішим СЕХЛ був на 7-му та 14-ту доби експерименту, КТ активність збільшилась у 1,6 та в 1,3 рази відповідно, порівняно з КП. Силімарин призвів до вірогідного підвищення активності даного ензиму в усі три періоди дослідження. Застосування обох коригуючих чинників призвело також до нормалізації даного показника у гомогенаті печінки.

Відмічено, що у тварин з модельованим токсичним гепатитом, вміст ЦП у сироватці крові вірогідно підвищувався в усі три терміни дослідження.

СЕХЛ на 7-му добу дослідження знизив вміст протеїну на 28,5%, силімарин - на 32,3% відносно рівня КП. До завершення експерименту (14-та доба) ефективність СЕХЛ та ПП була практично на одному рівні.

Ураження щурів ТХМ призвело до зниження вмісту ВГ у сироватці крові. Введення СЕХЛ та силімарину викликало вірогідне підвищення даного показника. У сироватці крові на 14-ту добу експерименту вміст ВГ збільшився на 24,8% після застосування СЕХЛ та на 31,6% після введення ураженим тваринам силімарину. Аналогічні зміни спостерігали у гомогенаті печінки.

Протягом усіх термінів дослідження відмічено зростання у сироватці крові активностей АЛАТ та АсАТ, максимум яких зареєстровано у кінці експерименту (у 2,8 та 2,7 раза відповідно вище норми), а також ЛФ, яка є маркерним ферментом запалення та холестазу.

Досліджуваний нами СЕХЛ призвів до зниження у сироватці крові активностей амінотрансфераз після ураження, активність ЛФ до кінця експерименту (14 день) зменшилась на 287% після корекції СЕХЛ та на 342% після застосування ПП.

За результатами проведених досліджень встановлено підвищення ЕП у крові щурів, уражених ТХМ. Після застосування усіх коригуючих чинників відсоток проникності еритроцитарної мембрани знижувався і динаміка змін ЕП була практично на одному рівні.

Накопичення надмірної кількості екзо- і ендотоксинів призводить до неминучого виникнення стану, відомого як ендогенна інтоксикація організму. Показник рівня МСМ вважають основним біохімічним маркером, що відображає рівень патологічного протеїнового метаболізму (В. А. Никольская, 2013). НХЛ зменшувала вміст МСМ обох фракцій у всі три терміни дослідження. Введення в уражений організм СЕХЛ викликало зниження вмісту $СМ_1$ у 1,6 раза, силімарин проявив дещо кращий результат, зменшивши вміст даного показника в 2 рази відносно рівня КП. При визначенні вмісту $СМ_2$ на 14-ту добу дослідження СЕХЛ та силімарин проявили практично однакову ефективність.

У щурів, уражених ТХМ, спостерігали значне порушення жовчовидільної функції печінки, про що свідчить зменшення об'єму жовчі та швидкості її секреції протягом усього терміну дослідження. Після введення досліджуваних коригуючих чинників щурам з тетрахлорметановим гепатитом спостерігали вірогідне підвищення ($p \leq 0,05$) швидкості секреції та об'єму жовчі на 4-ту, 7-му та 14-ту доби експерименту.

Дослідження вмісту ЖК є інформативним лабораторним маркером, оскільки однією із функцій жовчі є сприяння екскреції холестеролу та запобігання утворенню каменів у жовчному міхурі (А. Таттіс, 2017). Концентрація ЖК та вміст ЗБ у сироватці крові щурів, уражених ТХМ, вірогідно підвищувались протягом усіх термінів дослідження та досягали максимуму на 7-му добу експерименту. Застосування НХЛ та СЕХЛ призвело до вірогідного зниження концентрації ЖК та вмісту ЗБ у сироватці крові тварин з тетрахлорметановим гепатитом. ПП фламін проявив більш виразний вплив на даний показник, хоча після застосування НХЛ та СЕХЛ зниження

вмісту ЖК та ЗБ було теж вірогідним ($p \leq 0,05$) у всі терміни дослідження. Вірогідних відмінностей у ефективності впливу на дані показники між НХЛ, СЕХЛ та фламіном не спостерігали.

При дослідженні знешкоджувальної функції печінки відмічено, що на 4-ту добу після останнього введення ТХМ час біотрансформації гексеналу в печінці (тривалість сну) був на 23 хв довшим порівняно з контрольною групою. У групі уражених тварин, які отримували НХЛ, тривалість сну зменшувалась, але вірогідних змін не відмічено. Застосування СЕХЛ призвело до вірогідного ($p \leq 0,05$) скорочення тривалості гексеналового сну (на 11 хвилин), що вказує на відновлення активності монооксигеназної системи печінки за дії даного засобу (Ю. И. Губский, 1989).

Для підтвердження гепатопротекторних властивостей СЕХЛ та НХЛ нами проведені морфологічні дослідження структури печінки (рис.3).

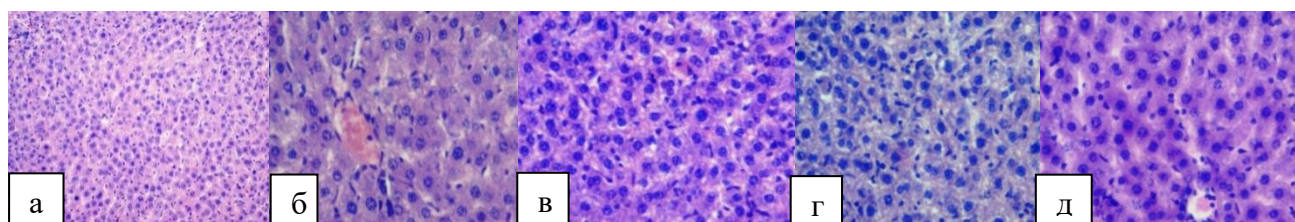


Рис. 3 Структура печінки тварин ІК (а), КП (14-та доба) (б), П+НХЛ (14-та доба) (в), П+СЕХЛ (14-та доба) (г), П+ПП (14-та доба) (д). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 200$.

На 14-ту добу експерименту у групі тварин, яким проводили корекцію НХЛ, виявлено посилення регенераторної функції, про що свідчить візуальне збільшення кількості двоядерних гепатоцитів (рис. 2 (в)). Через 14 діб у дослідних тварин, яким вводили СЕХЛ, виявлено помірне відновлення структури часточки та балкової організації, виражене посилення регенерації гепатоцитів шляхом збільшення кількості двоядерних клітин, переважно в ділянках перипортальних трактів (рис. 2 (г)). У цей термін дослідження у групі тварин, яким проводили корекцію силімаріном встановлено значне відновлення структури печінки (рис. 2 (д)).

Дослідження кардіопротекторних властивостей сухого екстракту з листя хости ланцетолистої. Кардіопротекторні властивості СЕХЛ досліджували в умовах адреналінової міокардіодистрофії (АМД). Встановлено, що на тлі введення адреналіну в дозі 0,5 мг/кг у гомогенаті міокарда та сироватці крові щурів відбувалась активація процесів ПОЛ. Через 24 год з моменту введення їм СЕХЛ вміст ТБК-АП у сироватці крові знизився на 44%, до кінця експерименту – на 70%.

Відмічено високий вміст ТБК-АП у гомогенаті міокарда у досліджувані терміни, що свідчить про активацію вільнорадикальних процесів у міокарді протягом 48 год за умов ураження підвищеними дозами адреналіну. Використання СЕХЛ призвело до зниження активності процесів ліпопероксидації та знизило даний показник на 82%, що дозволило підтвердити передбачувані антиоксидантні властивості даного фармакологічного препарату.

В умовах АМД відмічено підвищення вмісту продуктів ОМП як нейтрального, так і основного характеру у сироватці крові та гомогенаті міокарда щурів. СЕХЛ проявив ефективний вплив на даний показник, вірогідно знижуючи його до кінця експерименту як і ПП.

Ураження серця адреналіном супроводжувалось зниженням у сироватці крові активності одного з наймогутніших ензимів антиоксидантного захисту – СОД. Активність ензиму через 24 год від початку розвитку міокардіодистрофії у крові щурів становила 72% від рівня ІК, через 48 год – 61%. СЕХЛ і ПП проявили позитивний вплив на даний показник і активність ензиму до кінця експерименту збільшилась на 27% та 37,5% відповідно порівняно з групою КП.

Ураження міокарду адреналіном призвело до вірогідного зниження КТ активності в сироватці крові та гомогенаті міокарда щурів. Після застосування обох коригуючих чинників більш ефективний вплив на КТ активність проявив корвітин. СЕХЛ на 48 год дослідження викликав у сироватці крові підвищення активності дослідного показника на 18% ($p \leq 0,05$).

Через 48 год після ураження серця щурів адреналіном вміст ВГ знизився в 1,8 раза у сироватці крові та в 1,6 раза у гомогенаті міокарда. На 48 годину від початку експерименту застосування СЕХЛ призвело до вірогідного підвищення вмісту ВГ ($p \leq 0,05$) як у сироватці крові, так і в гомогенаті міокарда.

Позитивний вплив проявили СЕХЛ та корвітин на активність КФК у сироватці крові та гомогенаті міокарда щурів. В останній термін дослідження обидва коригуючих чинники призвели до зниження активності КФК у сироватці крові (екстракт знизив дослідний показник у 1,6 раза, корвітин – у 1,8 раза відносно групи КП). У гомогенаті міокарда на 48 год експерименту в групі тварин, що отримували корекцію СЕХЛ, активність даного ензиму збільшилась на 41% відносно групи КП.

При вивченні активності АсАТ у сироватці крові після застосування СЕХЛ даний показник був нижчим від такого в групі тварин з КП на 18,9% через 24 год після ураження та на 48% у кінці експерименту ($p \leq 0,05$). У гомогенаті міокарда після введення ураженим тваринам СЕХЛ спостерігалось підвищення активності досліджуваного ензиму, але вірогідних змін не відмічено.

На ЕКГ підтверджено розвиток міокардіодистрофії у щурів, які отримали токсичну дозу адреналіну. Введення СЕХЛ при розвитку АМД сприяє зростанню деполяризації мембран кардіоміоцитів шлуночків, збільшенню скоротливої здатності серця. Порівняно із тваринами з адреналіновим ураженням серця, яким не проводили корекцію, виявлено покращення проведення біоелектричних потенціалів шлуночками, що вказує на зменшення проявів гіпоксії, очевидно, завдяки зростанню енергозабезпечення серця (О. О. Маркова, 1998). При порівнянні ефективності впливу сухого екстракту, порівняно з корвітином, через 24 і 48 годин після введення адреналіну виявлено покращення скоротливої здатності міокарда, сповільнення проведення імпульсів передсерддями і шлуночками. Корвітин і СЕХЛ, які введені на фоні дії

адреналіну, зменшують збудливість синусового вузла та сповільнюють проведення імпульсів передсерддями і шлуночками.

Кардіопротекторні властивості СЕХЛ підтвержені гістологічними дослідженнями міокарда тварин. Встановлено, що при корекції СЕХЛ на 48 годину дослідження спостерігалось часткове зменшення периваскулярного та перицелюлярного набряку та дистрофічно-некротичних змін у кардіоміоцитах. Корвітин не впливав на перерозподіл крові в мікроциркуляторному руслі, зменшуючи прояви набряку та порушення трофіки.

Використаний нами з метою корекції виявлених порушень СЕХЛ проявив антиоксидантні властивості за умов АМД, знижуючи рівень окиснювальних процесів в організмі щурів та відновлюючи активність антиоксидантної системи. Відмічені нами позитивні зміни в активностях мембранозалежних ензимів та вмісту МСМ після його застосування можуть бути опосередкованими через механізм антиоксидантної дії даного фармакологічного препарату.

ВИСНОВКИ

Лікарські препарати рослинного походження займають значне місце в клінічній практиці, адже мають широкий спектр фармакологічної активності та діють полівалентно. На світовому та вітчизняному фармацевтичних ринках існує обмежена кількість препаратів на основі рослинної сировини, що проявляють комплексний гепатопротекторний та антитоксичний ефекти. Це актуалізує пошук нових видів рослинної сировини з метою створення на її основі вітчизняних лікарських препаратів для застосування у медичній практиці.

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення та нове вирішення актуальної наукової задачі щодо експериментального обґрунтування доцільності та ефективності застосування настойки та сухого екстракту з листя хости ланцетолистої як гепатопротекторних засобів при токсичних ураженнях печінки з антиоксидантною та мембранопротекторною дією, а також екстракту як кардіопротекторного засобу в умовах міокардіодистрофії. Отримані результати дозволили зробити наступні висновки:

1. Встановлено, що сухий екстракт з листя хости ланцетолистої при внутрішньошлунковому введенні належить до V класу токсичності – практично нетоксичні речовини, ЛД₅₀ для якого знаходиться за межами 5000 мг/кг. ЛД₅₀ для 50% настойки з листя хости – за межами 15000 мг/кг (20 мл/кг), що дозволило віднести її до VI класу токсичності – відносно нешкідливі речовини.

2. На моделі гострого тетрахлорметанового ураження печінки щурів встановлена умовно-терапевтична доза сухого екстракту з листя хости ланцетолистої – 100 мг/кг, для настойки – 0,15 мл/кг, введення яких проявило коригувальний вплив на процеси ліпопероксидації, показники антиоксидантної системи та проникність плазматичних мембран гепатоцитів та еритроцитів в організмі. Як екстракт, так і настойка не проявляють ульцерогенної та місцевопоздразнювальної дій. Виявлено протизапальну активність як сухого екстракту з листя хости, так і настойки. Ефективність

застосування екстракту на 24 годину розвитку запалення становила 33,3%, настойки 28,9% ($p \leq 0,05$).

3. Доведена гепатопротекторна активність настойки з листя хости (0,15 мл/кг) та сухого екстракту з листя хости ланцетолистої (100 мг/кг), застосування яких призвело до вірогідного зниження ($p \leq 0,05$) показників ліпопероксидації та окиснювальної модифікації протеїнів в організмі уражених тетрахлорметаном щурів. За цих умов відмічалось пригнічення ензимної та неензимної ланок антиоксидантної системи, що зумовило зниження супероксиддисмутазної, каталазної активностей, вмісту відновленого глутатіону. Після застосування настойки з хости супероксиддисмутазна та каталазна активності у гомогенаті печінки наблизились до норми ($p \leq 0,05$). Відмічено відновлення проникності плазматичних мембран гепатоцитів, що підтверджується зниженням підвищених після ураження активностей АлАТ та АсАТ у сироватці крові щурів у 2,1 та 1,4 раза відповідно. Максимальний коригуючий ефект екстракт проявив на 7-му добу, знизивши вміст ТБК-АП у сироватці крові на 58,4% щодо групи тварин із контрольною патологією. Щодо активності антиоксидантної системи захисту, то у групах тварин, які отримували екстракт на 14-ту добу експерименту СОД активність підвищилась на 27,5% відносно тварин з контрольною патологією. За більшістю показників як СЕХЛ, так і НХЛ проявляли активність на рівні препарату порівняння силімарину.

4. Настойка та сухий екстракт призвели до відновлення жовчовидільної та жовчоутворювальної функції печінки в організмі уражених тетрахлорметаном тварин, про що свідчить вірогідне збільшення швидкості секреції жовчі та її об'єму ($p \leq 0,05$), а також вірогідне ($p \leq 0,05$) зниження концентрації жовчних кислот та загального білірубину у сироватці крові тварин, які піддавались корекції. Більш ефективним виявився екстракт, активність якого знаходилась на рівні препарату фламін.

5. Морфологічними дослідженнями печінки щурів підтверджена ефективність застосування екстракту та настойки з листя хости, яка проявляється ознаками посиленої регенераторної активності гепатоцитів.

6. Доведені кардіопротекторні властивості сухого екстракту з листя хости на моделі адреналінового ураження міокарду, які підтверджуються зниженням процесів перекисного окиснення ліпідів та протеїнів в організмі тварин після застосування токсиканту та відновленням ендогенної антиоксидантної системи, на що вказує підвищення супероксиддисмутазної (до кінця експерименту на 27% порівняно з тваринами групи контрольної патології) та каталазної (на 18% та 19% у сироватці крові та гомогенаті міокарда відповідно) активностей, а також вмісту відновленого глутатіону як у сироватці крові, так і в гомогенаті міокарда щурів. На ЕКГ виявлено покращення скоротливої здатності міокарда, сповільнення проведення імпульсів передсерддями і шлуночками в уражених токсичною дозою адреналіну щурів після застосування сухого екстракту. На моделі адреналінової міокардіодистрофії підтверджена кардіопротекторна активність СЕХЛ у дозі 100 мг/кг та встановлено ефективність дії на рівні препарату порівняння корвітину.

7. Морфологічними дослідженнями серця тварин підтверджено позитивний вплив сухого екстракту з хости ланцетолистої на структуру міокарду, який найбільше проявився на 48 годину досліджень (частковим зменшенням периваскулярного та перичелюлярного набряку, дистрофічно-некротичних змін у кардіоміоцитах).

8. Проведене дослідження експериментально обґрунтовує доцільність подальшого доклінічного та клінічного вивчення нових вітчизняних, високоефективних та малотоксичних засобів з листя хости ланцетолистої з метою впровадження їх у медичну практику як засобів метаболічної дії при серцево-судинних захворюваннях та захворюваннях гепатобіліарної системи.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Линда О. С., Фіра Л. С., Лихацький П. Г., Рицик О. Б. Вивчення гострої токсичності настойки з листя хости ланцетолистої. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 4 (69). С. 59-62. (Особистий внесок – участь у експерименті, статистична обробка результатів їх аналіз та узагальнення, підготовка статті до друку).

2. Линда О. С., Фіра Л. С., Кузьмак І. П. Вплив настойки з хости ланцетолистої на показники цитолізу клітинних мембран у щурів, уражених тетрахлометаном. *Український біофармацевтичний журнал*. 2017. № 6 (53). С. 56-60. (Особистий внесок – участь у експерименті, статистична обробка результатів їх аналіз та узагальнення, підготовка статті до друку).

3. Линда О. С., Фіра Л. С., Лихацький П. Г., Бойко Л. А. Дослідження антиоксидантних властивостей екстракту з хости ланцетолистої на моделі тетрахлометанового ураження печінки щурів. *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 1. С. 45-48. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у експерименті, статистична обробка результатів їх аналіз та узагальнення, підготовка статті до друку).

4. Lynda O S, Fira L S, Lykhatskyi P H. Condition of the biliary and bile-forming function of rat liver damaged with tetrachlormethane after the use of hosta lancifolia dry extract. *The Pharma Innovation Journal*. 2018. № 7 (4). P. 206-208. (Особистий внесок – самостійно виконана частина експериментального дослідження, статистична обробка результатів їх аналіз та узагальнення, підготовка статті до друку).

5. Линда О. С., Фіра Л. С., Лихацький П. Г. Вивчення протизапальної активності настойки та екстракту з листя хости ланцетолистої. *Український біофармацевтичний журнал*. 2018. № 2 (55). С. 32-35. (Особистий внесок – самостійно виконана частина експериментального дослідження, статистична обробка результатів, підготовка статті до друку).

6. Линда О. С., Фіра Л. С., Лихацький П. Г. Застосування сухого екстракту з листя хости ланцетолистої для корекції метаболічних порушень за умов адреналінового ураження міокарда. *Медична та клінічна хімія*. 2018.

Т. 20, № 3 (76). С. 5-12. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у експерименті, статистична обробка результатів їх аналіз та узагальнення, підготовка статті до друку).

7. Линда О. С., Фіра Л. С., Лихацький П. Г. Застосування екстракту з хости ланцетолистої за умов токсичного ураження печінки: пат. України на корисну модель № 127775. и 2018 01396; заявл. 12.02.2018; опубл. 27.08.2018, Бюл. № 16. 4 с. (Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, проведені досліджень та оформленні патенту).

8. Линда О. Підбір умовно терапевтичної дози настойки з хости ланцетовидної на моделі тетрахлорметанового гепатиту. *XX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*: мат. XX Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених. м. Тернопіль, 25 -27 квітня 2016 р. Тернопіль, «Укрмедкнига». 2016. С. 340.

9. Линда О. С., Фіра Л. С., Рицик О. Б. Антиоксидантна система організму щурів уражених тетрахлорметаном, після застосування настойки з хости ланцетолистої. *Науково - технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів*: мат. VI науково-практичної конференції з міжнародною участю. м. Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р. Тернопіль, «ТДМУ», «Укрмедкнига», 2016. С. 337-338.

10. Линда О., Грицишин Л. Вплив настойки з хости ланцетолистої на розвиток ендогенної інтоксикації у щурів уражених тетрахлорметаном. *XXI Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених присвячений 60-річчю Тернопільського Державного Медичного Університету ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України*: мат. XXI Міжнародного медичного конгресу студентів та молодих вчених. м. Тернопіль, 24-26 квітня 2017 р. Тернопіль, «Укрмедкнига», 2017. С. 230.

11. Lynda O., Fira L. Pharmacological activity of Hosta lancifolia tincture in rat liver affected by tetrachloromethane. *Plant – the source of research material*: mat. of 5th International Conference and Workshop. Lublin, 21-24 June 2017. Lublin, Poland. P.101.

12. Линда О. С. Дослідження гострої токсичності екстракту з листя хости ланцетолистої. *Технологічні та біофармацевтичні аспекти створення лікарських препаратів різної направленості дії*: мат. III Міжнародної науково-практичної Інтернет –конференції. м. Харків, 14-15 листопада 2017 р. Харків, «НФаУ», 2017. С. 127-128.

13. Линда О. С., Фіра Л. С. Дослідження мембранопротекторної активності сухого екстракту з хости ланцетолистої. *Сучасні досягнення фармацевтичної науки в створенні та стандартизації лікарських засобів і дієтичних добавок, що містять компоненти природного походження*: мат. I Міжнародної науково-практичної Інтернет–конференції. м. Харків, 5 квітня 2018 р. Харків, «НФаУ», 2018. С. 82.

14. Линда О. С., Фіра Л. С., Лихацький П. Г. Вивчення антиоксидантних властивостей сухого екстракту з хости ланцетолистої: *Інформаційний лист про нововведення в сфері охорони здоров'я № 218 - 2018*. Укрмедпатентінформ МОЗ України. Випуск 22 з проблеми «Фармація». К., 2018 р. 4 с.

АНОТАЦІЯ

Линда О. С. Фармакологічне дослідження фітозасобів з хости ланцетолистої (*Hosta lancifolia* Engl.). – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2019.

Дисертаційна робота присвячена фармакологічному дослідженню настойки та сухого екстракту з листя хости ланцетолистої.

Доведено, що настойка належить до VI класу токсичності ($LD_{50} > 15000$ мг/кг) – відносно нешкідливі речовини, екстракт належить до V класу токсичності ($LD_{50} > 5000$ мг/кг) – практично нетоксичні речовини.

Встановлена умовно-терапевтична доза – 0,15 мл/кг маси тіла для настойки та 100 мг/кг маси тіла для сухого екстракту з листя хости ланцетолистої.

Виявлено, що настойка з листя хости ланцетолистої проявляє гепатопротекторні властивості, сухий екстракт – гепатопротекторні та кардіопротекторні властивості. Механізм реалізації фармакологічних ефектів настойки та сухого екстракту з листя хости ланцетолистої насамперед пов'язаний із його антиоксидантними властивостями, що підтверджується пригніченням процесів перекисного окиснення ліпідів та окисної модифікації протеїнів, зменшенням проникності плазматичних мембран гепатоцитів та кардіоцитів, зменшенням ендогенної інтоксикації та відновленням показників системи антиоксидантного захисту.

Проведені дослідження підтверджують перспективність подальшого дослідження лікарських форм з листя хости ланцетолистої як антиоксидантних засобів з метою створення на їх основі нових рослинних гепатопротекторних та кардіопротекторних препаратів.

Ключові слова: сухий екстракт з листя хости ланцетолистої, настойка з листя хости ланцетолистої, токсичний гепатит, адреналінове ураження міокарду, антиоксидантна активність, гепатопротекторна активність, кардіопротекторна активність.

АННОТАЦИЯ

Линда А. С. Фармакологическое исследование фитопрепаратов из хосты ланцетолистной (*Hosta lancifolia* Engl.). – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2019.

Диссертационная работа посвящена фармакологическому исследованию настойки и сухого экстракта из листьев хосты ланцетолистной.

Доказано, что настойка относится к VI классу токсичности ($LD_{50} > 15000$ мг/кг) – относительно безвредные вещества, экстракт относится к V классу токсичности ($LD_{50} > 5000$ мг/кг) – практически нетоксичные вещества.

Установлена условно-терапевтическая доза - 0,15 мл/кг массы тела для настойки и 100 мг/кг массы тела для сухого экстракта из листьев хосты ланцетолистной.

Выявлено, что настойка из листьев хосты ланцетолистной проявляет гепатопротекторные свойства, сухой экстракт - гепатопротекторные и кардиопротекторными свойствами. Механизм реализации фармакологических эффектов настойки и сухого экстракта из листьев хосты ланцетолистной прежде всего связан с его антиоксидантными свойствами, что подтверждается угнетением процессов перекисного окисления липидов и окислительной модификации протеинов, уменьшением проницаемости плазматических мембран гепатоцитов и кардиоцитов, уменьшением эндогенной интоксикации и восстановлением показателей системы антиоксидантной защиты.

Проведенные исследования подтверждают перспективность дальнейшего исследования лекарственных форм из листьев хосты ланцетолистной как антиоксидантных средств с целью создания на их основе новых растительных гепатопротекторных и кардиопротекторных препаратов.

Ключевые слова: сухой экстракт из листьев хосты ланцетолистной, настойка из листьев хосты ланцетолистной, токсический гепатит, адреналиновое поражение миокарда, антиоксидантная активность, гепатопротекторная активность, кардиопротекторная активность.

ANNOTATION

Lynda O. S. Pharmacological study of phyto-medicines with *hosta lancifolia* (*Hosta lancifolia* Engl.). – The manuscript.

The thesis for a Candidate of Pharmaceutical Sciences Degree by the speciality 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy of the Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The thesis is devoted to the pharmacological research of the tincture and dry extract made from the leaves of *hosta lancifolia*.

It is proved that tincture belongs to the VI class toxicity ($LD_{50} > 15000$ mg/kg) that are relatively harmless substances, extract belongs to the V class toxicity ($LD_{50} > 5000$ mg/kg) that are practically nontoxic substances.

The prescribed therapeutic dose is defined as 0.15 ml/kg body weight for tincture and 100 mg/kg body weight for dry extract from the leaves of *hosta lancifolia*.

It was found that the corrective effect of the investigated factors on the development of inflammation was less noticed than in diclofenac sodium as a result of the study of anti-inflammatory activity of the THL and DEHL.

While studying the effects of the THL and DEHL on the condition of the mucous membrane of the stomach, it was found out that both pharmacological drugs do not show ulcerogenic effect.

The study of local irritating properties of the THL and DEHL has shown that the studied dosage forms do not show an irritative effect while it has been in contact with the mucous membrane of the eye of rabbits.

Hepatoprotective properties of the tincture and a dry extract from the leaves of *hosta lancifolia* were studied on the model of tetra chloromethane effect of rats' liver. The THL and DEHL have a positive effect on the processes of POL in the organism of affected animals. The decrease of the TBA-AP content by 13.1%, DEHL - by 38.7% relative to the level of affected animals was noticed in the blood serum due to the use of THL on the 4th day of the research. The use of the THL and DEHL was stated by the normalization of 2, 4-DNFH (370 nm) neutral and 2, 4 -DNFH (430 nm) of a basic nature in the blood serum.

The THL and DEHL have a positive effect on the antioxidant system. It was found that THL had the most positive effect on the 14th day of the experiment in the study of SOD activity in liver homogenate. After taking DEHL SOD the activity has increased by 23.3% on the 4th day, by 18.8% on the 7th year, by 27.5% on the 14th relative to the level of SOD in animals with controlled pathology. The CT activity in the blood serum and liver homogenate of the rats affected by tetra chloromethane was studied. Infusion of it into the infected organism has led to a possible increase of this indicator in serum only on the 14th day of the experiment. The use of DEHL was effective on the 7th and 14th day of the experiment (catalase activity in serum increased by 1.6 and 1.3 times, respectively, in comparison with control pathology).

It is noted that rats' liver damaged by tetrachloromethane leads to the development of destructive processes in the body, which is indicated by an increase activity of the aminotransferase in the blood serum. After taking of THL on the 4th day of the experiment, the activity of ALAT in the blood serum of the affected rats decreased by 3.6 times, on the 7th day of the experiment - by 3.8 times. The probable decrease ($p \leq 0.05$) of ALAT activity in serum was observed in the last term of the study (14 days of the experiment). Similar changes were noted in the study of the activity of ASAT. The DEHL from our study led to a decreased activity of aminotransferase after affection.

The bile duct and its biliary functions were examined on the model of tetrachloromethane lesion of the liver. There was a decrease in the volume of bile and the rate of its secretion in the body of rats with controlled pathology. After taking the THL and DEHL the maximum increase in bile volume was observed on the 14th day of the experiment - 1.2 times the level of animals with control pathology, the probable increase in the rate of bile secretion was observed on the 4th, 7th and 14th days of the experiment.

The activity of the neutralizing function of the liver was studied on the model of tetrachloromethane lesion. On the 4th day after the last leading of tetrachloromethane, the time of biotransformation of hexenal in the liver (sleep duration) was 23 minutes longer compared to the control group. In animals with pathology receiving tincture, the duration of sleep decreased, but no probable changes were noted. The use of DEHL led to a probable ($p < 0.05$) decrease in the duration of hexenal sleep.

Morphological studies of the structure of the liver have been done. According to the morphological data, the most positive hepatoprotective effect was shown by silymarin. The use of the extract was less effective, although it also has influenced the regeneration of the structural components of the affected liver. The least positive corrective effect was observed while taking the tincture.

The cardioprotective properties of DEHL have been studied in the conditions of adrenal myocardial dystrophy. It was established that the activation of lipid peroxidation was observed on the background of the adrenaline infusion in a dose of 0.5 mg / kg body weight in the myocardium and blood serum of rats. The use of DEHL has led to the decrease in the activity of lipoperoxidation processes, reduced the TBA-AP content in the myocardium homogenate by 82%, which confirmed the anticipated antioxidant properties of the given pharmacological procedure. DEHL has shown an effective influence on the content of OMP decreasing it by the end of the experiment as compared to the control group.

ECG confirmed the development of myocardial dystrophy in the rats which received a toxic dose of adrenaline. The introduction of dry extract from the leaves of the host in the development of adrenaline myocardial dystrophy contributes to the growth of ventricular depolarization and increase in the contractile capacity of the heart.

Cardioprotective properties of DEHL are confirmed by histological studies of myocardial infarction.

Key words: dry extract from the leaves of *hosta lancifolia*, tincture from the leaves of *hosta lancifolia*, toxic hepatitis, adrenal myocardial damage, antioxidant activity, hepatoprotective activity, cardioprotective activity.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АлАТ – аланінамінотрансфераза;
АМД – адреналінова міокардіодистрофія;
АсАТ – аспартатамінотрансфераза;
ВГ – відновлений глутатіон;
2,4-ДНФГ – 2,4-динітрофенілгідразони;
ЕП – еритроцитарний індекс інтоксикації;
ІК – інтактний контроль;
ЖК – жовчні кислоти;
ЗБ – загальний білірубін;
КТ – каталаза;
КП – контрольна патологія;
КФК – креатинфосфокіназа;
ЛФ – лужна фосфатаза;
МСМ – молекули середньої маси;
НХЛ – настойка з листя хости ланцетолистої;
ОМП – окиснювальна модифікація протеїнів;
ОС – оксидативний стрес;
П – патологія;
ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів;
ПП – препарат порівняння;
СЕХЛ – сухий екстракт з листя хости ланцетолистої;
СОД – супероксиддисмутаза;
ТХМ – тетрахлорметан;
ТБК-АП – ТБК-активні продукти;
ЦП – церулоплазмін;
ЧСС – частота серцевих скорочень.