

Рекомендована д. мед. наук, проф. К. А. Посоховою
 УДК 615.21:615.322.07:582.573.76
 DOI 10.11603/2312-0967.2016.1.6056

ДОСЛІДЖЕННЯ ГОСТРОЇ ТОКСИЧНОСТІ ТА НЕЙРОТРОПНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГУСТИХ ЕКСТРАКТІВ КВІТОК ЛІЛІЙНИКА БУРО-ЖОВТОГО (*HEMEROCALLIS FULVA* L.) І ЛІЛІЙНИКА ГІБРИДНОГО (*HEMEROCALLIS HYBRIDA* VAR. «STELLA DE ORO»)

© С. М. Марчишин¹, О. В. Зарічанська², С. Ю. Чолач¹

ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України»¹

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова²

Резюме: вперше визначено гостру токсичність густих екстрактів квіток ліліїника бурого-жовтого та ліліїника гібридного сорту «Stella De Oro»; досліджувані субстанції віднесено до V класу токсичності сполук за класифікацією Hodge та Sterner (практично нетоксичні речовини – $LD_{50} > 5000$ мг/кг). Встановлено вплив досліджуваних екстрактів на поведінкові реакції та емоційний стан, депресивну поведінку та фізичну витривалість лабораторних мишей з використанням поведінкових тестів. Виявлено різнобічний виразний вплив досліджуваних густих екстрактів на центральну нервову систему та фізичну витривалість лабораторних мишей.

Ключові слова: густий екстракт, квітки, ліліїник бурого-жовтий, ліліїник гібридний сорту «Stella De Oro», гостра токсичність, нейротропні властивості.

Вступ. У сучасних умовах практично жодній людині не вдається уникати стресових ситуацій, які можуть призводити до проявів функціональних порушень роботи центральної нервової системи – неврозів. Тривожні стани, депресія, порушення сну і розлади емоційної сфери за поширеністю серед населення земної кулі набувають значних масштабів [1]. У зв'язку з актуальністю проблеми перспективним є пошук безпечних і ефективних засобів корекції легких проявів неврозу серед препаратів рослинного походження.

З джерел літератури [12, 13] відомо, що препарати із квіток рослин роду Ліліїник (*Heimerocallis* L.) проявляють вплив на нервову систему і використовуються

в народній медицині Китаю, Японії та країн Північної Америки для лікування депресії, безсоння та інших психоемоційних розладів.

Попередньо нами було проведено комплексне фітохімічне дослідження сировини двох видів ліліїників – ліліїника бурого-жовтого (*Heimerocallis fulva* L.) та ліліїника гібридного (*Heimerocallis hybrida* var. «Stella De Oro») [6, 7, 8, 9, 16, 17]. Дані види широко використовуються як квітничково-декоративні рослини. Зовнішні ознаки квіток досліджуваних видів ліліїника представлені на рисунках 1 і 2.

Аналіз якісного складу і кількісного вмісту біологічно активних речовин у квітках досліджуваних видів



Рис. 1. Ліліїник бурого-жовтий.



Рис. 2. Ліліїник гібридний сорту «Stella De Oro».

лілійників свідчить про доцільність створення фіто-субстанцій на їх основі та дослідження їх фармакологічних властивостей.

Отже, **метою** даних досліджень було визначення безпечності густих екстрактів з квіток лілійника бурожового та лілійника гібридного, встановлення впливу досліджуваних екстрактів на поведінкові реакції та емоційний стан, депресивну поведінку та фізичну витривалість лабораторних мишей.

Методи дослідження. Дослідження проведено на 48 білих нелінійних мишах самців масою 18–25 г, яких розподілили на 8 груп (n=6): 1 група – контрольна; 2–5 групи – тварини, яких вводили густі екстракти квіток лілійника бурожового (далі – ЕЛБЖ) та лілійника гібридного сорту «*Stella De Oro*» (далі – ЕЛГ) у вигляді водних розчинів внутрішньошлунково у дозах 100 та 250 мг/кг. 6–8 групи отримували препарати порівняння відповідно до поведінкової моделі – іміпрамін (розчин для ін'єкцій «Меліпрамін», Egis, Угорщина) у дозі 25 мг/кг внутрішньоочеревинно [2, 9, 10, 16], та субстанцію 2-етилтіобензимидазолу гідробромід (2-ЕТБІ) – діючу речовину препаратів із доведеними актопротекторними властивостями «Бемітил» та «Метапрот» в дозі 50 мг/кг внутрішньоочеревинно [3].

Досліджувані екстракти та референс-препарати вводили в профілактичному режимі протягом 3–5 днів, востаннє за 30 хв до проведення тестів. Тваринам контрольної групи вводили в шлунок воду очищену в аналогічному об'ємі (0,1 мл на 10 г маси тіла).

Для встановлення впливу ЕЛБЖ та ЕЛГ на поведінкові реакції та емоційний стан інтактних тварин використовували загальноприйнятий тест відкритого поля [2, 4, 5, 9]. Ця модель дозволяє встановити загальний збуджувальний або пригнічувальний характер впливу препаратів, що досліджуються, на ЦНС. Після 5 хвилин перебування в темній клітці мишу розміщували в центрі поля. Тестовий період тривав 3 хв. Оцінку впливу на поведінку тварин проводили за такими критеріями: кількість пересічених квадратів (локомоторна активність), вертикальних стійок та обстежених отворів (орієнтовно-дослідницька діяльність). Також реєстрували показники вегетативного супроводу емоційних реакцій: кількість фекальних болюсів, актів уринації та грумінгу.

Для оцінки впливу ЕЛБЖ та ЕЛГ на депресивну поведінку обрано тест підвищування мишей за хвіст

[9, 15]. Як критерії ефективності розраховували сумарний час нерухомого зависання тварин та кількість актів іммобільності впродовж 6 хв.

Тест плавання з навантаженням використано для визначення впливу досліджуваних препаратів на фізичну витривалість тварин. Навантаження (10 % від маси тіла) закріплювали на корені хвоста. Тварин поміщали до круглого басейну діаметром 30 см із водою кімнатної температури (20–22 °С). Товщина шару води становила 25 см, висота бортів 12 см, що не дозволяло мишам врятуватися на стінці басейну. Реєстрували час плавання до виснаження, критерієм якого було занурення голови тварини під воду з неможливістю впливти на поверхню протягом 10 с [2, 3].

Усі досліди з виявлення ефектів певного препарату у поведінкових тестах виконували синхронно з відповідним контролем, оскільки ефекти значною мірою залежать від хронофармакологічного чинника [11].

Для визначення гострої токсичності ЕЛБЖ та ЕЛГ миші-самці (по 3 тварини у кожній експериментальній групі) внутрішньошлунково отримували водні розчини екстрактів у дозі 5000 мг/кг однократно [14]. За тваринами спостерігали протягом 2 тижнів.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми *STATISTICA 8.0* методами варіаційної статистики з використанням таких показників: середнього значення, стандартного відхилення, похибки середнього, достовірності відмінностей між групами порівняння за параметричним критерієм Стюдента (t) – у випадках нормального розподілу, непараметричним критерієм Манна-Уїтні (U), при обліку даних в альтернативній формі – за кутовим перетворенням Фішера, довірчого інтервалу (p); відмінності вважали достовірними при $p < 0,05$.

Результати й обговорення. При оцінці гострої токсичності через 30 хв після введення екстрактів у дозі, що у 50 разів перевищує умовно ефективну (5000 мг/кг), відмічено лише нетривале зниження локомоторної активності мишей. Цей ефект, ймовірно, зумовлений перевантаженням об'ємом розчинів фітоекстрактів. Жодних інших симптомів отруєння, як от порушення координації рухів, бічного положення, блефароптозу, гіперсаливації тощо не спостерігали. Внутрішньошлункове введення ЕЛБЖ та ЕЛГ у дозі 5000 мг/кг через 2 тижні не призвело до загибелі тварин (табл. 1). Отже, досліджувані препарати відно-

Таблиця 1. Визначення гострої токсичності густих екстрактів квіток лілійника бурожового та лілійника гібридного сорту «*Stella De Oro*» у мишей при внутрішньошлунковому введенні

Препарат	Доза, мг/кг	Летальність	
		абс.	%
ЕЛБЖ	5000	0/3	0
ЕЛГ	5000	0/3	0

Примітка. ЕЛБЖ – густий екстракт квіток лілійника бурожового; ЕЛГ – густий екстракт квіток лілійника гібридного сорту «*Stella De Oro*».

сять до V класу токсичності сполук за класифікацією Hodge та Sterner (практично нетоксичні речовини – $LD_{50} > 5000$ мг/кг) [14].

За результатами тесту відкритого поля встановлено протилежний вплив густих екстрактів квіток лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту «Stella De Oro» на поведінку та емоційний стан мишей (табл. 2).

Так, ЕЛБЖ у дозі 100 мг/кг проявив виразну збуджувальну (тонізуючу) дію: спостерігали вірогідне збільшення кількості пересічених квадратів у 1,7 раза та суми обстежених отворів і стійок у 1,4 раза, а також достовірне зростання сумарного показника усіх видів активності в 1,6 раза порівняно з контролем, що свідчить про стимулювання локомоторної активності та орієнтувально-дослідницької діяльності. У дозі 250 мг/кг ЕЛБЖ чинить збуджувальну дію лише на рівні тенденції – зміни усіх показників не досягли рівня статистичної значущості відносно контролю. Жодного впливу на емоційні реакції тварин за змінами кількості фекальних болюсів, актів уринацій та грумінгу ЕЛБЖ як у дозі 100 мг/кг, так і в дозі 250 мг/кг не виявив.

На противагу ЕЛБЖ, ЕЛГ у більшій дозі – 250 мг/кг – виявив виразну седативну дію за достовірним зменшенням показника локомоторної активності у

1,4 раза та тенденційним зниженням дослідницької активності у 1,2 раза відносно контролю. Крім того, ЕЛГ у дозі 250 мг/кг зменшував кількість актів грумінгу ($p < 0,05$) відносно групи контролю, що свідчить про редукування емоційної лабільності тварин.

За умов іммобілізаційного тесту поведінкового відчаю встановлено виразні антидепресивні властивості ЕЛГ у дозі 250 мг/кг, які наближені до рівня активності трициклічного антидепресанту іміпраміну. Спостерігали зменшення сумарного часу нерухомого зависання тварин та кількості актів іммобільності відповідно у 1,7 та 2 рази відносно контролю (табл. 3). Зниження сумарного часу нерухомого зависання також відмічено у групах тварин, що отримували ЕЛГ у дозі 100 мг/кг та екстракт № 1 у дозі 250 мг/кг, однак через високу дисперсію показника ці відмінності не досягли рівня статистичної значущості.

ЕЛБЖ та ЕЛГ в обох досліджуваних дозах не впливали на фізичну витривалість мишей у тесті примусового плавання з навантаженням (табл. 4), тоді як 2-ЕТБІ чинив виразну актопротекторну дію за достовірним збільшенням часу плавання тварин до повного виснаження в 1,6 раза відносно контролю.

Таблиця 2. Вплив густих екстрактів квіток лілійника буро-жовтого та лілійника гібридного сорту «Stella De Oro» на поведінку мишей у тесті відкритого поля ($M \pm m$)

Показники (за 3 хв)	Контроль (n=6)	ЕЛБЖ, 100 мг/кг (n=6)	ЕЛБЖ, 250 мг/кг (n=6)	ЕЛГ, 100 мг/кг (n=6)	ЕЛГ, 250 мг/кг (n=6)
Локомоторна активність (кількість перетнутих квадратів)	25,83±4,99	43,67±5,23 * (↑ 69%)	32,00±1,69 (↑ 24%)	29,67±5,58 (↑ 15%)	14,83±2,17 * (↓ 43%)
Орієнтувально-дослідницька діяльність:					
– кількість обстежених отворів	22,17±2,61	28,50±2,84	25,33±3,36	21,67±3,96	18,00±3,79
– кількість стійок	3,17±1,58	7,67±1,91	7,50±1,50	7,83±2,47	3,33±1,38
– сума	25,34±2,73	36,17±4,12 * (↑ 43%)	32,83±4,36 (↑ 30%)	29,50±6,00 (↑ 16%)	21,33±4,67 (↓ 16%)
Вегетативний супровід емоційних реакцій:					
– болюси	0,17±0,17	0,50±0,34	0,33±0,21	0,33±0,21	0,50±0,34
– уринації	0,00	0,00	0,00	0,00	0,17±0,17
– грумінг	0,83±0,31	0,50±0,22	0,83±0,40	0,83±0,40	0,00 *
– сума	1,00±0,26	1,00±0,37	1,17±0,40 (↑ 17%)	1,17±0,54 (↑ 17%)	0,67±0,33 (↓ 33%)
Сума усіх видів активності	52,17±5,96	80,83±8,98 * (↑ 55%)	66,00±4,99 (↑ 27%)	60,83±10,50 (↑ 17%)	36,83±6,71 (↓ 29%)

Примітки:

- 1) * – статистично достовірні відмінності відносно контролю ($p < 0,05$);
- 2) ЕЛБЖ – густий екстракт квіток лілійника буро-жовтого; ЕЛГ – густий екстракт квіток лілійника гібридного сорту «Stella De Oro»
- 3) ↑ – збільшення, ↓ – зменшення показника.

Фармакологічні дослідження біологічно активних речовин
Pharmacological researches of biologically active substances

Таблиця 3. Вплив густих екстрактів квіток ліліїника буро-жовтого, ліліїника гібридного сорту «*Stella De Oro*» та іміпраміну на депресивну поведінку мишей за умов іммобілізаційного тесту поведінки відчаю ($M \pm m$)

Групи	Сумарний час нерухомого зависання, с	Кількість актів іммобільності
Контроль	124,50±15,03	17,33±1,54
ЕЛБЖ, 100 мг/кг	120,67±9,11	13,50±1,77
ЕЛБЖ, 250 мг/кг	92,50±10,61	18,50±1,06
ЕЛГ, 100 мг/кг	82,50±22,34	11,67±2,70
ЕЛГ, 250 мг/кг	72,00±15,44 *	8,83±1,74 **
Іміпрамін, 25 мг/кг	84,30±11,34 *	6,54±1,08 **

Примітки:

Статистично достовірні відмінності відносно контролю: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$;

ЕЛБЖ – густий екстракт квіток ліліїника буро-жовтого; ЕЛГ – густий екстракт квіток ліліїника гібридного сорту «*Stella De Oro*»;

n – кількість тварин у групі; n=6.

Таблиця 4. Вплив екстрактів ліліїника буро-жовтого, ліліїника гібридного сорту «*Stella De Oro*» та 2-етилтіобензімідазолу гідроброміду на фізичну витривалість мишей за умов тесту примусового плавання з навантаженням ($M \pm m$)

Групи	Час плавання до повного виснаження, хв
Контроль	7,18±0,49
ЕЛБЖ, 100 мг/кг	7,75±0,55
ЕЛБЖ, 250 мг/кг	6,91±0,56
ЕЛГ, 100 мг/кг	6,87±0,40
ЕЛГ, 250 мг/кг	7,09±0,73
2-ЕТБІ, 50 мг/кг	11,39±1,58 *

Примітки:

* – статистично достовірні відмінності відносно контролю ($p < 0,05$);

ЕЛБЖ – густий екстракт квіток ліліїника буро-жовтого; ЕЛГ – густий екстракт квіток ліліїника гібридного сорту «*Stella De Oro*»; 2-ЕТБІ – 2-етилтіобензімідазолу гідробромід;

n – кількість тварин у групі; n=6.

Висновок. У результаті проведених досліджень встановлено статистично достовірні дані щодо безпечності та фармакологічної нейротропної активності густих екстрактів квіток ліліїника буро-жовтого та ліліїника гібридного сорту «*Stella De Oro*» в експерименті за участю лабораторних мишей. За результатами дослідження гострої токсичності досліджувані густі екстракти віднесено до V класу токсичності сполук за класифікацією *Hodge* та *Sternier* (практично нетоксичні речовини – $LD_{50} > 5000$ мг/кг). Густий екстракт квіток ліліїника буро-жовтого в дозі 100 мг/кг проявив стимулюючий

вплив на поведінку мишей у тесті відкритого поля, а густий екстракт ліліїника гібридного сорту «*Stella De Oro*» у дозі 250 мг/кг проявив протилежну – седативну дію. Також встановлено виразні антидепресивні властивості густого екстракту квіток ліліїника гібридного сорту «*Stella De Oro*» у дозі 250 мг/кг за результатами іммобілізаційного тесту поведінкового відчаю. Досліджувані густі екстракти не проявили впливу на фізичну витривалість мишей у тесті примусового плавання з навантаженням порівняно з 2-етилтіобензімідазолу гідробромідом, який виявив виразний актопротекторний ефект.

Список літератури

1. Азімова Ю. Е. Депресія і її соматичні прояви / Ю.Е. Азімова, Г. Р. Табєєва // Лечащий врач. – 2009. – [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.lvrach.ru/2009/09/10637387/>
2. Акімова М. С. Експериментальне дослідження стреспротекторних властивостей кріподрібненого

- порошку аронії чорноплідної при гіпокінетичному стресі : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. фарм. наук : спец. 14.03.05 «Фармакологія» / М. С. Акімова ; Національний фармацевтичний університет. – Харків, 2014. – 20 с.
3. Експериментальне вивчення нових адаптогенних

- засобів: метод, рекомендації / Л. В. Яковлева, О. Я. Міценко, Ю. Б. Лар'яновська, О. Ю. Кошова та ін. – К. : ДФЦ, 2009. – 38 с.
4. Коновалова О. Ю. Аналіз ринку антидепресивних препаратів на основі звіробою звичайного, які зареєстровані в Україні / О. Ю. Коновалова, Т. К. Шураєва, Т. В. Джан // Фармацевтичний часопис. – 2010. – № 2. – С. 52–57.
5. Куркин В. А. Изучение нейротропной активности новых лекарственных препаратов из травы зверобоя / В. А. Куркин, А. В. Дубищев, О. Е. Правдивцева // Медицинский альманах. – 2009. – № 4 (9). – С. 33–36.
6. Марчишин С. М. Вміст амінокислот у підземних і надземних органах лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Hemerocallis hybrida* var. «*Stella De Oro*») / С. М. Марчишин, О. В. Зарічанська // Фармацевтичний часопис. – 2015. – № 1(33). – С. 11–14.
7. Марчишин С. М. Вміст карбонових кислот у підземних і надземних органах лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Hemerocallis hybrida* var. «*Stella De Oro*») / С. М. Марчишин, С. С. Козачок, О. В. Зарічанська // Фармацевтичний журнал. – 2015. – № 2. – С. 53–57.
8. Марчишин С. М. Дослідження флавоноїдів надземних органів лілійника буро-жовтого (*Hemerocallis fulva* L.) та лілійника гібридного (*Hemerocallis hybrida* var. «*Stella De Oro*») / С. М. Марчишин, О. В. Зарічанська, М. С. Гарник // Фітотерапія. Часопис. – 2015. – № 3. – С. 52–55.
9. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / под ред. д. мед. наук А. Н. Миронова. – Часть первая. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.
10. Цокало І. Є. Експериментальне вивчення стреспротекторної й актопротекторної дії композиції ехінацеї та бурштинової кислоти / І. Є. Цокало, О. І. Зайцев, К. Г. Щокіна // Фармаком. – 2010. – № 4. – С. 72–75.
11. Deacon R. M. Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments / R. M. Deacon // Nature Protocols. – 2006. – Vol. 1. – № 2. – P. 936–946.
12. Eico Uezu. Effects of *Hemerocallis* on sleep in mice / College of Education, University of the Ryukyus, Okinawa, Japan. Psychiatry and Clinical Neurosciences, –1998; Vol. 52(2). – P. 136–137.
13. Handbook of medicinal herbs / James A. Duke, Mary Jo Bogenschutz-Godwin, Judi duCellier, Peggy-Ann K. Duke. – 2nd ed. – CRC Press LLC, 2002. – P. 246.
14. Hodge H. C. Tabulation of toxicity classes / H. C. Hodge, L. H. Sterner // Am. Industr. Hyg. Ass. Quart. – 1943. – Vol. 10. – № 4. – P. 93.
15. Porsolt R. D. Behavioral models of depression / R. D. Porsolt, A. Lenegre, J.M. Elliot [et al.] // Experimental Approaches to Anxiety and Depression. – Chichester New York, 1992. – P. 73–85.
16. Zarichanska Olena. Investigation of the volatile oil in modified roots, flowers and leaves of *Hemerocallis* species / Olena Zarichanska, Svitlana Marchyshyn, Myroslava Garnyk // 46th International Symposium on Essential Oils 2015 Abstracts. Natural Volatiles and Essential Oils – 2015. – №2(3) – Lublin (Poland), September 13-16, 2015. – PP–099.
17. Zarichanska O. V. Qualitative composition and quantitative content of macro- and microelements in plant raw materials of plants of *Hemerocallis* L. genus / O. V. Zarichanska // Topical issues of new drugs development. International Scientific And Practical Conference Of Young Scientists And Student, NUPh – April 23, 2015. – P.111–112.

ИССЛЕДОВАНИЕ ОСТРОЙ ТОКСИЧНОСТИ И НЕЙРОТРОПНЫХ СВОЙСТВ ГУСТЫХ ЭКСТРАКТОВ ЦВЕТКОВ ЛИЛЕЙНИКА БУРО-ЖЕЛТОГО (*HEMEROCALLIS FULVA* L.) И ЛИЛЕЙНИКА ГИБРИДНОГО (*HEMEROCALLIS HYBRIDA* VAR. «*STELLA DE ORO*»)

С. М. Марчишин¹, Е. В. Заричанская², С. Ю. Чолач¹

ГВУЗ «Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МЗ Украины»¹

Винницкий национальный медицинский университет имени Н. И. Пирогова²

Резюме: впервые определена острая токсичность густых экстрактов цветков лилейника буро-желтого и лилейника гибридного сорта «*Stella De Oro*»; исследуемые субстанции отнесены к V классу токсичности веществ согласно классификации Hodge и Sterner (практически нетоксичные вещества – $LD_{50} > 5000$ мг/кг). Установлено влияние исследуемых экстрактов на поведенческие реакции и эмоциональное состояние, депрессивное поведение и физическую выносливость лабораторных мышей с использованием поведенческих тестов. Выявлено разностороннее выразительное влияние исследуемых густых экстрактов на центральную нервную систему и физическую выносливость лабораторных мышей.

Ключевые слова: густой экстракт, цветки, лилейник буро-желтый, лилейник гибридный сорта «*Stella De Oro*», острая токсичность, нейротропные свойства.

INVESTIGATION OF ACUTE TOXICITY AND NEUROTROPIC PROPERTIES OF THE FLOWERS' DENSE EXTRACTS OF TAWNY DAYLILY (*HEMEROCALLIS FULVA* L.) AND HYBRID DAYLILY (*HEMEROCALLIS HYBRIDA* VAR. «STELLA DE ORO»)

S. M. Marchyshyn¹, O. V. Zarichanska², S. Yu. Cholach¹

I. Horbachevsky Ternopil State Medical University¹

Vinnitsia National Memorial Medical University by M. I. Pyrohov²

Summary: the acute toxicity of the dense extracts from flowers of tawny daylily and hybrid daylily of «*Stella De Oro*» variant has been determined for the first time; the investigated substances have been assigned to the 5th class of substances' toxicity according to the classification of *Hodge* and *Sterner* (practically non-toxic substances – $LD_{50} > 5000$ mg/kg). The effect of investigated extracts on behavioral reactions and emotional condition, depressive behavior and physical endurance of laboratory mice has been defined using behavioral tests. Diverse and expressive influence of investigated thick extracts on central nervous system and physical endurance of laboratory mice has been elucidated.

Key words: thick extract, flowers, tawny daylily, hybrid daylily of «*Stella De Oro*» variant, acute toxicity, neurotropic properties.

Отримано 10.02.2016