

## ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ ГРАНУЛ НА ОСНОВЕ СУХОГО ЭКСТРАКТА ЛИПЫ СЕРДЦЕВИДНОЙ ЛИСТЬЕВ

Т.М. Медведева<sup>1</sup>, В.Ц. Болотова<sup>1</sup>, И.Е. Каухова<sup>1</sup>, Е.В. Дьяконова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГОУ ВПО Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия  
федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию

<sup>2</sup>Филиал ФГУП "НПО "Микроген" Минздравсоцразвития России в г. Томск "НПО "Вирион"

E-mail: irina.kaukhova@pharminnotech.com

## THE STUDY OF NEUROTROPIC ACTIVITY OF GRANULES ON THE BASIS OF TILIA CORDATA DRY EXTRACT

T.M. Medvedeva<sup>1</sup>, V.Z. Bolotova<sup>1</sup>, I.E. Kaukhova<sup>1</sup>, E.V. Dyakonova<sup>2</sup>

<sup>1</sup>St. Petersburg State Chemical Pharmaceutical Academy

<sup>2</sup>"Virion" – Tomsk Branch of the Federal State Unitary Company "Microgen" Scientific Industrial Company for Immunobiological Medicines" of the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation

Проведено исследование анксиолитической активности гранул на основе сухого экстракта листьев липы сердцевидной, полученного с применением двухфазной системы экстрагентов. Показано, что их применение способствует снижению уровня тревожности животных в условиях экспериментального психоэмоционального хронического стресса при курсовом введении.

**Ключевые слова:** липа сердцевидная, анксиолитическая активность, приподнятый крестообразный лабиринт.

The investigation of anxiolytic activity of the granules on the basis of Tilia Cordata dry extract was carried out. The extract was obtained by maceration of raw material with two-phase extragent system. It was revealed that oral administration of the granules causes a decrease in animal anxiety under experimental long-term psychoemotional stress in course dosing.

**Key words:** Tilia Cordata, anxiolytic activity, elevated plus maze.

### Введение

Жизнь современного человека, проживающего в мегаполисе, сопровождается большим количеством стрессовых ситуаций в сочетании с плохой экологией, что является причиной развития невроза, астенических состояний. У таких пациентов нарушается сон, развивается эмоциональная нестабильность, повышается тревожность, возникают частые головные боли, нарушается сердечная деятельность, работа кишечника – и это далеко не полный перечень патологий. Для лечения неврозов и астенических состояний часто применяют лекарственные средства синтетического происхождения, особенно анксиолитики и антидепрессанты, информация о которых широко представлена в справочной литературе [7–9]. Однако применение их сопровождается развитием ряда побочных эффектов, таких как сонливость, снижение концентрации внимания, привыкание и синдром отмены, что затрудняет их применение у водителей транспортных средств, людей, занятых точным трудом и работой со сложной техникой [8, 9]. В то же время они являются причиной госпитализации до трети пациентов, а сроки лечения увеличиваются до 15%.

Для коррекции легких нарушений ЦНС, вызванных стрессом, чаще применяют седативные лекарственные средства растительного происхождения, такие как настойки валерианы, пустырника и таблетки с экстрактами этих растений, успокоительные сборы, комбинированные препараты растительного происхождения в форме

сиропа и таблеток [2, 6, 9], а в виде гранул не выпускается ни один седативный препарат, поэтому является перспективным изучение нейротропной активности гранул на основе сухого экстракта листьев липы сердцевидной. Ранее проведенные исследования экстракта листьев липы на кафедре фармакологии СПХФА выявили широкий спектр фармакологической активности в сочетании с низкой токсичностью, как при однократном введении терапевтических доз, так и при курсовом приеме [1, 7], поэтому препараты на основе экстракта листьев липы могут применяться длительным курсом как у детей, так и у пациентов пожилого возраста, имеющих сопутствующие заболевания [6].

### Материал и методы

Фармакологические исследования проводили на белых беспородных крысах самцах массой тела 150–250 г, полученных из питомника "Рапполово". Животных содержали в условиях вивария на стандартном рационе.

Объектами исследования являются гранулы на основе сухого экстракта липы сердцевидной листьев. Сухой экстракт получен из извлечения, в качестве экстрагента использовали двухфазную систему хлористый метилен – спирт этиловый – вода очищенная в объемном соотношении 30:45:25.

Психофизиологический статус животных определяли методом "Открытое поле" при помощи прибора, позволяющего одновременно наблюдать поведение живот-

ного в “открытом поле” и оценивать норковый рефлекс в модификации. В эксперименте за 5 мин наблюдения регистрировали суммарное время остановок, время ухода с центра арены, число пересеченных и обследованных квадратов, подъемов на задние лапки, заглядываний за край, заглядываний в отверстия (“норки”), а также груминг, количество дефекаций и уринаций. По истечению этого времени, не снимая крысу с арены, проверяли ее реакцию на хлопок и захват рукой (хэндинг).

Путем обработки полученных результатов определяли ориентировочную и поисковую активности, эмоциональную лабильность и агрессивность. Для каждого животного определяли индивидуальный профиль, соответствующий разной степени устойчивости к экстремальным воздействиям. На основании этих данных в каждом конкретном случае в контрольные и опытные группы подбирали животных с близкими психофизиологическими профилями.

Влияние препарата на эмоциональную лабильность крыс самцов и выраженность психоседативного эффекта определяли по результатам теста “открытое поле”. Психоседативный эффект оценивали в условных единицах, как сумму баллов, в ответ на звуковой (хлопок) и тактильный (захват рукой) раздражители. Эмоциональную лабильность так же оценивали в условных единицах – как сумму баллов при подсчете числа уринаций и дефекаций животных в течение 5 мин пребывания их на площадке [5].

В тесте “приподнятый крестообразный лабиринт” (ПКЛ) оценивали анксиолитическую активность препаратов. Крысу помещали в центр установки, которая состояла из крестообразно расходящихся от центральной площадки под прямым углом 4 рукавов длиной 45 и шириной 10 см (высота стенок в закрытых рукавах 10 см): два противоположных открытых, без стенок, и два закрытых, темных. В центре расположенных крест-накрест рукавов лабиринта находится открытая площадка размером 10 на 10 см. Эксперименты проводились при обычном освещении в течение 3 мин.

Тест позволяет оценить уровень тревожности животных под влиянием фармакологических средств. В течение эксперимента определяли время, проведенное животными в открытых и закрытых рукавах, число заходов в открытые и закрытые рукава, количество свешиваний и выглядываний с открытого рукава, количество стоек, гру-

минг, время нахождения на центральной площадке, латентный период первого захода в открытый рукав, число уринаций и дефекаций [2, 3, 4, 10].

Эксперименты поставлены на 50 крысах самцах массой тела 110–180 г. Гранулы вводили перорально, один раз в день в дозах 650 и 25 мг/кг. Препаратом сравнения был выбран дневной анксиолитик (транквилизатор) тофизолам (Грандаксин) в дозе 8,4 мг/кг. Животные контрольной группы (КГ) получали воду очищенную в дозе 10 мл/кг. Препарат сравнения и воду очищенную вводили аналогично ГСЭЛ перорально 1 раз в сутки. Курс введения препаратов составлял 7 дней.

Результаты исследований подвергались статистической обработке. Полученные цифровые данные обрабатывались с использованием программ Microsoft Office Excel 2003, Statistica 7.0 для Windows XP. Различия считали значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты и обсуждение

Эксперименты по оценке влияния гранул на основе сухого экстракта листьев липы (ГСЭЛ) на поведенческие функции ЦНС в условиях экспериментального психоэмоционального хронического стресса (ЭХПЭС) поставлены на 50 крысах самцах массой тела 110–180 г. Гранулы вводили перорально, один раз в день в дозах 650 и 25 мг/кг. Препаратом сравнения был выбран дневной анксиолитик (транквилизатор) тофизолам (Грандаксин) в дозе 8,4 мг/кг. Животные контрольной группы (КГ) получали воду очищенную в дозе 10 мл/кг. Препарат сравнения и воду очищенную вводили аналогично ГСЭЛ перорально 1 раз в сутки. Курс введения препаратов составлял 7 дней. Результаты исследований представлены в таблице 1.

Результаты, полученные в тесте ПКЛ, показали, что в группе животных, получавших Грандаксин в дозе 8,4 мг/кг по сравнению с крысами КГ в условиях ЭХПЭС, проявлялось анксиолитическое действие: в 2,3 раза увеличивалось время нахождения животных в открытых рукавах, уменьшилось в 2 раза число их заходов в закрытые рукава и в 1,3 раза – количество выглядываний из открытых рукавов.

При введении крысам ГСЭЛ в дозах 650 и 25 мг/кг по сравнению с животными КГ в условиях ЭХПЭС, также проявлялось анксиолитическое действие этих средств.

Таблица 1

### Влияние ГСЭЛ на уровень тревожности животных в условиях нормы и экспериментального невротического состояния

Группа животных, показатели	Невротизированные крысы (контроль)	Невротизированные крысы (+ Грандаксин)	Невротизированные крысы (+ ГСЭЛ)	Невротизированные крысы (+ ГСЭЛ)
Доза, мл/кг	10	8,4	650	25
Время нахождения в закрытом рукаве, с	280,0±20,0	277,0±33,9	264,0±11,4	280,0±8,7
Время нахождения в открытом рукаве, с	10,0±0	23,0±3,0*	36,0±8,3*	20,0±6,7*
Количество заходов в закрытые рукава, с	4,0±0,4	2,0±0,3*	4,2±0,7	3,4±0,4*
Количество заходов в открытые рукава, с	3,8±0,3	3,2±0,3	5,4±0,3*	3,9±0,5
Количество свешиваний, раз	6,3±0,6	3,0±0,4*	6,4±0,3	2,1±0,1*
Количество выглядываний, раз	4,3±0,4	3,2±0,5*	6,4±0,4*	2,0±0,3*
Количество стоек, раз	7,0±0,8	5,0±0,6*	10,0±0,4*	3,9±0,3*
Время нахождения на центральной площадке	0±0	0±0	0±0	0±0

Примечание: \* –  $p < 0,05$  достоверность различий по отношению к контролю.

Однако в дозе 650 мг/кг ГСЭЛ проявляли более выраженный анксиолитический эффект по сравнению с препаратом сравнения Грандаксином, а в дозе 25 мг/кг анксиолитическое действие гранул было сопоставимо с действием Грандаксина в дозе 8,4 мг/кг.

Интересные результаты были получены в группах животных, для которых предварительно был определен психоэмоциональный статус. В начале эксперимента животных протестировали в тесте "открытое поле". По психоэмоциональному статусу крысы самцы были разделены на: умеренно-высокоустойчивых (УВУ) и умеренно-низкоустойчивых (УНУ) животных. Из этих животных были сформированы группы. Результаты исследований по изучению влияния гранул из листьев липы на уровень тревожности УВУ животных представлены в таблице 2, а в УНУ – в таблице 3.

Результаты, полученные в тесте ПКЛ, показали, что в группе УВУ животных, получавших Грандаксин в дозе 8,4 мг/кг, по сравнению с КГ крыс в условиях ЭХПЭС проявлялось анксиогенное действие, т.е. увеличивался уровень тревожности: уменьшалось в 6,8 раз время нахождения, в 8,8 раз число заходов и в 10 раз количество выглядываний животных в открытых рукавах.

В группе УВУ животных, получавших ГСЭЛ в дозе 650 мг/кг, по сравнению с КГ крыс в условиях ЭХПЭС, проявлялось анксиолитическое действие: в 1,9 раза увеличилось время нахождения животных в открытых рукавах, число заходов в открытые рукава увеличилось в 1,2

раза.

Анксиолитический эффект ГСЭЛ проявлялся также в дозе 25 мг/кг, но по выраженности уступал гранулам в дозе 650 мг/кг.

Как видно из результатов, полученных в тесте ПКЛ, в группе УНУ животных в условиях ЭХПЭС применение Грандаксина в дозе 8,4 мг/кг, по сравнению с КГ приводило к проявлению анксиолитического действия: увеличилось в 3,4 раз время нахождения, в 2,8 раз число заходов и в 2 раза количество выглядываний животных в открытых рукавах.

В группе УНУ животных, получавших ГСЭЛ в дозе 650 мг/кг по сравнению с КГ крыс в условиях ЭХПЭС проявлялось анксиолитическое действие: в 5,8 раз увеличилось время нахождения животных в открытых рукавах, число заходов в открытые рукава увеличилось в 3,2 раза.

Анксиолитический эффект ГСЭЛ проявлялся также в дозе 25 мг/кг, но по выраженности уступал гранулам в дозе 650 мг/кг.

В ходе проведенного исследования было установлено, что при курсовом (7-дневном) пероральном введении Грандаксина у группы УВУ животных повышался уровень тревожности, т.е. препарат проявлял анксиогенное действие, а в группе УНУ животных – анксиолитическое действие. В группах УВУ и УНУ животных, получавших ГСЭЛ в дозе 25 и 650 мг/кг, наблюдали снижение уровня тревожности.

Таблица 2

**Влияние ГСЭЛ на уровень тревожности УВУ животных в условиях экспериментального невротического состояния**

Группа животных, показатели	Невротизированные крысы (контроль)	Невротизированные крысы (+ Грандаксин)	Невротизированные крысы (+ ГСЭЛ)	Невротизированные крысы (+ ГСЭЛ)
Доза, мг/кг	10	8,4	650	25
Время нахождения в закрытом рукаве, с	278,0±20,0	297,5±5,0	267,0±9,4	278,4±10,4
Время нахождения в открытом рукаве, с	17,0±0,2	2,5±0,4*	32,5±8,3*	21,7±6,7
Количество заходов в закрытые рукава, с	2,8±0,4	1,25±0,5*	1,5±0,6*	2,5±0,7
Количество заходов в открытые рукава, с	2,2±0,3	0,25±0,3*	2,7±0,3*	2,5±0,7
Количество свешиваний, раз	2,4±0,6	0,5±0,04*	5,5±0,7*	2,3±0,1
Количество выглядываний, раз	5,0±0,4	0,5±0,05*	5,5±0,4	1,5±0,6*
Количество стоек, раз	7,8±0,6	1,25±0,6*	7,5±0,4	5,5±0,3*
Время нахождения на центральной площадке	5,0±0,4	0±0	0±0	0±0

Примечание: \* –  $p < 0,05$  достоверность различий по отношению к контролю.

Таблица 3

**Влияние гранул из листьев липы на уровень тревожности УНУ животных в условиях экспериментального невротического состояния**

Группа животных, показатели	Невротизированные крысы (контроль)	Невротизированные крысы (+ Грандаксин)	Невротизированные крысы (+ ГСЭЛ)	Невротизированные крысы (+ ГСЭЛ)
Доза, мг/кг	10	8,4	650	25
Время нахождения в закрытом рукаве, с	277,0±10,6	235,0±21,2	187,5±13,4	277,0±8,7
Время нахождения в открытом рукаве, с	19,3±0,1	65,0±3,0*	112,5±8,3*	27,0±6,7*
Количество заходов в закрытые рукава, с	3,5±0,2	7,0±1,3*	7,0±0,7*	6,7±0,4*
Количество заходов в открытые рукава, с	2,0±0,8	5,5±0,7*	6,5±0,3*	5,0±0*
Количество свешиваний, раз	2,0±0,6	8,0±0,7*	9,0±0,3*	2,0±1,4
Количество выглядываний, раз	4,5±0,4	9,0±0,5*	4,5±0,7	6,5±0,3*
Количество стоек, раз	10,5±0,3	12,5±0,6*	12,0±0,4	9,5±,3
Время нахождения на центральной площадке	3,8±0,5	0±0	0±0	0±0

Примечание: \* –  $p < 0,05$  достоверность различий по отношению к контролю.

### Заключение

В результате проведенных фармакологических исследований было доказано, что максимальный анксиолитический эффект наблюдался при введении ГСЭЛ в дозе 650 мг/кг как УВУ, так и УНУ животных, который превышал действие препарата сравнения – Грандаксина в дозе 8,4 мг/кг.

### Литература

1. Болотова В.Ц. Физико-химическое и фармакологическое изучение листьев липы сердцевидной и препаратов на их основе : дис. ... канд. фарм. наук : 15.00.02. – СПб., 2002. – 194 с.
2. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения / пер. с англ. Е.Н. Живописцевой ; под ред. А.С. Батуева. – М. : Высш. школа, 1991. – 398 с.
3. Гудашева Т.А., Константинопольский М.А., Островская Р.У. и др. Анксиолитическая активность эндогенного ноотропного пептида циклопропилглицина в тесте приподнятого крестообразного лабиринта // Бюлл. эксперим. биологии и медицины. – 2001. – Т. 131, № 5. – С. 547–550.
4. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Методические указания по изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М. : Ремедиум, 2000. – С. 126–136.
5. Лесиовская Е.Е., Велелова И.Б. Усовершенствованный способ оценки психофизиологического профиля животных. Предложение № 337 от 15.11.1989 г. – Л. : ЛХФИ, 1990. – 18 с.
6. Лесиовская Е.Е., Пастушенков Л.В. Фармакотерапия с основами фитотерапии : учебное пособие. – 2-е изд. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2003. – 592 с.
7. Пастушенков Л.В., Лесиовская Е.Е. Растения-антигипоксанта (фитотерапия). – СПб. : Деан, 1998. – 384 с.
8. Справочник лекарств РЛС [Электронный ресурс]. – URL: <http://www.rlsnet.ru>. – (дата обращения: 30.04.2011).
9. Харкевич Д.А. Фармакология : учебник. – 6-е изд., перераб. и доп. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 1999. – 664 с.
10. File S.E. Animal models of anxiety states // Advances in Biochemical Psychopharmacology. – 1996. – No. 48. – P. 93–113.

*Поступила 05.05.2011*