

ВЛИЯНИЕ ИЗВЛЕЧЕНИЙ СЕДАТИВНОГО СБОРА НА ОРИЕНТИРОВОЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЕ ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ

Быстрова М.Н., Демидова М.А., Панина Г.А., Жолобов И.С., Гальчинская И.Л.

*ГБОУ ВПО Тверская государственная медицинская академия, Тверь
Тверь, Россия, (170100, Тверь, ул. Советская, 4)*

Лекарственные растения наряду с синтетическими препаратами занимают видное место в арсенале лекарственных средств, они сочетают в себе широту и мягкость терапевтического действия с отсутствием значительного числа побочных эффектов в случае рационального применения. Поэтому целесообразным является применение фитопрепаратов для лечения хронических заболеваний, в том числе патологий центральной нервной системы. Фитопрепараты используют в виде водных извлечений. Из них возможно получение и других лекарственных форм, в том числе настоек и экстрактов. В статье изложены данные о сравнительном исследовании влияния раствора экстракта сухого и настоя седативного сбора №3 на ориентировочно-исследовательское поведение мышей. В эксперименте установлено, что при однократном внутрижелудочном введении экстракт сухой (355 мг/кг) и настой (355 мг/кг в пересчете на сухое вещество) седативного сбора №3 не влияют, а при ежедневном применении в течение месяца угнетают ориентировочно-исследовательское поведение подопытных животных.

Ключевые слова: седативный сбор, ориентировочно-исследовательское поведение, мыши.

THE INFLUENCE OF SEDATIVE GATHERING PREPARATIONS ON ROUGHLY-RESEARCH BEHAVIOUR OF MICE

Bystrova M.N., Demidova M.A., Panina G.A., Zholobov I.S., Galchinskaya I.L.

*Tver state medical academy, Tver
Tver, Russia (170100, Tver, Sovetskaya Street, 4)*

Herbs along with synthetic preparations rank high in a range of medical products, they combine width and softness of therapeutic action with absence of considerable number of side-effects in case of rational application. Therefore application of phytopreparations for treatment of chronic diseases, including pathologies of the central nervous system is rational. Phytopreparations are used in the form of water extraction. Other medicinal forms on their basis including tinctures and extracts are possible. A comparative study of dry extract solution and sedative infusion of №3 gathering influence on roughly-research behavior of mice is presented. The experiments have shown that at unitary intragastric introduction an extract dry (355 mg/kg) and infusion (355 mg/kg in recalculation) sedative gathering don't influence solid, and at daily application within a month oppress roughly-research behavior of experimental animals.

Key words: sedative gathering, roughly-research behavior, mice.

Введение

В настоящее время во всем мире повышается потребность населения в седативных средствах. Эти препараты используют как в лечении пациентов с различными заболеваниями, так и у здоровых людей при стрессовых ситуациях. В нашей стране традиционно популярными являются фитотерапевтические средства, в том числе препараты валерианы лекарственной, пустырника пятилопастного, мяты перечной, синюхи голубой, ландыша майского и другие. Растительные препараты отличает низкая

токсичность, возможность длительного применения без существенных побочных эффектов, широкий спектр фармакологической активности, относительно низкая стоимость и простота производства.

Среди растительных препаратов имеются многокомпонентные лекарственные сборы, в том числе седативный сбор №3. Сбор используют в виде водных извлечений. Эта лекарственная форма, наряду с рядом преимуществ, обладает и существенными недостатками, связанными с приготовлением водных извлечений в соответствующем режиме, невозможностью точного дозирования, достаточно быстрой микробной контаминацией и коротким сроком годности. Она не позволяет полностью использовать весь комплекс биологически активных веществ, содержащихся в исходном растительном сырье. Весьма актуальным является перевод лекарственного растительного сырья, используемого для приготовления настоев и отваров, в сухие экстракты, как наиболее перспективную и рациональную форму [1,6]. Сухой водорастворимый экстракт седативного сбора № 3 был получен на базе ОАО «Биохиммаш». В связи с тем, что экстракт сухой является новой лекарственной формой седативного сбора №3, в соответствии с правилами доклинических испытаний необходимым является оценка его фармакологической активности [5,7].

Целью настоящего исследования явилась сравнительная оценка влияния раствора экстракта сухого и настоя седативного сбора №3 на ориентировочно-исследовательское поведение мышей.

Материалы и методы

Для исследования использовали седативный сбор №3 (ОАО Красногорсклексредства, Россия), в состав которого входит смесь измельченного растительного сырья: валерианы лекарственной корневища с корнями, донника лекарственного, тимьяна ползучего, душицы обыкновенной и пустырника пятилопастного травы. Экстракт сухой седативного сбора №3 получали в лабораторных условиях с использованием распылительной сушилки на базе ОАО «Биохиммаш». Показатели качества и технологические характеристики полученного экстракта сухого полностью соответствовали требованиям нормативной документации на данную лекарственную форму. Настой седативного сбора №3 изготавливали в соответствии с требованиями ГФ XI.

Эксперименты выполнены с использованием 30 белых беспородных мышей обоего пола массой $23,9 \pm 0,3$ г. Животных содержали в стандартных условиях вивария в соответствии с действующими Санитарными правилами по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Перед постановкой

эксперимента грызуны проходили карантин в течение 10-14 дней.

До начала эксперимента (с интервалом в 4 дня) регистрировали исходные характеристики поведения мышей, после чего подопытные животные были разделены на 3 группы. Мыши первой группы получали раствор экстракта сухого седативного сбора №3 ежедневно три раза в день внутрижелудочно с помощью специального зонда в течение месяца в дозе равной $1/20 LD_{50}$ (355 мг/кг). Подопытные животные второй серии опытов получали настой седативного сбора №3 в дозе 355 мг/кг в пересчете на сухое вещество по той же схеме; животные контрольной группы получали изотонический раствор натрия хлорида.

Влияние раствора экстракта сухого и настоя седативного сбора №3 на ориентировочно-исследовательскую активность мышей оценивали в тестах «открытое поле» и «норковый рефлекс» [2,3,4]. Исследование проводили на специальной площадке, ограниченной прозрачной стенкой и разбитой на окружности и сектора, расстояние между которыми соизмеримо с размерами мышей. За час до тестирования подопытных животных помещали в тихое, слабо освещенное помещение, в подготовительный период с мышами не проводили никаких манипуляций. Внутри площадки подопытных мышей помещали вместе с боксом, где животные находились в подготовительный период. Грызуны сами выходили в освещенное пространство через открытую дверцу бокса. Тестирование подопытных животных проводили утром в одно и то же время до начала эксперимента и через час после внутрижелудочного введения препаратов седативного сбора, затем еженедельно в течение месяца.

Оценивали влияние препаратов седативного сбора на горизонтальную двигательную активность мышей (по числу выходов подопытных животных в центр площадки), на вертикальную двигательную активность (по числу «вертикальных стоек» – вставаний мышей на задние лапки) и на «норковый рефлекс» (по числу обследований подопытными животными отверстий, находящихся в полу площадки) [2,4].

Результаты исследования обработаны статистически с применением стандартного пакета программ Microsoft Office Excel 2003. Для ряда выборок вычисляли среднюю арифметическую и среднюю квадратическую ошибку. Определение нормальности распределения переменных проводили на основании гистограмм распределения, величины асимметрии и эксцесса. Для оценки достоверности различий выборок, имеющих нормальное распределение, применяли параметрический t-критерий Стьюдента (парный и непарный). За достоверное принимали различие при уровне вероятности 95 % и более ($p < 0,05$).

Результаты и обсуждение

Анализ результатов экспериментального исследования показал, что при однократном внутрижелудочном введении препараты седативного сбора №3 достоверно не влияли на ориентировочно-исследовательское поведение подопытных мышей. Было выявлено, что выраженность «норкового» рефлекса, вертикальной и горизонтальной двигательной активности у подопытных мышей, получавших однократно как раствор экстракта сухого, так и настой седативного сбора №3, достоверно не отличались от их уровня до введения фитотерапевтических средств и значений соответствующих показателей у животных контрольной группы, получавших изотонический раствор натрия хлорида.

При длительном курсовом применении (в течение месяца) препаратов седативного сбора №3 в ориентировочно-исследовательском поведении подопытных мышей были отмечены существенные изменения. Так, например, было выявлено угнетение вертикальной двигательной активности подопытных животных, получавших экстракт сухой и настой седативного сбора №3 (таблица 1).

Таблица 1. Влияние раствора экстракта сухого и настоя седативного сбора №3 на вертикальную двигательную активность у мышей

№	Серия опытов	Частота вставания на задние лапки («вертикальные стойки»)			
		До опыта	1 час	2 нед	4 нед
1	Раствор экстракта сухого (355 мг/кг)	13,3 ± 1,3	11,3 ± 0,9	8,3 ± 1,0* [#]	6,4 ± 1,2* [#]
2	Настой седативного сбора (355 мг/кг в пересчете на сухое вещество)	13,3 ± 1,3	10,9 ± 1,0	7,2 ± 1,1* [#]	5,6 ± 0,7* [#]
3	Контроль изотонический раствор натрия хлорида	13,3 ± 1,3	12,9 ± 0,9	13,0 ± 1,2	13,3 ± 0,9

Примечание: * - различия со значением исследуемого показателя в контроле (изотонический раствор натрия хлорида) достоверны (p<0,05);

- различия со значением исследуемого показателя до опыта достоверны (p<0,05).

Вертикальная двигательная активность подопытных животных в тесте «открытое» поле характеризуется двумя видами «вертикальных стоек»: животные встают на задние лапы, а передние лапы упираются в стенку площадки (climbing) или остаются на весу (rearing). Известно, что по показателю «вертикальные стойки» оценивают мотивационную составляющую ориентировочно-исследовательского поведения подопытных животных [3,4]. Принимая вертикальное положение, грызуны пытаются войти в непрямой контакт с предметами, расположенными на расстоянии (принюхиваются). Было выявлено, что до начала эксперимента интактные мыши в тесте «открытое» поле совершали в среднем 13 «вертикальных стоек» ($13,3 \pm 1,3$ раз). При тестировании подопытных животных, получавших препараты седативного сбора №3 ежедневно в течение месяца, было отмечено уменьшение числа «вертикальных стоек» у мышей в сериях опытов с введением экстракта седативного сбора в среднем в 2,1 раза ($p < 0,05$), а в сериях опытов с применением настоя седативного сбора – в 2,4 раза ($p < 0,05$) по сравнению с исходным уровнем. Достоверных отличий в эффективности экстракта сухого и настоя исследуемого сбора выявлено не было. Уменьшение числа «вертикальных стоек» у подопытных животных под влиянием исследованных фитопрепаратов свидетельствует о наличии у них седативной активности.

Одной из характеристик ориентировочно-исследовательского поведения мышей в тесте «открытое» поле, позволяющих оценить горизонтальную двигательную активность, является выход подопытных животных в центр площадки. Попад в незнакомую обстановку, животные испытывают страх: при этом они стараются находиться и передвигаться вдоль стенки или сидят на периферии площадки. После оценки безопасности обстановки грызуны могут выйти к центральным секторам. Увеличение числа выходов подопытных животных в центр площадки свидетельствует о стимуляции ориентировочно-исследовательского поведения и снижении уровня дистресса, тогда как уменьшение числа выходов в центр площадки говорит об угнетении ориентировочно-исследовательского поведения.

Достоверных изменений горизонтальной двигательной активности у подопытных мышей, получавших в течение месяца экстракт сухой седативного сбора №3, выявлено не было (подопытные животные, как в группе наблюдения, так и в группе контроля, совершали в тесте «открытое» поле в среднем 3 выхода в центр площадки). Следует отметить, что при использовании настоя седативного сбора горизонтальная двигательная активность подопытных животных несколько снизилась (подопытные мыши этой группы совершали в среднем 2 выхода в центр площадки) (таблица 2).

Таблица 2. Влияние раствора экстракта сухого и настоя седативного сбора №3 на горизонтальную двигательную активность у мышей

№	Серия опытов	Число выходов в центр площадки			
		До опыта	1 час	2 нед	4 нед
1	Раствор экстракта сухого (355 мг/кг)	3,3 ± 0,3	3,0 ± 0,2	2,9 ± 0,3	2,7 ± 0,2
2	Настой седативного сбора (355 мг/кг в пересчете на сухое вещество)	3,3 ± 0,3	3,0 ± 0,2	2,9 ± 0,3	2,3 ± 0,3
3	Контроль изотонический раствор натрия хлорида	3,3 ± 0,3	3,2 ± 0,3	3,3 ± 0,2	3,3 ± 0,2

Примечание: * - различия со значением исследуемого показателя в контроле (изотонический раствор натрия хлорида) достоверны ($p < 0,05$);

- различия со значением исследуемого показателя до опыта достоверны ($p < 0,05$).

Разновидностью ориентировочно-исследовательского поведения мышей является «норковый» рефлекс, который свидетельствует о способности животных исследовать открытое поле. Обследование отверстий (находящихся в полу площадки) представляет собой обнюхивание краев отверстий или засовывание головы внутрь отверстий "по глаза". Было выявлено, что применение препаратов седативного сбора приводило к снижению «норкового» рефлекса у подопытных животных. Так, у подопытных мышей, получавших ежедневно в течение месяца препараты седативного сбора, частота обследования отверстий, находящихся в полу площадки, снизилась в среднем в 1,5 раза ($p < 0,05$) по сравнению с исходным уровнем. Достоверных различий в эффектах экстракта сухого и настоя сбора отмечено не было (таблица 3).

Таблица 3. Влияние раствора экстракта сухого и настоя седативного сбора №3 на "норковый рефлекс" подопытных животных

№	Серия опытов	Частота обследования отверстий, находящихся в полу площадки			
		До опыта	1 час	2 нед	4 нед
1	Раствор экстракта сухого (355 мг/кг)	16,7 ± 0,9	14,3 ± 0,9	12,9 ± 0,9	11,2 ± 0,8
2	Настой седативного сбора (355 мг/кг в пересчете на сухое вещество)	16,7 ± 0,9	14,3 ± 0,9	12,3 ± 0,9	11,4 ± 0,9
3	Контроль изотонический раствор натрия хлорида	16,7 ± 0,9	16,6 ± 0,9	16,7 ± 0,9	16,6 ± 0,9

Примечание: * - различия со значением исследуемого показателя в контроле (изотонический раствор натрия хлорида) достоверны ($p < 0,05$);

- различия со значением исследуемого показателя до опыта достоверны ($p < 0,05$).

Таким образом, в экспериментах на мышах показано, что при однократном внутрижелудочном введении экстракт сухой (355 мг/кг) и настой (355 мг/кг в пересчете на сухое вещество) седативного сбора №3 не влияли, а при ежедневном длительном курсовом применении в течение месяца вызывали угнетение ориентировочно-исследовательского поведения подопытных животных. Это выразилось в достоверном уменьшении вертикальной двигательной активности подопытных мышей и снижении «норкового» рефлекса. Достоверное понижение уровня ориентировочно-исследовательского поведения подопытных животных, а также тревоги, страха, неуверенности под влиянием исследованных фитопрепаратов свидетельствует о наличии у них седативной активности.

Выводы

1. Препараты седативного сбора №3 при однократном применении не влияли на ориентировочно-исследовательское поведение мышей.

2. При ежедневном внутрижелудочном введении в течение месяца экстракт сухой (355 мг/кг) и настой седативного сбора №3 (355 мг/кг в пересчете на сухое вещество) снижали вертикальную двигательную активность мышей соответственно в 2,1 раза

($p < 0,05$) и 2,4 раза ($p < 0,05$) и в среднем в 1,5 раза ($p < 0,05$) уменьшали выраженность «норкового» рефлекса у мышей.

ЛИТЕРАТУРА

1.Амосов В.В., Демидова М.А., Ермакова В.А., Калмыкова Т.П. Разработка технологии получения сухого экстракта из грудного сбора №4 и его технологические параметры // Сборник научных трудов I Российского фитотерапевтического съезда. – М., 2008. – С. 226-228.
2.Балькина Е.С., Березовская И.В. Сравнительная оценка методов ориентировочной реакции крыс в токсикологическом эксперименте // Фармакология и токсикология. – 1976. – № 5. – С. 635–638.
3.Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Дж. П. Методики и основные Балькина Е.С., Березовская И.В. Сравнительная оценка методов ориентировочной реакции крыс в токсикологическом эксперименте // Фармакология и токсикология. – 1976. – № 5. – С. 636 – 638.
4.Маркель А.А., Хухайнов Р.А. Метод комплексной регистрации поведенческих и вегетативных реакций у крыс при проведении теста "открытое поле" // Высшая нервная деятельность. – 1976. – № 6. – С. 1314–1318.
5.Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей ред. чл.-корр. РАМН проф. Р.У. Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
6.Самылина И.А., Блинова О.А., Кумышева Л.А., Марченко С.Д., Иванов А.И. Перспективы создания сухих экстрактов // Фармация. – 2006. – № 2. – С. 43 – 46.
7.Сернов Л.Н. Элементы экспериментальной фармакологии / Л.Н. Сернов, В.В. Гацура. – М.: ВНИЦ БАВ, 2000. – 352 с.; Эксперименты по изучению мозга и поведению. – М.: Наука, 1992. – С. 250.
8.Butterweck V., Jorgenliemk G., Nahrstedt A., Winterhoff P. Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test // *Planta Med.* – 2000. – Vol. 66. – P. 3 – 6.
9.Muruganadam A. V., Bhattacharya S. K., Chosal S. Antidepressant activity of the St. John's wort, *Hypericum perforatum* Linn.: An experimental study // *Indian J. Exp. Biol.* – 2001. – Vol. 39, №12. – P. 1302 – 1304.

Рецензенты:

Филиппова О.В., д.м.н., профессор кафедры фармации последипломного образования Воронежского государственного университета, г. Воронеж.

Сернов Л.Н., профессор, д.м.н., заслуженный деятель науки Российской Федерации, генеральный директор ООО «Фарм-С».