

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ РАЗЛИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ
УСПОКОИТЕЛЬНОГО СБОРА НА ПОВЕДЕНИЕ МЫШЕЙ В ТЕСТЕ
«ПРИПОДНЯТЫЙ КРЕСТООБРАЗНЫЙ ЛАБИРИНТ»**

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

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

В эксперименте на 60 мышах обоего пола массой 19,0±1грамм исследовали влияние настоя (1:10 и 1:40), сухого экстракта и настойки успокоительного сбора № 3 на поведение мышей в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт». Показано, что наиболее эффективным препаратом успокоительного сбора № 3 является настойка, водные извлечения сбора (экстракт сухой и настой) были в среднем в 1,3 раза слабее, чем водно-спиртовое извлечение. При однократном применении водные извлечения успокоительного сбора № 3 не влияли на поведенческие характеристики мышей, а при ежедневном внутривентральном введении в течение двух недель экстракт сухой (355 мг/кг) и настой успокоительного сбора № 3 (355 мг/кг) оказывали выраженное противотревожное действие. Седативная активность настойки сбора была отмечена как при однократном, так и курсовом ее применении. Установлено, что противотревожное действие настойки при длительном применении постепенно возрастает.

Ключевые слова: успокоительный сбор № 3, «приподнятый крестообразный лабиринт», мыши.

**RESEARCH OF INFLUENCE OF VARIOUS MEDICINAL FORMS OF SOOTHING
GATHERING ON BEHAVIOUR OF MICE IN THE TEST «RAISED CROSSWISE
LABYRINTH»**

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

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

In experiment on 60 mice of both sexes in weight 19,0±1 gram investigated infusion influence (1:10 and 1:40), a dry extract and tincture of soothing gathering №3 on behavior of mice in the test «the raised crosswise labyrinth». It is shown that the most effective preparation of soothing gathering №3 is tincture, water extraction of gathering (an extract dry and infusion) on the average in 1,3 times were weaker, than aqueous-alcoholic extraction. At unitary application water extraction of soothing gathering №3 didn't influence behavioural characteristics of mice, and at daily intragastric introduction within two weeks an extract dry (355 mg/kg) and infusion of soothing gathering №3 (355 mg/kg) rendered expressed anti-anxious action. Sedative activity of tincture of gathering has been noted as at unitary, and its course application. It is established that anti-anxious tincture action at long application gradually increases.

Key words: sedative gathering, the raised crosswise labyrinth, mice.

Введение

Одной из важнейших задач практического здравоохранения и фармацевтической отрасли является расширение ассортимента эффективных психотропных лекарственных средств. В настоящее время потребность населения в седативных средствах повышается, эти препараты используют как в лечении пациентов с различными заболеваниями, так и у здоровых людей при стрессовых ситуациях. По данным Института изучения общественного мнения Германии, более 50 % респондентов отдают предпочтение препаратам растительного происхождения и только 20 % считают, что химические средства надежнее. По сведениям ВОЗ около 80 % населения в рамках системы первичной

медико-санитарной помощи, главным образом, пользуются традиционными лекарственными средствами растительного происхождения [4]. Популярность фитопрепаратов связана с тем, что они содержат комплекс биологически активных веществ, обладают достаточной широтой и мягкостью терапевтического действия, минимумом побочных эффектов и противопоказаний. В одном лекарственном средстве растительного происхождения могут быть реализованы различные направления этиопатогенетической и симптоматической терапии [6].

Многие виды лекарственного растительного сырья входят в состав многокомпонентных сборов, в том числе, грудных, желудочных, мочегонных, желчегонных и других. Весьма популярными являются седативные сборы, например, успокоительный сбор № 3. В состав этого сбора входит смесь измельченного лекарственного растительного сырья: валерианы корневища с корнями, донника лекарственного, тимьяна ползучего, душицы обыкновенной, пустырника пятилопастного травы. Фармакологическая активность растений обусловлена наличием биологически активных веществ таких групп, как полисахариды, флавоноиды, фенолкарбоновые кислоты, эфирные масла, органические кислоты, каротиноиды, витамины, дубильные вещества. Корневища с корнями валерианы содержат эфирное масло, велепотриаты, трава донника содержит кумарины, трава душицы и чабреца содержит эфирное масло, трава пустырника – флавоноловые гликозиды, сапонины, эфирное масло, иридоиды. Комбинированное применение лекарственного растительного сырья, содержащего биологически активные вещества различных групп, позволяет получить более широкий спектр фармакологического действия за счет влияния каждого из составляющих. Так, комбинация флавоноидов с эфирными маслами и кумаринами обуславливает спазмолитическое и гипотензивное действие.

В соответствии с инструкцией по медицинскому применению из успокоительного сбора № 3 готовят водное извлечение (настой). 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 [1].

Из этого сбора возможно получение и других лекарственных форм, в том числе водно-спиртовых извлечений (настоек) и сухих водорастворимых экстрактов. Технология переработки растительного сырья должна позволять максимально полно использовать весь комплекс биологически активных веществ, содержащихся в исходном растительном

сырье.

Целью исследования являлось изучение влияния различных лекарственных форм успокоительного сбора №3 на поведение мышей в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».

Материалы и методы. Объектом исследования служил успокоительный сбор №3 (производство ОАО «Красногорсклексредства»). В состав сбора входит 5 компонентов: валерианы корневища с корнями 17 %, донника трава 8 %, душицы трава 25 %, пустырника трава 25 %, чабреца трава 25 %. Из сбора получены водные и водно-спиртовые лекарственные формы.

Образец № 1. Настой, изготовленный в соответствии с инструкцией по медицинскому применению (1:40): 1 столовую ложку сбора помещали в эмалированную посуду, заливали 200 мл (1 стакан) кипятка, нагревали на кипящей водяной бане 15 мин, охлаждали 45 мин при комнатной температуре, процеживали и доводили объем до 200 мл кипяченой водой.

Образец № 2. Настой, изготовленный в соответствии с требованиями ГФ XI (1:10): 10,0 г сбора помещали в инфундирку, заливали водой очищенной 100 мл и настаивали в инфундирном аппарате в течение 15 минут, охлаждали при комнатной температуре 45 минут, процеживали через 4 слоя марли, объем полученного настоя доводили кипяченой водой до 100 мл.

Образец № 3. Настойка, полученная в лабораторных условиях методом перколяции с применением в качестве экстрагента 70 % спирта этилового.

Образец № 4. Экстракт сухой водорастворимый, полученный в лабораторных условиях на базе ОАО «Биохиммаш» с использованием распылительной сушилки. Экстракт сухой седативного сбора № 3 перед исследованием растворяли в воде очищенной.

Эксперименты выполнены на 60 белых неинбредных мышах обоего пола массой 19 ± 1 грамм. Подопытных животных содержали в условиях вивария (с естественным режимом освещения; при температуре 22-24 °; относительной влажности воздуха 40–50 %) с использованием стандартной диеты (ГОСТ Р 50258-92). Исследования проводили в соответствии с правилами качественной лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ, а также правилами и Международными рекомендациями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1986). Перед постановкой эксперимента животные проходили карантин в течение 10–14 дней.

До начала эксперимента регистрировали исходные характеристики поведения

мышей, после чего подопытные животные были разделены на 6 групп. Мыши первой группы получали настой сбора (изготовленный в соответствии с инструкцией по медицинскому применению) в дозе 355 мг/кг внутрижелудочно с помощью специального зонда в течение месяца. Подопытные животные второй серии опытов получали настой успокоительного сбора № 3 (изготовленный в соответствии с требованиями ГФ) в дозе 355 мг/кг в пересчете на сухое вещество по той же схеме. В третьей серии опытов подопытные мыши получали внутрижелудочно раствор экстракта сухого успокоительного сбора № 3 в дозе равной $1/20 LD_{50}$ (355 мг/кг). Подопытным животным четвертой серии опытов внутрижелудочно вводили предварительно dealкоголизированную настойку успокоительного сбора № 3 в дозе 355 мг/кг в пересчете на сухое вещество. В качестве препарата сравнения использовали натрия бромид в дозе 92 мг/кг. Животные контрольной группы получали изотонический раствор натрия хлорида.

Влияние препаратов успокоительного сбора № 3 на поведение подопытных мышей оценивали в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» [5]. Лабиринт представлял собой установку, состоящую из 4 рукавов, которые соединялись в виде креста перпендикулярно друг другу, образуя в центре площадку; длина каждого из 4 рукавов составляла 25 см, ширина – 5 см, высота светопроницаемых бортиков двух противоположных закрытых рукавов лабиринта – 5 см, центральная площадка – 5х5 см. Весь лабиринт размещался на высоте 30 см от пола.

Тестирование подопытных животных проводили в первой половине дня с 9:00. Мышь помещали на центральную площадку, после чего в течение 5 минут регистрировали общее число заходов во все рукава, количество заходов в закрытые рукава (ЗР) лабиринта, выходов в открытые рукава (ОР), суммарное время пребывания в закрытых и открытых рукавах, вертикальную активность (число стоек) и время нахождения на центральной площадке. Возможность оценки влияния препаратов на тревожность подопытных животных в приподнятом крестообразном лабиринте основана на известных сведениях о том, что поведенческой основой избегания у грызунов являются рефлекс предпочтения темного пространства и боязнь высоты.

Тестирование подопытных мышей в «приподнятом крестообразном лабиринте» осуществляли до начала эксперимента, после однократного введения исследуемых препаратов, в дальнейшем еженедельно в течение месяца.

Результаты исследования обработаны статистически с применением стандартного пакета программ MicrosoftOfficeExcel 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 их обсуждение. Анализ результатов исследования показал, что водные извлечения успокоительного сбора № 3 при однократном внутривенном введении не влияли на поведение мышей в «приподнятом крестообразном лабиринте». Было отмечено, что число заходов и время пребывания в открытых и закрытых рукавах лабиринта подопытных животных, получавших настои и раствор экстракта сухого успокоительного сбора №3, достоверно не отличались от значений аналогичных показателей у мышей группы контроля, получавших изотонический раствор натрия хлорида (таблица 1).

Таблица 1. Влияние препаратов успокоительного сбора № 3 и натрия бромид на поведенческие реакции мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» ($M \pm m$) при однократном применении

№	Серия опытов	Число выходов		Время пребывания, с	
		Открытый рукав	Закрытый рукав	Открытый рукав	Закрытый рукав
1	Настой сбора 1:10 (по инструкции)	1,2±0,4	3,2±0,7	18,5±1,1	259,8±1,9
2	Настой сбора 1:40 (по ГФ XI)	1,3±0,5	3,2±0,4	20,2±1,0	261,7±1,5
3	Раствор экстракта сбора сухого	1,4±0,5	3,5±0,7	19,25±2,0	260,8±2,9
4	Настойка сбора	3,7±0,8*	3,5±0,5	55,8±1,3*	221,0±1,3*
5	Натрия бромид	1,0±0,0*	2,3±0,6*	25±7,6*	267±7,8
6	Контроль (изотонический раствор натрия хлорида)	1,2±0,44	3,4±0,54	18,1±2,2	265,15±4,0

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

Обращает на себя внимание тот факт, что при однократном внутрижелудочном введении настойки успокоительного сбора № 3 число выходов и время нахождения подопытных мышей в открытых рукавах лабиринта было соответственно в 3 раза ($p < 0,05$) и в 3,1 раза ($p < 0,05$) больше, чем у животных контрольной группы, получавших изотонический раствор натрия хлорида. Полученные данные, вероятно, свидетельствуют о снижении уровня тревожности и активизации ориентировочно-исследовательского поведения подопытных животных даже при однократном применении деалкоголизированного водно-спиртового извлечения (настойки) успокоительного сбора №3.

Следует отметить, что под влиянием натрия бромид (92 мг/кг) число выходов грызунов в закрытые рукава лабиринта достоверно снизилось, однако, при этом отмечено уменьшение числа заходов подопытных мышей в открытые рукава лабиринта в среднем в 1,2 раза ($p < 0,05$) по сравнению с контролем.

Сравнительный анализ эффектов натрия бромида и настойки сбора показал, что число выходов в закрытые рукава лабиринта мышей, получавших натрия бромид, было в среднем в 1,5 раза ($p < 0,05$) меньше, а время пребывания в открытых рукавах лабиринта было в среднем в 2,2 раза ($p < 0,05$) меньше, чем подопытных животных, получавших настойку сбора. Таким образом, приведенные данные свидетельствуют о том, что преимуществом исследованного фитопрепарата по сравнению с натрия бромидом является не только уменьшение тревожности, но и повышение ориентировочно-исследовательского поведения грызунов.

При курсовом применении в отличие от однократного введения противотревожное действие оказывали не только водно-спиртовое, но и водные (настои) извлечения успокоительного сбора № 3 (таблица 2). Так, под влиянием настоя, изготовленного по требованиям ГФ XI, отмечено увеличение числа выходов подопытных животных и времени нахождения их в открытых рукавах лабиринта соответственно в 2,4 раза ($p < 0,05$) и в 9,5 раз ($p < 0,05$) по сравнению со значениями аналогичных показателей у мышей контрольной группы. В серии опытов с использованием раствора экстракта сухого исследуемого сбора число выходов в открытые рукава лабиринта и время нахождения в них подопытных животных было соответственно в 4,0 раза ($p < 0,05$) и в 6,6 раза ($p < 0,05$) больше, чем в контроле.

Как показывают результаты эксперимента, настой, изготовленный по требованиям ГФ XI, и раствор сухого экстракта сбора в конце первой недели внутрижелудочного введения мышам уменьшают тревожность и повышают ориентировочно-исследовательское поведение грызунов. В конце второй недели применения препаратов число выходов в открытые рукава подопытных животных, получавших настой (1:40) и раствор сухого экстракта сбора, снизилось в среднем в 1,5 ($p < 0,05$) и 1,9 раза ($p < 0,05$) соответственно, что свидетельствует не только об уменьшении тревожности, но и о снижении ориентировочно-исследовательского поведения мышей [3].

Анализ влияния водно-спиртового извлечения на поведение подопытных животных при курсовом применении показал, что число выходов мышей в открытые рукава и время нахождения в них изменились незначительно по сравнению с показателями, полученными после однократного внутрижелудочного введения настойки мышам. Так, число выходов мышей в открытые рукава составило $4,3 \pm 0,6$, что 1,2 раза ($p < 0,05$) больше, а время нахождения в открытых рукавах – $70,7 \pm 6,4$ с, что в 1,3 раза ($p < 0,05$) больше, чем значения аналогичных показателей при однократном введении настойки.

Влияние препаратов успокоительного сбора на частоту дефекации (число фекальных болюсов) и груминг (число актов косметического поведения – умыкания) у грызунов исследовали для дополнительной оценки уровня их психоэмоционального напряжения в лабиринте. Отмечено, что препараты успокоительного сбора при курсовом применении снижали частоту дефекации и груминг у подопытных животных. Так, частота дефекаций в сериях опытов с введением настоя, экстракта и настойки сбора была соответственно в 1,4 раза ($p < 0,05$), в 2,3 раза ($p < 0,05$), в 2,8 раза ($p < 0,05$), в 1,4 раза ($p < 0,05$) меньше, чем в контроле. Число актов груминга в сериях опытов с введением настоя, экстракта и настойки сбора было соответственно в 1,6 раза ($p < 0,05$), в 2,7 раза ($p < 0,05$), в 1,6 раза ($p < 0,05$), в 1,3 раза ($p < 0,05$) меньше, чем в контроле. Известно, что уменьшение актов груминга и дефекаций может служить косвенным критерием уменьшения тревожности подопытных животных.

Таблица 2. Влияние препаратов успокоительного сбора № 3 и натрия бромида на поведенческие реакции мышей в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» ($M \pm m$)

№	Серия опытов	Число выходов		Время пребывания, с	
		Открытый	Закрытый	Открытый	Закрытый

		рукав	рукав	рукав	рукав
Через одну неделю					
1	Настой сбора 1:10 (по инструкции)	2,25±0,5	3,0±0,8	30,9±1,4	246,5±0,34
2	Настой сбора 1:40 (по ГФ XI)	3,4±1,14	3,6±1,67	71,4±4,6	200,4±5,2
3	Раствор сухого экстракта	5,6±1,4	5,3±1,15	119,7±4,0	138±4,2
4	Настойка	4,3±0,6	3,3±0,6	70,7±6,4	192,3±8,0
5	Натрия бромид	4,3±0,6	4,7±0,7	34±3,6	252±6,5
6	Контроль	1,4±0,6	3,5±0,4	17,6±2,8	265,95±3,0
Через две недели					
1	Настой сбора 1:10 (по инструкции)	1,8±0,75	3,0±0,8	31,75±3,3	242±1,4
2	Настой сбора 1:40 (по ГФ XI)	2,2±0,8	3,8±0,8	78±3,6	197,7±6,7
3	Раствор сухого экстракта	3,0±0,8	3,8±0,9	81,5±5,0	134,5±8,3
4	Настойка	4,6±0,8	3,8±0,7	106,6±4,0	115±1,7
5	Контроль	1,25±0,5	3,2±0,4	18,0±2,0	263,3±3,3

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

Таким образом, результаты исследования показали, что наиболее эффективным препаратом успокоительного сбора № 3 является настойка. Седативная активность настойки сбора была отмечена как при однократном, так и курсовом ее применении. При этом выявлено, что противотревожное действие настойки при длительном применении постепенно возрастает. Так, через неделю от начала использования настойки ее активность увеличилась в среднем в 1,3 раза ($p < 0,05$), а через 2 недели – в 1,9 раза ($p < 0,05$) по сравнению с ее эффектом при однократном использовании. Сравнительный анализ седативной активности различных извлечений успокоительного сбора № 3 показал, что водные извлечения сбора (экстракт сухой и настой) были в среднем в 1,3 раза ($p < 0,05$) слабее, чем водно-спиртовое извлечение. Вероятно, это связано с характером экстрагента и режимом экстракции действующих веществ сбора. Настойку получали

экстрагированием 70 % спиртом этиловым. При применении этилового спирта в качестве экстрагента выход биологически активных веществ из растительного сырья был наиболее полный [1,2].

Выводы

1. Настойка успокоительного сбора № 3 (355 мг/кг в пересчете на сухое вещество) оказывала выраженное противотревожное действие у грызунов как при однократном, так и курсовом применении. При ежедневном внутрижелудочном введении в течение двух недель седативная активность настойки увеличилась в среднем в 1,9 раза ($p < 0,05$) по сравнению с ее эффектом при однократном использовании.
2. В отличие от натрия бромида (92 мг/кг) при внутрижелудочном введении настойки сбора проявлялось не только противотревожное действие, но и повышение ориентировочно-исследовательского поведения грызунов. У подопытных животных, получавших настойку сбора, число выходов в закрытые рукава и время пребывания в открытых рукавах лабиринта было соответственно в 1,5 раза ($p < 0,05$) и в 2,2 раза ($p < 0,05$) больше, чем у подопытных животных, получавших натрия бромид.
3. Водные извлечения успокоительного сбора № 3 (355 мг/кг в пересчете на сухое вещество) при однократном внутрижелудочном введении не влияли на уровень тревожности мышей в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт».
4. При курсовом применении настоек и экстракт сухой сбора увеличивали число выходов подопытных животных и время нахождения их в открытых рукавах лабиринта. Седативная активность водных извлечений сбора (настойки и экстракта сухого) при курсовом применении у мышей была в среднем в 1,3 раза ($p < 0,05$) ниже, чем у водно-спиртового извлечения (настойки).

Список литературы

1. Быстрова М. Н., Панина Г. А., Демидова М. А., Харитоновна Е. В. Сравнительное исследование содержания дубильных веществ и органических кислот в препаратах седативного сбора №3 // Врач и аспирант. – 2011. – №5(48). – С.29-33.
2. Быстрова М. Н., Панина Г. А., Демидова М. А., Харитоновна Е. В. Сравнительное исследование содержания флавоноидов в препаратах седативного сбора № 3 // Традиционная медицина. – 2011. – № 5. – С.174-177.
3. Быстрова М. Н., Демидова М. А., Панина Г. А., Жолобов И. С., Гальчинская И. Л. Влияние извлечений седативного сбора на ориентировочно-исследовательское поведение мышей // Современные проблемы науки и образования. – 2011. – № 6, URL: <http://www.science-education.ru/100-5000>.

4. Морохина С. Л., Аляутдин Р. Н., Сорокина А. А. Изучение седативного эффекта успокоительных сборов // Фармация. – 2010. – №6. – С. 39-41.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под общей редакцией чл.-корр. РАМН проф. Р. У. Хабриева. – 2 изд., перераб. и доп. – М.: Медицина, 2005. – 832 с.
6. Турищев С. Н. Современная фитотерапия. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 448 с.

Рецензенты:

Новиков В. Е., д.м.н., профессор, зав. кафедрой фармакологии с курсом фармации ФПК и ППС Смоленской государственной медицинской академии, г. Смоленск.

Платонов И. А., д.м.н., профессор кафедры фармакологии с курсом фармации ФПК и ППС Смоленской государственной медицинской академии, г. Смоленск.