

В. В. Цивунін, С. Ю. Штриголь, Б. А. Загинайченко
**Дослідження психотропних властивостей
потенційних рослинних антиконвульсантів**

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Ключові слова: лікарські рослини, екстракти, протисудомні засоби, психотропні властивості

Соціальна значущість проблеми захворюваності на епілепсію визначається її широкою розповсюдженістю, а також можливістю розвитку змін особистості та психіки у понад третини пацієнтів [4]. Хворим на епілепсію притаманні специфічні зміни характеру у вигляді дисфорій: туга може поєднуватись із тривогою, відчаєм, безвихіддю, страхом. У випадку несприятливого перебігу захворювання формується епілептичне слабоумство, одним із проявів якого є погіршення пам'яті [2, 8]. Отже, актуальною є розробка нових протисудомних засобів, здатних нівелювати або суттєво зменшувати симптоми епілептичних змін особистості [3].

На шляху пошуку нових лікарських засобів, здатних одночасно впливати на різні ланки патогенезу захворювань ЦНС (зокрема епілепсії), привертають увагу фітопрепарати. Ця властивість забезпечується, перш за все, їхнім полікомпонентним складом [1]. До того ж фітопрепарати звичайно мають високий ступінь безпечності навіть при тривалому застосуванні.

У попередньому дослідженні ми встановили виразні протисудомні властивості сухих екстрактів рутки Шлейхера (*Fumaria schleicheri* Soy.-Willem., *Fumariaceae*) та базилику камфорного (*Ocimum basilicum* L., *Lamiaceae*) [6]. Виходячи з цього, доцільне подальше поглиблене вивчення фармакодинаміки зазначених фітопрепаратів, у тому числі супутніх психотропних властивостей.

Мета дослідження – визначити вплив сухих екстрактів рутки Шлейхера (СЕРШ) та базилику камфорного (СЕБК) на поведінкові реакції, тривожність, депресивність і пам'ять тварин, а також із урахуванням міорелаксантних власти-

востей багатьох відомих антиконвульсантів з'ясувати вплив СЕРШ та СЕБК на м'язовий тонус та координацію рухів.

Матеріали та методи. Дослідження проводили на 164 білих рандомбредних мишах обох статей масою 20–27 г. Тварин утримували в стандартних умовах віварію ЦНДЛ НФаУ з вільним доступом до води та їжі [7]. Сухі екстракти вводили внутрішньошлунково протягом 2–3 діб у вигляді відповідних водних розчинів в умовно ефективній протисудомній дозі 100 мг/кг [6], востаннє за 30 хв до проведення тесту. Контрольні тварини отримували внутрішньошлунково воду очищену в аналогічному об'ємі (0,1 мл на 10 г маси тіла).

Вплив сухих екстрактів на локомоторну активність, орієнтовно-дослідницьку діяльність та емоційну сферу вивчали за допомогою стандартного тесту відкритого поля [5]. Після перебування в затемненій клітці протягом 5–6 хв мишу розміщували в центрі платформи та починали відлік часу. За 3 хв перебування в «полі» оцінювали локомоторну активність тварини за кількістю пересічених квадратів, орієнтовно-дослідницьку діяльність за кількістю вертикальних стійок та обстежених отворів, а також емоційний стан та його вегетативний супровід за кількістю фекальних болюсів, уринацій та актів грумінгу.

Для вивчення впливу фітопрепаратів на тривожність використовували тест піднесеного хрестоподібного лабіринту [5]. Тест базується на природному страху висоти та униканні гризунами освітлених просторів. Враховуючи суттєвий вплив зовнішніх факторів та значну тривалість у часі поведінкових методик, для груп, що отримували сухі екстракти, а також групи, тваринам якої вводили препарат порівняння діазепам, використовували власний контроль. Тестовий період тривав 5 хв. Оцінку ансіолітичної дії проводили за такими показниками: латентний

період входу до темної камери, час знаходження на освітлених ділянках, час перебування в темних рукавах, відвідування центральної площадки, освітлених та темних рукавів, а також прояви вегетативного супроводу емоційних реакцій (болюси, уринації, сума).

Оцінку впливу фітопрепаратів на депресивну поведінку проводили в умовах іммобілізаційного тесту підвищення мишей за хвіст [9]. Як маркер депресивності використовували сумарний час нерухомого зависання тварини протягом 6 хв спостереження.

Вплив досліджуваних екстрактів на пам'ять вивчали на інтактних тваринах та за умов експериментальної антероградної амнезії з використанням тесту умовної реакції пасивного уникнення (УРПУ) [5]. На другий день введення препаратів тварин розміщували на освітленій платформі приладу та реєстрували латентний період безумовного рефлексу – входу до темної камери, де мишей піддавали впливу електричного струму. Через 24 год вдруге визначали латентний період входу до темної камери. Мишей, які не відвідували її протягом 3 хв (латентний період 180 с), вважали такими, що досягли критерію навченості.

Антиамнестичні властивості обраних сухих екстрактів також вивчали в умовах тесту УРПУ на моделі антероградної амнезії, викликаній введенням М-холіноблокатора скополаміну (1,5 мг/кг внутрішньоочеревинно) [5] через 30 хв після останнього введення досліджуваних екстрактів та препарату порівняння. Інтактних мишей навчали УРПУ без амнезувального впливу. Тварин розміщували на освітленій платформі приладу та реєстрували латентний період безумовного рефлексу – входу до темної камери, де мишей піддавали впливу електричного струму. Через 24 год вдруге визначали латентний період входу до темної камери. Мишей, які не відвідували її протягом 3 хв (латентний період 180 с), вважали такими, що досягли критерію навченості. Антиамнестичну активність сполук оцінювали за модифікованою формулою Butler:

$$AA = \frac{ЛПД-ЛПск}{ЛПік-ЛПск} \cdot 100 \%,$$

де AA – антиамнестична активність, ЛПск і ЛПД – середній латентний період у тварин, яким вводили відповідно тільки скополамін і скополамін на тлі досліджуваної сполуки, ЛПік – латентний період інтактного контролю.

Вплив досліджуваних екстрактів на м'язовий тонус та координацію рухів досліджували за допомогою тесту стрижня, що обертається [5]. Критерієм оцінки впливу екстрактів, а також препарату порівняння на м'язовий тонус та координацію рухів обрано кількість мишей, що за певні проміжки часу впали зі стандартного стрижня, який обертався з постійною швидкістю 10 обертів за хвилину.

Як референс-препарат при вивченні анксиолітичної активності та впливу на м'язовий тонус та координацію рухів використовували діазепам («Реланіум», Полфа, Польща), 10 мг/кг – анксиолітичний препарат із антиконвульсивною та міорелаксантною дією; при дослідженні антиамнестичної дії – рослинний ноотроп: стандартизований екстракт листя гірко дволопатевого («Білобіл», КРКА, Словенія), 100 мг/кг. Усі препарати вводили у шлунок у тому самому режимі, що й СЕРШ та СЕБК.

Для оцінки статистичної значущості міжгрупових відмінностей отриманих результатів використовували параметричний t-критерій Ст'юдента у випадку нормального розподілу та непараметричний U-критерій Манна-Уїтні за його відсутності, а також кутове перетворення Фішера (при обліку даних в альтернативній формі).

Результати та їх обговорення. Результати тесту відкритого поля наведено в таблиці 1. Отримані дані свідчать про відсутність достовірного впливу досліджуваних сухих екстрактів на локомоторну та орієнтовно-дослідницьку активність, а також емоціональний стан піддослідних тварин. Проте СЕБК невірогідно збільшував кількість перетнутих квадратів у 1,44 разу, а також число вертикальних стійок та обстежених отворів у 1,65 та 1,37 разу відповідно. Крім того, на фоні прийому СЕБК спостерігали зменшення сумарного показника емоційних реакцій у 1,46 разу. Однак в об'ємі даної вибірки ці відмінності не є статистично значу-

Показники поведінки мишей у тесті відкритого поля за впливу досліджуваних екстрактів, $M \pm t$

Показник (за 3 хв)	Контроль (n = 7)	СЕРШ, 100 мг/кг (n = 7)	СЕБК, 100 мг/кг (n = 6)
Локомоторна активність (перетнуто квадратів)	30,43 ± 4,37	34,43 ± 6,94	43,83 ± 5,58
Орієнтовно-дослідницька активність:			
– стійки	6,57 ± 1,21	5,71 ± 2,01	10,83 ± 1,96
– отвори	26,57 ± 4,55	30,86 ± 4,39	36,33 ± 2,08
– сума	33,14 ± 5,54	35,14 ± 4,58	47,17 ± 3,92
Емоційні реакції:			
– болюси	1,86 ± 0,74	2,71 ± 0,94	1,50 ± 0,67
– уринації	0	0,14 ± 0,14	0
– грумінг	0,57 ± 0,30	0,86 ± 0,26	0,33 ± 0,21
– сума	2,43 ± 0,97	3,71 ± 0,87	1,83 ± 0,79

цими, що дозволяє говорити лише про тенденційний стимулювальний вплив зазначеного сухого екстракту на локомоторну активність та орієнтовно-дослідницьку діяльність, а також легкий пригнічувальний вплив на емоційну сферу експериментальних тварин.

Обидва досліджувані екстракти не мають антидепресивних та депресогенних властивостей, що підтверджується даними тесту поведінкового відчаю тварин (табл. 2).

Аналіз даних таблиці 3 свідчить, що сухому екстракту рутки Шлейхера притаманна значна анксиолітична дія. За виразністю транквілізуючого ефекту СЕРШ у дозі 100 мг/кг практично не поступався препарату порівняння діазепаму в дозі 10 мг/кг. Останній за умов досліду спричиняв достовірне подовження латентного періоду входу до темної камери, часу знаходження в освітлених рукавах, кількість відвідувань освітлених та темних рукавів, зменшував тривалість перебування тварин у темних рукавах

Таблиця 2

Показник депресивної поведінки мишей в іммобілізаційному тесті за впливу досліджуваних екстрактів, $M \pm t$

Група, кількість тварин	Тривалість нерухомого зависання, с
Контроль (n = 6)	116,17 ± 20,53
СЕРШ, 100 мг/кг (n = 6)	138,67 ± 21,08
СЕБК, 100 мг/кг (n = 6)	139,00 ± 17,27

лабіринту, а також знижував суму показників вегетативного супроводу емоційних реакцій. На тлі застосування СЕРШ у дозі 100 мг/кг спостерігали подібні зміни: подовження часу знаходження тварин в освітлених рукавах, збільшення кількості відвідувань освітлених і темних рукавів лабіринту та центральної площадки, зменшення тривалості перебування мишей у темних рукавах, а також тенденцію до подовження латентного періоду входу до темної камери без суттєвого впливу на вегетативний супровід емоційних реакцій. Під впливом СЕБК спостерігали лише невірідну тенденцію до подовження латентного періоду входу до темної камери, збільшення часу знаходження в освітлених рукавах, кількості відвідувань освітлених та темних відсіків, центральної ділянки, а також статистично недостовірне зменшення часу перебування тварин у темних рукавах лабіринту.

Результати дослідження впливу сухих екстрактів та діазепаму на м'язовий тонус та координацію рухів у тесті стрижня, що обертається, наведено в таблиці 4. Отримані дані свідчать про відсутність у СЕРШ та СЕБК негативно-го впливу на тонус скелетних м'язів та координацію рухів. Навпаки, СЕРШ достовірно зменшував відсоток мишей, що впали зі стрижня до 1 хв відносно групи контролю. Діазепам спричинив типовий міорелаксантий ефект, а саме

Показники поведінки мишей у тесті піднесеного хрестоподібного лабіринту за впливу досліджуваних сухих екстрактів та діазепаму, $M \pm t$

Показник (за 5 хв)	Діазепам, 10 мг/кг		Досліджувані сухі екстракти, 100 мг/кг		
	Контроль (n = 13)	Дослід (n = 13)	Контроль (n = 7)	СЕРШ (n = 7)	СЕБК
Латентний період входу до темної камери, с	5,8 ± 2,5	27,5 ± 10,1**	3,3 ± 1,1	22,1 ± 16,8	9,3 ± 7,3
Час знаходження в освітлених рукавах, с	82,9 ± 24,0	215,0 ± 34,0**	9,1 ± 2,1	114,4 ± 20,6**	49,0 ± 26,1
Час знаходження в темних рукавах, с	216,0 ± 23,0	86,9 ± 33,8**	291,1 ± 2,0	185,6 ± 20,6**	251,0 ± 26,1
Кількість відвідувань освітлених рукавів	2,4 ± 0,8	4,4 ± 0,7*	0,1 ± 0,1	5,0 ± 0,6**	1,8 ± 0,9
Кількість відвідувань темних рукавів	1,8 ± 0,6	4,1 ± 0,8*	2,3 ± 0,6	9,9 ± 1,7**	6,3 ± 2,3
Кількість відвідувань центральної площадки	3,7 ± 1,4	7,1 ± 1,3	1,3 ± 0,6	4,1 ± 1,2*	3,5 ± 1,6
Вегетативний супровід емоційних реакцій:					
– болюси	1,4 ± 0,4	0,2 ± 0,1	1,7 ± 0,8	3,4 ± 0,7	2,3 ± 0,6
– уринації	0	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,2 ± 0,2
– сума	1,4 ± 0,4	0,3 ± 0,1*	1,84 ± 0,90	3,6 ± 0,8	2,5 ± 0,4

Примітка. *Достовірні відмінності з показником контролю ($p < 0,05$); **достовірні відмінності з показником контролю ($p < 0,01$).

достовірно збільшувалася кількість мишей, що впали зі стрижня до 30 с та до 5 хв. За відсутністю негативного впливу на м'язовий тонус та координацію рухів СЕРШ та СЕБК вірогідно перевершували діазепам (табл. 4).

Результати дослідження впливу екстрактів на пам'ять інтактних тварин у тесті УРПУ наведено в таблиці 5. Отримані дані свідчать про відсутність впливу СЕРШ та СЕБК у дозі 100 мг/кг на пам'ять здорових мишей за умови профілактичного введення препаратів.

На фоні скополамінової амнезії достовірно зменшувалися латентний

період входу мишей до темної камери та кількість тварин, що досягли критерію навченості, відносно інтактного контролю (табл. 6). СЕБК у досліджуваній дозі не впливав на зазначені показники – вони знаходились на рівні групи контролю амнезії. СЕРШ майже в 1,6 рази збільшував латентний період входу до темної камери, проте за рахунок високої дисперсії показник не досяг статистичної значущості. Однак на фоні прийому СЕРШ достовірно зростала кількість тварин, що досягли критерію навченості. Препарат порівняння Білобіл спричиняв подовження латент-

Таблиця 4

Показники м'язового тонусу та координації рухів у тесті стрижня, що обертається, за впливу досліджуваних сухих екстрактів та діазепаму

Група	Впали до 30 с	Впали до 1 хв	Впали до 5 хв
Контроль (n = 7)	1/14,3 %	4/57,1 %	4/57,1 %
СЕРШ, 100 мг/кг (n = 7)	0/0 % ##	0/0 % ****	4/57,1 % ##
СЕБК, 100 мг/кг (n = 6)	1/16,7 % #	1/16,7 % #	4/66,7 % #
Діазепам, 10 мг/кг (n = 7)	5/71,4 % **	5/71,4 %	7/100 % **

Примітка. У числелі абсолютна кількість тварин, у знаменнику – %. *Достовірні відмінності з показником контролю ($p < 0,05$); **достовірні відмінності з показником контролю ($p < 0,01$); #достовірні відмінності з показником групи діазепаму ($p < 0,05$); ##достовірні відмінності з показником групи діазепаму ($p < 0,01$).

**Показники поведінки інтактних мишей у тесті УРПУ
за впливу досліджуваних сухих екстрактів, $M \pm m$**

№	Група	Латентний період входу до темної камери, с		Кількість мишей, що досягли критерію навченості	
		вихідний	через 24 год	абсолютна	%
1	Контроль (n = 7)	8,29 ± 1,86	150,50 ± 29,50 [^]	6	85,71
2	СЕРШ, 100 мг/кг (n = 6)	10,83 ± 2,61	156,17 ± 23,83 [^]	5	83,33
3	СЕБК, 100 мг/кг (n = 6)	20,17 ± 6,27	180,00 ± 0 [^]	6	100

Примітка. [^]Достовірні відмінності з показником вихідного стану ($p < 0,05$).

Таблиця 6

**Показники поведінки мишей з антероградною амнезією в тесті УРПУ
за впливу досліджуваних сухих екстрактів та білобілу, $M \pm m$**

№	Група	Латентний період входу до темної камери, с		АА, %	Кількість мишей, що досягли критерію навченості	
		вихідний	через 24 год		Абс.	%
1	Інтактний контроль (n = 7)	16,57 ± 3,60	144,29 ± 20,22 [^]	–	4	57,14
2	Контроль амнезії (скополамін, 1,5 мг/кг) (n = 7)	29,86 ± 3,36	89,29 ± 18,79 ^{#^}	–	1	14,29 [#]
3	СЕРШ, 100 мг/кг + скополамін, 1,5 мг/кг (n = 7)	36,43 ± 4,63	138,71 ± 23,90 [^]	89,85	4	57,14 [*]
4	СЕБК, 100 мг/кг + скополамін, 1,5 мг/кг (n = 7)	25,00 ± 4,05	99,00 ± 28,36 [^]	1,29	2	28,57
5	Білобіл, 100 мг/кг + скополамін, 1,5 мг/кг (n = 6)	64,67 ± 14,95	153,17 ± 24,89 [^]	116,15	4	66,67 [*]

Примітка. [^]Достовірні відмінності з показником вихідного стану ($p < 0,05$); [#]достовірні відмінності з показником інтактного контролю ($p < 0,05$); ^{*}достовірні відмінності з показником контролю амнезії ($p < 0,05$). АА – антиамнестична активність, %.

ного періоду входу до темної камери в 1,7 разу ($p > 0,05$) та збільшення відсотка мишей, що досягли критерію навченості ($p < 0,05$).

Отже, за сукупністю отриманих даних СЕРШ у дозі 100 мг/кг виявляє виразні анксиолітичні та помірні антиамнестичні властивості, не чинить негативного впливу на локомоторну, орієнтовно-дослідницьку активність, емоційні реакції, депресивну поведінку, м'язовий тонус та координацію рухів піддослідних тварин. СЕБК у дозі 100 мг/кг викликає тенденцію до підвищення локомоторної активності, а також орієнтовно-дослідницької діяльності. Він не впливає на емоційну сферу, депресивність, тонус скелетних м'язів, координацію рухів і пам'ять інтактних тварин, не має анксиолітичних та антиамнестичних властивостей.

Висновки

1. Визначено вплив сухих екстрактів рутки Шлейхера та базиліку камфорного на поведінкові реакції, депресивність та тривожність, м'язовий тонус та координацію рухів, а також пам'ять експериментальних тварин.

2. Встановлено, що сухий екстракт рутки Шлейхера в дозі 100 мг/кг має потужні анксиолітичні властивості за відсутності негативного впливу на тонус скелетних м'язів та координацію рухів, а також характеризується помірним антиамнестичним ефектом.

3. Сухий екстракт базиліку камфорного не виявив достовірного впливу на показники загальноповедінкових тестів, м'язовий тонус, координацію рухів, а також на пам'ять інтактних та амнезованих тварин.

1. Лікарські рослини, що мають седативну, анксиолітичну та спржені види фармакологічної активності, їх біологічно активні речовини та механізми їхньої дії / С. А. Данилов, О. В. Товчига, С. І. Степанова [та ін.] // Фармаком. – 2011. – № 4. – С. 68–86.
2. Жариков Н. М. Психиатрия / Н. М. Жариков, Ю. Г. Тюльпин. – М. : Медицина, 2002. – 544 с.
3. Калинин В. В. Противосудорожные и психотропные свойства антиэпилептических препаратов при лечении больных эпилепсией / В. В. Калинин, Е. В. Железнова. – М. : Артинфо пубблишинг, 2008. – 235 с.
4. Михайлов В. А. Актуальные вопросы эпилептологии – стигматизация, качество жизни и реабилитация больных / В. А. Михайлов // Эпилепсия и пароксизмальные состояния. – 2010. – Т. 2. – № 3. – С. 39–44.
5. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М. : Гриф и К, 2012. – 944 с.
6. Скринінгове дослідження протисудомної активності сухих екстрактів із 8 видів рослин родин Solanaceae, Papaveraceae, Lamiaceae та Polemoniaceae / В. В. Цивунін, С. Ю. Штрыголь, Ю. С. Прокопенко [та ін.] // Клінічна фармація. – 2012. – Т. 16. – № 4. – С. 47–50.
7. Deacon R. M. Housing, husbandry and handling of rodents for behavioral experiments / R. M. Deacon // Nature Protocols. – 2006. – V. 1. – № 2. – P. 936–946.
8. Disentangling the relationship between epilepsy and its behavioral comorbidities – The need for prospective studies in new-onset epilepsies / C. Helmstaedter, A. P. Aldenkamp, G. A. Baker [et al.] // Epilepsy & Behavior. – 2014. – V. 31. – P. 43–47.
9. 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.

В. В. Цивунин, С. Ю. Штрыголь, Б. А. Загинайченко

Исследование психотропных свойств потенциальных растительных антиконвульсантов

Изучены психотропные свойства сухих экстрактов дымянки Шлейхера и базилика камфорного, которые в предыдущих исследованиях проявили значительную противосудорожную активность. Установлено, что сухой экстракт дымянки Шлейхера, в отличие от сухого экстракта базилика камфорного, обладает выраженными анксиолитическими и умеренными антиамнестическими свойствами. Кроме того, исследуемые экстракты не влияют на поведение, уровень депрессивности, а также на мышечный тонус и координацию движений экспериментальных животных.

Ключевые слова: лекарственные растения, экстракты, противосудорожные средства, психотропные свойства

V. V. Tsyvunin, S. Yu. Shtrygol', B. A. Zaginaychenko

The investigation of psychotropic properties of the potential herbal anticonvulsants

This study investigated the influence of the perspective herbal anticonvulsants – fumitory (*Fumaria schleicheri* Soy.-Willem.) and basil (*Ocimum basilicum* L.) dry extracts – on behavioral reactions, level of depression and anxiety, memory, muscle tone and coordination of movements using different experimental models. It was revealed that fumitory dry extract (100 mg/kg) was without influence on mouse behavior in combined open field test and on the depression level in tail suspension test. Anxiety reduction in animals treated with fumitory dry extract is indicated by an increase in the total time spent in the open arms, an increase in entries into the open arms and the latency period of the first entrance to the closed arm in elevated plus maze test. It was proven that fumitory dry extract don't have a negatively impact on muscle tone and coordination of movements in rotating rod method. The results of the conditional reaction of passive avoidance test have shown the absence of influence of fumitory dry extract on memory in intact animals and moderate nootropic activity on the model of scopolamine-induced amnesia. Basil dry extract (100 mg/kg) has a tendency to increase the locomotor and research activity, but it doesn't influence on emotional sphere, depression and anxiety level, memory, muscle tone and coordination of movements. In general basil dry extract has no anxiolytic and nootropic properties, unlike fumitory dry extract in the same dose.

Thus, the fumitory dry extract at a dose of 100 mg/kg may considered to be a potential anticonvulsive medicine with a number of additional useful psychotropic properties.

Key words: medicinal plants, extracts, anticonvulsants, psychotropic properties

Надійшла: 19.03.2014 р.

Контактна особа: Цивунін Вадим Володимирович, магістр фармації, аспірант, старший лаборант, кафедра фармакології, Національний фармацевтичний університет, буд. 53, вул. Пушкінська, м. Харків, 61002. Тел.: + 38 0 96 856 58 31. Електронна пошта: tsyvunin-vad@ukr.net.