

УДК 615.32: 547.9

ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА ОСНОВЕ ЛИСТЬЕВ ГИНКГО ДВУЛОПАСТНОГО**Корчагина Д.В., Куркина А.В., Дубищев А.В., Кочнева О.Н., Гусев Д.О.***ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Самара, e-mail: kurkina-av@yandex.ru*

В настоящей работе обсуждаются результаты исследований нейротропной активности лекарственных препаратов на основе листьев гинкго двулопастного (*Ginkgo biloba* L. (сем. Гинкговых – *Ginkgoaceae*) по обоснованию концепции создания импортозамещающих ноотропных и анксиолитических лекарственных средств на основе сырья данного растения. Проведено сравнительное исследование ноотропной и анксиолитической активности образцов настоек, полученных на 40 и 70% этиловом спирте из листьев гинкго двулопастного, а также препарата сравнения «Танакан». Определено, что лекарственный препарат «Гинкго двулопастного настойка» (1:5) на 70% этиловом спирте, как правило, проявляет более выраженные ноотропные и анксиолитические свойства по сравнению с фармакологическими эффектами препарата сравнения «Танакан». Впервые выявлена анксиолитическая активность препаратов гинкго из отечественного сырья, причем наибольшую эффективность, как и в случае ноотропного эффекта, показала настойка гинкго на 70% этиловом спирте.

Ключевые слова: гинкго двулопастный, *Ginkgo biloba* L., листья, лекарственные препараты, настойка, флавоноиды, нейротропная активность, ноотропная активность, анксиолитическая активность

THE STUDY OF THE NEUROTROPIC ACTIVITY OF MEDICINAL PREPARATIONS ON THE BASIS OF GINKGO BILOBA L. LEAVES**Korchagina D.V., Kurkina A.V., Dubishev A.V., Kochneva O.N., Gusev D.O.***Samara State Medical University, Samara, e-mail: kurkina-av@yandex.ru*

In the present paper are discussed the results of the investigations of neurotropic activity of preparations on the basis of *Ginkgo biloba* L. leaves (family *Ginkgoaceae*) with aims of the substantiation of the conception of the creation of the domestic nootropic and anxiolytic phytopharmaceuticals of this plant. There was carried out the comparative study of nootropic and anxiolytic activity of samples of tinctures, obtained by using of 40 and 70% ethanol from the leaves of *Ginkgo biloba* and drug comparison «Tanakan». There was determined that the preparation «Ginkgo biloba tincture» (1:5) at 70% ethyl alcohol, as a rule, shows more pronounced nootropic and anxiolytic properties compared with pharmacological effects of the drug comparison «Tanakan». For the first time there was detected anxiolytic activity of drugs of *Ginkgo biloba* L. leaves from domestic raw materials, with the greatest efficiency, as in the case of nootropic effect, showed Ginkgo tinctures on the 70% ethanol.

Keywords: *Ginkgo biloba* L., leaves, medicinal preparations, tincture, flavonoids, neurotropic activity, nootropic activity, anxiolytic activity

Одним из перспективных лекарственных растений ангиопротекторного действия и улучшающего мозговое кровообращение является гинкго двулопастный (серебряный абрикос) – *Ginkgo biloba* L.; семейство Гинкговых – *Ginkgoaceae* [2, 4, 6, 8]. В настоящее время для лечения неврологических расстройств широко назначаются ноотропные препараты на основе листьев гинкго двулопастного, в частности, «Танакан» (Beaufour Ipsen, Франция), Билобил (KRKA, Словения), однако данные лекарственные средства имеют высокую стоимость, что указывает на актуальность поиска и разработки отечественных растительных препаратов, не уступающих по качеству импортным аналогам.

Многочисленные клинические исследования подтверждают эффективность применения гинкго двулопастного для улучшения внимания и памяти [3, 4, 6, 8]. Экстракт листьев снижает проницаемость капилляров, улучшает мозговое кровообращение и снабжение мозга кислородом и глюкозой, усили-

вает концентрацию, снижает рассеянность, снимает умственную усталость, снижает частоту наступления головных болей и головокружений [8]. Кроме этого, экстракт гинкго эффективен при эмоциональном перенапряжении, значительно повышает концентрацию и работоспособность [8].

Гинкго двулопастный произрастает в странах с субтропическим климатом, однако возможности к адаптации этого растения очень высоки, о чем свидетельствует его успешное культивирование в Российской Федерации, в частности, в Краснодарском и Ставропольском краях, а также в Ботаническом саду Института физиологии растений РАН им. К.А. Тимирязева (г. Москва) [3, 4]. Учитывая хорошие перспективы создания промышленной сырьевой базы в Российской Федерации [3, 4], а, значит, меньшие затраты на производство российских препаратов, является целесообразным проведение исследований по обоснованию создания импортозамещающих ноотропных средств.

Ранее были выявлены ноотропные свойства настойки на основе листьев гинкго двулопастного на 40% этиловом спирте, полученной из сырья данного растения, культивируемого в Краснодарском крае. Кроме того, были обнаружены ноотропные свойства одного из основных флавоноидов листьев гинкго двулопастного – гинггетина [3], что требовало оптимизации технологии получения с учетом физико-химического свойств данного флавоноида.

Цель исследования – проведение сравнительного анализа нейротропной активности препаратов на основе листьев гинкго двулопастного в плане обоснования целесообразности создания импортозамещающих ноотропных и анксиолитических средств.

Материал и методы исследования

В качестве объектов исследования использовали образцы настоек (1:5) на 40 и 70% этиловом спирте, полученных из листьев растений гинкго двулопастного, культивируемого в Краснодарском крае. В качестве препарата сравнения использовали «Танакан», содержащий стандартизированный сухой экстракт листьев гинкго двулопастного (в виде раствора для приема внутрь). Действие препаратов в дозе 100 мг/кг исследовали на белых беспородных крысах обоего пола массой 180–250 г. Контрольные животные получали воду очищенную с добавлением спирта в эквивалентной массе 100 мг/кг и концентрации (40 и 70%) для тестируемых настоек и танакана.

Оценку влияния фитопрепаратов на память и обучение проводили путем выработки условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) у крыс с последующим воздействием амнезирующего фактора – электрического тока [1]. Препараты вводили внутривентрикулярно через зонд 1 раз в день в течение 2-х недель до тестирования. В качестве экспериментальной установки использовали прямоугольную камеру с электрифицированным решетчатым полом 40×40 см и пластмассовыми стенками высотой 35 см. Безопасную площадку в виде стеклянной платформы диаметром 10 см и высотой 1 см размещали в центре камеры. Животное помещали на платформу и регистрировали латентный период (время пребывания на платформе до первого спуска). После того как крыса полностью покидала безопасную площадку, на пол камеры подавали электрический ток ($F = 5$ Гц, $t_{\text{н}} = 5$ мс, $U = 30$ В), заставляя ее вернуться на прежнее место. Если животные по прошествии 1 мин самостоятельно не находили безопасную площадку, их возвращали на исходную позицию на 30 с. Затем вновь помещали на решетчатый пол и подвергали электрошолевому воздействию. Рефлекс считался выработанным, когда животное, обнаружив безопасную площадку, оставалось на ней не менее 3 мин. Сразу после обучения вызывали амнезию путем пропуска электрического тока ($F = 5$ Гц, $t_{\text{н}} = 5$ мс, $U = 150$ В) через ушные электроды до реакции электросудорожного шока (ЭСШ), затем вводили исследуемый препарат, и спустя сутки оценивали сохранность УРПИ. Таким образом, вырабатывался навык пассивного избегания у 100% животных.

Данная методика предполагает изучение церебропротекторной активности препаратов. Судорож-

ный припадок, вызванный пропуском электрического тока через голову, используется в качестве амнестической процедуры при исследовании памяти. Электрический ток, проходя диффузно через мозг, избирательно влияет на структуры с наименьшим порогом сопротивления: гиппокамп, лимбическую систему, гипоталамус. Считается, что амнестическое действие электрошока на память связано, главным образом, с нарушением процессов воспроизведения информации. Церебропротекторное действие препаратов оценивается по способности животных воспроизводить навык пассивного избегания. Эффективность церебропротекторного действия препаратов оценивалась через сутки после ЭСШ по количеству животных, способных воспроизводить УРПИ до критерия забывания (в% от общего количества обученных животных). Еще через сутки ввели элемент активного избегания: помещали животных на пол камеры и повторно воздействовали на них током, отмечая время поиска безопасной площадки.

Для изучения ноотропного действия нами использовался также тест воспроизведения условного рефлекса активного избегания (УРАИ) [5]. Оценивали действие настойки гинкго двулопастного на 70% спирте в сравнении с танаканом в дозе 100 мг/кг на поведение белых крыс в тех же условиях без последующего воздействия амнезирующего фактора. Препараты вводили на протяжении четырех дней: за день до выработки УРАИ и в последующие дни эксперимента. Животных подвергали электрошолевому воздействию в камере с полом из металлических прутьев до момента нахождения безопасной площадки. УРАИ считался выработанным, если животное оставалось на безопасной площадке в течение 1 мин после обучения. Для анализа ноотропного действия оценивали УРАИ по количеству обученных животных через 24 и 48 ч, а также время повторного поиска безопасной площадки через 48 ч.

Определение анксиолитической активности препаратов гинкго двулопастного проводили в тестах «открытое поле» (ОП) и «приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) [5]. Разведенные настойки и танакан вводили внутривентрикулярно через зонд в дозе 100 мг/кг 1 раз в день за 3 дня до тестирования и в день эксперимента. Контрольные животные получали дистиллированную воду с добавлением спирта в эквивалентной массе и концентрации для тестируемых препаратов. С помощью теста ОП создается мягкая модель тревожности. Используются прямоугольную камеру, пол которой был разбит на 25 квадратов с отверстием диаметром 4 см в центре каждого. В течение 5 минут регистрировали число пересечений 16 внешних и 9 внутренних квадратов поля, количество обследованных отверстий. Поисковая активность – важнейший адаптивный механизм, который повышает вероятность выживания проявляющих ее особей. В условиях ОП поиск проявляется выходом животных во внутренние квадраты поля, увеличением количества обследованных отверстий. В тесте ПКЛ оценивали настойку гинкго на 70% спирте, которая оказалась более эффективной в тесте ОП. Методика ПКЛ основана на страхе открытого пространства и падения с высоты. Установка представляет собой 4 рукава, пересекающихся друг с другом под прямым углом. Два рукава, расположенных по прямой, имеют бортики, два других – прозрачные и открыты (без бортиков). ПКЛ приподнят на высоту 1 м. Контрольные интактные животные

предпочитают большую часть времени проводить в закрытых рукавах. Считается, что анксиолитический эффект препарата проявляется более частыми выходами животных в открытые рукава и времени нахождения в них, в то время как общее количество заходов в разные рукава сопоставимо в опытных и контрольных группах.

Результаты исследования и их обсуждение

Определено, что в случае использования методики выработки условного рефлекса пассивного избегания в опытной группе животных с настойкой гинкго на 70% этиловом спирте сохранность УРПИ наблюдалась в 30% случаев, в опыте с настойкой гинкго на 40% этиловом спирте и в опыте с танаканом – в 20% случаев, в то время как в контрольных группах ни одно животное не воспроизводило данный рефлекс. Через сутки, после того когда был введен элемент активного избегания, под действием настойки гинкго на 70% этиловом спирте время поиска безопасной площадки уменьшалось на 56% по сравнению с контролем ($P = 0,001$). В опыте с настойкой гинкго на 40% спирте время поиска сокращалось на 39% ($P = 0,001$). При этом танакан сокращал время поиска на 66% по сравнению с контролем ($P = 0,001$).

При изучении ноотропного действия с помощью теста воспроизведения условного рефлекса активного избегания (УРАИ) количество обученных крыс через 24 ч в контроле составило 30%, в случае исследуемых препаратов – 50%. Через 48 ч количество обученных животных в контроле не изменилось (30%), в опытных группах составило 60%. При этом время поиска безопасной площадки по сравнению с контролем сокращалось в 5 раз в случае настойки гинкго ($P < 0,01$) и в 4,2 раза ($P < 0,01$) в опыте с танаканом, что свидетельствует о значительном повышении концентрации внимания животных.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что настойки гинкго на 70% и на 40% спирте оказывают ноотропное действие, сопоставимое с эффектами танакана или превосходящее в некоторых случаях. При этом действие настойки гинкго на 70% спирте более отчетливо проявляется в менее жесткой методике изучения ноотропной активности.

Определение анксиолитической активности препаратов гинкго двулопастного в тесте «открытое поле» (ОП) показало, что под действием настойки гинкго на 70% спирте в 3 раза ($P < 0,001$) увеличивается количество обследованных отверстий с тенденцией более частого выхода в центр площадки по сравнению с контролем. Настойка гинкго на 40% спирте в 2 раза ($P = 0,006$)

повышала исследовательскую активность по сравнению с контролем.

Исследование анксиолитической активности в тесте ПКЛ настойки гинкго на 70% спирте, которая оказалась более эффективной в тесте ОП, определено, что данный препарат в 2 раза ($P = 0,038$) увеличивает число выходов животных в открытые рукава и в 1,8 раза ($P = 0,019$) – время пребывания в них без достоверного изменения общей двигательной активности животных по сравнению с контролем. При этом танакан (препарат сравнения) оказался неэффективным в данной методике.

Результаты по изучению ноотропной активности указывают на способность препаратов гинкго двулопастного оказывать оптимизирующее влияние на когнитивные процессы, ускорять образование условных связей и обеспечивать сохранение выработанного навыка на достаточно долгое (несколько суток) время. Впервые выявлена анксиолитическая активность препаратов гинкго из отечественного сырья, причем наибольшую эффективность показала настойка гинкго на 70% этиловом спирте, тогда как танакан (препарат сравнения) оказался неэффективным в данной методике.

Результаты сравнительного исследования нейротропной активности препаратов на основе листьев *Ginkgo biloba* L. свидетельствуют о перспективности использования отечественных фитопрепаратов на основе сырья в качестве церебропротекторных средств с ноотропным и анксиолитическим действием, причем с использованием 70% этилового спирта в качестве экстрагента. Полученные результаты свидетельствуют о том, что при создании импортозамещающих ноотропных лекарственных препаратов следует идти не по пути воспроизводства технологии получения зарубежных препаратов на основе листьев гинкго двулопастного, а с использованием способа, позволяющего оптимизировать извлечение действующих веществ, в том числе флавоноидов сырья данного растения.

Выводы

1. В результате сравнительного исследования ноотропной и анксиолитической активности образцов настоек, полученных на 40 и 70% этиловом спирте из листьев гинкго двулопастного, а также препарата сравнения «Танакан», определено, что лекарственный препарат «Гинкго двулопастного настойка» (1:5) на 70% этиловом спирте, как правило, проявляет более выраженные ноотропные и анксиолитические свойства по сравнению с фармакологическими эффектами препарата сравнения «Танакан».

2. Впервые выявлена анксиолитическая активность препаратов гинкго из отечественного сырья, причем наибольшую эффективность, как и в случае ноотропного эффекта, показала настойка гинкго на 70% этиловом спирте.

3. Результаты по изучению ноотропной активности указывают на способность препаратов гинкго двулопастного оказывать оптимизирующее влияние на когнитивные процессы, ускорять образование условных связей и обеспечивать сохранение выработанного навыка на достаточно долгое (несколько суток) время, что свидетельствует о перспективности использования отечественных фитопрепаратов на основе сырья *Ginkgo biloba* L. в качестве церебропротекторных средств с ноотропным и анксиолитическим действием.

Список литературы

1. Бородкин Ю.С., Шабанов П.Д. Нейрохимические механизмы извлечения следов памяти. – Л., 1986. – 150 с.
2. Куркин В.А. Фармакогнозия: учебник для студентов фармацевтических вузов (факультетов). – 2-е изд., перераб. и доп. – Самара: ООО «Офорт»; ГОУ ВПО «СамГМУ Росздрава», 2007. – 1239 с.
3. Гинкго двулопастный – перспективный источник импортозамещающих ноотропных лекарственных препаратов / А.В. Куркина, Д.В. Корчагина, А.В. Дубищев, Д.Г. Буланкин, Н.В. Загоскина // Традиционная медицина. – 2012. – № 5. – С. 261–265.
4. Куркина А.В. Флавоноиды фармакопейных растений: монография. – Самара: ООО «Офорт»; ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития России, 2012. – 290 с.
5. Хабриев Р.У. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. – М.: Медицина, 2007. – 832 с.
6. Crane P. Ginkgo: the tree that time forgot. – New Haven and London: Yale University Press, 2013. – 350 p.
7. European Pharmacopoeia. – 4-th Ed. – Ginkgo leaf (*Ginkgo folium*). – 2002. – P. 1242–1243.

8. Sasakia K. Chemistry and biological activities of *Ginkgo biloba*. – Hokkaido, 2007. – 177 p.

References

1. Borodkin Yu.S., Shabanov P.D. Neurokhimicheskie mekhanizmy izvlecheniya sledov pamyati. L., 1986. 150 p.
2. Kurkin V.A. *Farmakognozija: Uchebnik dlja studentov farmacevticheskikh vuzov (fakul'tetov). 2-e izd., pererab. i dop.* [Pharmacognosy: A textbook for students of schools (faculties) of Pharmacy. 2nd ed., rev. and add.]. Samara, 2007, 1239 p.
3. Kurkina A.V., Korchagina D.V., Dubishchev A.V., Bulankin D.G., Zagoskina N.V. Ginkgo dvulopastnyi perspektivnyi istochnik importozameshchayushchikh sredstv // Tradicionnaya medicina. 2012. no. 5. pp. 261–265.
4. Kurkina A.V. Flavonoidy farmakopeinykh rastenii: Monografiya. Samara: ООО «Офорт»; ГБОУ ВПО СамГМУ Минздравсоцразвития, 2012. 290 p.
5. Khabriev R.U. Rukovodstvo po experimental'nomu (doklinicheskomu) issledovaniyu novykh farmakologicheskikh veshchestv. M.: Medicina, 2007. 832 p.
6. Crane P. Ginkgo: the tree that time forgot. New Haven and London: Yale University Press, 2013. 350 p.
7. European Pharmacopoeia. 6-th Ed. Rockville: United States Pharmacopoeial Convention. Inc., 2008, 1884 p.
8. Sasakia K. Chemistry and biological activities of *Ginkgo biloba*. Hokkaido, 2007. 177 p.

Рецензенты:

Шаталаев И.Ф., д.б.н., профессор, заведующий кафедрой химии фармацевтического факультета, ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара;

Правдивцева О.Е., д.фарм.н., доцент кафедры фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, ГБОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Самара.

Работа поступила в редакцию 16.08.2013.