

АНТИАМНЕСТИЧЕСКИЙ ЭФФЕКТ ЭКСТРАКТА ВЗДУТОПЛОДНИКА СИБИРСКОГО ПРИ СКОПОЛАМИН- ИНДУЦИРОВАННОЙ АМНЕЗИИ

УДК 615.322

DOI: 10.17816/RCF15453-57

© С.М. Гуляев¹, В.В. Тараскин^{2,3}, Л.Д. Раднаева^{2,3}, С.М. Николаев^{2,3}¹Институт общей и экспериментальной биологии Сибирского отделения Российской академии наук, Улан-Удэ;²Байкальский институт природопользования Сибирского отделения Российской академии наук, Улан-Удэ;³Бурятский государственный университет, Улан-Удэ

Для цитирования: Гуляев С.М., Тараскин В.В., Раднаева Л.Д., Николаев С.М. Антиамнестический эффект экстракта вздутоплодника сибирского при скополамин-индуцированной амнезии // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – № 4. – С. 53–57. doi: 10.17816/RCF15453-57

Поступила в редакцию 10.10.2017

Принята к печати 01.12.2017

Ключевые слова:

скополамин; антиамнестический эффект; *Phlojodicarpus sibiricus*; экстракт сухой.

Резюме

В настоящей работе было проведено исследование влияния экстракта вздутоплодника сибирского (*Phlojodicarpus sibiricus* (Steph. ex. Sprengel) K.-Pol.) на память у крыс при скополаминовой амнезии в тесте распознавания предметов. Крысы были распределены на четыре группы: первую группу составили крысы, получавшие воду очищенную; крысам

второй группы (контроль) вводили скополамин в дозе 1 мг/кг и воду очищенную, внутрибрюшинно; крысам третьей и четвертой групп вводили скополамин + экстракт *P. sibiricus* соответственно в дозах 50 и 100 мг/кг внутрибрюшинно. Тест распознавания предметов проводили через 30 минут после введения крысам скополамина и экстракта *P. sibiricus*. Результаты исследований показали, что введение крысам экстракта *P. sibiricus* предупреждало развитие амнезии, вызванной скополамином. Антиамнестический эффект экстракта *P. sibiricus* обусловлен холинергическим действием кумаринов, содержащихся в растении.

ANTIAMNESTIC EFFECT OF PHLOJODICARPUS SIBIRICUS EXTRACT IN A SCOPOLAMINE-INDUCED AMNESIA MODEL

© S.M.Gulyaev¹, V.V.Taraskin^{2,3}, L.D.Radnayeveva^{2,3}, S.M.Nikolaev^{2,3}¹Institute of General and Experimental Biology of the SB RAS, Ulan-Ude, Russia;²Baikal Institute of Nature Management of the SB RAS, Ulan-Ude, Russia;³Buryat State University, Ulan-Ude, Russia

For citation: Gulyaev SM, Taraskin VV, Radnayeveva LD, Nikolaev SM. Antiamnestic effect of *Phlojodicarpus sibiricus* extract in a scopolamine-induced amnesia model. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(4):53-57. doi: 10.17816/RCF15453-57

Received: 10.10.2017

Accepted: 01.12.2017

◆ **Keywords:** scopolamine; antiamnestic effect; *Phlojodicarpus sibiricus*; dry extract.

◆ **Abstract.** The present study was investigated influence of *Phlojodicarpus sibiricus* (Steph. ex. Sprengel) K.-Pol. extract on memory in scopolamine-induced amnesia in rats using object recognition test. The rats were divided into four groups: the first group consist of rats received purified water; rats of two groups administrated scopolamine in dose 1 mg/kg and purified water intraperitoneally;

rats of three and four groups introduced scopolamine and *P. sibiricus* extract in doses 50 and 100 mg/kg accordingly intraperitoneally. The object recognition test was performed 30 minutes after the administration of scopolamine and the *P. sibiricus* extract. The results of the studies showed that administration of the *P. sibiricus* extract in animals at doses of 50 and 100 mg/kg prevented the development of amnesia caused by the administration of scopolamine. The anti-amnestic effect of *P. sibiricus* extract is due to the cholinergic effect of coumarins contained in the plant.

ВВЕДЕНИЕ

Когнитивные расстройства, нарушение памяти при болезни Альцгеймера и некоторых других

формах деменции обусловлены поражением холинергических нейронов и снижением функции холинергических систем в головном мозге. Холинергическая природа деменции подтверждена целым

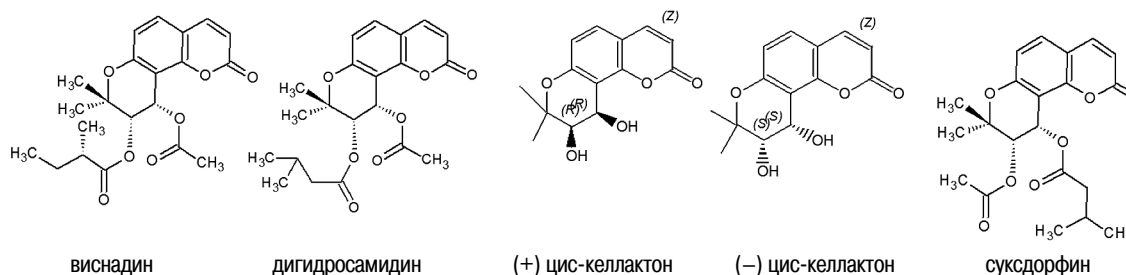


Рис. 1. Структурные формулы основных кумаринов вздутоплодника сибирского

рядом морфологических и экспериментальных данных [4, 5, 16]. Для уменьшения холинергического дефицита в ЦНС применяют препараты — ингибиторы холинэстеразы, они показывают клинически значимый лечебный эффект (1814). Однако их применение, особенно длительное, нередко сопровождается развитием нежелательных явлений [5, 6]. Важным в этой связи становится поиск новых ноотропных и безопасных средств, в частности из лекарственных растений, которые, как правило, характеризуются полимодальным мягким лечебным действием и малой токсичностью [10]. Так, растения рода Вздутоплодник (вздутоплодник Комарова *Ph. komarovii* Gorovoï, вздутоплодник Попова *Ph. popovii* Sipl., вздутоплодник сибирский *Ph. sibiricus* (Steph. ex Spreng.) Koso-Pol., вздутоплодник волосистый *Ph. villosus* (Turcz. ex Fisch. et C.A. Meyer) Ledeb.) применяют в современной и традиционной медицине при сердечно-сосудистой патологии, некоторых неврологических расстройствах, а также при заболеваниях желудка и легких [2, 11]. Ранее к роду *Phlojodicarpus* Turcz. ex Ledeb. относился также вздутоплодник Турчанинова *Phlojodicarpus turczaninowii* Sipl., который в более поздних работах из данного рода был исключен и отнесен к роду *Ferulopsis* Kitag. — Феруловидка, с названием феруловидка щетинистая *Ferulopsis hystrix* (Bunge) Pimenov. В последнее время один из этих видов — *Ph. popovii* Sipl. — сведен в синонимы к *Ph. sibiricus* (Steph. ex Spreng.) Koso-Pol. [7, 8, 14]. Химический состав корневищ и корней вздутоплодника сибирского представлен эфирными маслами, жирными кислотами, макро-, микроэлементами и кумаринами, основные из которых виснадин, дигидросамидин, (-) цис-, (+) цис-келлактон и суксдорфин (рис. 1). Суммарное количественное содержание кумаринов из разных мест произрастания составляет до 3 % [12]. Проведенные нами ранее исследования показали, что извлечения из корневищ и корней вздутоплодника сибирского оказывают ноотропное действие при ишемии головного мозга [3, 13]. Лечебные эффекты растений данного рода обусловлены фармакологическими свойствами пирано- и фурукумаринов [1, 17]. В последних работах показана перспективность исследования пиранокумаринов как мощных ингибиторов холинэстеразы с целью создания эффективных лекарственных средств для лечения болезни Альцгеймера, в том числе путем синтетических трансформаций [15, 20, 21].

Целью настоящего исследования явилось определение влияния экстракта сухого из корневищ и корней вздутоплодника сибирского на память у крыс при скополаминовом повреждении.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экстракт *P. sibiricus* получали путем экстракции спиртоводным раствором 60 % и высушивания в вакуум-сушильном шкафу при температуре +60 °C.

Эксперименты выполнены на крысах обоего пола линии Wistar массой 280–320 г, содержащихся в условиях вивария при естественном освещении, температуре +25 °C, на стандартном пищевом рационе со свободным доступом к воде и пище. Опыты проводили в соответствии с правилами, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986), приказом МЗ РФ № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики» (19.06.2003). Объектом исследования служил сухой этанольный экстракт из корневищ и корней вздутоплодника сибирского (*Phlojodicarpus sibiricus* (Steph. ex Spreng) K.-Pol.). Животные были распределены на четыре группы ($n = 8$): 1-ю группу составили крысы, получавшие воду очищенную; крысам 2-й группы (контроль) вводили скополамина гидробромид (Сигма) в дозе 1 мг/кг + воду очищенную внутривентриально; крысам 3-й и 4-й групп вводили скополамин + экстракт *P. sibiricus* соответственно в дозах 50 и 100 мг/кг внутривентриально.

Тест распознавания предметов. Тест распознавания предметов проводили через 30 минут после введения крысам скополамина и экстракта *P. sibiricus*. За день перед тестированием каждую крысу помещали в клетку на 10 мин для адаптации к условиям эксперимента. Клетка, представляла собой пластиковый ящик (длина — 40 см, ширина — 30 см и высота — 20 см). В ходе тестирования каждую крысу сажали в центр клетки перед двумя предметами — A_1 и A_2 , расположенными на расстоянии 15 см друг от друга, и позволяли им исследовать предметы в течение 3 мин (1-я фаза эксперимента). Предметами A_1 и A_2 являлись идентичные стеклянные банки высотой 6 см, диаметром 5 см коричневого цвета. Регистрировали время исследования отдельно каждого предмета (A_1 и A_2). За акт

исследовательской активности у крыс принимали обнюхивание предмета на расстоянии менее чем 2 см и/или прикосновение к нему носом или лапкой. Перед тестированием каждый раз протирали банки 20 % раствором спирта (для устранения запаха крысы). Через 30 мин проводили аналогичную процедуру тестирования (2-я фаза эксперимента), при этом один предмет заменяли новым предметом — B_1 , отличающимся от «знакомо» предмета A_3 белым цветом. Во 2-ю фазу отмечали время исследования нового предмета B_1 и «знакомо» предмета A_3 .

Условная реакция пассивного избегания (УРПИ). Условная реакция пассивного избегания используется для оценки долговременной памяти у крыс и основана на негативном подкреплении. Установка УРПИ представляла собой ящик (размером 30 × 70 × 20 см), разделенный на два отсека: первый — светлый отсек сверху освещался лампой; второй — темный отсек был с электрифицированным полом и закрывался сверху крышкой. Отсеки между собой сообщались полуovalным отверстием (размером 6–7 см). Крысу помещали в светлый отсек, позволяя перейти в темный отсек (в силу норкового рефлекса у грызунов), регистрировали латентный период захода в темный отсек установки. Затем проводили процедуру обучения: при заходе крысы в темный отсек наносили электрошоковое раздражение пятью электрическими импульсами через элек-

трифицированный пол (1 с, 50 мА). Через 24 часа тестировали обученных крыс для оценки сохранности памяти — УРПИ, регистрировали латентный период захода крысы в темный отсек камеры в течение 3 мин наблюдения. Перед этим за 30 мин до тестирования крысам вводили скополамин (1 мг/кг) и экстракт *P. sibiricus* (50 и 100 мг/кг) внутривентриально.

Статистические данные обрабатывали с помощью критерия Стьюдента, значимость статистических различий: $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

В 1-ю фазу опыта распознавания предметов крысы всех групп исследовали предметы A_1 и A_2 почти равное время (рис. 2). Во 2-ю фазу эксперимента интактные крысы исследовали новый предмет B_1 значительно дольше, чем A_3 (рис. 3), тем самым проявляли типичное поведение для крыс — предпочтительное исследование нового предмета в знакомой обстановке. Введение скополамина крысам контрольной группы нивелировало у них способность распознавать предметы, что свидетельствовало о нарушении памяти. Введение крысам экстракта *P. sibiricus* препятствовало развитию амнезии при воздействии скополамина: новый объект B_1 они

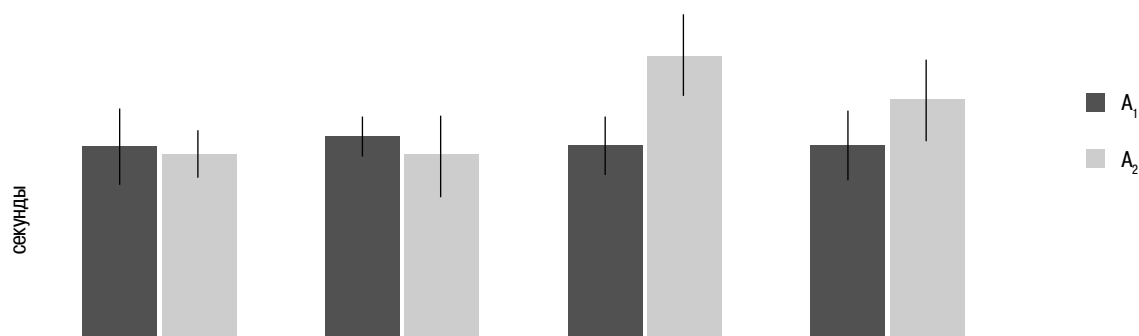


Рис. 2. Время исследования предметов A_1 и A_2 в тесте распознавания предметов, 1-я фаза эксперимента

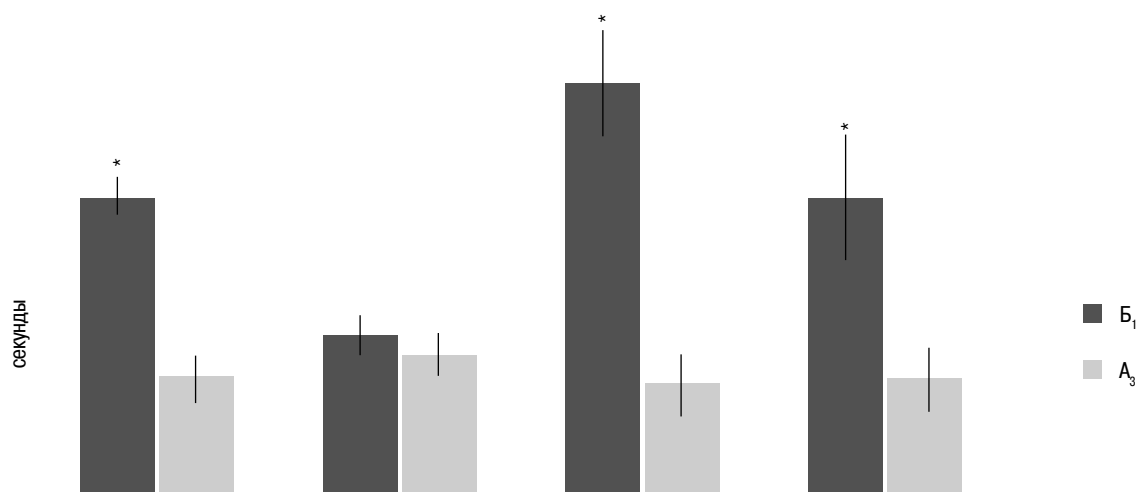


Рис. 3. Влияние *P. sibiricus* на время исследования предметов B_1 и A_3 после введения скополамина в тесте распознавания предметов, 2-я фаза эксперимента ($M \pm m$). * значимость различий показателей в распознавании предметов B_1 и A_3 при $p \leq 0,05$

■ Таблица 1. Влияние экстракта *P. sibiricus* на условную реакцию пассивного избегания у крыс на модели скололаминной амнезии

Условия опыта, латентный период	Интактные	Контроль, вода	<i>P. sibiricus</i>	
			50 мг/кг	100 мг/кг
До обучения	10,0 ± 1,8	11,2 ± 1,9	14,8 ± 2,4	16,2 ± 2,0
Тестирование	165, ± 8,3	17,4 ± 6,3	170,0 ± 7,6*	167,5 ± 8,4*

Примечания: *различия значимы по сравнению с контролем при $p \leq 0,05$

исследовали значительно дольше, чем объект А₃. В тесте УРПИ латентный период у крыс контрольной группы был значительно короче в сравнении с показателями крыс интактной и опытных групп (табл. 1).

Скополамин является антагонистом М-холинэргических рецепторов и обуславливает транзитное нарушение памяти у крыс [9]. Введение крысам скополамина вызывало у них амнезию: они утрачивали способность помнить предметы и «опасный» отсек в тестах распознавания предметов и УРПИ. В ходе исследований выявлено, что введение крысам экстракта *P. sibiricus* оказывало антиамнестический эффект при воздействии скополамина на ЦНС. Ноотропный эффект экстракта *P. sibiricus*, вероятно, обусловлен стимулирующим влиянием кумаринов на холинэргические структуры в головном мозге. По данным литературы, некоторые кумариновые соединения проявляют ноотропную активность за счет ингибирующего влияния на холинэстеразную активность [19, 22].

Таким образом, в результате исследований установлено, что экстракт *P. sibiricus* оказывает антиамнестическое действие при скополамин-индуцированном повреждении памяти у крыс и представляется перспективным объектом для дальнейшего изучения и разработки средства для коррекции когнитивных расстройств у больных, страдающих болезнью Альцгеймера и заболеваниями мозга сосудистого или смешанного генеза.

ЛИТЕРАТУРА

- Головкин Б.Н., Руденская Р.Н., Трофимова И.А., Шретер А.И. Биологически активные вещества растительного происхождения. – М., 2001. [Golovkin BN, Rudenskaja RN, Trofimova IA, Shreter AI. *Biologicheski aktivnye veshchestva rastitel'nogo proishozhdenija*. Moscow; 2001. (In Russ.)]
- Гантимур Д. Кумарины растений рода *Phlojodicarpus*: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Иркутск, 1985. [Gantimur D. *Kumariny rastenij roda Phlojodicarpus*. [dissertation] Irkutsk; 1985. (In Russ.)]
- Гуляев С.М., Николаев С.М., Урбанова Е.З., и др. Влияние настойки *Phlojodicarpus sibiricus* на когнитивные функции крыс с церебральной ишемией // Вестник Бурятского государственного университета. – 2012. – № 12. – С. 103–106. [Gulyaev SM, Nikolaev SM, Urbanova EZ, et al. *Vlijanie nastojki Phlojodicarpus sibiricus na kognitivnye funkcii krys s cerebral'noj ishemiej*. Vestnik Burjatskogo gosudarstvennogo universiteta. 2012; (12):103-106. (In Russ.)]
- Дамулин И.В. Сосудистая деменция и болезнь Альцгеймера. – М., 2002. [Damulin IV. *Sosudistaja demenciya i bolezni' Al'cgejmery*. Moscow; 2002. (In Russ.)]
- Левин О.С. Алгоритмы диагностики и лечения деменции. – М.: Медпресс-информ, 2011. [Levin OS. *Algoritmy diagnostiki i lechenija demencii*. Moscow: Medpress-inform; 2011. (In Russ.)]
- Машковский М.Д. Лекарственные средства. – М., 2014. [Mashkovskij MD. *Lekarstvennye sredstva*. Moscow; 2014. (In Russ.)]
- Пименов М.Г. *Ferulopsis* — новый род *Umbelliferae* для флор Сибири и Монголии // Ботан. журн. – 1991. – № 76(10). – С. 1387–1391. [Pimenov MG. *Ferulopsis* — novyj rod *Umbelliferae* dlja flor Sibiri i Mongolii. Botan. zhurn. 1991;76(10):1387-1391. (In Russ.)]
- Пименов М.Г. Семейство *Apiaceae*, или *Umbelliferae* — Сельдерейные, или Зонтичные // Флора Сибири. Т. 10. *Geraniaceae — Cornaceae* / Сост. М.Г. Пименов, Н.В. Власова, В.В. Зуев и др.: в 14 т. – Новосибирск: Наука. Сибирская издательская фирма РАН, 1996. [Pimenov MG. *Semejstvo Apiaceae, ili Umbelliferae — Sel'derejnye, ili Zontichnye*. Flora Sibiri. Vol. 10. *Geraniaceae — Cornaceae*. Ed by M.G. Pimenov, N.V. Vlasova, V.V. Zuev, et al. In 14 volumes. Novosibirsk: Nauka. Sibirs-kaja izdatel'skaja firma RAN; 1996. (In Russ.)]
- Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Под ред. Р.У. Хабриева. – М.: Медицина, 2005. [Rukovodstvo po eksperimental'nomu (doklinicheskomu) izucheniju novyh farmakologicheskikh veshhestv. Ed by R.U. Habriev. Moscow: Medicina; 2005. (In Russ.)]
- Самбукова Т.В., Овчинников Б.В., Ганапольский Г.В., и др. Перспективы использования фитопрепаратов в современной фармакологии // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2017. – Т. 15. – № 2. – С. 56–63. [Sambukova TV, Ovchinnikov BV, Ganapol'skij GV, et al. Prospects for phytopreparations (botanicals) use in modern pharmacology. *Reviews on Clinical Pharmacology and Drug Therapy*. 2017;15(2):56-63. (In Russ.)]. doi: 10.17816/RCF15256-63.
- Соколов С.Я. Фитотерапия и фитотерапевтика: Руководство для врачей. – М., 2000. [Sokolov SYa. *Fitoterapija i fitofarmakologija*. Rukovodstvo dlja vrachej. Moscow; 2000. (In Russ.)]
- Тараскин В.В. Фармакогностическое исследование *Phlojodicarpus sibiricus* (Steph. ex. Spreng.) Koso-Pol. и *Ph. Turczaninovi* Sipl.: Автореф. дис. ... канд. фарм. наук. – Улан-Удэ, 2011. [Taraskin VV. *Farmakognos-*

- ticheskoe issledovanie Phlojodicarpus sibiricus (Steph. ex Spreng.) Koso-Pol. I Ph. Turczaninovi Sipl.* [dissertation] Ulan-Udje; 2011. (In Russ.)]
13. Урбанова Е.З., Гуляев С.М., Николаев С.М., Тараскин В.В. Влияние настойки *Phlojodicarpus sibiricus* (Steph. ex Spreng.) K.Pol. на пространственную память у крыс при односторонней окклюзии сонной артерии // Электронный научно-образовательный вестник «Здоровье и образование в XXI веке». – 2013. – Т. 15. – № 3. – С. 25–28. [Urbanova EZ, Gulyaev SM, Nikolaev SM, Taraskin VV. Vlijanie nastojki *Phlojodicarpus sibiricus* (Steph. ex Spreng.) K.Pol. na prostranstvennuju pamjat' u krysov pri odnostoronnej okkluzii sonnoj arterii. *Zdorov'e i obrazovanie v XXI veke*. 2013;15(3):25-28. (In Russ.)]
 14. Черепанов С.К. Сосудистые растения России и сопредельных государств (в пределах бывшего СССР). – СПб., 1995. [Cherepanov SK. *Sosudistye rastenija Rossii i sopredel'nyh gosudarstv (v predelakh byvshego SSSR)*. Saint Petersburg; 1995. (In Russ.)]
 15. Basha SJ, Kumar PB, Mohan P, et al. Synthesis, pharmacological assessment, molecular modeling and in silico studies of fused tricyclic coumarin derivatives as a new family of multifunctional anti-Alzheimer agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2015;107:219-232. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.10.046.
 16. Francis PT, Palmer AM, Snape M, Wilcock GK. The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1999;66:137-147.
 17. Hoult J, Paya M. Pharmacological and biochemical actions of simple coumarins: natural products with therapeutic potential. *Gen Pharmacol*. 1996;7:713-722. doi: 10.1016/0306-3623(95)02112-4.
 18. Kadoszkiewicz H, Zimmermann T, Beck-Bornholdt HP, Bussche H. Cholinesterase inhibitors for patients with Alzheimer's disease: systematic review of randomised clinical trials. *BMJ*. 2005;331:321-327. doi: 10.1136/bmj.331.7512.321.
 19. Kim DH, Kim DY, Kim YC. Nodakenin, a coumarin compound, ameliorates scopolamine-induced memory disruption in mice. *Life Sciences*. 2007;80(21):1944-1950. doi: 10.1016/j.lfs.2007.02.023.
 20. Orhan IE, Senol FS, Shekfeh S, et al. Pteryxin — A promising butyrylcholinesterase-inhibiting coumarin derivative from *Mutellina purpurea*. *Food and Chemical Toxicology*. 2017;109(2):970-974. doi: 10.1016/j.fct.2017.03.016.
 21. Skalicka-Wozniak K, Orhan IE, Cordell GA, et al. Implication of coumarins towards central nervous system disorders. *Pharmacological Research*. 2016;103:188-203. doi: 10.1016/j.phrs.2015.11.023.
 22. Souza LG, Rennó MN, Figueroa-Villar JD. Coumarins as cholinesterase inhibitors: A review. *Chemico-Biological Interactions*. 2016;254:11-23. doi: 10.1016/j.cbi.2016.05.001.

◆ Информация об авторах

Сергей Миронович Гуляев — канд. мед. наук, старший научный сотрудник, лаборатория экспериментальной фармакологии. ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН», Улан-Удэ. E-mail: s-gulyaev@inbox.ru.

Василий Владимирович Тараскин — канд. фарм. наук, научный сотрудник, лаборатория химии природных систем. ФГБУН Байкальский институт природопользования СО РАН, Улан-Удэ. E-mail: vvtaraskin@mail.ru.

Лариса Доржиевна Раднаева — д-р хим. наук, профессор, заведующая, лаборатория химии природных систем. ФГБУН Байкальский институт природопользования СО РАН, Улан-Удэ. E-mail: radld@mail.ru.

Сергей Матвеевич Николаев — д-р мед. наук, профессор, главный научный сотрудник, лаборатория экспериментальной фармакологии. ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН», Улан-Удэ. E-mail: s-gulyaev@inbox.ru.

◆ Information about the authors

Sergey M. Gulyaev — PhD, senior researcher of the Laboratory of Experimental Pharmacology. FGBUN "Institute of General and Experimental Biology of the SB RAS". Ulan-Ude, Russia. E-mail: s-gulyaev@inbox.ru.

Vasily V. Taraskin — PhD (Pharmacology), researcher at the Laboratory of Chemistry of Natural Systems. FGBUN Baikal Institute of Nature Management, SB RAS. Ulan-Ude, Russia. E-mail: vvtaraskin@mail.ru.

Larisa D. Radnaeva — PhD (Chemistry), professor, head of the Laboratory of Chemistry of Natural Systems. FGBUN Baikal Institute of Nature Management, SB RAS, Ulan-Ude, Russia. E-mail: radld@mail.ru.

Sergey M. Nikolaev — Dr Med Sci, professor, chief researcher of the laboratory of experimental pharmacology. FGBUN "Institute of General and Experimental Biology of the SB RAS", Ulan-Ude, Russia. E-mail: s-gulyaev@inbox.ru.