

УДК 615.015.4

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

DOI: 10.37903/vsgma.2020.4.5

**ИЗУЧЕНИЕ НЕЙРОТРОПНОЙ И АНТИГИПОКСИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМПОЗИЦИИ ГИНКГОТРОПИЛ-ФОРТЕ**

© Крылов Н.Н., Кулешова С.А., Компанцева Е.В., Шевченко А.М.

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал Волгоградского государственного медицинского университета, Россия, 357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11**Резюме*

**Цель.** Изучение нейротропной и антигипоксической активности разработанной композиции «Гинкготропил-форте».

**Методика.** Нейротропную активность определяли с помощью теста «Открытое поле» на крысах-самцах. Результаты оценивали после однократного введения исследуемых объектов через 30 мин и по истечении курсового применения исследуемой композиции и препаратов сравнения в течении 10-ти дней. Антигипоксическую активность изучали на модели гиперкапнической («баночной») гипоксии на беспородных мышах – самцах. Экспериментальное животное помещали в индивидуальную посадочную камеру объемом 250 см<sup>3</sup>, закрывали крышкой. Для проверки герметичности камеры ее переворачивали и опускали в поднос с водой, регистрировали время наступления судорог, в минутах. Тестирование групп проводили по истечению 30 минут после введения объекта.

**Результаты.** В ходе исследований было установлено, исследуемая комбинация «Гинкготропил-форте» обладает ноотропным эффектом, поскольку при применении данной композиции экспериментальные животные тратили значительно меньше времени на изучение незнакомой обстановки, что подтверждается снижением количества пересеченных секторов открытого поля и числа вертикальных стоек. Увеличение количества заглядываний можно также рассматривать как одно из возможных подтверждений наличия у «Гинкготропил-форте» ноотропной активности. При этом фармакологический эффект от применения данной комбинации превосходил таковой от препаратов сравнения: янтарной кислоты, глицина, и был сопоставим по величине с эффектом препарата Гинкго Билоба, содержащим сухой экстракт гинкго двулопастного. Кроме того, достоверное снижение времени «замирания» в центральной части «открытого поля» при разовом и курсовом применении исследуемой композиции свидетельствует о снижении проявлений страха и тревожности, то есть изучаемый объект проявляет анксиолитический эффект. По результатам изучения антигипоксических свойств установлено, что время устойчивости к гипоксии на фоне применения «Гинкготропил-форте» на 25,3% выше контроля, а в сравнении с применением монопрепаратов «Гинкготропил-форте» повышал выживаемость животных на 9,2-26,6%.

**Заключение.** Полученные результаты свидетельствуют об увеличении ноотропной активности и выраженном антигипоксическом действии в условиях гиперкапнической гипоксии на фоне применения комплекса «Гинкготропил-форте», состоящего из глицина, янтарной кислоты, сухих экстрактов гинкго двулопастного листьев и лабазника вязолистного травы в сравнении с эффектами при применении монопрепаратов.

*Ключевые слова:* открытое поле, гиперкапническая гипоксия, Гинкготропил-форте, ноотропная активность, антигипоксическая активность

**STUDY OF NEUROTROPIC AND ANTIHYPOXIC ACTIVITY OF GINKGOTROPIL-FORTE COMPOSITION**

Krylov N.N., Kuleshova S.A., Kompantseva E.V., Shevchenko A.M.

*Pyatigorsk Medical Pharmaceutical Institute-branch of Volgograd State Medical University, 11, Kalilina Av., 357532, Pyatigorsk, Russia**Abstract*

**Objective.** To study the neurotropic and antihypoxic activity of the developed composition "Ginkgotropil-forte".

**Methods.** Neurotropic activity was determined using the Open Field test in male rats. The results were evaluated after a single injection of the studied objects after 30 minutes and after the course application of the studied composition and comparison preparations within 10 days. Antihypoxic activity was studied on the model of hypercapnic ("can") hypoxia in outbred male mice. The experimental animal was placed in an individual landing chamber with a volume of 250 cm<sup>3</sup>, closed with a lid. To check the tightness of the chamber, it was turned over and lowered into a tray of water, the time of onset of seizures was recorded, in minutes. Testing of the groups was carried out after 30 minutes after the introduction of the object.

**Results.** In the course of the studies, it was found that the studied Ginkgotropil Forte combination has a nootropic effect, since when using this composition, experimental animals spent much less time studying an unfamiliar environment, which is confirmed by a decrease in the number of crossed sectors of the open field and the number of uprights. An increase in the number of peeps can also be considered as one of the possible confirmations of the presence of nootropic activity in Ginkgotropil-forte. In this case, the pharmacological effect of the use of this combination was superior to that of the comparison drugs: succinic acid, glycine, and was comparable in magnitude with the effect of the drug Ginkgo Biloba, containing dry extract of ginkgo bilobate. In addition, a significant reduction in the time of "fading" in the central part of the "open field" with a single and course application of the studied composition indicates a decrease in manifestations of fear and anxiety, that is, the studied object exhibits anxiolytic effect. According to the results of the study of antihypoxic properties, it was found that the hypoxia resistance time during the use of Ginkgotropil Forte was by 25.3% higher than the control, and compared with the use of Ginkgotropil Forte monopreparations, it increased the animal survival by 9.2-26.6%.

**Conclusion.** The results indicate an increase in nootropic activity and a pronounced antihypoxic effect under the conditions of hypercapnic hypoxia with the use of the Ginkgotropil Forte complex, consisting of glycine, succinic acid, dry extracts of ginkgo bilobate leaves and meadowsweet grass compared with the effects of monopreparations.

*Keywords:* open field, hypercapnic hypoxia, Ginkgotropil-forte, nootropic activity, antihypoxic activity

## Введение

Воздействие неблагоприятных факторов внешней среды, чрезмерные психоэмоциональные нагрузки, различные стрессовые ситуации, а также уровень технического прогресса и высоких интеллектуальных достижений привел к возрастанию умственной активности и психофизиологических потребностей человека, что в свою очередь подвергает общество к высокому росту заболеваний центральной нервной системы. С целью защиты мозга применяют ноотропные лекарственные средства [4, 10]. Ассортимент ноотропных средств разнообразен, среди них можно выделить синтетические и растительные. Синтетические в свою очередь представлены большей номенклатурой, но все они обладают различными побочными эффектами. Их недостатки – симптомы нейротоксичности: головная боль, нарушение сна, аллергические реакции. Ноотропные растительные препараты зарубежных фирм («Танакан», Франция; «Билобил», Словения; «Мемоплант», Германия; «Гинсана», Швейцария) являются дорогостоящими [5, 7]. Производство многих ноотропов пока ещё недоступно отечественным фирмами. Статистические показатели по заболеваниям, подтверждающим высокий спрос в ноотропных средствах, показывают необходимость создания отечественных средств с данной активностью [1, **8Ошибка! Источник ссылки не найден.**].

Российскую биологически активную добавку (БАД) «Гинкготропил» таблетки по 650 мг выпускает фирма «Витаукт-Пром». В ней содержатся гинкго двулопастного мелкоизмельченные листья и лабазника вязолистного мелкоизмельченная трава по 260 мг, комплексный экстракт данных растений (в пересчете на сухое вещество) 50 мг, глицин 60 мг, янтарная кислота 20 мг [4]. Указанная БАД к пище уже завоевала популярность, однако стоит вопрос о разработке более эффективного официального ноотропного лекарственного средства.

Целью нашего исследования является изучение нейротропной и антигипоксической активности разработанной композиции «Гинкготропил-форте», являющихся показателями ноотропного действия.

## Методика

В исследованиях были использованы крысы-самцы линии Wistar массой 230-250 г и мыши-самцы массой 22-24 г, которые были получены из виварии Пятигорского медико – фармацевтического института (Пятигорск, Россия) и прошедших 14-дневный карантин. Содержание животных проводилось в стандартных условиях виварии [1,6,8,9]. Все проводимые манипуляции с

животными выполняли в соответствии с требованиями Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или иных научных целей (Strasbourg, 22 June, 1998) [3].

Введение препаратов осуществляли интрагастрально с помощью желудочного зонда в дозе из расчета суточной дозы для человека и в пересчете на массу животного в опыте [6, 9].

Нейротропную активность определяли с помощью теста «Открытое поле» (ОП). В эксперименте использовали установку ОП (НПК Открытая Наука, Россия) [2, 10]. Результаты оценивали после однократного введения исследуемых объектов через 30 мин и по истечении курсового применения исследуемой композиции и препаратов сравнения в течении 10-ти дней. Данную серию исследований выполняли на 40 крысах – самцах, разделенных на 5 равных групп по 8 особей в каждой. Контрольная группа животных на протяжении эксперимента получала в эквивалентных объемах изотонический раствор натрия хлорида [2, 6].

Антигипоксическую активность изучали на модели гиперкапнической («баночной») гипоксии. Для данной серии исследований использовали беспородных мышей – самцов, разделенных на 5 групп по 6 особей в каждой. Экспериментальное животное помещали в индивидуальную посадочную камеру объемом 250 см<sup>3</sup>, закрывали крышкой. Для проверки герметичности камеры ее переворачивали и опускали в поднос с водой, регистрировали время наступления судорог, в минутах. Тестирование групп проводили по истечению 30 минут после введения объекта [6, 8].

Все результаты, полученные в ходе исследований, подвергались математической и статистической обработке в программе «MS Excel», с использованием критерия Стьюдента [3].

## Результаты исследования и их обсуждение

На основании исследований, проведенных в Пятигорском медико-фармацевтическом институте были разработаны таблетки сублингвальные «Гинкготропил-форте», в состав которых входят: сухие экстракты гинкго двулопастного листьев и лабазника вязолистного травы по 30 мг, глицин 100 мг, янтарная кислота 20 мг [4]. Полученные таблетки были исследованы на наличие нейротропной и антигипоксической активности. В качестве препаратов сравнения использовали лекарственные монопрепараты [5,7]: 1) капсулы Гинкго Билоба 40 мг, производитель ЗАО «Вертекс», Россия, суточная доза для взрослого человека составляет 120 мг, соответственно 20 мг/кг для мышей и 12 мг/кг для крыс; 2) таблетки глицин 100 мг, производитель Биоптики, Россия, суточная доза для взрослого человека составляет 300 мг, соответственно 50 мг/кг для мышей и 30 мг/кг для крыс; 3) таблетки янтарная кислота – Марбиофарм 100 мг, производитель Марбиофарм, Россия, суточная доза для взрослого человека составляет 200 мг, соответственно 30 мг/кг для мышей и 20 мг/кг для крыс. Результаты определения нейротропного эффекта приведены в табл. 1.

Таблица 1. Влияние исследуемой композиции и монопрепаратов сравнения на двигательную и поисково-исследовательскую деятельность животных

Показатель Группа	Исходные показатели			Через 30 мин. после введения			После 10-тидневного введения		
	Число пересеченных секторов	Число вертикальных стоек	Число заглядываний	Число пересеченных секторов	Число вертикальных стоек	Число заглядываний	Число пересеченных секторов	Число вертикальных стоек	Число заглядываний
Контроль	44,2± 2,28	8,7± 2,81	3,5± 0,34	40,3± 2,38	8,3± 1,11	2,0± 0,24*	30,0± 2,56*	7,5± 1,82	1,2± 0,40*
Янтарная кислота	37,4± 1,79	14,5± 1,85	2,8± 0,65	37,1± 1,19	12,1± 1,05#	5,0± 0,65*#	24,4± 3,60*	4,9± 1,03*	5,1± 0,62*#
Глицин	47,9± 2,08	13,0± 1,48	5,3± 0,42	37,4± 1,26*	9,7± 1,10	5,4± 0,51#	17,3± 1,74*#	3,4± 1,15*	3,0± 0,44*#
Гинкго Билоба	39,3± 1,52	9,7± 0,84	5,0± 0,55	31,3± 2,09*#	6,0± 0,96*	9,6± 1,17*#	20,4± 1,84*#	3,7± 0,92*	7,1± 0,65*#
«Гинкготропил-форте»	36,8± 1,06	8,9± 0,76	5,6± 0,41	35,4± 1,42	5,6± 0,72*	7,9± 0,91*#	20,7± 2,33*#	2,3± 0,61*#	6,4± 0,65*#

Примечание: \* – достоверно относительно исходных данных,  $p \leq 0,05$ ; # – достоверно относительно группы контроля,  $p \leq 0,05$

Оценку нейротропной активности вводимых объектов проводили по результатам их влияния на двигательную и поисково-исследовательскую деятельность. Согласно результатам исследования (табл. 1) однократное применение разрабатываемого препарата «Гинкготропил-форте» не вызывает выраженного снижения двигательной активности (на 3,8%), по сравнению с контрольными и исходными данными. Применение монопрепаратов – Гинкго Билоба и янтарной кислоты приводит к снижению локомоторной активности в среднем на 20%.

Показатели оценки поисково-исследовательской активности в том же режиме исследования на фоне «Гинкготропил-форте» и препаратов изменялись неоднозначно. Частота нахождения животных в вертикальном положении снижалась наиболее выражено при применении «Гинкготропил-форте» и Гинкго Билоба (на 37-38%). Заглядывание в норки на фоне исследуемых объектов, кроме янтарной кислоты, увеличивалось, на фоне глицина и Гинкго Билоба на 78 и 92% соответственно, на фоне «Гинкготропил-форте» – на 41%.

Курсовое 10-тидневное применение «Гинкготропил-форте» и монопрепаратов сравнения привело к дальнейшему снижению двигательной активности (табл.1) на 36-65%, о чем свидетельствует уменьшение числа пересеченных секторов «открытого поля». Причем изменения носили достоверный характер относительно исходных показателей и относительно контроля. Поисковая вертикальная активность также достоверно и значительно снижалась в процентном отношении к исходным значениям от 61 до 76%.

Горизонтальную исследовательскую активность «Гинкготропил-форте» увеличивал в меньшей степени, чем Гинкго Билоба, на 14% и 42% соответственно, что может быть вызвано добавлением в композицию янтарной кислоты.

Результаты влияния «Гинкготропил-форте» на двигательную и поисково-исследовательскую активность могут свидетельствовать об активации деятельности коры головного мозга и лимбической системы в целом. Оценка состояния психоэмоциональной активности экспериментальных животных (табл. 2) показала, что введение изучаемой комбинации и монопрепаратов сравнения значительно снижало время замирания в центральном секторе поля в момент посадки. Показатель груминга в аналогичных условиях изменялся неоднозначно.

Таблица 2. Влияние исследуемой композиции и монопрепаратов сравнения на эмоциональную деятельность животных

Группа \ Показатель	Исходные показатели		Через 30 мин. после введения		После 10-тидневного введения	
	Время замирания в центральном секторе, сек	Груминг, сек	Время замирания в центральном секторе, сек	Груминг, сек	Время замирания в центральном секторе, сек	Груминг, сек
Контроль	7,0±0,93	5,0±1,28	6,7 ±1,03	4,5±1,48	4,2±0,75*	3,8±1,95
Янтарная кислота	4,6±0,73	2,9±0,64	3,0±1,03#	5,6±1,64	1,3±0,29*#	2,3±1,16
Глицин	5,9±0,65	4,9±0,77	2,3±0,68*#	5,7±1,24	2,3±0,30*#	0±0
Гинкго Билоба	6,4±1,18	5,3±0,89	2,6±0,72*#	3,9±1,10	1,1±0,14*#	0,3±0,29*
Гинкготропил-форте	4,5±0,93	6,3±0,87	1,6±0,42*#	7,4±1,83	1,3±0,18*#	2,0±1,69*

Примечание: \* – достоверно относительно исходных данных,  $p \leq 0,05$ ; # – достоверно относительно группы контроля,  $p \leq 0,05$

Таким образом, характер полученных результатов работы, свидетельствует о наличии у разрабатываемой композиции нейротропных эффектов. Исследуемая комбинация «Гинкготропил-форте» обладает ноотропным эффектом, поскольку при применении данной композиции экспериментальные животные тратили значительно меньше времени на изучение незнакомой обстановки (повторное тестирование в ОП), что подтверждается снижением количества пересеченных секторов открытого поля и числа вертикальных стоек. Увеличение количества заглядываний можно также рассматривать как одно из возможных подтверждений наличия у «Гинкготропил-форте» ноотропной активности. При этом фармакологический эффект от применения данной комбинации превосходил таковой от препаратов сравнения: янтарной кислоты, глицина, и был сопоставим по величине с эффектом препарата Гинкго Билоба, содержащим сухой экстракт гинкго двулопастного. Кроме того, достоверное снижение времени «замирания» в центральной части «открытого поля» при разовом и курсовом применении

исследуемой композиции свидетельствует о снижении проявлений страха и тревожности, то есть изучаемый объект проявляет анксиолитический эффект.

Результаты по изучению антигипоксических свойств оценивали по времени наступления судорог у животных (табл. 3) в минутах. Время устойчивости к гипоксии на фоне «Гинкготропил – форте»  $19,83 \pm 0,64$ , что на 25,3% выше контроля. В сравнении с применением монопрепаратов «Гинкготропил-форте» повышал выживаемость животных на 9,2-26,6%.

Таблица 3. Изучение антигипоксической активности исследуемой композиции относительно контроля и монопрепаратов сравнения

Исследуемый объект \ Время, мин.	Время наступления судорог, m±M, мин	Δ% к контролю	Δ% к стандарту
Контроль	15,83±0,92	-	-
Янтарная кислота	15,66±0,88 #	-1,1	26,6
Глицин	18,16±0,92	14,7	9,2
Гинкго Билоба	16,67±0,96 #	5,3	19,0
«Гинкготропил-форте»	19,83±0,64*	25,3	-

Примечание: \* – достоверно относительно исходных данных,  $p \leq 0,05$ ; # – достоверно относительно группы контроля,  $p \leq 0,05$

Проведенные исследования показывают, что «Гинкготропил-форте» оказывает выраженное антигипоксическое действие в условиях гиперкапнической гипоксии, достоверно превосходящее эффект монотерапии янтарной кислотой и Гинкго Билоба, и близкое к действию глицина.

## Заключение

На основании проведенных фармакологических исследований нейротропной и антигипоксической активности разрабатываемая композиция «Гинкготропил-форте» может быть рекомендована для создания официального лекарственного препарата ноотропного действия.

## Литература (references)

- Арчинова Т.Ю., Кодониди И.П., Кулешова С.А. [и др.]. Синтез, изучение некоторых физико-химических и фармакологических свойств п-амидопроизводных хиназолинона-4 // Современные проблемы науки и образования. – 2015. – №1-1. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=18199> [Archinova T.Yu., Kodonidi I.P., Kuleshova S.A. i dr.. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. Modern problems of science and education. – 2015. – N1-1. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=18199>. (in Russian)]
- Амикшеева А.В. Поведенческое фенотипирование: современные методы и оборудование // Информационный вестник ВОГиС. – 2009. –Т.13, №3. – С. 529-542. [Amiksheeva A. V. *Informacionnyj vestnik VOGiS*. Vogis information Bulletin. – 2009. –V.13, N3. – P. 529-542. (in Russian)]
- Государственная фармакопея Российской Федерации. 14 изд.: в 4-х т. М.: МЗ РФ, 2018. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. [State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14 ed.: in 4 t. M.: Ministry of health of the Russian Federation. M., 2018. <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. (in Russian)]
- Крылов Н.Н., Компанцева Е.В., Шевченко А.М. Обоснование состава и методик анализа сублингвальных таблеток на основе экстрактов гинкго, лабазника, глицина и янтарной кислоты // Разработка и регистрация лекарственных средств. – 2015. – №1. – С. 84-91. [Krylov N.N., Kompanceva E.V., Shevchenko A.M. *Razrabotka i registracija lekarstvennyj sredstv*. Development and registration of medicines. – 2015. – N1. – P. 84-91. (in Russian)]
- Машковский М.Д. Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2019. – 1216 с. [Mashkovskij M. D. *Lekarstvennyye sredstva*. Medicines. Moscow: New wave, 2019. – 1216 p. (in Russian)]
- Миронов А.Н. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Изд-во Гриф и К, 2013. – 944 с. [Mironov A. N. *Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv*. Guidelines for conducting preclinical research of medicines. M.: Gryph and K publishing House. M.: Izd-vo Grif i K, 2013. – 944 p. (in Russian)]
- Регистр лекарственных средств России РЛС Энциклопедия лекарств. <http://www.rlsnet.ru>. [Register of medicines of Russia radar encyclopedia of medicines. <http://www.rlsnet.ru>. (in Russian)]

8. Сернов Л.Н, Гацура В.В. Элементы экспериментальной фармакологии. М.: 2000. – 352 с. [Sernov L.N, Gatsura V.V. *EHlementy ehksperimental'noj farmakologii*. Elements of experimental pharmacology. Moscow: 2000. – 352 p. (in Russian)]
9. Судаков С.К., Назарова Г.А., Алексеева Е.В., Башкатова В.Г. Определение уровня тревожности у крыс в тестах «открытое поле», «крестообразный приподнятый лабиринт» и тесте Фогеля. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т.155, №3. – С. 268-270. [Sudakov S.K., Nazarova G.A., Alekseeva E.V., Bashkatova V.G. *Bulleten' ehksperimental'noj biologii i meditsiny*. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2013. – V.155, N 3. – P. 268-270. (in Russian)]
10. Шилова И.В., Самылина И.А., Суслов Н.И. Разработка ноотропных средств на основе растений Сибири. – Томск: Печатная мануфактура, 2013. – 267 с. [Shilova I. V., Samylina I. A., Suslov N. I. *Razrabotka nootropnyh sredstv na osnove rastenij Sibiri*. Développement d'agents nootropes à base de plantes Sibériennes. Tomsk: Imprimerie: 2013. – 267 p. (in Russian)]

### Информация об авторах

*Крылов Николай Николаевич* – кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. E-mail: n.n.krylov@mail.ru

*Кулешова Светлана Анатольевна* – кандидат фармацевтических наук, доцент, доцент кафедры фармакологии с курсом клинической фармакологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. E-mail: pharmacology@mail.ru

*Компанцева Евгения Владимировна* – доктор фармацевтических наук, профессор, профессор кафедры фармацевтической химии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. E-mail: dskompanceva@mail.ru

*Шевченко Александр Михайлович* – доктор фармацевтических наук, доцент, профессор кафедры фармацевтической технологии с курсом медицинской биотехнологии Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ФГБОУ ВО ВолГМУ Минздрава России. E-mail: nplfarmak-50@yandex.ru

**Конфликт интересов:** авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.