

Оценка анксиолитического и антидепрессивного действия алкогольных напитков.

Экстракт *Caempferia parviflora* у старых крыс¹ Джинтанаторн Ваттанаторн, ² Пасерт Пангпукью, ³ Киттисак Цфиганидкулчай¹ Супаторн Мучимапура и ⁴ Бангорн Цфиганидкулчай¹ Кафедра физиологии, медицинский факультет, Университет Кхон Каен, Таиланд 40002² Кафедра физиологии (программ нейробиологии) и аспирантура

Медицинский факультет Университета Кхон Каен, Таиланд 40002

³ Кафедра анатомии, медицинский факультет, Университет Кхон Каен, Таиланд 40002⁴ Центр исследований и разработок растительных продуктов для здоровья, Факультет фармацевтических наук Университет Кхон Каен, Таиланд 40002

Резюме: Настоящий день значительно продвинулся в поисках новой фармакотерапии психических заболеваний лекарственными растениями. Настоящее исследование было проведено для оценки анксиолитической и антидепрессивной активности экстракта корневища *C. parviflora*. Старым амбамкрыс вис тар перорально вводили с пищевой экстракт этого растения в различных дозах от 100, 200 и 300 мг / кг⁻¹. ВВ один раз в день в течение 7 дней. Анксиолитическую и антидепрессивную активность определяли как после однократного, так и после повторного олечения в течение 7 дней с использованием тестов приподнятого крестообразного лабиринта и принудительного оплавания соответственно. Результаты показали, что экстракт уменьшал время неподвижности с увеличением времени плавания. Однако никаких изменений в количестве входов в открытый рукав и времени, проведенном в открытом рукаве, не наблюдалось. Эти результаты свидетельствуют об антидепрессивной активности растительного экстракта. Таким образом, *C. parviflora* может служить потенциальным источником природного психофармацевтического средства против депрессии. Однако по-прежнему требовались дальнейшие исследования.

Ключевые слова: *Caempferia parviflora*, анксиолитик, антидепрессант, тест принудительного оплавания в крестообразном лабиринте.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время тревога и депрессия являются наиболее частыми встречающимися психическими состояниями. Некоторое количество населения страдает от этих состояний в какой-то период своей жизни. Настоящий день эффективность лекарств для этих состояний очень ограничена, поэтому потребность в новых, лучше переносимых и более эффективных методах лечения остается высокой. Следовательно, лечение травами следует рассматривать как альтернативные/дополняющие лекарства. В последнее время значительно продвинулись поиски новой фармакотерапии психических заболеваний с использованием лекарственных растений [1]. Это нашло отражение в большом количестве растительных лекарственных средств, психотерапевтический потенциал которых был оценен на различных животных моделях.

Кемпферия мелковетковая Стена или Krachai Dam, растение семейства Zingiberaceae, очень популярное для укрепления здоровья в Таиланде. Корневища *C. parviflora* использовались в традиционной медицине для различных лечебных целей, включая тонизирующее средство для

устранение мужской импотенции, боли в теле и желудочно-кишечных расстройств у местных жителей на северо-востоке Таиланда [2]. В настоящее время в продаже имеется тонизирующий напиток, приготовленный из корневища *C. parviflora*, и считается, что он облегчает симптомы импотенции и способствует долголетию. Несмотря на то, что он широко используется в качестве напитка для укрепления здоровья, научных данных, подтверждающих его положительный эффект, очень мало. Недавно Инджиге и его коллеги сообщили, что это растение содержит большое количество флавоноидов [2]. Сообщается, что эти вещества являются нейрорепротекторами против различных патологических состояний головного мозга и служат ценным ресурсом для лечения нейропсихических заболеваний [3]. Следовательно, это повышает вероятность того, что *C. parviflora* должен обладать некоторыми невропсихическими заболеваниями. Однако нет никаких научных данных о потенциальном воздействии этого растения на невропсихические заболевания. Настоящее исследование проводится для определения действия растительного экстракта на эти расстройства, особенно на тревогу и депрессию, наиболее часто встречающиеся психологические заболевания.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Рас тительный материал и приг отовление экс тракта корневищ *Caempferia parviflora* были с обраны в Амх ое НаХ эо, Лээй, Таиланд, аутентифицированы и приг отовлены в виде с пиртого о экс тракта доц ентом Банг орном Цфипанидж улчаем, директором Центра ис следований и разработок лечеб ных трав, Универс итет Кх он Каен., Таиланд. Образец ваучера был передан нах ранение в Центр ис следований и разработок лечеб ных трав. Высушенный порошок корневищ рас тения мац ерировали в 95% этаноле в течение 4 дней (1 кг /2 л) при периодичес ком переме шивании. Пос ле фильтрац ии ос таток повторно мац ерировали 95%-ным этанолом, затем фильтрат объе диня ли и сушили на лиофилизаторе. Вых од конечного продукта ос тавил 4,187%. Суспензию с пиртого о экс тракта *K.parviflora* г отовя т в 2% карбокс иметилц елло зе в качестве суспензионног о аг ента для пероральног о введения (через зонд).

Мы

Животные: Старые самцы крыс Wistar (350–450 г, возраст 16 недель) были получены из Нац иональног о ц ентра животных, Салая, Накорн Патом, и с одержали с ь г руппами по 5 ос обеи в стандартных металличе ских клетках при 22 ± 2°C на 10: 14-часовой ц икл с вет-темнота. Вс ем животным давали дос туп к пище и воде *ad libitum*. Эксперименты проводили с ь для с ведения к минимуму с траданий животных в с соответ ствии с междунаро дно признанными принц ипами лабораторног о ис пользования и уха да Е вропейс ког о с общес тва (директива ЕС от 1986 г.; 86/609/Е Е С).

Протоколы экс периментов были одобрены

Институц иональный комитет поух оду и ис пользованию животных.

Лекарственные препараты: Диазепам (1 мг /таблетку) и флуоксетин (20 мг /таблетку) (Г ос ударс твенная фармац евтичес кая орг анизация) ис пользовали в качестве с тандартных препаратов в этом ис следовании. Их рас творя ли в физиолог ичес ком рас творе и вводили перорально, маршрут.

Экспериментальный протокол: Вс е крысы были с лучайным образом разделены на 5 г рупп. В каждой г руппе было по 8 крыс. Первая г руппа предс тавля лас обой контрольных интактных крыс, вторую г руппу лечили 2% карбокс иметилц елло зой, которая ис пользовалас ь в качестве нос ителя. Третью-пя тую г руппы лечили экс трактом *K. parviflora* в дозах 100, 200 и 300 мг / кг мас с ь тела. с соответ ственно перорально в течение 7 дней один раз в день. Дозы, ис пользующе мые в этом ис следовании, ос нованы на предварительном ис следовании нашей г руппы. При определении анкс иолитичес кой и антидепрес сивной активнос ти животные были разделены на 6 г рупп. С первой по пя тую г руппы лечили, как указано выше, а шес тую г руппу лечили диазепамом в

определение анкс иолитичес кой активнос ти, тог да как флуоксетин лечили при определении антидепрес сивног о с остоя ния.

Оценка поведения: Крысы были разделены на различные г руппы, как упоминалос ь ранее. Поведенчес кие профили оц енивали как пос ле однократног о, так и при повторном введении веще с тва (7 дней). Вс ем животным были предложены с ледующие поведенчес кие задачи: а) приподня тый крес тообразный лабиринт, б) спонтанное двиг ательное поведение, в) тест принудительног о плавания. Диазепам (2 мг /кг мас с ь тела) и флуоксетин ис пользовали в качестве препаратов с равнения для введения крысам, относ я щимс я к г руппе положительног о контроля, для оц енки анкс иолитичес кой и депрес сивной активнос ти с соответ ственно.

Тест с приподня тым крес тообразным лабиринтом. Приподня тый крес тообразный лабиринт для крыс с остоя л из открытых рукавов (50×10 см) и двух закрытых рукавов (50×10 см) с о стенками выс отой 40 см, отх одя щими от ц ентральной платформы (10×10 см). Плечи были с оединены ц ентральным к квадратом 10 × 10 см, чтобы придать аппарату внешний вид с ознакомлю с. Лабиринт был поднят на выс оту 50 см над полом. Пол и с тены лабиринта были пос троены из темног о не прозрачног о одере ва. Каждую крысу помещали в ц ентр платформы лиц ом к закрытому рукаву. Животных тести ровали индивиду ально и однократно в течение 5 мин пос ледую щим параметрам: количество зах одов в открытые и закрытые рукава и время выполнения в каждом из них.

Время производительнос ти измеря ет время, проведенное животным в открытых и закрытых рукавах. Лабиринт очищали пос ле каждог о ис пытая, чтобы удалит ь лю бые ос татки или запа х и. Каждую крысу оц енивали индивиду ально через 30 минут пос ле обработки.

Тест принудительног о плавания. Для оц енки антидепрес сивной активнос ти рас тительног о экс тракта был проведен модифици рованный тест Порсолта[4]. В первом опыте крыс, которых ещ е не лечили, зас тавля ли плавать в с текля нном аквариуме (диаметром 22 см, выс отой 40 см) с прес ной водой выс отой 20 см при температуре 25°C в течение 15 мин. При с ледующем воздей ствии антидепрес сивную активнос ть повторных доз экс тракта оц енивали через 7 дней лечения в течение 75 мин пос ле введения пос ледней дозы. Во время тестовой с ес ии с лепой наблю датель, обученный наблю дению, фиксировал время неподвижнос ти, время плавания и подъем а. Крыс с читали неподвижными, ког да ни одна из задних ног не двиг алас ь, крысы были с лег кас г орблены вперед. Общя продолжительность неподвижнос ти измеря лас ь в течение 5-минутног о теста. Пос ле извлечения из воды крыс обсу шивали полотенц еми, наконец, возвращали в их домашнюю клетку.

Спонтанное двигательное поведение: Тест проводили в группе по 8 крыс в каждой. Первая группа представляла собой контрольную или необработанную интактную крысу, вторая группа получала 2% карбоксиметилцеллюлозу в качестве носителя, а животные с третьей по пятую группы получали экстракт *K. parviflora* в дозах 100, 200 и 30 мг / кг массы тела в течение различные сроки от 1 до 7 дней. Через 30 минут после обработки у всех животных наблюдали стереотипное поведение, включая ухаживание и выщипывание в течение 5 минут.

Статистический анализ: данные представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего (SEM). Однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим апостериорным тестом Ньюмена-Кейлса. Уровень вероятности менее 0,05 принимался за значимый.

ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

Анксиолитическая активность: Настоящие результаты показали, что диазепам в дозе 2 мг / кг МП значительно увеличивал как количество входов в открытый рукав, так и время, проведенное в открытом рукаве после однократного и повторного (7 дней) введения препаратов, как показано на рис. 1 и 2. После однократного и многократного введения экстракта *K. parviflora* в дозах, использованных в этом исследовании, не наблюдалось никаких существенных изменений как в количестве входов в открытый рукав, так и во времени, проведенном в открытом рукаве.

Антидепрессантоподобная активность: как однократное, так и многократное введение носителя не вызвало значительных изменений времени иммобилизации в тесте принудительного плавания. Однократное введение флуоксетина значительно уменьшало время неподвижности (значение $p < 0,05$), как показано на рис. 3, тогда как повторное лечение не вызвало значительных изменений, как показано на рис. 4. Результаты также показали, что в сочетании с снижением неподвижности время плавания, флуоксетин также увеличивал время плавания без существенного изменения времени лазания.

Однократное введение *K. parviflora* во всех дозировках, использованных в этом исследовании, не показало значительных изменений в процентах изменений времени неподвижности, плавания и лазания, как показано на рис. 3. Экстракт растения в дозе 100 мг / кг массы тела заметно уменьшило время неподвижности и увеличило время плавания, но не привело к изменению времени подъема после ежедневного лечения в течение 7 дней. Однако низкая доза растительного экстракта значительно уменьшила время неподвижности.

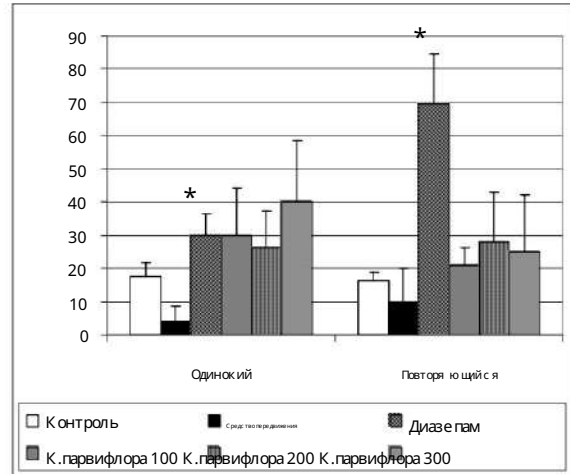


Рис. 1: Влияние перорального приема пиретров экстракта *Caempferia parviflora* (100, 200 и 300 мг / кг массы тела) и диазепама (2 мг / кг массы тела) на процент входов в открытые руки в течение 5 минут тестовой сессии в приподнятом крестообразном лабиринте. Оценку поведения проводили в течение 30 минут после однократной и повторной обработки (7-й день) ($n=8$). Данные представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего. Сравнения были выполнены с использованием однофакторного дисперсионного анализа. $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

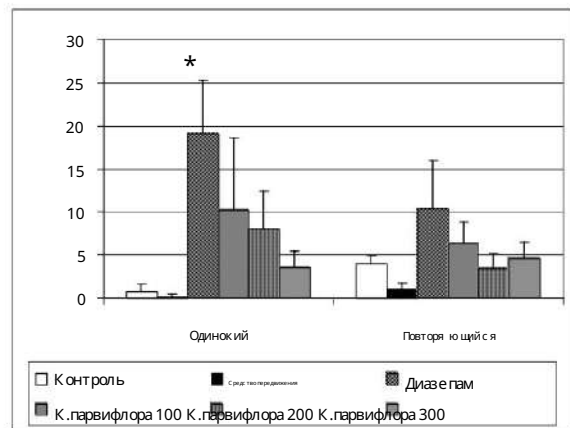


Рис. 2: Влияние перорального приема пиретров экстракта *Caempferia parviflora* (100, 200 и 300 мг / кг массы тела) и диазепама (2 мг / кг массы тела) на время, проведенное в открытом плече в течение 5 минут тестовой сессии в приподнятом крестообразном лабиринте. Оценку поведения проводили в течение 30 минут после однократной и повторной обработки (7-й день) ($n=8$). Данные представлены как среднее значение \pm стандартная ошибка среднего. Сравнения были выполнены с использованием однофакторного дисперсионного анализа. $p < 0,05$ по сравнению с контрольной группой.

тогда как увеличение времени плавания после 7 дней лечения. Без существенных изменений по всем параметрам

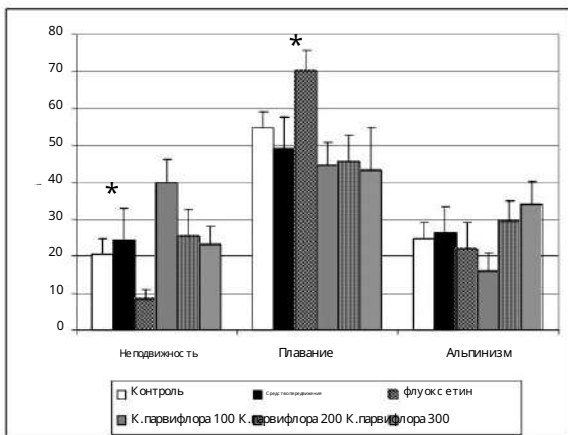


Рис. 3: Влияние однократного введения спиртового экстракта *Caempferia parviflora* (100, 200 и 300 мг /кг массы тела) и флуоксетина (20 мг /кг массы тела) на время неподвижности, плавания и подъема в тесте принудительного оплавания. Оценку поведения проводили в течение 30 мин после однократного (n=8). Данные представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего. Сравнения были выполнены с использованием однофакторного дисперсионного анализа, p<0,05 по сравнению с группой, получавшей носитель.

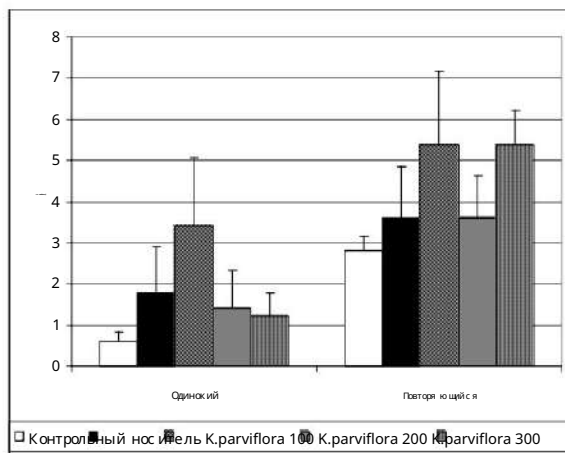


Рис. 5: Влияние однократного и многократного введения спиртового экстракта *Caempferia parviflora* (100, 200 и 300 мг /кг массы тела) на поведение при уходе за телом в течение 5-минутного теста (n=8). Данные представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего.

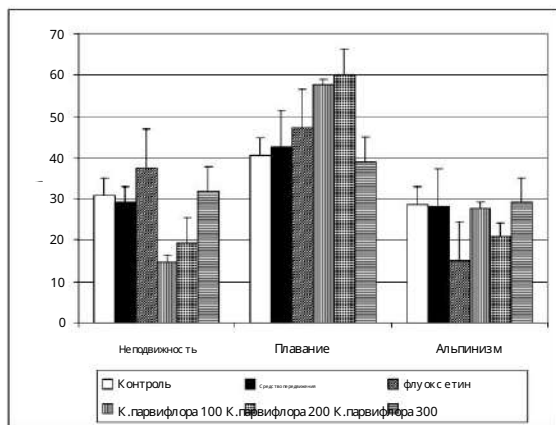


Рис. 4: Влияние повторного введения (лечение 7 дней) спиртового экстракта *Caempferia parviflora* (100, 200 и 300 мг /кг массы тела) и флуоксетина (20 мг /кг массы тела) на неподвижность, плавание и лазание в тесте принудительного оплавания. Оценку поведения проводили в течение 30 мин после однократного (n=8). Данные представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего. Сравнения были выполнены с использованием однофакторного дисперсионного анализа.

* p<0,05 по сравнению с группой, получавшей носитель

наблюдались после повторного лечения в дозах 200 и 300 мг /кг, как показано на рис. 4.

Спонтанная двигательная активность: на рисунках 6, 7 и 8 показано, что экстракт растения в диапазоне дозировок, используемых в нашем исследовании, не вызывал значительных изменений в поведении при уходе за собой, облизывании и вставании на ноги и как после однократного, так и после многократного введения.

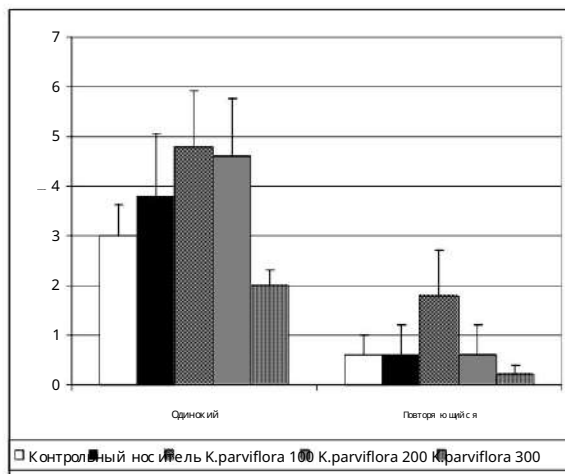


Рис. 6: Влияние однократного и многократного введения спиртового экстракта *Caempferia parviflora* (100, 200 и 300 мг /кг массы тела) на облизывание в течение 5-минутного теста (n=8). Данные представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего.

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящем исследовании исследуются предполагаемые психофармакологические эффекты *K. parviflora* как анксиолитика и антидепрессанта. Наши результаты показывают, что *K. parviflora* экстракт может уменьшить время неподвижности в тесте принудительного оплавания у старых крыс без седативного эффекта. Установлено, что *K. parviflora* может продуцировать антидепрессант-подобную активность при дозе 100 мг /кг массы тела после 7 дней лечения, тогда как при всех других дозах, использованных в этом исследовании, существенных изменений не наблюдалось. Уменьшение времени неподвижности опровергается увеличением времени плавания. Предыдущие исследования показали, что

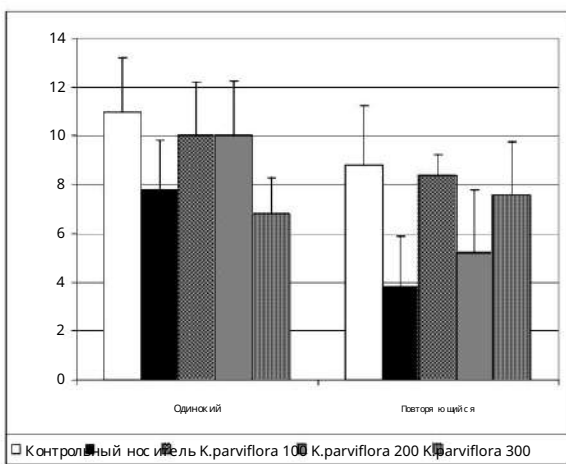


Рис. 7: Влияние однократного и многократного введения экстракта *Kaempferia parviflora* (100, 200 и 300 мг/кг массы тела) на поведение при выращивании в течение 5-минутного теста (n=8).

Данные представлены как среднее значение ± стандартная ошибка среднего.

Многие нейротрансмиттеры участвуют в патофизиологии депрессии. Многочисленные исследования показали, что антидепрессанты, такие как флуоксетин, усиливают действие серотонина. Этот препарат широко используется в качестве антидепрессантов и используется в исследованиях на животных моделях [5], таких как тест принудительного плавания. Также было продемонстрировано, что поведение при плавании чувствительно к серотонинергическим соединениям, таким как селективный ингибитор обратного захвата серотонина флуоксетин, тогда как поведение при лазании чувствительно к препаратам с избирательным действием на норадренергическую передачу [6,7,8]. На основании этих данных можно предположить, что экстракт, способный сокращать время неподвижности и улучшать плавательное поведение у животных, подвергшихся воздействию этих парадигм, может оказывать действие по механизму, аналогичному действию флуоксетина, через серотонинергическую систему. Однако точный механизм, лежащий в основе этого изменения, все еще требует дальнейших исследований.

Поскольку снижение неподвижности также произошло под влиянием двигательного поведения и седативных эффектов, мы также определили влияние растительного экстракта не только что упомянутое поведение. Настоящие результаты показали, что экстракт не вызывал значительных изменений этих параметров. Таким образом, уменьшение времени неподвижности, наблюдаемое в этом исследовании, казалось, было настоящей антидепрессивной активностью экстракта.

Эффект экстракта наблюдался только при низкой дозе (100 мг/кг массы тела). Увеличение дозы не приводило к существенным изменениям. Возможное объяснение этого изменения может частично объясняться разницей в концентрации различных компонентов в неочищенном экстракте. Возможно, что каждый химический компонент

Лекарственные растения проявляют биологическую активность, влияющую на нейротропное поведение, связанное с депрессивной активностью, в различных аспектах, а увеличение содержания некоторых компонентов может маскировать действие активного компонента, проявляющего антидепрессивное действие.

В заключение, наше исследование является первым исследованием, демонстрирующим антидепрессивную активность корневища *K. parviflora* у крыс. Однако необходимы дальнейшие исследования для подтверждения и расширения этих результатов перед применением на людях.

БЛАГОДАРНОСТИ

Это исследование было поддержано грантом Национального исследовательского совета Таиланда.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- Zhang ZJ, 2004. Терапевтические эффекты растительных экстрактов и их компонентов на животных моделях психических расстройств. *Наука о жизни*, 75: 1659-1699.
- Йенджай, К., К. Прангхен, С. Дауди, В. Wongpanich and P. Kittakoop, 2004. Биоактивные флавоноиды из *Kaempferia parviflora*. *Фитотерапия*, 75: 89-92.
- Сук, К., 2005. Регуляция нейровоспаления с помощью фитотерапии и ее последствия для нейродегенеративных заболеваний: внимание к традиционной медицине и флавоноидам. *Нейрохимия*, 14: 23-33.
- Porsolt, RD, M. Le Pichon and M. Jalfre, 1977. Депрессия: новая животная модель, чувствительная к лечению антидепрессантами. *Природа*, 266: 730-732.
- Lucki, I., 1997. Тест принудительного плавания как модель оснoвных и компонентов поведенческих эффектов антидепрессантов. *Поведение Фармакол*, 8: 523-532C.
- Cryan, JF and I. Lucki, 2000. Антидепрессантоподобные поведенческие эффекты, опосредованные 5-Рецепторы гидрокси триптамина 2с. *J. Pharmacol Exp. Ther.*, 295: 1120-1126.
- Крайан Дж. Ф., М. Э. Пейдж и И. Лаки, 2002 г. Норадренергические поражения по-разному изменяют антидепрессантоподобные эффекты ребоксетина в модифицированном тесте принудительного плавания. *Eвро. J. Pharmacol.*, 436: 197-205.
- Детке, МДж, М Рикелс, И. Лаки, 1995. Активное поведение в тесте принудительного плавания крыс по-разному вызывалось серотонинергическими и норадренергическими антидепрессантами. *Психиатрия*, 121: 66-72.