

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НООТРОПНЫХ И НЕЙРОПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ КАЛЬЦИЕВОЙ СОЛИ N-(5-ГИДРОКСИНИКОТИНОИЛ)-L-ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ

Стовбун С.В., Киселев А.В. *Институт химической физики имени Н.Н. Семенова Российской академии наук (г. Москва)*
Сергиенко В.И. *Федеральное государственное учреждение Научно-исследовательский институт физико-химической медицины Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию (г. Москва)*

АННОТАЦИЯ

Изучены ноотропные и нейропротективные эффекты кальциевой соли N-(5-гидроксиинико-тиноил)-L-глутаминовой кислоты (ампассе) на крысах. Ноотропные свойства исследованы на модели амнезии условного рефлекса пассивного избегания, вызванной введением скополамина (2 мг/кг, в/б) или действием максимального электрошока. Нейропротективные эффекты вещества исследованы на модели интрацеребральной посттравматической гематомы. Установлено, что ампассе (5-50 мг/кг, в/б) предупреждает развитие экспериментальной амнезии и по данному эффекту превосходит препарат сравнения пиррацетам (400, 600 мг/кг, в/б). Ампассе (10 мг/кг, в/б) оказывает защитный эффект в отношении неврологического и когнитивного дефицитов у крыс с интрацеребральной посттравматической гематомой.

Ключевые слова: обучение, крыса, амнезия, ноотроп, нейропротектор, условный рефлекс пассивного избегания.

EXPERIMENTAL STUDY OF NOOTROPIC AND NEUROPROTECTIVE EFFECTS OF CALCIUM N-(5-HYDROXYNICOTINOIL)-L-GLUTAMATE

S. Stovbun, A. Kiselev. *N.N. Semenov Institute of Chemical Physics Russian Academy of Sciences (Moscow)*
V. Sergienko. *Federal State Institution Research Institute of Physico-Chemical Medicine, Federal Agency for Health Care and Social Development (Moscow)*

ABSTRACT

Nootropic and neuroprotective effects of the calcium N-(5-hydroxynicotinoil)-L-glutamate (ampasse) have been studied on rats. Nootropic properties are investigated on a model of amnesia of the conditioned reflex of passive avoidance caused by scopolamine administration (2 mg/kg, i.p.) or a maximal electroshock. Neuroprotective effects of the substance studied on the model of post-traumatic intracerebral hematoma. It is shown that ampasse (5-50 mg/kg, i/p) prevents the development of both forms of experimental amnesia and is more effective on this point than the substance for comparison Piracetam (300, 600 mg/kg, i/p). Ampasse (10 mg/kg, i/p) possesses protective activities on the neurological and cognitive deficiencies in rats with intracerebral posttraumatic hematoma.

Keywords: learning, rat, amnesia, nootropics, neuro-protector, conditioned reflex of passive avoidance.

Нарушения когнитивных процессов отмечают при различных патологических состояниях: инсультах, хронической церебро-васкулярной недостаточности, постгипоксических энцефалопатиях, нейроинфекциях, травмах мозга и других поражениях мозга нейродегенеративного характера [9; 19; 21; 27]. Терапия когнитивной недостаточности, развивающейся на фоне структурно-функциональных изменений мозговой ткани, представляет актуальную и сложную медицинскую проблему. В настоящее время клинические данные об эффективности нейропротекторов весьма противоречивы и не позволяют выработать общие подходы к терапии нейропротекторами той или иной формы нейродегенеративной патологии [20; 22; 24; 25; 28]. Однако, несмотря на это, одним из перспективных направлений лечения когнитивной патологии на начальных стадиях нейродегенеративных заболеваний, а также у пациентов молодого и среднего возраста, представляется комплексное применение нескольких нейропротекторов, имеющих разные мишени, или препаратов, сочетающих ноотропную активность с нейропротективными свойствами. Большинство нейропротекторов, применяемых в практической медицине (антиоксиданты, блокаторы кальциевых каналов и некоторые другие) лишены прямого положительного влияния на мнестические функции. В свою очередь, ноотропы, являющиеся средствами активизации высших интегративных функций мозга, малоэффективны при развитии нейродегенеративных процессов, даже на ранних стадиях. Применяемые при терапии инсультов антагонисты кальциевых каналов имеют побочные влияния на сердечно-сосудистую систему, приводящие к «обкрадыванию» мозговой ткани за счет выраженных изменений общей гемодинамики. Таким образом, разработка принципиально новых препаратов, сочетающих ноотропную активность с нейропротективными свойствами, представляется весьма актуальной задачей.

Ранее в Российской Федерации при использовании аналогичного подхода был создан, экспериментально изучен и апробирован в клинических условиях препарат нооглютил ((N-(5-гидроксиникотиноил)-L-глутаминовой кислота) в качестве ноотропного средства [3, 11]. С целью создания эффективного и малотоксичного соединения, сочетающего психотропные эффекты с нейропротекторным действием, синтезирована кальциевая соль N-(5-гидроксиникотиноил)-L-глутаминовой кислоты (ампассе), кристаллическое вещество, нерастворимое в метиловом, этиловом и изопропиловом спиртах, практически нерастворимое в бензоле, хлороформе, этилацетате и других органических растворителях. Вещество растворимо в воде, разбавленных растворах кислот и щелочей (Патент № 2314293 от 10.01.2008).

Нейропротективные свойства фармакологических веществ исследуют в условиях валидизированных моделей нейродегенеративных патологий, в частности экспериментального геморрагического и/или ишемического инсульта, при системном введении нейротоксических веществ (1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином, 6-гидрокси-дофамина, ротенона), приводящих к развитию экспериментального паркинсонического синдрома [10, 14].

При моделировании геморрагического инсульта, интрацеребральной посттравматической гематомы (ИПГ) с локализацией в области внутренней капсулы, имеет место совмещенное развитие когнитивной патологии и неврологического дефицита при наличии небольшого очага поражения, который адекватно воспроизводит процессы, характерные для геморрагического инсульта у человека, и позволяет эффективно оценивать действие фармакологических препаратов [7; 13; 14].

Целью настоящей работы является изучение антиамнестических свойств кальциевой соли N-(5-гидроксиникотиноил)-L-глутаминовой кислоты в условиях экспериментальной амнезии условного рефлекса (УРПИ) пассивного избегания и его нейропротекторных эффектов на модели ИПГ у крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании использованы самцы белых беспородных крыс (вес 250-280 г) при изучении ноотропных эффектов веществ и крыс инбредной линии Wistar (вес 200-250 г) при моделировании интрацеребрального геморрагического инсульта. Животных содержали с предоставлением свободного доступа к корму (ГОСТ Р50258-92) и питьевой воде. Содержание животных в виварии соответствовало правилам лабораторной практики (GLP) и приказу МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики».

Препарат исследования – кальциевая соль N-(5-гидроксиникотиноил)-L-глутаминовой кислоты (субстанция ампассе®, ООО «Национальная Исследовательская Компания», РФ). Вещество вводили внутривентрикулярно (в/в) в водном растворе или 0,9% физиологическом растворе за 40 минут до опыта. В качестве препаратов сравнения были использованы пирацетам (Polfa, Польша), мексидол (Фарма Софт, РФ), которые вводили аналогично препарату исследования.

Методы исследования

Антиамнестические свойства препарата ампассе изучали в условиях методики амнезии условной реакции пассивного избегания (УРПИ), вызванной максимальным электрошоком, или введением скополамина (16). Нейропротекторную активность веществ исследовали на модели геморрагического инсульта, моделируемого ИПГ [7, 14].

Методика выработки УРПИ

Выработку УРПИ у крыс осуществляли в установке фирмы Lafauette Instrument Co (США). Установка состояла из металлической сетчатой платформы шириной 6,5 см и длиной 26,5 см, расположенной на высоте 1 м от пола и освещенной лампой (200 ватт), и темной камеры площадью 40 см x 40 см с высотой стенок 46 см. Темная часть установки имела электродный пол и соединялась с освещаемой платформой квадратным отверстием высотой 7,0 см и шириной 5,5 см. Крыс помещали на освещенную платформу перед входом в темную камеру установки хвостом к входному отверстию и регистрировали латентное время (с) перехода животного из освещенной части в темную. В эксперименте не использовали животных, которые при обучении имели латентный период (ЛП) перехода более 120 с. При переходе в темную часть установки крыса получала однократное электроболевое раздражение (0,6 мА), продолжительность которого определялась возвращением животного на освещаемую платформу. Тест на воспроизведение УРПИ осуществляли через 24 ч после обучения при повторном помещении животного на освещенную платформу с определением в течение 3 мин. ЛП захода крысы в темную часть установки. Регистрировали средний по группе ЛП перехода из освещенной камеры в темную и % животных, не зашедших в темный отсек камеры в течение 3-х мин.

Исследование неврологического дефицита по шкале Stroke-index McGrow

Неврологический дефицит у животных определяли по шкале Stroke-index McGraw (26) в модификации И.В. Ганнушкиной [5]. Тяжесть состояния определялась по сумме соответствующих баллов. Отмечалось количество животных с легкой симптоматикой до 2,5 баллов по шкале Stroke-index (вялость движений, слабость

конечностей, односторонний полуптоз, тремор, манежные движения) и тяжелыми проявлениями неврологических нарушений (от 3 до 10 баллов) – парезы конечностей, паралич нижних конечностей, боковое положение.

Методика амнезии УРПИ, вызванной МЭШ

МЭШ применяли немедленно после процедуры обучения УРПИ, когда животное, избегаясь от электролевого раздражения, выбегало из темной части экспериментальной камеры. При наложении кортикальных электродов (сила тока 43 мА, частота тока 50 Гц, продолжительность 0,3 с) у крыс вызвали тонические судороги. Исследуемые вещества вводили внутривентриально за 40 мин. до обучения УРПИ. Процедуру воспроизведения УРПИ осуществляли через 24 ч. после обучения УРПИ и действия МЭШ.

Методика амнезии УРПИ, вызванной скополамином

Для получения экспериментальной амнезии крысам за 15 мин. до обучения УРПИ вводили блокатор М-холиновых рецепторов скополамин (2 мг/кг, в/б), затем проводили процедуру обучения УРПИ и через 24 ч. воспроизводили рефлекс по схеме, описанной выше.

Моделирование ИПГ

При моделировании локального кровоизлияния в головном мозге крысам, наркотизированным хлоралгидратом (350 мг/кг, в/б) и фиксированным в стереотаксисе, при помощи мандрен-ножа осуществляли деструкцию мозговой ткани в области внутренней капсулы (глубина – 3 мм, диаметр – 2 мм), с последующим (через 2-3 минуты) введением в место повреждения 0,02-0,03 мл крови, взятой из-под языка животного. Морфологические исследования показали, что таким способом достигается локальный аутогеморрагический билатеральный инсульт в области внутренней капсулы без существенных повреждений вышерасположенных образований мозга и неокортекса (14). Динамику гибели животных при моделировании ИПГ регистрировали в 1-е, 3-е, 7-е и 14-е сутки после операции, развития неврологических и когнитивных нарушений – в 1-е и 14-е. Способность к обучению крыс исследовали на модели УРПИ, осуществляя обучение крыс с ИПГ через сутки после операции. Неврологический статус животных определяли с использованием шкалы Stroke-index McGraw (26) в модификации И.В. Ганнушкиной [5]. Животные были поделены на 5 групп: 1 – интактные крысы (n=10), которым вводили физиологический раствор; 2 – ложно оперированные животные (n=14), которым вводили физиологический раствор; 3 – группа животных с инсультом (n=36), которым также вводили физиологический раствор; 4 – группа животных с инсультом (n=20), которым после операции вводили ампасе (10 мг/кг); 5 – группа животных с инсультом (n=20), которым после операции вводили мексидол (100 мг/кг). Первое введение препаратов осуществляли через 4 ч, курс лечения состоял из 3-х инъекций по одной в сутки.

Статистическая обработка

Статистическую обработку результатов проводили с использованием критериев Вилкоксона и Манна-Уитни и точного критерия Фишера при использовании пакета статистических программ "Биостат".

РЕЗУЛЬТАТЫ

Изучение ноотропного действия веществ

При воспроизведении УРПИ успешно обученные крысы предпочитали находиться на светлой платформе большую часть периода наблюдения (3 мин.) и избегали заходить в темную часть установки, где им ранее наносили электролевого раздражение: ЛП захода в темную часть составляло $104,4 \pm 14,5 - 112,6 \pm 23,0$ с, доля не зашедших в темную камеру крыс – 88 - 90%. Введение скополамина за 15 мин. до или воздействие МЭШ немедленно после сеанса обучения приводило к нарушению воспроизведения УРПИ, что проявлялось уменьшением среднего по группе ЛП захода животных в «опасную» часть установки и доли крыс, не осуществивших переход из светлой части камеры в темную (табл. 1).

Установлено, что в условиях амнезии УРПИ, моделируемой МЭШ, ампасе во всех исследуемых дозах обладал выраженной антиамнестической активностью, так как время нахождения животных на безопасной освещенной платформе увеличивалось по сравнению с животными после воздействия МЭШ. Эффект препарата регистрировали уже в дозе 5 мг/кг, а аналогичный по выраженности эффект пирацетама – в дозе 250 мг/кг, что свидетельствует о более высокой антиамнестической активности ампасе по сравнению с препаратом сравнения (табл. 1).

В условиях моделирования «скополаминовой» амнезии ампасе (10 и 50 мг/кг) увеличивал ЛП перехода и % крыс, не зашедших в темную камеру. Пирацетам увеличивал только % животных, способных к воспроизведению УРПИ (табл. 1).

Антиамнестическое действие ампассе и пирацетама в условиях экспериментальной амнезии у крыс

Вещество, группы животных (n=10)	Доза, мг\кг	ЛП, с	Время, проведенное на освещенной площадке, с.	% крыс, не зашедших в темную камеру
Амнезия УРПИ, вызванная действием МЭШ				
Физ. р-р	—	104,4 ± 14,5	105,4 ± 14,6	88
Физ. р-р + МЭШ	—	35,3 ± 5,3 [#]	35,3 ± 5,3 [#]	13 ^{&}
Ампассе + МЭШ	5	94,6 ± 16,8 [*]	94,6 ± 16,8 [*]	64 [§]
Ампассе + МЭШ	25	110,4 ± 19,5 [*]	126,3 ± 18,1 [*]	80 [§]
Ампассе + МЭШ	50	118,0 ± 16,4 [*]	118,0 ± 16,4 [*]	83 [§]
Пирацетам + МЭШ	400	94,5 ± 15,1 [*]	94,5 ± 15,1 [*]	60 [§]
Пирацетам + МЭШ	600	101,0 ± 17,9 [*]	101,0 ± 17,9 [*]	70 [§]
Амнезия УРПИ, вызванная инъекцией скополамина				
Физ. р-р	—	112,6 ± 23,0	112,6 ± 23,0	90
Физ. р-р + скополамин	2	26,6 ± 6,3 [#]	26,6 ± 6,3 [#]	10 ^{&}
Ампассе + скополамин	10	80,0 ± 14,6 [*]	95,4 ± 14,6 [*]	60 [§]
Ампассе + скополамин	20	114,0 ± 20,9 [*]	126,0 ± 20,9 [*]	80 [§]
Ампассе + скополамин	50	120,4 ± 12,7 [*]	110,7 ± 10,3 [*]	83 [§]
Физ. р-р	—	160,1 ± 12,2	173,1 ± 12,2	90
Физ. р-р + скополамин	2	40,0 ± 6,1 [#]	40,0 ± 6,1 [#]	17 ^{&}
Пирацетам + скополамин	400	75,3 ± 12,6	75,3 ± 12,7	34
Пирацетам + скополамин	600	91,6 ± 10,9 [*]	95,6 ± 11,1 [*]	58 [§]

[#] – достоверность отличий от контроля без шока при $P < 0,05$ (U-критерий Манна-Уитни), [&] – достоверность отличий от контроля без шока при $P < 0,05$ (Критерий χ^2), ^{*} – достоверность отличий от контроля с шоком при $P < 0,05$ (U-критерий Манна-Уитни); [§] – достоверность отличий от контроля с шоком при $P < 0,05$ (точный критерий Фишера). МЭШ – максимальный электрошок, n – количество крыс в группе.

Изучение нейропротективного действия веществ

В группе ложно оперированных крыс к 14-му дню после операции регистрировали гибель 7% животных, а в группе с геморрагическим инсультом этот показатель составил 64%, при этом в первые трое суток погибло более 56% животных. Ампассе обладал защитным действием при ГИ, так как предупреждал гибель у 90% крыс. Уменьшение гибели животных, получавших ампассе, отмечали уже в первые сутки после моделирования ИПГ. В группе, получавшей мексидол, в первые сутки после операции погибло 30% крыс (рис. 1).

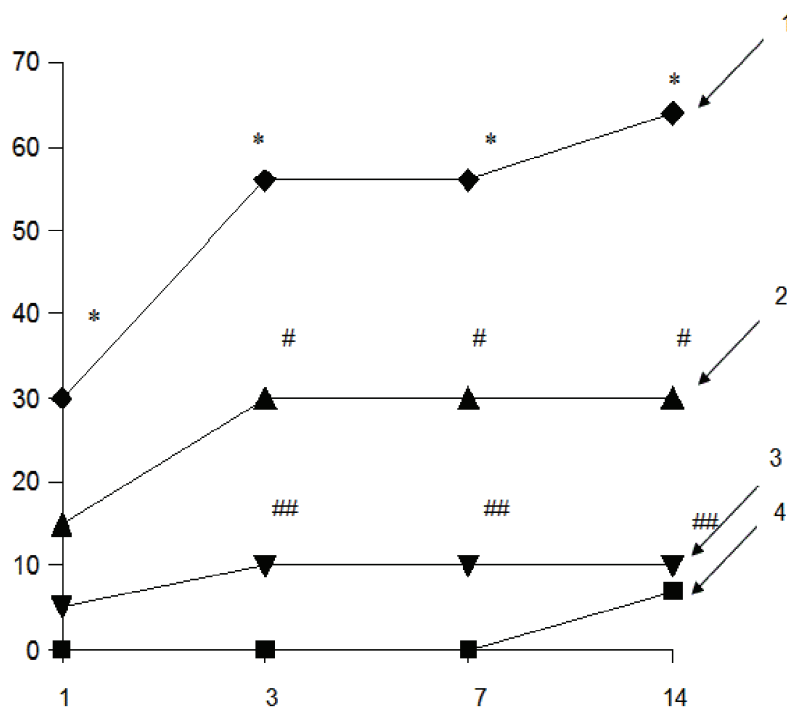
Исследование неврологического статуса выживших крыс показало, что в контрольной группе животных с ГИ в первый день наблюдения тяжелую симптоматику (парезы, параличи) отмечали у 20%, а к 14-му дню этот показатель составлял 50% (табл. 2).

Ампассе существенно ослаблял у животных неврологический дефицит. Особенно ярко эффект вещества проявлялся на 14-е сутки, когда в контрольной группе крыс с ГИ наблюдалось 50% животных с тяжелыми неврологическими симптомами, а под влиянием ампассе этот показатель составлял 5%. Мексидол уменьшал долю животных с тяжелыми симптомами неврологических нарушений до 35% по сравнению с группой ИПГ без лечения (табл. 2).

При воспроизведении УРПИ через 24 ч. после обучения поведение ложно оперированных крыс существенно не отличалось от поведения как интактных животных, так и крыс с ИПГ, получавших или не получавших лечение. Большинство (70-80%) животных помнили об ударе током в темной камере и не заходили туда. Иные закономерности отмечались при воспроизведении УРПИ на 14 сутки. Так, если у 65% интактных и у 57% ложно оперированных животных способность к воспроизведению УРПИ сохранялась, то в группе с ИПГ об ударе током помнили лишь 8% крыс. Ампассе (10 мг/кг) увеличивал этот показатель у крыс с ГИ в 6,5 раз. Мексидол (100 мг/кг) способствовал сохранению памятного следа у 40% животных. Оба препарата удлиняли ЛП УРПИ по сравнению с группой ИПГ без лечения.

Влияние веществ на динамику гибели крыс после геморрагического инсульта

По горизонтали – сутки после операции ИПГ, по вертикали - % погибших крыс



Достоверность отличий (точный критерий Фишера) между группой ложно оперированных животных (линия 4) и крыс с ИПГ (линия 1) при: * – $P \leq 0,001$; между группами с ГИ (контроль) и получавшими препараты (ампасе (10 мг/кг) – линия 2 и мексидол (100 мг/кг) – линия 3) после операции при: # – $P \leq 0,01$; ## – $P \leq 0,001$.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Несмотря на всю остроту полемики в отношении результатов рандомизированных контролируемых исследований эффективности и безопасности нейропротективной фармакологической терапии, в настоящее время активно осуществляется экспериментальное изучение нейропротективных свойств известных и новых оригинальных субстанций. Актуальность поиска новых нейропротекторов обусловливается, с одной стороны, тяжестью и социальной значимостью нейродегенеративных патологий, с другой стороны – результатами фундаментальных исследований, указывающих на патогенетическую значимость различных звеньев в механизме клеточной гибели при развитии нейродегенеративного процесса как самостоятельной нозологии, так и возможного следствия других патологических состояний (инфекции, травмы, стрессов). Поиск новых фармакологических агентов с нейропротективными свойствами осуществляется среди блокаторов кальциевых каналов, модуляторов NMDA и AMPA рецепторов и ингибиторов освобождения глутамата и оксида азота, агонистов ГАМК и аденозиновых рецепторов, нейротрофических факторов, антиоксидантов и мембрано-стабилизирующих веществ. Данные группы веществ и составляют в настоящее время классификацию нейропротекторов [4; 9; 17]. Существует несколько поисковых стратегий, которые применяют при созда-

Таблица 2.

Влияние ампасе (10 мг/кг) и мексидола (100 мг/кг) на неврологический дефицит у крыс после геморрагического инсульта (по шкале McGrow-Ганнушкиной)

Неврологическая симптоматика	% животных с неврологической симптоматикой					
	Инсульт + физ. р-р		Инсульт + ампасе		Инсульт + мексидол	
	24 ч (n=24)	14 сутки (n=13)	24 ч (n=19)	14 сутки (n=18)	24 ч (n=17)	14 сутки (n=14)
Слабость конечностей	60	20	20*	0	30*	10
Маневренные движения	10	10	10	10	5	0
Парез 1 - 4 конечностей	10	50	10	5*	25	20*
Паралич 1 - 4 конечностей	20	20	0	0	0	0

* – Достоверность отличий (точный критерий Фишера) между группами с ИПГ (инсульт + физ. р-р) и получавшими препараты после операции при $P \leq 0,001$

Влияние ампассе (10 мг/кг) и мексидола (100 мг/кг) на обучение условному рефлексу пассивного избегания после экспериментального геморрагического инсульта у крыс

Клинический симптом	Воспроизведение УРПИ через:			
	24 часа		14 суток	
	Латентное время захода в темную камеру, с	% животных, не вошедших в темную камеру	ЛП захода в темную камеру, с	% животных, не вошедших в темную камеру
Интактные	174,2 ± 24,5 (n=10)	80	124,3 ± 26,5 (n=10)	65
Ложно оперированные	140,3 ± 18,4 (n=14)	70	105,1 ± 21,7 (n=13)	57
Инсульт	126,7 ± 17,5 (n=24)	60	29,6 ± 7,6** (n=13)	8*
Инсульт + ампассе (10 мг/кг)	128,1 ± 17,6 (n=19)	63	98,9 ± 21,3* (n=18)	52 ^{ss}
Инсульт + мексидол (100 мг/кг)	130,4 ± 20,1 (n=17)	60	62,9 ± 16,1* (n=10)	40 ^s

*Достоверность отличий между группами ложно оперированных животных и крыс с ИПГ: ** – при $P \leq 0,01$ (U-критерий Манна-Уитни), * – при $P \leq 0,001$ (точный критерий Фишера); достоверность отличий между группами крыс с ИПГ и получавшими ампассе или мексидол после операции: ^s – при $P \leq 0,05$; ^{ss} – при $P \leq 0,001$ (точный критерий Фишера).*

нии веществ с заданной фармакологической активностью, в частности разработка препаратов, структурно и/или композиционно сходных с активными компонентами природного происхождения (церебролизин), создание соединений на основе сходства с эндогенными пептидами (семакс, ноопепт) или низкомолекулярными регуляторами клеточных процессов (мексидол, нооглютил) [1; 2; 3; 8].

При решении задачи создания нового высокоэффективного и малотоксичного соединения, сочетающего психотропные эффекты с нейропротекторным действием, был синтезирован препарат ампассе, представляющий собой растворимую в водных растворах кальциевую соль N-(5-гидрокси-никотиноил)-L-глутаминовой кислоты. Как упоминалось выше, прототипом ампассе является нерастворимый в воде препарат нооглютил (N-(5-гидрокси-никотиноил)-L-глутаминовой кислоты), который в эксперименте оказывает позитивное влияние на когнитивные функции, в частности у мышей линии SAM с генетически детерминированным ускоренным старением [6].

В настоящей работе при экспериментальной оценке ноотропных свойств ампассе его антиамнестические свойства сравнивали с широко применяемым в медицинской практике и в эксперименте в качестве стандарта ноотропным препаратом пирацетамом. Было установлено, что независимо от природы амнезирующего воздействия ампассе не только оказывает выраженное позитивное действие на память у крыс, но и превосходит препарат сравнения. В условиях метода формирования амнезии УРПИ, вызванной МЭШ, изученная минимальная эффективная доза ампассе была в 80 раз меньше по сравнению с таковой у пирацетама. При использовании в качестве амнезирующего фактора скополамина большая глубина эффекта ампассе проявлялась также и в том, что, в отличие от пирацетама, препарат исследования оказывал защитное действие по двум регистрируемым параметрам (ЛП захода в «опасную» часть установки и % крыс, не способных воспроизводить УРПИ), в то время как пирацетам только увеличивал ЛП неадекватной реакции. Результаты о высокой антиамнестической активности ампассе согласуются с данными литературы, свидетельствующими о значительно более высокой ноотропной активности его нерастворимого структурного аналога нооглютила, антиамнестический эффект которого превосходил таковой у препаратов из группы рацетамов [3, 11]. В экспериментальном исследовании Литвиновой С.А. [12] показано, что антагонист АМРА-подтипа глутаматных рецепторов DNQX устраняет антиамнестические (вызванные МЭШ) эффекты нооглютила, а индуцированная МК-801 (блокатором ионного канала NMDA подтипа) амнезия не изменяется под действием нооглютила. Таким образом, можно полагать, что в механизме антиамнестического действия нооглютила основным является взаимодействие с глутаматными рецепторами АМРА-подтипа. Учитывая структурное сходство ампассе и нооглютила, при дальнейшем изучении механизмов антиамнестических эффектов первого в качестве одной из наиболее вероятных мишеней следует рассматривать именно АМРА-подтип глутаматных рецепторов.

Полученные нами данные о максимальном развитии нарушений процессов обучения и памяти у крыс к 14 суткам после моделирования ИПГ согласуются с ранее полученными экспериментальными результатами, указывающими на постепенное углубление патологической симптоматики в условиях экспериментальной ИПГ [7]. Полагают, что основу данной отрицательной динамики может составлять ослабление компенсатор-

ных реакций организма, особенно выраженное в определенные критические дни (3, 7, 14 сутки) послеоперационного периода и развитие сопутствующих осложнений (отек, набухание тканей, нарушение интрацеребральной гемодинамики, повышенного внутричерепного давления, ишемии мозга) [13, 23]. Известно, что в условиях данной модели нейродегенеративной патологии положительное действие на показатели выживаемости, неврологические функции и процессы обучения способен оказывать целый ряд фармакологических препаратов, среди которых мощностью защитного эффекта выделяется отечественный препарат мексидол, обладающий антиоксидантными и мембрано-стабилизирующими свойствами [2]. В настоящем исследовании защитные эффекты ампасе в отношении динамики гибели крыс и неврологических нарушений после экспериментальной ИПГ были сопоставимы с таковыми у мексидола и были отмечены в дозе в 10 раз меньшей, чем эффективная доза мексидола. Исследование влияния веществ на способность подвергшихся операции ИПГ крыс к обучению УРПИ также обнаружило преимущества ампасе по сравнению с мексидолом. Сравнительные исследования нейропротективных свойств нооглютила и мемантина на модели ИПГ у крыс, представленные в литературе, свидетельствуют о более высокой активности первого [12].

Таким образом, установлено, что новое оригинальное фармакологическое вещество ампасе в эксперименте имеет ряд преимуществ перед известными препаратами, применяемыми как ноотропы или нейропротекторы. Полученные результаты свидетельствуют о перспективности разработки ампасе в качестве средства лечения больных с когнитивными и неврологическими расстройствами нейродегенеративной природы. По сравнению с существующим структурным аналогом нооглютилом ампасе как химическое соединение, растворимое в водных растворах, перспективно для создания инъекционных лекарственных форм.

ВЫВОДЫ

1. Новый оригинальный препарат монокальциевая соль N-(5-гидроксиникотиноил)-L-глутаминовой кислоты (5-20 мг/кг, в/б) обладает антиамнестическими свойствами на модели амнезии УРПИ, вызванной МЭШ (43 мА, 50 Гц, 0,3 с) или инъекцией скополамина (2 мг/кг, в/б) у крыс.

2. Монокальциевая соль N-(5-гидроксиникотиноил)-L-глутаминовой кислоты (10 мг/кг, в/б) оказывает положительный эффект на выживаемость, способность к обучению и неврологические функции после экспериментальной ИПГ у крыс.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Ашмарин И.П., Левицкая Н.Г., Каменский А.А., Мясоедов Н.Ф. Семакс – новое лекарственное средство для коррекции кровообращения мозга, гипоксических состояний и повышения умственной трудоспособности // Вопросы фармакотерапии. 1997. № 4. С.32-33.
2. Воронина Т. А. Антиоксидант мексидол. Основные нейропсихотропные эффекты и механизм действия // Психофармакол. Биол. Наркол. 2001. Т. 1. № 1. С. 2-12.
3. Воронина Т.А., Гарибова Т.Л., Хромова И.В., Кузнецова Е.А., Смирнов Л.Д. Новое вещество с ноотропной активностью N-5(оксиникотиноил)-L-глутаминовая кислота // Фармакология и токсикология. 1990. Т.53. № 4. С.13-16.
4. Воронина Т.А., Середенин С.Б. Ноотропные и нейропротективные средства. Экспер. и клин. фармакол. Т. 70(4). 2007. С. 44-58.
5. Ганнушкина И.В. Функциональная ангиоархитектоника головного мозга. М.: Медицина, 1977. 240 с.
6. Гарибова Т.Л., Воронина Т.А., Литвинова С.А, Григорьев В.В., Бачурин С.О. Эффект нооглютила на поведение и память мышей линии SAM (Senescence-accelerated mouse) с генетически детерминированным ускоренным старением. Экспериментальная и клиническая фармакология. 2007. Т.70. № 4. С. 3-6.
7. Гарибова Т.Л., Галаева И.П., Воронина Т.А., Крайнева В.А., Капица И. Г., Кириченко С. В., Макаренко А. Н., Мирзоян Г. Р., Кузнецова Е. А. Эффект нооглютила у крыс с интрацеребральной посттравматической гематомой (гемморагическим инсультом) // Экспер. и клин. фармакол. 2003. Т.66. № 3. С. 13–16.
8. Громова О.А., Панасенко О.М. Структурный анализ и ферментативная антиокислительная активность нейрометаболических препаратов природного происхождения: церебролизата, билобила и актовегина // Микроэлементы в медицине. 2001. 2 (1). С. 23-27.
9. Гусев Е.И., Скворцова В.И. Ишемия головного мозга. М.: Медицина, 2001. 328 с.
10. Капица И.Г., Калинина Т.С., Неробкова Л.Н., Воронина Т.А., Клодт П.М., Наркевич В.Б., Кудрин В.С. Изучение

зависимости между степенью олигокинезии, вызванной нейротоксином 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином, и нейрохимическими изменениями в структурах мозга мышей C57Bl/6 // Бюлл. exper. Биологии и медицины. 2008. Т.146. № 7. С. 58-61.

11. Кузнецова Е.А., Воронина Т.А., Хромова И.В., Гарибова Т.Л., Тосина Е.К., Столярова Л.Г., Троицкая В.С., Смирнов Л.Д. Синтез и фармакологическая активность аминокислотных производных никотиновой кислоты // Хим.-фарм. журнал. 1989. №12. С. 1425-1431.

12. Литвинова С.А. Исследование ноотропной и нейропротективной активности веществ, воздействующих на глутаматергическую систему: Автореферат диссертации. М.: Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова Российской академии медицинских наук, 2008.

13. Макаренко А.Н., Косицын Н.С., Карпенко С.В., Мишина В.А. Авторское свидетельство. № 1767518 от 03.11 (1990).

14. Макаренко А.Н., Косицын Н.С., Пасикова Н.В., Свинов М.М. Метод моделирования локального кровоизлияния в различных структурах головного мозга // Журн. высш. нервн. деят. 2002. Т.52. № 6. С. 765-768.

15. Патент № 2314293 от 10.01.2008.

16. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / Фисенко В.П. (ред.). М.: ЗАО «ИИА «Ремедиум», 2000. 398 с.

17. Adams H., del Zoppo G., von Kummer R. Management of stroke: A practical guide for the prevention, evaluation, and treatment of acute stroke. Professional Communications Inc. 2002. 303 p.

18. Ader R., Weijnen J. A.W.M., Moleman P. Retention of a passive avoidance response as a function of the intensity and duration of electric shock. Psychon. Sci. 1972. V. 26. P. 125-128.

19. Chen H., McCaffery J.M., Chan D.C. Mitochondrial Fusion Protects against Neurodegeneration in the Cerebellum. Cell. 2007. 130 (10): 548-562.

20. Fisher M., Brott T. Emerging therapies for acute ischemic stroke: New therapies on trial. Stroke. 2003. V.34. P. 359-361.

21. Giacomello M., Drago I., Pizzo P., Pozzan T. Mitochondrial Ca²⁺ as a key regulator of cell life and death. Cell death and differentiation 2007. V.14. №7. P.1267-74

22. Grotta J. Neuroprotection is unlikely to be effective in humans using current trial designs. Stroke. 2002. V.33. P. 306-307.

23. Jackowski A., Crockard A., Burnstock G., Ross Russel R., Kristek F. The time course of intracranial pathophysiological changes following experimental subarachnoid haemorrhage in the rat. Journal of cerebral blood flow and metabolism. 1990. V. 10. P. 835-849.

24. Lees K. Neuroprotection is unlikely to be effective in humans using current trial designs: An opposing view. Stroke. 2002. V.33, P. 308-309.

25. Lees K., Hankey G., Hacke W. Design of future acute-stroke treatment trials. Lancet Neurol. 2003. V.2. P. 54-61.

26. McGraw C.P., Fleming D.F. Jr., Spruil J.H. Effect of methylprednisolone on experimental cerebral infarction in the Mongolian gerbil. Stroke. 1974. V.5, P. 444-446.

27. Pryce G., Baker D. Emerging properties of cannabinoid medicines in management of multiple sclerosis. TRENDS in Neurosciences. 2005. V.28. №5. P. 272-276.

28. Tolia C., Bullock R. Critical appraisal of neuroprotection trials in head injury: What have we learned? The Journal of the American Society for Experimental NeuroTherape