

УДК 615.214

Киселев А.В., Стовбун С.В.

*Институт химической физики им. 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)*

ИЗУЧЕНИЕ НООТРОПНЫХ ЭФФЕКТОВ D- И L-ИЗОМЕРОВ N-(5-ГИДРОКСИНИКОТИНОИЛ)- ГЛУТАМИНОВОЙ КИСЛОТЫ*

A. Kiselev, S. Stovbun

Semenov's Institute of Chemical Physics of 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)*

STUDY OF NOOTROPIC EFFECTS OF D- AND L-ISOMERS OF N-(5-HYDROXYNICOTINOIL)-GLUTAMATE

Аннотация. Изучены ноотропные свойства D- и L-изомеров N-(5-гидроксиникотиноил) - глутаминовой кислоты в эксперименте на беспородных крысах и мышах. Показано, что только L-изомер исследуемого вещества устраняет неблагоприятное воздействие на память максимального электрошока у крыс и вызывает тенденцию к увеличению выживаемости мышей в условиях модельной гипоксии.

Ключевые слова: L-изомеры, хиральность, ноотроп, амнезия, грызун

Abstract. Nootropic properties of D-and L-isomers of N-(5-hydroxynicotinoil)-glutamate have been studied in outbred rats and mice. It is shown that only L-isomer of the substance eliminates adverse effects on memory maximal electroshock in rats and causes a tendency to increase survival of mice in a model of hypoxia.

Key words: L-isomers, chirality, nootropics, amnesia, rodent.

Одной из фундаментальных особенностей живой материи является определенная степень «хиральной чистоты» природных молекул. На атомно-молекулярном уровне организации живой клетки данное свойство проявляется в том, что ее нуклеиновые кислоты включают исключительно D-изомеры (дезоксир)ибызы, а синтезируемые в рибосомах белки – L-изомеры аминокислот (у многоклеточных организмов), D-изомеры аминокислот – у одноклеточных. За некоторым исключением, углеводы включают D-изомеры, а фосфолипиды являются L-изомерами [2].

Феномен стереоизомерии присущ и синтетическим молекулам, в частности молекулам лекарственных средств. Традиционная технология изготовления большинства лекарств предполагает получение конечного продукта из неразделенных хиральных молекул. По мере развития экспериментальной и клинической фармакологии были накоплены данные о различной роли энантиомеров многих используемых в практике лекарств-рацематов в реализации как их полезных, так и нежелательных эффектов [3-7]. При этом могут складываться следующие ситуации: 1) оба изомера в рацемате проявляют полезные клинические свойства; 2) только один из энантиомеров обуславливает желаемый фармакодинамический

* © Киселев А.В., Стовбун С.В., Сергиенко В.И.

эффект, второй – малоактивен; 3) один из изомеров терапевтически активен, а другой обладает антагонистической активностью в отношении полезного эффекта первого; 4) один из изомеров однозначно вреден. Таким образом, стала очевидной целесообразность разработки направления в фармакологии, связанного с созданием энантиометрически чистых лекарственных средств с оптимальным соотношением терапевтической эффективности и безопасности.

При разработке новых препаратов, сочетающих ноотропную активность с нейропротективными свойствами, была синтезирована кальциевая соль N-(5-гидроксиникотиноил)-L-глутаминовой кислоты (Патент №2314293 от 10.01.2008). Цель настоящей работы состояла в сравнительном изучении ноотропной активности D- и L-изомеров кальциевой соли 5-гидроксиникотиноил-глутаминовой кислоты.

Материалы и методы

Для выяснения роли разных изомеров в реализации ноотропного действия оценивали антиамнестические и противогипоксические свойства исследуемого вещества в условиях стандартных методик на грызунах [1].

Антиамнестический эффект веществ изучали в опытах на аутбредных крысах-самцах весом 180-200 г на модели амнезии условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ), вызванной максимальным электрошоком (МЭШ). Выработку экспериментальной амнезии УРПИ с применением МЭШ проводили на стандартной установке пассивного избегания (Passive Avoidance Lafayette Instrument Co, США). Животное помещали на освещенную платформу установки и регистрировали латентный период первого захода в темную камеру. При полном переходе животного в темную часть установки предъявляли электрошоковое раздражение. МЭШ применяли непосредственно после обучения через кортикальные электроды силой тока 43 мА, частота тока 50 Гц, продолжительность 0,3 сек.

Тест на воспроизведение УРПИ осуществляли через 24 часа после обучения при регистрации в течение 3 мин. % крыс, осуществлявших переход в «опасную» часть установки, и время (с) этого перехода. Исследуемые вещества (50 мг/кг) вводили внутривентриально за 30 мин. до обучения. Крысам «пассивного контроля» за 30 мин. до обучения вводили эквивалентный объем физиологического раствора и не подвергали МЭШ; животные группы «активного контроля» получали инъекцию физиологического раствора и после обучения были подвергнуты воздействию МЭШ. В каждой группе использовали по 10 крыс. Антигипоксические свойства веществ изучали на модели гипоксии с гиперкапнией в гермообъеме (200 мл³) в опытах на белых беспородных мышцах-самцах массой 22-28 г. Животным контрольной группы вводили физиологический раствор в эквивалентном объеме. Препараты (100 мг/кг) или физиологический раствор вводили внутривентриально за 30 мин. до гипоксии. Регистрировали время (с) гибели животных. В каждой группе использовали по 10 животных.

Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли при использовании непараметрического критерия Манна-Уитни и критерия Фишера (программа «Биостат»).

Результаты

При воспроизведении УРПИ более 80% крыс, составляющих группу «пассивного контроля», помнили об электрошоковом раздражении, полученном в темной части установки, и воздерживались от захода в нее (рис. 1).

Животные «активного контроля» не воспроизводили УРПИ, что проявлялось в снижении латентного периода перехода из освещенной «безопасной» части установки в «опасную» затемненную ($20,6 \pm 11,2$ с; $p \leq 0,01$ по сравнению с группой «пассивного контроля», непараметрический критерий Манна-Уитни). Менее 20% животных данной группы воздерживались от перехода в «опасную» зону. L-изомер кальци-

евои соли 5-гидроксиникотиноил-глутаминовой кислоты устранял неблагоприятное воздействие на память МЭШ, увеличивая средний по группе латентный период захода в темный отсек камеры до $63,7 \pm 5,8$ с ($p \leq 0,05$ по сравнению с группой «активного контроля», непараметрический критерий Манна-Уитни) и долю крыс, способных демонстрировать УРПИ, до 63% ($p \leq 0,05$ по сравнению с группой «активного контроля», точный критерий Фишера). D-изомер в условиях данной модели поведения не обнаруживал антиамнестических свойств: латентный период захода в темный отсек камеры оставался на уровне показателей «активного контроля» – $29, 2 \pm 17, 3$ с.

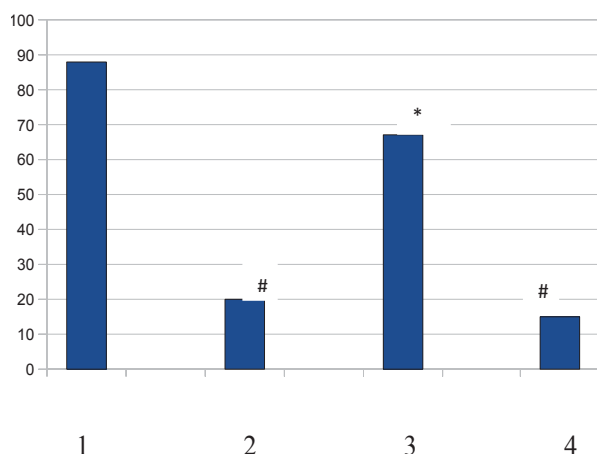


Рис. 1. Антиамнестическое действие изомеров кальциевой соли 5-окси-никотиноил- L-глутаминовой кислоты на модели амнезии условного рефлекса пассивного избегания, вызванной максимальным электрошоком, у крыс.

По оси ординат – представлена доля (%) крыс, не зашедших в темный отсек камеры при воспроизведении рефлекса через 24 ч после обучения и воздействия МЭШ.

По горизонтали: 1 – «пассивный контроль», 2 – «активный контроль», 3 – L-изомер кальциевой соли 5-окси-никотиноил-глутаминовой кислоты (50 мг/кг), 4 – D-изомер кальциевой соли 5-окси-никотиноил-глутаминовой кислоты (50 мг/кг). #- $P \leq 0,05$ по сравнению с «пассивным контролем», *- $P \leq 0,05$ по сравнению с «активным контролем» (точный критерий Фишера).

При изучении влияния изомеров кальциевой соли 5-гидроксиникотиноил-глутами-

новой кислоты на выживаемость в условиях гипоксии установлено, что L-изомер обнаруживал тенденцию к увеличению продолжительности жизни животных на 20,7%, в то время как D-изомер не изменял данный параметр.

Таким образом, на основании выполненных экспериментов можно заключить, что ноотропные свойства определяется лишь при использовании кальциевой соли N-5-гидроксиникотиноил- L-глутаминовой кислоты.

ЛИТЕРАТУРА:

1. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Фисенко В.П.). М.: «Ремедиум», 2000. С.153-158.
2. Твердислов В.А., Яковенко Л.В., Жаворонков А.А. Хиральность как проблема биохимической физики. //Российский химический журнал (Журнал Российского химического общества имени Д.И. Менделеева). 2007. Т. LI. № 1. С.13-22.
3. Aneja P, Srinivas A., Das Biswas A. Comparative clinical study of the efficacy and safety of S-metoprolol ER tablet versus a racemate metoprolol ER tablet in patients with chronic stable angina // Intern. J. Clin. Pharm. Therap. 2007. 45:253-258.
4. Patil P.A., Kotheekar M.A. Development of safer molecules through chirality // Ind. J. Med. Sci. 2006. 60:427-437.
5. Srinivas N., Barbhuiya R.H., Midha K.K. Enantiomeric drug development: issues, considerations, and regulatory requirements // J. Pharmacol. Sci. 2000. 90:1205-1215.
6. Staschitzky K. Racemic beta-blockers – fixed combination of racemic dtugs // J. Clin. Bas. Cardiol. 1998. 1:14-18.
7. Zhang X.P., Loke K.E., Mital S. et al. Paradoxal release of nitric oxide by an L-type calcium channel antagonist, the R+ enantiomer of amlodipine // J. Cardiovasc. Pharmacol. 2002. 39:208-214.