

УДК 615.214.31:547.466.3

СРАВНИТЕЛЬНОЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НООТРОПНЫХ СВОЙСТВ АНАЛОГА ГАМК ФЕНИБУТА И ЕГО МЕТИЛОВОГО ЭФИРА**¹Багметова В.В., ¹Бородкина Л.Е., ¹Тюренков И.Н., ²Берестовицкая В.М.,
²Васильева О.С.**¹*Волгоградский государственный медицинский университет, Волгоград, e-mail: vlghmed@avtlg.ru;*²*Российский государственный педагогический университет им. А.И. Герцена,
Санкт-Петербург, e-mail: kohrgpu@yandex.ru*

Сравнительное экспериментальное изучение ноотропных свойств аналога ГАМК фенибута и его метилового эфира показало, что метиловый эфир фенибута в большей степени, чем фенибут улучшает обучаемость и память у животных на моделях ассоциативного обучения в тестах «условная реакция пассивного избегания» и «экстраполяционного избегания». Метиловый эфир фенибута в большей степени, чем фенибут проявляет антиамнестический эффект на моделях амнезии, вызванной скополамином и электроконвульсивным шоком, но уступает фенибуту по антиамнестическому действию на модели амнезии, вызванной острым эмоционально-болевым стрессом. Метиловый эфир фенибута проявляет выраженное ноотропное действие и превосходит по данному виду активности фенибут.

Ключевые слова: производные ГАМК, фенибут, метиловый эфир фенибута, ноотропные свойства, амнезия**THE COMPARATIVE EXPERIMENTAL STUDY OF NOOTROPIC PROPERTIES OF THE GABA ANALOGUE FENIBUT AND ITS METHYL ETHER****¹Bagmetova V.V., ¹Borodkina L.E., ¹Tyurenkov I.N., ²Berestovitskaya V.M., ²Vasilyeva O.S.**¹*Volgograd state medical university, Volgograd, e-mail: vlghmed@avtlg.ru;*²*Russian state pedagogical university in the name of A.I. Gertsen, Saint-Petersburg,
e-mail: kohrgpu@yandex.ru*

The comparative experimental study of nootropic properties of the GABA analogue fenibut and its methyl ether has shown that the methyl ether of fenibut improves, to a greater extent than fenibut itself, the teachability and memory of animals on the associative learning models in the tests of «conditional reaction of passive avoidance» and «extrapolational deliverance». Methyl ether of fenibut shows, to a greater extent than fenibut itself, anamnestic effect on the models of amnesia, caused by scopolamine and electroconvulsive shock; but it is inferior to fenibut in anamnestic effect on the models of amnesia caused by acute emotionally painful stress. Methyl ether of fenibut exhibits distinct nootropic effect and surpasses fenibut in this type of activity.

Keywords: GABA derivatives, fenibut, methyl ether of fenibut, nootropic effects, amnesia

Важная физиологическая роль гамма-аминомасляной кислоты (ГАМК) в регуляции функциональной активности ЦНС определяет перспективность создания на её основе нейрпсихотропных лекарственных средств [4, 5, 6]. Однако в силу ряда физико-химических свойств препараты собственно ГАМК (аминалон, гаммалон) обладают низкой биодоступностью, что является причиной их невысокой эффективности. Низкая биодоступность незамещенных аминокислот, в том числе, линейной ГАМК, объясняется их высокой полярностью – при физиологических значениях рН такие вещества существуют в виде биполярных ионов, вследствие чего плохо проникают через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [5]. Первые попытки поиска нейроактивных веществ на основе ГАМК были сделаны еще в конце 50-х и начале 60-х годов 20 века. Путем химической модификации молекулярной структуры ГАМК – введения липофильных заместителей, циклизации молекулы, химического связывания с другими физиологически активными веществами – было получено значитель-

ное количество соединений с высокой биодоступностью и биологической активностью [5], низкой токсичностью [1]. На сегодняшний день в медицинской практике успешно применяются линейные аналоги ГАМК: γ -амино- β -фенилмасляная кислота (фенибут) как ноотропный препарат и транквилизатор [2, 5, 6], γ -амино- β -(n -хлорфенил) масляная кислота (баклофен) как центральный миорелаксант [5], N -никотиноил- γ -аминомасляная кислота (пикамилон) как ноотроп и средство, улучшающее мозговое кровообращение [5] и др. Широко используются и циклические аналоги ГАМК: 2-оксо-1-пирролидинацетамид (пирацетам) – родоначальник группы ноотропов [1, 5, 7], N -карбамоил-метил-4-фенил-2-пирролидон (фенотропил) – ноотроп с нейропротекторным и нейромодулирующим действием [1, 7] и др.

В современной фармацевтической химии при целенаправленном поиске новых лекарственных средств с заданным фармакологическим действием существенную роль отводят созданию эфиров биологически активных веществ. Такой подход

построен на способности эфиров легко проникать через различные биологические мембраны даже при наличии сложной макромолекулярной структуры, что в значительной мере определяет их относительно высокую биодоступность и эффективность. Еще в середине прошлого века было показано, что метиловые эфиры: N-диметил- и, особенно, N-триметил ГАМК значительно превосходят аминокислоту по биологической активности, этиловый эфир никотиноил-ГАМК лучше проникает через ГЭБ и оказывает более выраженное фармакологическое действие, чем исходное вещество [5]. Представленные данные послужили предпосылкой для создания эфира на основе производного ГАМК фенибута с целью повышения специфической активности и биодоступности, возможного расширения/изменения спектра действия. Фармакологиами Волгоградского государственного медицинского университета совместно с химиками Российского государственного педагогического университета (РГПУ) им. А.И. Герцена путем молекулярного конструирования получен новый структурный аналог ГАМК метиловый эфир фенибута (4-амино-3-фенил-бутановой кислоты метилового эфира гидрохлорид, МЭФ, мефобут).

Цель настоящего исследования – сравнительное изучение ноотропной активности фенибута и его метилового эфира.

Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на белых беспородных крысах самцах (200–260 г), содержащихся в стандартных условиях вивария при естественном свето-темновом режиме, свободном доступе к воде и полнорационному гранулированному корму (ГОСТ Р 50258–92). Исследование проведено в соответствии с ГОСТ 3 51000.3–96 и 51000.4–96 и Приказом МЗ РФ № 267 от 19.06.2003 г. «Об утверждении правил лабораторной практики» (GLP).

Ноотропные свойства веществ изучали на моделях ассоциативного обучения, основанных на выработке условных рефлексов избегания аверсивного фактора: «Условная реакция пассивного избегания» (УРПИ) [3], «Тест экстраполяционного избавления» (ТЭИ) [3]. В первой серии экспериментов изучено влияние веществ на изменение памятного следа у животных в динамике: каждый тест выполнялся в несколько этапов – первый этап заключался в выработке рефлекса избегания аверсивного фактора, на последующих этапах выполнялась оценка обученности животных и сохранности у них памятного следа. Тест УРПИ воспроизводили через 24 часа, 7, 14 и 30 суток после обучения, ТЭИ – через 24 часа, 7 и 14 суток [6].

Во второй серии экспериментов изучены ноотропные свойства фенибута и его метилового эфира с использованием амнезирующих воздействий:

1) хеминдуцированного – однократное внутрибрюшинное введение скополамина (15 мг/кг) [3];

2) электроиндуцированного – сбой биоэлектрической активности головного мозга путем нанесения электрического стимула через корнеальные электроды (50 Гц, 20 мА, 0,5 с) с развитием электроконвульсивного шока (ЭКШ) [3],

3) эмоциогенного – острый эмоционально-болевого стресс, вызываемый 24-часовым подвешиванием животных за дорсальную кожную шейную складку с помощью зажимов Кохера на высоте 1 м от пола [6].

Антиамнестическое действие веществ оценивали в тесте УРПИ, выполнявшемся в три этапа: первый этап заключался в выработке рефлекса избегания аверсивного фактора, на втором этапе осуществлялась проверка обученности животных (через 24 часа после обучения отбирались животные с выработанным рефлексом), на третьем – проверка сохранности рефлекса через 24 часа после амнезирующего воздействия [6].

Субстанции изучаемых производных ГАМК были получены на кафедре органической химии Российского государственного педагогического университета им. А.И. Герцена (Санкт-Петербург, Россия). Соединения растворялись в физиологическом растворе ex tempore и вводились животным 10-дневным курсом (ежедневно однократно интраперитонеально с последним введением через 30 минут после выработки рефлексов) в эквимолярных концентрациях – в дозах, составляющих 1/10 от молекулярной массы: фенибут – 18 мг/кг, метиловый эфир фенибута – 23 мг/кг. При изучении антиамнестического действия веществ их введение осуществлялось однократно интраперитонеально за 30 минут до амнезирующего воздействия.

Статистический анализ результатов: ранговый однофакторный анализ Крускала–Уоллиса, критерий Ньюмена–Кейлса, критерий χ^2 .

Результаты исследования и их обсуждение

В тесте УРПИ (табл. 1) фенибут и, в большей степени, его метиловый эфир статистически значимо увеличивали латентный период (ЛП) первого захода в темный отсек, уменьшали число заходов в него, а также количество животных в группе, посетивших темный отсек на этапах воспроизведения рефлекса избегания, преимущественно через 7, 14 и 30 суток после выработки. Такое положительное влияние фенибута и МЭФ на выработку условного рефлекса пассивного избегания, закрепление информации в памяти животных, замедление угасания памятного следа в динамике свидетельствуют о наличии у них ноотропной активности.

В тесте ТЭИ (см. табл. 1) фенибут и метиловый эфир фенибута на этапе первого тестирования при выработке навыка экстраполяционного избавления статистически значимо уменьшали ЛП двигательной активности у животных, попавших в незнакомую аверсивную ситуацию теста (холодная вода), то есть повышали скорость ориентировочных реакций.

Таблица 1

Влияние фенибута и его метилового эфира на динамику обучаемости и памяти у животных в тестах «условная реакция пассивного избегания» и «экстраполяционное избавление»

Регистрируемые показатели	Значения показателей $M \pm t$		
	контроль	фенибут	МЭФ
Тест «условная реакция пассивного избегания»			
<i>Этап выработки рефлекса</i>			
ЛП первого захода в ТО	26,14 ± 2,61	27,71 ± 3,22	22,28 ± 2,66
КЗ	1,14 ± 0,14	1,14 ± 0,14	1 ± 0
<i>Воспроизведение через 24 часа</i>			
ЛП первого захода в ТО	173,86 ± 6,14	174,14 ± 5,86	180 ± 0
КЗ	0,14 ± 0,14	0,14 ± 0,14	0
N/n; %	1/7; 14,29 %	1/7; 14,29 %	0/7; 0 %*
<i>Воспроизведение через 7 суток</i>			
ЛП первого захода в ТО	112,43 ± 24,01	163,86 ± 11,09	176,86 ± 2,21*
КЗ	0,71 ± 0,29	0,43 ± 0,29	0,29 ± 0,18
N/n; %	4/7; 57,14 %	2/7; 28,57 %**	2/7; 28,57 %**
<i>Воспроизведение через 14 суток</i>			
ЛП первого захода в ТО	98,86 ± 21,01	154 ± 12,99*	164,86 ± 10,79*
КЗ	1,14 ± 0,34	0,57 ± 0,29	0,29 ± 0,18*
N/n; %	5/7; 71,43 %	3/7; 42,86 %**	2/7; 28,57 %***
<i>Воспроизведение через 30 суток</i>			
ЛП первого захода в ТО	61 ± 20,55	116,57 ± 16,74*	157,86 ± 11,95***#
КЗ	1,57 ± 0,29	1 ± 0,31	0,57 ± 0,29*
N/n; %	6/7; 85,71 %	5/7; 71,43 %*	3/7; 42,86 %***#
Тест «экстраполяционного избавления»			
<i>Этап выработки рефлекса</i>			
ЛП ДА	5,57 ± 0,65	2,73 ± 0,57*	2,21 ± 0,42*
ЛП подныривания	53,14 ± 3,04	43,29 ± 2,37*	39,71 ± 2,49**
<i>Воспроизведение через 24 часа</i>			
ЛП ДА	1,57 ± 0,37	3,07 ± 0,43*	3,58 ± 0,31*
ЛП подныривания	41 ± 3,15	30,43 ± 2,21*	20,14 ± 1,92***#
Δ % ЛП подныривания	-59 ± 3,15	-69,57 ± 2,21**	-79,86 ± 1,92***#
<i>Воспроизведение через 7 суток</i>			
ЛП ДА	3,14 ± 0,34	4,57 ± 0,43*	5,29 ± 0,52**
ЛП подныривания	31,14 ± 2,91	23 ± 1,31*	11,14 ± 0,67***#
Δ % ЛП подныривания	-68,86 ± 2,91	-77 ± 1,31*	-88,86 ± 0,67***#
<i>Воспроизведение через 14 суток</i>			
ЛП ДА	5,86 ± 0,51	3,54 ± 0,34*	2,11 ± 0,29***#
ЛП подныривания	19,14 ± 1,72	13,43 ± 1,15*	9 ± 0,93***#
Δ % ЛП подныривания	-80,86 ± 1,72	-86,57 ± 1,15*	-91 ± 0,93***#
n = 7			

Обозначения: ЛП – латентный период (время, с); ТО – темный отсек; КЗ – количество заходов в темный отсек; N/n – количество животных в группе, посетивших темный отсек (N) из общего числа (n); % – процент животных в группе, посетивших темный отсек; ДА – двигательная активность; Δ % ЛП подныривания – изменение длительности ЛП подныривания при воспроизведениях навыка по отношению к значению показателя при выработке рефлекса, %.

Примечания. * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ – статистическая значимость различий по сравнению с контрольной группой животных; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$ – статистическая значимость различий по сравнению с группой животных, получавших фенибут (ранговый однофакторный анализ Крускала–Уоллиса, критерий Ньюмена–Кейлса, критерий χ^2).

При последующем тестировании через 24 часа у контрольных крыс данный показатель уменьшился по сравнению с предыдущим тестированием, что говорит об узнавании животными контекстуальной обстановки теста, а у животных, получавших фенибут и МЭФ, напротив, увеличился и был статистически значимо выше, чем у контрольных – животные данных групп «задумывались» перед тем как начать активную поисковую деятельность. В дальнейшем, при повторении теста на 7 и 14 сутки после первого тестирования ЛП двигательной активности постепенно возрастал и у крыс контрольной группы, достигнув максимума на 14 сутки. У животных, которым вводились фенибут и МЭФ, максимальные значения данного показателя отмечались на 7 сутки, после чего вновь наблюдалось его снижение, что вероятно связано с повышением обученности животных и лучшим запоминанием эффективной стратегии поведения избегания. Помимо этого, фенибут и МЭФ статистически значимо уменьшали время решения экстраполяционной задачи

на всех этапах тестирования, а также $\Delta\%$ изменения данного показателя при повторных тестированиях по отношению к первому, то есть улучшали обучаемость и память – оказывали ноотропное действие. По ноотропной активности в тестах УРПИ и ТЭИ МЭФ статистически значимо превосходил фенибут.

При моделировании амнезии различного генеза фенибут и его метиловый эфир статистически значимо увеличивали ЛП первого захода в темный отсек, уменьшали количество заходов в него и число животных в группе с амнезией УРПИ, проявляя, таким образом, антиамнестический эффект, свидетельствующий об их ноотропной активности (табл. 2). По выраженности данного эффекта на моделях скополаминовой и электрошоковой амнезии МЭФ статистически значимо превосходил фенибут, на модели стрессиндуцированной амнезии, напротив, фенибут был более активным, что может быть связано с его высокой анксиолитической и стресспротекторной активностью [2, 4, 5, 6].

Таблица 2

Влияние фенибута и его метилового эфира на выраженность амнезии рефлекса пассивного избегания животных в тесте «условная реакция пассивного избегания»

Регистрируемые показатели	Значения показателей $M \pm m$			
	контроль интактный	контроль+амнезия	фенибут+амнезия	МЭФ+амнезия
1	2	3	4	5
УРПИ на фоне амнезии, вызванной скополамином				
<i>Этап выработки рефлекса</i>				
ЛП первого захода в ТО	17,56 ± 1,22	18,57 ± 1,41	17,43 ± 1,07	19,14 ± 0,7
КЗ	1,14 ± 0,14	1,14 ± 0,14	1,29 ± 0,18	1,14 ± 0,14
<i>Воспроизведение до введения скополамина</i>				
ЛП первого захода в ТО	180 ± 0	180 ± 0	180 ± 0	180 ± 0
КЗ	0	0	0	0
N/n; %	0/7; 0%	0/7; 0%	0/7; 0%	0/7; 0%
<i>Воспроизведение после введения скополамина</i>				
ЛП первого захода в ТО	180 ± 0**	78,71 ± 11,01++	111,14 ± 17,87++*	157,57 ± 14,49***#
КЗ	0*	1,43 ± 0,2++	0,71 ± 0,18++*	0,29 ± 0,18**
N/n; %	0/7; 0%***	7/7; 100%+++	5/7; 71,42%+++*	2/7; 28,57%+***#
УРПИ на фоне амнезии, вызванной электроконвульсивным шоком				
<i>Этап выработки рефлекса</i>				
ЛП первого захода в ТО	28,53 ± 2,14	31,43 ± 2,06	32,57 ± 2,03	29,71 ± 1,78
КЗ	1,42 ± 0,20	1,29 ± 0,18	1,14 ± 0,14	1,42 ± 0,20
<i>Воспроизведение до электроконвульсивного шока</i>				
ЛП первого захода в ТО	180 ± 0	180 ± 0	180 ± 0	180 ± 0
КЗ	0	0	0	0
N/n; %	0/7; 0%	0/7; 0%	0/7; 0%	0/7; 0%
<i>Воспроизведение после электроконвульсивного шока</i>				
ЛП первого захода в ТО	180 ± 0**	56,57 ± 5,46++	104,14 ± 19,71*	155,43 ± 11,60***#
КЗ	0**	1,57 ± 0,20++	0,71 ± 0,18++*	0,43 ± 0,20**
N/n; %	0/7; 0%***	7/7; 100%+++	5/7; 71,42%+++*	3/7; 42,86%+***##

Окончание табл. 2

1	2	3	4	5
УРПИ на фоне амнезии, вызванной острым стрессом				
<i>Этап выработки рефлекса</i>				
ЛП первого захода в ТО	28,14 ± 1,48	26,57 ± 1,93	27,86 ± 1,52	29,71 ± 1,21
КЗ	1,43 ± 0,20	1,43 ± 0,20	1,28 ± 0,18	1,28 ± 0,18
<i>Воспроизведение до стресса</i>				
ЛП первого захода в ТО	180 ± 0	180 ± 0	180 ± 0	180 ± 0
КЗ	0	0	0	0
N/n; %	0/7; 0%	0/7; 0%	0/7; 0%	0/7; 0%
<i>Воспроизведение после стресса</i>				
ЛП первого захода в ТО	180 ± 0**	112,42 ± 17,77++	176,29 ± 3,71**	159,86 ± 9,72*
КЗ	0**	1,14 ± 0,34++	0,14 ± 0,14*	0,43 ± 0,20
N/n; %	0/7; 0%***	5/7; 71,42%+++	1/7; 14,29%+***	3/7; 42,86%+**##
n = 7				

Обозначения: ЛП – латентный период (время, с); ТО – темный отсек; КЗ – количество заходов в темный отсек; N/n – количество животных в группе, посетивших темный отсек (N) из общего числа (n); % – процент животных в группе, посетивших темный отсек.

Примечания:

+ – $p < 0,05$; ++ – $p < 0,01$; +++ – $p < 0,001$ – статистическая значимость различий по сравнению с интактной контрольной группой животных; * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$ – статистическая значимость различий по сравнению с контрольной группой животных; # – $p < 0,05$; ## – $p < 0,01$ – статистическая значимость различий по сравнению с группой животных, получавших фенибут (ранговый однофакторный анализ Крускала–Уоллиса, критерий Ньюмена–Кейлса, критерий χ^2).

Выводы

1. Метилловый эфир фенибута проявляет более выраженное ноотропное действие, чем фенибут на моделях ассоциативного обучения: «условная реакция пассивного избегания» и «тест экстрополяционного избегания».

2. Метилловый эфир фенибута в большей степени, чем фенибут проявляет антиамнестический эффект на моделях амнезии, вызванной скополамином и электроконвульсивным шоком, но уступает фенибуту по антиамнестическому действию на модели стрессиндуцированной амнезии.

Список литературы

1. Бугаева Л.И., Спасов А.А., Веровский В.Е. Функционально-поведенческий профиль действия циклических аналогов ГАМК при изучении острой токсичности // Экспер. и клин. фармакология. – 2004. – Т. 67, №3. – С. 61–65.
 2. Бородкина Л.Е., Молодавкин Г.М., Тюренков И.Н. Влияние фенибута на межполушарное взаимодействие мозга крыс // Эксперим. и клин. фармакология. – 2009. – № 1. – С. 57–60.
 3. Воронина Т.А., Островская Р.У. Методические указания по изучению ноотропной активности фармакологических веществ // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общ. ред. Р.У. Хабриева. – 2-е изд. – М.: ОАО Изд-во «Медицина», 2005. – С. 308–320.

4. Епишина В.В. Сравнительное изучение психотропной активности гетероциклических производных гамма-аминомасляной и глутаминовой кислот: автореф. дис. ... канд. мед. наук. – Волгоград, 2006. – 24 с.

5. Ковалев Г.В. Ноотропные средства. – Волгоград: Нижне-Волжское книжное издательство, 1990. – 368 с.

6. Спектр психотропного действия некоторых солей и комбинаций фенибута с органическими кислотами / И.Н. Тюренков, В.В. Багметова, А.Н. Кривицкая, В.М. Берестовицкая, О.С. Васильева // Эксперим. и клин. фармакология. – 2011. – Т. 74, №2. – С. 3–7.

7. Тюренков И.Н., Багметов М.Н., Епишина В.В. Сравнительная характеристика нейропротекторного действия фенотропила и пирацетама в условиях ишемии головного мозга у лабораторных животных // Эксперим. и клин. фармакология. – 2007. – Т. 70, №2. – С. 24–29.

Рецензенты:

Спасов А.А., д.м.н., профессор, проректор по международным связям, зав. кафедрой фармакологии ГОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Волгоград;

Бугаева Л.И., д.б.н., профессор, зам. директора НИИ фармакологии ГОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздравсоцразвития России, г. Волгоград.

Работа поступила в редакцию 26.08.2011.