

# НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

## АНТИАМНЕСТИЧЕСКОЕ ДЕЙСТВИЕ ФАКТОРА РОСТА НЕРВОВ, СОРБИРОВАННОГО НА ПОЛИ(БУТИЛ)ЦИАНОАКРИЛАТНЫХ НАНОЧАСТИЦАХ, ПОКРЫТЫХ ПОЛИСОРБАТОМ 80

А. А. Басел<sup>1</sup>, В. Е. Петров<sup>1</sup>, С. С. Трофимов<sup>2</sup>, Т. А. Воронина<sup>2</sup>, Р. Н. Аляутдин<sup>1</sup>

Изучали антиамнестическое действие фактора роста нервов (ФРН) в разных лекарственных формах (раствор ФРН; раствор ФРН с ПС-80; ФРН, сорбированный на поли(бутил)цианоакрилатных наночастицах; ФРН, сорбированный на поли(бутил)цианоакрилатных наночастицах, покрытых ПС-80). Об антиамнестическом действии ФРН судили по способности уменьшать явления амнезии, вызванной скополамином. С этой целью скополамин (2 мг/кг) вводили подкожно, после чего внутривенно вводили ФРН (5 мкг на крысу). Через 30 мин проводили обучение животных с целью формирования условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) на установке "Lafayette instigument USP". Через сутки исследовали сохранность навыка пассивного избегания. За амнезию принимали отсутствие увеличения латентного периода входа в темную камеру (латентного периода УРПИ). Об антиамнестическом действии судили по степени увеличения латентного периода УРПИ. Установлено, что раствор ФРН (5 мкг на крысу) не устраняет амнезию, вызванную скополамином. ФРН (5 мкг на крысу), сорбированный на поли(бутил)цианоакрилатных наночастицах и раствор ФРН (5 мкг на крысу) с ПС-80 оказывают антиамнестическое действие, достоверно повышая латентный период УРПИ по сравнению с группой контроля амнезии. ФРН (5 мкг на крысу), сорбированный на поли(бутил)цианоакрилатных наночастицах, покрытых ПС-80, обладает не только выраженным антиамнестическим эффектом, но и способностью стимулировать когнитивные функции, достоверно повышая латентный период УРПИ по сравнению с группой контроля обучения.

**Ключевые слова:** фактор роста нервов, наночастицы, поли(бутил)цианоакрилатные, антиамнестический, условный рефлекс пассивного избегания

### ВВЕДЕНИЕ

Фактор роста нервов (ФРН), наряду с другими нейротрофинами (NT-3, NT-4/5, NT-6 и др.) регулирует развитие, пластичность и выживаемость нейронов (в том числе холинергических нейронов коры большого мозга и стриатума) [10, 22]. Он образуется из предшественника, "пренеуротрофина", обладающего низкой специфической активностью [26], а затем, взаимодействуя со специфическими рецепторами на отростках нервных клеток, ретроградно транспортируется в тела нейронов [15].

Среди рецепторов к ФРН выделяют: Trk-NTFR и p75-NTFR [5, 9]. Высокоаффинные Trk-NTFR относятся к семейству тирозинкиназных, их внутриклеточная часть аналогична таковой инсулинового рецептора [7], а взаимодействие с нейротрофинами приводит к акти-

вации дифференцировки нейронов и подавлению апоптоза [9]. Trk-NTFR делятся на несколько подтипов (TrkA, TrkB, TrkC и TrkD), ФРН взаимодействует с TrkA-рецепторами [29]. Низкоаффинные p75-NTFR входят в группу рецепторов фактора некроза опухолей, являются гликопротеинами и обнаруживаются на мембранах аксонов нейронов, шванновских клеток, периневрии периферических нервов [4]. Свободные p75-NTFR стимулируют гибель нейронов *in vitro*, а их взаимодействие с ФРН или специфическими антителами приводит к обратному эффекту. Эффекты нейротрофинов возникают в результате их взаимодействия с Trk-NTFR, стимуляция же p75-NTFR увеличивает сродство Trk-NTFR к агонисту и обеспечивает их активацию даже при низкой концентрации лиганда [14].

ФРН и другие нейротрофины повышают выживаемость нейронов и синаптических структур [11], усиливают выделение медиаторов (ацетилхолина, глутамата) в нервно-мышечных синапсах и синаптосомах гиппокампа, увеличивая лабильность этих структур при высокочастотной стимуляции [6, 28]. Доклинические и клинические исследования показали перспектив-

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии фармацевтического факультета (зав. — проф. Р. Н. Аляутдин) и кафедра фармакологии лечебного факультета (зав. — акад. РАМН, проф. В. П. Фисенко) Московской медицинской академии им. И. М. Сеченова, Москва, 119992, ул. Б. Пироговская, 2 – 6.

<sup>2</sup> ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

ность применения ФРН при заболеваниях, обусловленных нейродегенеративными процессами — болезнь Альцгеймера, диабетическая нейропатия, болезнь Хантингтона [29]. Применению ФРН при болезни Альцгеймера препятствует его невысокая способность проникать через гемато-энцефалический барьер. В настоящей работе исследовалась возможность увеличения доставки ФРН в мозг с помощью поли(бутил)цианоакрилатных наночастиц.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на белых крысах-самцах линии Вистар (питомник Столбовая) массой 250 – 300 г. Животных содержали в клетках по 7 – 10 особей, при температуре 18 – 20° С, в условиях 12-часового светового дня, со свободным доступом к пище и воде. Введение веществ, обучение животных с целью выработки УРПИ и исследование сохранности навыка пассивного избегания проводили в одно и то же время суток — утренние часы.

### Обучение животных с целью выработки условного рефлекса пассивного избегания

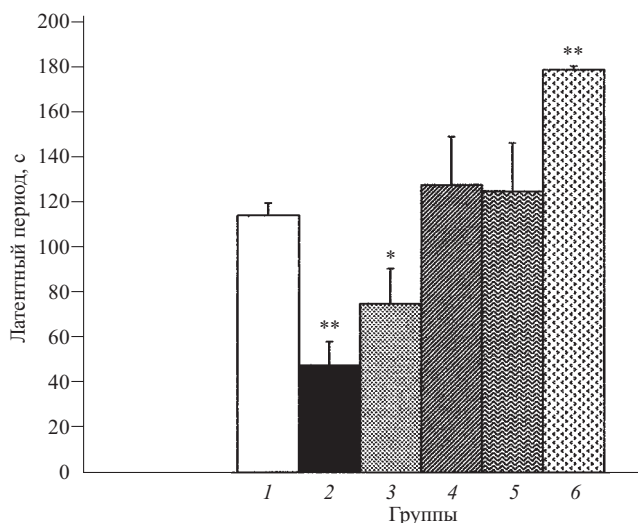
*Экспериментальная установка.* УРПИ вырабатывали на установке фирмы “Lafayette instrument — USP”.

Установка состоит из соединенных друг с другом ярко освещенной платформы (7 × 25 см) и затемненной камеры (40 × 40 × 40 см). Между платформой и камерой находится дверца, через которую животное может свободно перемещаться с платформы в камеру. Пол камеры представляет металлическую сетку, при помощи которой на кожу лап наносится электрическое болевое раздражение. С этой целью через электродный пол пропускаются импульсы электрического тока продолжительностью 1 с, силой 1 мА.

*Выработка УРПИ и его оценка.* В экспериментах использовали методику выработки УРПИ в одном сочетании. Крысу помещали на освещенную платформу хвостом к дверце затемненной камеры и регистрировали латентный период входа в темную камеру (в с). Если крыса, стремясь уйти с яркого света, входила в затемненную камеру (норковый рефлекс), то дверца блокировалась, и животное получало серию из 5 кожно-болевых стимулов (5 ударов электрическим током параметрами 1 мА, 1 с с межстимульным интервалом в 2 с).

Через 24 ч исследовали результаты обучения УРПИ. Для этого крысу вновь помещали на освещенную платформу и повторно измеряли латентный период входа животного в темную камеру (электроболевое раздражение при этом не наносили).

У животных с ненарушенной памятью латентный период повторного входа в камеру увеличивался (животные неохотно входят в камеру, стремясь избежать болевого раздражения). Отсутствие увеличения латен-



**Рис. 1.** Влияние фактора роста нервов (ФРН) на латентный период УРПИ у крыс.

Группа: 1 — контроль обучения; 2 — контроль амнезии, 3 — ФРН (раствор); 4 — ФРН с полисорбатом-80; 5 — ФРН в наночастицах; 6 — ФРН в наночастицах, покрытых полисорбатом-80. Здесь и на рис. 2 и 3 отличия статистически достоверны при: \* —  $p \leq 0,05$ ; \*\* —  $p \leq 0,01$ .

тного периода входа в камеру расценивали как амнезию.

Максимальный период наблюдения за животным на освещенной платформе составлял 180 с. Таким образом, животные, не вошедшие в камеру в течение 3 мин (180 с), считались обученными УРПИ.

*Модель острой амнезии, вызванной скополамином.* Острую амнезию вызывали однократным введением скополамина подкожно, в дозе 2 мг/кг за 30 мин до обучения УРПИ [23].

### Вещества и способы приготовления лекарственных форм

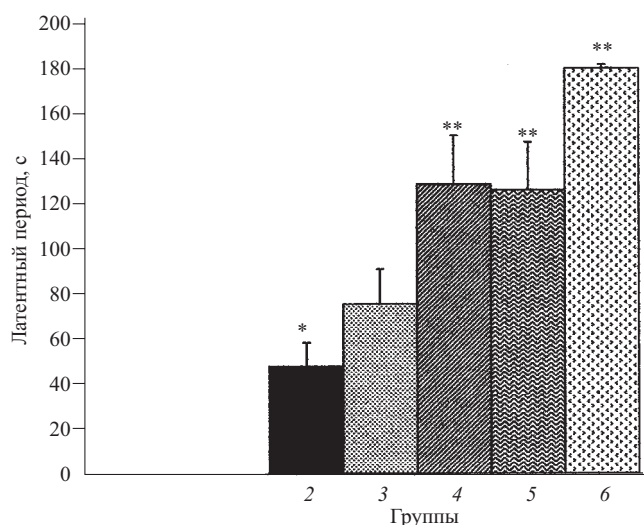
В экспериментах использовали следующие вещества: скополамин (порошок), фактор роста нервов (7S NGF) из подчелюстных желез мышей (лиофилизированный порошок, “Calbiochem”, Германия), поли(бутил)цианоакрилатные наночастицы-плацебо (лиофилизированный порошок; Институт молекулярной медицины ММА им. И. М. Сеченова).

#### *Приготовление рабочих растворов*

*Раствор ФРН.* Лиофилизированный порошок ФРН (45 мкг) растворяли в 0,9 мл изотонического раствора хлорида натрия. Таким образом, в 0,1 мл раствора содержалось 5 мкг ФРН.

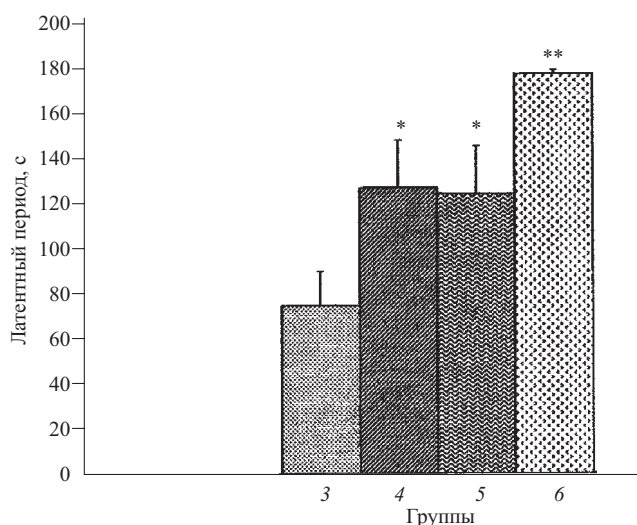
*Раствор ФРН с полисорбатом-80.* Раствор ФРН готовили как указано выше. Затем к нему добавляли 1 % раствор полисорбата-80 (ПС-80) из расчета 1 мкл раствора ПС-80 на 1 мл рабочего раствора ФРН.

*Приготовление суспензии наночастиц с сорбированным ФРН, покрытых ПС-80.* Лиофилизированный порошок поли(бутил)цианоакрилатных наночастиц-плацебо (1,8 г) диспергировали в 0,8 мл изотони-



**Рис. 2.** Антиамнестическое действие фактора роста нервов в разных лекарственных формах у крыс с амнезией, вызванной скополамином.

Группа: 2 — контроль амнезии; 3 — ФРН (раствор); 4 — ФРН с полисорбатом-80; 5 — ФРН в наночастицах; 6 — ФРН в наночастицах, покрытых полисорбатом-80. Остальные обозначения те же, что на рис. 1



**Рис. 3.** Сравнительная оценка антиамнестического действия разных лекарственных форм, содержащих фактор роста нервов (ФРН).

Группа: 3 — ФРН (раствор); 4 — ФРН с полисорбатом-80; 5 — ФРН в наночастицах; 6 — ФРН в наночастицах, покрытых полисорбатом-80. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

ческого раствора хлорида натрия до получения однородной суспензии молочно-белого цвета. Лиофилизированный порошок ФРН (45 мкг) растворяли в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия. Раствор ФРН соединяли с суспензией наночастиц и инкубировали при комнатной температуре в течение 3 ч. Затем к суспензии добавляли 1,8 мл 1 % раствора ПС-80 и инкубировали еще 30 мин. В результате получали 1,8 мл 1 % суспензии поли(бутил)цианоакрилатных наночастиц, содержащей 45 мкг ФРН (5 мкг ФРН в 0,2 мл суспензии).

*Приготовление суспензии наночастиц с сорбированным ФРН.* Суспензию наночастиц с сорбированным ФРН готовили указанным выше способом с тем отличием, что к ней не добавляли 1,8 мл 1 % раствора ПС-80. Порошок скополамина (5 мг) растворяли в 1 мл изотонического раствора хлорида натрия. Животным вводили по 0,1 мл раствора, что составляло дозу 2 мг/кг.

Все лекарственные формы готовили непосредственно перед употреблением и использовали только в день эксперимента. Раствор скополамина вводили подкожно за 30 мин до исследования латентного периода УРПИ. Раствор ФРН, а также суспензии наночастиц с сорбированным ФРН вводили внутривентриально, тотчас после подкожного введения скополамина, за 30 мин до исследования латентного периода УРПИ.

Для статистической обработки использовали пакет программ Sigma plot. Достоверность различий между группами наблюдений определяли по *t*-критерию Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

*Влияние ФРН на амнестическое действие скополамина в методике выработки УРПИ.* 60 крыс-самцов были разделены (случайным образом) на 6 групп (по 10 животных в каждой группе). Группам животных вводили следующие вещества и комбинации лекарственных форм:

Группа 1 — 0,9 % раствор хлорида натрия (0,1 мл внутривентриально), контроль обучения; группа 2 — скополамин (2 мг/кг, под кожу) контроль амнезии;

### Влияние фактора роста нервов (ФРН) на латентный период реакции пассивного избегания у крыс с острой амнезией, вызванной скополамином

Группа	Лекарственные вещества и лекарственные формы	Средний латентный период реакции пассивного избегания (сек) ± <i>m</i>
1	0,9 % раствор NaCl, внутривентриально, контроль обучения	113,9 ± 5,419
2	Скополамин 2 мг/кг, подкожно, контроль амнезии	47,5 ± 10,223
3	ФРН раствор	84,8 ± 16,901
4	ФРН с полисорбатом –80	127,4 ± 21,373
5	ФРН в наночастицах	124,8 ± 21,098
6	ФРН в наночастицах, покрытых полисорбатом-80	178,3 ± 1,70

**Примечание.** В каждой группе по 10 животных.

группа 3 — скополамин (2 мг/кг, под кожу) и ФРН (5 мкг на крысу, внутривенно); группа 4 — скополамин (2 мг/кг, под кожу) и ФРН (5 мкг на крысу, внутривенно) с ПС-80; группа 5 — скополамин (2 мг/кг, под кожу) и ФРН (5 мкг на крысу, внутривенно), сорбированный на наночастицах; группа 6 — скополамин (2 мг/кг, под кожу) и ФРН (5 мкг на крысу, внутривенно), сорбированный на наночастицах, покрытых ПС-80.

Результаты приведены в таблице и на рис. 1, 2 и 3. В группе крыс, получавших изотонический раствор (группа 1), средний латентный период входа в камеру составил 113,9 с. У крыс, получавших скополамин (группа 2), средний латентный период входа в камеру был существенно ниже — 47,5 с, что свидетельствует о развитии амнестического эффекта.

У животных, получавших ФРН на фоне скополамина (группа 3), средний латентный период составил 84,8 с. Данная величина латентного периода имеет промежуточное значение между латентными периодами обеих контрольных групп (контроля обучения и контроля амнезии, вызванной скополамином). Однако обнаруженные различия не являются статистически достоверными.

У крыс, получавших раствор ФРН с ПС-80 на фоне скополамина (группа 4), средний латентный период составил 127,4 с. Это значение достоверно ( $p \leq 0,01$ ) превышает латентный период группы 2 (контроль амнезии) и достоверно ( $p \leq 0,05$ ) превышает латентный период группы 3 (ФРН на фоне скополамина).

В группе крыс, получавших ФРН, сорбированный на наночастицах на фоне скополамина (группа 5), средний латентный период составил 124,8 с. Это значение статистически достоверно ( $p \leq 0,01$ ) превышает латентный период группы 2 (контроль амнезии) и достоверно ( $p \leq 0,05$ ) превышает латентный период группы 3 (ФРН на фоне скополамина). Данные, полученные для групп 4 и 5 (рис. 3) свидетельствуют о том, что применение ФРН с ПС-80 или ФРН, сорбированного на наночастицах, приводит к усилению его антиамнестического действия.

Наиболее выраженное увеличение латентного периода входа в камеру (178,3 с) показано для группы крыс, получавших ФРН, сорбированный на наночастицах, покрытых ПС-80 (группа 6). Полученное значение латентного периода достоверно ( $p \leq 0,01$ ) выше значения латентного периода в группе 3, а также достоверно превышает значения латентного периода обеих контрольных групп. Последнее свидетельствует о том, что ФРН, сорбированный на наночастицах, покрытых ПС-80, не только обладает выраженной способностью снижать амнезию, вызываемую скополамином, но также стимулирует когнитивные функции животных, повышая их обучаемость в методике формирования УРПИ.

Полученные в настоящем исследовании данные о том, что ФРН при внутривенном введении не устраняет, а лишь обозначает тенденцию к ослаблению амнезии, вызванной скополамином, могут свидетельствовать о плохом проникновении ФРН через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Это совпадает с данными о том, что при внутривенном введении ФРН не оказывает центральных эффектов, тогда как при введении в желудочки головного мозга он обладает выраженным ноотропным действием и стимулирует рост и функции центральных холинергических нейронов [30].

Внутривенное введение ФРН с ПС-80 уменьшает амнестическое действие скополамина (увеличивая латентный период входа в темную камеру по сравнению с латентным периодом животных, получавших только скополамин, рис. 2). Кроме того, антиамнестическое действие ФРН с ПС-80 превосходит антиамнестическое действие ФРН в растворе (рис. 3). Наличие антиамнестического эффекта в данном случае возможно связано с тем, что ПС-80 может изменять фармакокинетику ФРН (его всасывание из брюшной полости, распределение и метаболизм, а также проницаемость гематоэнцефалического барьера), что способствует транспорту ФРН в мозг.

ФРН, сорбированный на поли(бутил)цианоакрилатных наночастицах уменьшает амнестическое действие скополамина (рис. 2) и оказывает более выраженное антиамнестическое действие, чем ФРН в растворе (рис. 3). Такое увеличение эффекта может быть связано с тем, что наночастицы изменяют метаболическую составляющую фармакокинетики ФРН, защищая его от протеолиза пептидазами плазмы крови. Максимальный антиамнестический эффект был получен при использовании ФРН, сорбированного на поли(бутил)цианоакрилатных наночастицах, покрытых ПС-80.

Способность скополамина и других блокаторов холинорецепторов вызывать амнезию свидетельствует о том, что в механизмы памяти вовлечены холинергические нейроны. Холинергический компонент антиамнестического действия ФРН изучен недостаточно. Так, показано, что ФРН способен предупреждать деградацию холинергических нейронов у взрослых крыс с экспериментально вызванными повреждениями, воспроизводящими холинергический дефицит, наблюдаемый при болезни Альцгеймера. Это связано со способностью ФРН усиливать фибриллярный рост и вызывать экспрессию белков-переносчиков [13]. Благоприятное действие ФРН на центральные холинергические нейроны, память и другие когнитивные функции может продолжаться до месяца [8]. При этом холинергические нейроны головного мозга не только чувствительны к ФРН, но являются ФРН-зависимыми [16]. В дополнение к медленно проявляющимся нейротрофическим эффектам, ФРН может стимулировать функцию

холинергических нейронов за счет “быстрого” действия, аналогичного действию эндогенного медиатора [25]. Например, ФРН может облегчать холинергическую передачу в нейронах гиппокампа, стимулируя постсинаптические тирозинкиназные рецепторы [21].

Как показано в настоящем исследовании, максимально выраженные психотропные эффекты получены при применении ФРН, сорбированного на наночастицах, покрытых ПС-80. При этом ФРН проявил не только антиамнестическое действие, препятствуя амнезии, вызываемой скополамином, но также оказал ноотропоподобное действие (достоверно повысив латентный период УРПИ по сравнению с группой контроля обучения). Эти данные свидетельствуют о том, что поли(бутил)цианоакрилатные наночастицы, покрытые ПС-80 значительно увеличивают доставку ФРН в ЦНС. Это совпадает с данными, полученными в опытах с даларгином [1], лоперамидом [2], тубокурарином [3] и соответствует сведениям о том, что проникновение наночастиц, покрытых ПС-80, в эндотелиоциты капилляров мозга примерно в 20 раз превышает проникновение наночастиц, не покрытых ПС-80 [24, 27]. Увеличение проникновения не связано с общим токсическим действием ПС-80, поскольку в условиях *in vivo* в области эндотелиоцитов его концентрация невысока [18]. Вероятнее всего, облегчение транспорта связано с тем, что покрытие наночастиц ПС-80 приводит к адсорбции на их поверхности аполилопротеинов плазмы крови [12]. Ключевое значение для транспорта в мозг имеет аполилопротеин Е, рецепторы к которому существуют в эндотелиоцитах [17]. При этом наночастицы проникают в эндотелиоциты аналогично липопротеинам низкой плотности – путем рецепторзависимого эндоцитоза [19]. После деградации наночастиц в лизосомах эндотелиоцитов вещество диффундирует в ткань мозга (возможен трансцитоз наночастиц). Не исключается также угнетение транспортной функции гликопротеина-Р и дезинтеграция белков плотного соединения. Вероятно, эти процессы происходят параллельно и могут друг друга дополнять [20].

## ВЫВОДЫ

1. Фактор роста нервов – ФРН, (5 мкг на крысу) в растворе при внутрибрюшинном введении не вызывает статистически достоверного антиамнестического эффекта.

2. ФРН (5 мкг на крысу) с полисорбатом-80, а также ФРН (5 мкг на крысу), сорбированный на поли(бутил)цианоакрилатных наночастицах при внутрибрюшинном введении оказывает антиамнестическое действие.

3. ФРН (5 мкг на крысу), сорбированный на поли(бутил)цианоакрилатных наночастицах, покрытых полисорбатом-80, при внутрибрюшинном введе-

нии оказывает выраженное антиамнестическое действие, а также стимулирует когнитивные функции.

Авторы выражают благодарность С. Э. Гельперинной за предоставленные поли(бутил)цианоакрилатные наночастицы-плацебо, а также INTAS за финансовую поддержку проекта.

## ЛИТЕРАТУРА

1. R. Alyautdin, D. Gothier, V. Petrov, et al., *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, **41**, 44 – 48 (1995).
2. R. Alyautdin, V. Petrov, K. Langer, et al., *Pharm. Res.*, **14**, 325 – 328 (1997).
3. R. Alyautdin, E. Tezиков, P. Ramage, et al., *J. Microencapsul.*, **15**, 67 – 74 (1998).
4. M. Bibel, E. Hoope, and Y. A. Brade, *EMBOJ*, **18**, 616 – 622 (1999).
5. M. Bothwell, *Annu. Rev. Neurosci.*, **18**, 223 – 253 (1995).
6. M. Canossa, O. Griesbeck, V. Berninger, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**, 13279 – 13286 (1997).
7. J. Frade and Y. Brade., *Bioassays*, **20**(2), 137 – 145 (1998).
8. K. Frick, D. Price, V. Koliatsos, et al., *J. Neurosci.*, **17**(7), 2543 – 2550 (1997).
9. W. J. Friedman and L. A. Greene., *Exp. Cell Res.*, **253**, 131 – 142 (1999).
10. S. Furukawa and Y. Furukawa, *No To Shinkei*, **43**(12), 1101 – 1112 (1991).
11. M. D. Geschwind, C. F. Dreyfus, and L. G. Reichardt, *Mol. Brain Res.*, **24**, 327 – 335 (1994).
12. A. Gessner, C. Olbrich, W. Schroder, et al., *Int. J. Pharm.*, **214**(1 – 2), 87 – 91 (2001).
13. F. Hefti and W. Weiner, *Ann. Neurol.*, **20**(3), 275 – 281 (1986).
14. E. J. Huang and L. F. Reichardt., *Annu. Rev. Biochem.*, **72**, 1801 – 1807 (2003).
15. C. Humpel and C. Weis, *J. Neural. Transm.*, **62**(suppl), 253 – 263 (2002).
16. M. E. Jonhagen, *Alzheimer Dis. Assoc. Disord.*, **14**(Suppl 1), 31 – 38 (2000).
17. D. Kim, H. Iijima, K. Goto, et al., *J. Biol. Chem.*, **271**, 8373 – 8380 (1996).
18. J. Kreuter, P. Ramege, V. Petrov, et al., *Pharm. Res.*, **20**(3), 409 – 416 (2003).
19. J. Kreuter, D. Shamenkov, V. Petrov, et al., *J. Drug targeting*, **10**(4), 317 – 325 (2002).
20. J. Kreuter, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, **47**(1), 65 – 81 (2001).
21. E. S. Levine, C. F. Dreyfus, I. R. Black, et al., *Neurobiology*, **92**, 8074 – 8077 (1995).
22. G. R. Lewin and Y. A. Barde, *Annu. Rev. Neurosci.*, **19**, 289 – 317 (1996).
23. V. D. Petkov, A. H. Mosharrof, and V. V. Petkov, *Acta. Physiol. Pharmacol. Bulg.*, **14**(1), 3 – 13 (1988).
24. P. Ramege, R. E. Unger, J. B. Oltrogge, et al., *Eur. J. Neurosci.*, **12**(6), 1931 – 1940 (2000).
25. M. Rattray, *Biol. Psychiatry*, **49**(3), 185 – 193 (2001).
26. E. M. Shooter, B. A. Yankner, G. E. Landreth, et al., *Recent prog. Horm. Res.*, **37**, 417 – 426 (1981).
27. W. Sun, C. Xie, H. Wang, and Y. Hu., *Biomaterials*, **25**(15), 3065 – 3071. (2004).
28. N. Takei, T. Numakawa, S. Kozaki, et al., *J. Biol. Chem.*, **273**(42), 27620 – 27624 (1998).
29. H. Thoenen and M. Sendtner, *Nature Neurosci.*, **5**(Suppl), 1046 – 1050 (2002).
30. R. G. Thorne and W. H. Frey, *Clin. Pharmacokinet.*, **40**(12), 907 – 946 (2001).

## ANTIAMNESIC ACTIVITY OF NERVE GROWTH FACTOR ADSORBED ON POLY(BUTYL) CYANOACRYLATE NANOPARTICLES COATED WITH POLYSORBATE-80

A. A. Basel<sup>1</sup>, V. E. Petrov<sup>1</sup>, S. S. Trofimov<sup>2</sup>, T. A. Voronina<sup>2</sup>, and R. N. Alyautdin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Sechenov Medical Academy, ul. Bol'shaya Pirogovskaya 2/6, Moscow, 119881 Russia

<sup>2</sup> Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315 Russia

The anti-amnesic activity of nerve growth factor (NGF) in various medicinal forms [aqueous NGF solution with and without polysorbate-80 (PS-80) additives, NGF adsorbed on poly(butyl) cyanoacrylate (PBCA) nanoparticles with and without PS-80 coating] has been studied in rats with model amnesia induced by scopolamine (2 mg/kg, s.c.). The anti-amnesic activity was evaluated by the ability of subsequently introduced drugs (5 µg NGF per animal, i.p.) to inhibit the amnesic action of scopolamine as manifested by retrieval of the passive avoidance reflex (PAR) learned using the Lafayette Instruments USP system 30 min after drug injection. The PAR memory trace was evaluated as an increase in the latent time before visiting the dark compartment 24 h after drug injection. In the untreated amnesia control group, the scopolamine amnesia was manifested by the absence of any increase in the PAR latent time. In the form of an aqueous solution, NGF did not inhibit the scopolamine-induced amnesia. NGF adsorbed on uncoated PBCA and in the form of solution with PS-80 produced an anti-amnesic action manifested by a reliable increase in the PAR latent time as compared to that in the untreated control group. NGF adsorbed on PBCA nanoparticles coated with PS-80 not only exhibited a significant anti-amnesic effect, but even stimulated the cognitive function and increased the PAR latent time above the value in the learned control group.