

# ФАРМАКОЛОГИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ

## ВЛИЯНИЕ ПРОИЗВОДНОГО ГЛУТАМИНОВОЙ И АПОВИНКАМИНОВОЙ КИСЛОТ НА МЕТАБОЛИЗМ ГОЛОВНОГО МОЗГА В ПОСТИШЕМИЧЕСКОМ ПЕРИОДЕ

Л. М. Макарова<sup>1</sup>, М. А. Приходько<sup>1</sup>, В. Е. Погорелый<sup>1</sup>,  
С. Я. Скачилова<sup>2</sup>, Р. С. Мирзоян<sup>3</sup>

Нейропротекторное действие производного глутаминовой и аповинкаминовой кислот – ЛХТ 1-02 (этил-(3- $\alpha$ ,16- $\alpha$ )-эбурнаменин-14-карбоксилат 2-аминопентандиовой кислоты) изучено на модели острой ишемии мозга у кошек в сравнении с винпоцетином и глутаминовой кислотой ЛХТ 1 – 02 в реперфузионном периоде ограничивает постишемическую гипергликемию и лактат-ацидоз и увеличивает “потребление кислорода мозгом”. Результаты проведенных сравнительных исследований свидетельствуют о целесообразности дальнейшего изучения ЛХТ 1-02 в качестве кандидата нейропротектора.

**Ключевые слова:** глутаминовая кислота; винпоцетин; ишемия; реперфузия; кошки

### ВВЕДЕНИЕ

В структуре сосудистых заболеваний головного мозга доминирующее положение занимают ишемические поражения, которые наблюдаются при гипертонической болезни, атеросклерозе, сахарном диабете и ряде других заболеваний [5, 10, 11]. В течение последних десятилетий проблема церебрального инсульта приобретает все большую значимость в связи с высоким уровнем летальности, значительной инвалидизацией и социальной дезадаптацией пациентов [10, 12]. В связи с этим терапия нарушений мозгового кровообращения представляет важную проблему современной медицины [5, 11]. Поиск эффективных нейропротекторов ведется среди различных классов соединений. Особый интерес представляют новые соединения — аналоги естественных метаболитов. Экспериментально показано, что комбинированное применение ряда ЛС, созданных на основе эндогенных соединений, повышает эффективность нейропротекторной терапии, например, фенибута с никотиновой кислотой [14], 2-этил-6-метилгидроксипиридина и тропоксина [2], мексидола и тропоксина [3], конъюгата ГАМК с арахидоновой кислотой [4]. Среди препаратов, широко применяемых в неврологической практике, особое место занимает производное аповинкаминовой кислоты винпоцетин. Исследованиями последних лет показано, что винпоцетин обладает эндотелийпротекторным действием, которое обусловлено торможением выброса фактора Виллебранда в тесте артерио-венозной окклюзии и восстановлением эндотелий зависимой вазодилатации [1]. Большое внима-

ние уделяется таким корректорам ишемических нарушений головного мозга как аминокислоты и их производные [7]. Установлено, что производные нейромедиаторных аминокислот оказывают выраженный нейропротекторный эффект, превосходящий активность базовой аминокислоты [7, 9, 12]. Глутаминовая кислота послужила основой для создания ряда лекарственных препаратов (нооклерина, нооглютила), применяемых при различных заболеваниях ЦНС. Учитывая высокую фармакологическую эффективность глутаминовой кислоты и винпоцетина, в ВНИЦ БАН синтезировано соединение производное глутаминовой и аповинкаминовой кислот ЛХТ 1-02 — этил-(3- $\alpha$ ,16- $\alpha$ )-эбурнаменин-14-карбоксилат 2-аминопентандиовой кислоты (рис. 1). Подлинность и адекватная чистота полученного соединения подтверждена УФ-, ИК-,  $^1\text{H}$  ЯМР-спектроскопией, а также методом ТСХ.

Целью работы явилось изучение влияния ЛХТ 1-02 на метаболизм ткани мозга кошек в раннем постишемическом периоде в сравнении с винпоцетином и глутаминовой кислотой.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты проводили на 24 кошках массой 3,5 – 4 кг в условиях аутогемоперфузии мозга стабильным объемом крови. Для наркоза использовали уретан (500 мг/кг) и хлоралозу (50 мг/кг). Коагуляцию крови предотвращали введением гепарина (500 ЕД/кг). Стабильную вентиляцию легких поддерживали аппаратом искусственного дыхания ВИТА-1. Оптимальный режим вентиляции легких устанавливали под контролем рН, рО<sub>2</sub> и рСО<sub>2</sub> артериальной крови, определяемых на микроанализаторе Radelkis. Ишемию мозга моделировали путем билатеральной окклюзии сонных артерий в течение 15 мин на фоне снижения системного артериального давления до 40 мм рт. ст. [13]. Артериальную кровь брали из сонной артерии, венозную — из стока венозных синусов. В микропробах крови до моделирования патологии и через 15, 60 и 120 мин после острой ишемии головного мозга оп-

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии (зав. — А. В. Воронков) Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, 357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11.

<sup>2</sup> Всероссийский научный центр по безопасности биологически активных веществ, 142450, Московская область, Старая Купавна, ул. Кирова, 23.

<sup>3</sup> “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН”, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

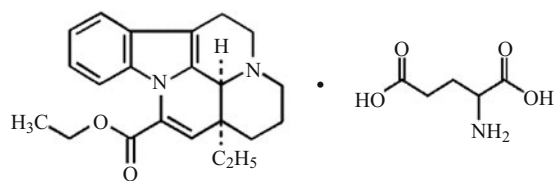


Рис. 1. Структурная формула ЛХТ 1-02.

ределяли показатели кислородного и углеводного обмена. Парциальное давление кислорода крови ( $pO_2$ , мм. рт. ст.) определяли на микроанализаторе фирмы “Radelkis”, а насыщение кислородом крови ( $SO_2$ , %) — по номограмме. По артерио-венозной разнице, с учетом объемной скорости мозгового кровотока, рассчитывали потребление кислорода ( $QO_2$ ) мозгом (мл/100г/мин). Концентрацию глюкозы в крови (в ммоль/л) определяли глюкозооксидазным методом (реактив “Фотоглюкоза ООО “Импакт”), содержание пировиноградной кислоты (в мкмоль/л) и молочной кислоты (в ммоль/л) общепринятыми методами [6, 11]. Эксперименты проводили в 4 группах животных (в каждой группе по 6 кошек) — контрольной (вводили физиологический раствор) и 3 опытных. Опытным группам вводили ЛХТ 1-02 — 10 мг/кг (1/100 от  $LD_{50}$ ); винпоцетин — 5 мг/кг и глутаминовую кислоту — 10 мг/кг. Выбор дозы для винпоцетина был обусловлен ранее проведенными исследованиями в нашей лаборатории, в которых установлены наиболее эффективные нейропротекторные дозы данного препарата [11]. Применение глутаминовой кислоты осуществлено в той же дозе, что и ЛХТ 1-02. Вещества вводили внутривенно сразу после ишемии. Оценка эффективности ЛХТ 1-02 при острой ишемии мозга проводили в сравнении с раствором винпоцетина (кавинтон, “Gedeon Richter”) и глутаминовой кислотой.

Статистическую обработку результатов проводили с помощью пакета программ Biostat. Результаты представлены в виде  $M \pm m$ , где  $M$  — среднее арифметическое,  $m$  — среднеквадратичное отклонение. Для доказательства значимости различий средних арифметических между двумя эмпирическими совокупностями для выборок, имеющих распределение, не отличающееся от нормального, использовали критерий Стьюдента и Фишера. При сравнении выборок с попарно связанными вариантами использовали парный критерий Стьюдента. Значимость различий между несколькими исследуемыми группами оценивали по критерию Стьюдента с поправкой Бонферрони. Значимость различий между выборками, имеющих распределение, отличающееся от нормального, оценивали с помощью критерия Уилкоксона [15].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У животных контрольной группы в постишемическом периоде были зафиксированы существенные нарушения со стороны кислородного и углеводного обмена. В период реперфузии у животных контрольной группы наблюдали повышение напряжения кислорода в венозной крови (таблица) и существенное уменьшение его потребления мозгом (рис. 4). Снижение поступления в клетки кислорода сопровождалось выраженной постишемической гипергликемией (рис. 2, а), повышением содержания пи-

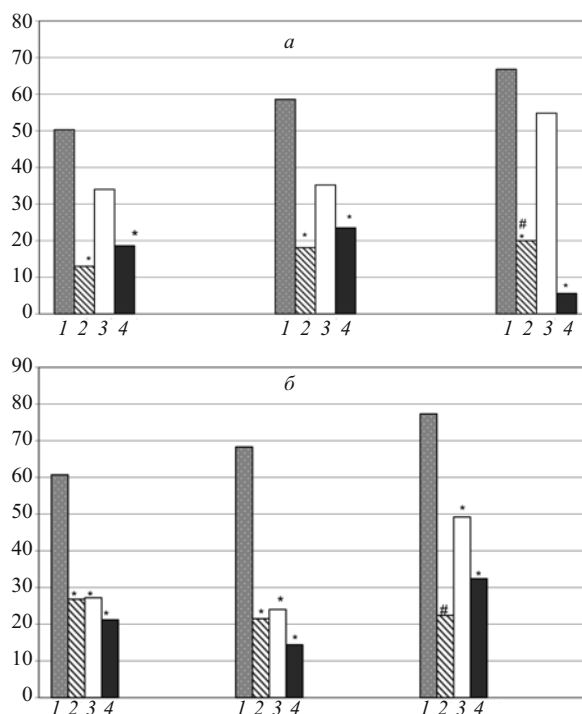


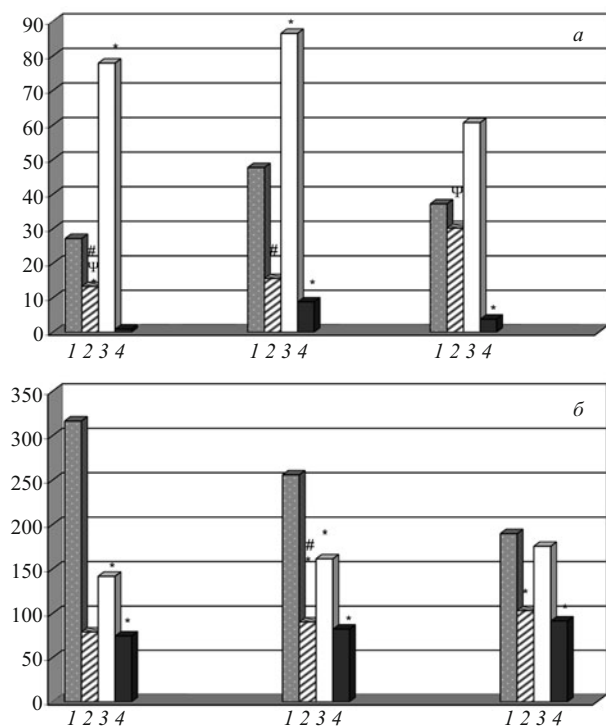
Рис. 2. Влияние ЛХТ 1-02, винпоцетина и глутаминовой кислоты на изменение содержания глюкозы в артериальной крови (а) и в венозной крови (б) у кошек в постишемическом периоде.

Здесь и на рис. 3 и 4: по оси абсцисс — время постишемического периода, мин; по оси ординат — изменение показателей относительно исходных, %. Изменения статистически значимы ( $p < 0,05$ ): \* — относительно контрольных опытов; # — ЛХТ 1-02 относительно винпоцетина; \$ — ЛХТ 1-02 относительно глутаминовой кислоты. 1 — контроль; 2 — ЛХТ 1-02; 3 — винпоцетин; 4 — глутаминовая кислота.

рувата (рис. 3, а) и существенным увеличением лактата (рис. 3, б) в венозной крови.

Соединение ЛХТ 1-02 достоверно уменьшало постишемическую гипергликемию в артериальной (рис. 2, а) и венозной (рис. 2, б) крови на протяжении всего периода наблюдения, в сравнении с контрольной группой. Изучаемое соединение, аналогично глутаминовой кислоте, ограничивало гипергликемическую реакцию в течение всего эксперимента и более эффективно, чем винпоцетин снижало уровень глюкозы в венозной крови на 120 мин опыта (рис. 2, а).

Соединение ЛХТ 1-02 уменьшало содержание пировиноградной кислоты в венозной крови, в сравнении с контролем на 15-й и 60-й минуте эксперимента (рис. 3, а). Винпоцетин приводил к увеличению содержания данного метаболита в венозной крови относительно нелеченных животных также на 15-й и 60-й минуте реперфузии (рис. 3, а). Следует отметить, что глутаминовая кислота предотвращала повышение уровня пировиноградной кислоты в оттекающей от мозга крови на протяжении всего опыта (рис. 3, а). Как известно, пируват занимает ключевое положение в обмене углеводов в мозге, и при достаточном поступлении кислорода он полностью окисляется в цикле Кребса, высвобождая огромное количество энергии, а в условиях ишемии — обеспечивает образование лактата, поддерживая гликолиз [5]. Поэтому значимые ограничения накопления пирувата в венозной крови в опытах с ЛХТ 1-02 и глутаминовой ки-



**Рис. 3.** Влияние ЛХТ 1-02, винпоцетина и глутаминовой кислоты на изменение содержания пировиноградной кислоты (а) и молочной кислоты (б) в венозной крови у кошек в постишемическом периоде.

Обозначения те же, что на рис. 2.

слоты свидетельствуют о позитивном влиянии данных соединений на обмен веществ ишемизированного мозга.

Соединение ЛХТ 1-02 уменьшало концентрацию молочной кислоты в оттекающей от мозга, крови в сравнении с контролем в течение всего эксперимента, в то время как винпоцетин снижал накопление данного метаболита в крови лишь в течение первых 60 мин реперфузии (рис. 3, б). Глутаминовая кислота, аналогично ЛХТ 1-02, уменьшала постишемический лактат-ацидоз на протяжении всего периода наблюдения.

Соединение ЛХТ 1-02 не вызывало достоверных изменений парциального напряжения кислорода крови (таблица) в сравнении с контролем на протяжении всего эксперимента. Винпоцетин уменьшал данный показатель лишь на 120-й минуте опыта в венозной крови. Глутаминовая кислота приводила к достоверному снижению парциального давления кислорода в венозной крови на протяжении всего эксперимента в сравнении с контролем (таблица).

Для адекватной оценки действия исследуемого соединения на кислородный обмен головного мозга было рассмотрено его влияние на показатель “насыщение кислородом” крови (таблица). Было установлено, что при использовании ЛХТ 1-02 насыщение кислородом артериальной крови увеличивалось в сравнении с контролем на протяжении всего опыта, в то время как винпоцетин не оказывал значимого влияния на данный показатель, а глутаминовая кислота увеличивала насыщение кислородом артериальной крови лишь на 60 и 120 мин эксперимента (таблица).

#### Влияние ЛХТ 1-02, винпоцетина и глутаминовой кислоты на изменение показателей кислородного обмена в крови в постишемическом периоде (% , $M \pm m$ )

Группа животных	15 мин	60 мин	120 мин
<i>pO<sub>2</sub> в артериальной крови, %</i>			
Контроль	+ 7,7 ± 8,2	+ 4,8 ± 7,5	+ 8,2 ± 12,1
ЛХТ 1-02	+ 18,3 ± 5,4 <sup>#</sup>	+ 20,0 ± 5,2	+ 19,1 ± 4,0
Винпоцетин	+ 3,7 ± 4,7	+ 11,5 ± 6,6	+ 10,4 ± 5,4
Глутаминовая кислота	+ 11,3 ± 1,4	+ 18,2 ± 4,4	+ 26,8 ± 5,1
<i>pO<sub>2</sub> в венозной крови, %</i>			
Контроль	+ 35,0 ± 9,0	+ 20,0 ± 4,3	+ 24,2 ± 4,5
ЛХТ 1-02	+ 33,3 ± 12,4 <sup>Ψ</sup>	+ 9,6 ± 9,4	+ 30,3 ± 9,2 <sup>#Ψ</sup>
Винпоцетин	+ 11,4 ± 5,6	+ 12,3 ± 11,5	+ 6,5 ± 7,5*
Глутаминовая кислота	+ 2,0 ± 1,1*	+ 4,2 ± 0,3*	- 3,5 ± 3,2*
<i>SO<sub>2</sub> в артериальной крови, %</i>			
Контроль	- 1,3 ± 0,6	- 1,2 ± 0,7	- 1,3 ± 0,9
ЛХТ 1-02	+ 9,6 ± 0,2 <sup>*#Ψ</sup>	+ 8,7 ± 1,0 <sup>*#Ψ</sup>	+ 9,0 ± 0,3 <sup>*#Ψ</sup>
Винпоцетин	- 3,4 ± 1,3	- 2,3 ± 0,7	- 2,7 ± 0,8
Глутаминовая кислота	+ 1,2 ± 1,3	+ 3,5 ± 1,6*	+ 5,0 ± 1,5*
<i>SO<sub>2</sub> в венозной крови, %</i>			
Контроль	+ 7,5 ± 2,0	+ 5,5 ± 1,9	+ 5,5 ± 1,8
ЛХТ 1-02	- 23,0 ± 10,6*	- 45,0 ± 6,3 <sup>*#Ψ</sup>	- 22,0 ± 2,3 <sup>*#Ψ</sup>
Винпоцетин	- 4,3 ± 5,1	- 5,8 ± 5,2	- 12,4 ± 3,3
Глутаминовая кислота	+ 21,2 ± 3,1*	+ 14,4 ± 2,1*	+ 32,4 ± 3,0*

**Примечание.** pO<sub>2</sub> — парциальное давление кислорода крови, SO<sub>2</sub> — насыщение кислородом крови. Отличия статистически значимы ( $p < 0,05$ ):

\* — относительно контрольных опытов; # — ЛХТ 1-02 относительно группы “винпоцетин”; Ψ — ЛХТ 1-02 относительно группы “глутаминовая кислота”

При изучении влияния объектов исследования на показатель “насыщение кислородом” венозной крови установлено, что применение ЛХТ 1-02 приводило к уменьшению данного показателя в сравнении с нелечеными животными на протяжении всего эксперимента. Вместе с тем винпоцетин приводил к снижению насыщения кислородом венозной крови только на 60 и 120 мин опыта, а глутаминовая кислота уменьшала данный показатель лишь на 15-й минуте эксперимента (таблица). Полученные данные позволяют предположить, что объекты исследования способствуют повышению утилизации кислорода тканью мозга в постшемическом периоде. Поэтому следующим этапом работы явилось изучение влияния ЛХТ 1-02 в сравнении с винпоцетином и глутаминовой кислотой на показатель “потребление кислорода мозгом” (рис. 4).

Установлено, что ЛХТ 1-02, также как препараты сравнения, существенным образом препятствуют постшемическому нарушению утилизации кислорода тканью мозга (рис. 4). Следует также отметить, что влияние ЛХТ 1-02 на показатель “потребление кислорода мозгом” сопоставимо с действием глутаминовой кислоты на протяжении всего периода наблюдения и превосходит действие винпоцетина на 15 и 60 мин реперфузии.

Таким образом, проведенные исследования свидетельствуют о том, что соединение ЛХТ 1-02 аналогично препарату сравнения глутаминовой кислоте и более эффективно, чем препарат сравнения винпоцетин ограничивает реперфузионные нарушения — гипергликемию, лактат-ацидоз и снижение “потребления кислорода мозгом” в экспериментальной модели ишемии-реперфузии головного мозга у кошек. Полученные данные позволяют рассматривать данное соединение как потенциальный нейропротектор.

## ВЫВОД

ЛХТ 1-02 более эффективно, чем нейропротектор винпоцетин, ограничивает нарушения кислородного и углеводного обмена, вызванные реперфузионными повреждениями головного мозга у экспериментальных животных.

## ЛИТЕРАТУРА

1. О. Е. Ваизова, А. И. Венгеровский, В. М. Алифирова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(4), 10 – 13 (2011).
2. Т. С. Ганьшина, А. А. Горбунов, А. В. Гнездилова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(8), 17 – 22 (2011).

## EFFECT OF A NEW DERIVATIVE OF GLUTAMIC AND APOVINCAMINIC ACIDS ON BRAIN METABOLISM IN POST-ISCHEMIC PERIOD

L. M. Makarova<sup>1</sup>, M. A. Prikhod'ko<sup>1</sup>, V. E. Pogorelyi<sup>1</sup>, S. Ya. Skachilova<sup>2</sup>, and R. S. Mirzoyan<sup>3</sup>

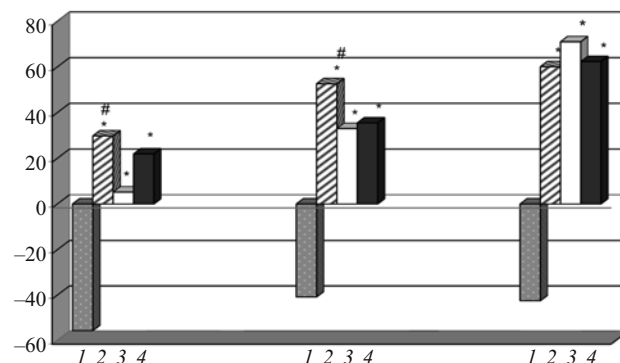
<sup>1</sup> Pyatigorsk Medical-Pharmaceutical Institute, Branch of Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, pr. Kalinina 11, 357532, Russia

<sup>2</sup> All-Russia Center for Safety of Biologically Active Substances, ul. Kirova 23, Staraya Kupavna, Moscow oblast, 142450, Russia

<sup>3</sup> Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiyskaya 8, Moscow, 125315, Russia

Neuroprotective properties of the new derivative of glutamic and apovincaminic acids, ethyl-(3- $\alpha$ ,16- $\alpha$ )-eburnamenin-14-carboxylate of 2-aminopentadionic acid (LHT 1-02) were studied on a model of acute brain ischemia in cats. LHT 1-02 has proved to be more effective than the reference drugs vinpocetine and glycine in preventing the reperfusion damage, which was manifested by decreased postischemic hyperglycemia, activated utilization of oxygen in the brain, and suppressed postischemic metabolic lactate acidosis. Thus, the results of this comparative study show expediency of further investigations of LHT 1 – 02 as a potential neuroprotective drug.

**Keywords:** glutamic acid; vinpocetine; ischemia; reperfusion; cats



**Рис. 4.** Влияние ЛХТ 1-02, винпоцетина и глутаминовой кислоты на изменение показателя “потребление кислорода” мозгом у кошек в постшемическом периоде.

Обозначения те же, что на рис. 2.

3. А. А. Горбунов, Т. С. Ганьшина, А. И. Турилова, Р. С. Мирзоян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(8), 23 – 27 (2011).
4. А. В. Гнездилова, Т. С. Ганьшина, Д. С. Масленников и др. *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(8), 28 – 31 (2011).
5. Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, *Ишемия головного мозга*, Медицина, Москва (2001).
6. В. С. Камышников, *Справочник по клинико-биохимической лабораторной диагностике*, Т. 1 – 2, Беларусь, Минск (2000).
7. Л. М. Макарова, *Автореф. дис. кан. фарм. наук*, Пятигорск (2002).
8. Л. М. Макарова, В. Е. Погорельный, *Экспер. и клин. фармакол.*, **67**(5), 13 – 16 (2004).
9. Л. М. Макарова, М. А. Приходько, В. Е. Погорельный, *Экспер. и клин. фармакол.*, **69**(5), 20 – 23 (2006).
10. Р. С. Мирзоян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **58**(4), 3 – 7 (1995).
11. В. Е. Погорельный, *Автореф. дис. д-ра биол. наук*, ст. Купавна (2001).
12. В. И. Петров, Э. А. Пономарев, С. С. Маскин, Н. Н. Стрепетов, *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(8), 13 – 16 (2011).
13. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Москва (2005).
14. И. Н. Тюренков, Е. В. Волотова, Д. В. Куркин и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **75**(4), 10 – 12 (2012).

Поступила 18.04.13