

## ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫЕ СРЕДСТВА

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ СВОЙСТВ НООПЕПТА И ЕГО ВЛИЯНИЕ НА УРОВЕНЬ ЦИТОКИНОВ

С. В. Алексеева, Л. П. Коваленко, А. В. Таллерова, Т. А. Гудашева, А. Д. Дурнев<sup>1</sup>

Исследовано противовоспалительное действие дипептидного аналога пираретама — ноопепта при однократном внутрибрюшинном введении в дозах 1, 5 и 10 мг/кг и препарата сравнения диклофенака в дозе 10 мг/кг (внутрибрюшинно) на моделях острого экссудативного воспаления с использованием каррагенана у крыс и конканавалина А (Кон А) у мышей линии СВА, а также при курсовом 5-дневном внутрибрюшинном введении ноопепта мышам линии С57BL/6 в дозе 5 мг/кг на модели с однократным введением бактериального липополисахарида (ЛПС) в дозе 100 мкг/кг. Введение дипептида приводило к значимому подавлению реакции воспаления на каррагенан и конканавалин А. Введение Кон А вызывало увеличение в 16 раз содержания интерлейкина ИЛ-6 в сыворотке крови мышей по сравнению с интактными животными. Ноопепт (5 мг/кг) уменьшал в 1,8 раза уровень ИЛ-6 в реакции воспаления на Кон А. Введение ЛПС приводило к выраженному подъему уровней провоспалительных интерлейкинов ИЛ-6 и TNF- $\alpha$  у мышей по сравнению с интактными животными. Курсовое введение ноопепта (5 мг/кг) значимо снижало уровень ИЛ-6 и в 2 раза уменьшало уровень TNF- $\alpha$ .

**Ключевые слова:** ноопепт; воспаление; провоспалительные цитокины; реакция воспаления на каррагенан; реакция воспаления на конканавалин А

#### ВВЕДЕНИЕ

Ноопепт — пептидный аналог пираретама с выраженным ноотропным и нейропротекторным действием [1, 2]. При однократном и курсовом введении дипептида внутривенно, внутрибрюшинно и *per os* на различных моделях установлены его выраженные иммуноотропные свойства [3, 4].

Данные клинических исследований последних лет указывают на значительную роль воспаления и, в частности, цитокинов в патогенезе многих психических и неврологических расстройств. Это, прежде всего, ИЛ-1 $\beta$ , TNF $\alpha$  и ИЛ-6 [8, 9, 11]. Выявление биологической и патогенетической роли этих интерлейкинов и поиск средств их фармакологической регуляции определяется как важная научно-практическая задача [10].

Целью данной работы явилось изучение противовоспалительных свойств ноопепта в различных дозах и его влияние на уровень основных провоспалительных цитокинов на лабораторных животных.

#### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 50 самцах беспородных белых крыс массой 160 – 180 г, на 80 мышках самцах линий СВА и 30 мышках самцах линии С57BL/6 массой 18 – 20 г (питомник “Столбовая” РАМН, Россия). Ноопепт (этиловый эфир N-фенил-ацетил-L-про-

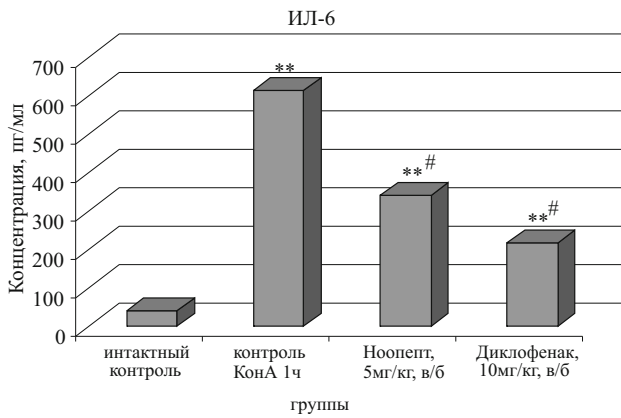
лил-глицина) синтезирован в отделе химии НИИ фармакологии имени В. В. Закусова РАМН.

Реакцию воспаления на каррагенан в опытах на крысах и Кон А-индуцированную реакцию воспаления в опытах на мышках моделировали согласно “Руководству по иммунофармакологии” [5] и “Методическим указаниям по оценке аллергизирующих свойств фармакологических веществ” [6]. Ноопепт в дозах 1, 5, 10 мг/кг, препарат сравнения диклофенак (“Agio”) в дозе 10 мг/кг вводили внутрибрюшинно за 1 ч до субплантарной инъекции крысам каррагенана (“Sigma”) и Кон А (“Sigma”) мышам линии СВА. Выбор доз ноопепта и диклофенака основан на данных проведенных нами ранее исследований [3, 4]. Далее было проведено изучение влияния ноопепта (5 мг/кг) и диклофенака (10 мг/кг) на уровень цитокинов в сыворотке мышей линии СВА после декапитации животных опытных и контрольной групп через 1 ч после введения Кон А.

Липополисахарид (LPS, *Escherichia coli*, 0111: B4) вводили однократно внутрибрюшинно в дозе 100 мкг/кг мышам линии С57BL/6 [10, 12]. Ноопепт (5 мг/кг) вводили пятикратно до введения эндотоксина. На 5-й день опыта через 1 ч после инъекции препаратов вводили LPS. Через 2 ч осуществляли забор крови путём декапитации животных.

Исследование концентрации цитокинов (ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6, ИЛ-10, ИЛ-1 $\alpha$ , ИЛ-2, ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-17, IFN- $\gamma$ , GM-CSF) в сыворотке крови мышей проводили на

<sup>1</sup> ФБГУ НИИ фармакологии имени В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.



**Рис. 1.** Влияние ноопепта и диклофенака на уровень ИЛ-6 в сыворотке крови мышей линии СВА после субплантарного введения Кон А; \*\* — достоверность различий с контролем при  $p < 0,01$ . # — достоверность различий с группой Кон А 1 ч при  $p < 0,05$

проточном цитометре EPICS XL 4colors, с помощью панели FlowCytomix mouse Th1/Th2 10 plex, согласно протоколу фирмы-производителя BenderMedSystem.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При однократном введении ноопепта в дозах 5 и 10 мг/кг мышам линии СВА выявлено дозозависимое подавление реакции воспаления на Кон А на 32,9 и 66,4 %, соответственно. Выявленные эффекты сравнимы с действием препарата сравнения диклофенака в дозе 10 мг/кг, который подавлял реакции воспаления на Кон А на 62,9 % по сравнению с контролем (табл. 1).

**Таблица 1.** Влияние ноопепта и диклофенака на реакцию воспаления на Кон А у мышей линии СВА

Группа, $n = 10$	Индекс реакции	Уровень значимости
Контроль	$14,0 \pm 1,6$	-
Ноопепт, 1 мг/кг	$12,9 \pm 2,5$	$> 0,05$
Ноопепт, 5 мг/кг	$9,2 \pm 1,7^*$	$< 0,05$
Ноопепт, 10 мг/кг	$4,7 \pm 1,5^{**}$	$< 0,01$
Диклофенак, 10 мг/кг	$5,2 \pm 1,5^{**}$	$< 0,01$

**Примечание:**  $n$  — число животных в группе.

**Таблица 2.** Влияние ноопепта и диклофенака на отек стопы на каррагенан у крыс

Группа, $n = 10$	Индекс реакции			
	1 час	2 час	3 часа	4 часа
Контроль	$37,18 \pm 4,68$	$60,45 \pm 4,98$	$71,25 \pm 5,22$	$41,33 \pm 4,96$
Ноопепт, 1 мг/кг	$14,7 \pm 1,7^*$	$32,26 \pm 2,9^*$	$48,45 \pm 5,96^*$	$41,67 \pm 4,74$
Ноопепт, 5 мг/кг	$15,62 \pm 3,19^*$	$29,12 \pm 3,57^*$	$40,31 \pm 4,28^*$	$32,7 \pm 2,37$
Ноопепт, 10 мг/кг	$16,23 \pm 1,95^*$	$33,72 \pm 5,85^*$	$39,73 \pm 4,96^*$	$35,79 \pm 3,65$
Диклофенак, 10 мг/кг	$14,23 \pm 2,13^*$	$22,22 \pm 3,35^*$	$20,27 \pm 2,69^*$	$17,26 \pm 2,58^*$

**Примечание.**  $n$  — число животных в группе, \* — достоверность различий с контролем при  $p < 0,05$ .

После введения Кон А происходило увеличение концентрации только ИЛ-6 по сравнению с уровнем, наблюдаемым у интактных мышей. Введение ноопепта уменьшало концентрацию провоспалительного цитокина в 1,8 раза, диклофенак вызывал 2,5-кратное снижение ИЛ-6 (рис. 1).

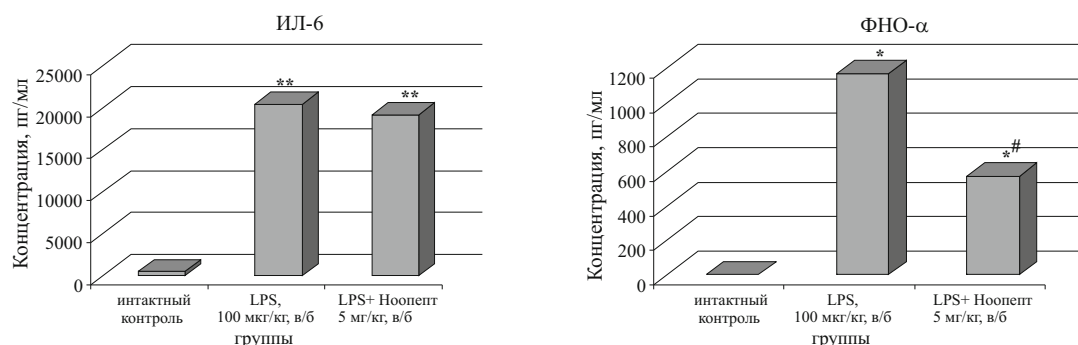
Противовоспалительные свойства ноопепта подтверждены на модели с каррагенаном у крыс. Максимальное подавление отека по сравнению с контролем отмечали через 1 ч после индукции воспаления. Наблюдаемый эффект был сопоставим с действием диклофенака. Эффект ноопепта в дозах 1, 5 и 10 мг/кг наблюдался также через 2 и 3 ч, но был менее выражен, чем у диклофенака (табл. 2).

Введение ЛПС мышам приводило к выраженному подъему уровней провоспалительных интерлейкинов ИЛ-6 и TNF- $\alpha$  по сравнению с интактными животными. Курсовое введение ноопепта в дозе 5 мг/кг в течение 5 дней значимо снижало уровень ИЛ-6 и более выражено, в 2 раза, уменьшало уровень TNF- $\alpha$  (рис. 2).

В предыдущих исследованиях показано [7], что при хроническом 10-дневном стрессировании мышей линий C57BL/6 и BALB/c методом повторной плавательной нагрузки обнаружено увеличение уровня ИЛ-1 $\beta$  в плазме крови мышей линий BALB/c и C57BL/6 в 5,4 и 2,6 раза. Введение ноопепта внутривентриально в дозе 5 мг/кг в течение 10 дней приводило к уменьшению уровня ИЛ-1 $\beta$  до контрольных значений у мышей линии BALB/c.

Совокупность результатов этих исследований позволяет указать на способность ноопепта предупреждать увеличение уровня основных провоспалительных интерлейкинов в использованных экспериментальных моделях.

Провоспалительные цитокины, участвуя в нейромимунных взаимодействиях при различных патологических состояниях, часто играют ключевую роль, способствующую усилению патологического процесса. Экспрессия ИЛ-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  и ИЛ-6 в мозге значительно увеличивается при экспериментальных и клинических травмах ЦНС, нейродегенеративных заболеваниях, у больных с различными формами депрессивных расстройств, депрессивно-подобном состоянии, экспериментально вызванном ЛПС [8 – 11]. ИЛ-1 $\beta$  и ИЛ-6



**Рис. 2.** Влияние курсового введения ноопепта на уровень ИЛ-6 и ТНФ-α в сыворотке крови мышей линии C57BL/6 после введения ЛПС; \* — достоверность различий с контролем при  $p < 0,05$ . \*\* — достоверность различий с контролем при  $p < 0,01$ ; # — достоверность различий с группой LPS при  $p < 0,05$ .

являются медиаторами нейровоспаления, которое может вызывать серьезные изменения синаптической и нейрональной пластичности вплоть до гибели клеток [9, 12].

Способность ноопепта корректировать увеличение провоспалительных интерлейкинов на различных иммунопатологических моделях установлена впервые. Данное наблюдение открывает перспективы исследования этого звена в механизмах нейропротекторного действия ноопепта.

## ВЫВОДЫ

1. Ноопепт (1 – 10 мг/кг) дозозависимо подавляет острое экссудативное воспаление и вызывает значимое подавление (в 1,8 раза) уровня ИЛ-6 в экспериментальной модели с Кон А.

2. Ноопепт (1 – 10 мг/кг) подавляет острое воспаление на каррагенан через 1 ч после индукции воспаления. Через 2 и 3 ч действие ноопепта менее выражено, чем у препарата сравнения диклофенака.

3. Ноопепт (5 мг/кг при 5-кратном курсовом введении) уменьшает увеличение содержания ИЛ-6 и ТНФ-α, индуцированное введением липополисахарида.

## ЛИТЕРАТУРА

1. S. B. Sereidenin, T. A. Voronina, T. A. Gudasheva, et al., Patent USA 5,439,930 (1995). Патент РФ 2119496 (1998).

2. С. А. Гаврилова, К. С. Ус, Р. У. Островская и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **69**(4), 16 – 18 (2006).  
 3. Л. П. Коваленко, М. Г. Мирамедова, С. В. Алексеева и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(2), 53 – 55(2002).  
 4. Л. П. Коваленко, Е. В. Шипаева, С. В. Алексеева и др., *Бюл. экспер. биол. и мед.*, **144**(7), 54 – 57(2007).  
 5. *Руководство по иммунофармакологии*, М. М. Дейл, Дж. К. Формен (ред.), “Медицина”, Москва (1998), сс. 228 – 229.  
 6. Б. И. Любимов, Л. П. Коваленко, В. Н. Федосеева и др., *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Р. У. Хабриев (ред.), Москва (2005), сс. 45 – 69.  
 7. Е. В. Шипаева, *Иммунофармакологические свойства глицин- и пролинсодержащих дипептидов; Автореф. дис. канд. мед. наук*, М., 2008.  
 8. В. Е. Leonard, A. Myint, *Dialogues in Clinical Neuroscience*, **8**(2), 163 – 174 (2006).  
 9. R. A. Khairova, R. Machado-Vieira, J. Du, et al., *Intern. Journ. of Neuropsychopharmacology*, **12**, 561 – 578 (2009).  
 10. С. А. Кетлинский, А. С. Симбирцев, *Цитокины*, Санкт-Петербург (2008), с. 549.  
 11. A. Spooren, K. Kolmus, G. Laureys, et al., *Brain Research Reviews*, **67**, 157 – 183 (2011).  
 12. N. Tsakiri, I. Kimber, N. J. Rothwell, et al., *Brit. Journ. Pharm.*, **153**, 775 – 783 (2008).

Поступила 24.02.12

## AN EXPERIMENTAL STUDY OF THE ANTI-INFLAMMATORY ACTION OF NOOPEPT AND ITS EFFECT ON THE LEVEL OF CYTOKINES

S. V. Alekseeva, L. P. Kovalenko, A. V. Tallerova, T. A. Gudasheva, and A. D. Durnev

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315, Russia

The anti-inflammatory effects of noopept (dipeptide analog of piracetam) upon a single intraperitoneal (i.p.) administration at doses of 1, 5, and 10 mg/kg in comparison to the reference drug diclofenac (10 mg/kg, i.p.) have been studied on a model of acute exudative inflammation induced by carrageenan in outbred rats and concanavalin A (Con A) in CBA mice. The level of cytokines was studied on the lipopolysaccharide (LPS) model (single administration, 100 mg/kg, i.p.) with 5-day administration of noopept at a dose of 5 mg/kg (i.p., before endotoxin injection) in C57BL/6 mice. The administration of noopept led to a significant suppression of the inflammatory response to both carrageenan and Con A. The administration of Con A caused a 16-fold increase in the level of IL-6 interleukin in the blood serum of mice as compared to control. Noopept (5 mg/kg) reduced the level of IL-6 by a factor of 1.8 in the inflammatory response to Con A. The administration of LPS led to pronounced increase in the levels of pro-inflammatory IL-6 and TNF-α in the blood serum of test mice as compared to intact animals. The course administration of noopept (5 mg/kg) significantly decreased the level of IL-6 and reduced by half the level of TNF-α.

**Key words:** Noopept, inflammation, pro-inflammatory cytokines, inflammatory response to carrageenan, inflammatory response to concanavalin A.