

ИССЛЕДОВАНИЕ НООТРОПНОЙ АКТИВНОСТИ БЕТАМЕЦИЛА

Е. Б. Романенко^{1, 2}, Н. Г. Левицкая³, А. А. Каменский³,
А. О. Лебедева¹, Н. Б. Леонидов⁴

В отличие от метилурацила, четырехкратное введение бетамецила (10 мг/кг внутрь) приводит к значительному возрастанию ориентировочно-исследовательской реакции в тесте “открытое поле”. Этот эффект сохраняется, по крайней мере, в течение недели. Бетамецил в дозах 10 и 100 мг/кг практически не изменяет скорость выработки условного пищедобывательного рефлекса на место в Т-образном лабиринте по сравнению с контролем. Однако наблюдается ускорение обучения по сравнению с животными, получавшими метилурацил. Хроническое введение бетамецила (в течение 18 суток) приводит к улучшению сохранения и воспроизведения ранее выработанного пищедобывательного навыка. Пирацетам и метилурацил подобным эффектом не обладают.

Ключевые слова: ноотропная активность, бетамецил, полиморфизм

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы показана значительная роль полиморфизма органических биологически активных веществ в проявлении их биологических свойств. Полиморфизм лежит в основе феномена биологической неэквивалентности многих лекарственных веществ, предопределяя вариабельность их физических, химических и биологических свойств [1, 2].

Настоящая работа посвящена экспериментальному изучению нейротропной активности полиморфной модификации β-формы 6-метилурацила-бетамецила.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследовали влияние хронического введения бетамецила на поведение и обучение белых крыс. В качестве веществ сравнения использовали пирацетам и метилурацил. Все препараты вводили ежедневно внутрь в виде водного раствора в объеме 1 мл/кг в следующих дозах: бетамецил — 10 и 100 мг/кг; пирацетам — 100 мг/кг; метилурацил — 100 мг/кг в течение 18 дней. Контрольные животные получали воду в эквивалентном объеме.

Поведенческие эффекты препаратов изучали общепринятыми методами выявления ноотропной активности [5] в следующих тестах: тест “открытое поле”; выработка условного пищедобывательного рефлекса на место в Т-образном лабиринте; выработка условной реакции пассивного избегания.

Опыты проводили на самцах нелинейных белых крыс массой 150–250 г. Всего в работе использовано 180 животных.

Тест “открытое поле”.

Действие препаратов на спонтанное поведение оценивали методом “открытое поле”. Поле представляет круглую арену диаметром 80 см с полом, расчерченным восемью диаметрами и тремя концентрическими окружностями, находящимися на равном расстоянии друг от друга. Арена окружена стенкой высотой 40 см. При тестировании животное помещали в центр арены и в течение 2 мин оценивали горизонтальную (число пройденных сегментов) и вертикальную (число подъемов на задние лапы — стоек) активность, число касаний морды лапами (умывание, груминг), а также число радиальных перемещений с пересечением внешней и внутренней окружностей (переходы I и переходы II). Измерения проводили в тишине и при свете красной лампы [3].

Выработка условного пищедобывательного рефлекса в Т-образном лабиринте.

Выработку условной пищедобывательной реакции на место проводили в стандартном Т-образном лабиринте с длиной отсеков 30 см. В первый день эксперимента животных помещали на 30 мин в лабиринт с целью адаптации и угашения ориентировочной реакции. В последующие 4 дня проводили обучение: каждый день животное помещали в лабиринт 5 раз подряд, длительность каждого предъявления не превышала 3 мин. В качестве подкрепления использовали хлебные шарики. В опытах фиксировали следующие показатели:

латентный период (ЛП; время от момента посадки до выхода из стартовой камеры); время реакции (ВР; время, понадобившееся животному для достижения требуемого отсека лабиринта и взятия пищи); число ошибок (ЧО; число заходов в неподкрепляемый отсек лабиринта); число выполненных реакций (ЧВР; число

¹ Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

² Институт физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского МГУ им. Ломоносова, Москва, 119992, ГСП-2, e-mail: romanen@belozersky.msu.ru

³ Биологический факультет МГУ им. М. В. Ломоносова, Москва, 119992.

⁴ ГОУ ВПО Рязанский государственный медицинский университет им. И. П. Павлова Росздрава, Рязань, 390026, ул. Высоковольная, 9.

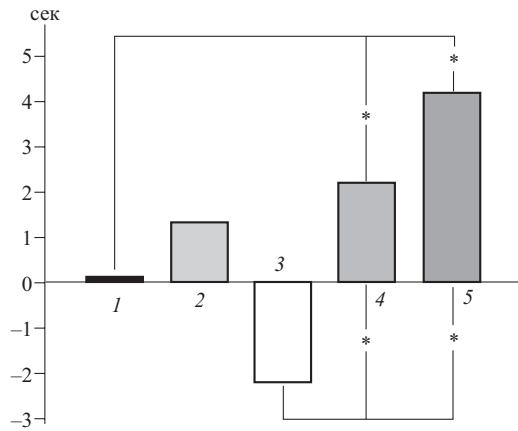


Рис. 1. Изменение латентного периода выхода из стартовой камеры при проверке сохранения условного пищедобывательного рефлекса в Т-образном лабиринте (по сравнению с четвертым днем обучения).

Здесь и на рис. 2: по оси ординат — разность между величиной регистрируемого показателя в 4-й день обучения и при проверке сохранения навыка. 1 — контроль, 2 — метилурацил, 3 — пирацетам, 4 — бетагемцил (10 мг/кг), 5 — бетагемцил (100 мг/кг). Звездочка — отличия достоверны ($p < 0,05$).

случаев, когда животное находит подкрепление в течение 3 мин пребывания в лабиринте).

В дни опыта животных кормили один раз в день непосредственно после эксперимента. Через 7 дней проводили тест на воспроизведение приобретенного навыка [1].

Выработка условного рефлекса пассивного избегания болевого раздражения (УРПИ).

Условный рефлекс пассивного избегания болевого раздражения (УРПИ) вырабатывали в камере размером $30 \times 22 \times 35$ см. Камеру устанавливали на решетчатый пол, соединенный с источником тока. Экспериментальная камера разделялась на 2 равных отсека

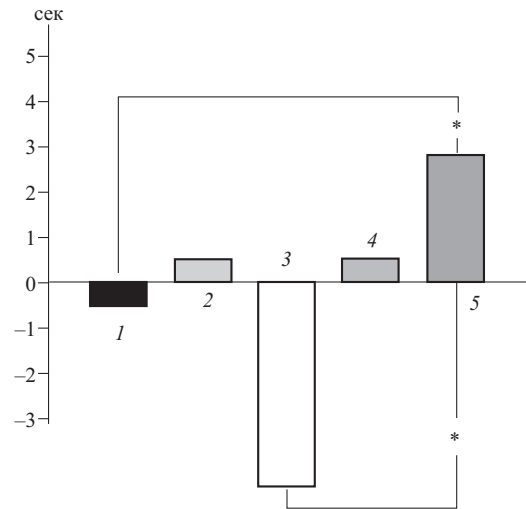


Рис. 2. Изменение времени реакции при проверке сохранения условного пищедобывательного рефлекса в Т-образном лабиринте (по сравнению с четвертым днем обучения).

Обозначения те же, что на рис. 1.

съемной перегородкой. Один отсек ярко освещался, второй был затемнен. В первый день эксперимента крысу помещали в освещенный отсек камеры и в течение 2 мин регистрировали время захода в затемненный отсек (латентный период, ЛП); время, проведенное в темном отсеке; количество переходов из отсека в отсек.

По истечении 2 мин перегородку опускали и на пол подавали электрический ток от стимулятора ЭСЛ-2 длительностью 3 с. Напряжение подбирали индивидуально для каждого животного в диапазоне 60 – 90 В. После отключения тока крысу оставляли в затемненном отсеке на 20 с. Через 3-е суток животное вновь помещали в светлый отсек камеры и в течение 2 мин регистрировали те же показатели [1].

Таблица 1. Параметры поведения крыс в “открытом поле” при первом тестировании (среднее \pm ст. кв. откл.)

Группа	Параметры					
	ГА	I	II	ВА	УМ	ДЕФ
<i>Первое тестирование</i>						
Контроль	36,9 \pm 7,3	1,2 \pm 0,6	0,8 \pm 0,4	8,3 \pm 5,8	2,3 \pm 1,2	3,4 \pm 2,5
Метилурацил, 100 мг/кг	36,7 \pm 14,2	1,3 \pm 1,2	0,4 \pm 0,7	5,8 \pm 3,5	1,8 \pm 1,4	3,7 \pm 2,5
Пирацетам, 100 мг/кг	39,5 \pm 11,4	1,4 \pm 1,0	0,6 \pm 0,5	8,2 \pm 3,2	1,3 \pm 1,5	2,7 \pm 1,7
Бетагемцил, 10 мг/кг	48,5 \pm 9,5*	2,4 \pm 1,3*	0,9 \pm 0,5	9,3 \pm 4,5	1,3 \pm 1,0	2,7 \pm 2,4
Бетагемцил, 100 мг/кг	40,3 \pm 11,6	1,5 \pm 1,2	0,8 \pm 0,9	7,5 \pm 3,8	2,1 \pm 2,0	3,2 \pm 2,8
<i>Повторное тестирование</i>						
Контроль	27,1 \pm 8,8	0,4 \pm 0,8	0,1 \pm 0,3	1,9 \pm 2,1	2,7 \pm 2,6	2,4 \pm 2,2
Метилурацил, 100 мг/кг	24,3 \pm 11,3	0,7 \pm 0,8	0,3 \pm 0,5	3,0 \pm 2,6	1,6 \pm 1,4	3,1 \pm 2,8
Пирацетам, 100 мг/кг	34,8 \pm 18,6	1,3 \pm 1,4	0,3 \pm 0,5	2,4 \pm 2,1	1,4 \pm 1,2	2,4 \pm 1,5
Бетагемцил, 10 мг/кг	35,8 \pm 15,5	2,0 \pm 1,5*	0,3 \pm 0,7	3,2 \pm 3,0	1,8 \pm 1,5	2,5 \pm 2,3
Бетагемцил, 100 мг/кг	25,7 \pm 16,3	0,8 \pm 1,3	0,1 \pm 0,3	1,8 \pm 1,4	1,4 \pm 1,6	1,5 \pm 1,8

Примечание. ГА — величина горизонтальной двигательной активности, I — число отходов от стенки arenas, II — число выходов в центр arenas, ВА — величина вертикальной двигательной активности, УМ — число умываний, ДЕФ — число дефекаций. Отличия от контроля статистически значимы при * — $p < 0,05$.

Таблица 2. Величины параметров поведения животных при выработке условной реакции пассивного избегания (среднее \pm ст. кв. откл.)

Группа	Параметр				
	Лат. период		Время в темн.		Количество переходов
	I день	II день	I день	II день	
Контроль	10,7 \pm 5,1	80,5 \pm 45,0	97,5 \pm 12,5	37,5 \pm 43,5	0,1 \pm 0,3
Метилурацил, 100 мг/кг	24,1 \pm 10,7*	53,2 \pm 47,7	79,5 \pm 12,4*	46,8 \pm 0,5	0,8 \pm 1,1
Пирацетам, 100 мг/кг	28,9 \pm 15,6*	65,5 \pm 47,1	74,7 \pm 17,8	38,5 \pm 41,0	0,8 \pm 1,1
Бетамецил, 10 мг/кг	23,9 \pm 17,2*	46,4 \pm 47,8	82,3 \pm 14,5	48,9 \pm 39,6	0,9 \pm 1,2*
Бетамецил, 100 мг/кг	21,7 \pm 14,0	50,1 \pm 50,4	80,4 \pm 23,5	54,6 \pm 43,1	1,0 \pm 1,3*

* Значимые отличия от контроля ($p < 0,05$).

При обработке результатов использовали стандартные методы статистического анализа. Вычисляли средние и стандартные статистические отклонения массивов данных. При сравнении характеристик массивов использовали параметрические (Стьюдента) и непараметрические (Вилкоксона, Фишера и др.) критерии. Названные операции и оценку форм распределений массивов осуществляли с помощью пакета статистических и графических программ STATGRAF.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование воздействия препаратов на ориентировочно-исследовательское поведение животных методом "открытого поля"

Изучение ориентировочно-исследовательской реакции животных и запоминания ими условий эксперимента проводили после 4-дневных инъекций препаратов.

Ориентировочно-исследовательская реакция (ОИР) животных, которым вводили метилурацил (100 мг/кг), пирацетам (100 мг/кг) и бетамецил (100 мг/кг), не отличалась от таковой у контрольных животных (табл. 1). Однако ОИР животных, которым вводили бетамецил в меньшей дозе (10 мг/кг) была значимо увеличена, о чем свидетельствовало возрастание горизонтальной компоненты двигательной активности и возрастание числа отходов от стенки арены. Последний факт может быть также следствием снижения оборонительной реакции, в результате чего животные активнее исследовали окружающую обстановку (табл. 1).

Через 3 дня после первого пребывания крыс в "открытом поле" их вторично помещали в те же экспериментальные условия (табл. 1). Снижение горизонтальной и вертикальной компонент двигательной активности и числа выходов в центр арены при повторном тестировании свидетельствует о запоминании животными экспериментальной обстановки. Однако ни одно из исследуемых веществ не оказывало значимого влияния на этот показатель. Эти данные можно объяснить следующим образом. Отсутствие улучшения запоминания под действием пирацетама и метилурацила вызвано тем, что препараты вводили в течение 7 дней до

испытания на запоминание. Однако для возникновения стойкого эффекта пирацетам и метилурацил вводят от 3 недель до 6 месяцев. Таким образом, нельзя ожидать выраженного ноотропного эффекта после 7 дней введения препарата. Что касается бетамецила, то скорее всего, семидневного введения этого препарата также недостаточно для проявления значимого эффекта. Кроме того, судя по данным, полученным при первом помещении крыс в "открытое поле", бетамецил способен существенно усиливать ОИР животных. Возможно, что это усиление двигательной активности, наблюдаемое и при повторном тестировании крыс в "открытом поле", маскирует появление ожидаемого ноотропного эффекта.

Исследование действия препаратов на выработку условной реакции пассивного избегания

Изучение влияния предварительного семидневного введения веществ на выработку условной реакции пассивного избегания (УРПИ) показало, что все исследуемые препараты значительно усиливают ориентировочно-исследовательскую реакцию, о чем свидетельствует увеличение времени пребывания в освещенном стартовом отсеке и числа переходов из отсека в отсек до предъявления болевого раздражителя в опытных группах по сравнению с контролем (табл. 2). Таким образом, можно заключить, что бетамецил в данном тесте действует однонаправленно и с такой же эффективностью как и препараты сравнения. Однако, наблюдающееся в тесте УРПИ так же, как и в тесте "открытое поле", увеличение ориентировочно-исследовательской реакции препятствует выявлению ноотропного действия всех исследованных препаратов.

Исследование действия препаратов на выработку условной пищедобывательной реакции в Т-образном лабиринте

Исследование действия веществ на обучение животных навыку пищевой поддержки в Т-образном лабиринте дало следующие результаты. Семикратное введение пирацетама, метилурацила и бетамецила приводило, как и при двух предыдущих методах, к возрастанию ориентировочно-исследовательской реакции. Вследствие этого во второй день эксперимента

у крыс в лабиринте наблюдалось преобладание исследовательской мотивации над пищевой. Это выражалось в увеличении латентного периода выхода из стартового отсека и времени реакции. Однако к 4-му дню обучения животные в опытных группах демонстрировали ту же степень обученности, что и контрольные животные.

Для выявления ноотропного эффекта веществ через 7 сут после окончания обучения проводили проверку сохранения выработанного навыка. В течение этих 7 дней продолжали ежедневное введение препаратов. Таким образом, к моменту проверки сохранения навыка каждое животное получило 18 инъекций.

Проверка сохранения выработанного рефлекса показала, что у контрольных животных и животных, которым вводили метилурацил и пирацетам, параметры, свидетельствующие об их обученности — латентный период выхода из стартового отсека и время выполнения реакции — не изменялись или несколько увеличивались. В то же время животные, которым вводили бетамецил в обеих дозах, продемонстрировали снижение латентного периода и времени реакции, что свидетельствует об усилении консолидации памятного следа под действием бетамецила (рис. 1, 2). Это улуч-

шение заметно не только при сравнении групп животных, получавших бетамецил, с контролем, но при сравнении их с группами, получавшими метилурацил и пирацетам (рис. 1, 2).

ВЫВОД

Бетамецил при хроническом введении в дозах 10 и 100 мг/кг улучшает сохранение ранее выработанного пищедобывательного рефлекса на место в Т-образном лабиринте.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Ю. Глазова, Е. А. Себенцова, Н. Г. Левицкая и др., Известия РАН., *сер. Биологическая*, № 4, 460 – 466 (2005).
2. Н. Б. Леонидов, Е. Б. Романенко, *Рос. хим. ж.*, **XLI**(5), 87 – 97 (1997).
3. С. А. Титов, А. А. Каменский, *Ж. высш. нервн. деят.*, **30**, вып. 4, 704 – 709 (1980).
4. Е. Б. Романенко, Н. Б. Леонидов, Б. Ф. Ванюшин, *Мол. биол.*, **29**(6), 1391 – 1397 (1995).
5. I. P. Ashmarin, V. N. Nezavibatko, N. G. Levitskaya, et. al., *Neuroscience Research Commun.*, **16**(2), 105 – 112 (1995).

Поступила 25.06.07

STUDYING THE NOOTROPIC EFFECTS OF BETAMECIL

E. B. Romanenko^{1, 2}, N. G. Levitskaya³, A. A. Kamenskii³, A. O. Lebedeva¹, N. B. Leonidov⁴

¹ Research Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315, Russia

² Belozersky Institute of Physicochemical Biology, Moscow State University, Moscow GSP-2, 119992, Russia

³ Department of Biology, Moscow State University, Moscow GSP-2, 119992, Russia

⁴ Ryazan State Medical University, Ministry of Public Health and Social Development of the Russian Federation, ul. Vysokovolt'naya 9, Ryazan, 390026, Russia

e-mail: romanen@belozersky.msu.ru

Comparative study of the effects of methyluracil and betamecil showed that a fourfold oral administration of betamecil in a dose of 10 mg/kg leads to a considerable increase in the orientation-and-search reaction in the open field test. This drug effect is retained for at least one week. Betamecil in doses of 10 and 100 mg/kg does not virtually alter the rate of conditioning of the food-seeking reflex with respect to the place in the T-shaped maze test (as compared to the control animals). However, certain acceleration of the learning process is observed as compared to the animals treated with methyluracil. The chronic administration of betamecil (for 18 days) results in improved preservation and reproduction of the previously conditioned food-seeking habit. Neither piracetam nor methyluracil produced such effects. The results suggest that betamecil in indicated doses exhibits a nootropic activity.