

Вплив похідного аза-15-краун-5 із ноотропною властивістю на обмін білків у різних відділах головного мозку і крові щурів

Т.Л. Карасьова*, Ж.М. Цапенко, С.С. Басок, К.Ю. Кулигіна, М.Г. Лук'яненко

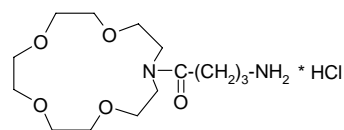
Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України
вул. Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна

Резюме. Вивчено вплив N-(γ -амінобутирил)аза-15-краун-5 (КЕ), який проявляє ноотропну активність, на обмін білків у різних структурах головного мозку і крові щурів, у порівнянні з пірацетамом. Встановлено, що КЕ здатний збільшувати вміст білків, активізувати синтез сумарних білків та їхніх фракцій у різних відділах головного мозку. Відзначено виражену активність включення ^3H -лейцину і ^{35}S -метіоніну в сумарні білки крові.

Ключові слова: пірацетам, N-(γ -амінобутирил)аза-15-краун-5, білки крові й мозку, ноотропна активність.

Вступ. На сьогодні зібрано значний фактичний матеріал, який вказує на те, що білки та нуклеїнові кислоти відіграють важливу роль у забезпеченні процесів пам'яті та навчання [1]. Численні літературні дані свідчать про стимулюючий вплив ноотропних препаратів (пірацетаму, анірацетаму тощо) на обмін білків у ЦНС [2]. Необхідність пошуку нових сполук ноотропної дії обумовлена недостатньою ефективністю, а також небажаними побічними ефектами існуючих засобів. Найбільш серйозним недоліком відомих ноотропів, зокрема пірацетаму, є підвищення судомної готовності [3]. Одним із підходів до створення психотропних засобів є об'єднання в одній молекулі фрагментів речовин, які володіють фармакологічною активністю (фармакофорів), з мембраноактивними макрогетероциклами, наприклад із краун-ефірами. У багатьох випадках це дозволяє змінити або поліпшити фармакологічну дію лікарських засобів [4]. У пошуках нових препаратів ноотропної дії синтезовано гідрохлорид N-(γ -амінобутирил)-1-аза-4,7,10,

13-тетраоксациклопентадекану (КЕ), в якому є аза-15-краун-5 ковалентно зв'язана γ -аміномасляна кислота [5].



Як показали попередні дослідження, КЕ поряд із вираженим ноотропним ефектом, який перевершує за деякими показниками такий у існуючих препаратів, відзначається більш широким спектром протигіпоксичних властивостей, вираженою анксиолітичною, антиагресивною та протисудомною дією [6]. Деякі дослідники вважають, що аферентна імпульсація, яка надходить у нервові клітини під час навчання, викликає або кількісну активацію синтезу РНК і білка, що може приводити до встановлення нових синаптичних зв'язків і перебудови існуючих, або наступну активацію синтезу нуклеїнових кислот і білка, що має цілеспрямований, специфічний характер, а синтезовані молекули є об'єктом зберігання пам'яті та інформації [7].

З огляду на це метою нашої наступної роботи було вивчення впливу N-(γ -амінобутирил)-аза-15-краун-5 на обмін білків у різних структурах головного мозку і крові щурів у порів-

*Corresponding author.
Tel./fax: +38048-7662044
E-mail address: tkaraseva1@gmail.com

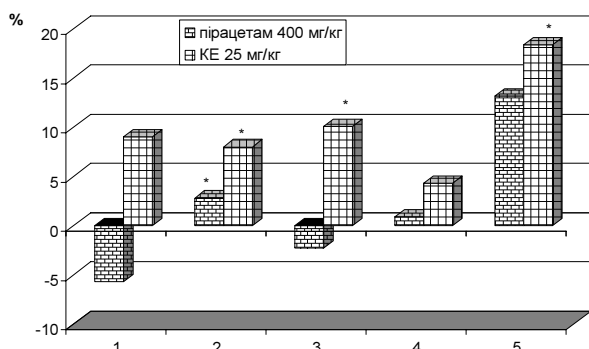


Рис. 1. Зміни питомого вмісту (%) сумарних білків відділів головного мозку інтактних щурів при 7-денному введенні пірацетаму і КЕ; * — $p \leq 0,05$; (1 — неокортекс, 2 — гіпокамп, 3 — мозочок, 4 — стовбур, 5 — гіпоталамус).

нянні з відомим ноотропним препаратом — пірацетамом.

Експериментальна частина. Досліди проводили на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 160–180 г тримісячного віку. Експериментальні тварини утримувалися в стандартних умовах на повноцінній дієті. Досліджувану сполуку і пірацетам (Фармацевтична фірма «Дарниця», м. Київ, Україна) розчиняли у фізіологічному розчині і вводили внутрішньочеревинно в дозах 25 і 400 мг/кг ваги відповідно протягом 7 днів. Контроль отримував фізіологічний розчин в об'ємі 2 мл. Швидкість синтезу білків оцінювали радіоізотопним методом із використанням як попередників ^3H -лейцину і ^{35}S -метіоніну (1,0 та 0,4 мкКюрі на кг ваги відповідно). Розчини мічених амінокислот вводили внутрішньочеревинно за 2,5 год до декапітації. Виділені з головного мозку структури гомогенізували у фізіологічному розчині. Шляхом центрифугування протягом 30 хв 1400 об/хв із гомогенату виділяли фракції водорозчинних

(ВР, надосадова рідина) і водонерозчинних (ВНР, осад) білків. Білки осаджували 10% трихлороцтовою кислотою та обробляли за модифікованою схемою [8]. Відмиті від нуклеїнових кислот і ліпідів білки піддавали лужному гідролізу. Радіоактивність білків визначали методом рідинного сцинтиляційного рахунку на лічильнику «Ракбетта» (ЛКБ, Швеція). Показниками швидкості синтезу білків служили їхня питома радіоактивність (розп/хв/мг білка) і відносна питома радіоактивність. Вміст білка визначали за методом Лоурі [9]. Статистичну обробку отриманих даних проводили з використанням критерію Ст'юдента [10]. Імовірність відмінності (p) вважали суттєвою при $p \leq 0,05$.

Результати й обговорення. Отримані дані свідчать про те, що субхронічне введення КЕ призводить до зростання вмісту сумарних білків у неокортексі, стовбурі, гіпокампі, мозочку та гіпоталамусі, тобто у всіх досліджуваних відділах головного мозку (рис. 1).

При введенні пірацетаму кількість сумарних білків зростає лише в гіпокампі і гіпоталамусі. Спрямованість та вираженість змін вмісту сумарних білків при введенні КЕ й пірацетаму в основному збігається з кількісними змінами у вмісті ВР і ВНР білків (рис. 2).

Першу фракцію складають білки, розчинні у воді (альбуміни), білків цієї групи в мозку дуже мало [11]. При введенні пірацетаму кількісний ріст вмісту ВР білків спостерігається в стовбурі й гіпоталамусі. У роботі [12] зазначено аналогічну дію пірацетаму на ВР білки для більшості відділів головного мозку, особливо неокортексу. Найбільш виражені зміни спостерігалися при введенні КЕ. Маємо значне

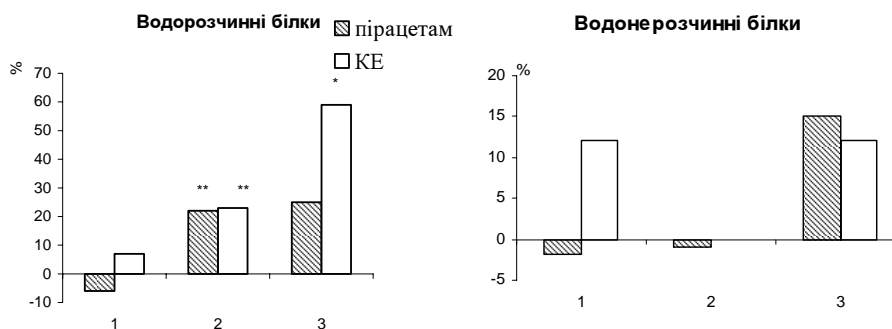


Рис. 2. Зміна питомого вмісту (%) білків у відділах головного мозку щурів у нормі при 7-денному введенні пірацетаму (400 мг/кг) і КЕ (25 мг/кг); * — $p \leq 0,05$; ** — $p \leq 0,01$ у порівнянні з контролем; (1 — мозочок, 2 — стовбур, 3 — гіпоталамус).

Таблиця 1

Відносна питома активність сумарних білків деяких відділів мозку щурів

* — $p \leq 0,05$ (в умовних одиницях)

Відділи мозку, речовина	ВПА ^{35}S -метіонін	% ефекту
КОРА		
Контроль	36,1±1,5	100
Пірацетам	41,2±1,4*	114*
КЕ	38,6±2,3	107
ГІПОКАМП		
Контроль	25,3±1,7	100
Пірацетам	30,7±2,9*	121*
КЕ	31,3±2,2*	124*

Примітка. * — $p \leq 0,05$.

збільшення ВР білків у стовбурі й гіпоталамусі на 22 і 60 % відповідно. Для другої фракції білків — ВНР (нейроглобуліни, нейростроміни) — спостерігали менш виражені зміни, але з аналогічною тенденцією — зростання їхнього вмісту при введенні КЕ (рис. 2). З літератури відомо, що пірацетам знижує загальну кількість ВНР білків на 30 %, у порівнянні з контролем [12]. Таким чином, під впливом КЕ і пірацетаму змінюються фізико-хімічні властивості білків різних відділів головного мозку. Здобуті в цій серії дослідів результати свідчать про те, що КЕ та пірацетам у ряду структур мозку викликають збільшення вмісту сумарних, ВР і ВНР білків. При цьому дія КЕ виявилася більш вираженою.

Розуміння особливостей білкового обміну в тканині головного мозку, а також значення механізмів численних процесів, в яких амінокислоти організму виступають як біологічні субстрати, представляє великий інтерес для розшифрування різних видів інтегративної діяльності, зокрема пам'яті й навчання [13]. Оскільки нами знайдено стимулюючий вплив КЕ і пірацетаму на рівень білків та їхніх фракцій, було доцільним дослідити швидкість обміну білків у різних відділах головного мозку за інтенсивністю включення мічених амінокислот-попередників (^3H -лейцину і ^{35}S -метіоніну) в сумарні білки та їхні фракції різних структур мозку і крові. Як об'єкт дослідження були обрані неокортекс та гіпокамп, оскільки відомо, що ці структури відповідають за навчання і пам'ять [11, 14].

Як свідчать отримані дані (табл. 1), застосування як пірацетаму, так і КЕ призводить до

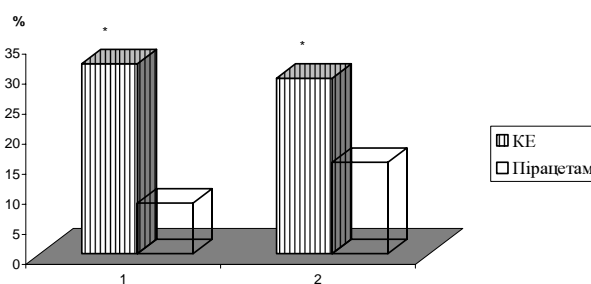


Рис 3. Зміна включення (%) ^{35}S -метіоніну (1) і ^3H -лейцину (2) в сумарні білки крові щурів, які одержували пірацетам (400 мг/кг) та КЕ (25 мг/кг) у порівнянні з контролем; * — $p \leq 0,01$.

значної активації синтезу білків у неокортексі і гіпокампі ЦНС тварин, при цьому зміни в корі при використанні пірацетаму, а також у неокортексі та гіпокампі при введенні обох препаратів були достовірно статистично значущі (у корі для пірацетаму — 14 %, а в гіпокампі для пірацетаму і КЕ — відповідно 21 і 24 %).

Одним із важливих джерел формування амінокислотних фондів тканини головного мозку є вільні амінокислоти крові. Згідно з літературними даними, рецептори до ГАМК знаходяться не тільки в мозку, а й у периферичних органах [15]. Дані про вихід амінокислот із мозку в циркулюючу кров викликають широкий інтерес для з'ясування особливостей білкового обміну в тканині нервової системи. Тому можна припустити, що КЕ діє і на метаболізм в інших органах. Для перевірки цього припущення оцінювали швидкість синтезу білків цільної крові, що включають як білки формених елементів, так і білки плазми. Результати цих експериментів подано на рис 3.

У самців, які отримували КЕ, відзначалася достовірна активація включення ^3H -лейцину і ^{35}S -метіоніну за питомою активністю в сумарні білки крові, що становить відповідно 30 і 32 %, у порівнянні з контролем. При цьому для пірацетаму спостерігалася лише тенденція до збільшення включення обох міток у сумарні білки крові. Виходячи з роботи [16] і раніше нами отриманих даних [17] про ГАМК-рецепторну природу КЕ, можна припустити, що КЕ, крім безпосередньої дії на ЦНС, активізує синтез білків і в периферичних органах (у системі кровотворення). Про це свідчить і той факт, що максимальний вміст препарату при пероральному та внутрішньовенному введеннях через

0,5 год, у порівнянні з іншими тканинами, виявлено саме в печінці та плазмі крові [18].

Висновки. Встановлено, що КЕ здатний викликати зміни білкового метаболізму мозку, збільшувати вміст білків у різних відділах головного мозку (неокортексі, гіпокампі, мозочку, гіпоталамусі), активізувати синтез білків як сумарних, так і окремих фракцій (водорозчинний, водонерозчинний) у корі і гіпокампі в інтактних тварин. Отримано нові дані про вплив пірацета-

му на швидкість включення ^{35}S -метіоніну в білки різних структур мозку. Показано, що краун-етер, окрім безпосередньої дії на ЦНС, активує синтез білків у периферичних органах (системі кровотворення). Відзначено виражену активність включення ^3H -лейцину і ^{35}S -метіоніну в сумарні білки крові, що може свідчити про периферичні ефекти КЕ.

Надійшла в редакцію 23.04.2010 р.

Influence of aza-15-crown-5 with nootropic activity on protein metabolism in various regions of rats brain and blood

T.L. Karaseva, G.N. Zapenko, S.S. Basok, K.Yu. Kulygina, N.G. Luk'yanenko

A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of National Academy of Sciences of Ukraine
86, Lustdorf'ska doroga, Odesa, 65080, Ukraine

Summary. The influence of crown-ether (CE), possessing nootropic activity on the protein metabolism in various structures of mice brain and rats blood in comparison with piracetam were studied. It was found, that CE was able to increase the protein content, to activate the synthesis of total protein and its fractions in different regions of brain. The distinct inclusion of ^3H -leucin and ^{35}S -methionine in total content of blood proteins were found.

Keywords: piracetam, N-(γ -aminobutyl)aza-15-crown-5, proteins of blood and brain, nootropic activity.

Перелік літератури

1. Головенко М.Я., Вороніна Т.О., Карасєва Т.Л., Шарапова С.Е. Біохімічна фармакологія ноотропних засобів // Вісн. АН УССР. — 1988. — № 12. — С. 34-43.
2. Ahmed H., Robert E. Piracetam defines a new binding site for allosteric modulators of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid (AMPA) receptors // J. Med. Chem. — 2010. — Vol. 53. — P. 2197-2303.
3. Geronikaki A.A., Dearden J.C., Filimonov D., Galaeva I., Garibova T.L., Glorizova T., Krajneva V., Lagunin A., Maseev F.Z., Molodavkin G., Poroikov V.V., Pogrebnoi S.I., Shepeli F., Voronina T.A., Tsitlakidou M., Vlad L. Design of new cognition enhancers: from computer prediction to synthesis and biological evaluation // J. Med. Chem. — 2004. — 47. — P. 2870-2876.
4. Карасєва Т.Л., Басок С.С., Лук'яненко Н.Г. Поиск новых веществ с ноотропной активностью в ряду N-замещенных азокраун-эфиров // Украинский химический журнал. — 1999. — Т. 65, № 10. — С. 104-111.
5. Пат. 7121 Україна, МКІ С 07 Д 273/01. N-(γ -амінобутирил)-1-аза-4,7,10,13-тетраоксациклопентадекан — гідрохлорид, що має антиамнестичну, антигіпоксичну та протисудомну активність. О.В. Богатський, М.Г. Лук'яненко, Т.О. Вороніна, М.Я. Головенко, Т.Л. Гарібова, Т.Л. Карасєва, С.Е. Тимофєєва, С.С. Басок, А.А. Вальдман, С.Б. Середені, Ю.А. Александровський, Б.І. Любімов (Україна). Заявл. 01.06.84; Опубл. 30.06.95. — Бюл. № 2. — 8 с.
6. Карасєва Т.Л. Макрогетероциклы — новые соединения с нейропсихотропной активностью: дисс. ... докт. биол. наук — Одесса, 1992. — 350 с.
7. Gorzelanczyk E.J., Wozniak P.A. Neuronal mechanisms of memory. Book Review. — Cambridge University Press, 2001. — 490 p.
8. Шихов С.Н. Особенности высшей нервной деятельности и деятельности белков в мозге животных, перенесших внутриутробное воздействие этанола: дисс. ... канд. биол. наук. — Москва, 1989. — 22 с.
9. Lowry O.H., Rosenbrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurements with folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 193. — P. 265-275.
10. Локач С.Н., Чубенко А.В., Бабич П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. 2-е изд. перераб. и доп. — К.: Морион, 2001. — 408 с.
11. Николлс Дж.Г., Мартин А.Р., Валлас Б.Дж., Фукс Г.А. От нейрона к мозгу. — Москва, 2003. — 671 с.
12. Каркищенко Н.Н. Психотропность: общность и различия психотропных средств // Сб. Экспериментальная и клиническая фармакология нейропсихотропных средств. — Ростов-на-Дону: Рост. мед. институт, 1985. — С. 5-23.
13. Воронина Т.А. Фармакология ноотропов. — М.: Сб. тр. науч.-исслед. Института фармакологии АМН СССР, 1989. — С. 8-19.
14. Карасєва Т.Л., Попова Л.В., Костенко Е.А., Соболева С.Г., Павловский В.И., Битенский В.С., Андронати С.А. Нейрофармакология ноотропных средств // Вісник психіатрії та психофармакотерапії. — 2006. — № 1 (9). — С. 13-18.
15. Casellas P., Galiege S., Basile A. Peripheral benzodiazepine receptors and mitochondrial function // Neurochemistry International. — 2002. — Vol. 40. — P. 475-486.
16. Гордей М.Л. Фармакогенетическое изучение эффектов и механизма действия нового производного ГАМК-соединения С-3: автореф. дисс... канд. мед. наук. — М., 1990. — 24 с.
17. Карасєва Т.Л., Цапенко Ж.Н., Головенко Н.Я., Тимофєєва С.Э., Лук'яненко Н.Г. Обмен гамма-аминомасляной кислоты в головном мозге крыс в условиях введения им ноотропных средств // Вопр. мед. хим. — 1988. — № 3. — С. 81-84.
18. Плотникова Е.К. Метаболизм и биокинетика аза-15-краун-5, модифицированного ^3H - и ^{14}C -аминокислотами: автореф. дисс. ... канд. хим. наук. — Одесса, 1986. — 19 с.