

## ОРИГИНАЛЬНЫЙ НООТРОПНЫЙ И НЕЙРОПРОТЕКТОРНЫЙ ПРЕПАРАТ НООПЕПТ УСИЛИВАЕТ ПРОТИВОСУДОРОЖНУЮ АКТИВНОСТЬ ВАЛЬПРОАТА У МЫШЕЙ

Е. В. Кравченко<sup>1</sup>, И. В. Понтелеева<sup>1</sup>, С. С. Трофимов<sup>2</sup>, В. И. Лапа<sup>2</sup>,  
Р. У. Островская<sup>2</sup>, Т. А. Воронина<sup>2</sup>

Изучено влияние оригинального дипептидного препарата ноопепта, обладающего ноотропной, нейропротекторной и анксиолитической активностью, на выраженность противосудорожного эффекта антиэпилептического средства вальпроата на модели судорог, вызванных коразолом у мышей. Ноопепт (0,5 мг/кг внутрибрюшинно) ни при однократном, ни при повторном воздействии (10 или 35 дней) не усиливал судорожный эффект коразола, что позволяет предполагать отсутствие у препарата проконвульсивных свойств. Это составляет преимущество ноопепта перед пираретамом, который усиливает судорожную готовность. При длительном (5-недельном) предварительном воздействии ноопепт усиливал противосудорожный эффект вальпроата. Проведенное исследование может служить экспериментальным обоснованием целесообразности курсового применения ноопепта совместно с вальпроатом с целью усиления противосудорожных свойств последнего, а также благоприятного влияния на когнитивные функции и замедления прогрессирования нейродегенеративных процессов.

**Ключевые слова:** судороги, эпилепсия, ноопепт, вальпроат, ноотропные средства

### ВВЕДЕНИЕ

Эпилепсия — неврологическое заболевание, характеризующееся периодически возникающими припадками различного характера вследствие патологически повышенной возбудимости тех или иных структур мозга. Действие большинства противоэпилептических лекарственных средств сопровождается рядом побочных эффектов, к числу которых относится нарушение основных когнитивных функций — внимания, памяти, восприятия, способности к принятию решения. Ухудшение когнитивных показателей наблюдается при использовании не только противоэпилептических препаратов первой генерации — фенобарбитала, фенитоина, но и вошедшего в практику позднее вальпроата [13] и новых препаратов триагабина, топирамата [8].

Для лечения когнитивных расстройств сосудистого, травматического, интоксикационного генеза применяют ноотропные препараты, чаще всего родоначальник этого класса, пираретам. Однако применение пираретама при эпилепсии противопоказано в связи с вызываемым препаратом повышением судорожной готовности [3].

В НИИ фармакологии разработан оригинальный дипептидный препарат ноопепт (этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицина), для которого в эксперименте выявлено сочетание ноотропного и анксиолитического эффектов [10, 14, 15]. Последующее клиническое изучение этого препарата на больных с когнитивной недостаточностью церебро-васкулярного и посттравматического генеза подтвердило наличие указанных видов активности [4].

Одним из наиболее широко применяемых в настоящее время противосудорожных средств является вальпроат, используемый при лечении 75 – 95 % пациентов с большими и малыми судорожными припадками и миоклонус-эпилепсией [2]. Ранее была показана способность ноотропного и нейропротекторного препарата мексидола усиливать противосудорожное действие вальпроата [1].

Целью настоящей работы являлась оценка влияния ноопепта на выраженность противосудорожного эффекта вальпроата на модели судорог, вызванных коразолом. Поскольку ноопепт, как и другие ноотропные препараты, применяется в условиях однократного введения и курсов различной длительности, в задачи работы входило изучение эффектов ноопепта в условиях его однократного и повторного кратковременного (10-дневного) и длительного (35-дневного) введения.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

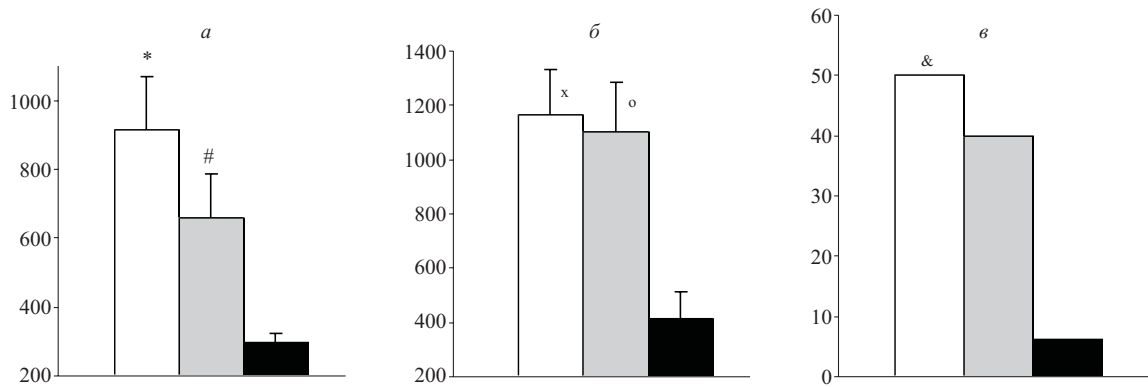
Работа выполнена на половозрелых беспородных половозрелых белых мышах-самцах, массой тела в начале эксперимента 20 – 24 г (возраст 2 – 3 месяца). Животные получали комбикорм и воду *ad libitum*. Соблюдались Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных от 22.06 1998 (N 86-ФЗ).

Исследования проведены в два этапа. В первой серии экспериментов исследовали зависимость доза/эффект для судорожного действия коразола и противосудорожного действия вальпроата. Коразол (“Sigma”, США) вводили подкожно в дозах 50, 75 и 100 мг/кг. На протяжении 30 мин визуально регистрировали латентный период наступления и продолжительность судорожных припадков, число животных с судорожной реакцией различной степени тяжести и летальность (в процентах от общего числа особей в группе). Оценку тяжести судорожных реакций осуществляли в баллах: 1 балл — миоклонические вздрагивания; 2 — редкие клонические судороги всего тела; 3 — серия клонических судорог всего тела или клонические судороги передних конечностей; 4 — клонико-тонические судороги с подъемом на задние конечности; 5 — клонико-тонические судороги с падением животного на бок; 6 — повторные клонико-тонические судороги и/или смерть. Вальпроат (Convulex, “Gerot Pharmazeutika GmbH”) вводили внутрибрюшинно в дозах 50, 150, 200, 250 и 300 мг/кг за 30 мин до коразола; оценивали способность вальпроата влиять на латентный период развития судорог, их выраженность, количество животных (в %), продемонстрировавших судороги, и долю летальных исходов.

Во второй серии, используя подобранные на первом этапе дозы коразола и вальпроата, исследовали влияние, оказываемое самим ноопептом на выраженность судорожного эф-

<sup>1</sup> ГУ НПЦ Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси, Минск, 220141, ул. Академика В. Ф. Купревича, 2.

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



Ноопепт в условиях его предварительного (в течение 35 дней) введения усиливает защитное действие вальпроата в отношении выраженности генерализованных клонико-тонических судорог, индуцированных коразолом.

По оси ординат: а — латентный период судорожных припадков со степенью тяжести 4 балла, с; б — латентный период судорожных припадков со степенью тяжести 5 и 6 баллов, %.

Светлые столбики: ноопепт + вальпроат + коразол; серые — вальпроат + коразол; темные — дистиллированная вода + коразол (контроль). Статистическая значимость различий с контролем: \* —  $H = 20,39$ ,  $Q' = 4,37$ ,  $p < 0,05$ ; # —  $H = 20,39$ ,  $Q' = 3,18$ ,  $p < 0,001$ ; x —  $H = 13,11$ ,  $Q' = 3,13$ ,  $p < 0,05$ ; ° —  $H = 13,11$ ,  $Q' = 2,63$ ,  $p < 0,05$  (ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса с post-hoc анализом по критерию Данна для множественных сравнений); & —  $p = 0,015$  (точный критерий Фишера).

факта коразола, и влияние премедикации ноопептом на выраженность защитного эффекта вальпроата в отношении коразоловых судорог. Эксперименты второй серии выполнены на восьми группах животных. Мышам группы 1 вводили коразол в дозе 75 мг/кг подкожно. Группу 2 составили мыши, которым за 30 мин до коразола вводили вальпроат в дозе 240 мг/кг внутривенно. Влияние ноопепта на выраженность судорожного эффекта коразола изучали в трех группах, в которых препарат вводили в дозе 0,5 мг/кг внутривенно однократно за 30 мин до коразола (группа 3) или повторно так, что последняя инъекция ноопепта осуществлялась за 30 мин до коразола: в течение 10 (группа 4) или 35 дней (группа 5). Влияние ноопепта на противосудорожное действие вальпроата исследовали в трех группах: группа 6 (однократное действие ноопепта), группа 7 (10-дневное действие ноопепта) и группа 8 (35-дневное действие ноопепта). В этих группах в день тестирования мышам за 30 мин до коразола проводили последнюю инъекцию ноопепта и одновременно вводили вальпроат.

Для увеличения сходства условий эксперимента для животных в группах 1, 2, 3, 4 и 6, 7, где предварительное введение ноопепта было короче (меньше 35 дней), чем в группах 5 и 8, мышам вместо ноотропа предварительно вводили воду: в группах 1, 2, 3, 6 — в течение 34 дней, в группах 4 и 7 — в течение 25 дней.

Статистическую обработку проводили по алгоритмам программ Statistica 6.0, Biostat, Excel-2000, Stat Plus 2007 Portable. При соответствии показателей критериям “нормальности” применяли однофакторный дисперсионный анализ ANOVA. В противном случае использовали ранговый однофакторный анализ Крускала-Уоллиса с последующим множественным сравнением с помощью критерия Данна. Результаты представлены в виде  $M \pm S. E. M$  (Mean  $\pm$  Standard Error of Mean). Анализ качественных признаков проводили с использованием точного критерия Фишера. Величину ЭД<sub>50</sub> и ее доверительные интервалы вычисляли методом наименьших квадратов с использованием пробит-анализа.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии экспериментов показано, что ЭД<sub>50</sub> коразола, вызывающая судороги со степенью тяжести 4 балла и выше, составляет 74,5 (66  $\div$  82) мг/кг. Вальпроат предупреждает коразоловые клонико-тонические судороги. ЭД<sub>50</sub> вальпроата, предотвращающая развитие судорог со степенью тяжести 4 балла и выше, составляет 238,7 (205,1  $\div$  272,2) мг/кг.

Исходя из результатов первой серии экспериментов, во второй серии использовали округленные дозы препаратов: 75 мг/кг для коразола и 240 мг/кг для вальпроата. Как следует из данных, приведенных в таблице, сам ноопепт ни в условиях однократного (группа 3), ни 10- (группа 4) или 35-дневного введения (группа 5) достоверно не влиял на выраженность судорожного эффекта коразола.

Результат комбинированного применения ноопепта и вальпроата зависел от длительности предварительного воздействия ноотропа. После однократного (группа 6) и 10-дневного применения ноопепта (группа 7) противосудорожный эффект вальпроата достоверно не изменялся. Однако после 35-дневного воздействия (группа 8) ноопепт усилил проти-

### Влияние ноопепта, вальпроата и их комбинации на судороги, вызванные коразолом у мышей

№ группы	Судорожные припадки		Смертность, %
	Латентный период, с	Общее число	
1 (n = 16)	295,8 $\pm$ 26,8	2,5 $\pm$ 0,3	50
2 (n = 15)	488,1 $\pm$ 47,6*	2,3 $\pm$ 0,3	33,3
3 (n = 24)	269,4 $\pm$ 35,2	2,2 $\pm$ 0,2	56,7
4 (n = 18)	275,0 $\pm$ 37,2	2,4 $\pm$ 0,3	57,8
5 (n = 19)	239,0 $\pm$ 32,3	2,2 $\pm$ 0,3	54,8
6 (n = 20)	352,4 $\pm$ 47,3	2,1 $\pm$ 0,2	55,0
7 (n = 18)	392,0 $\pm$ 35,7	2,0 $\pm$ 0,3	44,4
8 (n = 16)	646,5 $\pm$ 96,7*	1,4 $\pm$ 0,2*	6,3 <sup>#</sup>

**Примечание.** Различия значимы в сравнении с группой 1: \* —  $p < 0,05$ , критерий Крускала-Уоллиса с post-hoc анализом по Данну; # —  $p < 0,05$ , критерий Фишера; n — число животных в группе.

васодилаторные свойства вальпроата. Как следует из данных, приведенных на рисунке, увеличился латентный период припадков со степенью тяжести 4, 5 и 6 баллов, повысилась доля животных, защищенных от тяжелых судорожных припадков. Под влиянием длительной терапии ноопептом вырос латентный период начала судорожного припадка, снизилось общее число припадков и частота смертельных исходов (таблица).

Таким образом, в результате выполненных экспериментов выявлены два принципиально важных свойства ноопепта. Во-первых, показано, что препарат ни при однократном, ни при повторном введении не усиливает судорожный эффект коразола. Указанный факт позволяет прогнозировать отсутствие у ноопепта проконвульсивных свойств, что составляет существенное преимущество его перед пираретамом. Во-вторых, установлено, что в условиях длительного (5-недельного) введения ноопепт усиливает противосудорожное действие вальпроата. Это позволяет предполагать возможность совместного использования ноопепта и вальпроата с целью лечения больных с фармакорезистентными формами эпилепсии, для которых монотерапия вальпроатом недостаточно эффективна. При этом следует учесть, что ноопепт обладает выраженным нейропротекторным действием, реализация которого связана с наличием антиоксидантной активности, ослаблением токсических эффектов глутамата и избыточного внутриклеточного кальция и с противовоспалительным действием [5]. Такая совокупность нейропротекторных механизмов может замедлить прогрессирование нейродегенеративных процессов в рамках эпилепсии.

Предполагаемый механизм синергистических взаимодействий ноопепта и вальпроата может включать несколько компонентов. Известно, что вальпроат, угнетая  $\alpha$ -кетоглутарат-ГАМК-трансаминазу и вызывая, таким образом, накопления ГАМК, ведет к усилению тормозных процессов [12]. Ноопепт усиливает пресинаптические эффекты ГАМК [6]. Наряду с этим как вальпроат [11], так и ноопепт [7] снижают высвобождение глутамата, что также ведет к снижению судорожной готовности. Хотя многокомпонентные механизмы возможных синергистических взаимоотношений вальпроата и ноопепта нуждаются в дальнейшем изучении, очевидно, что проведенное исследование может служить экспериментальным обоснованием целесообразности курсового применения ноопепта совместно с вальпроатом в расчете на усиление противосудорожных свойств вальпроата, предотвращение углубления когнитивного дефицита и замедление прогрессирования нейродегенеративных процессов, свойственных эпилепсии.

## ВЫВОДЫ

1. Ноопепт в условиях однократного и повторного (10- и 35-дневного) введения не влияет на выраженность судорожного эффекта коразола.
2. Ноопепт в условиях длительного (35-дневного) введения усиливает противосудорожную активность вальпроата на модели коразоловых судорог.
3. Исследование может служить экспериментальным обоснованием целесообразности курсового применения ноопепта совместно с вальпроатом с целью усиления противосудорожных свойств последнего а также благоприятного влияния на когнитивные функции и замедления прогрессирования нейродегенеративных процессов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Т. А. Воронина, М. И. Стойко, Л. Н. Неробкова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(1), 15 – 18 (2002).
2. Л. Р. Зенков, А. Г. Притько, *Фармакорезистентные эпилепсии*, “Москва, МЕД-пресс”, Москва (2003).
3. Д. И. Малин, *Побочное действие психотропных средств*, “Вузовская книга”, Москва (2000).
4. Г. Г. Незнамов, Е. С. Телешова, С. А. Сюняков и др., *Психиатрия и психофармакотерапия*, **9**(2), 26 – 32 (2007).
5. Р. У. Островская, Т. А. Гудашева, Т. А. Воронина, С. Б. Серединин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **65**(5), 66 – 72 (2002).
6. В. Г. Скребицкий, Н. А. Капай, В. И. Деревягин и др., *Анналы неврологии*, **2**(2), 23 – 27 (2008).
7. К. С. Ус, П. М. Клодт, В. С. Кудрин и др., *Нейрохимия*, **23**(2), 122 – 126 (2006).
8. N. Fritz, S. Glogau, J. Hoffman, et al., *Epilepsy Behav.*, **6**(3), 373 – 381 (2005).
9. W. Fischer, H. Kittner, R. Regenthal, et al., *J. Neural. Transm.*, **111**(9), 1121 – 1139 (2004).
10. Т. А. Гудашева, Т. А. Воронина, and R. U. Ostrovskaya, *Eur. J. Med. Chem.*, **31**(2), 151 – 157 (1996).
11. Z. P. Li, X. Y. Zhang, X. Lu, et al., *J. Neurochem Int.*, **44**(4), 263 – 270 (2004).
12. W. Loscher, *CNS Drugs*, **16**(10), 669 – 694 (2002).
13. K. J. Meador, D. W. Loring, E. E. Moore, et al., *Neurology*, **45**, 1494 – 1499 (1995).
14. R. U. Ostrovskaya, T. A. Gudasheva, S. S. Trofimov, E. V. Kravchenko, et al., *Biological Basis of individual Sensitivity to Psychotropic Drugs*, S. B. Seredenin, et al. (eds.), 1994, Graffham Press Ltd. 6, York Place-Edinburgh, UK. p. 79 – 91.
15. S. B. Seredenin, T. A. Voronina, T. A. Gudasheva, et al., 1995. US patent, № 5.439.930.

Поступила 09.06.09

## THE ORIGINAL NOOTROPIC AND NEUROPROTECTIVE DRUG NOOPEPT POTENTIATES THE ANTICONVULSANT ACTIVITY OF VALPROATE IN MICE

E. V. Kravchenko<sup>1</sup>, I. V. Ponteleeva<sup>1</sup>, S. S. Trofimov<sup>2</sup>, V. I. Lapa<sup>2</sup>, R. U. Ostrovskaya<sup>2</sup>, and T. A. Voronina<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Institute of Pharmacology and Biochemistry, National Academy of Sciences of Belarus, ul. Akademika Kuprevicha 2, Minsk, 220141, Belarus

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

The influence of the original dipeptide drug noopept, known to possess nootrope, neuroprotector, and anxiolytic properties, on the anticonvulsant activity of the antiepileptic drug valproate has been studied on the model of corazole-induced convulsions in mice. Neither a single administration of noopept (0.5 mg/kg, i.p.) nor its repeated introduction in 10 or 35 days enhanced the convulsant effect of corazole, which is evidence that noopept alone does not possess anticonvulsant properties. Prolonged (five weeks) preliminary administration of noopept enhanced the anticonvulsant activity of valproate. This result justifies the joint chronic administration of noopept in combination with valproate in order to potentiate the anticonvulsant effect of the latter drug. In addition, the administration of noopept favorably influences the cognitive functions and suppresses the development of neurodegenerative processes.

**Key words:** Convulsions, epilepsy, noopept, valproate, nootropic drugs