

И. Г. Николаева^{1, 2}, Л. Д. Дымшеева², С. М. Николаев^{1, 2},
Г. Г. Николаева^{1, 2}

АМИНОКИСЛОТНЫЙ СОСТАВ И НООТРОПНЫЕ СВОЙСТВА ПОЛИНООФИТА

¹ Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, Улан-Удэ, Россия;

² Бурятский государственный университет, Улан-Удэ, Россия

В эксперименте на животных установлена ноотропная активность растительного средства “Полиноофит”. Определен аминокислотный состав полученного средства. Обнаружено значительное содержание аспарагиновой кислоты, аспарагина, глутаминовой кислоты, глутамина, пролина, цистина, метионина, лейцина, γ -аминомасляной кислоты, аланина, аргинина. Обнаружено 19 аминокислот, из них 7 незаменимых.

Ключевые слова: полиноофит, ноотропная активность, аминокислотный состав.

Комплексное средство растительного происхождения “Полиноофит”, обладающее ноотропной активностью, содержит комплекс биологически активных веществ: флавоноиды (гиперозид, кверцетин, кемпферол, изокверцитрин, байкалин, апигенин, лютеолин, гесперидин, нарингенин, мирицетин и др.), дубильные вещества, полисахариды, тритерпеноиды, органические кислоты, галловую кислоту, витамин С и др., обеспечивающие широкий диапазон фармакологического воздействия [1].

Целью настоящего исследования явилось изучение аминокислотного состава и ноотропной активности фитоэкстракта полиноофита.

Экспериментальная химическая часть

Исследование аминокислотного состава проводили на аминокислотном анализаторе ААА 339 (Чехия). Исходный растительный сбор исчерпывающе экстрагировали горячей водой (извлечение 1) и 40 % этиловым спиртом (извлечение 2). Извлечения 1 и 2 фильтровали, упаривали досуха в вакууме. Для определения свободных аминокислот сухие остатки (точные навески) растворяли в цитрат-литиевом буферном растворе (рН 2,2), осаждение белков проводили 30 % раствором сульфосалициловой кислоты, образцы центрифугировали и анализировали. Связанные аминокислоты определяли после кислотного гидролиза 6 Н раствором кислоты соляной при 110 °С в течение 24 ч.

Экспериментальная фармакологическая часть

Эксперименты выполнены на белых крысах линии Вистар обоего пола с исходной массой 170 – 200 г. Деалкоголизованный экстракт полиноофита вводили внутривентрикулярно через зонд в объемах 0,1; 0,3 и 0,5 мл/100 г массы животного 1 раз в сутки в течение 4 дней и 5-й раз за 1 ч до тестирования. В качестве препарата сравнения использовали пирацетам в дозе 200 мг/кг [2]. Во всех экспериментах животные контрольной группы получали дистиллированную воду в эквивалентном объеме по аналогичной схеме.

Ноотропное действие экстракта изучали как у интактных животных, так и на модели экспериментальной амнезии.

У интактных крыс изучали влияние полиноофита на выработку условного рефлекса с положительным подкреплением в Т-образном лабиринте [3]. Крыс, подвергшихся 48-часовой пищевой депривации, помещали в стартовый отсек Т-образного лабиринта, в одном из рукавов которого помещали кормушку с пищей. Через 30 с после посадки открывали дверцу стартового отсека. Щелчок открывания дверцы служил условным раздражителем. В первый день животных помещали на 1 ч в лабиринт для угашения ориентировочной реакции. В последующие 4 дня проводили обучение, причем каждое животное помещали в лабиринт 5 раз подряд, в каждый день обучения регистрировали время побежки животного от стартового отсека до кормушки, число правильных и неправильных побегов. Критерием выработки рефлекса являлись 8 правильных побегов из 10 предъявляемых. В качестве пищевого подкрепления использовали семена подсолнуха. В опытах фиксировали следующие показатели: время реакции (время между выходом из стартовой камеры и взятием пищи); число выполненных реакций (число случаев, когда животное находило подкрепление в течение 3 мин тестирования); число ошибок (число заходов в противоположный требуемому отсек).

Также изучали влияние фитоэкстракта на выработку условной реакции зрительной дифференцировки (УРЗД) у интактных животных на основе различения зрительных сигналов с отрицательным подкреплением (электрокожное раздражение лап (ЭКР)). УРЗД осуществляли помещением животных в 1 из отсеков У-образного лабиринта. Через 5 с в случайном порядке включали свет в одном из 2 других отсеков на 5 с, после чего через электродный пол наносили на лапы животного ЭКР. Условную реакцию считали выработанной в том случае, если животное совершало 5 правильных побегов подряд в освещенный отсек лабиринта, выполненных до нанесения ЭКР. Регистрировали количество проб, затраченных на обучение до

первого правильного ответа, до критерия обучения, время поиска “безопасного” отсека, время выполнения реакции в секундах.

Влияние полиноофита на нарушения когнитивных функций у крыс изучали по сохранности условного рефлекса пассивного избегания (УРПИ) в условиях моделирования амнезии, вызванной максимальным электросудорожным шоком (МЭШ).

МЭШ наносили через электроды, наложенные на поверхность ушных раковин (80 мА, экспозиция 0,2 – 0,5 с). Током воздействовали на животных контрольной и опытных групп непосредственно после обучения (т.е. после выработки условного рефлекса), крысы интактной группы не подвергались воздействию МЭШ [4]. Проверку сохранности выработанного рефлекса у животных проводили через 1 ч, 24 ч, 7 сут.

Результаты и их обсуждение

Результаты исследования аминокислотного состава полиноофита представлены в табл. 1 и 2.

Как следует из представленных в табл. 1 и 2 данных, разработанное ноотропное средство богато аминокислотами. Отмечается значительное содержание аспарагиновой кислоты, аспарагина, глутаминовой кислоты, глутамина, пролина, цистина, метионина, лейцина, γ -аминомасляной кислоты, аланина, аргинина. Обнаружено 19 аминокислот, из них 7 — незаменимых.

Результаты исследований показали, что при обучении в Т-образном лабиринте белых крыс, получавших полиноофит в объемах 0,1; 0,3 и 0,5 мл/100 г массы,

на 10-й день обучения у них сокращается время достижения от старта до кормушки (на 16, 33 и 56 % соответственно) (табл. 3). Кроме того, при курсовом введении исследуемого экстракта в тех же объемах на 4 и 10 дни обучения пищедобывательный навык вырабатывается у большего количества животных.

Введение пиретама вызывает уменьшение времени выполнения реакции на 37 %, выработку рефлекса на 4 день у 40 % крыс, на 10 день — у всех животных в группе.

При воспроизведении рефлекса после недельного перерыва сохранность памятного следа в группе животных, получавших экстракт в объеме 0,5 мл/100 г массы, наблюдается у всех животных, во всех остальных группах этот показатель составляет 50 %.

Таким образом, данный экстракт во всех исследуемых объемах оказывает положительное воздействие на процессы обучения и памяти у интактных крыс. При этом наиболее выраженный эффект, сопоставимый с эффектом пиретама, отмечался при использовании полиноофита в объеме 0,5 мл/100 г массы.

При изучении влияния экстракта полиноофит на выработку УРЗД у интактных животных на основе различения зрительных сигналов (свет) с отрицательным подкреплением выявлено, что курсовое введение исследуемого средства в объемах 0,3 и 0,5 мл/100 г массы улучшает у них формирование УРЗД. Так, у животных этих групп уменьшается количество проб, необходимых для первого правильного поведенческого ответа на зрительный раздражитель (на 13 и 40 % соответственно). Также экстракт существенно стимулирует запоминание до критерия обучения (5 правильных победок), количество необходимых проб сокращается на 21 и 45 % соответственно.

Таблица 1

Содержание аминокислот в полиноофите

Аминокислота	Содержание аминокислот, мкг/г	
	Высушенное водное извлечение сбора	Высушенное спиртовое извлечение сбора
Аспарагиновая кислота	1360,42	404,49
Треонин *	348,25	277,38
Серин	403,37	333,38
Аспарагин	2968,3	1162,4
Глутаминовая кислота	1294,33	904,81
Глутамин	3178,24	1550,60
Пролин	9347,5	9258,1
Глицин	80,9	54,5
Аланин	787,5	641,3
Валин *	513,3	376,8
Цистин	3464,9	2436,2
Метионин *	1449,8	1005,0
Изолейцин *	319,1	309,1
Лейцин *	704,3	441,8
Тирозин	146,8	124,9
Фенилаланин *	216,3	178,6
γ -Аминомасляная кислота	519,1	311,7
Орнитин	47,2	42,3
Лизин *	84,5	81,7
Аргинин	1737,5	1389,1

Здесь и далее * — незаменимые кислоты.

Таблица 2

Содержание связанных аминокислот (после кислотного гидролиза) в полиноофите

Аминокислота	Содержание аминокислот, мкг/г	
	Высушенное водное извлечение сбора	Высушенное спиртовое извлечение сбора
Лизин*	365,5	130,1
Гистидин	268,5	71,4
Аргинин	2586,9	2362,2
Аспарагиновая кислота	4252,6	2721,9
Треонин*	693,2	175,1
Серин	931,2	388,87
Глутаминовая кислота	5704,5	3221,49
Пролин	8143,3	7231,7
Глицин	1031,9	419,8
Аланин	1139,6	674,5
Валин*	895,8	863,0
Метионин*	107,4	107,0
Изолейцин*	583,8	291,3
Лейцин*	488,1	309,6
Тирозин	440,3	177,6
Фенилаланин*	583,2	280,8
γ -Аминомасляная кислота	963,0	568,1

Влияние полинофита на выработку у интактных крыс условного рефлекса с положительным подкреплением в Т-образном лабиринте

Показатели	Группа животных				
	Контроль (n = 10)	Полинофит, мл/100 г			Пирацетам, 200 мг/100 г, (n = 10)
		0,1 (n = 10)	0,3 (n = 10)	0,5 (n = 10)	
Время выполнения реакции, с	32,0 ± 3,6	26,9 ± 2,9	21,4 ± 2,5*	14,1 ± 1,3*	20,2 ± 1,8*
Количество животных, % обучившихся на 4 день	20	30	50	50	40
обучившихся на 10 день	50	50	80	100	100
с сохранением рефлекса	50	50	50	100	50

Здесь и далее: * — различия достоверны по сравнению с данными у животных контрольной группы при $p \leq 0,05$; n — количество животных в группе.

На фоне введения полинофита в этих объемах у животных время поиска безопасного отсека в первой пробе сокращается на 42 и 51 %, а время выполнения реакции — на 10 и 22 % соответственно, что свидетельствует о смене беспорядочных побегов на целенаправленный поиск. Введение крысам полинофита в объеме 0,1 мл/100 г не оказывает значимого влияния на выработку УРЗД.

У животных, получавших пирацетам и полинофит в объеме 0,5 мл/100 г, время поиска безопасного отсе-

ка в 1 пробе сокращается на 62 и 22 % соответственно. Количество проб, затраченных на обучение, существенно не отличается от таковых в группе, получавших полинофит в объеме 0,5 мл/100 г.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что курсовое введение полинофита улучшает выработку условной реакции зрительной дифференцировки у крыс. Данный эффект сопоставим с действием пирацетама.

Влияние полинофита на выработку условной реакции зрительной дифференцировки у интактных крыс

Группа животных	Количество проб, затраченных на обучение		Время, с	
	до первого правильного ответа	до критерия обучения	поиска безопасного отсека в 1 пробе	выполнения реакции
Контроль (H ₂ O) (n = 10)	8,4 ± 0,75	30,8 ± 1,22	15,3 ± 0,98	8,7 ± 0,96
Полинофит, 0,1 мл/100 г (n = 10)	9,1 ± 0,55	30,0 ± 1,63	15,1 ± 1,39	8,4 ± 0,6
Полинофит, 0,3 мл/100 г (n = 10)	7,3 ± 0,35	24,3 ± 1,3*	8,8 ± 0,9*	7,8 ± 0,5
Полинофит, 0,5 мл/100 г (n = 10)	5,0 ± 0,58*	16,9 ± 1,54*	7,5 ± 0,79*	6,8 ± 0,51
Пирацетам, 200 мг/кг (n = 10)	5,4 ± 0,83	17,4 ± 1,08*	5,8 ± 0,66*	7,2 ± 0,66

Влияние полинофита и пирацетама на сохранение рефлекса пассивного избегания у белых крыс на фоне амнезии, вызванной максимальным электросудорожным шоком

№ п/п	Группа животных	До обучения	Через 1 ч	Через 24 ч	Через 7 сут
Латентный период, с					
1	Интактная (H ₂ O) (n = 10)	5,4 ± 0,6	164,4 ± 17,0	145,5 ± 17,6	108,2 ± 19,4
2	Контроль (МЭШ + H ₂ O) (n = 10)	8,4 ± 1,9	88,0 ± 0,5	83,4 ± 12,0	22,7 ± 11,0
3	МЭШ + полинофит, 0,3 мл/100 г (n = 10)	8,1 ± 1,3	84,0 ± 2,7	55,25 ± 1,9*	40,6 ± 1,5 *
4	МЭШ + полинофит, 0,5 мл/100 г (n = 10)	9,0 ± 1,5	119,6 ± 4,2*	91,2 ± 4,0	52,3 ± 4,9 *
5	МЭШ+ пирацетам, 200 мг/кг (n = 10)	6,0 ± 0,7	142,9 ± 17,1*	102,9 ± 17,4	62,0 ± 10,6 *
Время нахождения в темной камере, с					
1	Интактная (H ₂ O) (n = 10)	187,1 ± 4,0	23,3 ± 3,4	42,8 ± 6,5	70,0 ± 17,1
2	Контроль (МЭШ + H ₂ O) (n = 10)	181,6 ± 6,3	103,3 ± 19,4	101,0 ± 17,1	167,0 ± 14,1
3	МЭШ + полинофит, 0,3 мл/100 г (n = 10)	187,7 ± 1,9	102,0 ± 2,8*	104,3 ± 36,6*	144,3 ± 4,8 *
4	МЭШ + полинофит, 0,5/100 г (n = 10)	161,1 ± 10,5	51,8 ± 5,4*	81,2 ± 4,4*	130,0 ± 5,1 *
5	МЭШ + пирацетам, 200 мг/кг (n = 10)	192,7 ± 1,6	34,3 ± 17,9*	68,6 ± 14,2*	116,6 ± 25,2 *

Результаты исследований также показали, что воздействие МЭШ на мозг крыс оказывает амнезирующий эффект, вызывая резкое ухудшение воспроизведения рефлекса. Так, латентный период у крыс контрольной группы на протяжении всех сроков наблюдения (1 ч, 24 ч и 7 сут) снижается на 47, 43 и 79 %, а суммарное время пребывания их в темном отсеке увеличивается на 56, 58 и 51 % соответственно по сравнению с таковыми показателями у животных интактной группы (табл. 5). Курсовое введение полиноофита в объеме 0,5 мл/100 г и пирацетама улучшает у животных выработку УРПИ, что проявляется в увеличении латентного периода на 35 и 62 % и снижении времени пребывания их в темном отсеке на 50 и 67 % соответственно через 1 ч после обучения. Введение испытуемого средства в объеме 0,3 мл/100 г не оказывает какого-либо влияния на процесс обучения. Введение животным экстракта в объеме 0,5 мл/100 г и пирацетама вызывает более прочную сохранность памятного следа. Так, латентный период у крыс этих групп был выше такового крыс контрольной группы через 24 ч на 9,3 и 23,4 %, на 7 сут — в 2,3 и 2,7 раза соответственно. Очевидно, что на фоне применения пирацетама наблюдается отчетливое восстановление рефлекса.

Полученные данные свидетельствуют о том, что комплексное растительное средство полиноофит улучшает

когнитивные функции на фоне амнестического воздействия МЭШ, при этом его антиамнестическое действие выражено при введении его в объеме 0,5 мл/100 г массы, но менее выражено по сравнению с пирацетамом при данном виде нарушения памяти.

Таким образом, растительное средство полиноофит обладает ноотропной активностью, оказывает положительное воздействие на процессы обучения и памяти у интактных крыс, улучшает когнитивные функции на фоне амнестического воздействия электрошоком. Значительное содержание аминокислот позволяет использовать данное средство как источник аминокислот, которые совместно с другими биологически активными веществами обуславливают ноотропную активность растительного средства.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. Г. Николаева, Л. Д. Дымшеева, С. М. Николаев и др., *Хим.-фарм. журн.*, **40**(10), 41 – 45 (2007).
2. А. Майстер, *Биохимия аминокислот*, Иностранная литература, Москва (1961).
3. J. Bures and O. Buresova, *Psychopharmacological Meeting*, Iesenik Spa (1979), pp. 7 – 12.
4. Т. А. Воронина, Р. У. Островская, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Москва (2000), сс. 153 – 161.

Поступила 14.10.08

AMINO ACID COMPOSITION AND NOOTROPE PROPERTIES OF PLANT PREPARATION POLYNOOPHYT

I. G. Nikolaeva^{1,2}, L. D. Dymshcheeva², S. M. Nikolaev^{1,2}, and G. G. Nikolayeva^{1,2}

¹ Institute of General and Experimental Biology, Siberian Branch, Russian Academy of Sciences, Ulan-Ude, Buryat Republic, Russia;

² Buryat State University, Ulan-Ude, Buryat Republic, Russia

The nootrope activity of complex plant preparation polynoophyt (polynoofyt) has been established in experiments on animals. The composition of amino acids isolated from the phytopreparation has been studied. A total of 19 amino acids, including seven essential, were identified. The most significant concentrations were found for asparaginic acid, glutaminc acid, prolyne, cysteine, methionine, leucine, γ -aminobutyric acid, alanine, and arginine.

Key words: Polynoophyt, nootrope activity, amino acid composition