

## ДИПЕПТИДНЫЙ АНАЛОГ НЕЙРОТЕНЗИНА NT (8 – 13) ДИЛЕПТ ПОВЫШАЕТ БОЛЕВОЙ ПОРОГ И СНИЖАЕТ ВЫРАЖЕННОСТЬ СИНДРОМА ОТМЕНЫ МОРФИНА У КРЫС

М. А. Константинопольский, И. В. Чернякова, В. С. Кудрин, П. М. Клодт,  
Л. Г. Колик, Т. А. Гудашева<sup>1</sup>

В опытах на крысах изучали влияние дипептидного аналога нейротензина NT (8 – 13) дилепта, а также морфина и комбинации этих веществ на порог болевой чувствительности в тесте “tail flick”. В другой серии экспериментов у животных вырабатывали зависимость от морфина, который вводили в возрастающих дозах (10 – 20 мг/кг внутривнутрибрюшинно) в течение 5 сут. Состояние физической зависимости оценивали в тесте “открытое поле” по наличию специфических поведенческих признаков синдрома отмены, провоцируемого введением антагониста опиоидных рецепторов налоксона. Суммарный индекс синдрома отмены рассчитывали на основании регистрации 16 альтернативных поведенческих признаков. Установили, что дилепт, вводимый внутривнутрибрюшинно в дозе 1,6 мг/кг, повышал болевой порог на 34 % ( $p < 0,01$ ), не влиял на анальгетический эффект морфина при сочетанном введении, на 29,1 и 37,5 % снижал выраженность синдрома отмены морфина при однократном и субхроническом введении, соответственно ( $p < 0,01$ ). Отмеченные поведенческие эффекты дилепта сопровождались нормализацией обмена дофамина и серотонина в гипоталамусе, фронтальной коре и стриатуме экспериментальных животных.

**Ключевые слова:** дилепт; морфин; анальгетический эффект; синдром отмены

### ВВЕДЕНИЕ

Создание новых эффективных лекарственных средств для лечения наркотической зависимости остается одной из наиболее актуальных проблем психофармакологии. Устранение клинических проявлений зависимости требует значительного арсенала фармакологических препаратов, позволяющих использовать их с учетом конституционального профиля больного и спектра патологических проявлений зависимости. Применяемые с указанной целью лекарственные средства, относящиеся к разным фармакологическим классам, часто малоэффективны и обладают значительными побочными эффектами [6, 17]. Нейролептики рассматриваются как важная группа в ряду средств коррекции психопатологических реакций у больных с зависимостью от опиатов [5]. Наиболее часто с этой целью применяют галоперидол [26] и некоторые атипичные нейролептики, такие как клозапин [12], оланзапин [10, 23] и кветиапин [21]. Однако развивающиеся вследствие их приема депрессия, заторможенность, снижение моторных реакций, увеличение массы тела, наряду с недостаточной эффективностью в осложненных случаях, ограничивают возможность их клинического применения [19].

Среди новых перспективных соединений с нейролептической активностью значительный интерес представляет дилепт, созданный в ФГБУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” РАМН на базе основного метаболита эндогенного нейротензина (8 – 13) [14]. Дилепт обладает свойствами атипичных нейролептиков, демонстрируя антидофаминергическую и глутаматпозитивную активность [3], не вызывая катаlepsии, миорелаксации и седации, характерных для действия классических нейролептиков [7].

Развитие состояния зависимости от опиатов сопровождается изменениями обмена и рецепции основных нейромедиаторов в структурах мозга, принадлежащих к “системе награды” [22], при этом важную роль играет дофамин (ДА), взаимодействующий с другими нейромедиаторными системами в процессах, определяющих формирование наркотической зависимости [24]. В связи с этим в настоящей работе изучали способность дилепта устранять нарушения обмена основных нейромедиаторов, возникающих при синдроме отмены в структурах мозга морфин-зависимых животных.

Другим проявлением синдрома отмены у лиц, зависимых от опиатов, являются боли разной локализации и модальности — гипералгезии или аллодинии [9, 25]. Данный феномен также отмечен и у экспериментальных животных [27]. В связи с этим было решено оценить способность дилепта и его комбинации с морфином влиять на болевую чувствительность у интактных крыс на модели анальгезии, предполагая возможное комбинированное применение этих соединений в клинической практике.

Цель исследования — экспериментальное изучение влияния дилепта на болевой порог у крыс (анальгетический эффект), на поведенческие признаки синдрома отмены морфина, а также на содержание основных нейромедиаторов и их метаболитов в разных областях мозга у зависимых от морфина животных.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Опыты выполнены на 150 беспородных белых крысах-самцах (питомник НЦБМ РАМН “Столбовая”), массой 240 – 280 г, с соблюдением правил лабораторной практики, регламентированной ГОСТ Р 51000.3-96 и ГОСТ Р 51000.4-96 (1996 г.), приказом Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 N708н “Об утверждении Правил лабораторной практики и с соблюдением Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоноч-

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

ных животных, используемых при экспериментальных исследованиях” (1986 г.). Животных содержали в условиях вивария в течение недели до начала исследований в стандартных пластиковых клетках размером 33 × 55 × 20 см, по 10 особей в каждой, при свободном доступе к пище и воде. С целью снижения уровня стресса в ходе эксперимента, в течение 3–4-х суток до начала тестирования выполняли процедуру “хэндлинга” для каждой особи продолжительностью 2–3 мин. Изучение поведенческих эффектов исследуемых веществ выполняли в отдельной лабораторной комнате в интервале с 16.00 до 20.00 ч. при температуре 18–22° С. Исследуемые вещества: дилепт (метилловый эфир капроил-пролил-тирозина) разработан и синтезирован в отделе химии ФГБУ НИИ фармакологии имени В. В. Закусова РАМН [14]; морфина гидрохлорид (Минмедбиопрот, объединение “Чимкентбиофарм”); антагонист опиатных рецепторов налоксона гидрохлорид (“Du Pont De Nemours Int. S. A.”, Швейцария).

В 1-ой серии экспериментов для изучения влияния дилепта, морфина или их комбинации на пороги болевой реакции у крыс использовали иммерсионный тест “отдергивания хвоста” (“tail flick test”) [13]. Регистрировали латентный период (в сек) переносимости животными теплового воздействия при помещении нижней трети хвоста в воду при температуре 55 °С. Максимальное значение времени реакции ограничивали 30 с. Исходные средние показатели болевых порогов определяли на основании выполнения 4 измерений с интервалом в 10 мин, среднее значение принимали за 100 %. Растворы исследуемых веществ готовили ex tempore, в качестве растворителя дилепта использовали дистиллированную воду с добавлением необходимого объема твин-80. Исследуемые дозы дилепта (0,4; 0,8; 1,6 и 3,2 мг/кг) были выбраны в соответствии с литературными данными, демонстрирующими максимальную эффективность дилепта в дозе 1,6 мг/кг по поведенческим тестам [3]. Все вещества вводили внутривентриально, динамику эффектов регистрировали в течение 120 мин после инъекции. Контрольные животные получали растворитель (дистиллированная вода + твин-80) в равном объеме или морфина гидрохлорид (2,0 мг/кг, активный контроль), который в данной дозе в предварительном эксперименте показал значимый уровень анальгетического эффекта. При сочетанном при-

менении веществ дилепт (0,8 мг/кг) вводили внутривентриально за 15 мин до морфина (2 мг/кг). Каждая экспериментальная группа включала 10 животных.

Во 2-ой серии экспериментов у крыс опытных групп вырабатывали зависимость от морфина и оценивали поведение в соответствии со стандартной апробированной схемой, описанной ранее [1, 2]. Крысам вводили морфина гидрохлорид в течение 5 сут, 2 раза в сутки, в возрастающих дозах от 10 до 20 мг/кг. Дилепт вводили в дозе 1,6 мг/кг, однократно, за 30 мин до тестирования животных или субхронически (в течение 5 дней) в той же дозе, 2 раза в сутки за 30 мин до введения морфина. Тестирование животных на наличие специфических признаков синдрома отмены (СО) морфина проводили в “открытом поле” (ОП) в течение 5 мин через 15 мин после введения налоксона гидрохлорида в дозе 1 мг/кг для провокации СО на 5-й день эксперимента. Контрольные животные получали равный объем дистиллированной воды с твином-80 по той же схеме и однократно инъекцию налоксона перед тестированием в ОП. Были сформированы следующие экспериментальные группы: 1-я – “Н<sub>2</sub>O хр + налоксон” (пассивный контроль), 2-я – “Н<sub>2</sub>O хр + дилепт однократ + налоксон”, 3-я – “дилепт хр + налоксон”, 4-я – “морфин хр + налоксон” (группа активного контроля), 5-я – “морфин хр + дилепт однократ + налоксон”, 6-я – “дилепт хр + морфин хр + налоксон” (обозначения: хр – субхроническое введение в течение 5 суток, однократ – однократное введение). Специфические признаки СО морфина (16 показателей — диарею, скрежет зубами, отряхивания, нарушения позы, пилоэрекцию, птоз, попытки бегства, корчи, судороги, вокализацию, встряхивания лапами, встряхивания головой, ринорею, диспноэ, носовое кровотечение, жевание) выражали в количественной и в альтернативной форме. Среднее значение суммарного индекса (СИ) СО для каждой группы животных рассчитывали на основании регистрации альтернативных признаков, при максимальном значении СИ равном 16 баллам. За 100 % принимали выраженность СО в группе активного контроля “морфин хр + налоксон”. Данные, полученные для каждой группы обрабатывали статистически (критерий Манна-Уитни, программа Statistica 10).

Нейрохимические исследования выполняли, используя животных из групп 1-й (“Н<sub>2</sub>O хр + налоксон”, контроль), 4-й (“морфин хр + налоксон”, активный кон-

Таблица 1. Содержание моноаминов и их метаболитов в мозге интактных беспородных крыс

Структура мозга	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК/ДА	ГВК/Д	НА	5-ОТ	5-ОИУК	5-ОИУК/5-ОТ
Фронтальная кора	0,418 ± 0,02	0,033 ± 0,004	1,43 ± 0,63	0,032 ± 0,004	1,281 ± 0,56	1,994 ± 0,067	0,888 ± 0,074	0,042 ± 0,02	0,054 ± 0,025
Гипоталамус	1,605 ± 0,066	0,210 ± 0,013	4,507 ± 0,108	0,073 ± 0,004	1,574 ± 0,023	7,538 ± 0,320	1,743 ± 0,151	0,123 ± 0,014	0,072 ± 0,008
Прилежащее ядро	21,804 ± 1,190	3,599 ± 0,211	4,012 ± 0,231	1,603 ± 0,130	1,762 ± 0,061	4,875 ± 0,56	2,730 ± 0,228	2,075 ± 0,173	0,779 ± 0,068
Стриатум	37,036 ± 5,782	3,489 ± 0,578	3,259 ± 0,145	1,233 ± 0,204	1,202 ± 0,031	1,164 ± 0,260	1,118 ± 0,068	3,033 ± 0,527	2,736 ± 0,434
Гиппокамп	0,371 ± 0,185	0,089 ± 0,030	2,127 ± 0,091	0,053 ± 0,017	1,262 ± 0,032	2,342 ± 0,112	5,559 ± 1,199	0,048 ± 0,014	0,013 ± 0,006

Примечание. Приведены средние значения в нмоль/г ткани и стандартные ошибки среднего ( $M \pm S.E.M.$ ) при  $n = 10$ .

троль) и 6-й (“дилепт хр + морфин хр + налоксон”, субхроническое введение дилепта и морфина) после завершения поведенческих тестов; из каждой группы было взято 9 – 10 особей. Эксперимент по определению содержания нейромедиаторов: ДА, норадреналина (НА), серотонина (5-ОТ) и их метаболитов — 3,4-дигидроксибензилуксусной кислоты (ДОФУК), гомованилиновой кислоты (ГВК), 5-оксииндолуксусной кислоты (5-ОИУК) — в мозге крыс проводили через 24 ч после отмены морфина. Животных умерщвляли методом краниоцервикальной транссекции, структуры мозга (фронтальная кора, гипоталамус, стриатум, прилежащее ядро, гиппокамп) извлекали на леду, замораживали в жидком азоте и взвешивали. Анализируемые пробы гомогенизировали в 1 мл 0,1 н HClO<sub>4</sub> с добавлением диоксибензиламина (0,5 нмоль/мл) в качестве внутреннего стандарта. Пробы центрифугировали при 10000 g в течение 15 мин при температуре 4 °С. Содержание моноаминов в структурах мозга определяли методом ВЭЖХ с электрохимической детекцией на хроматографе LC-304T (BAS, “West Lafayette”, США) [4].

Для статистической обработки данных использовали t-критерий Стьюдента.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 1. Влияние дилепта на болевые пороги и анальгетический эффект морфина

Дилепт, вводимый в дозе 0,4 мг/кг, вызывал статистически значимый подъем болевых порогов через 15, 45 и 60 мин при сравнении с контрольной группой (рис. 1). Максимум активности (127 % от исходного уровня,  $p < 0,01$ ) отмечали через 60 мин после инъекции дипептида. Дилепт в дозе 0,8 мг/кг вызывал повышение средних значений болевого порога с 15-й по 60-ю минуту (131 % от исходного уровня на 60-й минуте,  $p < 0,05$ , рис. 2). В дозе 1,6 мг/кг дипептид был наиболее эффективен, вызывая значимый рост болевых порогов с 15-й по 45-ю минуту, при максимальном значении 134 % на 45-й минуте ( $p < 0,01$ ), тем не менее, существенно уступая по активности морфину (рис. 1 и 2). Повышение дозы дилепта до 3,2 мг/кг полностью устраняло его анальгетический эффект. Предварительное введение дилепта

Таблица 2. Влияние дилепта при субхроническом введении на содержание моноаминов и их метаболитов в структурах мозга беспородных крыс в условиях развития зависимости от морфина

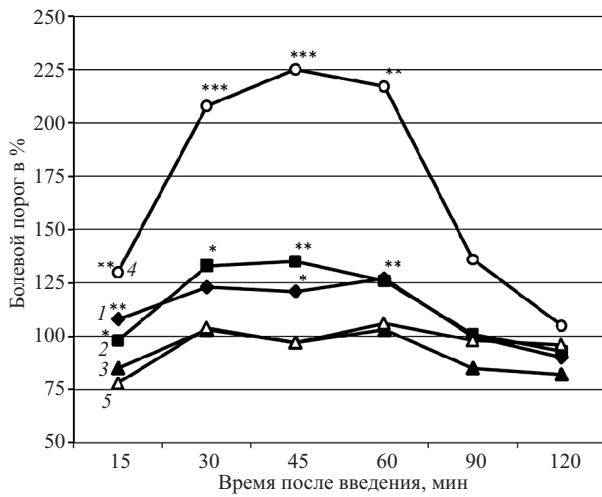
Группа	Структуры мозга	ДА	ДОФУК	ГВК	ДОФУК/ДА	ГВК/ДА	НА	5-ОТ	5-ОИУК	5ОИУК/5-ОТ
Контроль (H <sub>2</sub> O + налоксон)	ФК	100,0 ± 5,8	100,0 ± 11,0	100,0 ± 46,6	100,0 ± 12,2	100,0 ± 43,8	100,0 ± 3,34	100,0 ± 8,34	100,0 ± 46,61	100,0 ± 46,9
	ГПТ	100,0 ± 4,14	100,0 ± 6,38	100,0 ± 2,39	100,0 ± 5,83	100,0 ± 1,43	100,0 ± 4,24	100,0 ± 8,64	100,0 ± 11,8	100,0 ± 11,4
	ПЯ	100,0 ± 5,46	100,0 ± 5,9	100,0 ± 5,8	100,0 ± 8,1	100,0 ± 3,5	100,0 ± 11,5	100,0 ± 8,36	100,0 ± 8,34	100,0 ± 8,74
	СТР	100,0 ± 15,6	100,0 ± 16,6	100,0 ± 4,44	100,0 ± 6,13	100,0 ± 3,48	100,0 ± 22,4	100,0 ± 6,12	100,0 ± 17,4	100,0 ± 8,74
	ГИПП	100,0 ± 49,8	100,0 ± 33,5	100,0 ± 4,30	100,0 ± 33,1	100,0 ± 2,51	100,0 ± 4,8	100,0 ± 21,6	100,0 ± 28,9	100,0 ± 50,1
Морфин хр + налоксон	ФК	105,9 ± 11,4	132,8 ± 15,7	49,15 ± 29,4	131,4 ± 10,5	57,5 ± 34,6	94,0 ± 5,40	132,6 ± 12,9	104,1 ± 64,2	66,4 ± 39,9
	ГПТ	107,7 ± 6,32	<b>138,1 ± 9,6*</b>	99,1 ± 4,72	<b>153,0 ± 16,8*</b>	106,4 ± 4,0	94,5 ± 4,23	126,1 ± 8,9	169,1 ± 30,3	130,1 ± 18,5
	ПЯ	89,7 ± 4,2	93,3 ± 6,40	92,0 ± 2,70	98,0 ± 6,11	98,8 ± 4,28	113,4 ± 16,6	114,0 ± 7,37	96,3 ± 9,07	83,9 ± 8,71
	СТР	111,7 ± 4,02	118,1 ± 6,89	109,4 ± 4,92	114,7 ± 9,31	100,4 ± 3,86	87,6 ± 6,11	107,4 ± 5,87	117,4 ± 10,3	109,0 ± 7,81
	ГИПП	28,05 ± 3,5	52,6 ± 3,61	92,3 ± 3,44	60,4 ± 6,31	105,3 ± 6,65	<b>82,9 ± 3,35*</b>	125,4 ± 11,7	35,2 ± 6,97*	21,10 ± 4,91
Морфин хр + дилепт хр	ФК	101,9 ± 7,7	<b>88,2 ± 11,4<sup>#</sup></b>	<b>165,8 ± 42,8<sup>#</sup></b>	<b>86,0 ± 6,4<sup>#</sup></b>	176,8 ± 42,4	92,03 ± 5,49	92,5 ± 11,2 <sup>#</sup>	179,3 ± 43,7	195,9 ± 57,0
	ГПТ	92,6 ± 3,8	<b>96,1 ± 4,2<sup>#</sup></b>	95,6 ± 4,2	<b>110,2 ± 7,8<sup>#</sup></b>	107,7 ± 3,23	94,9 ± 2,46	91,4 ± 5,34	102,3 ± 11,3	111,6 ± 12,3
	ПЯ	93,7 ± 8,18	84,6 ± 6,70	85,1 ± 4,04	95,4 ± 5,81	98,1 ± 5,27	72,2 ± 10,4	93,7 ± 7,11	93,6 ± 16,1	108,2 ± 28,5
	СТР	105,4 ± 5,5	<b>97,9 ± 4,93<sup>#</sup></b>	105,2 ± 5,10	95,8 ± 5,84	97,9 ± 3,53	90,5 ± 8,95	87,0 ± 5,36 <sup>#</sup>	102,4 ± 4,80	118,2 ± 5,63
	ГИПП	106,3 ± 51,5	110,3 ± 36,7	98,1 ± 4,23	110,4 ± 29,5	110,6 ± 5,0	89,2 ± 4,68	101,4 ± 20,5	142,6 ± 66,6	129,9 ± 56,6

**Примечание.** Данные представлены в % по отношению к контролю, средние значения ± стандартная ошибка среднего.

Используемые сокращения: ФК — фронтальная кора, ГПТ — гипоталамус, ПЯ — прилежащее ядро, СТР — стриатум, ГИПП — гиппокамп.

\* — достоверность различий по сравнению с контролем (H<sub>2</sub>O + налоксон) при  $p < 0,05$  (t-критерий Стьюдента).

<sup>#</sup> — достоверность различий по сравнению с группой “активного контроля” (морфин хр + налоксон), при  $p < 0,05$  (t-критерий Стьюдента).



**Рис. 1.** Влияние дипепта на болевой порог у крыс в тесте “tail flick” в зависимости от дозы.

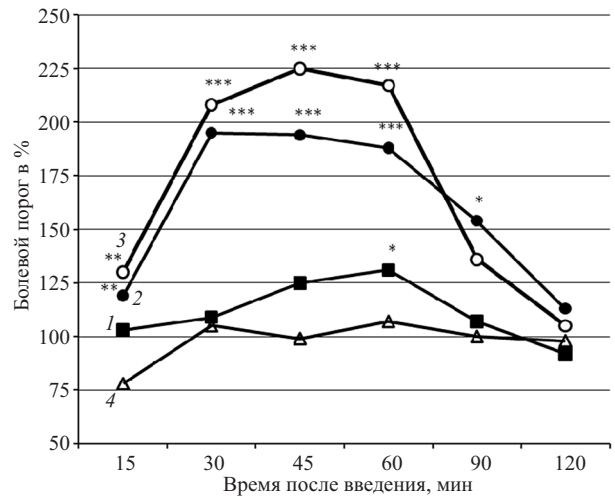
Группы животных: 1 – 3 — введение дипепта в дозах, соответственно, 0,4; 1,6 и 3,2 мг/кг; 4 — “морфин 2 мг/кг”; 5 — контрольная группа “Н<sub>2</sub>О + твин-80”. Статистически значимые различия в сравнении с группой 5 (\* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$  — непараметрический критерий Манна-Уитни U-тест). Здесь и на рис. 2: по оси абсцисс — время после введения веществ, мин; по оси ординат — средние значения болевых порогов, выраженные в % к исходному уровню болевой чувствительности.

(0,8 мг/кг) значимо не влияло на эффект морфина в течение 120 мин наблюдения (рис. 2).

### 2. Влияние дипепта при однократном или субхроническом введении на поведенческие признаки синдрома отмены морфина у крыс

В серии экспериментов с однократным введением дипепта (рис. 3, А) в контрольных группах “Н<sub>2</sub>О + налоксон” и “дипепт однократ + налоксон” отмечались незначительные изменения поведенческих реакций, составлявшие, соответственно, 18,6 и 16,7 % от уровня группы активного контроля “морфин хр + налоксон”. В последнем случае регистрировали умеренно выраженный уровень СО, со средним значением СИ 8,6 ± 0,76. Показано, что дипепт при однократном введении в дозе 1,6 мг/кг за 30 мин до тестирования (группа 4 “морфин хр + дипепт однократно + налоксон”) снижал выраженность отдельных проявлений и величину СИ СО морфина (6,1 ± 0,64 балла, падение на 29,1 %,  $p < 0,05$ ). Кроме того, введение дипепта приводило к нормализации двигательной активности животных в ОП, при этом суммарное значение двигательной активности за 5 мин наблюдения в контрольной 1-й группе составляло 140 усл. ед.; в группе с введением морфина и дипепта — 144 усл. ед.; значение этого показателя у зависимых от морфина животных (4-я группа) было существенно ниже — 112 усл. ед. ( $p < 0,05$ ).

В серии экспериментов с субхроническим введением дипепта в контрольных группах — “Н<sub>2</sub>О хр + налоксон” и “дипепт хр + налоксон” — отмечали отдельные, эпизодические поведенческие реакции, их выраженность составляла в среднем, соответственно, 18,6 и 9,4 % от уров-



**Рис. 2.** Влияние дипепта и комбинации дипепта с морфином на болевой порог у крыс в тесте “tail flick”.

Группы животных: 1 — “дипепт 0,8 мг/кг”; 2 — “дипепт 0,8 мг/кг + морфин 2,0 мг/кг”; 3 — “морфин 2,0 мг/кг”; 4 — контроль “Н<sub>2</sub>О + твин-80”. \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$  — статистически значимые различия в сравнении с контрольной группой 4 “Н<sub>2</sub>О + твин-80”. Остальные обозначения те же, что на рис. 1.

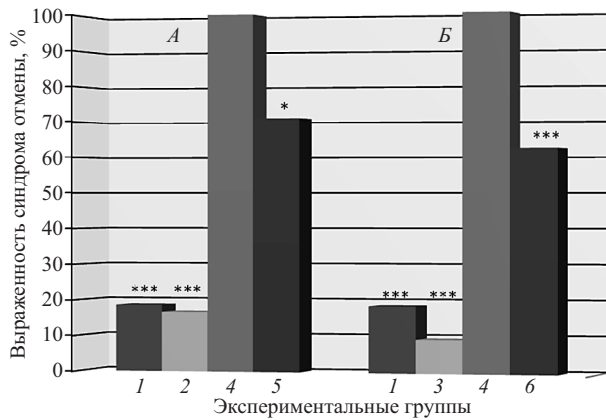
ня 4-й группы активного контроля “морфин хр + налоксон” (рис. 3, Б).

Дипепт при субхроническом введении в течение 5 дней (рис. 3, Б) снижал выраженность СО на 37,5 % (6-я группа “дипепт хр + морфин хр + налоксон”, значение СИ СО 6,0 ± 0,7 баллов; 4-ая группа активного контроля “морфин хр + налоксон” — 9,6 ± 0,5 баллов, 100 %,  $p < 0,01$ ), что превышало эффективность однократного введения пептида. Анализ влияния дипепта на отдельные проявления СО для этой группы показал, что в значительной степени устранялись такие признаки физической зависимости как корчи (0/7,  $p < 0,01$ ), судороги (1/6,  $p < 0,01$ ), скрежет зубами (0/5,  $p < 0,05$ ), пилоэрекция (5/10,  $p < 0,05$ ), вокализация (5/9,  $p = 0,09$ ) (числитель дроби показывает число животных с соответствующей реакцией в опытной группе 5 “морфин хр + дипепт хр + налоксон”, знаменатель — число таких животных в группе активного контроля). Другие показатели СО существенно не изменялись под влиянием дипептида. Различия между эффектами дипепта в отношении суммарного индекса СО при однократном и субхроническом введении не были статистически значимы.

### 3. Влияние дипепта на содержание нейромедиаторов и их метаболитов в структурах головного мозга крыс, зависимых от морфина

В табл. 1 показаны исходные данные содержания нейромедиаторов и их метаболитов в структурах мозга интактных крыс, в табл. 2 отражено влияние дипепта на эти показатели у животных, зависимых от морфина. Результаты исследования показывают, что через 24 ч после отмены морфина наиболее выражены изменения содержания метаболитов ДА, ДОФУК и ГВК, в гипоталамусе и во фронтальной коре. Уровень ДОФУК и соотношение





**Рис. 3.** Влияние дилепта (1,6 мг/кг) при однократном (А) и субхроническом (Б) введении на суммарный индекс синдрома отмены морфина у крыс, вызванный налоксоном.

По оси абсцисс — группы животных: 1 — “Н<sub>2</sub>О хр + налоксон”; 2 — “Н<sub>2</sub>О хр + дилепт однократ + налоксон”; 3 — “дилепт хр + налоксон”; 4 — “морфин хр + налоксон” (группа активного контроля); 5 — “морфин хр + дилепт однократ + налоксон”; 6 — “дилепт хр + морфин хр + налоксон” (обозначения: хр — субхроническое введение веществ или растворителя в течение 5 дней, однократ — однократное введение). По оси ординат — за 100 % принята величина суммарного индекса синдрома отмены у животных 4-й группы “активный контроль”. Статистически значимые различия в сравнении с группой активного контроля 4 (\* —  $p < 0,05$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$  — непараметрический критерий Манна-Уитни U-тест).

ДОФУК/ДА были значимо повышены в этих структурах (138,1 и 153 % в гипоталамусе; 132,8 и 131,4 % во фронтальной коре,  $p < 0,05$ ); на фоне дилепта происходило восстановление уровня ДОФУК и ДОФУК/ДА до контрольных значений (в гипоталамусе — 96,1 и 110,2 %; во фронтальной коре — 88,2 и 86,0 %). Напротив, уровень ГВК был снижен у зависимых от морфина крыс и дилепт, вводимый субхронически этим животным, существенно повышал содержание ГВК и ГВК/ДА во фронтальной коре (165,8 и 176,8 %, соответственно,  $p < 0,05$ ). После отмены морфина уровни ДОФУК и 5-ОТ были повышены в стриатуме, соответственно, 118,1 и 107,4 %, ( $p < 0,05$ ) и снижались до контрольных значений (97,9 и 87 %,  $p < 0,05$ ) на фоне действия дилепта. Уменьшение содержания НА и 5-ОИУК отмечено в гиппокампе у морфин-зависимых крыс, соответственно, до значений 82,9 и 35,2 % от контроля ( $p < 0,05$ ). После введения дилепта величины этих показателей приближались или превосходили контрольные значения (89,2 и 142,5 %).

Эффективность применения нейролептиков для купирования признаков физической зависимости от опиатов может быть связана с их способностью устранять нарушения обмена дофамина в структурах “системы награды мозга”, в дофаминергической вентро-теgmentарной области (VTA) и nigra-стриарной системе, в проекционных областях гипоталамуса, гиппокампа и префронтальной коры, ответственных за формирование зависимости от наркотических веществ [18, 22]. Ранее показано, что дилепт вызывал избирательное усиление скорости оборота ДА в прилежащем ядре при отсутствии подобных изме-

нений в стриатуме у интактных, свободных от морфина животных; кроме того, дилепт вызывал снижение величины показателя ДОФУК/ДА в гипоталамусе и устранял усиление обмена ДА в этой структуре, вызванное введением кетамина [4]. В наших экспериментах регистрировали незначительное повышение уровней ДОФУК и 5-ОТ в стриатуме у морфин-зависимых крыс и существенное повышение уровня ДОФУК и соотношения ДОФУК/ДА в гипоталамусе и фронтальной коре у зависимых от морфина крыс после его отмены. Эти факты отражают усиленный метаболизм ДА в указанных областях мозга во время состояния зависимости. Дилепт, вводимый субхронически, приводил к нормализации обмена ДА в отмеченных выше структурах мозга. Нарушения обмена 5-ОТ в отдельных серотонинергических структурах мозга (в переднем мозге) также могут сопровождать длительные (не менее недели) поведенческие признаки СО морфина у зависимых животных [11]. Регистрируемое нами, небольшое повышение уровня 5-ОТ в стриатуме после отмены морфина может отражать данный феномен.

На поведенческом уровне представленные нами нейрорхимические изменения могут быть связаны с наличием выраженных вегетативных реакций в спектре проявлений СО морфина, отражающих активность гипоталамуса, с нарушением исследовательской активности крыс в ОП, обусловленным нейрорхимическими сдвигами во фронтальной коре, а также объясняют механизм устранения поведенческих нарушений вследствие действия дилепта.

В данном исследовании дилепт был наиболее эффективен в дозе 1,6 мг/кг, демонстрируя умеренный анальгетический эффект и существенно уменьшая выраженность признаков зависимости от морфина, что согласуется с литературными данными относительно антипсихотической активности дипептида на поведенческих моделях в той же дозе [3].

В нашем исследовании впервые показано, что в отличие от нейротензина (8 – 13), который не проходит ГЭБ и обладает анальгетической активностью только при центральном (внутриголовном) введении [15, 16], дилепт эффективен при системном введении. Этот факт согласуется с данными ряда авторов, обнаруживших анальгетическую активность у некоторых пентапептидов, производных нейротензина (8 – 13), на разных моделях оценки боли [16].

В настоящей работе дилепт не оказывал значимого влияния на анальгетический эффект морфина при сочетании введении, что указывает на отсутствие у дилепта опиатоподобной активности. Это подтверждается литературными данными, показывающими неопиоидный налоксон-независимый механизм анальгезии для нейротензина и его аналогов [8]. Собственная умеренная анальгетическая активность дилепта может быть обусловлена его взаимодействием с рецепторами нейротензина NTS-1 и NTS-2 в мозге, модулирующими активность антиноцицептивной системы и определяющими анальгетическую активность нейротензина и его аналогов [15].

Таким образом, дилепт, новый перспективный нейролептик пептидной природы, демонстрирует умеренную анальгетическую активность, а также заметно уменьшает выраженность отдельных признаков и суммарный индекс СО морфина у крыс при однократном и субхроническом введении. Эффекты дилепта в отношении СО морфина могут быть опосредованы его взаимодействием с центральными рецепторами нейротензина, а также участием центральных дофаминергических механизмов.

## ВЫВОДЫ

1. Дилепт при системном введении в дозах 0,4 – 3,2 мг/кг вызывал дозозависимые изменения уровня болевого порога в тесте “tail flick” у крыс; максимальный эффект — повышение болевого порога на 34 % — регистрировали после введения пептида в дозе 1,6 мг/кг.

2. Дилепт, при однократном или субхроническом введении в дозе 1,6 мг/кг, уменьшал величину суммарного индекса синдрома отмены морфина у крыс, соответственно, на 29 и 37,5 %.

3. Нормализация поведенческих реакций зависимых от морфина животных, при его отмене на фоне действия дилепта, сопровождалась восстановлением функциональной активности структур дофаминергической и серотонинергической системы.

## ЛИТЕРАТУРА

1. М. А. Константинопольский, С. В. Пирожков, А. Г. Соловьева и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **55**(1), 21 – 24 (1992).
2. М. А. Константинопольский, И. В. Чернякова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(10), 12 – 16 (2011).
3. Р. У. Островская, Н. А. Крупина, Т. А. Гудашева и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **72**(5), 3 – 7 (2009).
4. М. В. Ретюнская, В. С. Кудрин, П. М. Клодт и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **68**(6), 15 – 18 (2005).
5. Ю. П. Сиволап, *Журн. неврол. и психиатр.*, **104**(1), 31 – 36 (2004).
6. Ю. П. Сиволап, *Вопр. наркол.*, **12**, 79 – 81 (2011).

7. L. S. Asmakova, T. S. Kalinina, R. U. Ostrovskaya, *Pharmacol. Biochem. Behavior*, **64**(2), 359 – 362 (1999).
8. M. Boules, H. Johnston, J. Tozy, et al., *Behav Pharmacol.*, **22**(5 – 6), 573 – 581 (2011).
9. L. M. Carcoba, A. E. Contreras, A. Cepeda-Benito, M. W. Meagher, *J. Addict. Dis.*, **30**(3), 258 – 270 (2011).
10. G. Gerra, G. Di Petta, A. D'Amore, et al., *Prog. Neuropsychopharm. Biol. Psychiatry*, **30**(7), 1291 – 1298 (2006).
11. C. Goeldner, P. E. Lutz, E. Darcq, et al., *Biol. Psychiatry*, **69**(3), 236 – 44 (2011).
12. A. I. Green, *J. Clin. Psychiatry*, **67**, Suppl. 7, 31 – 35 (2006).
13. M. Grotto, F. G. Sulman, *Arch Int Pharmacodyn Ther.*, **165**(1), 152 – 159 (1967).
14. T. A. Gudasheva, T. A. Voronina, R. U. Ostrovskaya, et al., *J. Med. Chem.*, **41**(3), 284 – 290 (1998).
15. A. Guillemette, M. A. Dansereau, N. Beaudet, et al., *Eur. J. Pain.*, **16**(4), 473 – 484 (2012).
16. M. F. Hughes, B. E. Shaner, A. L. May, et al., *J. Med. Chem.*, **53**(12), 4623 – 463 (2010).
17. K. Jagadheesan, D. Muirhead, *Aust N. Z. J. Psychiatry*, **38**(7), 560 – 561 (2004).
18. N. Latt, K. Conigrave, J. B. Saunders, et al., *Addiction medicine*, Oxford, pp. 20 – 23 (2009).
19. T. M. Kelly, D. C. Daley, A. B. Douaihy., *Addict Behav.*, **37**(1), 11 – 24 (2012).
20. C. Marras, N. Herrmann, G. M. Anderson, et al., *Am. J. Geriatr. Pharmacother.*, **10**(6), 381 – 389 (2012).
21. H. B. Pinkofsky, A. M. Hahn, F. A. Campbell, et al., *J. Clin. Psychiatry*, **66**(10), 1285 – 1288 (2005).
22. A. K. Radke, P. E. Rothwell, J. C. Gewirtz, *Neuroscience*, **31**(20), 7533 – 7539 (2011).
23. K. Torigoe, T. Mori, M. Shibusaki, et al., *Synapse*, **66**(2), 174 – 179 (2012).
24. N. D. Volkow, J. S. Fowler, G. J. Wang, et al., *Arch. Neurol.*, **64**(11), 1575 – 1579 (2007).
25. J. M. White, *Addict Behavior*, **29**(7), 1311 – 1324 (2004).
26. C. Yang, Y. Chen, L. Tang, Z. J. Wang, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **338**(1), 164 – 172 (2011).
27. M. H. Zissen, G. Zhang, A. McKelvy, et al., *Neuroscience*, **144**(1), 247 – 262 (2007).

Поступила 26.04.13

## NEUROTENSIN NT (8 – 13) DIPEPTIDE ANALOG DILEPT INCREASES THE PAIN THRESHOLD AND DECREASES THE SEVERITY OF MORPHINE WITHDRAWAL SYNDROME IN RATS

M. A. Konstantinopolsky, I. V. Chernyakova, V. S. Kudrin, P. M. Klodt, L. G. Kolik, and T. A. Gudasheva

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

The pain threshold effects of a neurotensin NT (8 – 13) dipeptide analog (dilept), morphine, and their combination have been studied using the tail flick test in rats. The animals of another experimental group were administered with morphine in increasing doses (10 – 20 mg/kg, i.p.) for 5 days in order to induce the state of dependence. The physical dependence on morphine was evaluated in the open-field test by monitoring 16 specific behavioral signs of withdrawal syndrome (WS) induced by the opioid receptor antagonist naloxone, after which the WS total index was calculated. It was established, that dilept (1.6 mg/kg, i.p.) produced a mild analgesic effect via increasing the pain threshold by 34% ( $p < 0.01$ ), did not effect on the morphine analgesic effect, and decreased the expression of morphine WS by 29.1 and 37.5% ( $p < 0.01$ ) after a single or subchronic administration, respectively. These behavioral effects of dilept were accompanied by normalization of dopamine and serotonin turnover in the hypothalamus, frontal cortex, and striatum of experimental animals.

**Keywords:** dilept; morphine; analgesic effect; withdrawal syndrome