

ПРОНИЦАЕМОСТЬ ГЕМАТОЭНЦЕФАЛИЧЕСКОГО БАРЬЕРА ДЛЯ ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ

Л. Н. Маслов¹, Ю. Б. Лишманов^{1, 2}

Анализ опубликованных данных свидетельствует о том, что β -эндорфин и эндоморфины при внутривенном введении способны проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ). Энкефалины не преодолевают этот барьер. Вопрос о том, может ли динарфин(1 – 17) проникать в головной мозг при системном введении, остаётся открытым. Установлено, что синтетические пептидные лиганды опиоидных рецепторов (ОР) способны проникать через ГЭБ с помощью транспортных систем, трансцитоза или путём диффузии. Проницаемость ГЭБ для большинства опиоидных пептидов в сотни раз ниже, чем для морфина. В настоящее время ведутся исследования по созданию пептидных агонистов ОР, которые способны проникать через ГЭБ и оказывать антиноцицептивный эффект за счёт активации центральных ОР.

Ключевые слова: опиоидные пептиды; гематоэнцефалический барьер.

ВВЕДЕНИЕ

Способность вещества проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) обратно пропорциональна его молекулярной массе и гидрофильности: чем меньше молекула и чем хуже она растворима в воде (чем выше липофильность), тем легче она преодолевает этот биологический барьер [9, 54]. Легко проникают через ГЭБ гидрофобные субстанции с молекулярной массой меньше 1000 Да [54], как, например, морфин [4]. Основным препятствием для опиоидных пептидов (ОП) на уровне капилляров головного мозга является аминопептидаза, которая, отщепляя N-концевой тирозин от полипептидной цепочки, инактивирует молекулу ОП [44]. В экспериментах с искусственным ГЭБ, построенным из монослоя эндотелиальных клеток, выделенных из мозговых микрососудов быка, было показано, что ингибитор аминопептидазы М аматагин или ингибитор ангиотензин-конвертазы каптоприл в 4 раза увеличивают проницаемость этого барьера для мет-энкефалина, но не влияют на проницаемость для энзимостойчивого пептидного агониста δ_1 -опиоидных рецепторов (ОР) Н-Тур-D-Pen-Gly-Phe-D-Pen-OH (DPDPE) [13]. Уместно предположить, что пептиды, устойчивые к энзиматическому гидролизу, могут проникать через ГЭБ. Примером подобного пептида является эритропоэтин. Этот гликопротеин, состоящий из 165 аминокислотных остатков, устойчив к энзиматической деградации [7]. Так, время полуэлиминации эритропоэтина после внутривенного введения составляет 5,6 ч, а после внутрибрюшинного введения — 7 ч [22]. Временем полуэлиминации или “временем полужизни” (half-life) принято обозначать время, за которое из крови элиминируется половина введённого препарата, или время, за которое расщепляется половина пептида *in vitro* в плазме крови или гомогенате какой-либо ткани или органа. В экспериментах на свиньях

установлено [50], что через 8 ч после внутривенного введения эритропоэтина его концентрация в спинномозговой жидкости возрастает в 4,5 раза. Важная роль пептидаз как фактора, ограничивающего проницаемость ГЭБ для опиоидных пептидов, была подтверждена в ряде работ [27, 67].

Проницаемость ГЭБ для эндогенных опиоидных пептидов. Как известно, высокой устойчивостью к действию протеаз обладает β -эндорфин [5, 66]. Время полуэлиминации β -эндорфина после внутривенного введения человеку составляет 44 мин [5], после внутривенной инъекции кролику — 14 мин [38], а после внесения этого пептида в плазму крови крысы *in vitro* этот показатель составляет 72 мин [66]. Для сравнения: время полуэлиминации АКТГ после внутривенного введения добровольцам составляет около 10 мин [33], у свиней этот показатель равен 7 мин [40]. Первыми попытались оценить проницаемость ГЭБ для β -эндорфина канадские физиологи [45]. Они выполняли эксперименты на кроликах, которым вводили внутривенно указанный ОП в дозе 12 нмоль на одного кролика, что в пересчёте на 2 кг массы тела животного составляет 6 нмоль/кг (20,8 мкг/кг). Через 15 мин после введения в ликворе было зафиксировано увеличение концентрации иммунореактивного β -эндорфина. Концентрация β -эндорфина в спинномозговой жидкости достигала максимума через 45 мин после инъекции пептида, а соотношение концентрации β -эндорфина в ликворе к уровню β -эндорфина в плазме крови составляло 0,23 [45]. По данным [38], после внутривенного введения (50 мкг/кг) β_h -эндорфина (эндорфин человека) кроликам он медленно проникает через ГЭБ. β_h -Эндорфин появляется в ликворе через 15 мин после введения, а его концентрация в спинномозговой жидкости достигает максимума через 60 мин после введения. При этом его концентрация в ликворе составляет только 4 % от концентрации пептида в крови [38]. В экспериментах с использованием радиоактивного β_h -эндорфина продемонстрировано [26], что указанный пептид появляется в ликворе уже через 30 с после внутривенного введения крысам или

¹ НИИ кардиологии, Россия, 634045, Томск, ул. Киевская, 111А.

² Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Россия, 634050, Томск, проспект Ленина, 30.

кроликам. Уровень радиоактивности в спинномозговой жидкости достигал максимума через 60 мин после применения, когда его концентрация в ликворе составляла 20 % от уровня пептида в крови. При этом приблизительно 75 % радиоактивности представлял интактный β -эндорфин [26]. Способность β -эндорфина проникать через ГЭБ была подтверждена и в других работах [25]. Некоторые исследователи полагают, что β -эндорфин при периферическом введении поступает в ликвор через так называемый “циркумвентрикулярные органы”, в которых ГЭБ практически отсутствует, и через хориоидное сплетение (plexus chorioideus) [62].

Таким образом, β -эндорфин способен преодолевать ГЭБ. Подобная особенность пептида, состоящего из 31 аминокислотного остатка, по-видимому, связана с его устойчивостью к действию протеаз. γ -Эндорфин также, по-видимому, может проникать через ГЭБ, поскольку этот пептид может оказывать центральные эффекты при подкожном введении с ED_{50} , равной 0,3 мг/кг [30].

В 1978 г. опубликованы результаты экспериментов с интракаротидным введением меченных тритием мет- и лей-энкефалина [17]. В качестве препарата сравнения использовали [^{14}C]-декстран, который не проникает через ГЭБ. Экстракция мозгом декстрана составляла 0,9 %, а для мет- и лей-энкефалина этот показатель равен 2,4 % [17]. Используя интракаротидное введение крысам лей-энкефалина, авторы [67] обнаружили, что транспорт этого пептида в мозг носит ненасыщаемый характер и ингибируется тирозином или ингибитором протеаз бацитрацином, то есть в действительности в головной мозг поступает не лей-энкефалин, а тирозин, образующийся в результате ферментативного гидролиза этого пептида. Пептиды могут попадать в головной мозг не только путём диффузии через ГЭБ, но и с помощью переносчиков, например, посредством пептид-транспортной системы (peptide transport system — PTS-1). Как показано в [12], PTS-1 осуществляет перенос через ГЭБ опиоидного пептида Tyr-Pro-Trp-Gly-NH₂ (Tyr-W-MIF-1).

Известно, что эндоморфин-1 (Tyr-Pro-Trp-Phe-NH₂), эндогенный агонисту μ -опиоидных рецепторов, отличается устойчивостью к протеазам, время его полужизни в плазме крови мышей равно 14,7 мин [60]. Возможно, что относительно высокая устойчивость эндоморфинов к ферментативному гидролизу позволяет этим пептидам легко (по сравнению с другими опиоидными пептидами) проникать через ГЭБ [60]. В экспериментах с культивируемыми эндотелиоцитами микрососудов мозга показано, что транспорт эндоморфина-2 через мембраны клеток носит ненасыщаемый характер, то есть он осуществляется без участия переносчика за счёт диффузии или трансцитоза [34].

Эндогенный агонист κ -ОР динорфин(1–13) подвергается гидролизу в плазме крови человека менее чем за 1 мин [39], поэтому представляется маловероятным, чтобы значимое количество этого пептида проникало через ГЭБ. Совершенно иначе дело обстоит с динорфином(1–17). Его время 50 % гидролиза в крови человека составляет 180 мин [16]. Уместно предположить, что

этот пептид, подобно эритропоэтину или β -эндорфину, может преодолевать ГЭБ. Однако этот вопрос до сих пор не изучался. Биологическое значение такой устойчивости динорфина(1–17) позволяет предполагать, что он может функционировать как гормон. Однако и этот вопрос остаётся пока без ответа.

Таким образом, ГЭБ практически непроницаем для энкефалинов, а вопрос о проницаемости ГЭБ для динорфина(1–17) требует изучения.

Проницаемость ГЭБ для синтетических пептидных лигандов опиоидных рецепторов. Из синтетических опиоидных пептидов применение в клинике нашёл пока только даларгин (H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg-OH). Этот агонист μ - и δ -ОР [2], благодаря наличию D-Ala в положении 2, устойчив к ферментативному гидролизу, а присутствие аргинина в конце пептидной цепочки обеспечивает его высокую гидрофильность. При внутривенном введении крысе 5 мг даларгина время его полужизни составляет 12 мин [1]. В 1987 г. установлено [47], что после введения крысам в дозе 0,5 мг/кг даларгин связывается только с 35 % опиоидных рецепторов, локализованных в продолговатом мозге. В клинике даларгин применяется в дозе 2 мг внутримышечно, в пересчёте на 70 кг массы человека эта доза составляет 28 мкг/кг [3], то есть даларгин используется для стимуляции периферических опиоидных рецепторов. В 1989 г. появилось сообщение [55] о синтезе NH₂-Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂ (DALDA), который обладал высокой селективностью к μ -ОР, а благодаря наличию D-Arg и Lys плохо проникал через ГЭБ. Время полужизни [3H]DALDA из крови составляет 24,5 мин [54]. Для сравнения: время полужизни в плазме крови другого пептидного агониста μ -ОР H-Tyr-D-Ala²-Gly-N-Me-Phe-Gly⁵-ol (DAMGO) составляет только 11 мин [60]. Согласно данным [54], через 30 мин после внутривенного введения DALDA только 0,019 % от введённой дозы пептида проходит через ГЭБ. Анальгетический эффект DALDA, который связан, главным образом, с влиянием на центральные ОР, отмечается только в дозе 5 мг/кг внутривенно. Определённое представление о проницаемости ГЭБ для опиоидных пептидов дают данные об их антиноцицептивной активности, поскольку она связана преимущественно со стимуляцией центральных ОР. Так, показано, что у человека опиоидный пептид Tyr-D-Ala-Gly-MePhe-Met(o)-ol (FK 33–824) оказывает обезболивающий эффект в дозе 1 мг внутримышечно [57]. Селективный агонист μ -ОР DAMGO оказывает антиноцицептивный эффект у мышей в дозе 0,6 мг/кг, в то время как агонист δ -ОР Tyr-D-Ser(O-tert-butyl)-Gly-Phe-Leu-Thr(O-tert-butyl) (BUBU) проявляет подобные свойства только в дозе 30 мг/кг [6]. Есть данные о том, что H-Tyr-D-Ala-Gly-Phe-D-Leu-OH (DADLE) также может поступать в головной мозг из кровотока [67]. Установлено, что кинетика поступления DPDPE в головной мозг носит насыщаемый характер, что свидетельствует о существовании переносчика, который обеспечивает транспорт этого пептида в головной мозг [58]. Ещё выше проницаемость ГЭБ для [p-Cl-Phe⁴]DPDPE [65]. Однако DPDPE вызывает аналь-

гезию у мышей при внутривенном введении в дозе 30 мг/кг, а [p-Cl-Phe⁴]DPDPE оказывает антиноцицептивный эффект в дозе 10 мг/кг [65]. Этот факт свидетельствует о низкой проницаемости ГЭБ для этих пептидов. В 1997 г. оценили проницаемость ГЭБ для опиоидов [23], сопоставляя антиноцицептивный эффект ОП при внутривенном и интрацеребровентрикулярном введении и рассчитывая индекс проницаемости ГЭБ (ИП ГЭБ). Этот показатель для морфина был равен 1980, для дельторфина I — 12, для дельторфина II — 9. Наиболее низкий показатель ИП ГЭБ был отмечен у DAMGO — 1 и у дерморфина — 3 [23]. В экспериментах с изолированными эндотелиоцитами микрососудов головного мозга показано, что на уровне ГЭБ существует транспортная система, обеспечивающая перенос дельторфинов через этот биологический барьер [23]. Представленные данные свидетельствуют о том, что хотя синтетические ОП способны преодолевать ГЭБ, но в этом отношении они в сотни раз уступают морфину. В экспериментальных исследованиях всё чаще используются пептидные антагонисты, например, селективный антагонист μ -ОР D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Arg-Thr-Pen-Thr-NH₂ (СТАР) [31, 36]. В 1997 г. попытались выяснить [4], проходит ли СТАР через ГЭБ. Подобная возможность представлялась вполне вероятной, потому что время “полужизни” этого лиганда ОР в сыворотке крови крыс составляет более 500 мин [4]. Перфузия головного мозга крыс *in situ* раствором, содержащим [³H]СТАР, показала, что пептид может проникать в ликвор. При этом поступление [³H]СТАР в спинномозговую жидкость в 2 раза превышало поступление инулина, который использовался как препарат сравнения, не проникающий в головной мозг. Транспорт [³H]СТАР носил ненасыщаемый характер, то есть осуществлялся за счёт диффузии. Хотя по способности проникает через ГЭБ [³H]СТАР уступал [³H]морфину, по мнению авторов работы [4], нельзя исключить возможность блокады центральных μ -ОР под влиянием СТАР. Несколько иные данные получили другие исследователи, которые провели сравнительный анализ способности ОП проникать через ГЭБ [60]. Они показали, что наибольшей способностью проникать через ГЭБ обладает дерморфин, в 2 раза меньшей способностью преодолевать эту преграду обладают эндоморфины и [D-Ala²]-endomorphin-2 (ТАРР), в 10 раз уступают дерморфину DAMGO и (D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Orn-Thr-Pen-ThrNH₂) (СТОР), а СТАР не способен проникать в головной мозг из кровотока (influx). Кроме того, многие пептиды (DAMGO, ТАРР, эндоморфины) способны поступать из мозга в кровоток (efflux) [60].

Представленные данные свидетельствуют о том, что синтетические ОП по своей способности пересекать ГЭБ существенно уступают морфину, однако возможность связывания с центральными ОР пептидными лигандами при их системном введении исключить нельзя. По этой причине, для того чтобы подтвердить или опровергнуть активацию центральных рецепторов пептидными агонистами, необходимо использовать антагонисты ОР, содержащие четвертичный аммоний, который не позволяет этим препаратам поступать из кровотока в го-

ловный мозг. К подобным антагонистам ОР относится метилналксон (налксона метиодид), метилналтрексон [53].

Переносчики, обеспечивающие транспорт ОП через ГЭБ. Выше мы уже упоминали о пептид-транспортной системе (PTS-1) [12]. В настоящее время установлено, что PTS-1 осуществляет транспорт через ГЭБ следующих пептидов: Tyr-W-MIF-1, Tyr-Pro-Leu-Gly-NH₂ (Tyr-MIF-1), Pro-Leu-Gly-NH₂ (MIF-1), мет-энкефалина [12, 35]. Полагают, что транспорт осуществляется как из кровотока в головной мозг, так из головного мозга в кровоток [10, 11, 12]. В 1999 г., используя ¹²⁵I-Tyr-MIF-1 и солубилизованные белки, выделенные из микрососудов головного мозга, попытались получить дополнительную информацию о природе PTS-1 [35]. Оказалось, что связывание ¹²⁵I-Tyr-MIF-1 с указанными белками ингибируется немеченным Tyr-MIF-1, но не D-Tyr-MIF-1, что демонстрирует стереоспецифичность PTS-1. Мет-энкефалин (10 мкМ) ингибирует связывание ¹²⁵I-Tyr-MIF-1 на 84 %. Лей-энкефалин, DAMGO, DPDPE или U50488 (непептидный агонист κ -ОР) в концентрации 10 мкМ не влияли на связывание ¹²⁵I-Tyr-MIF-1. Эти данные указывают на то, что PTS-1 не осуществляет перенос указанных опиоидов. Молекулярная природа этого переносчика до сих пор не установлена.

Другая транспортная система, отличная от PTS-1, осуществляет перенос эндоморфинов через ГЭБ. В экспериментах с культивируемыми эндотелиоцитами сосудов мозга показано существование насыщаемого транспорта эндоморфинов [56]. Как полагают авторы работы [56], эта система осуществляет, главным образом, “утечку” (efflux) эндоморфинов из головного мозга в кровоток. Ингибитор Р-гликопротеина циклоспорин, DAMGO, DPDPE не влияют на этот процесс.

В 1997 г. в экспериментах на изолированных микрососудах мозга быка обнаружен переносчик, который осуществляет транспорт через ГЭБ агонистов δ -ОР дельторфинов [23]. Активность этого переносчика снижалась (– 25 %) после удаления из среды инкубации Na⁺. Указанный переносчик проявлял определенное сходство с опиоидными рецепторами, налксон ингибировал захват дельторфинов микрососудами. Однако селективный антагонист δ -ОР налриндол не влиял на этот показатель [23]. Следовательно, переносчик дельторфинов отличается от опиоидных рецепторов.

Переносчик полипептидных органических анионов – organic anion-transporting polypeptides (OATPs – у человека, Oatps – у грызунов) [52]. В головном мозге человека и грызунов этот переносчик представлен следующими белками: OATP1A2, Oatp1a1, OATP1C1, Oatp1a5, OATP3A1, Oatp3a1 [52]. Полагают, что Oatps осуществляет транспорт пептидов в обоих направлениях: из кровотока в головной мозг и из мозга в кровоток [52]. Однако обычно Oatps рассматривают как белки, осуществляющие перенос пептидов из кровотока в головной мозг. Установлено, что в мозге крысы Oatp1 и Oatp2 экспрессируются, главным образом, в эпителии хориоидного сплетения [24]. Эксперименты проводили

на ооцитах *X. laevis*, которые были трансфицированы кДНК, кодирующей OATP-A, Oatp1, Oatp2 [24]. Авторы показали, что OATP-A обеспечивает транспорт DPDPE и дельторфина II, величина K_m (константа Михаэлиса) составляла для этих пептидов соответственно 202 и 330 мкМ. Величина K_m у DPDPE для Oatp1 и Oatp2 соответствовала 48 и 19 мкМ. Эти данные свидетельствуют о том, что указанные переносчики могут транспортировать DPDPE и дельторфина II через ГЭБ только при использовании в микромолярных концентрациях. Установлено, что воспаление приводит к усилению экспрессии Oatp1a4 в эндотелиоцитах, формирующих ГЭБ [51]. Однако авторам этого открытия не удалось зафиксировать усиление транспорта DPDPE из кровотока в мозг. Они предположили, что отрицательный результат эксперимента может быть следствием усиления экспрессии эндотелиоцитами белка Р-гликопротеина, который обеспечивает утечку биологически активных веществ из головного мозга в кровотоки. Действительно, когда Р-гликопротеин был ингибирован реверсином, захват DPDPE возрастал на 27 % по сравнению с контрольными значениями [51]. В экспериментах с культурой эмбриональной почки человека HEK293, экспрессирующих Oatp1a4, была подтверждена способность Oatp1a4 транспортировать через мембрану клетки DPDPE [42].

Р-гликопротеин, в отличие от большинства переносчиков пептидов, осуществляет транспорт биологически активных веществ преимущественно из головного мозга в кровотоки [37, 59]. Этот белок кодируется геном *multidrug-resistance (mdr)* [14]. Р-гликопротеин экспрессируется эндотелиоцитами капилляров головного мозга [59]. В экспериментах с культивируемыми клетками Сасо-2 и L-MDR1 установлено, что Р-гликопротеин обеспечивает соотношение *efflux:influx* для морфина, равное 1,5 [37]. Для пептидов этот показатель, видимо, ещё выше. Транспорт биологически активных веществ из головного мозга в кровотоки Р-гликопротеином является энергозависимым процессом и требует затрат АТФ [37, 59]. В экспериментах на мышах с отсутствием гена *mdr* — *mdr1a(-/-)* показано, что у мышей *mdr1a(-/-)* после внутривенного введения DPDPE концентрация этого пептида в головном мозге в 4 раза выше, чем у обычных мышей, а доза DPDPE, необходимая для достижения антиноцицептивного эффекта, у *mdr1a(-/-)* особей в 30 раз ниже, чем у мышей с нормальной экспрессией Р-гликопротеина [14]. В 1999 г. тот же авторский коллектив опубликовал данные экспериментов на мышах, которым вводили ингибитор Р-гликопротеина GF120918, а через 24 ч вводили инъекцию ^3H -DPDPE (10 мг/кг) [15]. В контроле концентрация DPDPE в мозге составляла 25 нг/г, а после применения GF120918 — 70 нг/г. Установлено, что Р-гликопротеин может переносить DAMGO [43]. Эти данные свидетельствуют о важной роли Р-гликопротеина в элиминации синтетических опиоидных пептидов из головного мозга. Установлено, что интрацеребровентрикулярное введение крысам антисенсов к мРНК Р-гликопротеина в несколько раз снижает скорость элиминации (*efflux*) из головного мозга меченного β -эндорфина, морфина и DPDPE [29]. Анти-

сенсами принято называть молекулы, комплементарные молекулам мРНК. Антисенсы избирательно блокируют синтез определённых белков. Впрочем, не все пептиды транспортируются Р-гликопротеином. В исследовании [28] были включены обычные мыши и *mdr1a(-/-)* особи, которым интрацеребровентрикулярно вводили эндоморфины, мет-энкефалин и Тур-MIF-1. Оказалось, что “утечка” указанных пептидов из головного мозга одинакова в обеих группах животных. Авторы сделали вывод, что Р-гликопротеин не участвует в переносе эндоморфинов, мет-энкефалина и Тур-MIF-1 через ГЭБ [28]. Аналогичные данные относительно эндоморфинов получили другие исследователи [56]. В экспериментах *in vivo* показано, что скорость поступления DAMGO в головной мозг в 14 раз меньше скорости его элиминации из головного мозга [32]. Ингибитор Р-гликопротеина циклоспорин не влиял на скорость элиминации DAMGO из головного мозга. Следовательно, наряду с Р-гликопротеином должен существовать переносчик, который обеспечивает элиминацию опиоидных пептидов из головного мозга.

Таким образом, большинство переносчиков транспортирует опиоидные пептиды в 2 направлениях из кровотока в головной мозг и из мозга в кровотоки. Р-гликопротеин переносит ОП и другие биологически активные вещества преимущественно из головного мозга в кровотоки.

Транцитоз ОП. Транцитозом принято называть транспорт макромолекул через мембрану клетки с образованием везикул на внешней мембране клетки, в которые попадает молекула [61]. Особенно эффективно транспортируются с помощью транцитоза гликопептиды, потому что гликозилирование повышает устойчивость пептидов к энзиматическому гидролизу и способствует образованию везикул на внешней мембране [61]. В 1994 г. [48] при выполнении экспериментов с серинил- β -D-гликозидным аналогом мет-энкефалина (LSZ1025) обнаружено, что названный гликопептид оказывает у мышей антиноцицептивный эффект в дозе 30 мг/кг внутрибрюшинно. Обезболивающий эффект не фиксировался после интрацеребровентрикулярного введения налоксона (1 мкг), поэтому авторы заключили, что антиноцицептивный эффект LSZ1025 связан со стимуляцией центральных ОР [48]. Способность гликозилирования усиливать проницаемость ГЭБ для ОП и, соответственно, усиливать их антиноцицептивный эффект подтверждена в более поздних исследованиях [21, 49, 61]. Так, показано, что гликозилирование серина в молекуле пептида Тур-D-Thr-Gly-Phe-Leu-Ser-NH₂ ведёт к значительному усилению его устойчивости к энзиматическому гидролизу в гомогенате мозга и сыворотке крови [21]. Гликозилирование усиливало антиноцицептивный эффект ОП, а в экспериментах *in situ* с перфузией головного мозга мышей было зафиксировано двукратное увеличение проницаемости ГЭБ для гликозилированного пептида [21]. Впрочем, гликозилирование некоторых ОП не влияло на их способность преодолевать ГЭБ [8].

С помощью транцитоза в головной мозг могут поступать и негликозилированные ОП. В экспериментах с монослоем эндотелиоцитов микрососудов головного мозга быка показано, что ингибитор эндоцитоза оксид фениларсина подавляет транспорт через монослой [^3H]DPDPE [20]. В экспериментах *in situ* с перфузируемым головным мозгом оксид фениларсина ингибировал транспорт DPDPE через ГЭБ. В эксперименте *in vivo* показано, что аналог дерморфина [^{125}I]ТАРА (Н-Тур-D-Arg-Phe- β -Ala-ОН) способен проникать через ГЭБ [18]. В экспериментах с культивируемыми эндотелиоцитами капилляров мозга мыши (линия ТМ-BBB4) показано, что транспорт [^{125}I]ТАРА носит насыщаемый характер и ингибируется дансилкадаверином (ингибитор эндоцитоза). Этот факт позволил авторам исследования сделать вывод о том, что транспорт ТАРА через ГЭБ осуществляется с помощью транцитоза [18]. Тот же коллектив исследователей показал, что транспорт других аналогов дерморфина Тур-D-Arg-Phe- β -Ala-ОН (АДАВ) и $\text{N}\alpha$ -amidino-Тур-D-Arg-Phe- $\text{Me}\beta$ -Ala-ОН (АДАМВ) осуществляется также с помощью транцитоза [19].

Перспективы создания ОП с повышенной проницаемостью ГЭБ. Представленные выше данные свидетельствуют о том, что исследования, направленные на создание ОП с повышенной способностью проникать через ГЭБ, должны вестись по нескольким направлениям: (1) синтез пептидов с повышенной устойчивостью к энзиматическому гидролизу; (2) создание пептидов с высокой липофильностью; (3) синтез пептидов с повышенным сродством к переносчикам; (4) разработка пептидов с низким сродством к Р-гликопротеину; (5) создание гликозилированных аналогов ОП. Приведём примеры некоторых из таких работ. Созданы аналоги лей-энкефалина, содержащие ионы железа или кобальта с повышенной липофильностью и, соответственно, с увеличенной проницаемостью для ГЭБ [46]. Синтезированы аналоги эндоморфина-2 с повышенной липофильностью и устойчивостью к пептидазам, что позволило этим пептидам проникать через ГЭБ [34]. Разработаны аналоги пептида Dmt^1 -DALDA (Dmt -D-Arg-Phe-Lys- NH_2 , где Dmt это 2',6'-dimethyltyrosine) с повышенной липофильностью и, соответственно, с усиленной способностью проникать через ГЭБ и оказывать антиноцицептивный эффект [41]. Созданы циклические аналоги энкефалинов с повышенной устойчивостью к энзиматическому гидролизу, что обеспечивает им способность проникать через ГЭБ [63]. Создан аналог эндоморфина-1 с высокой проницаемостью ГЭБ и, как следствие, с высокой анальгетической активностью [64].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ представленных данных свидетельствует о том, что β -эндорфин и эндоморфины при внутривенном введении способны проникать через ГЭБ. Энкефалины не проникают через ГЭБ. Вопрос о том, может ли динорфин(1 – 17) проникать в головной мозг при системном введении, остаётся открытым. Установлено, что синтетические пептидные лиганды опиоидных рецепто-

ров способны преодолевать ГЭБ, но существенно уступают в этом отношении морфину. В настоящее время ведутся исследования по созданию пептидных агонистов ОР, которые способны проникать через ГЭБ и оказывать антиноцицептивный эффект за счёт активации центральных ОР.

Статья подготовлена при поддержке Российского научного фонда (РНФ) грант 14-15-00008.

ЛИТЕРАТУРА

1. Е. И. Каленикова, О. Ф. Дмитриева, Н. В. Коробов и др., *Вопр. мед. химии*, № 1, 75 – 83 (1988).
2. Н. В. Коробов, *Фармакол. и токсикол.*, **51**(4), 35 – 38 (1988).
3. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства. Пособие для врачей*, т. 2, ООО “Новая волна”, Москва (2002).
4. T. J. Abbruscato, S. A. Thomas, V. J. Hruba, T. P. Davis, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **280**(1), 402 – 409 (1997).
5. N. Aronin, M. Wiesen, A. S. Liotta, et al., *Life Sci.*, **29**(12), 1265 – 1269 (1981).
6. A. Baamonde, V. Dauge, G. Gacel, B. P. Roques, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **257**(2), 767 – 773 (1991).
7. J. E. Baker, *Vascul. Pharmacol.*, **42**(5 – 6), 233 – 241 (2005).
8. Ballet, C. Betti, A. Novoa, et al., *ACS Med. Chem Let.*, **5**(4), 352 – 357 (2014).
9. W. A. Banks, A. J. Kastin, *Brain Res Bul.*, **15**(3), 287 – 292 (1985).
10. W. A. Banks, A. J. Kastin, *Am. J. Physiol.*, **259**(1), E1 – E10 (1990).
11. W. A. Banks, A. J. Kastin, C. A. Ehrensing, *J. Neurosci. Res.*, **35**(6), 690 – 695 (1993).
12. W. A. Banks, A. J. Kastin, *Alcohol.*, **14**(3), 237 – 245 (1997).
13. E. A. Brownson, T. J. Abbruscato, T. J. Gillespie, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **270**(2), 675 – 680 (1994).
14. C. Chen, G. M. Pollack, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **287**(2), 545 – 552 (1998).
15. C. Chen, G. M. Pollack, *Pharm. Res.*, **16**(2), 296 – 301 (1999).
16. J. Z. Chou, B. T. Chait, R. Wang, M. J. Kreek, *Peptides*, **17**(6), 983 – 990 (1996).
17. E. M. Cornford, L. D. Braun, P. D. Crane, W. H. Oldendorf, *Endocrinology*, **103**(4), 1297 – 1303 (1978).
18. Y. Deguchi, Y. Miyakawa, S. Sakurada, et al., *J. Neurochem.*, **84**(5), 1154 – 1161 (2003).
19. Y. Deguchi, Y. Naito, S. Ohtsuki, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **310**(1), 177 – 184 (2004).
20. R. D. Egleton, T. P. Davis, *J. Pharm. Sci.*, **88**(4), 392 – 397 (1999).
21. R. D. Egleton, S. A. Mitchell, J. D. Huber, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **299**(3), 967 – 972 (2001).
22. S. Erbayraktar, G. Grasso, A. Sfacteria, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**(11), 6741 – 6746 (2003).
23. A. Fiori, P. Cardelli, L. Negri, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **94**(17), 9469 – 9474 (1997).
24. B. Gao, B. Hagenbuch, G. A. Kullak-Ublick, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **294**(1), 73 – 79 (2000).
25. R. H. Gerner, B. Sharp, D. H. Catlin, *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, **55**(2), 358 – 360 (1982).
26. R. A. Houghten, R. W. Swann, C. H. Li, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **77**(8), 4588 – 4591 (1980).
27. A. J. Kastin, K. Hahn, J. E. Zadina, *Life Sci.*, **69**(11), 1305 – 1312 (2001).
28. A. J. Kastin, M. B. Fasold, J. E. Zadina, *Drug Metab. Dispos.*, **30**(3), 231 – 234 (2002).
29. M. King, W. Su, A. Chang, et al., *Nat. Neurosci.*, **4**(3), 268 – 274 (2001).

30. I. Kiraly, M. Tapfer, J. Borsy, L. Graf, *Peptides*, **2**(1), 9 – 12 (1981).
31. T. H. Kramer, J. E. Shook, W. Kazmierski, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **249**(2), 544 – 551 (1989).
32. A. Lindqvist, S. Jönsson, M. Hammarlund-Udenaes, *Mol. Pharm.*, **13**(4), 1258 – 1266 (2016).
33. A. S. Liotta, C. H. Li, G. C. Schussler, D. T. Krieger, *Life Sci.*, **23**(23), 2323 – 2330 (1978).
34. J. R. Mallareddy, G. Tóth, C. Fazakas, et al., *Chem. Biol. Drug Des.*, **79**(4), 507 – 513 (2012).
35. G. A. Maresh, A. J. Kastin, T. T. Brown, et al., *Brain Res.*, **839**(2), 336 – 340 (1999).
36. L. N. Maslov, Yu. B. Lishmanov, P. R. Oeltgen, et al., *Life Sci.*, **84**(19 – 20), 657 – 663 (2009).
37. C. L. Mercer, A. Coop, *Cur. Top. Med. Chem.*, **11**(9), 1157 – 1164 (2011).
38. M. Merin, V. Holtt, R. Przewlocki, A. Herz, *Life Sci.*, **27**(4), 281 – 289 (1980).
39. S. Muller, G. Hochhaus, *Pharm. Res.*, **12**(8), 1165 – 1170 (1995).
40. S. S. Murphy, R. A. Donald, J. D. Nabarro, *Acta Endocrinol. (Copenh)*, **61**(3), 525 – 532 (1969).
41. A. Novoa, S. Van Dorpe, E. Wynendaele, et al., *J. Med. Chem.*, **55**(22), 9549 – 9561 (2012).
42. A. Ose, H. Kusuhara, C. Endo, et al., *Drug Metab. Dispos.*, **38**, 168 – 176 (2010).
43. R. P. J. Oude Elferink, J. Zadina, *Peptides*, **22**(12), 2015 – 2020 (2001).
44. W. M. Pardridge, L. J. Mietus, *Endocrinology*, **109**(4), 1138 – 1143 (1981).
45. P. D. Pezalla, M. Lis, N. G. Seidah, M. Chretien, *Can. J. Neurol. Sci.*, **5**(2), 183 – 188 (1978).
46. A. Pinto, U. Hoffmanns, M. Ott, et al., **10**(11), 1852 – 1860 (2009).
47. V. M. Polonskii, K. N. Iarygin, O. G. Krivosheev, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **103**(4), 433 – 434 (1987).
48. R. Polt, F. Porreca, L. Z. Szabo, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**(15), 7114 – 7118 (1994).
49. R. Polt, M. Dhanasekaran, C. M. Keyari, *Med. Res. Rev.*, **25**(5), 557 – 585 (2005).
50. P. Romsy, E. Ronka, K. Kiviluoma, et al., *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.*, **124**(4), 714 – 723 (2002).
51. P. T. Ronaldson, T. P. Davis, *Ther. Deliv.*, **2**, 1015 – 1041 (2011).
52. P. T. Ronaldson, T. P. Davis, *Pharmacol. Rev.*, **65**(1), 291 – 314 (2013).
53. J. Russell, P. Bass, L. I. Goldberg, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **78**(3), 255 – 261 (1982).
54. A. Samii, U. Bickel, U. Stroth, W. M. Pardridge, *Am. J. Physiol.*, **267**(1 Pt 1), E124 – E131 (1994).
55. P. W. Schiller, T. M.-D. Nguyen, C. Lemieux, *Advances in the Biosciences*, Pergamon Press, London (1989), pp. 85 – 88.
56. A. Somogyvari-Vigh, A. J. Kastin, J. Liao, et al., *Exp. Brain Res.*, **156**(2), 224 – 230 (2004).
57. G. Stacher, P. Bauer, H. Steininger, et al., *Pain*, **7**(2), 159 – 172 (1979).
58. S. A. Thomas, T. J. Abbuscato, V. J. Hruby, T. P. Davis, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **280**(3), 1235 – 4120 (1997).
59. N. Tournier, X. Declèves, B. Saubaméa, et al., *Cur. Pharm. Des.*, **17**(26), 2829 – 2842 (2011).
60. S. Van Dorpe, A. Adriaens, I. Polis, *Peptides*, **31**(7), 1390 – 1399 (2010).
61. P. Varamini, I. Toth, *Front. Pharmacol.*, **4**, 155 (2013).
62. J. G. Veening, P. O. Gerrits, H. P. Barendregt, *Fluids Barriers CNS*, **9**(1), 16 (2012).
63. M. Verbeken, E. Wynendaele, E. Mauchauffée, et al., *Peptides*, **63**, 10 – 21 (2015).
64. Y. Wang, X. Liu, D. Wang, et al., *Neuropharmacology*, **97**, 312 – 321 (2015).
65. S. J. Weber, D. L. Greene, S. D. Sharma, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **259**(3), 1109 – 1117 (1991).
66. E. A. Young, R. A. Houghten, H. Akil, *Eur. J. Pharmacol.*, **167**(2), 229 – 236 (1989).
67. B. V. Zlokovic, D. J. Begley, D. G. Chain-Eliash, *Brain Res.*, **336**(1), 125 – 132 (1985).

Поступила 02.09.16

THE BLOOD–BRAIN BARRIER PERMEABILITY FOR OPIOID PEPTIDES

L. N. Maslov¹ and Yu. B. Lishmanov^{1,2}

¹ Cardiology Research Institute, Tomsk Medical Research Center, Russian Academy of Sciences, ul. Kievskaya 111A, Tomsk, 634054 Russia

² Tomsk Polytechnic University, prosp. Lenina 30, Tomsk, 634050 Russia

Analysis of published data indicates that β -endorphin and endomorphins are capable of penetrating the blood–brain barrier (BBB) upon intravenous administration, whereas enkephalins cannot penetrate this barrier. The question of whether dynorphin (1 – 17) can reach the brain up[on systemic administration is still open. It has been established that synthetic peptide ligands of opioid receptors (ORs) are capable of penetrating BBB with the aid of transport systems, via transcytosis, and/or by means of diffusion. The BBB permeability for most opioid peptides is hundred times as low as that for morphine. At present, investigations are in progress that aim at creating peptide agonists of ORs capable of penetrating BBB and producing antinociceptive effect due to the activation of central ORs.

Keywords: opioid peptides; blood–brain barrier.