

УДК 615.015.6

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АДДИКТИВНОГО ПОТЕНЦИАЛА НОВЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ ММВ-2201 И СBL-2201 МЕТОДОМ ОЦЕНКИ ПРЕДПОЧТЕНИЯ МЕСТА

Апушкин Д.Ю., Андреев А.И., Булатов И.П., Малкова Т.Л.

*ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России, Пермь, Россия, kaftox@mail.ru*

В статье обосновывается целесообразность применения метода УРПМ для химико-фармакологических экспертиз и приводится пример его использования. Определение аттрактивных или аверсивных свойств в работе выполнялось с помощью приподнятого лабиринта с прозрачными стенками и характерными для каждой камеры символами, в рамках 4-фазной экспериментальной программы, включающей периоды обучения с подкреплением, ежедневной двукратной экспозиции исследуемым веществом, период без подкрепления и период фиксации результатов. Таким образом, было выполнено определение аддиктивного потенциала новых синтетических веществ ММВ-2201 и СBL-2201 (относящихся к группе синтетических каннабиноидов, в состав которых входит 5-фторпентил индол); для обоих этих веществ отмечены многократные случаи злоупотребления в социальной практике. Установлено, что вещество ММВ-2201 вызывает выраженное предпочтение рукава, ассоциированного с экспозицией у молодых самцов крыс (Wistar), тогда как вещество СBL-2201 не вызывало выраженных изменений пространственных предпочтений у крыс в дозе 5 мг/кг.

Ключевые слова: аддиктивный потенциал, наркотенная активность, ММВ-2201, СBL-2201, радиальный лабиринт.

## ADDICTIVE POTENTIAL DEFINITION OF NEW SYNTHETIC SUBSTANCES ММВ-2201 СBL-2201 BY THE CONDITIONED PLACE PREFERENCE METHOD

Apushkin D.Y., Andreev A.I., Bulatov I.P., Malkova T.L.

*Perm state pharmaceutical academy, Perm, Russia (614070, Perm, Polevaya 2, PO Box 2600), e-mail: kaftox@mail.ru*

The article explains the usefulness of the method CPP for chemical and pharmacological expertise, and an example of its use. Definition of attractive or aversive properties of the work was carried out with the help of elevated maze with transparent walls and characteristic for each camera symbols within the 4-phase pilot program consisting of periods of reinforcement learning, the daily double exposure the test substance, the period of time without reinforcement and recording the results. Thus was fulfilled the definition of addictive potential of new synthetic substances ММВ-2201 and СBL-2201 (belonging to the group of synthetic cannabinoids, which include 5-fluoropentyl indole); for both of these substances marked multiple instances of abuse in social practice. It was established that the substance ММВ-2201 causes marked preference sleeve associated with the exposure of young male rats (Wistar), whereas the substance СBL-2201 did not cause marked changes spatial preference in rats at a dose of 5 mg / kg.

Keywords: addictive potential, narcogene activity, ММВ-2201, СBL-2201, radial maze.

Последние несколько лет отмечается резкое увеличение незаконного оборота в России и за ее пределами широкого спектра синтетических соединений, являющихся структурными аналогами ряда наркотических средств и психотропных веществ [3,6]. Это объясняется рядом причин, основной из которых является отсутствие действующей эффективной базы для привлечения к ответственности за незаконный оборот аналогов наркотических средств и психотропных веществ. Кроме того, посредством Интернета ведется активная реклама этих веществ, зачастую характеризующая их как легальные и безопасные.

Для разрешения этой проблемы нужно определить и выполнить ряд задач, главная из которых – усовершенствование законодательства в области оборота наркотических средств.

Значительно сократился период времени между появлением на нелегальном рынке новых психоактивных веществ и внесением их в Список наркотических средств и психотропных веществ из Перечня запрещенных к обороту. Однако многие вещества можно было и раньше отнести к контролируемым через понятие «аналог наркотического средства» [2,6]. Проведенные нами исследования, а именно – химико-фармакологические экспертизы, позволили выработать ряд предложений, позволяющих сформировать процедуру отнесения новых психоактивных веществ к аналогам наркотических средств или психотропных веществ.

Одной из частей химико-фармакологической экспертизы, необходимой для признания исследуемого вещества в качестве аналога наркотического средства, является определение аддиктивного потенциала. Под аддиктивным потенциалом вещества понимается его способность вызывать патологическое пристрастие. Определение аддиктивного потенциала является одним из тестов, не входящих в «ядро» фармакологической (биологической) части экспертизы, поскольку не входит в число критериев сравнения психоактивного действия исследуемого вещества с действием эталона сравнения, либо с действием, характерным для некоторого класса веществ. В рамках крупных классов веществ (таких как, например, неклассические синтетические каннабиноиды) могут быть вещества как обладающие, так и не обладающие выраженными «аттрактивными» либо «аверсивными» [8] свойствами, и тем не менее с многократно отмечаемыми, социально значимыми случаями злоупотребления. Тем не менее установление аддиктивного потенциала является важной частью комплексной характеристики психоактивного действия исследуемого вещества. Отметим, что под воздействием некоторых веществ может формироваться также условный рефлекс избегания места (УРИМ) и эквивалентные ему явления в случае применения других методологий.

В рамках химико-фармакологической экспертизы целесообразно выявление вторично-подкрепляющих свойств, посредством формирования условной реакции предпочтения места (УРПМ) [1], ассоциированного с действием фармакологического средства, как неинвазивной, воспроизводимой на базе поведенческих лабораторий тестовой техники. Преимущества и ограничения разных подходов к описанию аддиктивного потенциала подробно рассмотрены в работе [8].

## **Материалы и методы**

### *Животные*

Для исследования использовались белые крысы-самцы массой 180–250 мг, в возрасте 4–6 мес. Животные содержались в условиях вивария ГБОУ ВПО Минздрава России, в отдельной комнате, при температуре  $20 \pm 2$  °С и влажности воздуха 60 %, помещение оборудовано принудительной приточно-вытяжной вентиляцией. Клетки, в которых

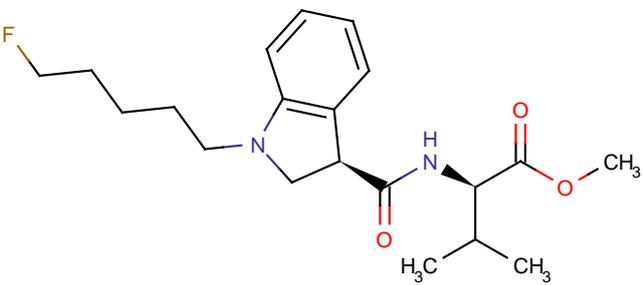
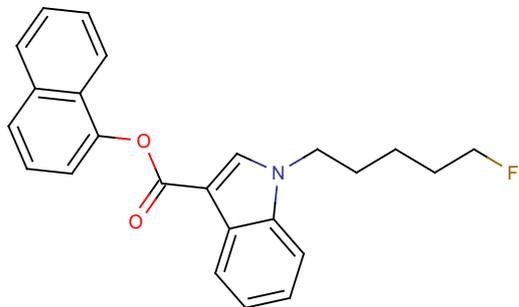
содержались животные, установлены на металлических стеллажах и удовлетворяют потребностям животных, а также требованиям гигиены и санитарии. Имеют гладкие, непроницаемые поверхности с минимальным количеством выступов, изгибов, углов и соприкасающихся поверхностей, что позволяет уменьшить накопление грязи, мусора, влаги и обеспечивает возможность очистки и дезинфекции (АХД 2000) [4].

#### *Химические вещества*

Исследованные вещества (см. табл. 1) относятся к группе синтетических каннабиноидов. Оба имеют в своей структуре индольный цикл. На исследование поступили в мае 2014 года. **MMB-2201**. Синонимы: метил-3-метил-2-[1-(5-фторпентил)-1H-индол-3-илкарбоксамидо] бутаноат; метиловый эфир N-(карбамоил-2-метилпропил)-1-(5-фторпентил)-1H-3-карбоновой кислоты. **CBL-2201**. Синонимы: NM-2201; нафталин-1-ил-1-(5-фторпентил)-1H-индол-3-карбоксилат). Физико-химические свойства веществ схожи: вещества представляют собой мелкодисперсные порошки, плохо растворимые в воде. При продолжительном стоянии способны гидролизоваться.

Таблица 1

Исследованные вещества

MMB-2201	CBL-2201
	
<p>IUPAC: methyl(1-(5-fluoropentyl)-1H-indole-3-carbonyl)-L-valinate</p>	<p>IUPAC: naphthalen-1-yl 1-(5-fluoropentyl)-1H-indole-3-carboxylate</p>

#### *Оборудование*

Для изучения аддиктивного потенциала использовался приподнятый лабиринт с прозрачными стенками с 3 отсеками. Установка представляет собой центральную площадку диаметром 34 см и 2 рукава, находящихся напротив друг друга длиной по 86 см и шириной 10 см, высота прозрачных стенок 20 см и более. Все отсеки должны отделяться подвижными перегородками. Каждый рукав должен иметь различные опознавательные стимулы. После каждой посадки крыс в лабиринт, установка протиралась влажной тряпкой, смоченной перекисью водорода 3 %.

### *Поведенческие измерения*

В тесте фиксируют предпочтение места животными экспериментальной группы, определяя «аттрактивный» либо «аверсивный» характер поведения, в сравнении с контрольной, после прекращения подкрепления исследуемым веществом.

Перед тестом и во время всего исследования крысы содержатся на диете (кормление проводят только после завершения манипуляций в лабиринте), их также приучали к рукам (на протяжении нескольких минут до и после посадки в установку держат на руках, гладят) и процедуре введения инъекций.

Вещества животным вводились в растворе или суспензии в 0,05 % растворе твиновой смеси внутривентриально в дозе 5 мг/кг, в соответствии с правилами переноса доз [7]. В качестве плацебо используется растворитель, используемый для введения исследуемого вещества.

Экспериментальная программа делилась на 4 фазы.

1 фаза – обучение животных в течение 4 дней. Крысу, после нескольких минут приучения к рукам, помещают на центральную площадку перпендикулярно направлению открытых рукавов. В каждый конец рукава помещается пищевое подкрепление. Время нахождения животного в установке – 15 минут. По окончании сессии животное вынимается из лабиринта и снова приучается к рукам, перед посадкой в общую клетку. Затем животному вводится 0,2–0,4 мл раствора плацебо. Цель этой фазы – приручение животного к рукам и уколам, построение животными позитивно подкреплённой когнитивной карты [9]. По завершении первой фазы обучения выполняется контрольный опыт. После посадки животного в центральный отсек производится мониторинг его двигательной активности – замеряется время их нахождения в каждом из трёх отсеков. Время замеряется в секундах, начиная с момента посадки, для упрощения последующих вычислений.

2 фаза – введение исследуемого соединения. Период фармакологического обусловливания продолжается 4 дня. Ежедневно проводят две сессии выработки условного рефлекса на место. Первая сессия является дифференцировочной. Перед помещением в один из отсеков (отсеки камеры разделены перегородкой) на 30 мин (в зависимости от сроков действия вещества) животным вводят раствор плацебо. Во время второй сессии вводят исследуемое соединение (в контрольной группе – растворитель) перед помещением животного в противоположный отсек на 30 минут. Размещение животных после инъекции в том или ином отсеке производят в случайном порядке таким образом, что половину группы размещают в данном отсеке после инъекции препарата, а другую половину – после введения раствора плацебо. После каждого опыта камеры обрабатывают 3 % раствором перекиси водорода.

3 фаза – перерыв после выработки условного рефлекса, составляющий 72 часа после последнего обуславливания. В это время животные продолжают находиться на диете, с ними не производят никаких манипуляций.

4 фаза – заключительное тестирование. Вынимаются перегородки между отсеками, и в течение 15 минут крыса свободно исследует все отсеки.

Регистрируют время нахождения в отсеках и количество переходов из одного отсека в другой.

#### *Обработка результатов*

Объёмы выборок – по 7 животных в 3 группах. Фиксация результатов выполнялась дважды в течение опыта – в конце фазы обучения и на фазе итогового тестирования. По результатам фиксации определялись предпочтения в выборе одного из рукавов, в которых выполнялись экспозиции исследуемых веществ или плацебо. Рассчитывался индекс предпочтения, для чего была применена следующая формула (см. рис.1):

$$I_{add} = \left( \frac{T_{exp}}{T_{cen}} \right) - \left( \frac{T_{eqs}}{T_{cen}} \right) \quad (1)$$

Рис.1

$I_{add}$  – индекс предпочтения,  $T_{exp}$  – время пребывания животного в рукаве, где выполнялось экспонирование исследуемым веществом,  $T_{cen}$  – время пребывания животного на центральной площадке, где не выполнялось инъекций,  $T_{eqs}$  – время пребывания животного в рукаве, где выполнялось эквистрессовое воздействие – экспонирование плацебо.

Индекс принимает положительные значения в случае предпочтения рукава, где выполнялась экспозиция исследуемым веществом, и отрицательные, если плацебо.

Для контроля однородности масштабов распределений применялись непараметрические тесты Муда и Ансари – Брэдли, для контроля сдвигов распределений – тест Манна – Уитни.

#### **Результаты и обсуждение**

Непосредственно после периода обучения животные всех групп предпочитают основную часть времени находиться в центральной камере, не ассоциирующейся у них ни с какими стрессовыми воздействиями – 520, 514 и 439 секунд для контроля, групп, экспонированных ММВ-2201 и СВЛ-2201 соответственно. Несмотря на значительную вариабельность предпочтений, тесты масштабных и сдвиговых различий позволяют констатировать неразличимость выборок на этой фазе исследования (см. табл. 2а).

Значения индекса предпочтений после обучения

Группа	Медианное значение индекса	Межквартильный размах Индекса	Тест Ансари – Брэдли р-значения*	Тест Манна – Уитни р-значения*
Контроль	0,15	0,27	н/р**	н/р
ММВ-2201	0,035	2,39	0,71	0,90
СВЛ-2201	-0,17	0,93	0,53	0,39

\* р-значения тестов рассчитаны для каждой группы по сравнению с контролем.

\*\* н/р – не рассчитывалось.

После фармакологического обуславливания предпочтение группы, экспонированной веществом ММВ-2201, сдвигается в сторону рукава, где выполнялось экспонирование этим агентом, при р-значении 0,07, находящемся между принятыми уровнями значимости – 0,1 и 0,05. Предпочтения животных, экспонированных веществом СВЛ-2201, остались прежними.

Таблица 2б

Значения индекса предпочтений при итоговом тестировании

Группа	Медианное значение индекса	Межквартильный размах Индекса	Тест Ансари – Брэдли р-значения*	Тест Манна – Уитни р-значения*
Контроль	1,8	7,55	н/р	н/р
ММВ-2201	11,76	34,5	0,16	<u>0,07</u>
СВЛ-2201	-1,61	29,97	0,56	1,00

\* р – значения тестов рассчитаны для каждой группы по сравнению с контролем.

н/р – значения тестов не рассчитывались.

Таким образом, в данном тесте была выявлена тенденция к смещению предпочтений у животных, экспонированных агентом ММВ-2201 в дозе 5 мг/кг, указывающая на наличие аддиктивного потенциала у данного вещества в этой дозе. У вещества СВЛ-2201 в той же дозе указанной тенденции не выявлено.

При этом необходимо отметить, что на социальном уровне наблюдаются случаи многократного злоупотребления обоими веществами. Наличие или отсутствие аддиктивного потенциала не является критерием отнесения вещества к аналогу наркотического средства (ФЗ № 3), однако его определение представляет значительный интерес с точки зрения классической наркологии, проясняя один из механизмов формирования физиологической зависимости.

### Выводы

- 1) После периода обучения у животных не наблюдается сформированных пространственных предпочтений одного из рукавов.
- 2) У вещества ММВ-2201 из группы синтетических каннабиноидов в дозе 5 мг/кг методом УРПМ выявлен выраженный аддиктивный потенциал.

3) У вещества CBL-2201 из группы синтетических каннабиноидов в дозе 5 мг/кг, аддиктивный потенциал выявлен не был.

### Список литературы

1. Буреш Я., Бурешова О., Хьюстон Д. П. Методики и основные эксперименты по изучению мозга и поведения. – М.: Высшая школа, 1991. – С. 119 -122.
2. Закон Российской Федерации "О наркотических средствах и психотропных веществах" от 08.01.1998 № 3 // Собрание законодательства Российской Федерации. 1998. № 2. Ст. 219 с изм. и допол. в ред. от 25.05.2014.
3. Информационное письмо «"Методические подходы по отнесению соединений к производным наркотических средств и психотропных веществ" в соответствии с постановлением Правительства Российской Федерации от 30 октября 2010 г. № 882» от 25 ноября 2010 г. № 37/24 - 6968.
4. Постановление Главного Государственного санитарного врача СССР «Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 06.04.1973 № 1045-73 // Санитарные правила по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). 1980.
5. Постановление Правительства Российской Федерации «Об утверждении перечня наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, подлежащих контролю в Российской Федерации» от 30.06.1998 № 681 // Собрание законодательства Российской Федерации. 1998 г. № 27. Ст. 3198 с изм. и допол. в ред. от 31.05.2014.
6. Правовые аспекты оборота наркотических, психотропных, сильнодействующих, ядовитых веществ и прекурсоров. Государственные и ведомственные акты. Методические материалы. Комментарии. Ответы на вопросы. Ч. 1-3 / Бабаян Э.А., Бардин Е.В., Гаевский А.В. – М.: МЦЭФР, 2000-2002.
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств / Миронов, Бунатьян, Васильева, Верстакова, Журавлева, Лепяхин, Коробов, Меркулов, Орехов, Сакаева, Утешев, Яровский, Под ред. Миронова А.Н. – М. : Гриф и К, 2012.
8. Экспериментальное доклиническое изучение аддиктивного потенциала фармакологических средств. Методические рекомендации № 2000/112. Звартау Э.Э., Кузьмин А.В., Беспалов А.Ю. Институт фармакологии СПбГМУ.
9. Tolman E.C., Cognitive maps in rats and men, Psychological Review, 1948, Vol. 55, p. 192.

**Рецензенты:**

Сыропятов Б.Я., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой физиологии с основами анатомии  
ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России, г. Пермь.

Терехин Г.А., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой экстремальной медицины и  
товароведения, ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава России, г. Пермь.