

**Маркин П.А., аспирант,
Институт Фармации,
Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет),
Шестакова К.М., младший научный сотрудник,
Москалева Н.Е., кандидат химических наук, старший научный сотрудник,
Лаборатория фармакокинетики и метаболомного анализа,
Института трансляционной медицины и биотехнологии,
Первый Московский государственный медицинский университет
И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет),
Тарасов В.В., кандидат фармацевтических наук, доцент,
Савицкий М.В.,
Институт фармации,
Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет),
Апполонова С.А., кандидат химических наук, заведующая,
Лаборатория фармакокинетики и метаболомного анализа,
Институт трансляционной медицины и биотехнологии,
Первый Московский государственный медицинский университет
им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)**

АНАЛИЗ ВОЗДЕЙСТВИЯ НОВОГО ПСИХОАКТИВНОГО ВЕЩЕСТВА 5F-АПИНАК НА КОНЦЕНТРАЦИИ ЭНДОБИОТИКОВ РАЗЛИЧНЫХ НЕЙРОМЕДИАТОРНЫХ СИСТЕМ НА ПРИМЕРЕ МОДЕЛЕЙ ЗЕБРАФИШ (*Danio rerio*) И КРОЛИКОВ

Аннотация: синтетические каннабиноиды являются химическими веществами, обладающими сильным аффинитетом к каннабиноидным рецепторам организма, тем самым проявляя эффекты натуральных каннабимиметиков, таких как Δ^9 -тетрагидроканнабиол. В последние десятилетия синтетические каннабиноиды начали завоевывать огромную нишу на черном рынке психоактивных веществ, вызывая все большую необходимость в изучении их психоактивных эффектов и влияния на организм. Синтетические каннабиноиды относят к группе так называемых «новейших психоактивных веществ», при этом количество данных соединений постоянно растет. В связи с этим, химический состав новых психоактивных веществ чаще всего неизвестен, при этом разработка скрининговых методик для их определения занимает большое количество времени, поэтому на данный момент появилась острая необходимость разработки методик быстрого определения потенциальной наркотичности химических веществ. Одним из возможных путей установления наркотичности является определение изменений концентраций нейромедиаторов в ответ на введение химических веществ. Эксперименты по определению нейроактивности чаще всего проводят на экспериментальных животных из класса млекопитающих, в частности на крысах, мышах, кроликах. Использование млекопитающих в экспериментальных целях связано с большим количеством ограничений, включая сложность в обращении и содержании, сложность постановки экспериментов, и, что немаловажно, невозможность отбора пробы, которая представляла бы информацию обо всем организме. В последние десятилетия начинает набирать популярность использование рыбок зебрафиш (*Danio rerio*) как модельного организма. Преимуществами рыбок данио над млекопитающими являются легкость в обращении, сравнительно низкие затраты на содержание и возможность анализа содержания эндобиотиков во всем организме из-за малых размеров зебрафиш.

В данной работе приводится исследование изменений концентраций эндобиотиков, связанных с различными нейромедиаторными системами, после введение синтетического каннабиноида 5F-АПИНАК с помощью метаболомных методов на моделях кроликов и зебрафиш (*Danio rerio*).

Ключевые слова: метаболомика; новые психоактивные вещества; синтетические каннабиноиды; нейромедиаторы; метаболизм триптофана; зебрафиш; кролики

1. Введение

Число синтетических каннабиноидов (СК) на черном рынке запрещенных препаратов возрастает

с каждым годом, формируя в настоящее время один из наиболее распространенных классов синтетических наркотических средств. За счет высо-

кой липофильности, СК легко проникают через гематоэнцефалический барьер и оказывают сильные психоактивные и токсичные эффекты на центральную нервную систему.

Новый синтетический каннабимиметик 5F-АПИНАК представляет собой недавно открытый СК из класса адамантилиндазолов (рис. 1). В рабо-

те [2, с. 165-168] описан *in vitro* и *in vivo* метаболизм 5F-АПИНАК, где было выявлено, что основными продуктами его биотрансформации являются 5F-пентилиндазол карбоновая кислота и гидроксильные производные родительского соединения.

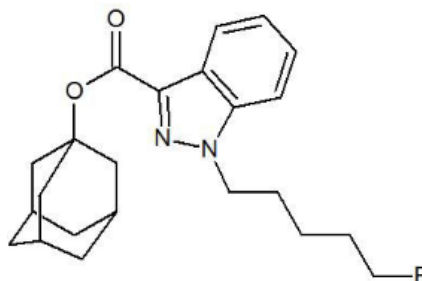


Рис. 1. Химическая структура нового синтетического каннабимиметика 5F-АПИНАК

Эндобиотики нейротрансмиттерной системы, ассоциированной с метаболизмом триптофана, обладают высокими уровнями нейроактивности. Триптофан является незаменимой аминокислотой, обладающей сильной иммуногенной и нейротропной активностью, а также является прекурсором синтеза белков, никотиновой кислоты и нейромедиатора серотонина [7, с. 375]. Более того, некоторые производные триптофана проходят через гематоэнцефалический барьер оказывая сильное влияние на поведенческую деятельность и функцию ЦНС [4, с. 738-740].

Традиционными биологическими моделями для изучения влияния различных препаратов на эндобиотическую систему являются лабораторные мыши, кролики или крысы. Однако, в последнее время нередко при исследованиях токсичности различных веществ используют модели на основе зебрафиш (*Danio rerio*) в силу высокой скорости их развития, раннего морфологического детерминизма и малых затрат на содержание [6, с. 6-9].

В данной работе проводилось исследование влияния различных доз нового синтетического каннабимиметика 5F-АПИНАК на эндобиотики нейротрансмиттерных систем у кроликов и мальков зебрафиш.

2. Материалы и методы

2.1 Дизайн экспериментальных работ на кроликах

Эксперимент проводился на двенадцати кроликах с массой в диапазоне от 2,5 до 3,5 кг после двухнедельного карантина. Первым трем группам кроликов вводили 1 мл 5F-АПИНАК (растворенный в смеси DMSO: PEG400: Вода / 5:45:50) в трех различных концентрациях (0,1, 1 и 2 мг/кг), тогда как четвертой – 1 мл смеси для растворения

исследуемого вещества. Образцы крови отбирали до введения препарата, а также на восьми временных точках после введения препарата. Все эксперименты проводились в соответствии с ГОСТ 33216-2014 «Правила содержания и ухода за лабораторными грызунами и кроликами».

2.2 Дизайн экспериментальных работ на зебрафиш.

Эмбрионы зебрафиш переносили в лунки 12-ти луночного планшета. По достижении шестидневного возраста, начинали проведение эксперимента. Воздействие 5F-АПИНАК длилось 4 часа. В эксперименте участвовало шесть групп эмбрионов, из которых пять получали раствор 5F-АПИНАК в 0,1% диметилсульфоксида в среде Е3 различной концентрации (0,001, 0,01, 0,1, 1,0 и 10 мкМ), а шестая – группа контроля – подвергалась воздействию 0,1% раствора диметилсульфоксида в среде Е3. Температура среды поддерживалась на уровне 26±2°C. Исследование проводилось в соответствии с ГОСТ 33774-2016 «Методы испытаний химической продукции, представляющей опасность для окружающей среды. Острая токсичность для эмбрионов рыб».

2.3 Инструментальный анализ

Инструментальный анализ проводили на жидкостном хроматографе модели Agilent 1290 Infinity II, сопряженным с тройноквадрольным масс-спектрометром с электроспрейной ионизацией Agilent 6470 (Agilent Technologies, Paolo Alto, CA, США). Хроматографическое разделение проводилось на колонке Discovery PFP HS F5 column (150 мм x 2.1 мм, 3 мкм) (Supelco, Bellefonte, Pennsylvania, США). Мобильная фаза А состояла из 0.1% раствора муравьиной кислоты в воде, мобильная фаза В – 100% ацетонитрил. Градиентное

элюирование проводилось по следующей схеме: 0 мин – 1% В; 4 мин – 10% В; 9 мин – 90% В; 10 мин – 90% В; 10.1 мин – 1% В; 12 мин 1 – 1% В. Скорость потока составляла 0.4 мл/мин. Температура колонки была установлена на 45°C. Анализ проводился в режиме положительной ионизации. Параметры масс-спектрометрического детектирования: температура газа - 300°C; скорость потока – 8 л/мин; газ-распылитель – 20 psi; температура оболочного газа – 300 °C; скорость потока оболочного газа – 10 л/мин; напряжение на капилляре – 1500 В.

2.4 Валидация метода

ВЭЖХ-МС/МС анализ в данном исследовании был валидирован в соответствии с внутренними руководствами лаборатории по проведению валидации биоаналитических методов. Растворы контроля качества и калибровочные стандарты гото-

вились ежедневно. Валидация проводилась в линейном диапазоне с коэффициентом корреляции (r^2) для всех образцов выше 0,99. Отклонения в концентрационных уровнях калибраторов не превышали 15%. Нижний предел количественного определения рассчитывался как наименьший стандарт калибровочной кривой, который может быть количественно определен с установленной точностью. Точность метода была проверена на трех концентрационных уровнях в шести повторностях образцов контроля качества.

3. Результаты

3.1 Изменения уровней нейроактивных эндоб-иотиков у кроликов

В табл. 1 представлен список метаболитов, чьи концентрационные уровни значительно изменились после введения СК у кроликов.

Таблица 1

Метаболиты, чей концентрационный уровень в плазме кроликов значительно изменился после введения 5F-АПИНАК (представлены различия между значениями АУС контрольной группы и тестовыми группами на трех концентрационных уровнях). Результаты по t-тесту Стьюдента

Метаболит	Понижение / повышение концентрации	0.1 мг/кг – контроль	1 мг/кг – контроль	10 мг/кг – контроль
Индол-3-пропионовая кислота	Повышение	—	—	0,0012
Индол-3-карбоксальдегид	Повышение	3.91×10^{-5}	0.036	0,0031
Ксантуреновая кислота	Повышение	3.37×10^{-6}	0.001	0,0011
Антралиловая кислота	Понижение	9.88×10^{-8}	3.75×10^{-5}	0,0023
Индол-3-молочная кислота	Понижение	7.18×10^{-5}	0,0003	0,0011
Триптофан	Понижение	0.0024	0.0217	—
5-гидроксииндолуксусная кислота	Понижение	6.68×10^{-6}	0.008	0.0305
Серотонин	Повышение	—	—	0.0498
Кинуренин	Повышение	0.0147	—	—
Кинуреновая кислота	Повышение	—	0.0052	0,0051
Хинолиновая кислота	Повышение	0,0009	6.24×10^{-6}	4.84×10^{-6}
Аспарагиновая кислота	Повышение	0,0020	0.0171	0,0006

На рис. 2.1-2.10 представлены концентрационные профили метаболитов, чьи концентрационные

уровни изменялись под воздействием 5F-АПИНАК.

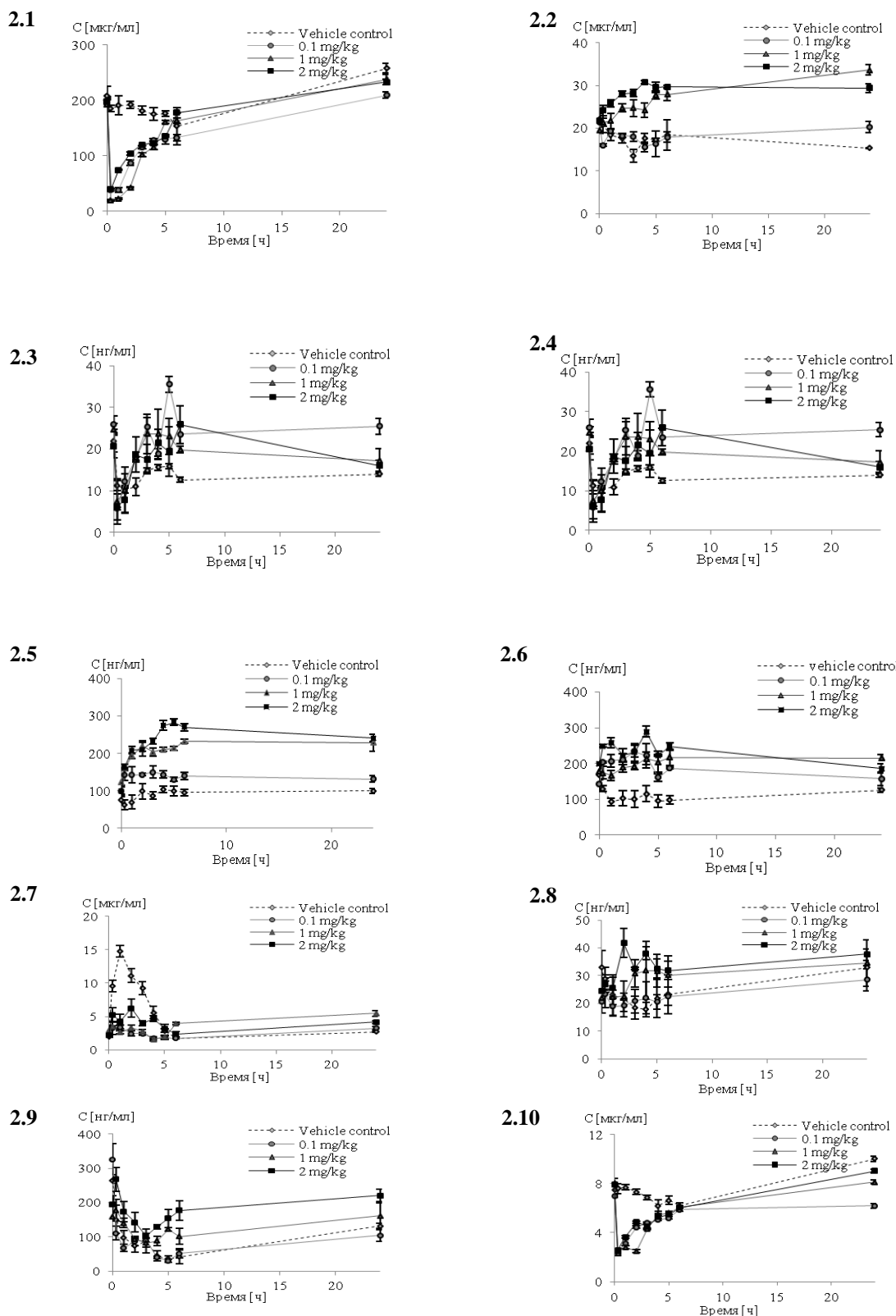


Рис. 2. Концентрационные профили метаболитов, концентрации которых у кроликов изменялись после введения 5F-АПИНАК: 1 – триптофан; 2 – кинуренин; 3 – кинуреновая кислота; 4 – ксантуреновая кислота; 5 – хинолиновая кислота; 6 – аспаргиновая кислота; 7 – 5-гидроксииндолуксусная кислота; 8 – индол-3-карбоксальдегид; 9 – индол-3-пропионовая кислота; 10 – индол-3-молочная кислота

3.2 Изменения уровней нейроактивных метаболитов у зебрафиш

концентрационные уровни значительно изменились после введения 5F-АПИНАК у зебрафиш.

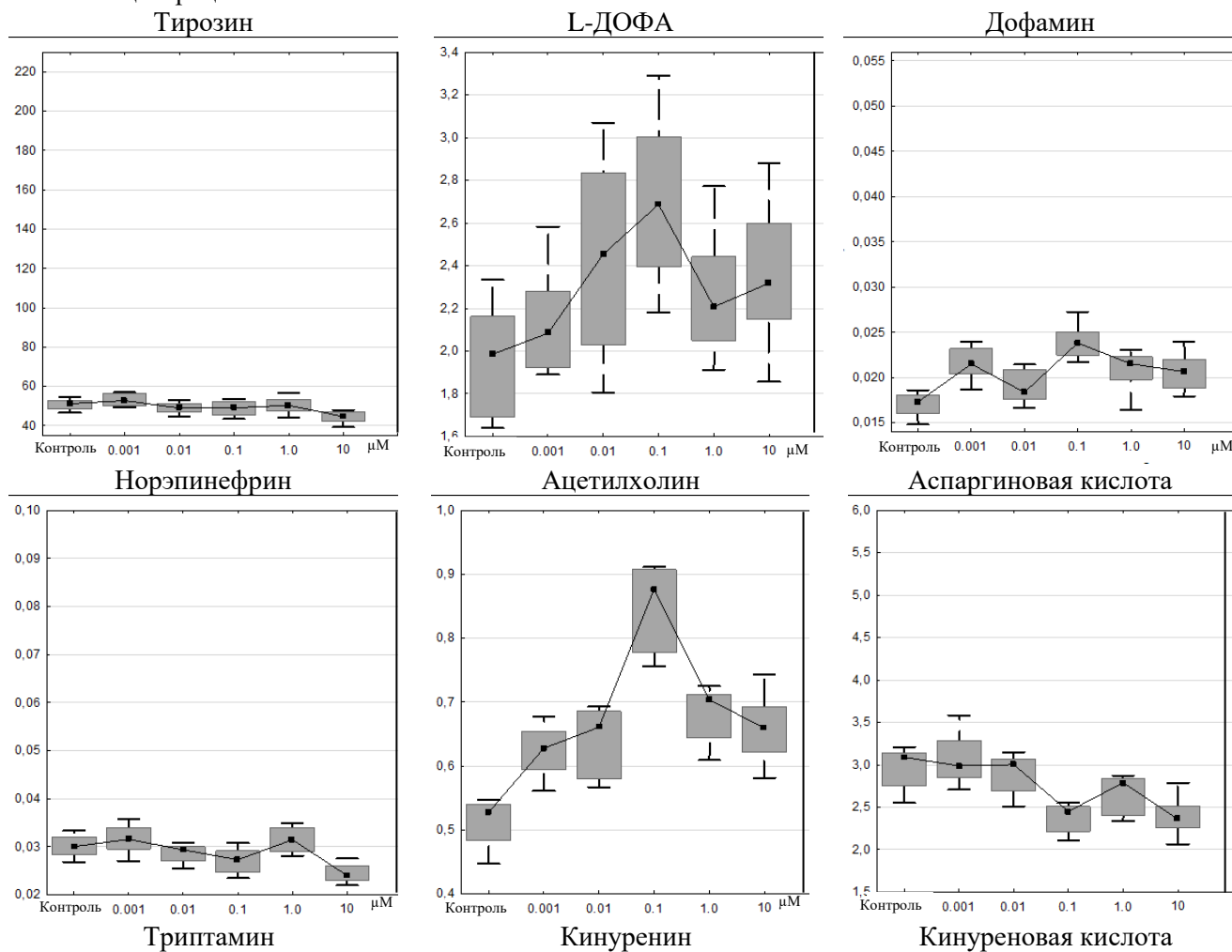
В табл. 2 представлен список метаболитов, чьи

Таблица 2

Эндобиотики, чей концентрационный уровень в модели зебрафиш значительно изменился после введения 5F-АПИНАК. Значение в ячейке представляет собой *p* уровень значимости в виде «меньше чем». Результаты по однофакторному дисперсионному анализу

Метаболит	0.001µM – контроль	0.01 µM – контроль	0.1 µM – контроль	1.0 µM – контроль	10 µM – контроль
Ацетилхолин	0,0018	0,0004	0,0001	0,0001	0,0001
Тирозин	—	—	—	—	0,0239
L-ДОФА	—	—	—	0,0109	—
Дофамин	0,0038	—	0,0001	0,0212	0,0234
Норэпинефрин	—	—	—	—	0,0034
Аспаргиновая к-та	—	—	0,0031	—	0,0034
Глутамин	—	—	—	—	0,0001
Кинуренин	0,0026	0,0025	—	0,0355	—
Кинуреновая к-та	0,0003	0,0001	—	0,0001	—
Триптамин	—	—	—	0,0335	0,0001

На рис. 3 представлена информация о концентрациях эндобиотиков у зебрафиш после воздействия различных концентраций 5F-АПИНАК.



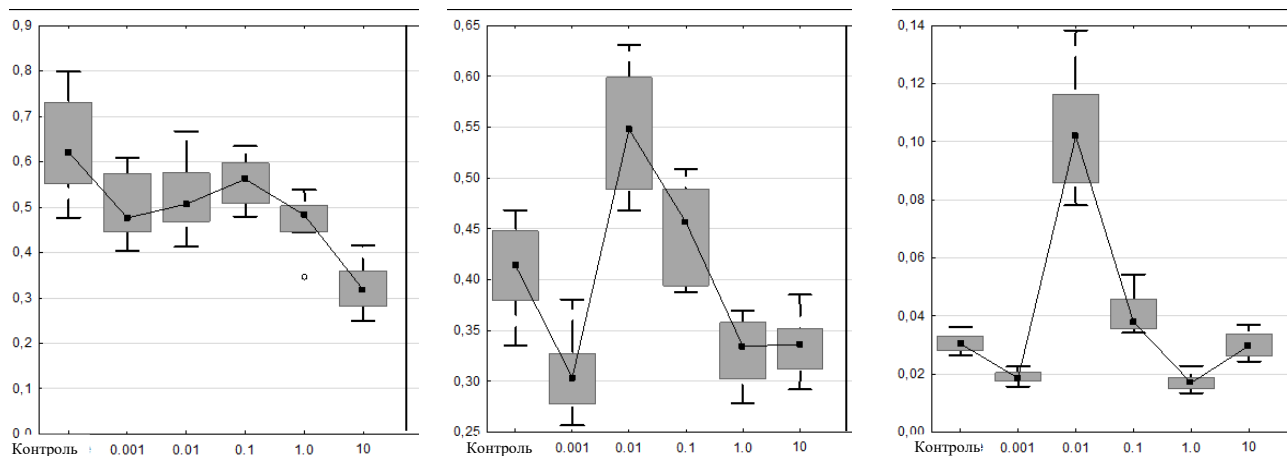


Рис. 3. Изменения в уровнях эндобиотиков у зебрафиш после воздействия 5F-АПИНАК

4. Обсуждение

4.1 Метаболизм триптофана

В данной работе мы исследовали изменения уровней эндобиотиков различных нейротрансмиттерных систем после воздействия нового синтетического каннабимиметика 5F-АПИНАК у кроликов и зебрафиш. Результаты показали, что у кроликов изменения в уровнях метаболитов в основном были связаны с метаболизмом триптофана, тогда как у зебрафиш изменения наблюдались не только среди метаболитов триптофана, но и в уровнях эндобиотиков, связанных с дофаминергической системой и системой аспарагиновой кислоты.

У кроликов концентрации триптофана значительно снижались в первые два часа после введения 5F-АПИНАК (рис. 2.1). Уровень триптофана в крови преимущественно зависит от его поступления в организм с пищей. Сниженные уровни триптофана могут быть объяснены цитокин-индуцированным катаболизмом триптофана, ассоциированным с действием серотонинергической системы и связанным с антидепрессивными эффектами каннабиноидов.

На основе полученных данных можно сделать вывод о том, что изменения в метаболизме триптофана у кроликов были в основном ассоциированы с кинурениновым путем метаболизма. Метаболиты кинуренинового пути принимают участие в различных патофизиологических процессах, включая нейродегенеративные процессы, а также участвует в формировании неврологических расстройств, в том числе шизофрении и депрессии через рецепторы N-метил-D-аспартата, реализуя эксайтотоксичность [13, с. 143-148].

Экспериментальные данные показали, что концентрации L-кинуренина в плазме крови кроликов, а также у зебрафиш, возрастали после введения 5F-АПИНАК (рис. 2.2, рис. 3). L-кинуренин явля-

ется центральным метаболитом кинуренинового пути биотрансформации триптофана. Приблизительно 60% кинуренина, находящегося в центральной нервной системе, проникает туда из крови. Кинуренин повышает выработку и синтез фактора роста нервных клеток, играющего важную роль в тропности некоторых нейронов [4, с. 18-20], тем самым доказывая важную роль кинуренина в регуляции нейромедиаторной передачи в центральной нервной системе.

Концентрация кинуреновой кислоты в плазме кроликов и у зебрафиш также возрастала в группах, подвергавшихся воздействию 5F-АПИНАК (рис. 2.3, рис. 3). Являясь антагонистом НМДА-рецепторов, кинуреновая кислота оказывает нейропротекторное и нейроингибиторное действие [10, с. 151-152]. Так же, в силу активного взаимодействия кинуреновой кислоты с различными рецепторами и ее влиянием на внеклеточный уровень глутамата, дофамина, ацетилхолина и гамма-аминомасляной кислоты, авторы работы [9] относят кинуреновую кислоту классу нейромодуляторов, так как она влияет на когнитивные функции, поведение и память.

Уровни ксантуреновой кислоты в группах кроликов, подвергавшихся воздействию 5F-АПИНАК, были повышены (рис. 3.4 и 3.5, соответственно). Хинолиновая кислота является активным эксайтотоксином и агонистом НМДА-рецепторов [7, с. 381]. Также, хинолиновая кислота вызывает образование свободных радикалов из эндогенных молекул, при этом поражая аксоны мозга [15, с. 944-948]. Увеличение уровня хинолиновой кислоты в плазме крови кроликов может отчасти объяснить токсичность исследуемого вещества.

Концентрация аспарагиновой кислоты были повышена в группах кроликов, подвергавшихся воздействию различных доз 5F-АПИНАК (рис. 3.6). Аспарагиновая кислота является нейромедиато-

ром, реализуя свое действие через рецепторы N-метил-D-аспартата. Повышение концентраций аспарагиновой кислоты быть ответом на повышение уровня хинолиновой кислоты, что вызывает высвобождение глутамата и аспартата в коре головного мозга [11, с. 600-607]. Этот механизм может объяснить индукцию нейротоксичных эффектов, активированных хинолином. Также, интересно отметить, что уровни аспарагиновой кислоты у групп зебрафиш, подвергавшихся воздействию 5F-АПИНАК, постепенно снижались вплоть до статистически значимого падения в максимальной дозе по сравнению с группой контроля. Различия в полученных данных между кроликами и зебрафиш может объясняться фактом использования всего организмы зебрафиш при пробоподготовке, что означает наличие всех органов в одном образце, включая мозг.

В данном исследовании не было обнаружено существенных различий в концентрационных уровнях 5-гидрокситриптофана и серотонина в группах кроликов и мальках зебрафиш, получавших различные дозы 5F-АПИНАК, в сравнении с контрольной группой. Одновременно, уровень основного метаболита серотонина – 5-гидроксииндолуксусной кислоты – снижался в группах кроликов, получавших 5F-АПИНАК, по сравнению с группой контроля (рис. 3.7). Это явление можно объяснить способностью каннабимиметиков к ингибированию моноаминоксидаз мозга, тем самым уменьшая количество метаболитов биологически активных моноаминов.

Помимо вышеупомянутых метаболических путей триптофана недавно было показано, что биотрансформация триптофана также проходит в кишечнике под действием бактериальных триптофаназ. Триптофан считается ключевым промежуточным звеном в передаче сигналов в микробиоме кишечника хозяина и его биодоступность связана с микробиомным балансом в кишечнике [1, с. 719-722].

4.2 Дофаминергическая и холинергическая система

Дофаминергические нейроны могут модулироваться эндоканнабиноидной системой. Известно, что СК повышают уровни дофамина, а также оказывают стимулирующее воздействие на активность нейронов, ответственных за его выработку [3, с. 3689-3703]. Однако, ряд исследований показал, что активация каннабиноидных рецепторов модулирует скорость возбуждения дофамин-вырабатывающих нейронов за счет ингибирования ГАМКергической и глутаматергической нейротрансмиссии [8, с. 582-285].

На основе полученных данных, содержание тирозина значительно снижалось в образцах рыб, получивших максимальную дозу 5F-АПИНАК. В работе [5, с. 83-87] было показано, что воздействие тетрагидроканнабинола повышает активность тирозингидроксилазы, фермента, катализирующего превращение тирозина в диоксифенилаланин (L-ДОФА). При этом, концентрационные уровни L-ДОФА и дофамина возрастали в тестовых группах относительно группы контроля (рис 4), что может быть ассоциировано с активацией тирозингидроксилазы.

Уровни ацетилхолина в образцах рыб были значительно повышены во всех тестовых группах относительно группы контроля. Стоит отметить, что концентрация ацетилхолина возрастала дозозависимо даже при малых дозах 5F-АПИНАК, при этом, при достижении максимума в средней концентрации (0.1 мкМ 5F-АПИНАК) постепенно снижалась. Данный факт может быть объяснен бифазным дозозависимым эффектом СК на холинергическую нейротрансмиссию, подробно описанную в работе [12, с. 9375-9378].

Стоит отметить, что исследования эндобиотиков дофаминергической и холинергической систем имело основание лишь в эксперименте с зебрафиш, где пробоподготовку проходил весь организм зебрафиш, включая мозг, а в случае с кроликами образец получали из плазмы крови, следовательно, измерение данных метаболитов в плазме крови кроликов неинформативно.

5. Заключение

В настоящем исследовании представлен анализ изменений профилей нейроактивных эндобиотиков, в моделях кроликов и зебрафиш под воздействием нового СК 5F-АПИНАК. Было показано, что у кроликов введение препарата в трех различных дозах преимущественно воздействует на кинурениновый путь метаболизма триптофана, изменяя уровни кинуренина, кинуреновой кислоты, ксантуреновой кислоты, хинолиновой кислоты. В тоже время, в эксперименте на эмбрионах рыб зебрафиш введение 5F-АПИНАК оказывало влияние на уровни эндобиотиков, ассоциированных с метаболизмом триптофана (кинуренин, кинуреновая кислота, триптамин), а так же на метаболиты дофаминергической и холинергической систем (тирозин, L-ДОФА, дофамин, норэпинефрин). Такая оценка изменений уровней нейротрансмиттеров способствует более глубокому пониманию эффектов синтетических каннабиноидов и описанию механизмов их физиологических и фармакологических эффектов.

Литература

1. Agus A., Planchais J., Sokol H. Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease // *Cell host & microbe*. 2018. T. 23. № 6. P. 716 – 724.
2. Appolonova S.A. et al. In vivo and in vitro metabolism of the novel synthetic cannabinoid 5F-APINAC // *Forensic Toxicology*. 2020. T. 38. № 1. P. 160 – 171.
3. Canazza I. et al. Effect of the novel synthetic cannabinoids AKB48 and 5F-AKB48 on “tetrad”, sensorimotor, neurological and neurochemical responses in mice. In vitro and in vivo pharmacological studies // *Psychopharmacology*. 2016. T. 233. № 21-22. P. 3685 – 3709.
4. Dong-Ruyl L., Sawada M., Nakano K. Tryptophan and its metabolite, kynurenine, stimulate expression of nerve growth factor in cultured mouse astroglial cells // *Neuroscience letters*. 1998. T. 244. № 1. P. 17 – 20.
5. Hernández M.L. et al. Δ 9-tetrahydrocannabinol increases activity of tyrosine hydroxylase in cultured fetal mesencephalic neurons // *Journal of Molecular Neuroscience*. 1997. T. 8. № 2. P. 83 – 91.
6. Hill A.J. et al. Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity // *Toxicological sciences*. 2005. T. 86. № 1. P. 6 – 19.
7. Lovelace M.D. et al. Recent evidence for an expanded role of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in neurological diseases // *Neuropharmacology*. 2017. T. 112. P. 373 – 388.
8. Parsons L.H., Hurd Y.L. Endocannabinoid signalling in reward and addiction // *Nature Reviews Neuroscience*. 2015. T. 16. № 10. P. 579 – 594.
9. Ramos-Chávez L. A. et al. Relevance of alternative routes of kynurenic acid production in the brain // *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2018. T. 2018.
10. Stone T.W. Development and therapeutic potential of kynurenic acid and kynurenine derivatives for neuroprotection // *Trends in pharmacological sciences*. 2000. T. 21. № 4. P. 149 – 154.
11. Stone T.W., Connick J.H. Quinolinic acid and other kynurenines in the central nervous system // *Neuroscience*. 1985. T. 15. № 3. P. 597 – 617.
12. Tzavara E.T., Wade M., Nomikos G.G. Biphasic effects of cannabinoids on acetylcholine release in the hippocampus: site and mechanism of action // *Journal of Neuroscience*. 2003. T. 23. № 28. P. 9374 – 9384.
13. Vondroušová J. et al. Monitoring of kynurenine pathway metabolites, neurotransmitters and their metabolites in blood plasma and brain tissue of individuals with latent toxoplasmosis // *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2019. T. 170. P. 139 – 152.
14. Wang T. et al. From inflammatory reactions to neurotransmitter changes: implications for understanding the neurobehavioral changes in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii* // *Behavioural Brain Research*. 2019. T. 359. P. 737 – 748.
15. Young H.S., Herbette L.G., Skita V. α -Bungarotoxin binding to acetylcholine receptor membranes studied by low angle X-ray diffraction // *Biophysical journal*. 2003. T. 85. № 2. P. 943 – 953.

References

1. Agus A., Planchais J., Sokol H. Gut microbiota regulation of tryptophan metabolism in health and disease. *Cell host & microbe*. 2018. T. 23. № 6. P. 716 – 724.
2. Appolonova S.A. et al. In vivo and in vitro metabolism of the novel synthetic cannabinoid 5F-APINAC. *Forensic Toxicology*. 2020. T. 38. № 1. P. 160 – 171.
3. Canazza I. et al. Effect of the novel synthetic cannabinoids AKB48 and 5F-AKB48 on “tetrad”, sensorimotor, neurological and neurochemical responses in mice. In vitro and in vivo pharmacological studies. *Psychopharmacology*. 2016. T. 233. № 21-22. P. 3685 – 3709.
4. Dong-Ruyl L., Sawada M., Nakano K. Tryptophan and its metabolite, kynurenine, stimulate expression of nerve growth factor in cultured mouse astroglial cells. *Neuroscience letters*. 1998. T. 244. № 1. P. 17 – 20.
5. Hernández M.L. et al. Δ 9-tetrahydrocannabinol increases activity of tyrosine hydroxylase in cultured fetal mesencephalic neurons. *Journal of Molecular Neuroscience*. 1997. T. 8. № 2. P. 83 – 91.
6. Hill A.J. et al. Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity. *Toxicological sciences*. 2005. T. 86. № 1. P. 6 – 19.
7. Lovelace M.D. et al. Recent evidence for an expanded role of the kynurenine pathway of tryptophan metabolism in neurological diseases. *Neuropharmacology*. 2017. T. 112. P. 373 – 388.
8. Parsons L.H., Hurd Y.L. Endocannabinoid signalling in reward and addiction. *Nature Reviews Neuroscience*. 2015. T. 16. № 10. P. 579 – 594.

9. Ramos-Chávez L. A. et al. Relevance of alternative routes of kynurenic acid production in the brain. *Oxidative medicine and cellular longevity*. 2018. T. 2018.
10. Stone T.W. Development and therapeutic potential of kynurenic acid and kynurenine derivatives for neuroprotection. *Trends in pharmacological sciences*. 2000. T. 21. № 4. P. 149 – 154.
11. Stone T.W., Connick J.H. Quinolinic acid and other kynurenines in the central nervous system. *Neuroscience*. 1985. T. 15. № 3. P. 597 – 617.
12. Tzavara E.T., Wade M., Nomikos G.G. Biphasic effects of cannabinoids on acetylcholine release in the hippocampus: site and mechanism of action. *Journal of Neuroscience*. 2003. T. 23. № 28. P. 9374 – 9384.
13. Vondroušová J. et al. Monitoring of kynurenic acid pathway metabolites, neurotransmitters and their metabolites in blood plasma and brain tissue of individuals with latent toxoplasmosis. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2019. T. 170. P. 139 – 152.
14. Wang T. et al. From inflammatory reactions to neurotransmitter changes: implications for understanding the neurobehavioral changes in mice chronically infected with *Toxoplasma gondii*. *Behavioural Brain Research*. 2019. T. 359. P. 737 – 748.
15. Young H.S., Herbette L.G., Skita V. α -Bungarotoxin binding to acetylcholine receptor membranes studied by low angle X-ray diffraction. *Biophysical journal*. 2003. T. 85. № 2. P. 943 – 953

*Markin P.A., Postgraduate,
Institute of Pharmacy,
I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),
Shestakova K.M., Research Assistant,
Moskaleva N.E., Candidate of Chemical Sciences (Ph.D.), Senior Research Officer,
Laboratory of Pharmacokinetics and Metabolomic Analysis
Institute of Translational Medicine and Biotechnology
M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),
Tarasov V.V., Candidate of Pharmaceutical Sciences (Ph.D.), Associate Professor,
Savitsky M.V.,
Institute of Pharmacy,
I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University),
Appolonova S.A., Candidate of Chemical Sciences (Ph.D.), Head,
Laboratory of Pharmacokinetics and Metabolomic Analysis
Institute of Translational Medicine and Biotechnology
I.M. Sechenov First Moscow State Medical University*

INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF THE NEW PSYCHOACTIVE SUBSTANCE 5F-APINAC ON THE CONCENTRATION LEVELS OF ENDOBIOTICS OF VARIOUS NEUROTRANSMITTER SYSTEMS IN THE ZEBRAFISH (DANIO RERIO) AND RABBIT MODELS

Abstract: synthetic cannabinoids themselves are the chemicals that present a strong affinity to the body's cannabinoid receptors, thereby exhibiting the effects of natural cannabimimetics such as Δ^9 -tetrahydrocannabinol.

In recent decades, synthetic cannabinoids have begun to take a huge percentage of the black market of psychoactive substances, causing an increasing need to study their psychoactive effects in the body. Synthetic cannabinoids are referred to the group of so-called "new psychoactive substances", and the number of these compounds is constantly growing. In this regard, the chemical composition of the new psychoactive substances is mostly unknown, while the development of the screening methods for their determination takes huge amount of time, and in these facts, development of the rapid methods for the screening of potential narcogenicity is in urgent need. One of the possible ways to establish narcogenicity is to determine the changes in the concentrations of neurotransmitters as a response to the chemical exposure.

Determination of the neuroactivity is most of the time carried out in mammals. The use of mammals for experimental purposes is associated with a plenty of limitations, including the complexity of handling and maintenance of the facility, the complexity of carrying of the experiments, and the impossibility of making a sample that would represent the information about the whole organism.

In recent decades, the use of zebrafish (*Danio rerio*) as a model organism has begun to gain popularity. The main advantages of zebrafish over mammals include the ease of handling, relatively low maintenance cost, and the possibility to analyze the compounds throughout the body due to a small body size.

In the present study we investigate the changes in the concentrations of endobiotics associated with various neurotransmitter systems after insertion of the synthetic cannabinoid 5F-APINAC using metabolomics methods in rabbit and zebrafish (*Danio rerio*) models.

Keywords: metabolomics; new psychoactive substances; synthetic cannabinoids; neurotransmitters; tryptophan metabolism; zebrafish; rabbits