

І. О. Гаврилов, С. Ю. Штриголь

## Участь бензодіазепінових рецепторів у механізмі анксиолітичної дії синтетичного аналога кінцевого фрагмента нейропептиду Y

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

**Ключові слова:** нейропептид Y, аналоги нейропептиду Y, флумазеніл, анксиолітичний ефект, механізм дії

Нейропептид Y (NPY) – біологічно активний пептид, який складається з 36 амінокислот, амідований на С-кінці [1]. NPY широко експресується в центральній нервовій системі (ЦНС) і на периферії, бере участь у регуляції процесів енергетичного обміну, когнітивних функцій, ноцицепції, реакції на стрес, циркадіанних ритмів, судинного тонуусу тощо [2]. У людини NPY виявляє біологічну активність через активацію чотирьох підтипів NPY-рецепторів: Y<sub>1</sub>, Y<sub>2</sub>, Y<sub>4</sub>, Y<sub>5</sub> [3].

NPY активно вивчається вже чотири десятиріччя. Синтезовано велику кількість сполук, що виявляють властивості селективного або неселективного агоніста/антагоніста Y-рецепторів. Деякі з них розглядаються як перспективні лікарські препарати. Переважна більшість цих сполук за розмірами молекули поступається нативному NPY, що доцільно з урахуванням вартості та складності пептидного синтезу. С-кінцева ділянка нативного пептиду *L-Ile-L-Asn-L-Leu-L-Ile-L-Thr-L-Arg-L-Gln-L-Arg-L-Tyr-NH<sub>2</sub>* має вирішальне значення для зв'язування з рецепторами, тому попередні модифікації NPY проводили зі збереженням цього фрагмента [4]. З урахуванням досвіду попередніх розробок [4–6] ми запропонували таку структуру пептиду:

*H-L-Ile-L-Asn-L-Leu-L-Nle-L-Ser-L-Arg-L-Asn-L-Arg-L-Tyr-NH<sub>2</sub>*. Цей нонапептид отримав робочу назву NP9. На відміну від нативного NPY, NP9 складається з 9 амінокислотних залишків проти 36. Амінокислоти нонапептиду в 4, 5 та 7 положенні замінені на такі, що не порушують третинну структуру, а, отже й афінитет до рецепторів NPY, та здатні зменшувати швидкість протеолізу пептиду [7]. Відносно короткий амінокислотний ланцюг робить NP9 простішим для хімічного синтезу, контролю якості, дешевшим, а тому більш доцільним для різнобічного дослідження й подальшого впровадження. Інтраназальний (і/н) шлях введення NP9 дозволяє запобігти швидкому руйнуванню пептиду протеазами шлунка, сироватки крові тощо. Також це дозволяє пептиду безпосередньо проникати в ЦНС, минаючи гематоенцефалічний бар'єр, що зумовлює високу церебральну біодоступність і зменшення небажаних периферичних ефектів [8].

У попередніх фармакологічних дослідженнях виявлено виразні анксиолітичні [9], ноотропні [10], актопротекторні та слабкі антидепресантні властивості NP9 [11]. Також показана відсутність його небезпечних фармакодинамічних взаємодій зі сполуками різного механізму дії, що збуджують або пригнічують ЦНС, а здатність пришвидшувати настання та збільшувати тривалість тіопенталового наркозу розцінено як маркер ГАМК-позитивних властивостей NP9

[12]. Ця можлива ланка механізму дії NP9 потребує верифікації. *Мета дослідження* – виявити можливу участь бензодіазепінових рецепторів (BZR) в анксиолітичному ефекті оригінального пептиду NP9.

**Матеріали та методи.** Нонапептид NP9 синтезовано за нашим замовленням компанією Shanghai Apeptide Co., Ltd. (Китай). Субстанцію NP9 розчиняли в 0,9 % розчині NaCl безпосередньо перед експериментом. Концентрація NP9 в отриманому розчині забезпечувала його введення мишам у дозі 0,2 мг/кг, яка зумовлює анксиолітичний і ноотропний ефекти [9, 10]. Розчин NP9 вводили і/н в об'ємі 0,01 мл за допомогою інсулінового шприца з затупленою голкою.

Як препарат порівняння використовували Семакс (Пептоген, Росія) у дозі 0,1 мг/кг і/н у тому самому об'ємі 0,01 мл. Цей гептапептид (*Met-Glu-His-Phe-Pro-Gly-Pro*) є синтетичним аналогом кортикотропіну. Його обрано з урахуванням пептидної будови, психотропних (ноотропних, анксиолітичних) властивостей та і/н шляху введення [13].

Як фармакологічний аналізатор використано препарат флумазеніл (Анексат, ROCHE, Франція). Флумазеніл є конкурентним антагоністом BZR – алостеричного модулювального сайту рецепторного комплексу ГАМК. Він специфічно пригнічує ефекти агоністів BZR [14, 15]. У поведінковій фармакології флумазеніл застосовують як інструмент для вивчення ефектів екзогенних лігандів BZR, а також для виявлення ефектів ендогенних лігандів BZR [14]. З урахуванням цього ми використали флумазеніл для визначення можливої участі ГАМК<sub>A</sub>-рецепторів в анксиолітичному ефекті NP9. Для цього флумазеніл вводили тваринам внутрішньоочеревинно (в/о) за 30 хв до

тестування й через 10 хв після введення досліджуваних препаратів у дозі 15 мг/кг [16]. В експериментах на тваринах специфічну дію флумазенілу вивчали на моделях анксиогенних ситуацій. Флумазеніл знижував соціальну взаємодію щурів, що інтерпретували як анксиогенний ефект [17, 18], але не виявляв статистично значущу анксиогенну активність у щурів у піднесеному хрестоподібному лабіринті (ПХЛ) [19]. У здорових добровольців флумазеніл не викликав суттєвого збільшення тривожності в умовах спокою [20–22], що пояснюють сильною залежністю від вивільнення ендогенних лігандів BZR за певних умов (наприклад, сильного стресу або загрози життю) [19].

Експерименти виконано на 43 білих нелінійних мишах самках масою 25–30 г. Тварин отримано з віварію Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету (м. Харків), їх утримували в стандартних умовах у поліпропіленових клітках за температури 20–24 °C з 12-год режимом освітлення (день/ніч) і вільним доступом до їжі та води. Експерименти проводили згідно з Європейською конвенцією «Про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних й інших наукових цілей» (м. Страсбург, 1986 р.) та відповідно до «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах» (м. Київ, 2001 р.). Для дослідження тривожності тварин використовували тест ПХЛ [23]. Реєстрували латентний період входу в темний рукав, тривалість перебування на центральному освітленому майданчику, сумарну тривалість перебування в освітлених компартментах (центральный майданчик + освітлені рукава), тривалість перебування в темних рукавах і кількість переходів між рукавами.

Дослідження проводили в різні дні, тому з урахуванням хронофармакологічного чинника в кожний експериментальний день формували окрему контрольну групу. Тварини були рандомізовані на такі групи: 1) інтактний контроль флумазенілу – 0,9 % розчин NaCl і/н за 40 хв до тестування + 0,9 % розчин NaCl в/о у відповідному об'ємі введення флумазенілу через 10 хв ( $n = 6$ ); 2) флумазеніл – 0,9 % розчину NaCl і/н за 40 хв до тестування + флумазеніл 15 мг/кг в/о через 10 хв ( $n = 6$ ); 3) інтактний контроль пептидних препаратів – 0,9 % розчин NaCl і/н за 40 хв до тестування + 0,9 % розчин NaCl в/о у відповідному об'ємі введення флумазенілу через 10 хв ( $n = 6$ ); 4) NP9 0,2 мг/кг за 40 хв до тестування + 0,9 % розчин NaCl в/о у відповідному об'ємі введення флумазенілу через 10 хв ( $n = 6$ ); 5) NP9 0,2 мг/кг і/н за 40 хв до тестування + флумазеніл 15 мг/кг в/о через 10 хв ( $n = 7$ ); 6) Семакс 0,1 мг/кг за 40 хв до тестування + 0,9 % розчин NaCl в/о у відповідному об'ємі введення флумазенілу через 10 хв ( $n = 6$ ); 7) Семакс 0,1 мг/кг за 40 хв до тестування + флумазеніл 15 мг/кг в/о через 10 хв ( $n = 6$ ).

Результати обробляли з використанням STATISTICA 12.0. Статистичні відмінності виявляли за допомогою тесту Манна-Вітні. Значущість вважали достовірною при  $p < 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Флумазеніл виявив помірні анксиогенні властивості (таблиця). На підвищення тривожності тварин вказувало зменшення латентного часу входу в темний рукав ПХЛ на 71 % ( $p < 0,01$ ), тенденційне зниження тривалості перебування мишей на центральному майданчику та в освітлених рукавах на 17 % та 18 % відповідно при збільшенні часу в темних рукавах на 16 %. Кількість переходів недостовірно збільшувалась на 37 %.

Під впливом нонапептиду NP9 маркери тривожності, навпаки, достовірно знижувались: латентний час входу в темний рукав збільшувався в 7,1 разу ( $p < 0,01$ ), тривалість перебування на центральному майданчику та в освітлених рукавах – у 2,7 разу ( $p < 0,01$ ) та на 82 % ( $p < 0,05$ ) відповідно, час у темних рукавах зменшувався на 21 % ( $p < 0,05$ ), кількість переходів тенденційно зменшувалась на 25 % порівняно з відповідним контролем.

Флумазеніл значно послаблював протитривожну активність NP9: хоча латентний період входу в темний рукав зростав проти контролю в 9,9 разу ( $p < 0,01$ ), загальна тривалість перебування в освітлених рукавах залишалась майже на рівні контролю та достовірно поступалась показнику групи NP9 *per se* на 34 % ( $p < 0,05$ ); час перебування на центральному майданчику перевищував контрольний показник на 91 % ( $p < 0,05$ ), але тенденційно знижувався проти показника NP9 *per se* на 31 %. Тривалість перебування в темних рукавах суттєво не відрізнялась від показника контролю та перевищувала показник групи NP9 *per se* на 20 % ( $p < 0,05$ ). Кількість переходів зменшувалась у 2,0 разу щодо контролю та в 1,6 разу щодо показника NP9, що вказує на притаманне підвищеній тривожності прагнення тварин проводити більше часу в темних рукавах ПХЛ і менше досліджувати інші частини лабіринту.

Семакс виявив лише один ефект, притаманний анксиолітикам: у 7,7 разу збільшив латентний час входу в темний відсік ( $p < 0,05$ ). Але інші показники тесту ПХЛ, які демонстрували б зниження тривожності, навпаки, зменшувались. Час перебування на центральному майданчику та в освітлених рукавах тенденційно

Показники тривожності мишей у тесті «Піднесений хрестоподібний лабіринт» під впливом флумазенілу, а також нонапептиду NP9 і Семаксу на тлі флумазенілу,  $M \pm SEM$ ,  $Me [Q1; Q3]$

Група	Латентний період входу в темний рукав, с	Сумарний час перебування, с			Кількість переходів між рукавами лабіринту
		на центральному майданчику	в освітлених компартментах	у затемнених рукавах	
Контроль флумазенілу (n = 6)	36,0 ± 6,1 35 [19; 47]	36,3 ± 7,1 28 [21; 61]	140,0 ± 22,7 157 [100; 197]	159,9 ± 22,9 143 [103; 200]	12,9 ± 1,7 13 [9; 17]
Флумазеніл 15 мг/кг (n = 6)	10,3 ± 3,9** (-71,3 %) 7 [5; 11]	30,3 ± 4,3 (- 16,5 %) 31 [26; 40]	114,7 ± 15,0 (- 18,1 %) 117 [75; 137]	185,3 ± 15,0 (+ 15,8 %) 183 [163; 225]	17,7 ± 1,9 (+ 37,2 %) 17 [15; 22]
Контроль пептидних препаратів (n = 6)	3,3 ± 1,4 2 [2; 3]	25,7 ± 6,1 26,5 [20; 32]	60,8 ± 18,2 59,5 [33; 87]	239,2 ± 18,2 240 [213; 267]	19,3 ± 5,9 19 [8; 27]
NP9 0,2 мг/кг (n = 6)	23,5 ± 3,4** (+ 712,0 %) 24,5 [16; 31]	70,5 ± 7,2** (+ 274,3 %) 68 [61; 80]	110,8 ± 9,7* (+ 82,2 %) 116 [105; 124]	189,2 ± 9,7* (- 21,1 %) 184 [176; 195]	14,5 ± 1,9 (- 24,9 %) 15 [11; 17]
NP9 + флумазеніл (n = 7)	32,7 ± 6,5** (+ 990,9 %) 41 [19; 46]	49,0 ± 6,2* (+ 90,6 %) 55 [29; 63]	73,4 ± 9,2# (+ 20,7 %) 84 [55; 92]	226,6 ± 9,2# (- 5,3 %) 216 [208; 245]	8,9 ± 2,1 (- 53,9 %) 9 [3; 13]
Семакс 0,1 мг/кг (n = 6)	25,7 ± 10,4* (+ 778,7 %) 19,5 [4; 41]	21,2 ± 6,4## (- 17,5 %) 18 [9; 26]	38,2 ± 11,2## (- 37,2 %) 37 [15; 49]	261,8 ± 11,2 (+ 9,4 %) 263 [251; 285]	6,0 ± 2,0# (- 69,9 %) 5 [2; 7]
Семакс + флумазеніл (n = 6)	16,5 ± 7,7* (+ 500,0 %) 12 [3; 17]	32,2 ± 12,2 (+ 25,3 %) 26 [20; 28]	45,5 ± 16,5 (- 25,2 %) 30,5 [24; 70]	254,5 ± 16,5 (+ 6,3 %) 270 [230; 276]	9,2 ± 2,4 (- 52,3 %) 11 [2; 14]

Примітка. Статистично значущі відмінності з контролем: \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$ ; з групою NP9: # $p < 0,05$ ; ## $p < 0,01$ . У дужках – зміни щодо відповідної контрольної групи, %.

поступався контрольним значенням відповідно на 37 % і на 15 %, а проти показників пептиду NP9 знижувався відповідно на 70 % ( $p < 0,01$ ) і на 66 % ( $p < 0,01$ ); кількість переходів зменшувалась на 70 %. На відміну від NP9, показники Семаксу на тлі флумазенілу майже не відрізнялись від показників цього пептидного препарату *per se*. Таким чином, у наших дослідах за одноразового введення мишам у дозі 0,1 мг/кг Семакс не виявляє анксиолітичних властивостей.

Семакс позиціонується як анксиолітик [24–27]. Але ці результати отримано на іншому виді тварин (щури) [24–27], за іншого шляху ве-

дення (в/о) [25–27], з використанням інших доз (від 0,02 до 0,40 мг/кг), переважно після тривалого курсу введення (до 2 тижнів) [24, 27]. Анксиолітична активність Семаксу (0,6 мг/кг) у мишей BALB/c, яким притаманна підвищена тривожність, переважає за в/о шляху введення (це стосується й пептидних препаратів «Селанк» і «Ноопепт»), а за і/н шляху виразнішим є ноотропний ефект [28]. У мишей лінії C57BL/6 Семакс, навпаки, виявляє анксиогенні властивості за різних шляхів введення [28]. Ми також повідомляли про анксиогенні властивості Семаксу (0,1 мг/кг) за і/н введення безпород-

ним мишам [10]. Отже, для реалізації певних психотропних ефектів цього та інших пептидних препаратів має значення як генетичний чинник і зумовлений ним фенотип емоційно-стресової реакції, так і фармакокінетичні фактори, пов'язані з переважним потраплянням препарату в різні структури головного мозку та з неоднаковими шляхами біотрансформації – утворенням продуктів з різними властивостями – за і/н і в/о введення [28]. Нейрорецепторні аспекти дії Семаксу вивчено недостатньо. Даних про участь BZR у впливі цього гептапептиду на тривожність не знайдено. Показано, що в мишей лінії C57BL/6, на яких Семакс діє анксиогенно, цей ефект зумовлено зменшенням місць зв'язування метаболічних глутаматних рецепторів (mGluII-рецептори) у префронтальній корі головного мозку, а в мишей лінії BALB/c, у яких спостерігається помірний анксиолітичний ефект, препарат не впливає на зазначені рецептори [28]. Як демонструють наші результати, Семаксу за і/н введення безпородним мишам не притаманна протитривожна дія, а флумазеніл не змінює поведінкові ефекти Семаксу в ПХЛ. Це свідчить на користь того, що BZR не беруть участі у впливі Семаксу на тривожність.

Нонапептид NP9, як і в попередніх дослідженнях [9], виявив виразну здатність знижувати тривожність тварин. Флумазеніл помітно зменшує його протитривожну активність, достовірно знижуючи маркери анксиолітичної дії відносно NP9 *per se* до рівня контролю. З урахуванням

селективного антагонізму флумазенілу до функціонування ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплексу зменшення ефектів NP9 на тлі цього фармакологічного аналізатора, очевидно, пов'язано з ослабленням впливу нонапептиду саме на зазначений рецепторний комплекс. Це може вказувати на участь BZR в анксиолітичному ефекті NP9.

Результати дослідження дозволяють поглибити знання про механізм дії NP9, ефекти якого не обмежені анксиолітичною активністю [9–11], як і про механізм дії нативного нейропептиду Y.

## Висновки

1. Синтетичний аналог кінцевого фрагмента нейропептиду Y нонапептид NP9 (*H-L-Ile-L-Asn-L-Leu-L-Nle-L-Ser-L-Arg-L-Asn-L-Arg-L-Tyr-NH2*) у дозі 0,2 мг/кг і/н за одnorазового введення виявляє виразну анксиолітичну активність у тесті «Піднесений хрестоподібний лабіринт» у мишей.
2. Усунення анксиолітичної активності пептиду NP9 флумазенілом (15 мг/кг), який виявляє помірні анксиогенні властивості, вказує на участь бензодіазепінових рецепторів у механізмі дії пептиду NP9.
3. Пептидний препарат порівняння Семакс (0,1 мг/кг і/н) не виявляє анксиолітичної дії у мишей, а флумазеніл не змінює його поведінкові ефекти в тесті «Піднесений хрестоподібний лабіринт», що свідчить про відсутність участі бензодіазепінових рецепторів у механізмі дії Семаксу.

1. Reichmann F., Holzer P. Neuropeptide Y: A stressful review. *Neuropeptides*. 2015. V. 55. P. 99–109.
2. Kienast C. Neuropeptide Y – its role in human performance and extreme environments. *REACH*. 2019. V. 14.
3. A Promising Therapeutic Target for Metabolic Diseases: Neuropeptide Y Receptors in Humans. M. Yi, H. Li, Z. Wu et al. *Cell. Physiol. Biochem*. 2018. V. 45. P. 88–107.
4. Pedragosa-Badía X., Stichel J., Beck-Sickingler A. Neuropeptide Y receptors: how to get subtype selectivity. *Frontiers in endocrinology*. 2013. V. 4. P. 5–16.
5. First selective agonist of the neuropeptide Y<sub>1</sub>-receptor with reduced size. D. Zwanziger, I. Bohme, D. Lindner et al. *J. Pept. Sci.* 2009. V. 15. P. 856–866.

6. Selective and brain penetrant neuropeptide Y<sub>2</sub> receptor antagonists discovered by whole cell high-throughput screening. S. P. Brothers, S. A. Saldanha, T. P. Spicer et al. *Mol. Pharmacol.* 2010. V. 77. P. 46–57.
7. Di L. Strategic approaches to optimizing peptide ADME properties. *AAPS J.* 2015. V. 17, № 1. P. 134–143.
8. Meredith M., Salameh T., Banks W. Intranasal Delivery of Proteins and Peptides in the Treatment of Neurodegenerative Diseases. *AAPS J.* 2015. V. 17 (4). P. 780–787.
9. Загайко А. Л., Гаврилов І. О., Литкін Д. В. Дослідження впливу низькомолекулярного аналога нейропептиду Y на поведінкові реакції щурів. *Клінічна фармація.* 2019. № 4. С. 30–36.
10. Havrylov I. O., Shtrygol S. Yu. Investigation of the effect of a modified fragment of neuropeptide Y on memory phases and extrapolation escape of animals. *Ceska a Slovenska farmacie: casopis.* 2021. V. 70 (3). P. 93–101.
11. Гаврилов І. О., Штриголь С. Ю. Дослідження антидепресантної та актопротекторної активності синтетичного аналога кінцевої ділянки нейропептиду Y. *Український біофармацевтичний журнал.* 2021. № 1. С. 29–35.
12. Гаврилов І. О., Штриголь С. Ю. Фармакодинамічна взаємодія модифікованого аналога кінцевого фрагмента нейропептиду Y з речовинами, що пригнічують або збуджують центральну нервову систему. *Фармакологія та лікарська токсикологія.* 2021. Т. 15, № 1. С. 3–9.
13. Koroleva S. V., Myasoedov N. F. Semax as a Universal Drug for Therapy and Research. *Biol. Bull. Russ. Acad. Sci.* 2018. V. 45. P. 589–600.
14. Purification and characterization of naturally occurring benzodiazepine receptor ligands in rat and human brain. J. D. Rothstein, W. Garland, G. Puia et al. *J. Neurochem.* 1992. V. 58. P. 2102–2115.
15. Gallo A. T., Hulse G. Pharmacological uses of flumazenil in benzodiazepine use disorders: a systematic review of limited data. *Journal of Psychopharmacology.* 2021. V. 35 (3). P. 211–220.
16. Löscher W., Hönack D. Effects of the non-NMDA antagonists NBQX and the 2,3-benzodiazepine GYKI 52466 on different seizure types in mice: comparison with diazepam and interactions with flumazenil. *British Journal of Pharmacology.* 1994. V. 113, № 4. P. 1349–1357.
17. Chronic treatment with Ro 15–1788 distinguishes between its benzodiazepine antagonist, agonist and inverse agonist properties. S. E. File, J. Dingemans, H. L. Friedman et al. *Psychopharmacology.* 1986. V. 89. P. 113–117.
18. File S. E., Pellow S. The anxiogenic action of Ro 15–1788 is reversed by chronic, but not by acute, treatment with chlordiazepoxide. *Brain Res.* 1984. V. 310. P. 154–156.
19. Pellow S., File S. E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 1986. V. 24. P. 525–529.
20. Absence of central effects in man of the benzodiazepine antagonist Ro 15–1788. A. Darragh, R. Lambe, C. O'Boyle et al. *Psychopharmacology.* 1983. V. 80. P. 192–195.
21. The interactions of midazolam and flumazenil on human memory and cognition. M. M. Ghoneim, R. I. Block, S. T. Ping et al. *Anesthesiology.* 1993. V. 79. P. 1183–1192.
22. The effect of the benzodiazepine antagonist flumazenil on regional cerebral blood flow in human volunteers. J. Wolf, L. Friberg, J. Jensen et al. *Acta Anaesthesiol Scand.* 1990. V. 34. P. 628–631.
23. Vogel H. G. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays 3<sup>rd</sup> ed. Berlin Heidelberg NewYork : Springer-Verlag, 2007. 2071 p.
24. Semax attenuates the influence of neonatal maternal deprivation on the behavior of adolescent white rats. M. A. Volodina, E. A. Sebentsova, N. Y. Glazova et al. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012. V. 152, № 5. P. 560–563.
25. Bakhmet A. A., Koplík E. V. Antistress effect of Semax in the course of recovery of spleen lymphoid structures after the stress in rats with different behavioral activity. *Bull. Exp. Biol. Med.* 2012. V. 153 (5). P. 661–663.
26. Influence of Semax on the emotional state of white rats in the norm and against the background of cholecystokinin-tetrapeptide action. N. Levitskaia, D. Vilenskii, Sebentsova E. et al. *Biology Bulletin.* 2010. V. 27, № 2. P. 1–7.
27. Heptapeptide semax attenuates the effects of chronic unpredictable stress in rats. K. A. Yatsenko, N. Y. Glazova, L. S. Inozemtseva et al. *Dokl. Biol. Sci.* 2013. V. 453. P. 353.
28. Преобладание ноотропного или анксиолитического эффекта пептидов селанк, семакс и ноопепт в зависимости от пути их введения мышам BALB/C и C57BL/6. Е. В. Васильева и др. *Нейрохимия.* 2020. Т. 37, № 3. С. 208–219.

**І. О. Гаврилов, С. Ю. Штриголь**

### **Участь бензодіазепінових рецепторів у механізмі анксиолітичної дії синтетичного аналога кінцевого фрагмента нейропептиду Y**

Мета дослідження – виявити можливу участь бензодіазепінових рецепторів в анксиолітичному ефекті нового модифікованого аналога нейропептиду Y – нонапептиду NP9.

---

Експеримент проведено на 43 білих нелінійних мишах масою 25–30 г з використанням тесту «Піднесений хрестоподібний лабіринт». Нонапептид NP9 вводили інтраназально в дозі 0,2 мг/кг. Як препарат порівняння використовували Семакс (Пептоген, Росія) у дозі 0,1 мг/кг інтраназально. Для вивчення можливої участі ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплексу в механізмі дії NP9 використовували селективний антагоніст бензодіазепінових рецепторів – флумазеніл 15 мг/кг внутрішньоочеревинно.

Нонапептид NP9 зменшував тривожність тварин у тесті «Піднесений хрестоподібний лабіринт», але на тлі флумазенілу маркери анксиолітичної активності знижувались до рівня контролю та значно поступалися показникам впливу NP9 *per se*. Семакс не виявив протитривожних властивостей, а флумазеніл не вплинув на його поведінкові ефекти.

Таким чином, у механізмі анксиолітичної дії нонапептиду NP9 беруть участь бензодіазепінові рецептори.

*Ключові слова: нейропептид Y, аналоги нейропептиду Y, флумазеніл, анксиолітичний ефект, механізм дії*

**И. О. Гаврилов, С. Ю. Штрыголь**

### **Участие бензодиазепиновых рецепторов в механизме анксиолитического действия синтетического аналога конечного фрагмента нейропептида Y**

*Цель исследования* – выявить возможное участие бензодиазепиновых рецепторов в анксиолитической активности нового модифицированного аналога нейропептида Y – нонапептида NP9.

Експеримент проведено на 43 білих нелінійних мишах масою 25–30 г з використанням тесту «Приподнятий крестообразный лабиринт». Нонапептид NP9 вводили інтраназально в дозі 0,2 мг/кг. В качестве препарата сравнения использовали Семакс (Пептоген, Россия) в дозе 0,1 мг/кг интраназально. Для изучения возможного участия ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплекса в механизме действия NP9 использовали селективный антагонист бензодиазепиновых рецепторов – флумазенил 15 мг/кг внутривбрюшинно.

Нонапептид NP9 уменьшал тревожность животных в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт», но на фоне флумазенила маркеры анксиолитической активности снижались до уровня контроля и значительно уступали показателям влияния NP9 *per se*. Семакс не проявил противотревожных свойств, а флумазенил не повлиял на его поведенческие эффекты.

Таким образом, в механизме анксиолитического действия нонапептида NP9 участвуют бензодиазепиновые рецепторы.

*Ключевые слова: нейропептид Y, аналоги нейропептида Y, флумазенил, анксиолитический эффект, механизм действия*

**I. O. Havrylov, S. Yu. Shtrygol'**

### **Involvement of benzodiazepine receptors in the mechanism of anxiolytic action of the synthetic analogue of the terminal fragment of neuropeptide Y**

*The aim of study* – to reveal the possible involvement of benzodiazepine receptors in the anxiolytic effect of a new modified analogue of neuropeptide Y – nonapeptide NP9.

The experiment was performed on 43 white nonlinear mice weighing 25–30 g using the «Elevated plus maze» test. Nonapeptide NP9 was administered intranasally at a dose of 0.2 mg/kg. The reference drug was Semax (Peptogen, Russia) at a dose of 0.1 mg/kg intranasally. To study the possible involvement of the GABA<sub>A</sub>-receptor complex in the NP9 mechanism of action was used a selective antagonist of benzodiazepine receptors – flumazenil 15 mg/kg intraperitoneally.

Нонапептид NP9 reduced the anxiety of animals in the «Elevated plus maze» test, but when combined with flumazenil the markers of anxiolytic activity decreased to the control level and were significantly inferior to the indicators of the effect of NP9 *per se*. Semax did not show anti-anxiety activity, and flumazenil did not affect its behavioural effects.

Thus, benzodiazepine receptors are involved in the mechanism of the anxiolytic action of nonapeptide NP9.

*Key words: neuropeptide Y, analogues of neuropeptide Y, flumazenil, anxiolytic effect, mechanism of action*

---

*Надійшла: 22 грудня 2021 р.*

*Прийнята до друку: 16 лютого 2022 р.*

**Контактна особа:** Гаврилов Ігнат Олександрович, аспірант, кафедра фармакології та фармакотерапії, Національний фармацевтичний університет, буд. 12, вул. Куликівська, м. Харків, 61003.  
Електронна пошта: gavrilov.i.ok@gmail.com