

УДК 577.25:577.823:615.214

ВЛИЯНИЕ НОВОГО ПОТЕНЦИАЛЬНОГО ПСИХОТРОПНОГО ПРЕПАРАТА ГИДРОХЛОРИДА 8-(ТРИФТОРМЕТИЛ)-1,2,3,4,5-БЕНЗОПЕНТАТИЕПИН-6-АМИНА НА ЭКСПРЕССИЮ ГЕНОВ, ВОВЛЕЧЕННЫХ В МЕТАБОЛИЗМ И РЕЦЕПЦИЮ МЕДИАТОРА СЕРОТОНИНА, В ГОЛОВНОМ МОЗГЕ МЫШЕЙ

© 2011 г. А. В. Куликов^{1*}, М. А. Тихонова¹, Е. А. Куликова³, Т. М. Хоменко², Д. В. Корчагина², К. П. Волчо², Н. Ф. Салахутдинов², Н. К. Попова¹

¹Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090

²Новосибирский институт органической химии Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, 630090

³Новосибирский государственный университет, Новосибирск, 630090

Поступила в редакцию 14.04.2010 г.

Принята к печати 19.04.2010 г.

Ранее показано, что новый синтетический аналог варацина, 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепин-6-амин (ТХ-2153), оказывает анксиолитическое и противосудорожное действие на мышей. Цель данного исследования – изучение роли серотониновой (5-НТ) медиаторной системы головного мозга, которая вовлечена в регуляцию судорожной активности, тревожности и депрессии, в молекулярном механизме действия гидрохлорида ТХ-2153. Препарат (10 мг/кг, per os, 16 сут) вводили половозрелым самцам мышей линии ASC (Antidepressant Sensitive Catalepsy) с наследственными нарушениями функции мозга и поведения. С помощью количественной ОТ-ПЦР определяли экспрессию генов, кодирующих ключевой фермент синтеза 5-НТ в мозге – триптофангидроксилазу 2 (ТПГ2), а также 5-НТ-транспортер, фермент разрушения медиатора – моноаминоксидазу А (МАОА) и 5-НТ_{1A}-рецептор. Установлено, что ТХ-2153 подавляет экспрессию генов МАОА и 5-НТ_{1A} в среднем мозге, однако не влияет на экспрессию этих генов в коре и гиппокампе. Экспрессия генов ТПГ2 и 5-НТ-транспортера в среднем мозге не изменяется. Эти результаты свидетельствуют об участии 5-НТ-системы мозга в механизме действия ТХ-2153.

Ключевые слова: ОТ-ПЦР, мРНК, бензопентатиепины, триптофангидроксилаза 2, 5-НТ-транспортер, моноаминоксидаза А, 5-НТ_{1A}-рецептор, серотониновая система, мозг.

EFFECT OF NEW POTENTIAL PSYCHOTROPIC DRUG, 8-(TRIFLUOROMETHYL)-1,2,3,4,5-BENZOPENTATHIEPIN-6-AMINE HYDROCHLORIDE, ON THE EXPRESSION OF SEROTONIN-RELATED GENES IN MOUSE BRAIN, by A. V. Kulikov^{1*}, M. A. Tikhonova¹, E. A. Kulikova³, T. M. Khomenko², D. V. Korchagina², K. P. Volcho², N. F. Salakhutdinov², N. K. Popova¹ (¹Institute of Cytology and Genetics, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia, *e-mail: v_kulikov@bionet.nsc.ru; ²Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, 630090 Russia; ³Novosibirsk State University, Novosibirsk, 630090 Russia). Study of molecular mechanisms of psychotropic drug action is the main aim of molecular psychopharmacology. New synthetic analog of variacin 8-(Trifluoromethyl)-1,2,3,4,5-benzopentathiepin-6-amine (TX-2153) was shown to produce anxiolytic and anticonvulsant effects on mice. Here the effect of chronic administration of TX-2153 on expression of some serotonin-related genes in mouse brain was investigated. The drug (10 mg/kg, per os, 16 days) was administered to adult males of ASC (Antidepressant Sensitive Catalepsy) mouse strain characterizing by alterations in behavior and brain serotonin system. The expression of genes encoding 1) the key enzyme of serotonin synthesis, tryptophan hydroxylase 2 (TPH2), 2) main enzyme of serotonin degradation, monoamine oxydase A (MAOA), 3) 5-HT transporter (SERT) and 4) 5-HT_{1A} receptor was studied using quantitative RT-PCR. TX-2153 significantly reduced m-RNA level of 5-HT_{1A} receptor and MAOA genes in the midbrain without any effect on expression of these genes in the frontal cortex and hippocampus. The drug failed to affect expression of TPH2 and SERT genes in the midbrain. The result indicates involvement of the brain 5-HT system in the molecular mechanism underlying the effect of TX-2153.

Keywords: RT-PCR, mRNA, benzopentathiepin, serotonin, tryptophan hydroxylase 2, 5-HT transporter, monoamine oxidase A, 5-HT_{1A}-receptor, brain mice.

Принятые сокращения: ASC (Antidepressant Sensitive Catalepsy) – каталепсия, чувствительная к антидепрессантам; DMCO (Dimethyl Sulphoxide) – диметилсульфоксид; ТВИН-80 – Полисорбат-80; 5-НТ (5'-Hydroxy Tryptamine) – серотонин; ТХ-2153 – гидрохлорид 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиепин-6-амина; ТПГ2 – триптофангидроксилаза 2; МАОА – моноаминоксидаза А; 5-НТ_{1A}-рецептор – рецептор серотонина подтипа 1A.

* Эл. почта: v_kulikov@bionet.nsc.ru.

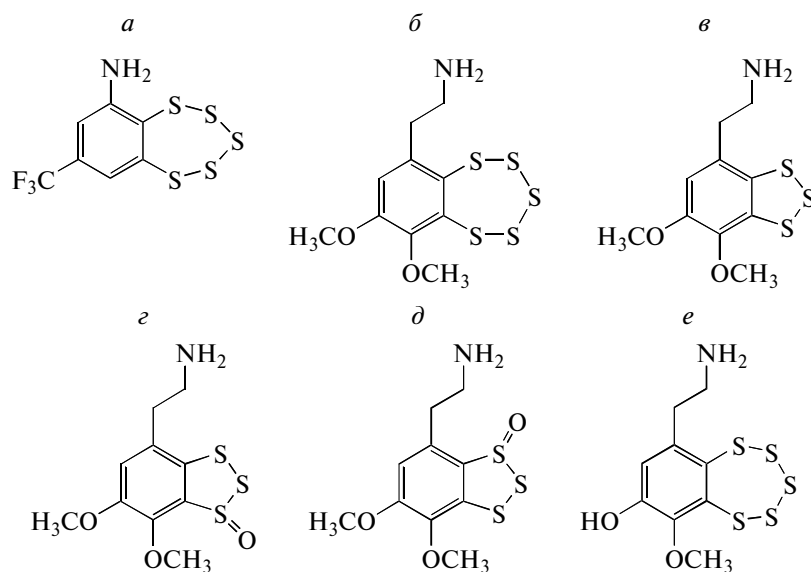


Рис. 1. Химические структуры различных бензотриепинов: 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатриепин-6-амина (а), варацина (б), варацина А (в), варацина В (г), варацина С (д) и лиссоклинотоксина А (е).

Психические расстройства (депрессия, тревожность и эпилепсия), по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), — широко распространенные и тяжелые заболевания. Около 12.7% мужчин и 21.3% женщин в развитых странах страдают депрессивными заболеваниями [1, 2]. Антидепрессанты входят в число лидеров мировых продаж на рынке фармакологической продукции. Но от 20 до 40% больных устойчивы к уже имеющимся препаратам [3]. Некоторые из них оказывают негативные побочные эффекты: усиление тревожности [4, 5] и снижение порога судорожной реакции [6, 7]. Поэтому понимание молекулярных механизмов действия психотропных препаратов — актуальная задача молекулярной психофармакологии [8].

Мишенью для большинства клинически эффективных антидепрессантов и некоторых анксиолитиков служит серотониновая медиаторная система головного мозга. Серотонин (5-гидрокситриптамин, 5-НТ) синтезируется из незаменимой аминокислоты L-триптофана. Ключевой фермент синтеза медиатора в головном мозге — триптофангидроксилаза 2 (ТПГ2), катализирующая гидроксилирование L-триптофана [9, 10]. Синтезированный медиатор вначале депонируется в везикулах, транспортируется в окончания нервов и секретруется в синаптическую щель. Секретция медиатора регулируется им самим по принципу обратной связи через пресинаптические 5-НТ_{1A}-рецепторы на телах 5-НТ-нейронов в среднем мозге [11]. Секретированный 5-НТ удаляется из синаптической щели в пресинаптическое окончание с помощью белка 5-НТ-транспортера [12] и разрушается там ферментом моноаминоксидазой А (МАОА) [13]. Таким образом, триптофангидроксилаза 2, 5-НТ-транспортер,

пресинаптические 5-НТ_{1A}-рецепторы и МАОА регулируют функцию 5-НТ-синапса. Примечательно, что все они вовлечены в механизмы действия клинически эффективных антидепрессантов [12–14], а агонисты 5-НТ_{1A}-рецепторов — эффективные анксиолитики [11].

В Новосибирском институте органической химии СО РАН синтезирован 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатриепин-6-амина (препарат ТХ-2153) (рис. 1а), который является синтетическим аналогом варацина (рис. 1б), выделенного из асцидии *Lissoclinum vareau* [15]. Для ТХ-2153 характерны низкий уровень показателя “острая токсичность” (LD₅₀ > 1000 мг/кг) и выраженное анксиолитическое и противосудорожное воздействие на мышей: в дозе 10 мг/кг он эффективно купирует коразоловые судороги и снижает тревожность при использовании теста “открытое поле” [15]. Это соединение первоначально представляло собой вязкое масло, но в настоящем исследовании мы впервые синтезировали и использовали кристаллический ТХ-2153, значительно более удобный в работе на этапе дозирования препарата.

Можно предположить, что поведенческие эффекты ТХ-2153 обусловлены изменением функциональной активности 5-НТ-системы мозга. Удобной моделью для изучения молекулярного механизма действия ТХ-2153 служат мыши линии ASC (Antidepressant Sensitive Catalepsy), созданной в Институте цитологии и генетики СО РАН в результате селекции гибридов инбредных линий СВА/Лас и АКР/Ј на высокую предрасположенность к проявлению реакции замирания (катаlepsии). Мыши линии ASC характеризуются множественными депрессивноподобными нарушениями поведения, чувстви-

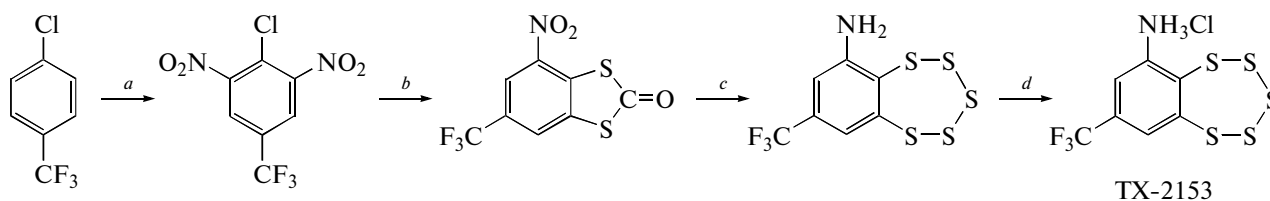


Рис. 2. Синтез гидрохлорида 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиэпин-6-амина (TX-2153). Реагенты и условия: *a* – $\text{HNO}_3/\text{H}_2\text{SO}_4$, 85%; *b* – $\text{NaSC(S)NMe}_2/\text{DMSO}$, 43%; *c* – $\text{NaHS} \cdot \text{H}_2\text{O}$, 52%; *d* – HCl/EtOH , 67%.

тельностью к антидепрессантам [16–20] и измененной 5-НТ-системой мозга [21, 22].

Цель работы – изучить, как влияет хроническое введение TX-2153 на экспрессию генов, кодирующих ТПГ2, 5-НТ-транспортер, 5-НТ_{1A}-рецептор и МАОА в среднем мозге, где расположены тела нейронов, а также во фронтальной коре и гиппокампе, где локализованы окончания 5-НТ-нейронов.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Синтез 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиэпин-6-амина описан в ранее опубликованной статье [15] и кратко приведен здесь. К раствору 4-нитро-6-(трифторметил)бензо[*d*]дитио-2-она (2.56 г, 9.1 ммоль) в ДМСО (35 мл) добавляли при 25°C $\text{NaHS} \cdot \text{H}_2\text{O}$ (3.29 г, 70% NaHS , 41 ммоль), смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 15 ч. Затем добавляли 100 мл воды и смесь нейтрализовали концентрированной HCl . Продукт трижды экстрагировали 30 мл CH_2Cl_2 , трижды промывали водой (50 мл) и высушивали Na_2SO_4 . Растворитель удаляли под вакуумом и остаток (2.77 г) очищали на хроматографической колонке (SiO_2 , элюент смесь гексана с бензолом в соотношении 1 : 1). Получили 1.504 г (52%) 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиэпин-6-амина.

К раствору 0.366 г этого соединения в 6 мл диэтилового эфира прибавляли при перемешивании 0.540 г 10%-ного раствора HCl в абсолютном этаноле, перемешивали 1 ч при комнатной температуре; выпавший осадок отфильтровывали, промыли диэтиловым эфиром. Получили 0.272 г (67%) гидрохлорида 8-(трифторметил)-1,2,3,4,5-бензопентатиэпин-6-амина (TX-2153) (рис. 2), ($T_{\text{пл}}$ 90–92°C, с разложением). Соединение обладает следующими характеристиками. Найдено: m/z 318.8893 [$\text{M}-\text{HCl}$]⁺ $\text{C}_7\text{H}_4\text{NF}_3\text{S}_5$; вычислено: $\text{M}-\text{HCl}$ = 318.8899. Найдено (%): С, 23.80; Н, 1.39; Cl, 9.89; $\text{C}_7\text{H}_4\text{NF}_3\text{S}_5 \cdot \text{HCl}$; вычислено (%) С, 23.62; Н, 1.42; Cl, 9.96. ЯМР ¹H (ДМСО-*d*₆): 7.14 (ш.д, J = 2.0) и 7.17 (ш.д, J = 2.0) – Н-С(9) и Н-С(11). ЯМР ¹³C (ДМСО-*d*₆): 113.74 (д, ³J(C,F) = 4.0, С(9)); 117.27 (д, ³J(C,F) = 3.5, С(11)); 122.99 (к, ¹J(C,F) = 273.3, С(12)); 124.71 (с, С(7)); 131.15 (с, ²J(C,F) = 32.3, С(10)); 146.21 (с, С(1)); 153.37 (с, С(8)).

Животные и схема опытов. Использовали 20 половозрелых самцов (возраст 3–4 мес., масса 28 ± 0.5 г) линии ASC, прошедших 32 поколения отбора на каталепсию [16, 17]. Животных отсаживали от матерей в возрасте 4 недель, распределяли по полу и содержали по 6 особей в клетках $50 \times 30 \times 25$ см при стандартных условиях ($t = 22 \pm 2^\circ\text{C}$, относительная влажность 65% и естественное освещение). Полноценный корм и вода – без ограничения. Эти условия соответствуют правилам Совета Европейского сообщества (директива 86/609/ЕЕС от 24 ноября 1986 г).

Животных разделяли на две группы и помещали в отдельные клетки того же размера. Препарат TX-2153 смешивали с каплей ТВИН-80 и растворяли в дистиллированной воде. Мышам первой группы каждый день вводили в желудок с помощью зонда раствор TX-2153 в дозе 10 мг/кг веса (в объеме 100 мкл на 10 г веса). Животным второй группы (контроль) вводили растворитель в том же объеме. На 17-е сут (через 24 ч после последнего введения) животных декапитировали, быстро на холоду вынимали мозг, выделяли фронтальную кору, гиппокамп и средний мозг, замораживали их жидким азотом и хранили при -70°C до экстракции РНК.

ОТ-ПЦР. РНК выделяли, экстрагируя смесью гуанидина тиоционата, фенола и хлороформа [23], и растворяли в обработанной диэтилпирокарбонатом воде. Примеси геномной ДНК удаляли с помощью ДНКазы (“Promega”), определяли оптическую плотность, разводили стерильной водой до концентрации 0.125 мкг/мкл и хранили при -70°C . Наличие примеси геномной ДНК в общей РНК определяли с помощью ПЦР с праймерами для β-актина (таблица) [24]. Для синтеза кДНК брали аликвоты 8 мкл (1 мкг) РНК, случайный набор шестичленных нуклеотидов в качестве праймера и 200 ед. обратной транскриптазы (“Биосан”, Новосибирск). Синтезированную кДНК хранили при -20°C . Концентрацию примесей геномной ДНК в препаратах кДНК измеряли с помощью ПЦР и праймеров (таблица), специфичных для 5-го и 6-го экзонов триптофан-гидроксилазы 1 мыши, которая не экспрессируется в исследуемых структурах головного мозга [24]. Ни в одной из исследуемых проб концентрация геномной ДНК не превышала 80 копий на мкл.

Концентрацию мРНК генов ТПГ2, МАОА, 5-НТ-транспортера, 5-НТ_{1A}-рецепторов определяли с

помощью количественной ПЦР [24–26]. В качестве внешнего стандарта брали известные концентрации геномной ДНК мыши (линия С57BL/6J), а в качестве внутреннего стандарта – кДНК РНК-полимеразы II. Нуклеотидные последовательности, температуры отжига, число используемых циклов и размеры ампликонов представлены в таблице. Концентрацию мРНК генов ТПП2, МАОА, 5-НТ-транспортера и 5-НТ_{1A}-рецептора выражали в числе копий на 100 копий кДНК РНК-полимеразы II [24–26]. Концентрацию мРНК 5-НТ_{1A}-рецептора и МАОА определяли во всех исследуемых структурах. Экспрессию генов ТПП2 и 5-НТ-транспортера определяли только в среднем мозге, поскольку эти гены экспрессируются только в телах серотониновых нейронов. Концентрации мРНК исследуемых генов в каждой группе представляли как средние значения ± ошибка среднего и анализировали с помощью программы ANOVA.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Хроническое введение TX-2153 не влияет на экспрессию генов 5-НТ_{1A}-рецептора (рис. 3а) и МАОА (рис. 4а) в коре ($F_{1,16} < 1$, $p > 0.05$ 5-НТ_{1A}-рецептор и $F_{1,16} = 1.07$, $p > 0.05$ МАОА) и гиппокампе ($F_{1,16} < 1$, $p > 0.05$ 5-НТ_{1A}-рецептор и $F_{1,16} = 2.68$, $p > 0.05$ МАОА). Однако препарат значительно снижает уровень мРНК 5-НТ_{1A}-рецептора в среднем мозге (от 61.9 ± 2.7 копий в контроле до 39.5 ± 4.6 копий у мышей, получавших TX-2153, $F_{1,16} = 17.6$, $p < 0.001$, рис. 3а, б) и МАОА (от 218.8 ± 8.7 копий в контроле до 164.4 ± 8.7 копий у получавших TX-2153, $F_{1,16} = 19.5$, $p < 0.001$, рис. 4а, б), но не влияет на экспрессию генов 5-НТ-транспортера ($F_{1,16} = 0.76$, $p > 0.05$, рис. 5) и ТПП2 ($F_{1,16} = 1.69$, $p > 0.05$, рис. 6).

Для достоверного тестирования психотропных средств (анксиолитиков, антидепрессантов и противосудорожных препаратов) создаются линии мышей и крыс с нарушениями функции мозга и пове-

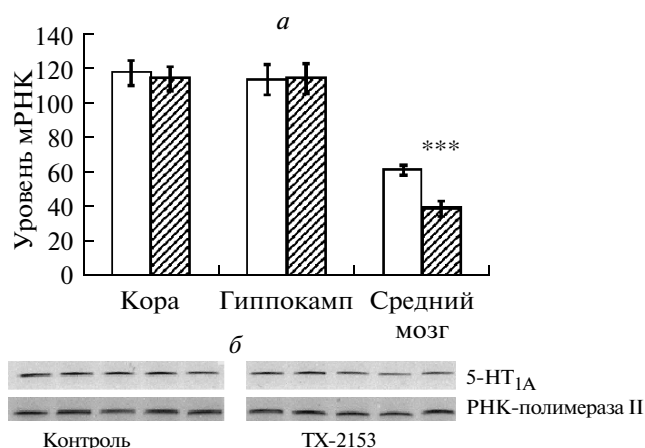


Рис. 3. а – Уровень мРНК гена 5-НТ_{1A}-рецептора в коре, гиппокампе и среднем мозге мышей ASC, получавших в течение 16 сут растворитель (белые столбики) или TX-2153 в дозе 10 мг/кг (заштрихованные столбики). Значения уровня мРНК выражены в числе копий кДНК 5-НТ_{1A}-рецептора на 100 копий кДНК РНК-полимеразы II. б – Фотографии ПЦР продуктов для кДНК 5-НТ_{1A}-рецептора и РНК-полимеразы II из среднего мозга мышей ASC, получавших растворитель (контроль) или TX-2153. *** $p < 0.001$ по сравнению с контролем.

дения [27–30]. Мыши линии ASC, созданной в результате длительной селекции гибридов между линиями АКР и СВА на выраженность каталепсии, характеризуются сниженной двигательной и исследовательской активностями, повышенной неподвижностью в тестах принудительного плавания и подвешивания за хвост (tail suspension) [18], и повышенной тревожностью в тесте на угасание условной реакции пассивного избегания [31, 32]. Отмечено снижение иммунной реакции на эритроциты барана у мышей ASC по сравнению с животными родительских линий [33]. Хроническое, а не острое, введение антидепрессантов снижает выраженность каталеп-

Нуклеотидные последовательности и характеристики использованных в работе праймеров

Ген	Нуклеотидные последовательности праймеров	Температура отжига, °С	Длина ампликона, п.н.
β-актина	F 5'-cggaaccgctcattgcc-3' R 5'-accacactgtgccatcta-3'	61	285
ТПП1	F 5'-gcttcaagacaatgtctatcgtagaag-3' R 5'-ggcgtgggtcggtagagttgttt-3'	60	164 без интрона 315 с интроном
5-НТ _{1A} -рецептора	F 5'-gactgccaccctctgcctatatac R 5'-tcagcaaggcaacaattccag	62	200
ТПП2	F 5'-cattctcgcacaattccagtcg R 5'-agtctacatccatcccaactcgtg	61	239
5-НТ-транспортера	F 5'-aagccccaccttgactcctcc R 5'-ctcctctcctcctcacatatac	57	198
РНК-полимеразы II	F 5'-gttgtcgggcagcagaatgtag R 5'-tcaatgagacctctcgtcctcc	63	188

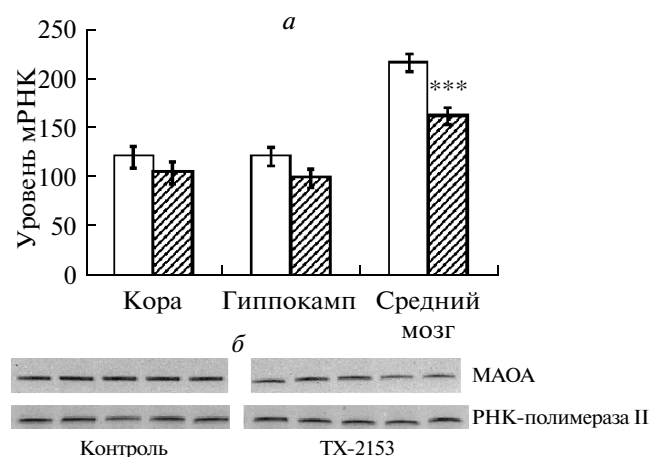


Рис. 4. *a* – Уровень мРНК гена MAOA в коре, гиппокампе и среднем мозге у мышей ASC, получавших в течение 16 сут. растворитель (белые столбики) или TX-2153 в дозе 10 мг/кг (штрихованные столбики). Значения уровня мРНК выражены в числе копий кДНК MAOA на 100 копий кДНК РНК-полимеразы II. *б* – Фотографии ПЦР продуктов для кДНК MAOA и РНК-полимеразы II из среднего мозга мышей ASC, получавших растворитель (контроль) или TX-2153. *** $p < 0.001$ по сравнению с контролем.

сии и восстанавливает иммунную реакцию у мышей ASC [20]. В то же время, флуоксетин не влияет на выраженность катаlepsии и иммунитет у мышей “нормальной” линии CBA [20]. Селекция на катаlepsию закрепляет снижение экспрессии гена 5-HT_{1A}-рецептора в коре и среднем мозге мышей ASC [21, 22]. Эти изменения поведения, иммунитета, чувствительности к антидепрессантам и экспрессии генов свидетельствуют о глубоких, вызванных селекцией, нарушениях в мозге мышей ASC. Недавно установлена связь наследственной катаlepsии у мышей с эпилептиформной активностью нейронов гиппокампа [34]. Поскольку TX-2153 проявляет анксиолитическую и противосудорожную активность [15], линия ASC представляет собой наиболее адекватную модель для изучения молекулярного механизма действия этого соединения.

Участие 5-HT-системы мозга в механизме действия анксиолитиков и антидепрессантов не вызывает сомнения. Эффективные анксиолитики буспиринового ряда (буспирон, ипсапирон и алнеспирон) являются агонистами 5-HT_{1A}-рецепторов [11]. Некоторые ингибиторы MAOA проявляют антидепрессантную активность [13]. Большинство антидепрессантов (имипрамин и флуоксетин) являются ингибиторами 5-HT-транспортера [12]. Хроническое введение антидепрессантов снижает активность ТПГ2 в мозге [35], плотность 5-HT-транспортера [36–39] и вызывает десенситизацию пресинаптических 5-HT_{1A}-рецепторов в среднем мозге [14,

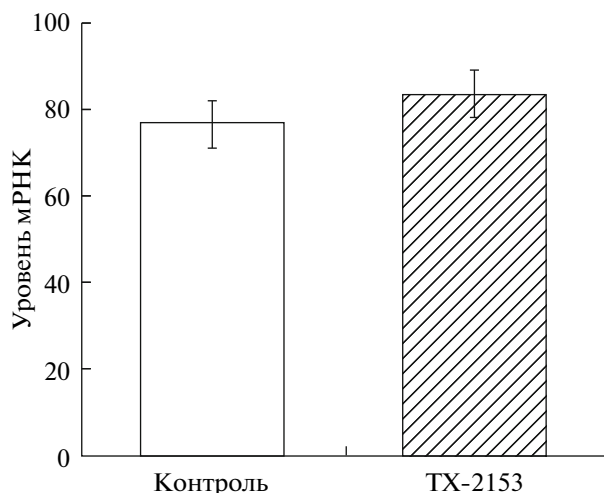


Рис. 5. Уровень мРНК гена 5-HT-транспортера в среднем мозге у мышей ASC, получавших в течение 16 сут. растворитель или TX-2153. Значения уровня мРНК выражены в числе копий кДНК 5-HT-транспортера на 100 копий кДНК РНК-полимеразы II.

40]. Поэтому, способность изменять активность ТПГ2, MAOA, плотность 5-HT_{1A}-рецепторов и 5-HT-транспортера, а также экспрессию кодирующих их генов рассматривается как доказательство потенциальной анксиолитической и/или антидепрессантной активности препаратов.

В нашем исследовании показано, что хроническое введение TX-2153 снижает экспрессию генов 5-HT_{1A}-рецептора и основного фермента разрушения 5-HT – MAOA – только в среднем мозге, где расположены тела 5-HT-нейронов. Этот эффект хорошо

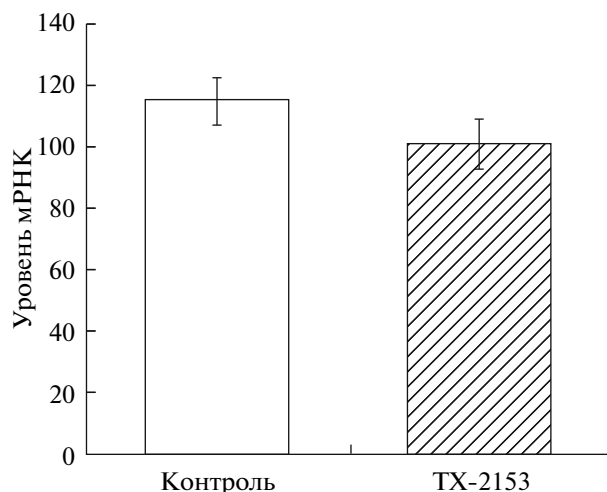


Рис. 6. Уровень мРНК гена ТПГ2 в среднем мозге у мышей ASC, получавших в течение 16 сут. растворитель или TX-2153. Значения уровня мРНК выражены в числе копий кДНК ТПГ2 на 100 копий кДНК РНК-полимеразы II.

согласуется с ожидаемой при действии антидепрессантов и анксиолитиков буспиринового ряда down-регуляцией (снижение плотности рецепторов/молекул ферментов по механизму обратной связи) пре-синаптических 5-HT_{1A}-ауторецепторов и МАОА. В то же время, хроническое введение не изменяет экспрессии генов ТПГ2 и 5-HT-транспортера в телах серотониновых нейронов. Следует отметить, что ранее нами показано, что антидепрессант флуоксетин на экспрессию данных генов в мозге мышей линии ASC не влияет [20].

Химическая природа ТХ-2153, особенно наличие в его молекуле пятичленного кольца из атомов серы, резко отличает его от существующих лигандов 5-HT_{1A}-рецепторов, 5-HT- транспортера, МАОА и ТПГ2. Поэтому маловероятно, что эти белки являются непосредственными мишенями ТХ-2153. В настоящее время рецепторы или какие-либо другие молекулярные мишени ТХ-2153 не известны. Данное соединение — синтетический аналог варацина и лиссоклинотоксина А, выделенных из асцидий *Lissoclinum vareau* и *Lissoclinum perforatum* соответственно (рис. 1) [15, 41]. Природные варацины характеризуются высокой цитотоксической активностью и изучаются как потенциальные противоопухолевые препараты [41]. Цитотоксический эффект варацинов связан с их способностью повреждать ДНК, и важным условием их высокой цитотоксической активности считается наличие в ароматическом кольце 2-аминоэтильного заместителя [42–45], которого нет в соединении ТХ-2153.

В данном исследовании мы впервые показали, что ТХ-2153 способен влиять на экспрессию генов в мозге: препарат снижает уровень мРНК 5-HT_{1A}-рецепторов и МАОА только в среднем мозге, но не изменяет экспрессию постсинаптических 5-HT_{1A}-рецепторов и МАОА в коре и гиппокампе. Такая пространственная избирательность препарата позволяет предполагать, что он воздействует на группы нейронов среднего мозга, экспрессирующие 5-HT_{1A}-рецептор и МАОА, и, в первую очередь, на 5-HT-нейроны. Таким образом, впервые показана способность одного из бензопентатиепинов подавлять экспрессию генов в мозге мышей. Подавление экспрессии генов 5-HT_{1A}-рецептора и МАОА в среднем мозге отчасти объясняет наблюдаемые анксиолитические свойства ТХ-2153. Низкая токсичность препарата и способность его влиять на 5-HT-систему головного мозга позволяет рассматривать его в качестве потенциального антидепрессанта, анксиолитика и противосудорожного агента.

Работа получила финансовую поддержку Междисциплинарного интеграционного проекта СО РАН (№ 18) и Гранта им. М.А. Лаврентьева от СО РАН для молодых ученых.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Remick R.A. 2002. Diagnosis and management of depression in primary care: a clinical update and review. *CMA J.* **167**, 1253–1260.
2. Dubek D. 2003. Treatment of depression: Clinical aspects. *Pol. J. Pharmacol.* **55**, 1–4.
3. Willner P. 1990. Animal models of depression: an overview. *Pharmacol. Ther.* **45**, 425–455.
4. Walsh M.T., Dinan T.G. 2001. Selective serotonin reuptake inhibitor and violence: a review of the available evidence. *Acta Psychiatrica Scand.* **104**, 84–91.
5. Zienowicz M., Wisowska-Stanek A., Lrhner M., Taracha E., Maciejak P., Sobolewska A., Szyndler J., Turzynski D., Walkowiak J., Plaznik A. 2006. Fluoxetine-induced anxiety and nervousness. *Pharmacol. Rep.* **58**, 115–119.
6. Montgomery S.A. 2005. Antidepressants and seizures: emphasis on newer agents and clinical implications. *Int. J. Clin. Pract.* **59**, 1435–1440.
7. Haddad P.M., Dursun S.M. 2008. Neurological complications of psychiatric drugs: clinical features and management. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* **23**, 15–26.
8. Nestler E.J., Barrot M., DiLeone R.J., Eisch A.J., Gold S.J., Monteggia L.M. 2002. Neurobiology of depression. *Neuron.* **34**, 13–25.
9. Walther D.J., Peter J.-U., Bashammakh S., Hortnagl H., Voits M., Fink H., Bader M. 2003. Synthesis of serotonin by a second tryptophan hydroxylase isoform. *Science.* **299**, 76.
10. Walther D., Bader M. 2003. A unique central tryptophan hydroxylase isoform. *Biochem. Pharmacol.* **66**, 1673–1680.
11. Barnes N.M., Sharp T. 1999. A review of central 5-HT receptors and their function. *Neuropharmacol.* **38**, 1083–1152.
12. Lesch K. P. 2004. Gene-environment interaction and the genetics of depression. *J. Psychiatry Neurosci.* **29**, 174–184.
13. Shih J.C., Thompson R.F. 1999. Monoamine oxidase in neuropsychiatry and behavior. *Am. J. Hum. Genet.* **65**, 593–598.
14. Pineyro G., Blier P. 1999. Autoregulation of serotonin neurons: Role in antidepressant drug action. *Pharmacol. Rev.* **51**, 533–591.
15. Khomenko T.M., Tolstikova T.G., Bolkunov A.V., Dolgikh M.P., Pavlova A.V., Korchagina D.V., Volcho K.P., Salakhutdinov N.F. 2009. 8-(Trifluoromethyl)-1,2,3,4,5-benzopentathiepin-6-amine: novel aminobenzopentathiepine having in vivo anticonvulsant and anxiolytic activities. *Lett. Drug Design Discov.* **6**, 464–467.
16. Kulikov A.V., Bazovkina D.V., Kondaurova E.M., Popova N.K. 2008. Genetic structure of hereditary catalepsy in mice. *Genes Brain Behav.* **7**, 506–512.
17. Kondaurova E.M., Bazovkina D.V., Kulikov A.V., Popova N.K. 2006. Selective breeding for catalepsy changes the distribution of microsatellite D13Mit76 alleles linked to the 5-HT_{1A} serotonin receptor gene in mice. *Genes Brain Behav.* **5**, 596–601.
18. Базовкина Д.В., Куликов А.В., Кондаурова Е.М., Попова Н.К. 2005. Селекция на предрасположенность к катаlepsии усиливает депрессивноподобное поведение у мышей. *Генетика.* **41**, 1222–1228.

19. Тихонова М.А., Лебедева В.В., Куликов А.В., Базовкина Д.В., Попова Н.К. 2006. Эффект имипрамина на поведение и 5-HT_{1A}-серотониновые рецепторы мозга у мышей с генетической предрасположенностью к реакции замирания. *Бюлл. эксп. биол. мед.* **141**, 53–55.
20. Тихонова М.А., Альперина Е.Л., Толстикова Т.Г., Базовкина Д.В., Ди В.Ю., Идова Г.В., Куликов А.В., Попова Н.К. 2009. Влияние хронического введения флуоксетина на катаlepsию и иммунный ответ мышей с генетической предрасположенностью к реакции замирания: Роль серотониновых рецепторов 1A и 2A типов и генов trp2 и SERT. *Журн. высшей нервной деят.* **59**, 237–244.
21. Науменко В.С., Кондаурова Е.М., Куликов А.В., Попова Н.К. 2006. Влияние селекции на высокую предрасположенность к катаlepsии, на функциональную активность 5-HT_{1A}-рецепторов и экспрессию кодирующего их гена. *Докл. РАН.* **409**, 133–135.
22. Зубков Е.А., Куликов А.В., Науменко В.С., Попова Н.К. 2008. Хроническое действие тироксина на поведение и серотониновые рецепторы у контрастных по предрасположенности к катаlepsии линий мышей. *Журн. высшей нервной деят.* **58**, 483–490.
23. Chomczynski P., Sacchi N. 1987. Single-step method of RNA isolation by guanidinium thiocyanate – phenole – chloroform extraction. *Analyt. Biochem.* **162**, 156–159.
24. Науменко В.С., Куликов А.В. 2006. Количественное определение экспрессии гена 5-HT_{1A} серотонинового рецептора в головном мозге. *Молекуляр. биология.* **40**, 37–44.
25. Kulikov A.V., Naumenko V.S., Voronova I.P., Tikhonova M.A., Popova N.K. 2005. Quantitative RT-PCR of 5-HT_{1A} and 5-HT_{2A} serotonin receptor mRNAs using genomic DNA as an standard. 2005. *J. Neurosci. Meth.* **141**, 97–101.
26. Naumenko V.S., Osipova D.V., Kostina E.V., Kulikov A. V. 2008. Utilization of a two-standard system in real-time PCR for quantification of gene expression in the brain. *J. Neurosci. Meth.* **170**, 197–203.
27. Osterlund M.K., Overstreet D.H., Hurd Y.L. 1999. The Flinders Sensitive Line rats, a genetic model of depression, show abnormal serotonin receptor mRNA expression in the brain that is reversed by 17β-tstradiol. *Mol. Brain Res.* **74**, 158–166.
28. Yadid G., Nakash R., Deri I., Tamar G., Kinor N., Gispán I., Zangen A. 2000. Elucidation of the neurobiology of depression: insights from a novel genetic animal model. *Prog. Neurobiol.* **62**, 353–378.
29. Cryan J.F., Mombereau C. 2004. In search of a depressed mouse; utility of models for studying depression-related behavior in genetically modified mice. *Mol. Psychiatry.* **9**, 326–357.
30. Yacoubi M.El., Vaugeois J.-M. 2007. Genetic rodent models of depression. *Curr. Opin. Pharmacol.* **7**, 3–5.
31. Дубровина И.И., Зиновьев Д.Р., Зиновьева Д.В., Куликов А.В. 2008. Обучение и угашение реакции пассивного избегания мышей с высокой предрасположенностью к катаlepsии. *Росс. физиол. журн.* **94**, 609–616.
32. Зиновьев Д.Р., Дубровина Н.И., Куликов А.В. 2009. Развитие амнезии у мышей разных линий. *Бюлл. эксп. биол. мед.* **147**, 484–486.
33. Альперина Е.Л., Куликов А.В., Попова Н.К., Идова Т.В. 2007. Характер иммунного ответа у мышей новой линии ASC (antidepressant sensitive catalepsy). *Бюлл. эксп. биол. мед.* **144**, 188–190.
34. Лисачев П.Д., Запара Т.А., Куликов А.В., Базовкина Д.В., Попова Н.К. 2008. Эпилептиформная активность в гиппокампе мышей с разной предрасположенностью к шипковой катаlepsии. *Бюлл. эксп. биол. мед.* **145**, 263–265.
35. Moret C., Briley M. 1992. Effect of antidepressant drugs on monoamine synthesis in brain *in vivo*. *Neuropharmacol.* **31**, 679–684.
36. Benmansour S., Cecchi M., Morilak D.A., Gerhardt G.A., Javors M.A., Gould G.G., Frazer A. 1999. Effects of chronic antidepressant treatments on serotonin transporter function, density, and mRNA level. *J. Neurosci.* **19**, 10494–10501.
37. Benmansour S., Owens W.A., Cecchi M., Morilak D.A., Frazer A. 2002. Serotonin clearance *in vivo* is altered to a greater extent by antidepressant-induced downregulation of the serotonin transporter than by acute blockade of this transporter. *J. Neurosci.* **22**, 6766–6772.
38. Mirza N.R., Nielsen E.O., Troelsen K.B. 2007. Serotonin transporter density and anxiolytic-like effects of antidepressants in mice. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* **31**, 858–866.
39. Hirano K., Seki T., Sakai N., Kato Y., Hashimoto H., Uchida S., Yamada S. 2005. Effects of continuous administration of paroxetine on ligand binding site and expression of serotonin transporter protein in mouse brain. *Brain Res.* **1053**, 154–161.
40. Casanovas J.M., Vilaró M.T., Mengod G., Artigas F. 1999. Differential regulation of somatodendritic serotonin 5-HT_{1A} receptors by 2-week treatments with the selective agonists alnespirone (S-20499) and 8-hydroxy-2-(Di-n-propylamino)tetralin: microdialysis and autoradiographic studies in rat brain. *J. Neurochem.* **72**, 262–272.
41. Lee S.H. 2009. Disulfide and polysulfide antitumor agents and their modes of action. *Arch. Pharm. Res.* **32**, 299–315.
42. Lee A.H.F., Chen J., Liu D., Leung T.Y.C., Chan A.S.C., Li T. 2002. Acid-promoted DNA-cleaving activities and total synthesis of varacin C. *J. Am. Chem. Soc.* **124**, 13972–13973.
43. Davidson B.S., Molinski T.F., Barrows L.R., Ireland C.M. 1991. Varacin: a novel benzopentathiepin from *Lissoclinum vareau* that is cytotoxic towards human colon tumor. *J. Am. Chem. Soc.* **113**, 4709–4710.
44. Chatterji T., Gates K. S. 1998. DNA cleavage by 7-methylbenzopentathiepin: a simple analog of the antitumor antibiotic varacin. *Biorg. Med. Chem. Lett.* **8**, 535–538.
45. Greer A. 2001. On the origin of cytotoxicity of the natural product varacin. A novel example of a pentathiepin reaction that provides evidence for a triatomic sulfur intermediate. *J. Am. Chem. Soc.* **123**, 10379–10386.