

УДК 612.82

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn627411>

Седативный эффект U-49900 (3,4-дихлор-N-(2-(диэтиламино)циклогексил)-N-метил-бензамида) на взрослых рыбах зебраданио

Т.О. Колесникова^{1,2}, В.А. Шевырин², С.Л. Хацко², А.В. Калуев^{1,3}¹ Научно-технологический университет «Сириус», пгт Сириус, Россия;² Уральский федеральный университет, Екатеринбург, Россия;³ Национальный медицинский исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. U-49900 — химический аналог селективного агониста μ -опиоидных рецепторов U-47700 с выраженными психоактивными свойствами. Несмотря на рост злоупотреблений синтетическими опиоидами, в том числе U-47700 и U-49900, психофармакологический профиль последнего изучен мало. Костная рыба зебраданио (*zebrafish*, *Danio rerio*) представляет перспективный акватический модельный организм в нейробиологии и широко используется для психофармакологического анализа свойств нейротропных препаратов.

Цель — оценить эффекты U-49900 на поведение взрослых зебраданио в тесте «нового аквариума».

Материалы и методы. Оценивали действие соединения U-49900 в концентрациях 1, 5, 10 и 25 мг/л (инкубация в течение 20 мин) на поведение взрослых зебраданио в тесте «нового аквариума». U-49900 — 3,4-дихлор-N-(2-(диэтиламино)циклогексил)-N-метилбензамид, аналог синтетического опиоида U-47700, вызывает у человека абстиненцию.

Результаты и обсуждение. В концентрации 25 мг/л U-49900 уменьшает пройденную дистанцию и количество выходов в верхнюю часть аквариума в тесте «нового аквариума» ($p < 0,001$ по сравнению с контрольной группой), но не изменяет другие параметры в тесте. Данный профиль согласуется с выраженным седативным действием препарата.

Заключение. В целом чувствительность зебраданио к U-49900 предполагает возможность разработки высокопроизводительных платформ для скрининга препаратов и их мишеней с целью поиска эффективной терапии патологических состояний, вызванных синтетическими опиоидами.

Ключевые слова: зебраданио; U-49900; синтетические опиоиды; поведение; седативный эффект.

Как цитировать

Колесникова Т.О., Шевырин В.А., Хацко С.Л., Калуев А.В. Седативный эффект U-49900 (3,4-дихлор-N-(2-(диэтиламино)циклогексил)-N-метил-бензамида) на взрослых рыбах зебраданио // Психофармакология и биологическая наркология. 2024. Т. 15, № 2. С. 127–134. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn627411>

DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn627411>

Sedative effect of U-49900 (3,4-dichloro-N-(2-(diethylamino)cyclohexyl)-N-methyl-benzamide) in adult Zebrafish

Tatiana O. Kolesnikova^{1,2}, Vadim A. Shevyrin², Sergei L. Khatsko², Allan V. Kalueff^{1,3}

¹ Sirius University of Science and Technology, Sirius, Russia;

² Ural Federal University, Yekaterinburg, Russia;

³ Almazov National Medical Research Center, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: U-49900 is a chemical analog of U-47700. Despite the growing abuse of synthetic opioids, including U-49900, its psychopharmacological and toxicological profiles remain poorly understood. The zebrafish (*Danio rerio*) is a promising model organism in neuroscience often used for the psychopharmacological evaluation of neurotropic drugs.

OBJECTIVE: To evaluate the effects of U-49900 on the behavior of adult zebrafish in a new tank.

MATERIALS AND METHODS: The effect of the test compound U-49900 at 1, 5, 10, and 25 mg/L concentrations (incubation for 20 minutes) on the behavior of adult zebrafish was assessed using the “new aquarium” test. U-49900 is 3,4-dichloro-N-(2-(diethylamino)cyclohexyl)-N-methylbenzamide and is considered an analog of the synthetic opioid U-47700, causing withdrawal in humans.

RESULTS: The psychopharmacological profile of U-49900 at 1, 5, 10, and 25 mg/l concentrations (water immersion) in adult zebrafish was evaluated with the novel tank test. U-49900 at 25 mg/l for 20 min reduced the distance traveled and number of top entries in the novel tank test ($p < 0.001$ vs. control group), but unaltered other parameters.

CONCLUSIONS: Overall, the sensitivity of zebrafish to synthetic non-fentanyl opioids such as U-49900 indicates the possibility of developing high-throughput screening platforms for finding effective therapies for pathological conditions caused by synthetic opioids.

Keywords: zebrafish; U-49900; synthetic opioids; behavior; sedative effect.

To cite this article

Kolesnikova TO, Shevyrin VA, Khatsko SL, Kalueff AV. Sedative effect of U-49900 (3,4-dichloro-N-(2-(diethylamino)cyclohexyl)-N-methyl-benzamide) in adult Zebrafish. *Psychopharmacology and biological narcology*. 2024;15(2):127–134. DOI: <https://doi.org/10.17816/phbn627411>

ОБОСНОВАНИЕ

Опиоиды, в том числе нефентаниловые циклогексилбензамиды, часто употребляемые наркотические вещества [1]. Препарат 3,4-дихлор-N-(2-(диэтиламино)циклогексил)-N-метилбензамид (U-49900) (рис.) представляет собой аналог синтетического опиоида U-47700, вызывает у человека абстиненцию и (при хроническом использовании) потерю вкуса, обоняния и осязания [2]. Данное соединение внесено в список сильнодействующих и наркотических средств во многих странах [3], включая США, Швецию, Испанию [2] и (с 2017 г.) Россию. Ввиду растущего злоупотребления опиатов в мире [1] их изучение становится важной биомедицинской задачей, в том числе в клинических и доклинических исследованиях. Однако, несмотря на данные об эффектах U-47700 у грызунов [2], сведения о действии его аналога U-49900 на животных моделях практически отсутствуют.

Наряду с грызунами, в доклиническом скрининге химических соединений широко используют рыбу зебранию (*zebrafish*, *Danio rerio*), ставшую незаменимым модельным объектом в биомедицине. Наряду с невысокой стоимостью, быстрым развитием, прозрачностью эмбрионов, морфологической, физиологической и генетической гомологией с человеком [4], а также чувствительностью к основным классам препаратов, зебранию также демонстрируют обучение [5], социальность [6] и сложное поведение [7]. В силу отсутствия данных о нейротропных эффектах U-49900 цель настоящего исследования состояла в изучении его воздействия при остром введении на поведение и двигательную активность взрослых рыб зебранию.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Анализ взаимосвязи структуры и активности имеет ключевое значение для прогнозирования биологических свойств химических соединений в базе данных PASSOnline, которая с точностью более 96 % предсказывает фармакологические профили лекарств, механизм действия, взаимодействия мишеней и побочные/токсические эффекты на основе библиотеки более 1 млн биологически активных веществ [8]. В работе проанализировано соединение U-49900 с использованием этого подхода для оценки рассчитанной вероятности (Pa) конкретных биологических активностей.

В исследовании использовано 83 зебранию аутбредной популяции короткоплавникового дикого типа обоего пола в возрасте 4–6 мес., полученные от местного поставщика (Zootrade, Inc., Екатеринбург). Рыбы были акклиматизированы в течение не менее двух недель до начала экспериментов и содержались группами по 40 особей в 40-литровых аквариумах, заполненных чистой фильтрованной водой (температура — 25 ± 1 °C, pH 7,4). Освещение (950–960 люкс) обеспечивали потолочными

светильниками, а световой день составлял 12 ч (09:00–21:00 [9]). Экспериментальных животных ранее не применяли в других экспериментах, кормили стандартным кормом (хлопьями TetraMin для аквариумных рыб) дважды в день. Выбор беспородной популяции дикого типа для настоящего исследования был основан на соображениях популяционной валидности и ее значимости для настоящего исследования. Хотя генетически контролируемые модели (например, инбредные линии рыб зебранию) могут быть более воспроизводимой и надежной системой для нейрогенетических исследований, моделирование нарушений центральной нервной системы на животных подразумевает воспроизведение «реальных» болезней мозга человека, затрагивающих генетически гетерогенные популяции. Таким образом, использование аутбредной линии рыб в данной работе обосновано с популяционной и трансляционной точек зрения.

Эксперименты проводили с 10:00 до 17:00 в тесте «нового аквариума», хорошо валидованном для анализа локомоторных и других поведенческих фенотипов зебранию [10]. Перед тестированием выполняли инкубацию рыб по 1 штуке в пластиковом стакане емкостью 0,5 л в течение 20 мин в растворе, содержащем U-49900 в разных концентрациях, разведенном в 0,1% диметилсульфоксиде (ДМСО), в данной концентрации не влияющем на поведение зебранию [11]. Контрольные рыбы подвергались действию раствора ДМСО без препарата. Вещество U-49900 (Россия) было получено от таможенной службы РФ в рамках исследовательских контрактов с Уральским федеральным университетом.

Экспериментальные животные случайным образом разделены на контрольную и экспериментальные группы: 1, 5, 10 и 25 мг/л ($n = 16–19$ в группе). Концентрации определены на основе собственных пилотных экспериментов по тестированию широкого диапазона острых эффектов U-49900 на зебранию. Стандартная 20-минутная экспозиция выбрана на основе опыта работы с различными психотропными препаратами.

После инкубации с препаратом поведение рыб исследовали в тесте «нового аквариума», аппарат которого составлял прямоугольный резервуар объемом 1,5 л (15×20×5 см), заполненный водой и разделенный на две равные части виртуальной горизонтальной линией. Поведение рыб записывали на веб-камеру SJ4000 и полученные материалы обрабатывали в программе RealTimer (Open Science, Ltd., Красногорск, Россия). Оценивали количество, продолжительность (с) и латентный период эпизодов замирания (фризинга), латентный период (с) первого выхода в верхнюю часть аквариума, количество выходов вверх и их общую продолжительность (с), а также количество беспорядочных движений (хаотичные движения с высокой скоростью и ускорением, являющиеся маркером тревожного поведения) [12]. Фризинг определяли как полную неподвижность рыбы, за исключением движения жаберных крышек и глаз, более 2 с.

Для оценки уровня двигательной активности, общее пройденное расстояние (м), число и продолжительность состояний высокой подвижности подсчитывали с помощью программы Noldus Ethovision XT11 (Wageningen, Нидерланды). Траектории движения зебраданио были также построены в Ethovision XT11 и сохранены в формате JPEG для наглядной иллюстрации пространственных паттернов активности рыб. Полулетальную дозу ЛД₅₀ препарата определяли путем инкубации групп из 30 рыб в различных концентрациях в течение 24 ч.

Группы сравнивали в программе Statistica 10.0 с помощью непараметрического критерия Краскела – Уоллиса с последующим попарным сравнением рангов групп с применением теста Манна – Уитни с поправкой Бонферрони. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Препарат U-49900 демонстрирует выраженную нейротропность в тесте «нового аквариума», статистически достоверно влияя на ряд параметров поведения зебраданио, которые отражают уровень их локомоторной активности (см. рис., табл. 1). В частности, в концентрации 25 мг/л U-49900 на 95,79 % уменьшилась частота выходов зебраданио в верхнюю часть аквариума без изменения продолжительности и латентного периода выхода, что свидетельствует о снижении уровня локомоции рыб после воздействия вещества. В концентрации 25 мг/л U-49900 наблюдалось также 75 % уменьшение общей пройденной дистанции по сравнению с контрольной группой, что подтверждает седативный профиль данного препарата. При этом не отмечено значимых различий в частоте отражающих тревожность беспорядочных движений и фризинга во всех группах (см. табл. 1). ЛД₅₀ для тестируемого препарата U-49900 составила 15 мг/л.

По сравнению с острым введением морфина, воздействие которого у зебраданио проявляется в поведенческой активности при концентрации 2 мг/л [13], острое введение U-49900 снижает активность рыб в концентрации 25 мг/л (см. рис.), подтверждая сравнительно более слабую активность последнего в центральной нервной системе у зебраданио. Более того, высокие концентрации морфина (10 и 30 мг/л) не влияют на локомоцию зебраданио [14], но в концентрации 25 мг/л U-49900 вызвал седацию в настоящем исследовании (см. рис.), вследствие чего можно предположить его большую эффективность в высоких дозах по сравнению с морфином.

Компьютерный анализ химической структуры U-49900 с использованием базы данных PASSOnline предсказал (табл. 2) с высокой вероятностью ($P_a > 60\%$) анксиолитические свойства U-49900, что в целом согласуется с его седативным действием на зебраданио (см. табл. 1).

Несмотря на обнаружение выраженных нейротропных седативных эффектов U-49900 (см. рис., табл. 1), настоящее исследование имеет несколько ограничений. Например, не изучали потенциальное молекулярное, геномное и протеомное воздействие U-49900 на зебраданио, а также индивидуальные различия [15]. В будущем целесообразно оценить эффекты хронического воздействия U-49900 на рыбах, грызунах и человеке, а также сопоставить возможное привыкание и развитие синдрома отмены, особенно в контексте опиоидергических эффектов препарата. Целесообразен также систематический анализ нейрохимических и фармакокинетических процессов в мозге зебраданио (например, через 1, 2, 6, 12, 24 и 48 ч после воздействия) для низких, средних и высоких доз в будущих доклинических исследованиях U-49900.

Еще один фактор — возможная потенциальная острая неспецифическая токсичность U-49900. Например, в пилотных исследованиях U-49900 нами не выявлено токсичности при применении концентрации 25 мг/л, но показана летальность 80–100 % после однократного острого

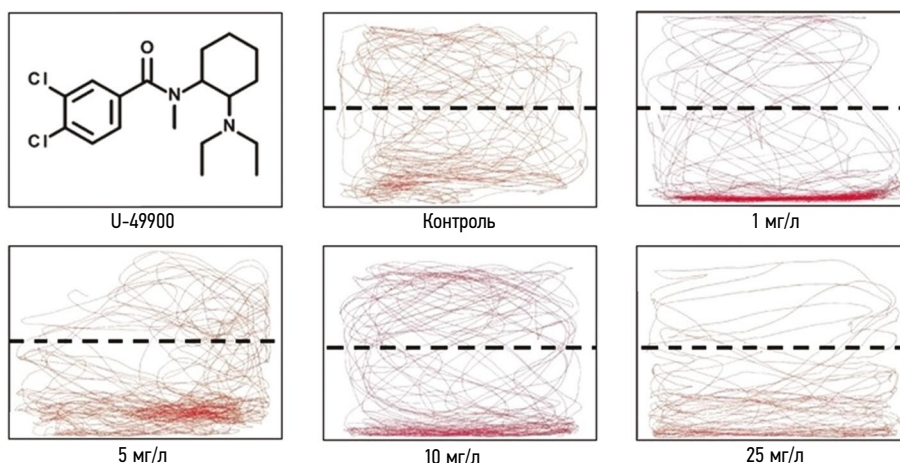


Рис. Влияние U-49900 на паттерны плавания рыб в тесте «новый аквариум»

Fig. Effect of U-49900 on fish swimming patterns in the new aquarium test

60-минутного воздействия в концентрации 50–100 мг/л (данные не приведены). Кроме того, после однократного острого 20-минутного введения 50–100 мг/л наблюдались выраженная атаксия и седативный эффект, а оцененная в настоящей работе ЛД₅₀ препарата составила 15 мг/л

при 24-часовой экспозиции. Таким образом, преобладание седативного эффекта при остром воздействии нарастающих доз U-49900 на зебраданию могло маскировать анксиолитические эффекты этого препарата. Однако, поскольку острые дозы морфина и других опиоидов в малых

Таблица 1. Влияние U-49900 на поведенческие реакции зебраданию в 5-минутном тесте «нового аквариума»

Table 1. Effect of U-49900 on the behavioral responses of zebrafish in the 5-minute new aquarium test

Показатель	Контроль (n = 16)	1 мг/л (n = 16)	5 мг/л (n = 16)	10 мг/л (n = 16)	25 мг/л (n = 15)	Значение критерия Краскела – Уоллиса H (4,79), p
Параметры, подсчитанные с помощью программного обеспечения Ethovision XT						
Пройденная дистанция, м	19,0 ± 1	17,0 ± 0,9	15,7 ± 0,9	15,0 ± 0,1	0,8 ± 0,1 ^{*** # @A}	37,5, p = 0,00001
Параметры, подсчитанные с помощью программного обеспечения RealTimer						
Частота выходов наверх	28,0 ± 4,6	19,0 ± 2,6	17,0 ± 2,8	17,0 ± 2,7	7,0 ± 1,6 ^{***#A}	23,3, p = 0,0001
Продолжительность выходов наверх, с	99,0 ± 10,8	77,0 ± 12,4	78,0 ± 16,6	78,0 ± 12,6	53,0 ± 17	7,8, p = 0,1
Общее количество хаотических движений	1,2 ± 0,8	1,1 ± 0,5	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,7	0,0 ± 0,0 ^{##@}	11,9, p = 0,02
Число актов фризинга	0,1 ± 0,1	0,1 ± 0,1	0,0 ± 0,0	0,3 ± 0,2	1,6 ± 0,6 [#]	21,2, p = 0,0003
Суммарная продолжительность фризинга, с	2,5 ± 2,5	2,2 ± 2,2	0,0 ± 0,0	23,0 ± 15,0	52,0 ± 22,0 ^{#A}	20,0, p = 0,0005
Латентный период выхода в верхнюю часть аквариума, с	47,0 ± 9,6	62,0 ± 14,3	58,0 ± 13,0	76,0 ± 13,4	50,0 ± 22,0	9,4, p = 0,05
Латентный период фризинга, с	282,0 ± 18,0	282 ± 17,6	300,0 ± 0,0	248,0 ± 28,3	143,0 ± 39,0 ^{##@}	22,2, p = 0,0002

Примечание: ^{***}p < 0,001 против контроля, [#]p < 0,05 против группы 1 мг/л, ^{##}p < 0,01 против группы 1 мг/л, [@]p < 0,05 против группы 5 мг/л, ^Ap < 0,05 против группы 10 мг/л, тест Краскела – Уоллиса с последующим тестом Манна – Уитни с поправкой Бонферрони для попарного сравнения групп. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего.

Note: ^{***}p < 0.001 vs control; [#]p < 0.05 vs 1 mg/L group; ^{##}p < 0.01 vs 1 mg/L group; [@]p < 0.05 vs 5 mg/L group; ^Ap < 0.05 vs 10 mg/L group; the Kraskell–Wallis test followed by the Mann–Whitney test with Bonferroni correction for pairwise comparison of groups. Data are presented as mean ± standard error of the mean.

Таблица 2. Вероятность биологической активности (Pa) препарата U-49900, рассчитанная с помощью базы данных PASSOnline (www.way2drug.com/passonline/)

Table 2. Probabilities of biological activity (Pa) of the drug U-49900, calculated using the PASSOnline database (www.way2drug.com/passonline/)

Pa	Биологическая активность
0,910	Антифобическое действие
0,890	Ингибитор тауриндегидрогеназы
0,826	Ингибитор НАДФН-пероксидазы
0,771	Ингибитор гликозилфосфатидилинозитол фосфолипазы D
0,783	Ингибитор убихинол-цитохром-с-редуктазы
0,735	Ингибитор фосфолипид-транслоцирующей АТФазы
0,707	Ингибитор L-глутаматоксидазы
0,671	Ингибитор 5-O-(4-кумароил)-D-хинат-3'-монооксигеназы
0,631	Ингибитор (S)-6-гидроксинокотиноксидазы
0,613	Ингибитор сульфитоксидазы
0,587	Ингибитор камфор-1,2-монооксигеназы
0,592	Ингибитор белка, ассоциированного с центромерой
0,601	Анксиолитическое (противоневротическое) действие
0,538	Активатор кальциевых каналов

количествах вызывают анксиолитические эффекты у людей [16], в дальнейшем нужна оценка более широкого диапазона низких доз этого вещества, чтобы оценить потенциальное анксиолитическое действие при однократном введении.

В целом седативный эффект U-49900 у взрослых зебраданио в концентрации 25 мг/л (см. рис., табл. 1) аналогичен эффектам U-47700, что позволяет предположить не только химическое, но и фармакологическое сходство данных синтетических опиоидов [17], для чего необходимы дальнейшие исследования данных препаратов. Способность U-49900 вызывать выраженные нейротропные седативные эффекты у зебраданио также согласуется с клиническими и доклиническими данными о синтетических препаратах, подчеркивая важность доклинического скрининга химических соединений на рыбах. Учитывая высокую консервативность мишеней для лекарств и сходство основных молекулярных сетей между рыбами, людьми и грызунами [18, 19], разработка скрининговых платформ на основе зебраданио может стать важной стратегией поиска путей терапии при состояниях, вызванных приемом синтетических препаратов [20].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, вещество U-49900 в концентрации 25 мг/л в течение 20 мин на 95,79 % уменьшает пройденную дистанцию и на 75 % количество выходов в верхнюю часть аквариума в тесте «нового аквариума» ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой. Данный фенотип свидетельствует о седативном действии препарата на взрослых зебраданио. Препарат во всех исследуемых концентрациях не влиял на другие параметры в тесте «нового аквариума», но продемонстрировал ЛД₅₀ при концентрации 15 мг/л и 24-часовой инкубации. Проведенный *in silico* анализ U-49900 при помощи базы данных PASSOnline указывает на возможность анксиолитических

свойств препарата, что косвенно соответствует его обнаруженной седативности и требует дальнейшего исследования.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Вклад авторов. Все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией. Т.О. Колесникова — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материалов, написание текста; В.А. Шевырин — анализ полученных данных, обзор литературы, внесение окончательной правки; С.Л. Хацко — сбор и обработка материалов, внесение окончательной правки; А.В. Калуев — концепция и дизайн исследования, анализ полученных данных, написание текста, внесение окончательных правок.

Финансирование. Исследование проведено при поддержке Научно-технологического университета «Сириус», проект № NRB-RND-2116.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

ADDITIONAL INFORMATION

Author contribution. Thereby, all authors confirm that their authorship complies with the international ICMJE criteria (all authors have made a significant contribution to the development of the concept, research, and preparation of the article, as well as read and approved the final version before its publication). T.O. Kolesnikova — concept and design of the study, collection and processing of materials, writing the text; V.A. Shevyrin — analysis of the obtained data, literature review, making final corrections; S.L. Khatsko — collecting and processing materials, making final edits; A.V. Kalueff — concept and design of the study, analysis of the data obtained, writing the text, making final edits.

Funding source. The study has been supported by Sirius University of Science and Technology, project № NRB-RND-2116.

Conflict of interests. No conflict of interests is declared.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Nutt D., King L.A., Saulsbury W., Blakemore C. Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse // *Lancet*. 2007. Vol. 369, N 9566. P. 1047–1053. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60464-4
- Fabregat-Safont D., Carbón X., Ventura M., et al. Updating the list of known opioids through identification and characterization of the new opioid derivative 3, 4-dichloro-N-(2-(diethylamino) cyclohexyl)-N-methylbenzamide (U-49900) // *Sci Rep*. 2017. Vol. 7, N 1. ID 6338 doi: 10.1038/s41598-017-06778-9
- Krotulski A.J., Papsun D.M., Friscia M., et al. Fatality following ingestion of tetrahydrofuranlyfentanyl, U-49900 and methoxyphencyclidine // *J Anal Toxicol*. 2018. Vol. 42, N 3. P. e27–e32. doi: 10.1093/jat/bkx092
- Kalueff A.V., Echevarria D., Stewart A.M. Gaining translational momentum: more zebrafish models for neuroscience research // *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2014. Vol. 55. P. 1–6. doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.01.022
- Gerlai R. Learning and memory in zebrafish (*Danio rerio*) // *Methods Cell Biolol*. 2016. Vol. 134. P. 551–586. doi: 10.1016/bs.mcb.2016.02.005
- Gerlai R. Social behavior of zebrafish: from synthetic images to biological mechanisms of shoaling // *J Neurosci Methods*. 2014. Vol. 234. P. 59–65. doi: 10.1016/j.jneumeth.2014.04.028
- Jesuthasan S. Fear, anxiety, and control in the zebrafish // *Dev Neurobiol*. 2012. Vol. 72, N 3. P. 395–403. doi: 10.1002/dneu.20873
- Filimonov D.A., Lagunin A.A., Glorizova T.A., et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the

PASS online web resource // *Chem Heterocycl Compd*. 2014. Vol. 50. P. 444–457. doi: 10.1007/s10593-014-1496-1

9. Westerfield M. *The zebrafish book: A guide for the laboratory use of zebrafish Danio (Brachydanio Rerio)*. 5th ed. University of Oregon, 2007.

10. Stewart A.M., Kalueff A.V. The behavioral effects of acute $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol and heroin (diacetylmorphine) exposure in adult zebrafish // *Brain Res*. 2014. Vol. 1543. P. 109–119. doi: 10.1016/j.brainres.2013.11.002

11. Goldsmith P. Zebrafish as a pharmacological tool: the how, why and when // *Curr Opin Pharmacol*. 2004. Vol. 4, N 5. P. 504–512. doi: 10.1016/j.coph.2004.04.005

12. Kalueff A.V., Gebhardt M., Stewart A.M., et al. Towards a comprehensive catalog of zebrafish behavior 1.0 and beyond // *Zebrafish*. 2013. Vol. 10, N 1. P. 70–86. doi: 10.1089/zeb.2012.0861

13. Stewart A., Wu N., Cachat J., et al. Pharmacological modulation of anxiety-like phenotypes in adult zebrafish behavioral models // *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011. Vol. 35, N 6. P. 1421–1431. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.11.035

14. Douglas A. *The dose-response relationship of morphine in a zebrafish (Danio rerio) model*. University of Prince Edward Island, 2012.

15. Volgin A.D., Yakovlev O.A., Demin K.A., et al. Zebrafish models for personalized psychiatry: Insights from individual,

strain and sex differences, and modeling gene x environment interactions // *J Neurosci Res*. 2019. Vol. 97, N 4. P. 402–413. doi: 10.1002/jnr.24337

16. Suzuki J., El-Haddad S. A review: fentanyl and non-pharmaceutical fentanyls // *Drug And Alcohol Dependence*. 2017. Vol. 171. P. 107–116. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2016.11.033

17. Bachour R.-L., Golovko O., Kellner M., Pohl J. Behavioral effects of citalopram, tramadol, and binary mixture in zebrafish (*Danio rerio*) larvae // *Chemosphere*. 2020. Vol. 238. ID 124587. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.124587

18. Stewart A.M., Ullmann J.F., Norton W.H.J., et al. Molecular psychiatry of zebrafish // *Mol Psychiatry*. 2015. Vol. 20, N 1. P. 2–17. doi: 10.1038/mp.2014.128

19. Галстян Д.С., Колесникова Т.О., Косицын Ю.М., и др. Оценка общей двигательной активности и тревожности зейбра-данию (*Danio rerio*) с использованием тестов незнакомого аквариума, открытого поля, черно-белого аквариума и построения косяка // *Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии*. 2022. Т. 20, № 2. С. 123–133. EDN: AKINGC doi: 10.17816/RCF202123-133

20. Alzghari S.K., Amin Z.M., Chau S., et al. On the horizon: the synthetic opioid U-49900 // *Cureus*. 2017. Vol. 9, N 9. ID e1679. doi: 10.7759/cureus.1679

REFERENCES

1. Nutt D, King LA, Saulsbury W, Blakemore C. Development of a rational scale to assess the harm of drugs of potential misuse. *Lancet*. 2007;369(9566):1047–1053. doi: 10.1016/S0140-6736(07)60464-4

2. Fabregat-Safont D, Carbón X, Ventura M, et al. Updating the list of known opioids through identification and characterization of the new opioid derivative 3, 4-dichloro-N-(2-(diethylamino)cyclohexyl)-N-methylbenzamide (U-49900). *Sci Rep*. 2017;7(1):6338. doi: 10.1038/s41598-017-06778-9

3. Krotulski AJ, Papsun DM, Friscia M, et al. Fatality following ingestion of tetrahydrofuranlyfentanyl, U-49900 and methoxy-phencyclidine. *J Anal Toxicol*. 2018;42(3):e27–e32. doi: 10.1093/jat/bkx092

4. Kalueff AV, Echevarria D, Stewart AM. Gaining translational momentum: more zebrafish models for neuroscience research. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2014;55:1–6. doi: 10.1016/j.pnpbp.2014.01.022

5. Gerlai R. Learning and memory in zebrafish (*Danio rerio*). *Methods Cell Biolol*. 2016;134:551–586. doi: 10.1016/bs.mcb.2016.02.005

6. Gerlai R. Social behavior of zebrafish: from synthetic images to biological mechanisms of shoaling. *J Neurosci Methods*. 2014;234:59–65. doi: 10.1016/j.jneumeth.2014.04.028

7. Jesuthasan S. Fear, anxiety, and control in the zebrafish. *Dev Neurobiol*. 2012;72(3):395–403. doi: 10.1002/dneu.20873

8. Filimonov DA, Lagunin AA, Glorizova TA, et al. Prediction of the biological activity spectra of organic compounds using the PASS online web resource. *Chem Heterocycl Compd*. 2014;50:444–457. doi: 10.1007/s10593-014-1496-1

9. Westerfield M. *The zebrafish book: A guide for the laboratory use of zebrafish Danio (Brachydanio Rerio)*. 5th ed. University of Oregon, 2007.

10. Stewart AM, Kalueff AV. The behavioral effects of acute $\Delta 9$ -tetrahydrocannabinol and heroin (diacetylmorphine) exposure in adult zebrafish. *Brain Res*. 2014;1543:109–119. doi: 10.1016/j.brainres.2013.11.002

11. Goldsmith P. Zebrafish as a pharmacological tool: the how, why and when. *Curr Opin Pharmacol*. 2004;4(5):504–512. doi: 10.1016/j.coph.2004.04.005

12. Kalueff AV, Gebhardt M, Stewart AM, et al. Towards a comprehensive catalog of zebrafish behavior 1.0 and beyond. *Zebrafish*. 2013;10(1):70–86. doi: 10.1089/zeb.2012.0861

13. Stewart A, Wu N, Cachat J, et al. Pharmacological modulation of anxiety-like phenotypes in adult zebrafish behavioral models. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatry*. 2011;35(6):1421–1431. doi: 10.1016/j.pnpbp.2010.11.035

14. Douglas A. *The dose-response relationship of morphine in a zebrafish (Danio rerio) model*. University of Prince Edward Island, 2012.

15. Volgin AD, Yakovlev OA, Demin KA, et al. Zebrafish models for personalized psychiatry: Insights from individual, strain and sex differences, and modeling gene x environment interactions. *J Neurosci Res*. 2019;97(4):402–413. doi: 10.1002/jnr.24337

16. Suzuki J, El-Haddad S. A review: fentanyl and non-pharmaceutical fentanyls. *Drug And Alcohol Dependence*. 2017;171:107–116. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2016.11.033

17. Bachour R-L, Golovko O, Kellner M, Pohl J. Behavioral effects of citalopram, tramadol, and binary mixture in zebrafish (*Danio rerio*) larvae. *Chemosphere*. 2020;238:124587. doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.124587

18. Stewart AM, Ullmann JF, Norton WHJ, et al. Molecular psychiatry of zebrafish. *Mol Psychiatry*. 2015;20(1):2–17. doi: 10.1038/mp.2014.128

19. Galstyan DS, Kolesnikova TO, Kositsyn YM, et al. Assessment of general locomotor activity and anxiety in zebrafish (*Danio rerio*) in the light-dark box (tank), the shoaling test, in the novel tank and the open field tests. *Reviews on Clinical Pharmacology*

and *Drug Therapy*. 2022;20(2):123–133. EDN: AKINGC doi: 10.17816/RCF202123-133

20. Alzghari SK, Amin ZM, Chau S, et al. On the horizon: the synthetic opioid U-49900. *Cureus*. 2017;9(9):e1679. doi: 10.7759/cureus.1679

ОБ АВТОРАХ

Татьяна Олеговна Колесникова; ORCID: 0000-0002-5561-8583; eLibrary SPIN: 8558-7887; e-mail: Philimontani@yandex.ru

Вадим Анатольевич Шевырин, канд. биол. наук; ORCID: 0000-0002-0369-0786; eLibrary SPIN: 5899-6920; e-mail: vadim.shevyrin@gmail.com

Сергей Леонидович Хацко; ORCID: 0000-0001-5921-6680; eLibrary SPIN: 4973-7083; e-mail: hardscore@mail.ru

***Алан Валерьевич Калуев**, д-р биол. наук; Научно-технологический университет «Сириус», 354340, Российская Федерация, Краснодарский край, федеральная территория «Сириус», Олимпийский пр., д. 1. ORCID: 0000-0002-7525-1950; eLibrary SPIN: 4134-0515; e-mail: avkalueff@gmail.com

AUTHORS INFO

Tatiana O. Kolesnikova; ORCID: 0000-0002-5561-8583; eLibrary SPIN: 8558-7887; e-mail: Philimontani@yandex.ru

Vadim A. Shevyrin, Cand. Sci. (Biology); ORCID: 0000-0002-0369-0786; eLibrary SPIN: 5899-6920; e-mail: vadim.shevyrin@gmail.com

Sergey L. Khatsko; ORCID: 0000-0001-5921-6680; eLibrary SPIN: 4973-7083; e-mail: hardscore@mail.ru

***Allan V. Kalueff**, Dr. Sci. (Biology); Sirius University, Russia 354340, Krasnodar Region, Sirius Federal Territory, Olimpiyskiy prospect, 1. ORCID: 0000-0002-7525-1950; eLibrary SPIN: 4134-0515; e-mail: avkalueff@gmail.com

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author