

DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-2-59-67

ДИПЕПТИДНЫЕ МИМЕТИКИ NGF И BDNF: ДИЗАЙН И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

А. В. Тарасюк, Т. А. Антипова, П. Ю. Поварнина, Т. А. Гудашева¹

Представлен обзор работ, посвященный созданию и изучению фармакологически активных димерных дипептидных миметиков нейротрофинов NGF и BDNF. Они были созданы в НИИ фармакологии им. В. В. Закусова по заданию академика С. Б. Середина с использованием оригинальной стратегии, заключающейся в конструировании миметиков отдельных петель нейротрофинов при сохранении наиболее экспонированных центральных дипептидных фрагментов бета-поворотных участков этих петель и димерного строения нейротрофинов. Описывается спектр фармакологических свойств этих миметиков и его зависимость от картины активации пострецепторного сигнального Trk-рецепторов.

Ключевые слова: нейротрофины; NGF; BDNF; Trk-рецептор; PI3K/AKT; MAPK/ERK; димерные миметики; нейропротекция; антидепрессивная активность; антидиабетическая активность.

ВВЕДЕНИЕ

Фактор роста нервов (nerve growth factor, NGF) и мозговой нейротрофический фактор (brain derived neurotrophic factor, BDNF) относятся к семейству нейротрофинов и играют ключевую роль в формировании нервной системы, поддержании ее нормального функционирования и восстановлении в случае повреждений.

NGF и BDNF выполняют множество важных функций, включая регуляцию клеточного цикла, пролиферации, дифференцировки, миграции, метаболизма клеток, синаптической пластичности, поддержку фенотипической стабильности нейронов и ряда других клеток и нейропластичности [36, 46, 50, 61, 72].

Зрелые нейротрофины представляют собой симметричные гомодимеры. Каждый протомер, состоящий из 118 – 119 аминокислотных остатков, содержит семь β -тяжей, связанных тремя экспонированными наружу β -поворотными петлями (1, 2 и 4, остатки 28 – 36, 43 – 49 и 91 – 98 соответственно) и также экспонированной петлей 3, состоящей из трех последовательных обратных поворотов (остатки 59 – 75) (рис. 1).

Основные функции нейротрофинов реализуются при их взаимодействии со специфическими высокоаффинными нейротрофиновыми Trk-рецепторами (Р) и опосредованы тремя основными путями трансдукции сигнала — MAPK/ERK, PI3K/AKT и PLC- γ 1 [79]. Путь, опосредованный митоген-активируемой протеинкиназой (MAPK, mitogen-activated protein kinase), отвечает за нейропротекцию, дифференцировку и пролиферацию клеток [70]. Регуляция болевой чувствительности в некоторых случаях также опосредована

MAPK-сигнальным путем [76]. Путь PI3K/Akt, опосредованный фосфатидилинозитол-3-киназой (PI3K, phosphatidylinositol-3-kinase) и протеин-киназой В (также известной как Akt — threonine-protein kinase) в основном связан с нейропротекцией за счет усиления экспрессии антиапоптотических и ингибирования проапоптотических белков [86], а также с активацией белкового синтеза в целом [81]. Путь, опосредованный PLC- γ 1/PKC (phospholipase -C- γ 1/protein kinase C), поддерживает синаптическую пластичность [79], регулирует рост аксонов, участвует в активации MAPK [70] и интернализации комплекса лиганд/рецептор в сигнальную эндосому [37].

Кроме того, нейротрофины взаимодействуют с низкоаффинными p75-R, которые, в зависимости от условий, могут служить ко-Р для Trk, усиливая опосредуемые ими эффекты, либо стимулировать апоптоз [43].

Дефицит нейротрофинов ассоциирован с рядом неврологических и психических расстройств, а также метаболических нарушений [35, 41, 58, 71, 73, 93]. Так, в патогенезе болезни Альцгеймера большое значение имеет нарушение трофической поддержки NGF холинергических нейронов базальных отделов передних отделов головного мозга (ГМ) [67]. При болезни Паркинсона зарегистрировано снижение содержания NGF в плазме крови, а также в черной субстанции [69, 78]. BDNF вовлечен в патогенез бокового амиотрофического склероза [73].

Хорошо известна роль NGF в защите нейронов ГМ от гибели и его нейрорегенеративные свойства при ишемических и травматических повреждениях [91 – 93]. Установлена обратная зависимость между содержанием NGF в крови или спинномозговой жидкости в первые сутки после повреждения и тяжестью неврологического исхода [9, 44, 65]. BDNF также обладает защитными и нейрорегенеративными свойствами

¹ ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова”, Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.
Тел.: (495) 151-18-81
Факс: (495) 151-12-61

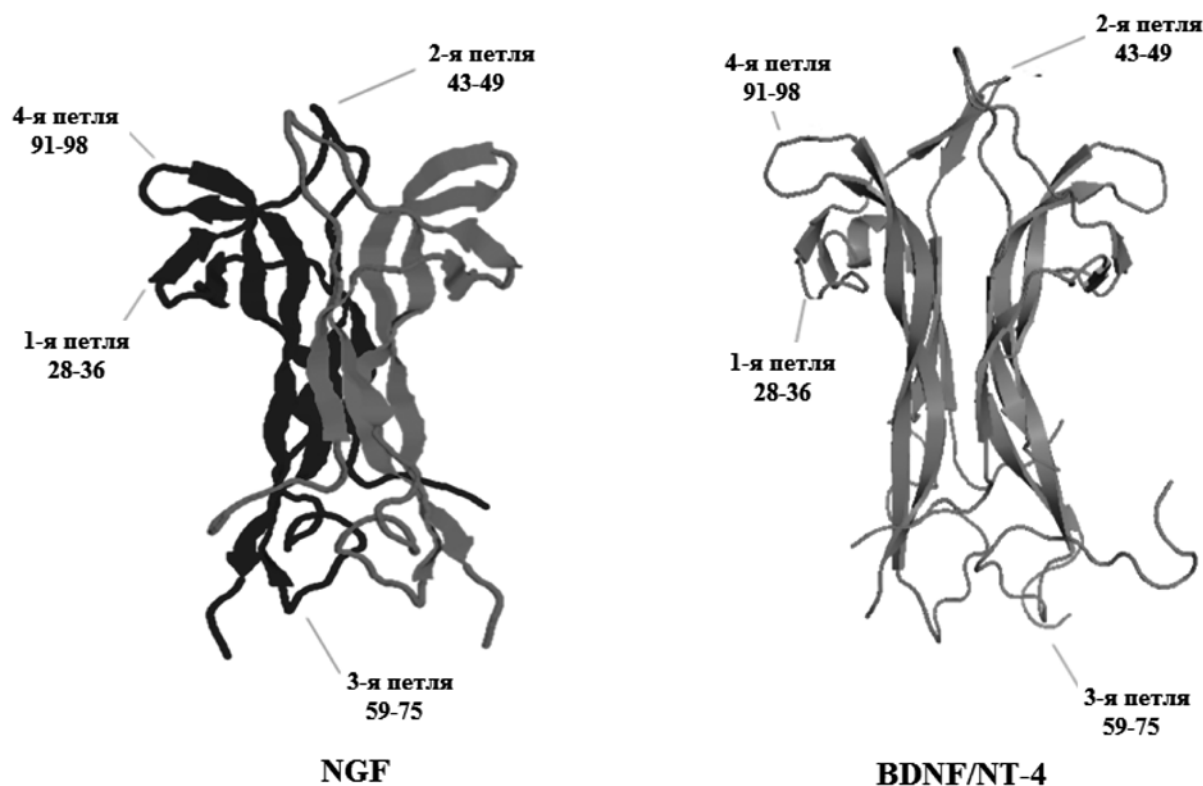


Рис. 1. Структуры гомодимера NGF (PDB ID: 1bet) и гетеродимера BDNF/NT-4 (PDB ID: 1b8m).

ми при ишемических повреждениях и травмах ГМ [59, 62, 90].

Оба этих нейротрофина участвуют в патогенезе сахарного диабета (СД). Они поддерживают жизнеспособность и функционирование β -клеток поджелудочной железы, а также увеличивают секрецию инсулина в ответ на повышение уровня глюкозы [74, 75]. Интересно отметить, что нарушение функционирования β -клеток поджелудочной железы при СД ассоциировано со снижением активности PI3K/AKT, но не MAPK/ERK сигнального пути [49, 52].

Накоплено большое количество клинических и экспериментальных данных о вовлеченности BDNF в патофизиологию депрессии [34, 40]. BDNF играет ключевую роль в нейропластичности в гиппокампе и префронтальной коре ГМ, нарушение которой лежит в основе патофизиологии данного заболевания [48, 87]. Установлено, что антидепрессивные свойства BDNF обусловлены активацией как PI3K/AKT-, так и MAPK/ERK- сигнальных каскадов, которые оба опосредуют поддержку нейропластичности за счет регуляции нейрогенеза и синаптогенеза [47]. Антидепрессивные свойства в эксперименте были выявлены и у NGF [77].

В связи с вышеизложенным нейротрофины NGF и BDNF привлекают большое внимание в качестве основы для разработки новых лекарственных средств (ЛС). Применение нативных нейротрофинов в клинике ока-

залось безуспешным из-за фармакокинетических ограничений и серьезных побочных эффектов. Для решения проблемы побочных эффектов нейротрофинов фармацевтические компании и научные группы предлагают селективную активацию отдельных пострецепторных сигнальных путей с помощью: (1) блокирования моноклональными антителами участков нейротрофинов, определяющих побочные эффекты, (2) применения мутеинов — мутантных по этим участкам нейротрофинов. Так, создано моноклональное антитело к С-концу NGF, у которого в комплексе с NGF сохранялась нейротрофическая, но пропадавшая нейритогенная и дифференцировочная активность. При этом был ухудшен MAPK-сигналинг [80]. В 2009 г. описан рекомбинантный мутеин NGF (K34A, K36A, E35A/F7A, H84A, R103A), который сохранял нейротрофическую активность и обладал уменьшенным нейритогенезом [66]. В 2012 г. описан рекомбинантный мутант NGFP61S/R100E, который предотвращал нейродегенерацию у животных с экспериментальной болезнью Альцгеймера и у него были выявлены уменьшенная проболевая активность и сниженный Erk-сигналинг [42].

Более перспективным для решения проблем полноразмерных нейротрофинов является создание низкомолекулярных миметиков.

К настоящему времени получены десятки низкомолекулярных миметиков нейротрофинов [45, 63, 64, 89], которые позволили преодолеть фармакокинетические

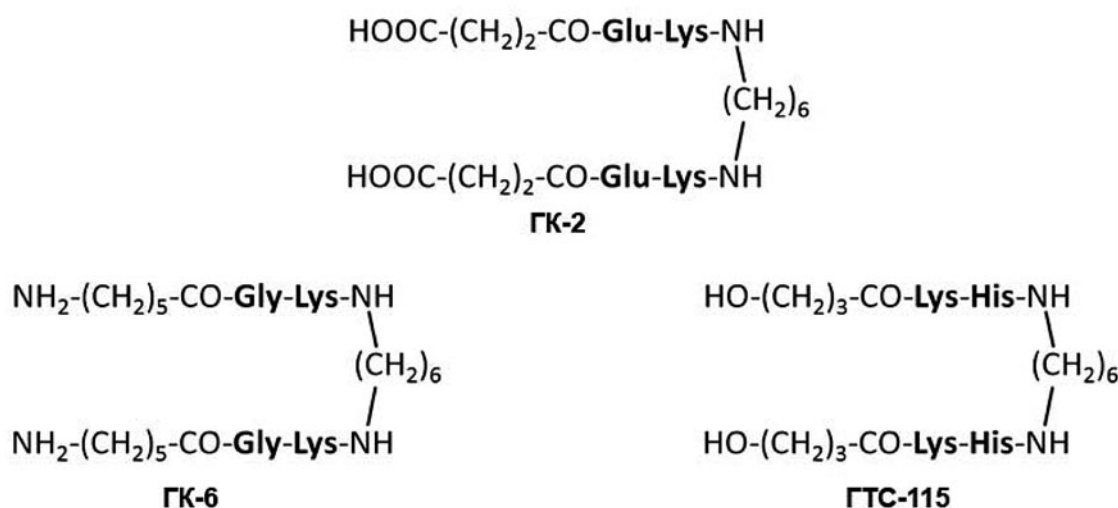


Рис. 2. Димерные дипептидные миметики первой (ГК-6), третьей (ГТС-115) и четвертой (ГК-2) петель NGF.

проблемы полноразмерных белков, но не описаны миметики, которые бы преодолели проблему плейотропности и связанных с ней побочных эффектов нативных нейротрофинов.

Для конструирования миметиков нейротрофинов исследователи использовали данные по сайт-направленному мутагенезу и химеризации NGF/BDNF, проводили поиск среди эпитопов моноклональных антител к активным участкам последовательности, использовали также информацию о гидрофильных консервативных участках в первичной структуре, данные о пространственном строении петель нейротрофина. Применяли рандомизированный скрининг среди химических библиотек на основе фармакофора, предложенного в результате анализа данных сайт-направленного мутагенеза, а также виртуальный скрининг химических библиотек с отбором соединений, пространственно сходных с бета-изгибами петель.

Известные зарубежные пептидные и непептидные низкомолекулярные миметики NGF и BDNF являются агонистами соответственно TrkA- или TrkB-P, активирующими их PI3K/AKT- и MAPK/ERK-пути, либо модуляторами p75-P. Эти соединения воспроизводят полезные эффекты прародительских белков *in vitro* и *in vivo*, при этом некоторые из них активны при системном введении, включая пероральное.

Так, модулятор p75-P LM11A-31 при пероральном введении проявлял нейропротекторную, нейрорегенеративную и когнитотропную активность на моделях естественного старения, болезни Альцгеймера и травмы ГМ у грызунов. Агонист TrkB-P 7,8-дигидроксифлаван при пероральном введении обладал нейропротекторной активностью на модели болезни Паркинсона, нейропротекторной и когнитотропной активностью на модели болезни Альцгеймера, улучшал двигательные и когнитивные функции на модели болезни Гентингтона у грызунов, а также улучшал пове-

денческие и биохимические показатели на моделях депрессивно-подобного состояния у грызунов.

В настоящий момент два миметика NGF проходят клинические исследования. Соединение LM11A-31 находится на 2-й стадии клинических исследований как ЛС для лечения болезни Альцгеймера в лекарственной форме для перорального применения [28]. Агонист TrkA-P D3 проходит 3-ю фазу клинических исследований как ЛС при кератоконъюнктивите в форме глазных капель [29].

Пока не создано ни одного ЛС на основе низкомолекулярных миметиков нейротрофинов.

Димерные дипептидные миметики нейротрофинов

Около двадцати лет тому назад академиком С. Б. Середениным в НИИ фармакологии им. В. В. Закусова была поставлена задача создания низкомолекулярных миметиков нейротрофинов, обладающих высокой активностью и при этом свободных от побочных эффектов полноразмерных белков.

Для конструирования таких миметиков нейротрофинов были сформулированы рабочие гипотезы: 1. миметики разных петлеобразных структур могут иметь различную картину активации пост-Р сигнальных путей, что может позволить расщепить разные эффекты нейротрофинов; 2. фармакофорными участками являются центральные дипептидные фрагменты бета-изгибов петель, которые по геометрическим соображениям способны наиболее глубоко проникать в Р; 3. для получения миметиков с агонистической активностью необходимы димерные структуры по аналогии с гомодимерами прародительских нейротрофинов.

Сконструированные на основе этих гипотез миметики содержат наиболее экспонированную дипептидную последовательность бета-изгиба соответствующей петли, чаще всего, его центральный фрагмент, и биоизостер предшествующего остатка, свободный от N-концевой аминокислоты и ее положительного заряда,

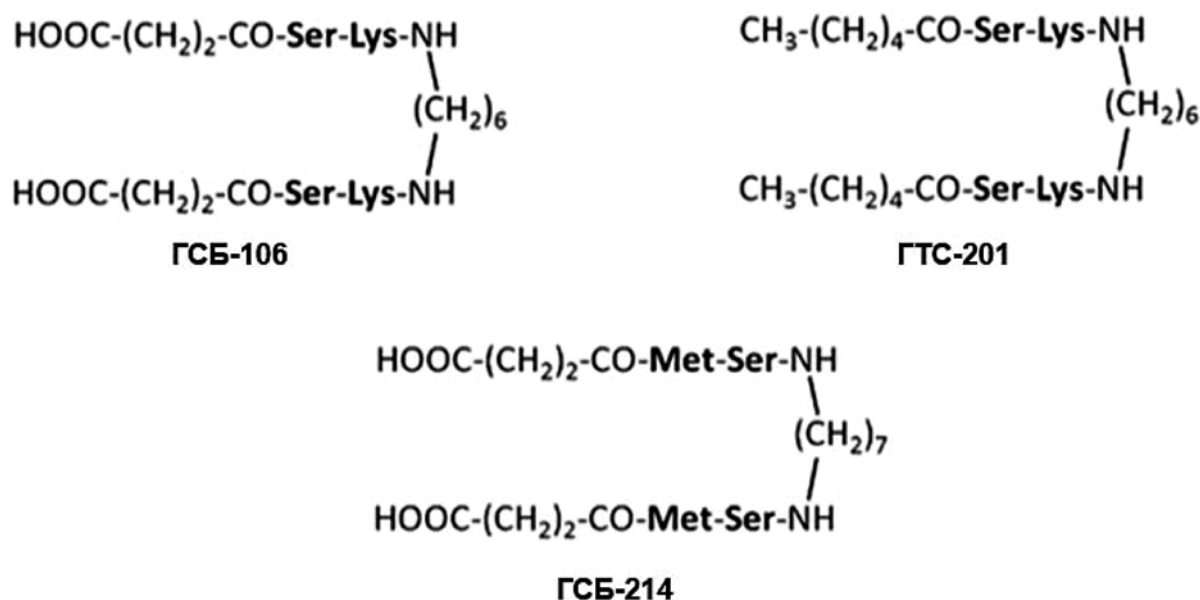


Рис. 3. Димерные дипептидные миметики первой (ГСБ-214), второй (ГТС-201) и четвертой (ГСБ-106) петель BDNF.

и потому устойчивый к гидролизу аминопептидазами. Димерная структура воспроизводится с помощью олигометилендиамидного (чаще всего гексаметилендиамидного) спейсера “голова-к-голове”. Несмотря на то, что использованный спейсер гораздо короче расстояния между одноименными петлями в структуре нейротрофина, и активная конформация пептидов не закреплена циклизацией, димерные дипептидные миметики оказались активны в большом числе фармакологических тестов.

Миметики фактора роста нервов

На основе структур β -изгибов 1 (Ile³¹-Lys³²-Gly³³-Lys³⁴), 3 (Ser⁷³-Lys⁷⁴-His⁷⁵-Trp⁷⁶), 4 (Asp⁹³-Glu⁹⁴-Lys⁹⁵-Gln⁹⁶) петлей NGF были сконструированы димерные дипептидные миметики ГК-6 (гексаметилендиамид *bis*-(*N*-аминогексаноил-глицил-*L*-лизина) [23, 53, 83 – 85], ГТС-115 (гексаметилендиамид *bis*-(*N*-гамма-оксибутирил-*L*-лизил-*L*-гистидина) [7] и ГК-2 (гексаметилендиамид *bis*-(*N*-моносукцинил-*L*-глутамил-*L*-лизина) соответственно [3, 23, 53, 83 – 85]. В каждом случае в структуре миметиков был сохранен наиболее экспонированный дипептидный фрагмент бета-изгиба. Предшествующий аминокислотный остаток заменен его биоизоостером: Asp заменили остатком янтарной кислоты, Lys — остатком аминоксаноновой кислоты, Ser — остатком гамма-оксимасляной кислоты. Димеризацию проводили с помощью гексаметилендиамидного спейсера (см. рис. 2).

По данным Вестерн-блот анализа с использованием клеток NT22 все дипептидные миметики NGF активировали TrkA-, но при этом миметики 1-й и 3-й петли NGF (ГК-6 и ГТС-115, соответственно) активировали как PI3K/AKT-, так и MAPK/ERK- [7, 53, 82], а миме-

тик 4-й петли ГК-2 селективно активировал PI3K/AKT-каскад [53].

Миметики ГК-6 и ГТС-115 вызывали дифференцировку клеток феохромоцитомы крыс линии PC12 [7, 53], а ГК-2 не обладал такой активностью [53].

Все эти дипептиды в концентрации до 10^{-8} М обладали нейропротекторной активностью в условиях окислительного стресса на гиппокампальных клетках линии HT22, причем эффект ГК-2 не уступал по выраженности эффекту NGF (10^{-9} М), а ГК-6 и ГТС-115 обладали менее выраженной активностью (40 % относительно NGF) [7, 53, 82]. Нейропротекторная активность ГК-2 была подтверждена в условиях глутаматной, МФТП- и 6-ОНДА-токсичности как на immortalized, так и первичных нейронах грызунов, а также на клетках нейробластомы человека линии SH-SY5Y [2, 3, 23].

Дипептиды ГТС-115 и ГК-2 проявляли нейропротекторную активность в экспериментах *in vivo* на модели ишемического инсульта, вызванного транзиторной окклюзией средней мозговой артерии у крыс, при субхроническом внутрибрюшинном введении, снижая объем ишемического повреждения на 23 и 45 %, соответственно и улучшая неврологический статус [18]. В тех же условиях миметик 1-й петли ГК-6 был неактивен. Интересно отметить, что на данной модели ГК-2 был эффективен при начале введения через 1, 4, 6, 8 и даже 24 ч после операции [25]. Восстановительные эффекты ГК-2 при начале его введения через 24 ч после моделирования ишемического инсульта авторы объясняют нейрорегенеративными свойствами дипептида, обусловленными активацией нейрогенеза. Стимулирующее влияние ГК-2 на нейрогенез было выявлено в условиях экспериментального ишемического инсульта в гиппокампе и в полосатом теле (ПТ) [55].

Для ГК-2 были показаны нейропротекторные эффекты и на ряде других экспериментальных моделей.

На модели ишемического микроинсульта, вызванного двусторонним фототромбозом коры головного мозга крыс, ГК-2 (1 мг/кг, внутривенно (в/в)) при субхроническом введении снижал объем инфаркта коры ГМ на 62 % и полностью предупреждал развитие ретроградной амнезии по данным теста "Условный рефлекс пассивного избегания" [22].

На модели неполной глобальной ишемии, вызванной двусторонней необратимой окклюзией сонных артерий у крыс, ГК-2 (1 мг/кг, в/в) при субхроническом введении полностью предотвращал гибель животных (в сравнении с 40 % гибели в активном контроле) и улучшал жизнеспособность клеток коры ГМ [15].

На модели полной глобальной ишемии, вызванной остановкой системного кровообращения у крыс, ГК-2 (0,5 мг/кг, в/в) при введении через 30 мин после операции и далее с интервалом в 24 ч в течение 3 суток ускорял восстановление неврологического статуса животных и предотвращал повреждение клеток Пуркинье мозжечка и пирамидных нейронов гиппокампа в раннем постреанимационном периоде (7 дней после операции). В отдаленном постреанимационном периоде (14 дней после операции) ГК-2 полностью предотвращал гибель нейронов гиппокампа и примерно вдвое снижал гибель клеток Пуркинье мозжечка [10].

У дипептида ГК-2 были выявлены антипаркинсонические эффекты [14]. На модели галоперидоловой каталепсии ГК-2 в дозах 0,01 – 5 мг/кг (в/в), введенный за 24 ч до галоперидола, на 80 – 90 % снижал выраженность каталепсии у крыс и сохранял активность при пероральном применении в дозах 5 и 10 мг/кг. На модели индуцированного 1-метил-4-фенил-1,2,3,6-тетрагидропиридином (МФТП) паркинсонического синдрома у мышей ГК-2 при однократном введении (1 мг/кг в/в) за 24 ч до применения МФТП статистически достоверно снижал выраженность олигокинезии и ригидности и, а при субхроническом введении после МФТП полностью предотвращал развитие симптома ригидности. На модели паркинсонического синдрома у крыс, вызванного унилатеральным введением 6-гидроксидофамина (6-ОНДА) в ПТ, ГК-2 при субхроническом введении (1 мг/кг в/в, 1-е введение через 1 ч после операции, всего 7 инъекций), практически полностью предотвращал развитие индуцированных апомофином ротаций у крыс.

ГК-2 был активен на моделях болезни Альцгеймера у крыс [16]. На модели септо-гиппокампальной перерезки ГК-2 (1,0 мг/кг в/в каждые 48 ч, первое введение через 2 ч после операции, всего 7 инъекций) препятствовал нарушению негативного обучения у крыс в тесте "Открытое поле" с эффектом, достигавшим 70 %. В условиях холинергического дефицита, вызванного длительным введением скополамина, ГК-2 (10 дней по 0,2 мг/кг в/в каждые 24 ч) практически полностью предотвращал нарушение способности крыс к про-

странственному обучению в лабиринте Морриса. На модели болезни Альцгеймера у крыс, индуцированной введением стрептозотоцина в желудочки мозга, ГК-2 (14 дней по 0,5 мг/кг в/в каждые 48 ч) полностью предотвращал развитие дефицита пространственной памяти в водном лабиринте Морриса.

Для ГК-2 была выявлена антидиабетическая активность на модели стрептозотоцинового СД 2 типа у мышей линии C57Bl/6 [32]. ГК-2 (0,5 мг/кг, в/в, 14 сут до и 16 сут после введения стрептозотоцина), оказывал значимый антигипергликемический эффект, который сохранялся даже через 44 сут после окончания его применения [32]. ГК-2 также восстанавливал массу тела животных, сниженную, по сравнению с пассивным контролем.

Известно, что важнейшими из побочных эффектов полноразмерного NGF являются гипералгезия [68] и катастрофическая потеря массы тела [88]. В отличие от NGF, дипептидный миметик его 4-й петли ГК-2, селективно активирующий PI3K/АКТ-путь, проявляет анальгетическую активность в тесте отдергивания хвоста у крыс в дозах 1 и 2 мг/кг (в/в), статистически значимо повышая болевой порог через 24 ч после введения [53]. В то же время миметик 1-й петли ГК-6 и миметик 3-й петли ГТС-115, активирующие, подобно NGF, как PI3K/АКТ, так и MAPK/ERK, обладали анальгетической активностью, снижая болевой порог у крыс через 1 и 24 ч после введения [7, 53].

При этом все миметики, ГК-2, ГК-6 и ГТС-115, при хроническом введении (в/в) в наиболее активных дозах (соответственно 0,5; 2 и 1 мг/кг) не вызывали снижения массы тела крыс [7, 53].

Успешно завершены доклинические исследования ГК-2 как потенциального препарата для лечения постинсультных состояний [30]. Разработана его лиофилизированная лекарственная форма для инъекций [27]. Продemonстрировано, что этот дипептид проникает через гематоэнцефалический барьер и не токсичен [26].

Таким образом, на примере ГК-2 показано, что с помощью димерных дипептидных миметиков отдельных петель NGF удалось не только преодолеть фармакокинетические проблемы полноразмерного нейротрофина, но и отделить его полезные фармакологические эффекты от нежелательных побочных.

Миметики мозгового нейротрофического фактора

На основе структур β-изгибов 1-й (-Asp³⁰-Met³¹-Ser³²-Gly³³-), 2-й (-Val⁴⁴-Ser⁴⁵-Lys⁴⁶-Gly⁴⁷-) и 4-й (-Asp⁹³-Ser⁹⁴-Lys⁹⁵-Lys⁹⁶-) петель BDNF были сконструированы их дипептидные миметики ГСБ-214 (гептаметилендиамид *бис*-(N-моносукцинил-L-метионил-L-серина), ГТС-201 (гексаметилендиамид *бис*-(N-гексаноил-L-серил-L-лизина) и ГСБ-106 (гексаметилендиамид *бис*-(N-моносукцинил-L-серил-L-лизина) соответственно [4, 21, 22, 56, 83 – 85]. В структуре миметиков был сохранен центральный дипептидный фрагмент бета-изгиба, а предшествующий аминокислотный ос-

таток заменен его биоизоостером: Asp заменяли остатком янтарной кислоты, Val — остатком гексановой кислоты. Димеризацию проводили гекса- или гептаметиллендиамидным спейсером (см. рис. 3).

На клетках HT22 с помощью Вестерн-блот анализа с антителами к фосфорилированным и нефосфорилированным киназам показано, что все дипептидные миметики BDNF активируют специфический для BDNF тирозинкиназный рецептор TrkB, и по-разному - его основные сигнальные пути PI3K/AKT и MAPK/ERK [17, 21, 54].

Миметик 4-й петли, ГСБ-106, активировал, подобно полноразмерному нейротрофину, как PI3K/AKT, так и MAPK/ERK [5]; миметик 1-й петли, ГСБ-214, селективно активировал PI3K/AKT [54]; миметик 2-й петли, ГСБ-201, селективно активировал MAPK/ERK [21].

Все дипептидные миметики BDNF в концентрациях 10^{-6} – 10^{-8} М проявляли нейропротекторную активность, защищая гиппокампальные нейроны линии HT22 от окислительного стресса, индуцированного H_2O_2 , с максимальным эффектом ~ 50 % от эффекта BDNF (10^{-9} М) [4, 11, 21]. Нейропротекторный эффект наиболее активного соединения, ГСБ-106, был подтвержден на клетках HT22 в условиях глутаматной токсичности и на клетках нейробластомы человека линии SH-SY5Y в условиях 6-OHDA – индуцированной токсичности [11], при этом в обоих случаях дипептид в концентрации 10^{-7} М проявлял такую же по выраженности активность, как и BDNF.

Дипептидные миметики 4-й и 1-й петель BDNF (ГСБ-106 и ГСБ-214), первый из которых активирует PI3K/AKT и MAPK/ERK, а второй — избирательно активирует PI3K/AKT, проявляли нейропротекторную активность в экспериментах *in vivo* на модели ишемического инсульта, вызванного транзиторной окклюзией средней мозговой артерии у крыс, снижая объем ишемического повреждения ГМ на 66 и 28 %, соответственно [54]. Миметик 2-й петли BDNF, селективно активирующий MAPK/ERK, не проявлял нейропротекторную активность в данных условиях.

Дипептидный миметик ГСБ-106 в дозах 0,1 и 1 мг/кг (в/б) проявлял антидепрессивную активность в тесте “Вынужденное плавание” у мышей линии Balb/c, в то время как ГСБ-214 и ГТС-201 были неактивны [4, 21]. Отсутствие антидепрессивной активности у миметиков, селективно активирующих либо PI3K/AKT, либо MAPK/ERK, и наличие ее у миметика, активирующего оба эти сигнальных пути, свидетельствует в пользу необходимости активации обоих сигнальных путей для проявления антидепрессивной активности.

Антидепрессивные свойства ГСБ-106 подтверждены на беспородных мышях и крысах при однократном и субхроническом введении (в/б) в тесте “Вынужденное плавание” со свободно вращающимися колесами S. Nomura и в тесте “Подвешивание за хвост” [24]. Антидепрессивная активность ГСБ-106 сохранялась и

при пероральном введении крысам субстанции этого вещества в дозах 0,5 – 5 мг/кг и таблетированной лекарственной формы [12] в дозах 0,01 – 5 мг/кг [19].

Антидепрессивная активность ГСБ-106 в лекарственной форме для перорального применения описана и на модели депрессивно-подобного состояния у мышей линии C57Bl/6, вызванного 10-дневным социальным стрессом [20]. На этой модели дипептид при однократном введении (0,1 мг/кг, перорально, после окончания стресса) показывал антиагедоническую активность по восстановлению нарушенного предпочтения потребления раствора сахара у стрессированных мышей.

На модели субхронического стресса у мышей линии C57Bl/6, вызванного контактом с хищником, установлена способность ГСБ-106 (10 мг/кг, в/б, 5 дней) полностью предотвращать индуцированные стрессом нарушения гиппокампального нейрогенеза [6].

Хроническое введение ГСБ-106 (1 мг/кг, в/б, 21 день) мышам линии Balb/c в физиологических условиях приводило к значительному (на 50 %) увеличению содержания белка пресинаптических везикул синаптофизина в гиппокампе [8]. Выраженные антидепрессивные эффекты ГСБ-106 могут быть обусловлены его стимулирующим действием на гиппокампальный нейрогенез и синаптогенез.

Дипептидные миметики BDNF, активирующие PI3K/AKT, при хроническом введении проявляют антидиабетическую активность [13]. Наиболее активным был дипептид ГСБ-214, селективно активирующий PI3K/AKT- путь. Его антигипергликемический эффект сохранялся, по меньшей мере 44 сут. Эффект миметика ГСБ-106, активирующего оба пути, PI3K/AKT- и MAPK/ERK-, был менее выражен и сохранялся только 4 сут. Миметик ГТС-201, активирующий только MAPK/ERK, был вообще неактивен.

Необходимость и достаточность активации PI3K/AKT для гипогликемической активности подтверждается экспериментами с фармакологическим ингибиторным анализом. Указанные эффекты ГСБ-214 полностью устраняются LY294002, специфическим ингибитором PI3K/AKT [33]. Результаты, полученные с помощью дипептидных миметиков BDNF, согласуются с данными о вовлеченности PI3K/AKT в патогенез СД, полученными в экспериментах на трансгенных мышях, дефицитных по PI3K/AKT [39], и трансгенных мышях с гиперэкспрессией PI3K/AKT [38].

Миметик 4-й петли BDNF ГСБ-106 в дозах 0,1 и 1 мг/кг (в/б) проявлял анальгетическую активность в тестах “Горячая пластины” и “Отдергивание хвоста” у крыс в промежуток времени от 0,5 до 48 ч после введения дипептида [57]. Интересно отметить, что в этих же тестах анальгетическая активность морфина сохраняется не более 3 ч [51]. Миметик 2-й петли ГТС-201, активирующий только MAPK/ERK, обладал слабо выраженной анальгетической активностью, а миметик,

активирующий только PI3K/AKT, вообще был не активен (Л. Г. Колик и соавт., неопубл. данные).

К настоящему времени успешно завершены доклинические исследования ГСБ-106 как потенциального антидепрессанта [31]. Разработана таблетированная лекарственная форма [12]. Продemonстрировано, что дипептид ГСБ-106 проникает через гематоэнцефалический барьер [60] и не токсичен [1].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, используя оригинальную стратегию создания низкомолекулярных миметиков нейротрофинов, получены фармакологически пригодные димерные дипептиды, обладающие нейропротекторной, антидепрессивной, антидиабетической и анальгетической активностью при системном введении, включая пероральное, и свободные от побочных эффектов полноразмерных белков.

Эта стратегия позволила осуществить дивергенцию функций нейротрофинов с помощью их дипептидных миметиков. Димерные дипептидные миметики отдельных петель NGF и BDNF, активирующие соответствующие Trk- рецепторы, показали различные паттерны активации пострецепторных путей PI3K/AKT и MAPK/ERK, что дало возможность выявить вклад разных сигналингов в различные виды фармакологической активности. Так, активация PI3K/AKT необходима и достаточна для проявления как нейропротекторной, так и антидиабетической активности. Для анальгетической активности миметиков BDNF необходима и достаточна активация MAPK/ERK. В то время как для антидепрессивной активности требуется одновременная активация сигнальных путей PI3K/AKT и MAPK/ERK TrkB рецепторов.

Димерный дипептидный миметик 4-й петли NGF ГК-2 продемонстрировал активность при системном введении, включая пероральное, на моделях болезни Паркинсона, Альцгеймера, инсульта, проявлял нейрогенную и синаптогенную активность. При этом дипептид не вызывал увеличения болевой чувствительности и потери массы тела — побочных эффектов, характерных для полноразмерного белка. Соединение проникает через гематоэнцефалический барьер и не токсично. Дипептид ГК-2 успешно прошел доклинические исследования как потенциальный препарат для лечения постинсультного состояния.

Димерный дипептидный миметик 4-й петли NGF ГСБ-106, который проявил нейропротекторную и антидепрессивную активность на ряде моделей, активен при системном введении, включая пероральное, не вызывает гиперальгезии и снижения массы тела, хорошо проникает через гематоэнцефалический барьер, малотоксичен. Дипептид ГСБ-106 также успешно прошел доклинические исследования как потенциальный антидепрессант.

Все фармакологические исследования по димерным дипептидным миметикам нейротрофинов проводились под руководством академика С. Б. Середенина.

ЛИТЕРАТУРА

1. С. В. Алексеева, А. В. Сорокина, А. В. Волкова и др., *Фармакокинет. и фармакодинам.*, **2**, 46 – 50 (2019); doi: 10.24411 / 2587 – 7836 – 2019 – 10047.
2. Т. А. Антипова, Т. А. Гудашева, С. Б. Середенин, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **150**(11), 537 – 540 (2010).
3. Т. А. Гудашева, Т. А. Антипова, С. Б. Середенин, *Докл. РАН*, **434**(4), 549 – 552 (2010).
4. Т. А. Гудашева, А. В. Тарасюк, С. В. Помогайбо и др., *Биоорг. хим.*, **38**(3), 280 – 290 (2012).
5. Т. А. Гудашева, И. О. Логвинов, Т. А. Антипова, С. Б. Середенин, *Докл. РАН*, **451**(5), 577 – 580 (2013).
6. Т. А. Гудашева, П. Ю. Поварнина, С. Б. Середенин, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **162**(10), 448 – 451 (2016).
7. Т. А. Гудашева, А. В. Тарасюк, Н. М. Сазонова и др., *Биоорг. хим.*, **43**(3), 236 – 249 (2017); doi: 10.7868 / S013234231703006X.
8. Т. А. Гудашева, П. Ю. Поварнина, Т. А. Антипова, С. Б. Середенин, *Докл. РАН*, **481**(6), 691 – 693 (2018); doi: 10.31857 / S086956520002110-4.
9. Е. И. Гусев, В. И. Скворцова, *Ишемия головного мозга*, Медицина, Москва (2001).
10. Ю. В. Заржецкий, М. Ш. Аврущенко, В. В. Мороз и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **159**(4), 442 – 445 (2015).
11. И. О. Логвинов, Т. А. Антипова, Т. А. Гудашева и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **155**(3), 319 – 322 (2013).
12. С. В. Минаев, П. Ю. Поварнина, К. В. Алексеев и др., *Патент РФ № 2697254* (2018).
13. Р. У. Островская, С. С. Ягубова, Т. А. Гудашева, С. Б. Середенин, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **164**(12), 701 – 705 (2017).
14. П. Ю. Поварнина, Т. А. Гудашева, О. Н. Воронцова и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **151**(6), 634 – 637 (2011).
15. П. Ю. Поварнина, Т. А. Гудашева, О. Н. Воронцова и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **75**(9), 15 – 20 (2012).
16. П. Ю. Поварнина, О. Н. Воронцова, Т. А. Гудашева и др., *Acta Naturae*, **5**(3), 88 – 95 (2013).
17. П. Ю. Поварнина, И. В. Озерова, Р. У. Островская и др., *Докл. РАН*, **449**(3), 364 – 366 (2013).
18. П. Ю. Поварнина, Т. А. Гудашева, С. Б. Середенин, *Фармакокинет. и фармакодинам.*, **3**, 34 – 37 (2016).
19. П. Ю. Поварнина, Т. Л. Гарибова, Т. А. Гудашева, С. Б. Середенин, *Acta Naturae*, **10**(3), 88 – 92 (2018).
20. П. Ю. Поварнина, А. В. Таллерова, А. Г. Межлумян и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **83**(4), 3 – 7 (2020); doi: 10.30906 / 0869-2092-2020-83-4-3-7.
21. Н. М. Сазонова, А. В. Тарасюк, А. Н. Шумский и др., *Хим.-фарм. журн.*, **52**(9), 14 – 21 (2018); doi: 10.30906 / 0023-1134-2018-52-9-14-21.
22. С. Б. Середенин, Г. А. Романова, Т. А. Гудашева и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **150**(10), 406 – 409 (2010).
23. С. Б. Середенин, Т. А. Гудашева, *Патент РФ № 2410392* (2011).
24. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Т. А. Гудашева и др., *Acta Naturae*, **5**(4), 116 – 120 (2013).
25. С. Б. Середенин, П. Ю. Поварнина, Т. А. Гудашева, *Ж. невр. и психиатр. имени С. С. Корсакова*, **7**, 49 – 53 (2018); doi: 10.17116 / jnevro20181187149.
26. А. В. Сорокина, С. В. Алексеева, И. А. Мирошкина и др., *Фармакокинет. и фармакодинам.*, **2**, 51 – 58 (2019); doi: 10.24411 / 2587-7836-2019-10048.

27. С. В. Тишков, П. Ю. Поварнина, В. П. Жердев и др., Патент РФ № 2678203 (2019).
28. [Электронный ресурс] <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT03069014>.
29. [Электронный ресурс] <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/study/NCT03925727>.
30. [Электронный ресурс] <https://4science.ru/lot/2015-14-N08-0051>.
31. [Электронный ресурс] <https://4science.ru/project/14-N08-12-0086>.
32. С. С. Ягубова, Р. У. Островская, Т. А. Гудашева, С. Б. Середенин, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **80**(8), 23 – 26(2017); doi: 10.30906/0869-2092-2017-80-8-23-26.
33. С. С. Ягубова, Р. У. Островская, Т. А. Гудашева, С. Б. Середенин, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **169**(16), 712 – 715 (2020).
34. A. P. Allen, M. Naughton, J. Dowling, et al., *J. Affect. Disord.*, **186**, 306 – 311(2015); doi: 10.1016/j.jad.2015.06.033.
35. L. Aloe, M. L. Rocco, P. Bianchi, L. Manni, *J. Transl. Med.*, **10**, 239 – 252 (2012); doi: 10.1186/1479-5876-10-239.
36. L. Aloe, M. Rocco, B. Balzamino, A. Micera, *Cur. Neuropharmacol.*, **13**(3), 294 – 303 (2015); doi: 10.2174/1570159x13666150403231920.
37. K. Barford, C. Deppmann, B. Winckler, *Dev. Neurobiol.*, **77**(4), 405 – 418 (2017); doi: 10.1002/dneu.22427.
38. E. Bernal-Mizrachi, W. Wen, S. Stahlhut, et al., *J. Clin. Invest.*, **108**(11), 1631 – 1638(2001); doi: 10.1172/JCI13785.
39. E. Bernal-Mizrachi, S. Fatrai, J. D. Johnson, et al., *J. Clin. Invest.*, **114**(7), 928 – 936(2004); doi: 10.1172/JCI20016.
40. C. Björkholm, L. M. Monteggia, *Neuropharmacology*, **102**, 72 – 79 (2016); doi: 10.1016/j.neuropharm.2015.10.034.
41. J. Cai, F. Hua, L. Yuan, et al., *Biomed. Res. Int.*, **2014**, 601084(2014); doi: 10.1155/2014/601084.
42. S. Capsoni, S. Marinelli, M. Ceci, et al., *PLoS One.*, **7**(5), e37555(2012); doi: 10.1371/journal.pone.0037555.
43. Y. Chen, J. Zeng, Y. Chen, et al., *J. Int. Med. Res.*, **37**(2), 281 – 288(2009); doi: 10.1177/147323000903700201.
44. A. Chiaretti, A. Antonelli, R. Riccardi, et al., *Eur. J. Paediatr. Neurol.*, **12**(3), 195 – 204(2008); doi: 10.1016/j.ejpn.2007.07.016.
45. A. M. Colangelo, M. R. Bianco, L. Vitagliano, et al., *J. Neurosci.*, **28**(11), 2698 – 2709(2008); doi: 10.1523/JNEUROSCI.5201-07.2008.
46. J. M. Conner, K. M. Franks, A. K. Titterness, et al., *J. Neurosci.*, **29**(35), 10883 – 10889 (2009); doi: 10.1523/JNEUROSCI.2594-09.2009.
47. R. S. Duman, B. Voleti, *Trends Neurosci.*, **35**(1), 47 – 56 (2012); doi: 10.1016/j.tins.2011.11.004.
48. Y. Dwivedi, *Am. J. Geriatr. Psychiatry.*, **21**(5), 433 – 449 (2013); doi: 10.1016/j.jagp.2012.10.026.
49. L. Elghazi, L. Rachdi, A. J. Weiss, *Diabetes Obes. Metab.*, **9**(Sup. 2), 147 – 157 (2007); doi: 10.1111/j.1463-1326.2007.00783.x.
50. H. Fukumitsu, M. Ohtsuka, Murai R., et al., *J. Neurosci.*, **26**(51), 13218 – 13230 (2006); doi: 10.1523/JNEUROSCI.4251-06.2006.
51. N. M. Gades, P. J. Danneman, S. K. Wixson, E. A. Tolley, *Contemp. Top. Lab. Anim. Sci.*, **39**(2), 8 – 13 (2000).
52. R. S. Garofalo, S. J. Orena, K. Rafidi, et al., *J. Clin. Invest.*, **112**(2), 197 – 208 (2003); doi: 10.1172/JCI16885.
53. T. A. Gudasheva, P. Y. Povarnina, T. A. Antipova, et al., *J. Biomed. Sci.*, **22**(5), 106 (2015); doi: 10.1007/s10517-017-3951-3.
54. T. A. Gudasheva, P. Y. Povarnina, I. O. Logvinov, et al., *Drug Des. Devel. Ther.*, **10**, 3545 – 3553(2016); doi: 10.2147/DDDT.S118768.
55. T. A. Gudasheva, P. Y. Povarnina, A. A. Volkova, et al., *Acta Naturae*, **11**(3), 31 – 37(2019); doi: 10.32607/20758251-2019-11-3-31-37.
56. T. A. Gudasheva, P. Y. Povarnina, A. V. Tarasiuk, S. B. Seredenin, *Cur. Pharm. Des.*, **25**(6), 729 – 737 (2019); doi: 10.2174/1381612825666190329122852.
57. T. A. Gudasheva, M. A. Konstantinopolsky, A. V. Tarasiuk, et al., *Dokl. Biochem. Biophys.*, **485**(1), 123 – 125 (2019); doi: 10.1134/S1607672919020121.
58. M. Gratacòs, G. Escaramís, M. Bustamante, et al., *J. Psychiatr. Res.*, **44**(13), 834 – 840 (2010); doi: 10.1016/j.jpsychires.2010.01.009.
59. E. Gustafsson, O. Lindvall, Z. Kokaia, *Stroke*, **34**(11), 2710 – 2715 (2003); doi: 10.1161/01.STR.0000096025.35225.36.
60. G. B. Kolyvanov, V. P. Zherdev, O. G. Gribakina, et al., *Bull. Exp. Biol. Med.*, **167**(5), 637 – 640 (2019); doi: 10.1007/s10517-019-04587-w.
61. P. Kowiański, G. Lietzau, E. Czuba, et al., *Cell. Mol. Neurobiol.*, **38**(3), 579 – 593 (2018); doi: 10.1007/s10571-017-0510-4.
62. A. Lasek-Bal, H. Jędrzejowska-Szypułka, J. Różycka, et al., *J. Med. Sci. Monit.*, **21**, 3900 – 3905 (2015); doi: 10.12659/msm.895358.
63. H. B. Lee, M. C. Zaccaro, M. Pattarawarapan, et al., *J. Org. Chem.*, **69**(3), 701 – 713 (2004); doi: 10.1021/jo034167x.
64. F. M. Longo, S. M. Massa, *CNS Neurol Disord. Drug Targets.*, **1**, 63 – 70 (2008); doi: 10.2174/187152708783885093.
65. X. Luan, H. Qiu, X. Hong, et al., *Clin. Chim. Acta.*, **488**, 20 – 24 (2019); doi: 10.1016/j.cca.2018.10.030.
66. S. Mahapatra, H. Mehta, S. B. Woo, K. E. Neet, *J. Biol. Chem.*, **284**(48), 33600 – 33613 (2009); doi: 10.1074/jbc.M109.058420.
67. S. Mitra, H. Behbahani, M. Eriksdotter, *Front. Neurosci.*, **13**, 38(2019); doi: 10.3389/fnins.2019.00038.
68. K. Mizumura, S. Murase, *Handb. Exp. Pharmacol.*, **227**, 57 – 75 (2015); doi: 10.1007/978-3-662-46450-2_4.
69. M. Mogi, A. Togari, T. Kondo, et al., *Neurosci. Lett.*, **270**(1), 45 – 48 (1999); doi: 10.1016/S0304-3940(99)00463-2.
70. M. Mohammadi, A. Zinkle, *F1000 Research.*, **7**, Faculty Rev-872 (2018); doi: 10.12688/f1000research.14143.1.
71. A. C. Mondal, M. Fatima, *Int. J. Neurosci.*, **129**(3), 283 – 296 (2019); doi: 10.1080/00207454.2018.1527328.
72. S. M. Morillo, E. P. Abanto, M. J. Roman, J. M. Frade, *Mol. Cell. Biol.*, **32**(14), 2722 – 2737 (2012); doi: 10.1128/MCB.00239-12.
73. A. H. Nagahara, M. H. Tuszynski, *Nat. Rev. Drug Discov.*, **10**(3), 209 – 219 (2011); doi: 10.1038/nrd3366.
74. V. Navarro-Tableros, M. C. Sánchez-Soto, S. García, M. Hiriart, *Diabetes*, **53**(8), 2018 – 2023 (2004); doi: 10.2337/diabetes.53.8.2018.
75. E. E. Noble, C. J. Billington, C. M. Kotz, C. Wang, *Am. J. Physiol. — Regul. Integr. Comp. Physiol.*, **300**(5), 1053 – 1069 (2011); doi: 10.1152/ajpregu.00776.2010.
76. K. Obata, K. Noguchi, *Life Sci.*, **74**(21), 2643 – 2653(2004); doi: 10.1016/j.lfs.2004.01.007.
77. D. H. Overstreet, K. Fredericks, D. Knapp, et al., *Pharmacol. Biochem. Behav.*, **94**(4), 553 – 560 (2010); doi: 10.1016/j.pbb.2009.11.010.
78. L. L. Pedre, N. Pavon, A. Mcrae, et al., *Control.*, **952**, 122 – 127 (2002); doi: 10.1016/S0006-8993(02)03222-5.
79. L. F. Reichardt, *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.*, **361**(1473), 1545 – 1564 (2006); doi: 10.1098/rstb.2006.1894.
80. H. U. Saragovi, W. Zheng, S. Maliartchouk, et al., *J. Biol. Chem.*, **273**(52), 34933 – 34940(1998); doi: 10.1074/jbc.273.52.34933.

81. D. D. Sarbassov, S. M. Ali, D. M. Sabatini, *Cur. Opin. Cell Biol.*, **17**(6), 596 – 603(2005); doi: 10.1016 / j.ceb.2005.09.009.
82. S. B. Seredenin, T. A. Gudasheva, *Zhurnal Nevrol. i psikhiatrii im. S. S. Korsakova*, **115**(6), 63 – 70 (2015); doi: 10.17116 / jnevro20151156163 – 70.
83. S. B. Seredenin, T. A. Gudasheva, Патент КНР 102365294 В (2016).
84. S. B. Seredenin, T. A. Gudasheva, Патент США 9683014 В2 (2017).
85. S. B. Seredenin, T. A. Gudasheva, Патент ЕПВ 2397488 (2019).
86. S. D. Skaper, *CNS Neurol. Disord. Drug Targets*, **7**(1), 46 – 62 (2008); doi: 10.2174 / 187152708783885174.
87. S. R. Wainwright, L. A. M. Galea, *Neural Plast.*, 805497(2013); doi: 10.1155 / 2013 / 805497.
88. L. R. Williams, *Exp. Neurol.*, **113**(1), 31 – 37(1991); doi: 10.1016 / 0014-4886(91)90143-z.
89. A. W. Wong, L. Giuffrida, R. A. Hughes, et al., *J. Mol. Cell Neurosci.*, **63**, 132 – 140 (2014); doi: 10.1016 / j.mcn.2014.10.002.
90. M. Wurzelmann, J. Romeika, D. Sun, *Neural Regen. Res.*, **12**(1), 7 – 12 (2017); doi: 10.4103 / 1673-5374.198964.
91. J. P. Yang, H. J. Liu, H. Yang, P. Y. Feng, *Neurol. Sci.*, **32**(3), 433 – 441 (2011); doi: 10.1007 / s10072-011-0512-9.
92. Z. Zhou, H. Chen, K. Zhang, et al., *J. Basic Clin. Physiol. Pharmacol.*, **14**(3), 217 – 224 (2003); doi: 10.1515 / jbcpp.2003.14.3.217.
93. W. Zhu, S. Cheng, G. Xu, et al., *Drug Deliv.*, **18**, 338 – 343 (2011); doi: 10.3109 / 10717544.2011.557785.

Поступила 29.12.20

DIPEPTIDE MIMETICS NGF AND BDNF: DESIGN AND PHARMACOLOGICAL PROPERTIES

A. V. Tarasyuk¹, T. A. Antipova¹, P. Yu. Povarnina¹, and T. A. Gudasheva¹

V. V. Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia

The present review is devoted to the creation and study of pharmacologically active dimeric dipeptide mimetics of neurotrophins NGF and BDNF, which were developed at the V. V. Zakusov Institute of Pharmacology on the instructions of Academician S. B. Seredenin. The original strategy consisted of the construction of mimetics of individual loops of neurotrophins while preserving the most exposed central dipeptide fragments of the beta-turning regions of these loops and the dimeric structure of neurotrophins. The spectrum of pharmacological properties of these mimetics and its dependence on the pattern of activation of post-receptor signaling of Trk receptors are described.

Keywords: neurotrophins; NGF; BDNF; Trk receptor; PI3K/AKT; MAPK/ERK; dimeric mimetics; neuroprotection; antidepressant activity; antidiabetic activity.