

Н. М. Сазонова*, А. В. Тарасюк, А. Н. Шумский, П. Ю. Поварнина,
С. В. Круглов, Т. А. Антипова, Т. А. Гудашева, С. Б. Середенин

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОГО ДИПЕПТИДНОГО МИМЕТИКА 2-Й ПЕТЛИ МОЗГОВОГО НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА**

ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова", 125315 Москва, Балтийская, 8;
тел: 8(917)525-29-32;

* e-mail: saz-nellya@mail.ru

Сконструирован и синтезирован димерный дипептидный миметик 2-й петли мозгового нейротрофического фактора гексаметилендиамид *бис*-(*N*-гексаноил-серил-лизина), ГТС-201. Он обладает нейропротекторной активностью в концентрациях 10^{-5} – 10^{-8} М на культуре иммортализованных гиппокампальных нейронов линии HT-22 в условиях окислительного стресса, вызванного H_2O_2 . Методом Вестерн-блот анализа показано, что он активирует TrkB рецепторы и Erk, но не активирует Akt. ГТС-201, в отличие от ранее синтезированного димерного дипептидного миметика 4-й петли ГСБ-106 не обнаруживал антидепрессивную активность в тесте Порсолта на мышах BALB/c в дозах 0,1; 1,0 и 5,0 мг/кг при внутрибрюшинном введении. Полученные результаты подтверждают ранее выдвинутую Гудашевой Т. А. и Середениным С. Б. оригинальную гипотезу о возможности дивергенции функций нейротрофинов с помощью низкомолекулярных миметиков их отдельных петлеобразных структур.

Ключевые слова: ГТС-201; миметик; дипептид; BDNF; нейропротекторная активность; антидепрессивная активность; MAPK/ERK и PI3K/AKT; TrkB.

Мозговой нейротрофический фактор (BDNF), относящийся к семейству нейротрофинов, регулирует развитие и выживаемость нейронов, синаптическую пластичность, нейрогенез и другие важные функции центральной нервной системы [1].

Подобно другим членам семейства BDNF представляет собой симметричный гомодимер, мономерные единицы которого содержат 7 бета-тяжей, связанных 4 шпилькообразными петлями, 3 из которых экспонированы наружу (петли 1, 2 и 4), и тем самым наиболее доступны для распознавания рецептором. Основные функции BDNF осуществляет через тирозинкиназные рецепторы TrkB, вызывая их димеризацию, аутофосфорилирование и далее активацию ряда сигнальных путей, включая фосфатидилинозитол-3-киназный (PI3K/Akt) и митогенактивируемый протеинкиназный (MAPK/Erk) пути. Нарушение физиологической нормы содержания BDNF сопровождается многими нейродегенеративными и психические заболевания, в том числе депрессию [2 – 5].

Терапевтическое использование BDNF ограничено фармакокинетическими характеристиками — ультракоротким периодом полужизни и неспособностью проникать через гематоэнцефалический барьер. Поэтому актуален поиск низкомолекулярных соединений, обладающих эффектами BDNF, перспективных для фармакотерапии, но свободных от недостатков полноразмерного белка.

В НИИ фармакологии им. В. В. Закусова на основе гипотезы [6] о том, что фармакофорными участками нейротрофинов являются наиболее экспонированные

наружу бета-изгибы их петлеобразных структур, были получены димерные дипептидные миметики BDNF: 1-й петли — гептаметилендиамид *бис*-(*N*-моносукцинил-*L*-метионил-*L*-серина) (ГСБ-214) и 4-й петли — гексаметилендиамид *бис*-(*N*-моносукцинил-*L*-серил-*L*-лизина) (ГСБ-106) [7]. Идеология конструирования состояла в сохранении центрального фрагмента бета-изгиба с заменой предшествующего остатка его биоизоостером и воспроизводстве гомодимерности BDNF с помощью симметричного спейсера [8]. Оба миметика обладали нейропротекторной активностью *in vitro* в микро-наномолярных концентрациях, оба активировали TrkB рецептор, но различались по влиянию на пути трансдукции сигнала, ГСБ-214 активировал только Akt, в то время как ГСБ-106 как Akt, так и Erk-киназный каскад. При этом антидепрессивной активностью обладал только миметик 4-й петли ГСБ-106, который проявлял антидепрессивный эффект в дозах 0,1 – 1 мг/кг внутрибрюшинно [9, 10]. Следует отметить, что миметик 1-й петли ГСБ-214 обладал выраженной антидиабетической активностью [11].

В настоящей работе синтезирован димерный дипептидный миметик 2-й петли BDNF и изучены его биологические свойства.

Конструирование миметика 2-й петли BDNF. Конструирование проводилось на основе структуры Val⁴⁴-Ser⁴⁵-Lys⁴⁶-Gly⁴⁷ – бета-изгиба 2-й петли BDNF, в которой был сохранен центральный дипептидный фрагмент –Ser⁴⁵-Lys⁴⁶–, а гидрофобный Val⁴⁴ был заменён его биоизоостером — остатком гексановой кислоты. Поскольку BDNF взаимодействует с рецептором в гомодимерной форме, мы получили гомодимерную форму из 2 миметиков бета-изгиба, димеризовав их голова-к-голове с помощью гексаметилендиамино-

** Материал частично опубликован в форме академических тезисов: Т. А. Гудашева и др., ДАН, 476(1), 108 – 112 (2017).

вого спейсера. При этом в димерном миметике наилучшим образом воспроизводится симметричное расположение бета-изгибов соответствующих петель в димерной структуре BDNF. Таким образом, сконструирован димерный дипептидный миметик 2-й петли BDNF ГТС-201 — гексаметилендиамид *бис*-(*N*-гексаноил-*L*-серил-*L*-лизина) (рис. 1).

Синтез ГТС-201. Пептид ГТС-201 получали с использованием классических методов пептидного синтеза в растворе с использованием *Z*/*Boc*-стратегии защитных групп, без защиты гидроксильной группы серина. Нарастивание пептидной цепи вели с *C*-конца, конденсацию аминокислотных остатков проводили методом активированных *N*-оксисукцинимидных и пентафторфениловых эфиров. Целевое соединение получали в виде диацетата (схема).

Активированные *N*-оксисукцинимидные эфиры гексановой кислоты (**I**) и *Z*/*Boc*-защищенного лизина (**II**) получали с использованием *N*-гидроксисукцинимиды и дициклогексилкарбодиимид (ДЦГК) в качестве конденсирующего агента. Реакции проводили при температуре от +5 до 10 °С, *N*-оксисукцинимидные эфиры получали с выходом около 90 %.

Z-защищенный серин (**III**) получали взаимодействием *N*-бензилоксикарбонилсукцинимиды с *H*-*L*-Ser-OH в смеси ацетон — вода в соотношении 1:1 в присутствии бикарбоната натрия при температуре 20 – 22 °С как описано в [12].

Пентафторфениловый эфир *Z*-серина (**IV**) получали взаимодействием *Z*-Ser-OH (**III**) с пентафторфенолом в присутствии ДЦГК в ЭА при температуре –2...0 °С с выходом 91 % согласно [13].

Далее конденсацией *Z*-Lys(*Boc*)-OSu (**II**) с гексаметилендиамин в ДМФА при комнатной температуре получали гексаметилендиамид *бис*-(*N*^α-бензилоксикарбонил-*трет*-бутилоксикарбонил-лизина) (**V**) с выходом 93 %, который затем *Z*-деблокировали с помощью каталитического гидролиза в MeOH в присутствии 10 % Pd/C, получая гексаметилендиамид *бис*-(*N*^ε-*трет*-бутилоксикарбонил-лизина) (**VI**) с количественным выходом. Взаимодействием пентафторфенилового эфира (**IV**) и *Z*-деблокированного соединения (**VI**) в ДМФА получали с выходом 95 % продукт конденсации — (*Z*-Ser-Lys(*Boc*)-NH)₂(CH₂)₆ (**VII**). *бис*-Дипептид (**VII**) *Z*-деблокировали каталитическим гидролизом аналогично стадии получения (**VI**) (ОФ ВЭЖХ контроль) и получали гексаметилендиамид *бис*-(серил-*N*^ε-*трет*-бутилоксикарбонил-лизина) (**VIII**) с выходом 97 %. Строение соединения (**VIII**) подтверждено методами одномерной ¹H и двумерной (COSY) ЯМР-спектроскопии. Характерной особенностью явилось исчезновение в спектре ¹H ЯМР сигналов протонов *Z*-защиты, а именно сигнала протонов -OCH₂- группы в виде синглета в области 5,03 м.д. и сигналов протонов Ar-H-группы в виде мультиплета в области 7,25 – 7,35 м.д. и появление сигналов протонов свободной NH₂-группы серина в виде уширенного синглета в области 2,01 м.д. с интегральной интенсивностью, отвечающей 2 протонам. В спектре также наблюдался сигнал протона OH-боковой группы серина

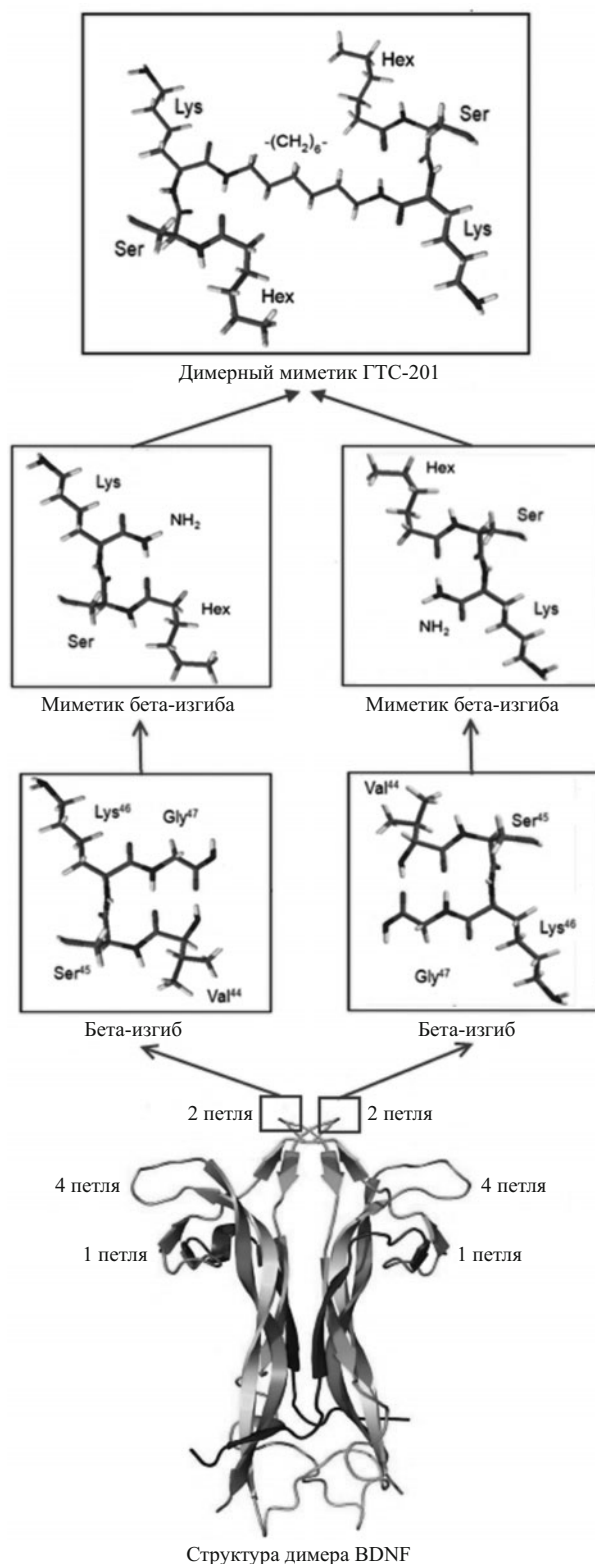


Рис. 1. Конструирование дипептидного миметика 2-й петли BDNF ГТС-201 — гексаметилендиамиды *бис*-(*N*-гексаноил-*L*-серил-*L*-лизина).

в области 4,87 м.д. в виде уширенного синглета с интегральной интенсивностью, отвечающей одному протону.

Свободный по альфа-аминогруппе *бис*-дипептид (**VIII**) конденсировали в ДМФА с *N*-оксисукцинимидным эфиром гексановой кислоты — CH₃-(CH₂)₄COOSu (**I**), превращая в соответствующее

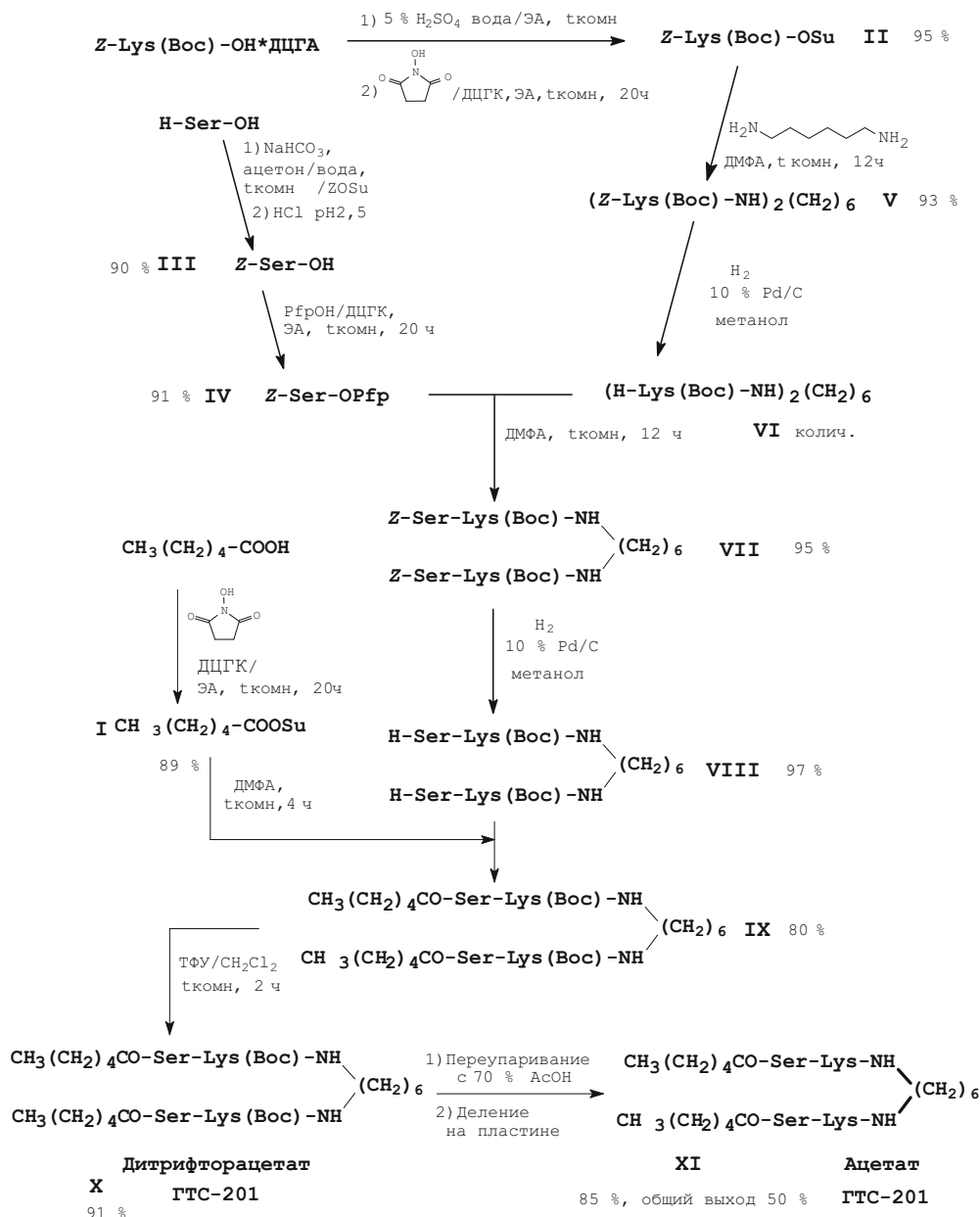


Схема. Синтез ГТС-201

N-гексаноильное производное (IX), которое Вос-деблокировали с помощью трифторуксусной кислоты (ТФУ) в CH₂Cl₂ в соотношении 1:3 в течение 2 ч, получая ГТС-201 в виде дитрифторацетата (X) и далее переводили его в диацетат (XI) 4-кратным переупариванием с 70 % уксусной кислотой с последующей очисткой на препаративной стеклянной пластине 20 × 20 (PSC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₀ Schichtdicke 2 mm, Merck, Германия) в системе растворителей бутанол — AcOH — H₂O, 3:1:1. Чистота продукта составляла 98 % по данным ОФ ВЭЖХ, время удерживания τ = 12,00 мин. Общий выход ГТС-201 составил 50 % в расчете на исходный защищенный лизин. Строение и диастереомерная чистота диацетата (XI) ГТС-201 подтверждены методами одномерной ¹H, ¹³C и двумерной (COSY — гомоядерная корреляция, HSQC — гетероядерная одноквантовая корреляция, HMBC — гетероядерная многосвязная корреляция) ЯМР-спектроскопии. Из-за симметрии молекулы количество сигналов

в спектрах вдвое меньше количества протонов и углеродов в соединении. В спектре ¹H ЯМР наблюдались 2 сигнала альфа-протонов Lys и Ser, 12 сигналов CH₂-групп (C^βH₂, C^δH₂, C^γH₂, C^εH₂-Lys, C^βH₂-Ser, C¹H₂, C²H₂, C³H₂-спейсера и C¹H₂, C²H₂, C³H₂, C⁴H₂-гексаноила) и 1 метильной группы гексаноила, 3 сигнала амидных NH-групп (NH-Lys, NH-Ser и NH-спейсера). Сигналы протонов OH боковой группы Ser и сигналы протонов ⁺NH₃ группы, принадлежащей боковой цепи Lys, не наблюдались, так как они находятся в обмене с водой в растворителе. В спектре ¹³C ЯМР наблюдались сигналы атомов углерода — 3 сигнала карбонильных групп, 1 сигнал CH₃ группы, 2 сигнала C^αH групп и 12 сигналов CH₂ групп (C^βH₂, C^δH₂, C^γH₂, C^εH₂-Lys, C^βH₂-Ser, C¹H₂, C²H₂, C³H₂-спейсера и C¹H₂, C²H₂, C³H₂, C⁴H₂-гексаноила). Также в спектре ¹³C ЯМР наблюдались сигналы уксусной кислоты (22,7 и 180,4 м.д.) в то время, как характерные сигна-

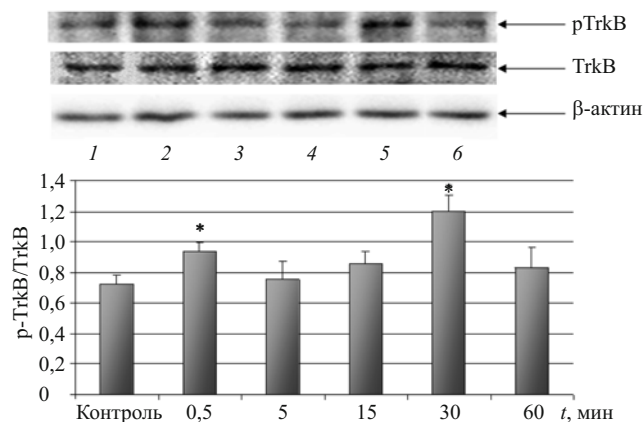


Рис. 2. Влияние миметика 2-й петли BDNF ГТС-201 на активацию TrkB-рецептора. Оригинальные Вестерн-блоты и результаты их денситометрии. Дорожки: 1 — контроль; 2 — ГТС-201 30 с; 3 — ГТС-201 5 мин; 4 — ГТС-201 15 мин; 5 — ГТС-201 30 мин; 6 — ГТС-201 60 мин. Достоверность отличия от контроля: * $p \leq 0,05$ по U -критерию Манна — Уитни.

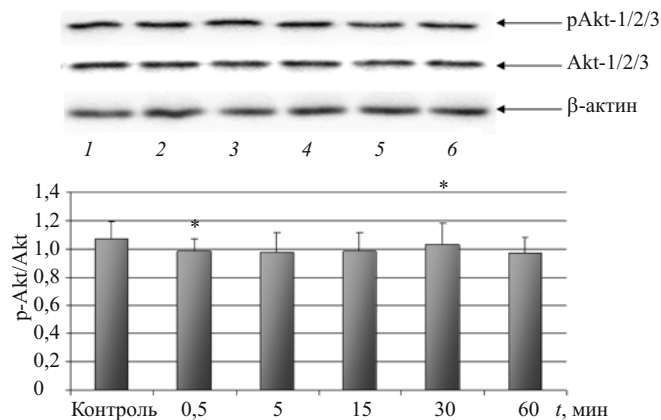


Рис. 3. Влияние миметика 2-й петли BDNF ГТС-201 на активацию Akt 1/2/3-киназ. Оригинальные Вестерн-блоты и результаты их денситометрии. Дорожки: 1 — контроль; 2 — ГТС-201 30 с; 3 — ГТС-201 5 мин; 4 — ГТС-201 15 мин; 5 — ГТС-201 30 мин; 6 — ГТС-201 60 мин. Достоверность отличия от контроля: * $p \leq 0,05$ по U -критерию Манна — Уитни.

лы (квартеты) CF_3 и CO групп трифторуксусной кислоты отсутствовали.

Строение всех промежуточных соединений было также подтверждено методами одномерной 1H и двумерной (COSY) ЯМР-спектроскопии, соединения охарактеризованы хроматографической подвижностью в тонком слое силикагеля в различных системах растворителей и физико-химическими константами (т. пл. и $[\alpha]_D$).

Для выявления **нейропротекторной активности** ГТС-201 была использована модель окислительного стресса (1,5 мМ H_2O_2) на культуре immortalized клеток гиппокампа мыши линии HT-22 [14]. Миметик ГТС-201 вносили в конечных концентрациях 10^{-5} – 10^{-8} М за 24 ч до перекиси водорода. Жизнеспособность клеток определяли с помощью МТТ-теста через 4 ч после отмытки перекиси. Миметик защищал клетки во всем диапазоне исследуемых концентраций (10^{-5} – 10^{-8} М) с наибольшим эффектом в концентрации 10^{-7} М (табл. 1).

Изучение **активации TrkB, Erk и Akt** под действием ГТС-201 проводили измерением уровня их фосфорилирования в гиппокампальных нейронах линии HT-22 с помощью Вестерн-блот анализа с использованием моноклональных антител к фосфорилированным и нефосфорилированным формам этих киназ (рис. 2–4). При этом использовали концентрацию ГТС-201 (10^{-7} М), наиболее эффективную по результатам исследования его протекторного действия на модели окислительного стресса. Установлено, что ГТС-201 вызывал активацию TrkB и Erk, но не активировал Akt (рис. 2–4).

Таким образом, нами показано, что полученный миметик 2-й петли BDNF активирует специфические для полноразмерного белка TrkB-рецепторы и селективно активирует MAPK/Erk-киназный каскад.

Изучение **антидепрессивной активности** ГТС-201 проводилось в тесте вынужденного плавания по Порсолту [15] на мышах-самцах линии BALB/c с

использованием имиπραмина в качестве положительного контроля. Суммарное время иммобильности в группе контрольных животных составило в среднем 228 с. Имипрамин статистически достоверно снижал время иммобильности примерно в 2 раза. ГТС-201 во всех изученных дозах не оказывал статистически достоверного влияния на время иммобильности (табл. 2). Таким образом, этот миметик BDNF, селективно активирующий MAPK/Erk путь, не обладает антидепрессивной активностью.

В результате настоящей работы показано, что полученный нами димерный дипептидный миметик 2-й петли BDNF, подобно полноразмерному белку активирует TrkB, Erk и обладает нейропротекторной активностью, но, в отличие от последнего, не влияет на Akt и не обладает антидепрессивной активностью. Эти данные подтверждают возможность дивергенции функций BDNF с помощью низкомолекулярных миметиков его отдельных петель.

Экспериментальная химическая часть

В работе использовали коммерчески доступные энантиомерно чистые L -аминокислоты и их производные фирм Sigma и Fluka. Температуру плавления определяли на приборе Optimelt MPA100 (Stanford Research Systems, Англия) в открытых капиллярах без корректировки. Спектры 1H и ^{13}C ЯМР регистрировали по шкале δ , м.д. на спектрометре Bruker FOURIER 300 HD (300 и 75 МГц, соответственно) в растворах $DMCO-d_6$ и $D_2O:H_2O = 1:9$, внутренний стандарт тетраметилсилан (0 м.д.). Отнесение сигналов сделано на основании анализа одномерных и двумерных гомоядерных спектров 1H – 1H COSY и гетероядерных спектров 1H – ^{13}C COSY (HSQC и HMBSC).

Удельное оптическое вращение регистрировали на автоматическом поляриметре ADP 440 Polarimeter (Bellingham + Stanley Ltd., Великобритания). Тонкослойную хроматографию (ТСХ) выполняли на стеклянных пластинах DC Kieselgel 60 G/F₂₅₄ (Merck, Германия) в системах растворителей: ЭА (А); гексан — ЭА,

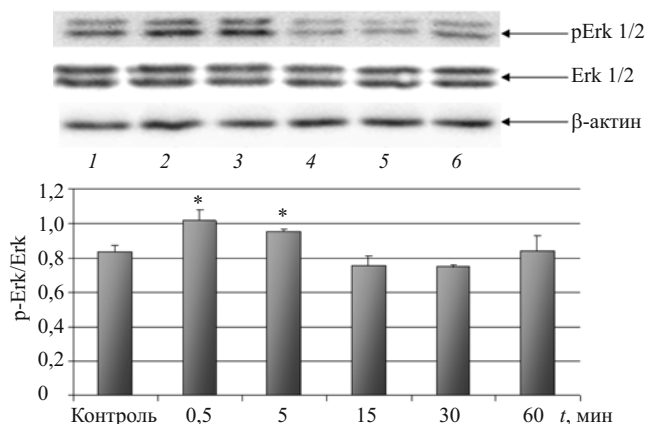


Рис. 4. Влияние миметика 2-й петли BDNF ГТС-201 на активацию Erk 1/2-киназ. Оригинальные Вестерн-блоты и результаты их денситометрии. Дорожки: 1 — контроль; 2 — ГТС-201 30 с; 3 — ГТС-201 5 мин; 4 — ГТС-201 15 мин; 5 — ГТС-201 30 мин; 6 — ГТС-201 60 мин. Достоверность отличия от контроля: * $p \leq 0,05$ по U -критерию Манна — Уитни.

5:1 (Б); гексан — ЭА, 1:1 (В); диоксан — вода, 9:1 (Г); бензол — MeOH, 1:4 (Д); хлороформ — MeOH, 6:1 (Е); MeOH — вода, 2:1 (Ж); хлороформ — MeOH — вода — уксусная кислота, 15:10:2:3 (З); хлороформ — MeOH — уксусная кислота, 80:10:1 (И); *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 3:1:1 (К). Аминосодержащие соединения обнаруживали нингидрином, соединения с амидными группами — хлор-толидиновой пробой, соединения с открытой карбоксильной группой — бромкрезоловым зеленым, содержащие ароматические группы — в УФ-лучах.

ВЭЖХ проводили с использованием хроматографической системы Wellchrom 2001 (KNAUER, Германия) на стальной аналитической колонке 250 × 4,0 мм Диасфер-110-С16, 5 мкм (BioChemMack). Объем петли — 20 мкл, подвижная фаза А (вода — ацетонитрил — ТФУ, 950:50:0,5 об.), подвижная фаза Б (0,05 % раствор ТФУ в ацетонитриле). Режим элюирования градиентный. Скорость потока 0,9 мл/мин, детектирование при длине волны 220 нм. Анализ проводили при комнатной температуре.

ДМФА очищали перегонкой над нингидрином. Диэтиловый эфир хранили над твердым NaOH. ЭА, ди-хлорметан, хлороформ, бензол, ацетон, гексан, MeOH и этанол (все х.ч.) использовали без дополнительной очистки.

Синтез $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CO-Ser-Lys-NH})_2(\text{CH}_2)_6$ — ГТС-201

***N*-Оксисукцинимидный эфир гексановой кислоты $(\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{COOSu})$ (I).** К 10,19 г 98 % (0,088 моль) гексановой кислоты в 40 мл ЭА при перемешивании и комнатной температуре прибавляли 11,34 г 98 % (0,0965 моль, 10 % изб.) *N*-гидроксисукцинимид в 40 мл ЭА. Реакционную смесь охлаждали до 0...+5 °С и прибавляли раствор 20,11 г 99 % (0,0965 моль, 10 % изб.) ДЦГК в 40 мл ЭА. Реакционную смесь выдерживали 1 ч, далее 20 ч при комнатной температуре. Выпавший осадок ДЦГМ отфильтровывали и промывали 40 мл ЭА, фильтраты объединяли и упаривали. Получали 16,33 г (89 %) продукта в виде светло-желтого масла. R_f 0,78 (А), R_f 0,76 (Е). Спектр

^1H ЯМР (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 0,87 (с, 3H, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_4\text{-CO}$), 1,33 (м, 4H, $\text{CH}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-(\text{CH}_2)_2\text{-CO}$), 1,64 (м, 2H, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{-CO}$), 2,64 (т, J 8,2 Гц, 2H, $\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_3-\text{CH}_2\text{-CO}$), 2,81 (м, 4H, $-\text{CH}_2\text{CH}_2-$, $-\text{OSu}$).

***N*-Оксисукцинимидный эфир *N*-бензилоксикарбонил-*N*^ε-трет-бутилоксикарбонил-лизина (*Z*-Lys-(Boc)-OSu) (II)** получали согласно [16] в виде белых кристаллов с выходом 95 %. R_f 0,86 (А), R_f 0,67 (Г), R_f 0,73(Е); $T_{\text{пл}}$ 95 – 99 °С; $[\alpha]_D^{22} - 16,1^\circ$ (с 2, диоксан). Лит. данные [17]: $T_{\text{пл}}$ 97 – 99 °С; $[\alpha]_D^{22} - 16,0^\circ$ (с 2, диоксан).

***N*-Бензилоксикарбонил-серин (*Z*-Ser-OH) (III).** В колбу ёмкостью 2 л, снабжённую механической мешалкой, термометром и обратным холодильником, последовательно загружали 30,30 г 99 % (30,00, 0,2855 моль) серина, 300 мл дистиллированной воды, 300 мл ацетона, 23,98 г (0,2855 моль) NaHCO_3 , остатки смывали 100 мл дистиллированной воды и 100 мл ацетона. К полученному раствору при перемешивании и температуре 20 – 22 °С прибавляли 71,86 г 99 % (71,14 г, 0,2855 моль) *Z*-OSu. Реакционную массу перемешивали 5 ч, затем оставляли на ночь без перемешивания. Ацетон удаляли под вакуумом, водный раствор после промывки 2 × 170 мл CH_2Cl_2 подкисляли конц. HCl до pH = 2,5 и экстрагировали 3 × 285 мл ЭА. Этилацетатный раствор промывали 250 мл воды и 170 мл насыщенного раствора NaCl. Растворитель упаривали на ротонном испарителе, приливали 50 мл гексана и упаривали досуха при температуре 50 °С. Белый пластинчатый осадок сушили в вакууме (15 мм рт. ст.) над CaCl_2 . Получали 61,54 г (90 %) *Z*-Ser-OH. R_f 0,72 (Г), R_f 0,75 (З), R_f 0,86 (Д); $T_{\text{пл}}$ 118 – 120 °С; $[\alpha]_D^{25} + 6,57^\circ$ (с, 7, уксусная кислота). Лит. данные [12]: выход 78 %; $T_{\text{пл}}$ 120 °С; $[\alpha]_D^{25} + 5,7^\circ$ (с, 7, уксусная кислота). Спектр ^1H ЯМР (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 3,66 (д, J 5,4 Гц, 2H, C^βH_2 Ser), 4,05 (дт, J 8,1 Гц и J 5,4 Гц, 1H, C^αH Ser), 5,03 (с, 2H, $-\text{OCH}_2-\text{C}_6\text{H}_5\text{Z}$), 7,30 – 7,40 (м, 5H, $-\text{C}_6\text{H}_5$ Z), 7,34 (д, J 8,1 Гц, 1H, NH Ser). Протоны -OH и -COOH групп в обмене.

Пентафторфениловый эфир *N*-бензилоксикарбонил-серина (*Z*-Ser-OPfp) (IV). В колбу ёмкостью 2 л, снабжённую термометром, обратным холодильником и механической мешалкой, загружали 55,56 г (0,2323 моль) III и приливали 600 мл ЭА и добавляли 47,50 г 99 % (47,025 г, 0,2554 моль, 10 % избыток) пентафторфенола. Реакционную массу, в виде суспензии, охлаждали до 0...– 3 °С и при перемешивании прибавляли раствор 53,23 г 99 % (52,69 г, 0,2545 моль, 10 % изб.) ДЦГК в 250 мл ЭА с такой скоростью, чтобы температура в смеси не поднималась выше 0 °С. Выдерживали 1 ч, затем охлаждение убирали и перемешивали при комнатной температуре 20 ч, ДЦГМ отфильтровывали. Растворитель упаривали при температуре не выше 50 °С, к остатку приливали 200 мл петролейного эфира и оставляли на 30 мин, после чего осадок отфильтровывали, промывали 50 мл петролейного эфира, сушили в вакууме (15 мм рт. ст.) над CaCl_2 и парафином. Получали 85,88 г (91 %) *Z*-Ser-OPfp. R_f 0,82 (А), R_f 0,32 (В), R_f 0,76 (И); $T_{\text{пл}}$ 150 – 154 °С (пет-

ролейный эфир); $[\alpha]_D^{23} - 17,82$ (с 1,05, ЭА). Лит. данные [13]: $T_{пл} 142,5 - 143,5$ °C; $[\alpha]_D^{22} - 16,25$ ° (с 2, этанол). Спектр 1H ЯМР (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 3,85 (м, 2H, $C^\beta H_2$ Ser), 4,56 (м, 1H, $C^\alpha H$ Ser), 5,08 (с, 2H, $-OCH_2-C_6H_5$ Z), 5,23 (т, J 5,8 Гц, 1H, $HO-C^\beta H_2$ Ser), 7,36 (м, 5H, $-C_6H_5$ Z), 7,97 (д, J 7,6 Гц, 1H, NH Ser).

Гексаметилендиамид бис-(N-бензилоксикарбонил-N^ε-трет-бутилоксикарбонил-лизина) (Z-Lys(Boc)-NH)₂(CH₂)₆ (V) получали согласно [16] с выходом 93 % в виде белых кристаллов. R_f 0,63 (А), R_f 0,21 (Е), R_f 0,86 (Д); $T_{пл} 150 - 154$ °C, $[\alpha]_D^{25} - 9,3$ ° (с, 0,29, этанол), $[\alpha]_D^{25} - 9,1$ ° (с, 1, MeOH). Лит. данные [16]: $T_{пл} 150 - 154$ °C, $[\alpha]_D^{25} - 9,3$ ° (с, 0,29, этанол).

Гексаметилендиамид бис-(N^ε-трет-бутилоксикарбонил-лизина) (H-Lys(Boc)-NH)₂(CH₂)₆ (VI) получали согласно [16] с количественным выходом в виде белых кристаллов. R_f 0,33 (Е), R_f 0,68 (Б), R_f 0,39 (К), R_f 0,48 (В); $T_{пл} 81 - 84$ °C (из диэтилового эфира); $[\alpha]_D^{25} + 8,3$ (с, 1, этанол). Спектр 1H ЯМР (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 1,24 - 1,51 (м, 20H, $-NHCH_2(CH_2)_4CH_2NH-$, 2 $C^\beta H_2 C^\gamma H_2 C^\delta H_2$ Lys), 1,37 (с, 18H, 2 $-OC(CH_3)_3$ Boc), 2,88 (м, 4H, $C^\epsilon H_2$ Lys), 3,03 (м, 2H, 2 $C^\alpha H$ Lys), 3,06 (м, 4H, $-NHCH_2(CH_2)_4CH_2NH-$), 6,71 (т, J 5,2 Гц, 2H, 2 $N^\epsilon H$ Lys), 7,76 (т, J 5,6 Гц, 2H, $-NH(CH_2)_6NH-$).

Гексаметилендиамид бис-(N-бензилоксикарбонил-серил-N^ε-трет-бутилоксикарбонил-лизина) (Z-Ser-Lys(Boc)-NH)₂(CH₂)₆ (VII) К раствору 5,00 г (8,74 ммоль) VI в 20 мл свежеперегнанного ДМФА, одновременно присыпали 7,44 г (18,35 ммоль, 5 % избыток) IV и приливали 10 мл ДМФА. Реакционную смесь перемешивали 12 ч при комнатной температуре. Затем приливали 0,11 мл ДМАПА, выдерживали 50 мин при перемешивании, после чего реакционную массу выливали в дистиллированную воду (150 мл) и оставляли на 12 ч при комнатной температуре. Осадок отфильтровывали, промывали 200 мл воды, 50 мл гексана и 50 мл диэтилового эфира. Осадок сушили в вакууме (15 мм рт. ст.) над $CaCl_2$. Получали 8,48 г (95 %) белого кристаллического продукта. R_f 0,41 (И), R_f 0,92 (Г); $T_{пл} 140 - 143$ °C; $[\alpha]_D^{25} - 12,82$ ° (с, 1, MeOH). Спектр 1H ЯМР (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 1,15 - 1,36 (м, 16H, 2 $C^\gamma H_2 C^\delta H_2$ Lys; $-NH-CH_2-(CH_2)_4-CH_2-NH-$), 1,36 (с, 18H, 2 $-OC(CH_3)_3$ Boc), 1,49 и 1,64 (2 м, 4H, 2 $C^\beta H_2$ Lys), 2,86 (м, 4H, 2 $C^\epsilon H_2$ Lys), 3,00 (м, 4H, $-NH-CH_2-(CH_2)_4-CH_2-NH-$), 3,56 (м, 4H, 2 $C^\beta H_2$ Ser), 4,09 - 4,15 (м, 4H, 2 $C^\alpha H$ Ser, 2 $C^\alpha H$ Lys), 5,03 (с, 4H, $-OCH_2-C_6H_5$ Z), 5,07 (уш.с, 2H, $HO-C^\beta H_2$ Ser), 6,72 (т, 2H, J 5,2 Гц, 2 $N^\epsilon H$ Lys), 7,28 - 7,36 (м, 12H, $-C_6H_5$ Z; 2 NH Ser), 7,79 (т, J 5,5 Гц, 2H, $-NH-(CH_2)_6-NH-$), 7,94 (д, J 8,0 Гц, 2H, 2 NH Lys).

Гексаметилендиамид бис-(серил-N^ε-трет-бутилоксикарбонил-лизина) (H-Ser-Lys(Boc)-NH)₂(CH₂)₆ (VIII). К раствору 5,00 г (4,93 ммоль) VII в 220 мл MeOH прибавляли 0,76 г 10 % Pd/C 50 % влажности и перемешивали в атмосфере водорода. По окончании гидрирования (ТСХ-контроль), катализатор отфильтровывали, фильтрат упаривали, далее переупаривали с 15 мл бензола, к пенообразному остатку приливали 20 мл петролейного эфира и оставляли на 2 ч, эфир декантировали, а осадок сушили в вакууме (15 мм рт. ст.)

над $CaCl_2$. Получали 3,77 г (97 %) белого порошка. R_f 0,16 (Д), R_f 0,35 (Ж), R_f 0,74 (З); $T_{пл} 111 - 116,5$ °C с разложением; $[\alpha]_D^{24} - 3,47$ (с 1; MeOH). Спектр 1H ЯМР (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 1,15 - 1,42 (м, 16H, 2 $C^\gamma H_2 C^\delta H_2$ Lys; $-NH-CH_2-(CH_2)_4-CH_2-NH-$), 1,36 (с, 18H, 2 $-OC(CH_3)_3$ Boc), 1,45 и 1,61 (2 м, 4H, 2 $C^\beta H_2$ Lys), 2,01 (уш.с, 4H, NH₂ Ser), 2,85 (м, 4H, 2 $C^\epsilon H_2$ Lys), 3,01 (м, 4H, $-NH-CH_2-(CH_2)_4-CH_2-NH-$), 3,24 (м, 2H, 2 $C^\alpha H$ Ser), 3,44 (м, 4H, 2 $C^\beta H_2$ Ser), 4,16 (м, 2H, 2 $C^\alpha H$ Lys), 4,87 (уш.с, 2H, OH- $C^\beta H_2$), 6,73 (т, J 5,1 Гц, 2H, 2 $N^\epsilon H$ Lys), 7,93 (т, J 5,4 Гц, 2H, $-NH-(CH_2)_6-NH-$), 8,0 (д, J 7,6 Гц, 2H, 2 NH Lys); протоны группы NH₂ находятся в обмене.

Гексаметилендиамид бис-(N-гексаноил-серил-N^ε-трет-бутилоксикарбонил-лизина) (Hex-Ser-Lys(Boc)-NH)₂(CH₂)₆ (IX). К раствору 4,00 г (0,0054 моль) VIII в 30 мл ДМФА при перемешивании и температуре +5 °C приливали раствор 2,76 г (0,013 моль, 20 % изб.) I в 10 мл ДМФА, реакционную смесь выдерживали 1 ч, далее перемешивали при комнатной температуре 12 ч. Растворитель упаривали при температуре не выше 50 °C, остаток затирали под диэтиловым эфиром (40 мл). Осадок отфильтровывали, промывали 20 мл диэтилового эфира. Полученный продукт кипятили на водяной бане в 40 мл ацетона и сразу отфильтровывали, промывали дополнительно 5 мл горячего ацетона, сушили в вакууме (15 мм рт. ст.) над $CaCl_2$. Получали 4,02 г (80 %) продукта IX в виде кристаллов слегка кремового цвета. R_f (основное пятно) 0,83 (Г), R_f 0,87(К); $T_{пл} 190 - 198,7$ °C (диэтиловый эфир); $[\alpha]_D^{26,5} - 1,8$ ° (с, 0,95; ДМФА). Спектр 1H ЯМР (ДМСО- d_6), δ , м.д.: 0,85 (т, J 7,0 Гц, 6H, 2 $-CO-(CH_2)_4-CH_3$ Hex), 1,25 - 1,42 (м, 24H, 2 $C^\delta H_2 C^\gamma H_2$ Lys; $-NH-CH_2-(CH_2)_4-CH_2-NH-$; 2 $CO-(CH_2)_2-(CH_2)_2-CH_3$ Hex), 1,36 (с, 18H, 2 $-OC(CH_3)_3$ Boc), 1,48 (м, 4H, 2 $CO-CH_2-CH_2-(CH_2)_2-CH_3$ Hex), 1,49 - 1,67 (м, 4H, 2 $C^\beta H_2$ Lys), 2,13 (т, J 7,5 Гц, 4H, 2 $CO-CH_2-(CH_2)_3-CH_3$ Hex), 2,86 (кв, J 6,0 Гц, 4H, 2 $C^\epsilon H_2$ Lys), 3,01 (м, 4H, $-NH-CH_2-(CH_2)_4-CH_2-NH-$), 3,49 - 3,60 (м, 4H, 2 $C^\beta H_2$ Ser), 4,13 (м, 2H, 2 $C^\alpha H$ Ser), 4,30 (кв, J 6,0 Гц, 2H, 2 NH- $C^\alpha H$ Lys), 5,07 (уш.с, 2H, 2 OH- $C^\beta H_2$ Ser), 6,73(т, J 6,0 Гц, 2H, 2 $N^\epsilon H$ Lys), 7,75 (т, J 6,0 Гц, 2H, $-NH-(CH_2)_6-NH-$), 7,87 (д, 4H, 2 NH Lys и 2 NH Ser).

Таблица 1
Нейропротекторная активность ГТС-201 на модели окислительного стресса на культуре нейронов НТ-22

Группа	Защитный эффект, %
Контроль	100 ± 5
H ₂ O ₂	65 ± 2*
ГТС-201, 10 ⁻⁵ М	77 ± 3^
ГТС-201, 10 ⁻⁶ М	77 ± 4^
ГТС-201, 10 ⁻⁷ М	79 ± 3^
ГТС-201, 10 ⁻⁸ М	77 ± 4^

Примечание: пептид вносили за 24 ч до H₂O₂. Достоверность отличий: * от контроля ($p \leq 0,05$); ^ от перекиси водорода ($p \leq 0,05$) критерий Краскела — Уоллиса с последующим тестом по Данну.

Дитрифторацетат гексаметилендиамида бис-(*N*-гексаноил-серил-лизина) – 2 CF₃COOH · (Hex-Ser-Lys-NH-)₂(CH₂)₆ (X). К суспензии 1,60 г (1,7 ммоль) IX в 15 мл CH₂Cl₂ при перемешивании и комнатной температуре приливали 5 мл 99 % ТФУ, выдерживали 1,5 ч (ТСХ-контроль). Растворитель упаривали в вакууме водоструйного насоса при 45 °С, к еще подвижному маслу приливали диэтиловый эфир (20 мл) и затирали, образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали дополнительно 10 мл сухого диэтилового эфира и высушивали в вакууме (15 мм рт. ст.) над СаCl₂. Получали 1,50 г (91 %) продукта в виде порошка светло-кремового цвета. R_f (основное пятно) 0,04 (Г), R_f 0,35 (К); T_{пл} 102 – 140 °С с разложением (нет четкой границы); [α]_D²⁵ -31,79° (с 1,05; MeOH). Спектр ¹H ЯМР (DMCO-d₆), δ, м.д.: 0,84 (т, J 7,0 Гц, 6H, 2 CO-(CH₂)₄-CH₃ Hex), 1,23, 1,33, 1,50 (три м, 28H, 2 C^δH₂ C^γH₂ Lys; 2 CO-CH₂-(CH₂)₃-CH₃ Hex; -NH-CH₂-(CH₂)₄-CH₂-NH-), 1,50 – 1,70 (м, 4H, 2 C^βH₂ Lys), 2,13 (т, J 7,5 Гц, 4H, 2 CO-CH₂-(CH₂)₃-CH₃ Hex), 2,74 (м, 4H, 2 C^εH₂ Lys), 3,00 (м, 4H, NH-CH₂-(CH₂)₄-CH₂-NH), 3,45 и 3,63 (два м, 4H, 2 C^βH₂ Ser), 4,15 (м, 2H, 2 C^αH Lys), 4,27 (кв, J 7,0 Гц, 2H, 2 C^αH Ser), 5,23 (уш.с, 2H, 2 HO-C^βH₂ Ser), 7,79 (уш.с, 8H, -NH-(CH₂)₆-NH-; 2 ⁺NH₃ Lys), 7,94 (д, J 7,0 Гц, 2H, 2 NH Ser), 7,99 (д, J 8,0 Гц, 2H, 2 NH Lys).

Спектр ¹³C ЯМР (DMCO-d₆). δ, м.д.: 173,1; 171,5; 170,9 (с, 6C, 6 CO), 159,1 (кв, 2C, ²J_{C-F} = 31,3 Гц, CF₃COOH), 117,6 (кв, 2C, ¹J_{C-F} = 298,8 Гц, CF₃COOH), 62,2 (с, 2C, 2 C^β Ser), 55,5 (с, 2C, 2 C^α Ser), 53,0 (с, 2C, 2 C^α Lys), 39,0 (с, 4C, 2 C^ε Lys и 2 C¹ спейсера), 35,5 (с, 2 C, 2 CO-CH₂-(CH₂)₃-CH₃ Hex), 31,5; 31,4; 29,3; 27,1; 26,4; 25,3; 22,8; 22,4 (набор с, 15C, 2 C² и C³ спейсера, 2 C^γ, 2 C^δ и 2 C^β Lys), 2 CO-CH₂-(CH₂)₃-CH₃ Hex), 14,3 (с, 2C, 2 CO-(CH₂)₄-CH₃ Hex).

Дицетат гексаметилендиамида бис-(*N*-гексаноил-серил-лизина) (CH₃(CH₂)₄CO-Ser-Lys-NH-)₂(CH₂)₆ ГТС-201 (XI). К 0,80 г дитрифторацетату X приливали 15 мл 70 % раствора уксусной кислоты, после полного растворения вещества, растворитель упаривали при температуре не выше 45 – 50 °С. Переупаривание с уксусной кислотой повторяли трижды, затем упаривали с толуолом (3 × 10 мл), диэтиловым эфиром (3 × 5 мл) получали 0,65 г (~92 %) вспененно-

го аморфного остатка. Навеску 150 мг остатка очищали на препаративной стеклянной пластине 20 × 20 (PSC-Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₀ Schichtdicke 2 mm, Merck, Германия) в системе растворителей бутанол — АсОН — вода, 3:1:1. Получали 128 мг (85 %) очищенного продукта (чистота 98 % по данным ОФ ВЭЖХ, время удерживания τ = 12,00 мин) в виде аморфного осадка с лёгким кремовым оттенком. R_f 0,59 (К); T_{пл} 110 – 125 °С с разлож.; [α]_D^{24,5} -14,9° (с 0,6, MeOH). Спектр ¹H ЯМР (D₂O:H₂O = 1:9), δ, м.д.: 0,76 (т, J 7,0 Гц, 6H, 2 CO-(CH₂)₄-CH₃ Hex), 1,18, 1,37, 1,49 и 1,58 (четыре м, 32H, 2 CO-CH₂-CH₂-(CH₂)₂-CH₃ Hex; 2 C^δH₂C^βH₂C^γH₂ Lys; -NH-CH₂-(CH₂)₄-CH₂-NH-; 2 CO-(CH₂)₂-(CH₂)₂-CH₃ Hex), 1,85 (с, 6H, 2 CH₃COOH), 2,21 (т, J 7,5 Гц, 4H, 2 CO-CH₂-(CH₂)₃-CH₃ Hex), 2,89 (т, J 7,4 Гц, 4H, 2 C^εH₂ Lys), 3,08 (м, 4H, -NH-CH₂-(CH₂)₄-CH₂-NH-), 7,42 (уш.с, 4H, 2 N^εH₂ Lys), 7,84 (т, J 4,9 Гц, 2H, 2 -NH-(CH₂)₆-NH-), 8,17 (д, J 7,0 Гц, 2H, 2 NH Ser), 8,25 (д, J 7,0 Гц, 2H, 2 NH Lys).

Спектр ¹H ЯМР (DMCO-d₆), δ, м.д.: 0,85 (т, J 7,0 Гц, 6H, 2 CO-(CH₂)₄-CH₃ Hex), 1,16 – 1,58 (м, 28H, 2 CO-CH₂-(CH₂)₃-CH₃ Hex; 2 C^δH₂C^γH₂ Lys; -NH-CH₂-(CH₂)₄-CH₂-NH-), 1,50 – 1,70 (м, 4H, 2 C^βH₂ Lys), 1,88 (с, 6H, 2 CH₃COOH), 2,13 (т, J 7,5 Гц, 4H, 2 CO-CH₂-(CH₂)₃-CH₃ Hex), 2,74 (м, 4H, 2 C^εH₂ Lys), 3,00 (м, 4H, -NH-CH₂-(CH₂)₄-CH₂-NH-), 3,45 – 3,63 (два м, 4H, 2 C^βH₂ Ser), 4,15 (м, 2H, 2 C^αH Lys), 4,27 (кв, J 7,0 Гц, 2H, 2 C^αH Ser), 7,78 (т, J 5,4 Гц, 2H, -NH-(CH₂)₆-NH-), 7,94 (д, J 7,0 Гц, 2H, 2 NH Ser), 8,01 (д, J 8,0 Гц, 2H, 2 NH Lys).

Спектр ¹³C ЯМР (DMCO-d₆), δ, м.д.: 177,8; 173,3; 172,3 (с, 6C, 6 CO), 61,1 (с, 2C, 2 C^β Ser), 55,8 (с, 2C, 2 C^α Ser), 53,9 (с, 2C, 2 C^ε Lys), 39,4 (с, 4C, 2 C^ε Lys и 2 C¹ спейсера), 35,4 (с, 2 C, 2 CO-CH₂-(CH₂)₃-CH₃ Hex), 30,5; 30,4; 28,1; 26,4; 25,0; 22,7; 21,7 (набор с, 15C, 2 C² и C³ спейсера, 2 C^γ, 2 C^δ и 2 C^β Lys), 2 CO-CH₂-(CH₂)₃-CH₃ Hex), 13,2 (с, 2C, 2 CO-(CH₂)₄-CH₃ Hex). Сигналы углерода CF₃COOH в спектре ¹³C ЯМР отсутствуют.

Экспериментальная биологическая часть

Нейропротекторную активность ГТС-201 изучали согласно [14] на культуре иммортализованных клеток гиппокампа мыши линии HT-22. Клетки рассеивали в 96-луночные планшеты с плотностью 3500 клеток на лунку в среде DMEM (HyClon, США), содержащей 5 % телячьей эмбриональной сыворотки (Gibco, США) и 2 mM L-глутамин (ICN, США), и инкубировали при 37 °С в 5 % CO₂ до образования монослоя. Пептиды вносили в культуральную среду за 24 ч до повреждающего воздействия в диапазоне конечных концентраций от 10⁻⁵ до 10⁻⁸ M. В качестве положительного контроля использовали BDNF в концентрации 50 нг/мл. Для моделирования окислительного стресса использовали H₂O₂ в конечной концентрации 1,5 mM. Клетки с H₂O₂ инкубировали в атмосфере 5 % CO₂ при 37 °С в течение 30 мин [18]. Далее среду заменяли на нормальную и через 4 ч определяли жизнеспособность клеток с помощью МТТ-теста с использованием бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)- 2,5 ди-

Таблица 2
Изучение антидепрессивной активности ГТС-201 в тесте вынужденного плавания по Порсолту на мышах BALB/c

Группа	Время иммобильности, с
Контроль (дистиллированная вода)	228 ± 9
Имипрамин (25 мг/кг)	100 ± 17*
ГТС-201 (0,1 мг/кг)	241 ± 11
ГТС-201 (1 мг/кг)	209 ± 10
ГТС-201 (5 мг/кг)	228 ± 9

Примечание: данные представлены в виде средних и стандартных ошибок среднего.

* p < 0,05 — однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA) с последующим множественным сравнением с использованием критерия Данна. Число животных n = 10 в каждой группе.

фенилтетразолия (МТТ) (Sigma, США). Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре “Multi-scanEX” (Thermo, США) при длине волны 600 нм.

Активацию TrkB, Erk- и Akt под действием ГТС-201 изучали путем оценки уровня их фосфорилирования на гиппокампальных нейронах линии HT-22 с помощью Вестерн-блот анализа с использованием антител к фосфорилированным и нефосфорилированным формам этих киназ (рис. 2–4). Уровень фосфорилирования соответствующих киназ оценивали через 0,5, 5, 15, 30, 60 мин после внесения исследуемого соединения. Временные точки для изучения активации TrkB-рецептора и PI3K/Akt и MAPK/Erk-сигнальных путей были выбраны согласно известным из литературы временным интервалам для BDNF и его миметиков [19]. ГТС-201 изучали в концентрации 10^{-7} М как наиболее эффективной по результатам исследования его протекторного действия на модели окислительно-стресса.

Антидепрессивную активность ГТС-201 изучали в тесте вынужденного плавания по Порсолту [15]. В эксперименте использовались мыши-самцы линии BALB/c массой 19–22 г. В каждой группе было по 10 мышей. В первый день животных помещали в узкую емкость с водой, температурой 22 °С, на 10 мин. Через 60 мин животным вводили внутривенно (в/в) ГТС-201, растворенный в дистиллированной воде, в дозах 0,1, 1 и 5 мг/кг (из расчета 5 мл/кг). Группе “контроль” вводили в/в дистиллированную воду в эквивалентном объеме. Через 22 ч животных повторно сажали в те же условия и на протяжении 5-минутного тестового периода регистрировали время сохранения животным характерной позы иммобильности (отказ от активно-оборонительного и исследовательского поведения). В качестве положительного контроля использовали классический антидепрессант имипрамин, который вводили за 1 ч до тестовой посадки в дозе 25 мг/кг в/в [20].

Статистический анализ экспериментов *in vitro* проводили с помощью стандартного пакета программ Statistica 6.0 (Statsoft, Inc., США). Результаты МТТ-теста анализировали с помощью критерия Краскела — Уоллиса с последующим тестом по Данну (One way ANOVA). Результаты Вестерн-блот анализа обсчитывали с использованием *U*-критерия Манна — Уитни. В экспериментах *in vivo* межгрупповые различия оцени-

вали с помощью *t*-критерия Стьюдента и *U* теста Манна — Уитни (при сравнении более 2 групп использовали поправку Бонферрони).

Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$. Данные представляли в форме средних и стандартных ошибок среднего.

Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда (проект № 18-15-00381).

ЛИТЕРАТУРА

1. M. C. Cardenas-Aguayo, S. F. Kazim, I. Grundke-Iqbal, K. Iqbal, *PLoS ONE*, **8**(1), 1–18 (2013).
2. C. Zuccato, E. Cattaneo, *Nature Reviews / Neurology*, **5**, 311–322 (2009).
3. H. Yu, Z. Chen, *Acta Pharmacologica Sinica*, **32**, 3–11 (2011).
4. J. Adlam, R. Zaman, *Psychiat. Danub.*, **25**(2), 368–369 (2013).
5. B. C. Monteiro, S. Monteiro, M. Candida, et al., *Clin. Practice Epidemiol. Mental Health*, **13**, 213–219 (2017).
6. Т. А. Гудашева, Т. А. Антипова, С. Б. Середенин, *ДАН*, **434**(4), 549–552 (2010).
7. Патент РФ 2410392 (2011); *Бюл. изобрет.*, **3** (2011).
8. Т. А. Гудашева, *Известия Академии наук. Серия химическая*, **9**, 2012–2021 (2015).
9. Т. А. Гудашева, А. В. Тарасюк, С. В. Помогайбо и др., *Био-орган. химия*, **38**(3), 280–290 (2012).
10. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Т. А. Гудашева и др., *Acta Naturae*, **5**(4), (19), 116–120 (2013).
11. Р. У. Островская, С. С. Ягубова, Т. А. Гудашева, С. Б. Середенин, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **164**(12), 701–705 (2017).
12. A. Quet, *Can. J. Chem.*, **80**, 976–980 (1982).
13. L. T. Kisfaludy, J. E. Roberts, R. H. Johnson, et al., *J. Org. Chem.*, **35**(10), 3563–3564 (1970).
14. G. R. Jackson, Werrbach-Perez, E. L. Ezell, et al., *Brain Res.*, **592**(1), 239–248 (1992).
15. R. D. Porsolt, A. Bertin, M. Jalfre, *Eur. J. Pharmacol.*, **51**, 291–294 (1978).
16. Н. М. Сазонова, А. В. Тарасюк, Д. В. Курилов и др., *Хим.-фарм. журн.*, **49**(7), 10–19 (2015); *Parm. Chem. J.*, **49**(7), 439–448 (2015).
17. M. Jaouadi, J. Martinez, B. Castro, *J. Org. Chem.*, **52**, 2364–2367 (1987).
18. Y. Ueda, E. Walsh, H. Nakanishi, K. Yoshida, *Neurosci. Lett.*, **165**(1–2), 203–207 (1994).
19. S. M. Massa, T. Yang, Y. Xie, et al., *J. Clin. Invest.*, **120**(5), 1774–1785 (2010).
20. J. Cassani, A. M. Dorantes-Barrón, L. M. Novales, et al., *Molecules*, **19**(12), 21442–21461 (2014).

Поступила 13.04.18

SYNTHESIS AND BIOLOGICAL PROPERTIES OF NEW DIPEPTIDE MIMETIC OF BRAIN DERIVED NEUROTROPHIC FACTOR LOOP 2

N. M. Sazonova*, A. V. Tarasyuk, A. N. Shumskii, P. Yu. Povarnina, S. V. Kruglov, T. A. Antipova, T. A. Gudashева, and S. B. Seredenin

V. V. Zakusov State Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 125315 Russia

* e-mail: saz-nellya@mail.ru

A new dimeric dipeptide mimetic of the 2nd loop of brain-derived neurotrophic factor (BDNF), bis-(N-hexanoyl-seryl-lysine) hexamethylenediamide (GTS-201), was constructed and synthesized. It exhibits neuroprotector activity at concentrations of 10^{-5} – 10^{-8} M in the culture of immortalized hippocampal neurons of the HT-22 line under conditions of oxidative stress caused by H_2O_2 . Western-blot analysis showed that GTS-201 activated TrkB receptors and Erk, but did not activate Akt. In contrast to previously synthesized dimeric dipeptide mimetic of the 4th loop of BDNF (GSB-106), GTS-201 did not exhibit antidepressant activity in the Porsolt test in BALB/c mice at doses of 0.1, 1.0, and 5.0 mg/kg upon intraperitoneal administration. The obtained results confirm the earlier original hypothesis about the possible divergence of neurotrophin functions by low-molecular mimetics of their separate loop-like structures.

Keywords: GTS-201; mimetic; dipeptide; BDNF; neuroprotective activity; antidepressant activity; MAPK/ERK, PI3K/AKT; TrkB.