

*На правах рукописи*



**Григоревских Екатерина Михайловна**

**Экспериментальное изучение нейрпсихотропных свойств низкомолекулярных  
миметиков мозгового нейротрофического фактора**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата фармацевтических наук

Москва–2025

Работа выполнена в федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет)

**Научные руководители:**

доктор биологических наук, доцент

**Лебедева Светлана Анатольевна**

доктор биологических наук, профессор РАН

**Колик Лариса Геннадьевна**

**Официальные оппоненты:**

**Куркин Денис Владимирович** – доктор фармацевтических наук, доцент, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский университет медицины» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Научно-образовательный институт фармации им. К.М. Лакина, директор

**Каленикова Елена Игоревна** – доктор фармацевтических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Медицинский научно-образовательный институт, факультет фундаментальной медицины, кафедра фармацевтической химии и организации фармацевтического дела, заведующая кафедрой

**Ведущая организация:** федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Смоленский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита состоится «23» декабря 2025 года в 14.00 часов на заседании диссертационного совета ДСУ 208.001.20 при ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119991, г. Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2

С диссертацией можно ознакомиться в Фундаментальной учебной библиотеке ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) по адресу: 119034, г. Москва, Зубовский бульвар, д. 37/1 и на сайте организации: <https://sechenov.ru>

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2025 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

**Дроздов Владимир Николаевич**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) и крупным аналитическим исследованиям, к 2050 году число людей, страдающих нейродегенеративными заболеваниями, вырастет в 2-3 раза и составит 100-150 миллионов человек (Gao W. et al., 2025; Wisdom E.K. et al., 2025; Nichols E. et al., 2022; Lei J., Gillespie K., 2024). Ситуацию осложняет тот факт, что ежегодно во всем мире около 70 миллионов человек получают черепно-мозговые травмы (Dewan M.C. et al., 2019; Maas A.I.R. et al., 2022). Кроме того, психические и поведенческие расстройства, связанные с употреблением наркотиков и алкоголя, остаются одной из важнейших медико-социальных проблем в мире и России. По данным Роскомстата, смертность, связанная с употреблением алкоголя, составляет около 2,4% от общей смертности в России.

Психические нарушения приводят к социальной дисфункции и снижению качества жизни, вследствие чего являются всемирной проблемой общественного здравоохранения, которая привлекает повышенное внимание. Несмотря на значительный прогресс в понимании лежащих в их основе патогенетических процессов, причины, молекулярные механизмы патогенеза и принципы терапии до сих пор окончательно не изучены. Вследствие этого разработка новых терапевтических подходов и схем лечения заболеваний, сопровождающихся гибелью и дегенерацией нейронов, представляет актуальную и сложную задачу.

Мозговой нейротрофический фактор (BDNF) – полипептидный фактор роста, который оказывает разностороннее влияние на развитие нервной системы, способствует формированию нейронных связей и когнитивных функций, обеспечивает синаптическую пластичность и играет важную роль в процессах выживания, роста и дифференцировки нейрональных клеток. BDNF проявляет нейропротекторный эффект при неблагоприятных условиях, таких как глутаматергическая стимуляция, ишемия головного мозга, гипогликемия, нейротоксичность, окислительный стресс (Numakawa T. et al., 2011). BDNF в настоящее время рассматривается как одна из наиболее перспективных молекул для изучения нейробиологических механизмов ассоциативного синаптического обучения, развивающегося при различных тревожных расстройствах, а также как существенный фактор стрессоустойчивости.

BDNF является объектом пристального изучения со стороны специалистов в области нейрогенетики. Согласно исследованиям, мутации в гене BDNF могут быть связаны с повышением вероятности развития депрессии (Autry A.E., Monteggia L.M., 2012; Taylor W.D. et al., 2011; Weidner K.L., Buenaventura D.F., Chadman K.K., 2014), степенью клинической

выраженности нейродегенеративных заболеваний (Shen T. et al., 2018; Lim Y.Y. et al., 2016; 2018) и вероятностью развития аддиктивных состояний (Zhang X.Y., 2012). При нейродегенеративных заболеваниях, сопровождающихся синаптической дисфункцией и потерей синапсов в тканях головного мозга, происходит снижение уровня BDNF (Scalzo P., 2010). Кроме того, несколько мета-анализов показали, что существует корреляция между низким уровнем BDNF и развитием депрессии (Chiba S. et al., 2012; Fernandes B.S. et al., 2014; Molendijk M.L. et al., 2014), шизофрении (Ahmed A.O. et al., 2021; Zou Y. et al., 2024; Green M.J. et al., 2011; Fernandes B.S. et al., 2014), биполярных, панических и обсессивно-компульсивных расстройств (Hao L.-S. et al., 2022; Zou Y. et al., 2024).

Несмотря на потенциальное использование BDNF в качестве фармакологически активного соединения, клинические испытания рекомбинантных белков не увенчались успехом из-за значительных побочных эффектов и фармакокинетических ограничений: слабой проницаемости через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и короткого времени жизни в кровотоке. Создание низкомолекулярных миметиков является одним из альтернативных способов использования терапевтических свойств нейротрофинов и возможностей преодолеть низкую биодоступность зрелого BDNF.

#### **Степень разработанности темы исследования**

Существует предположение, что центральные фрагменты  $\beta$ -изгибов 1-й, 2-й и 4-й петель BDNF являются основными фармакофорными сайтами нейротрофинов, поскольку эти фрагменты взаимодействуют с рецептором семейства тропомиозин-киназы B (TrkB) (Vakhitova Y.V. et al., 2021; Gudasheva T.A. et al., 2012). Опираясь на данную гипотезу, были сконструированы и синтезированы димерные дипептидные миметики 1-й, 2-й и 4-й петель BDNF. Данные вещества взаимодействуют с TrkB-рецептором, но в опытах *in vitro* по-разному влияют на пострецепторные сигнальные пути: миметик 1-й петли ГСБ-214 активирует сигнальный путь фосфоинозитид-3-киназы/серин-треониновой киназы (PI3K/Akt), миметик 2-й петли ГТС-201 – митоген-активируемой протеинкиназы/киназы, регулируемой внеклеточными сигналами (MAPK/ERK), а миметик 4-й петли ГСБ-106 влияет на оба пути (Межлумян А.Г., 2021). В отличие от пептидных миметиков, активирующих пути MAPK/ERK и PI3K/Akt, ГТС-201 не обладал антидепрессивными свойствами (Логвинов И.О., 2018). Кроме того, в настоящее время синтезировано 9 других химических соединений с потенциальной антиаддиктивной активностью, влияющих на сигнальные каскады BDNF (Халиманов М.С. и др., 2025).

#### **Цель и задачи исследования**

Изучить нейропсихотропные свойства низкомолекулярных миметиков мозгового нейротрофического фактора (BDNF).

1. Оценить анксиолитическое действие дипептидных миметиков отдельных петель BDNF у грызунов разного возраста и пола.
2. Изучить особенности влияния дипептидных миметиков отдельных петель BDNF на алкогольную мотивацию у самцов и самок крыс с выявлением наиболее активного соединения.
3. Оценить возможные побочные эффекты соединения-лидера на общую двигательную активность, миорелаксацию, лекарственное взаимодействие с этанолом у грызунов.
4. Разработать и валидировать методику количественного определения соединения-лидера в образцах крови и головного мозга крыс для проведения фармакокинетического анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС/МС).
5. Определить фармакокинетические параметры соединения-лидера.
6. Разработать и валидировать методику количественного определения эндогенных метаболитов в образцах крови и головного мозга крыс методом ВЭЖХ-МС/МС при внутрибрюшинном (в/б) введении соединения-лидера.
7. Исследовать возможные пути реализации механизма анксиолитического действия соединения-лидера.

### **Научная новизна**

Впервые установлена возможность фармакологической регуляции тревожного поведения с помощью низкомолекулярных миметиков BDNF у «взрослых» (22-недельных) инбредных мышей линии BALB/c с генетически детерминированной повышенной эмоционально-стрессовой реакцией, а также у «взрослых» самок и самцов нелинейных белых крыс в возрасте 34 недели. Впервые показано, что анксиолитический эффект миметика 2-й петли BDNF (соединение ГТС-201) реализуется независимо от активации TrkB-рецепторов и MAPK/ERK сигнального каскада и, по-видимому, связан с увеличением синтеза серотонина и дофамина в головном мозге и снижением кортизола в плазме крови у крыс. Впервые показана зависимость от пола возможность коррекции сформированной алкогольной мотивации у нелинейных белых крыс с помощью ГТС-201. Впервые разработаны и валидированы методики количественного определения ГТС-201 и эндогенных метаболитов в образцах крови и головного мозга крыс методом ВЭЖХ-МС/МС. Фармакокинетическими методами анализа впервые экспериментально доказана способность ГТС-201 при системном парентеральном введении проникать через ГЭБ и накапливаться в тканях мозга, обеспечивая нейрорепродуктивное действие.

### **Теоретическая и практическая значимость работы**

Полученные результаты расширяют понимание роли BDNF и его низкомолекулярных миметиков в регуляции эмоциональных состояний, что имеет большое значение для

фундаментальных исследований патогенеза тревожных расстройств и нарушений алкогольного поведения. Работа закладывает научную основу для разработки инновационных средств терапии поведенческих расстройств, а также для исследования молекулярных механизмов действия миметиков BDNF.

Разработаны и валидированы современные методы количественного определения миметика 2-й петли BDNF ГТС-201, нейромедиаторов и метаболитов в биологических образцах головного мозга и плазмы крови крыс с использованием ВЭЖХ-МС/МС, что может применяться для мониторинга эффективности и безопасности новых соединений в доклинических испытаниях.

На основании экспериментальных данных представлены практические рекомендации по дальнейшему изучению ГТС-201 с учетом возрастных и половых отличий лабораторных животных. Практическая значимость диссертационного исследования заключается также в возможности использования полученных результатов в учебном процессе, что подтверждается актом внедрения.

#### **Методология и методы исследования**

Методы диссертационного исследования описаны в отечественных и зарубежных статьях, методических рекомендациях, патентах. Дизайн исследования основан на рекомендациях по проведению доклинических исследований и одобрен Локальным Комитетом по этике ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (Протокол № 25-22 от 08.12.2022 г.).

#### **Положения, выносимые на защиту**

1. Низкомолекулярные миметики 2-й (ГТС-201) и 4-й (ГСБ-106) петель BDNF обладают анксиолитической активностью. Наиболее выраженный эффект продемонстрировал ГСБ-106, что, вероятно, связано с активацией пострецепторных сигнальных путей MAPK/ERK1/2 и PI3K/Akt. ГТС-201 проявлял выраженное дозозависимое противотревожное действие у «взрослых» мышей-самцов линии BALB/c с генетически детерминированной повышенной тревожной реакцией, а также у «взрослых» самцов и самок нелинейных белых крыс.

2. Дипептидный миметик ГТС-201 уменьшает алкогольную мотивацию у самок крыс с выраженной алкогольной зависимостью, предотвращает индуцированное этанолом снижение спонтанной двигательной активности у мышей-самцов линии C57Bl/6, не влияя на развитие сенсibilизации и спонтанную двигательную активность.

3. Валидационные показатели разработанных аналитических методик количественного определения ГТС-201 и эндогенных метаболитов методом ВЭЖХ-МС/МС соответствуют характеристикам, установленным Евразийским экономическим союзом (ЕАЭС), Управлением по

контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств (FDA) и Европейским медицинским агентством (EMA).

4. Дипептидный миметик ГТС-201 обладает умеренной биодоступностью, проникает через ГЭБ и детектируется в тканях мозга после однократного системного введения.

5. Реализация анксиолитического эффекта ГТС-201 связана с увеличением синтеза серотонина и дофамина в мозге и снижением кортизола в плазме крови у крыс. Механизм действия ГТС-201 подтверждает гипотезу о возможности дивергенции функций нейротрофинов с помощью низкомолекулярных миметиков отдельных петлеобразных структур.

#### **Соответствие диссертации паспорту научной специальности**

Диссертационное исследование соответствует паспортам научных специальностей 3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология (п. 1, 3, 5, 6) и 3.4.2. Фармацевтическая химия, фармакогнозия (п. 1, 4).

#### **Степень достоверности и апробация результатов**

Диссертационная работа выполнена на современном научно-методическом уровне с использованием методик, адекватных цели и задачам исследования. При проведении экспериментов использовано современное оборудование, методами статистической обработки установлена воспроизводимость и правильность результатов исследований, что позволяет считать их достоверными. Данные, полученные автором, обработаны с применением пакетов прикладных компьютерных программ Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.) с использованием U-критерия Манна-Уитни, однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим применением критерия Дункана, t-критерия Стьюдента для независимых групп и зависимых переменных, теста Шапиро-Уилка.

Научные положения, выводы и рекомендации, сформулированные в диссертационной работе, обоснованы, логично вытекают из полученных автором результатов и не противоречат данным, представленным в независимых источниках по данной тематике. Первичная документация полностью соответствует материалам, содержащимся в работе.

Результаты и основные положения диссертации доложены и обсуждены на II Научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии» (Москва, 2021), 5-ой Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» (Волгоград, 2021), IV Ежегодной всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Безопасность фармакотерапии: NOLI NOCERE!» (Казань, 2021), 3rd China-Russia International Symposium for Young Scholars (Guangzhou, China, 2022), VI Съезде фармакологов России (Москва, 2023), Всероссийском конгрессе с международным участием «Психическое здоровье в меняющемся

мире» (Санкт-Петербург, 2024), межкафедральной конференции ученых Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) Минздрава России (Протокол № 1 от 08.09.2025 г.).

Результаты диссертационного исследования внедрены в учебный процесс кафедры фармакологии Института фармации имени А.П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) и используются при изучении дисциплин: «Фармакология», «Основы доклинических исследований», «Фармацевтическое информирование», «Методы экспериментального изучения молекулярных основ действия лекарственных средств», читаемых студентам по направлению подготовки 33.05.01. Фармация (Акт № 582 от 10.02.2025 г.).

### **Личный вклад автора**

Автор принимал активное участие в разработке дизайна исследования, постановке цели и задач, а также поиске методологических подходов для их реализации. Изучение современной литературы по теме диссертации, анализ и обобщение полученных данных позволили автору сформулировать выводы, логично вытекающие из задач исследования. Автором выполнены все эксперименты на животных, проведена систематизация и описание полученных результатов, их статистическая обработка, сформулированы выводы. Определяющим является его вклад в подготовку научных публикаций, внедрение в практику результатов исследования. Написание и оформление диссертации выполнено лично автором.

### **Публикации по теме диссертации**

По теме диссертационного исследования опубликовано 12 работ, в том числе 1 научная статья в журнале, включенном в Перечень рецензируемых научных изданий Сеченовского Университета / Перечень ВАК при Минобрнауки России, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, 4 научных статьи в изданиях, индексируемых в международной базе Scopus, 1 публикация – иная, 1 патент, 5 публикаций в сборниках материалов всероссийских научных конференций.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 187 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, экспериментальной части, включающей 3 главы собственных исследований, обсуждения полученных результатов и заключения, выводов, списка литературы, 6 приложений. Работа иллюстрирована 28 рисунками и 18 таблицами. Библиографический список включает 219 источников литературы, из которых 37 отечественных и 182 зарубежных.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

### Материалы и методы исследования

Дизайн экспериментального исследования представлен на рисунке 1.

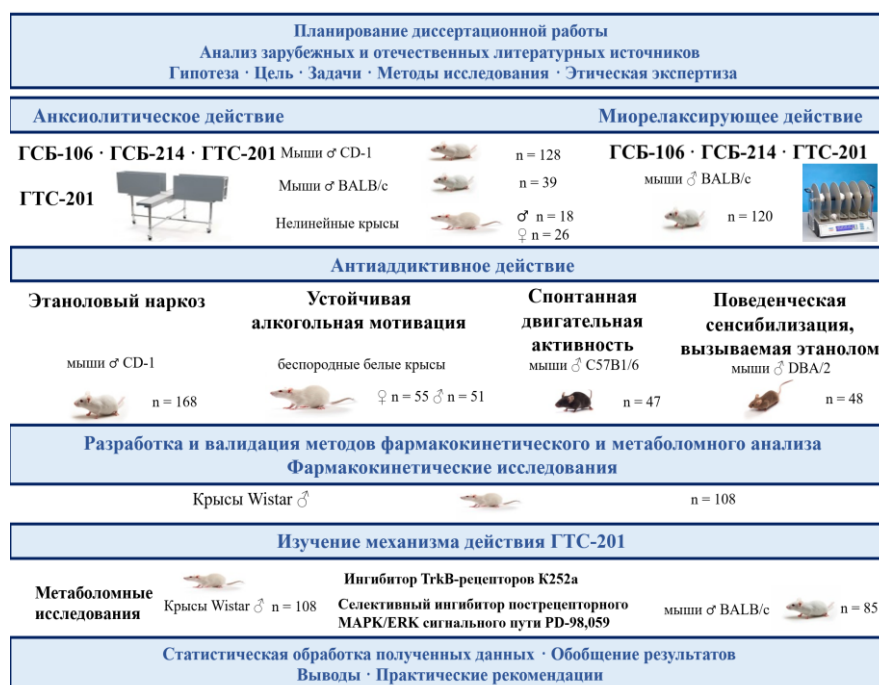


Рисунок 1 – Дизайн диссертационного исследования

Опыты проведены на животных, полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая» в соответствии с нормами обращения с лабораторными животными на основе стандартных операционных процедур, международными правилами European Communities Council Directive of November 24, 1986 (86/609/EEC), а также «Правилами работы с животными», утверждёнными биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» и Локальным этическим Комитетом ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова (Сеченовский Университет) (Протокол № 25-22 от 08.12.2022 г.).

Оценку анксиолитического действия проводили в тесте «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) в соответствии с методикой, описанной ранее для мышей (Lister R.G., 1987) и крыс (Pellow S., Chopin P., File S.E., Briley M., 1985). Фиксировали продолжительность нахождения в открытых рукавах (ОР), число заходов в ОР и закрытые рукава (ЗР). Спонтанную двигательную активность мышей регистрировали в актометре OPTO VARIMEX 4 (Columbus Instruments, USA) (Надорова А.В. и др., 2022). Моторную функцию и координацию движений мышей оценивали в тесте «Вращающийся стержень» (Rota-Rod, Ugo Basile).

Исследованные субстанции низкомолекулярных димерных дипептидных миметиков BDNF на основе  $\beta$ -изгибов его петель представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Исследованные миметики BDNF<sup>1</sup>

Шифр соединения	Химическое название	Петля BDNF	Физические свойства
ГСБ-214	гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-метионил-L-серина)	1-я (-D <sub>30</sub> -M <sub>31</sub> -S <sub>32</sub> -G <sub>33</sub> )	[ $\alpha$ ] 25D = + 9,0° (с 0,4, ДМФА) т. пл. 162–163 °С
ГТС-201	гексаметилендиамид бис-(N-гексаноил-L-серил-L-лизина)	2-я (-V <sub>44</sub> -S <sub>45</sub> -K <sub>46</sub> -G <sub>47</sub> )	[ $\alpha$ ]24,5D -14,9° (с 0,6, MeOH) $\tau$ = 12,00 мин, т. пл. 110–125 °С
ГСБ-106	гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-серил-L-лизина)	4-я (-D <sub>93</sub> -S <sub>94</sub> -K <sub>95</sub> -K <sub>96</sub> -)	[ $\alpha$ ]21D = - 42,3° (с 0,1, H <sub>2</sub> O) т. пл. 153–161 °С

Взаимодействие миметиков BDNF с этанолом определяли в тесте «*Этаноловый наркоз*» (Kolik L.G. et al., 2021). Патологическое влечение к этанолу формировали путем принудительной алкоголизации животных с предоставлением 10% раствора этанола в качестве единственного источника жидкости в течение 24-29 недель. Оценивали среднесуточное потребление этанола (из расчета на 1 кг веса животных в сутки). После формирования алкогольной мотивации у крыс использовали методику добровольной алкоголизации с предоставлением выбора между 10% этанолом и водой на протяжении 24 ч в сутки в течение 7 дней с последующей оценкой *алкоголь-депривационного эффекта (АДЭ)* – реакции на повторное предоставление свободного доступа к алкоголю в период абстиненции в виде временного увеличения его потребления по сравнению с предшествующим алкогольной депривации периодом (Kolik L.G. et al., 2021).

*Этанол-индуцированное снижение спонтанной двигательной активности* моделировали в соответствии с ранее описанной методикой (Волкова А.А., 2023) и регистрировали в актометре OPTO VARIMEX 4 (Columbus Instruments, USA) непрерывно в течение 20 мин (Надорова А.В. и др., 2022). *Этанол-индуцированную поведенческую сенсibilизацию* моделировали у мышей-самцов линии DBA/2, обладающих чувствительностью к стимулирующему действию этанола (Надорова А.В. и др., 2022). *Спонтанную двигательную активность* мышей регистрировали в 0 (фон), 1 и 9 день эксперимента в актометре OPTO VARIMEX 4 (Columbus Instruments, USA) непрерывно в течение 10 мин (Надорова А.В. и др., 2022). Анализ ВЭЖХ-МС/МС проводили с использованием жидкостного хроматографа Agilent 1290 Infinity II, соединенного с тандемным

<sup>1</sup>Выражаем благодарность сотрудникам лаборатории пептидных биорегуляторов кандидату химических наук Н.М. Сазоновой и профессору Т.А. Гудашевой за синтез и предоставление активной фармацевтической субстанции миметиков BDNF (соединений ГСБ-214, ГСБ-106 и ГТС-201).

масс-спектрометром 6450С (Agilent Technologies, Паоло-Альто, Калифорния, США). Хроматографическое разделение осуществляли с использованием колонки Discovery PFP HS F5  $2,1 \times 150$ , 3 мкм (Supelco Inc, США). Температуру колонки и скорость потока устанавливали на уровне  $40^\circ\text{C}$  и 0,4 мл/мин соответственно. Подвижные фазы состояли из 0,1% водного раствора муравьиной кислоты (фаза А) и ацетонитрила (фаза В) (Markin P.A. et al., 2023). В качестве внутреннего стандарта использовали релизинг-пептид гормона роста 2 (GHRP-2) (Sigma-Aldrich, Сент-Луис, Миссури, США).

Разработанные методы были валидированы на основе «Требований к валидации биоаналитических методик испытаний и анализу исследуемых биологических образцов» (Приложение № 6 к Правилам проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза) и Решения Коллегии Евразийской экономической комиссии от 26.11.2019 № 202 «Об утверждении Руководства по доклиническим исследованиям безопасности в целях проведения клинических исследований и регистрации лекарственных препаратов» (Савицкий М.В., 2024).

Для валидации оценивали следующие параметры: селективность, нижний предел количественного определения (НПКО), линейность, степень извлечения и эффект матрицы, правильность и прецизионность, стабильность. Расчет фармакокинетических параметров проводили при помощи программного обеспечения Phoenix WinNonLin 8.3 (Версия 8.3.4.295, Certara, США) модельно-независимым методом на основании концентрации вещества, измеренной в биологических образцах валидированным методом (Zhang Y. et al., 2010).

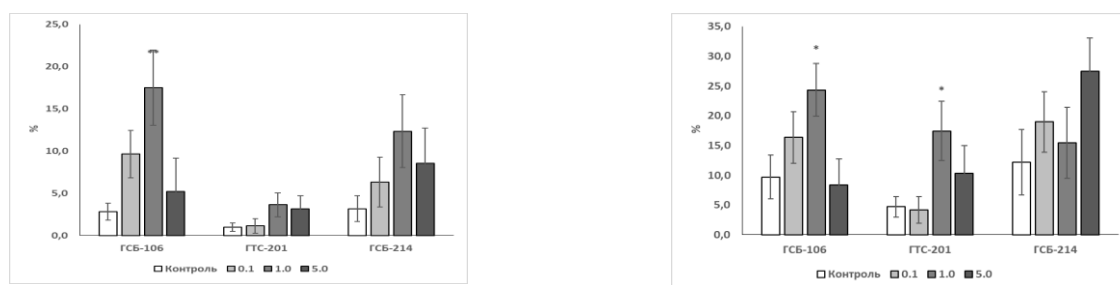
*Фармакокинетический анализ* включал следующие параметры: максимальная концентрация вещества за период наблюдения ( $C_{\max}$ ), площадь под фармакокинетической кривой «концентрация–время» от момента введения вещества до окончания периода наблюдения ( $AUC_0 \rightarrow t$ ), константа скорости выведения ( $K_{el}$ ), среднее время пребывания в организме молекулы лекарственного вещества (MRT), кажущийся объем распределения ( $Vd/F$ ), общий клиренс ( $Cl/F$ ), время достижения  $C_{\max}$  ( $T_{\max}$ ) и биодоступность вещества для головного мозга.

*Статистическую обработку* результатов проводили с помощью Statistica 8.0 (StatSoft, Inc.) с использованием U-критерия Манна-Уитни, однофакторного дисперсионного анализа ANOVA с последующим применением критерия Дункана, t-критерия Стьюдента для независимых групп и зависимых переменных. Критический уровень значимости  $\alpha = 0,05$ . Данные представлены в виде  $M \pm SEM$  (Kolik L.G. et al., 2021). Для эндогенных метаболитов нормальность распределения полученных количественных данных оценивали с помощью теста Шапиро-Уилка. AUCs и профили концентрации для каждого метаболита в группах вмешательства сравнивали с контрольной группой с использованием t-критерия Стьюдента или

эквивалентного непараметрического U-критерия Манна-Уитни для выявления значимых изменений уровней концентрации анализируемых метаболитов. Те метаболиты, для которых значения  $p$  были ниже 0,05, считались значимыми. Статистический анализ и визуализация были выполнены с использованием Python SciPy (<http://www.scipy.org/>, дата обращения 22 июня 2021 г.) и Python Seaborn (Waskom, M. et al., 2017. mwaskom/seaborn: v0.8.1 (сентябрь 2017 г.), Zenodo (Markin P.A. et al., 2023).

## РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

**Изучение анксиолитической активности.** При сравнительной оценке анксиолитического действия миметиков разных петель BDNF у мышей CD-1 (возраст 12 недель) выявлена наибольшая активность у соединения ГСБ-106, увеличивавшего время пребывания в ОР и число выходов в ОР ПКЛ при отсутствии эффектов на общую двигательную активность животных (Рисунок 2) (Колик Л.Г. и др., 2020), что позволило расположить миметики BDNF по выраженности противотревожной активности в следующей последовательности: ГСБ-106 > ГТС-201 > ГСБ-214.



А) Время пребывания в ОР ПКЛ

Б) Количество выходов в ОР ПКЛ

Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  по отношению к соответствующей контрольной группе, тест Дункана.

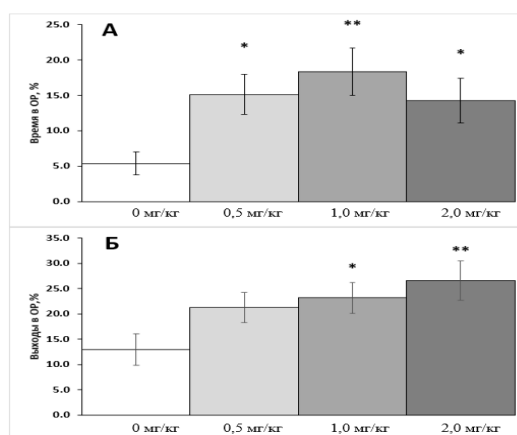
Рисунок 2 – Сравнительная оценка анксиолитического действия дипептидных миметиков BDNF у мышей CD-1 в тесте ПКЛ

Полученные результаты соответствуют современным представлениям об участии BDNF-MAPK/ERK1/2 сигнального каскада в формировании эмоциональной реакции на стресс (First M. et al., 2011; Brivio P. et al., 2020).

Дальнейшее изучение противотревожных свойств было проведено для миметика 2-й петли BDNF ГТС-201, который активирует MAPK/ERK и PLC $\gamma$  сигнальные пути при взаимодействии с TrkB-рецептором *in vitro* (Гудашева Т.А. и др., 2017; Kolik L.G. et al., 2021), препятствует развитию тревожной реакции у мышей CD-1 в ПКЛ и, в отличие от ГСБ-106, не проявляет антидепрессивных свойств (Гудашева Т.А. и др., 2017; Тарасюк А.В., 2022), что

определило целесообразность расширенного изучения анксиолитического действия ГТС-201 у мышей и крыс разных полов и возрастов.

У мышей-самцов линии BALB/c (возраст 22 недели) с генетически детерминированной повышенной тревожной реакцией ГТС-201 в диапазоне доз 0,5–2,0 мг/кг при однократном системном введении вызывал выраженное анксиолитическое действие с максимально эффективной дозой 1,0 мг/кг, увеличивая время пребывания и количество выходов в ОР ПКЛ (Рисунок 3), уступая, однако, по эффективности диазепаму<sup>2</sup> в дозе 2,0 мг/кг, в/б ( $p < 0,001$  по отношению к контролю согласно t-критерию Стьюдента) (Kolik L.G. et al., 2024).



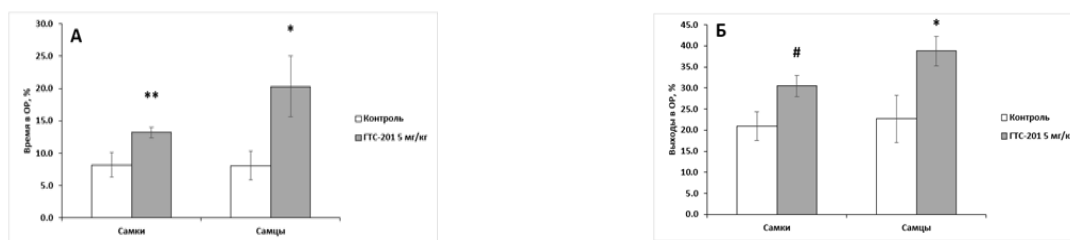
Примечание: А. Время в ОР, % – ANOVA  $F(3, 35) = 3,9820$ ,  $p = 0,01532$ ; Б. Выходы в ОР, % – ANOVA  $F(3, 35) = 3,1650$ ,  $p = 0,03645$ . \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$  – статистически значимо по отношению к контролю согласно критерию Дункана.

Рисунок 3 – Влияние ГТС-201 на поведение «взрослых» мышей-самцов линии BALB/c в тесте ПКЛ

У беспородных белых крыс (возраст 34 недели) ГТС-201 в дозе 5,0 мг/кг при однократном в/б введении статистически значимо увеличивал время пребывания и число выходов в ОР ПКЛ самок и самцов (Рисунок 4) (Kolik et al., 2024).

Таким образом, представленные данные подчеркивают зависимость модулирующего действия миметиков BDNF в отношении тревожного поведения от возрастных особенностей модельных животных, что следует учитывать при разработке лекарственных средств на основе миметиков нейротрофинов.

<sup>2</sup>Выражаем благодарность сотруднику лаборатории лекарственной токсикологии А.В. Надоровой за помощь в проведении экспериментов с диазепамом, работа с которым проводилась в соответствии с Лицензией ФИЦ «ФГБНУ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» на осуществление деятельности по обороту наркотических средств, психотропных веществ и их прекурсоров, культивированию наркосодержащих растений № ЛО17-01137-77/00146453 от 06.06.2017.



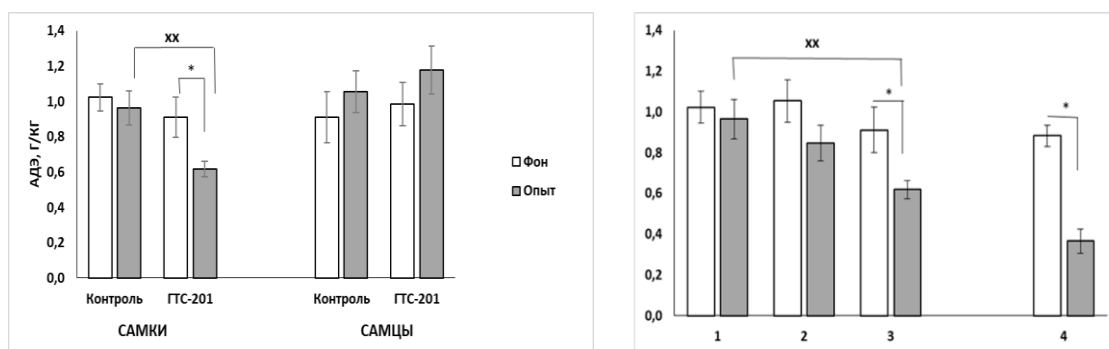
Примечание: \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , # –  $p < 0,1$  по отношению к соответствующей контрольной группе согласно U-критерию Манна-Уитни. Количество животных в группах: самки 10-16; самцы 8-10.

Рисунок 4 – Влияние ГТС-201 на поведение «взрослых» самок и самцов крыс в тесте ПКЛ

Дипептидные миметики BDNF в диапазоне анксиолитических доз 0,5-2,0 мг/кг, в/б, не влияли на координацию движения и не оказывали миорелаксирующего действия у мышей линии BALB/c в тесте «Вращающийся стержень».

**Изучение миметиков BDNF на модели алкогольной зависимости.** На первом этапе у интактных мышей CD-1 было показано отсутствие влияния дипептидных миметиков BDNF при однократном введении в диапазоне эффективных доз на продолжительность этанолового сна, что позволило исключить фармакологическое взаимодействие миметиков BDNF с этанолом. Далее было сформировано предпочтение к этанолу у крыс (~ 50%) при свободном выборе между 10% этанолом и водой в течение 24-х недель (Kolik L.G. et al., 2024). Экспериментальные группы формировали из животных с высоким уровнем алкогольной мотивации, проявлявших выраженное предпочтение к этанолу по показателю АДЭ и потреблению этанола в условиях свободного выбора между этанолом и водой (Kolik L.G. et al., 2021) с помощью иерархического кластерного анализа (метод Уорда, Евклидово расстояние) (Колик Л.Г., Надорова А.В., Козловская М.М., 2014). Для оценки антиаддиктивного потенциала миметиков BDNF были выбраны соединения ГТС-201 и ГСБ-106, которые продемонстрировали анксиолитическую активность в тесте ПКЛ в отличие от ГСБ-214, не обладающего аналогичным эффектом. Учитывая высокую коморбидность эмоционально-стрессовых расстройств с повышенным влечением к алкоголю, изучение у одних и тех же миметиков BDNF анксиолитических и антиаддиктивных свойств представляется крайне важным.

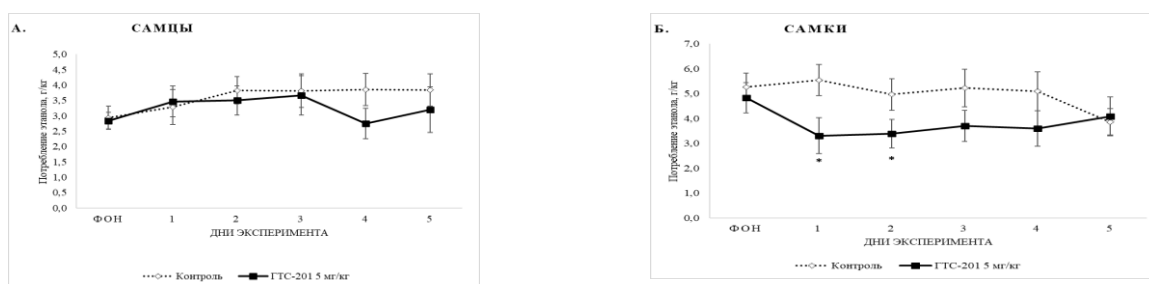
У крыс со сформированной алкогольной зависимостью в условиях добровольного потребления 10% раствора этанола ГТС-201 в дозе 5,0 мг/кг, в/б статистически значимо снижал уровень алкогольной мотивации после 48 ч алкогольной депривации (АДЭ) только у самок. По выраженности эффекта ГТС-201 не уступал референтному препарату налоксону в дозе 1,0 мг/кг (Рисунок 5). Полученные данные свидетельствуют о способности ГТС-201 снижать подкрепляющее действие этанола у самок крыс со сформированной алкогольной мотивацией (Kolik L.G. et al., 2021).



Примечание: (Слева) Оценка влияния ГТС-201 в дозе 5,0 мг/кг при однократном введении на АДЭ у крыс. \* –  $p < 0,05$  по отношению к соответствующему «фону» согласно t-критерию Стьюдента для зависимых переменных, хх –  $p < 0,01$  согласно t-критерию Стьюдента для независимых групп.  $M \pm SEM$ . (Справа) Влияние ГТС-201 и налоксона при однократном введении на АДЭ у хронически алкоголизованных самок крыс. По оси абсцисс указаны экспериментальные группы: 1 – Контроль, 2 – ГТС-201 1,0 мг/кг, 3 – ГТС-201 5,0 мг/кг, 4 – Налоксон 1,0 мг/кг, по оси ординат – АДЭ, г/кг, АДЭ (до опыта) – белый прямоугольник, АДЭ (опыт) – серый прямоугольник. Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA  $F(2, 25) = 4,6500$ ,  $p = 0,01919$ , хх –  $p < 0,05$  согласно критерию Дункана, \* –  $p < 0,05$  по отношению к соответствующему контролю согласно t-тесту для зависимых переменных.

Рисунок 5 – Влияние ГТС-201 на АДЭ у хронически алкоголизованных крыс

При субхроническом введении (10 инъекций) ГСБ-106 в дозе 1,0 мг/кг, в/б не влиял на количество потребляемого в сутки этанола и предпочтение к нему у алкоголизованных крыс (Kolik L.G. et al., 2021). При субхроническом в/б введении (5 инъекций) ГТС-201 в эффективной дозе 5,0 мг/кг сокращал количество потребляемого этанола (Рисунок 6) и предпочтение к нему (Рисунок 7) только у самок крыс, что указывает на зависимую от пола способность ГТС-201 ослаблять подкрепляющие эффекты этанола.



Примечание: \* –  $p < 0,05$  по отношению к точке фон группы "ГТС-201 5 мг/кг", тест Дункана, ANOVA для повторных измерений  $F(5, 80) = 2,5053$ ,  $p = 0,03688$ .

Рисунок 6 – Влияние ГТС-201 в дозе 5,0 мг/кг, в/б на потребление этанола у самцов (А) и самок (Б) крыс на фоне сформированной в течение 24-х недель алкогольной мотивации

Следовательно, ГТС-201 в дозе, обладающей анксиолитическим действием, ослаблял сформированную алкогольную мотивацию у самок крыс при остром и субхроническом введении. (Kolik L.G. et al., 2021).

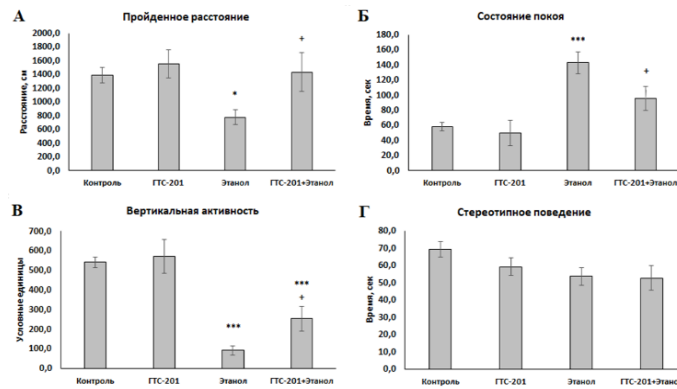


Примечание: \* –  $p < 0,05$  по отношению к точке фон группы "ГТС-201 5 мг/кг" тест Дункана, ANOVA для повторных измерений  $F(5, 80) = 2,5866, p = 0,03204$ .

Рисунок 7 – Влияние ГТС-201 в дозе 5,0 мг/кг, в/б, на предпочтение этанола у самцов (А) и самок (Б) крыс на фоне сформированной в течение 24-х недель алкогольной мотивации

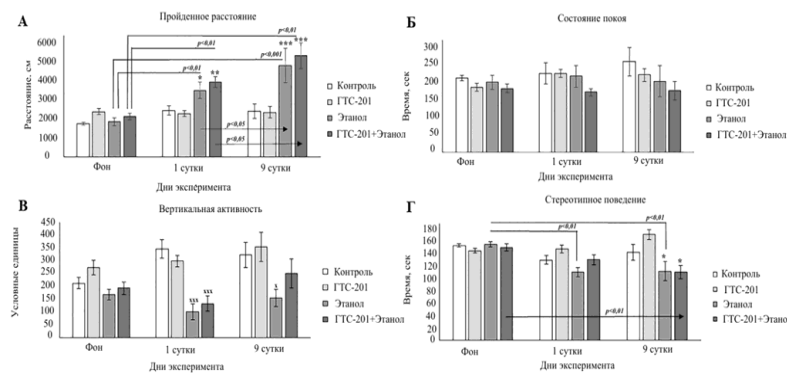
**Влияние ГТС-201 при остром введении на индуцированное этанолом снижение двигательной активности у мышей линии C57Bl/6.** ГТС-201 в дозе 5,0 мг/кг, в/б, не влияя на спонтанную двигательную активность *per se*, при предварительном однократном введении препятствовал развитию седативной реакции, вызываемой этанолом (2,0 г/кг, в/б) у мышей C57Bl/6. ГТС-201 препятствовал снижению пройденного расстояния и увеличению состояния покоя, вызываемых этанолом, частично предотвращал этанол-индуцированное снижение вертикальной активности и не влиял на продолжительность стереотипного поведения (Рисунок 8) (Надорова А.В. и др., 2022). Таким образом, при однократном введении ГТС-201 в эффективной дозе не изменяет спонтанную двигательную активность, однако при предварительном введении препятствует развитию этанол-индуцированной седативной реакции у мышей линии C57Bl/6 (Надорова А.В. и др., 2022).

**Влияние ГТС-201 при субхроническом введении на формирование этанол-индуцированной поведенческой сенсibilизации у мышей линии DBA/2.** При субхроническом в/б введении ГТС-201 в дозе 5,0 мг/кг не вызывал изменений двигательной сенсibilизации, характерных для веществ с психостимулирующим действием. Этанол в дозе 2,0 г/кг значительно увеличивал пройденное расстояние в 1-й день ( $p < 0,05$ ) и особенно на 9-й день ( $p < 0,001$ ) по сравнению с контрольной группой. В отличие от мышей C57Bl/6, у мышей DBA/2 этанол не влиял на время пребывания в состоянии покоя ни в один из дней наблюдения и значительно снижал ( $p < 0,05$ ) время стереотипии по сравнению с контрольной группой (Рисунок 9). Предварительное введение ГТС-201 в дозе 5,0 мг/кг не оказывало статистически значимого влияния на характер спонтанной двигательной активности, вызванной этанолом, как в 1-й, так и на 9-й день наблюдений, что указывает на отсутствие синергетического действия миметика BDNF и этанола в низкой дозе при однократном и субхроническом введении. Совместное применение ГТС-201 с этанолом также не приводило к изменению характера поведенческой сенсibilизации, вызываемой этанолом, у мышей DBA/2 (Надорова А.В. и др., 2022).



Примечание: Однофакторный дисперсионный анализ ANOVA: А. Пройденное расстояние –  $F(3, 43) = 3,1154, p = 0,03586$ , Б. Состояние покоя –  $F(3, 43) = 9,2371, p = 0,00008$ , В. Вертикальная активность –  $F(3, 43) = 18,165, p = 0,00000$ , Г. Стереотипное поведение –  $F(3, 43) = 1,8611, p = 0,15051$ . \* –  $p < 0,05$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  – статистически значимо по отношению к группе "Контроль", + –  $p < 0,05$  – статистически значимо по отношению к группе "Этанол" согласно критерию Дункана.

Рисунок 8 – Влияние ГТС-201 на восстановление двигательной активности, вызванной этанолом, у мышей линии C57Bl/6



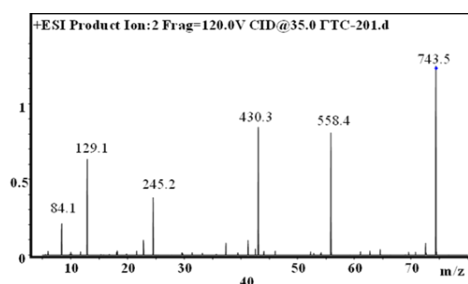
Примечание: ANOVA для повторных измерений: А. Пройденное расстояние –  $F(6, 84) = 4,8941, p = 0,00025$ , Б. Состояние покоя –  $F(6, 84) = 0,41710, p = 0,86576$ , В. Вертикальная активность –  $F(6, 84) = 1,9283, p = 0,08622$ , Г. Стереотипное поведение –  $F(6, 84) = 4,3150, p = 0,00077$ , \* –  $p < 0,05$ , \*\* –  $p < 0,01$ , \*\*\* –  $p < 0,001$  по отношению к соответствующей контрольной группе согласно критерию Дункана, х –  $p < 0,05$ , ххх –  $p < 0,001$  по отношению к соответствующей контрольной группе согласно критерию Стьюдента.

Рисунок 9 – Влияние ГТС-201 на формирование поведенческой сенсibilизации, вызванной этанолом у мышей

Таким образом, нами впервые в опытах *in vivo* установлено отсутствие психостимулирующего эффекта в спектре фармакологической активности дипептидного миметика 2-й петли BDNF ГТС-201 в дозе, обладающей анксиолитическим и антиаддиктивным действием, а также экспериментально доказана его фармакологическая безопасность при совместном использовании с этанолом в дозе 2,0 г/кг на примере влияния на спонтанную двигательную активность у мышей при однократном и субхроническом введении (Надорова А.В. и др., 2022). ГТС-201 обладает выраженным антиаддиктивным потенциалом у самок крыс, что

проявляется в снижении алкогольной мотивации и потребления этанола. Этот эффект отсутствует у самцов, что подчёркивает важность учёта половых различий при разработке антиаддиктивных средств на основе миметиков нейротрофинов.

**Разработка и валидация методики определения ГТС-201 в образцах крови и головного мозга крыс.** В процессе ионизации в электроспрее ГТС-201 образует однозарядный ион  $[M+H]^+$  с  $m/z$  743,3 Да и двухзарядный ион  $[M+2H]^{2+}$  с  $m/z$  371,6 Да. Спектры фрагментации ГТС-201 представлены на Рисунке 10.



Примечание: m – масса иона, z – заряд иона.

Рисунок 10 – Спектры фрагментации ГТС-201

Хромато-масс-спектрометрические параметры для ГТС-201 и GHRP-2 представлены в Таблице 2 (Markin P.A. et al., 2023).

Таблица 2 – Параметры определения ГТС-201 и GHRP-2 методом ВЭЖХ-МС/МС

Вещества	Время удерживания (мин)	Родительский ион (m/z, Da)*	Дочерний ион (m/z, Da)*	Фрагментатор (В)	СЕ (V)
ГТС-201	7,08	743,6	558,4	100	15
GHRP-2	8,24	410,0	170	100	15

Примечание: СЕ – энергия соударения ионов с инертным газом в масс-спектрометре, приводящая к их фрагментации. V – вольт, m – масса иона, z – заряд иона.

Хроматограммы ГТС-201 и GHRP-2 представлены на Рисунке 11.

Для оценки правильности (RE) сравнивали экспериментально-рассчитанные концентрации с номинальными внутри одного аналитического цикла и между ними. RE, рассчитанная как отклонение между номинальной и расчетной концентрацией, варьировала от 1,07% до 6,38% внутри одного аналитического цикла и от -2,93% до 7,85% между аналитическими циклами соответственно. Значения RSD внутри цикла изменялись от 3,03 до 4,33%, а между циклами – от 1,97 до 5,40%.

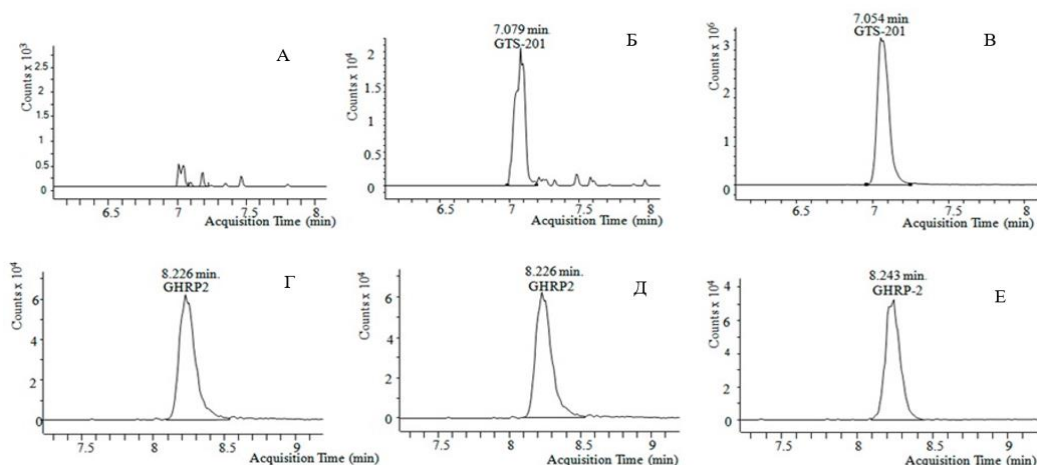


Рисунок 11 – Хроматограммы холостого образца (А), калибровочного образца на уровне предела обнаружения (Б) и образца крови (В) после введения ГТС-201. Г, Д и Е – хроматограммы внутреннего стандарта в соответствующих образцах (Markin P.A. et al., 2023)

Извлечение ГТС-201 превышало 90% при относительном стандартном отклонении менее 10%. Приемлемые значения коэффициента экстракции и матричного эффекта подтвердили возможность использования GHRP-2 в качестве внутреннего стандарта в разработанном методе. Коэффициент экстракции и влияние матрицы на сигнал изучаемого вещества рассчитывали после нормализации, используя внутренний стандарт. Результаты представлены в Таблице 3 (Markin P.A. et al., 2023).

Таблица 3 – Воздействие матрицы и восстановление для определения ГТС-201 в плазме крыс

ГТС-201	Концентрация (нг/мл)	Эффект матрицы (%)		Коэффициент экстракции (%)		Общее восстановление (%)	
		Mean	CV	Mean	CV	Mean	CV
	1,5	98,4	1,8	94,1	5,4	93,5	8,7
	750	99,2	1,5	94,8	2,8	94,5	3,1

Примечание: Mean – среднее значение, CV – коэффициент вариации.

При разработке методики количественного анализа ГТС-201 было выявлено, что данная подготовка пробы и хроматографическое разделение применимо для количественного определения нейромедиаторов и веществ, связанных с нейротрансмиссией, в плазме крови и мозге крыс. Время удерживания, родительские и дочерние ионы, а также энергия фрагментации были определены по стандартным растворам определяемых соединений.

Данные о стабильности для ГТС-201 обобщены в Таблице 4. (Markin P.A. et al., 2023).

Таблица 4 – Стабильность ГТС-201 в рабочих растворах и плазме крыс

Стабильность при комнатной температуре в течение 6 ч (n = 6)					
Рабочий раствор			Плазма		
Концентрация, пг/мл	Bias (%)	CV (%)	Концентрация, пг/мл	Bias (%)	CV (%)
1,5	1,7	1,2	750	0,8	0,5
Три цикла замораживания и оттаивания (n = 6)					
1,5	3,5	7,8	750	5,2	4,7
Долгосрочная стабильность 30 дней при -70 °С (n = 6)					
1,5	4,6	5,1	750	3,8	2,7
Подготовленные к анализу образцы в течение 24 ч при 10 °С в автосамплере (повторный анализ, n = 6)					
1,5	4,2	2,4	750	3,7	1,8
Примечание: Bias – отклонение от номинальной концентрации, CV – коэффициент вариации.					

**Фармакокинетические показатели** ГТС-201 были рассчитаны в образцах крови и головного мозга крыс после однократного в/б введения в дозе 5,0 мг/кг. Фармакокинетическая кривая и основные фармакокинетические параметры ГТС-201 представлены на Рисунке 12 и Таблице 5 соответственно (Markin P.A. et al., 2023).

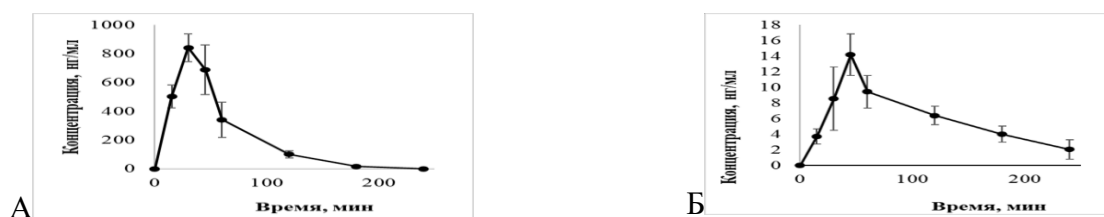


Рисунок 12 – Изменение концентрации ГТС-201 в крови (А) и головном мозге (Б) крыс после однократного в/б введения в дозе 5,0 мг/кг

Таким образом, разработанная и валидированная методика позволяет надежно определять концентрации ГТС-201 и связанных с нейротрансмиссией соединений с высокой точностью и стабильностью. Результаты фармакокинетического исследования позволили сделать вывод, что ГТС-201 характеризуется быстрым всасыванием и относительно быстрым выведением из плазмы крови, с одновременным проникновением и длительным удерживанием в ткани мозга крыс после в/б введения. Эти данные подтверждают способность вещества эффективно проникать через ГЭБ и достигать центральной нервной системы (ЦНС) после однократного в/б введения, а также его потенциал для воздействия на мозговые функции. Это обосновывает его перспективность в качестве основы для разработки новых лекарственных средств, направленных на коррекцию нейропластичности и лечение заболеваний нервной системы.

Таблица 5 – Фармакокинетические параметры ГТС-201 в крови и головном мозге крыс после однократного в/б введения ГТС-201 в дозе 5,0 мг/кг

Фармакокинетический параметр	Биологический материал	
	Плазма крови (Mean ± SD)	Мозг (Mean ± SD)
Максимальная концентрация $C_{max}$ (нг/мл)	867,0 ± 69,0	14,92 ± 3,11
Площадь под фармакокинетической кривой $AUC_{0 \rightarrow t}$ (нг/мл×мин)	48561 ± 5837	1418 ± 149
Константа элиминации ( $мин^{-1}$ )	0,036 ± 0,003	0,008 ± 0,001
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (нг/мл×мин)	48596 ± 5851	1760 ± 239
Время полувыведения $T_{1/2}$ (мин)	19,5 ± 1,8	87,5 ± 12,7
Среднее время удерживания вещества в организме MRT (мин)	53,8 ± 3,3	152,0 ± 16,9
Объем распределения $Vd/F$ (л/кг)	2,92 ± 0,41	–
Общий клиренс в плазме $Cl/F$ (л/мин/кг)	0,104 ± 0,013	–
$T_{max}$ (мин)	35,0 ± 7,7	40,0 ± 7,7
Доступность в головной мозг, %	–	2,9
Примечание. Mean – среднее значение, SD – стандартное отклонение		

**Изучение механизма действия ГТС-201.** Изучение влияния пептидного миметика на основные нейромедиаторные системы с помощью метаболомного анализа показало, что после однократного в/б введения ГТС-201 в дозе 5,0 мг/кг интактным животным наблюдается статистически значимое повышение концентрации серотонина и дофамина в головном мозге, а также снижение уровня кортизола в плазме крови (Рисунок 13).

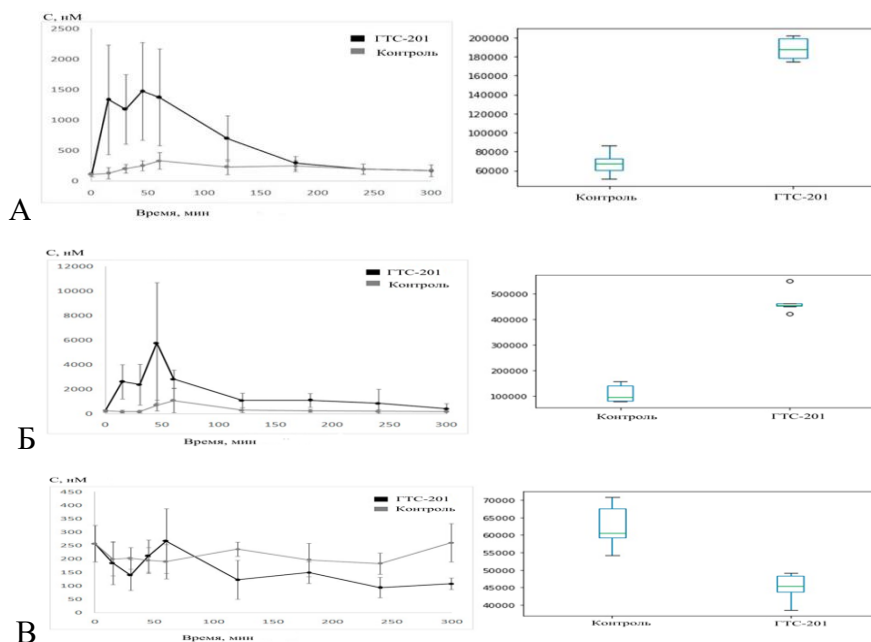


Рисунок 13 – Временной профиль концентрации метаболитов (А – серотонина, Б – дофамина, В – кортизола) в образцах мозга и плазмы крыс при в/б введении ГТС-201

Максимальное увеличение концентрации серотонина и дофамина совпадает с  $T_{\max}$  ГТС-201 в головном мозге крыс после в/б введения. Следует отметить, что в крови не было обнаружено значительного увеличения концентрации дофамина и серотонина, что также указывает на то, что в/б введение ГТС-201 приводит к увеличению синтеза дофамина и серотонина в клетках головного мозга после в/б введения ГТС-201 (Markin P.A. et al., 2023).

Фармакологический анализ с применением ингибитора TrkB-рецепторов широкого спектра действия соединения К-252а, блокирующего активность киназы и аутофосфорилирование, и соединения PD-98,059, селективно ингибирующего пострецепторный MAPK/ERK сигнальный путь, показал отсутствие зависимости анксиолитического эффекта ГТС-201 от блокады TrkB-рецепторов и ингибирования MAPK/ERK пути.

Таким образом, показано, что реализация анксиолитического эффекта ГТС-201 осуществляется независимо от активации TrkB-рецепторов и MAPK/ERK сигнального пути, при этом низкомолекулярный миметик BDNF оказывает модулирующее действие, способствуя увеличению синтеза серотонина и дофамина в головном мозге и снижению кортизола в плазме крови, что, вероятно, определяет его противотревожное действие в опытах *in vivo*.

### **ВЫВОДЫ**

1. Низкомолекулярные миметики 2-й и 4-й петель BDNF ГТС-201 и ГСБ-106 обладают дозозависимым анксиолитическим действием при однократном системном введении.
2. Дипептидный миметик 2-й петли BDNF ГТС-201 уменьшает сформированную в течение 24-х недель алкогольную мотивацию у самок беспородных белых крыс, предотвращает индуцированное этанолом снижение спонтанной двигательной активности у мышей линии C57Bl/6, не проявляя психостимулирующего или депрессивного действия, и не влияет на развитие поведенческой сенсibilизации к этанолу у мышей линии DBA/2.
3. Разработанные методики количественного определения миметика 2-й петли BDNF ГТС-201 и эндогенных метаболитов методом ВЭЖХ-МС/МС в образцах крови и головного мозга крыс соответствуют валидационным характеристикам FDA, EMA и EAЭС.
4. ГТС-201 характеризуется быстрым всасыванием и выведением из плазмы крови с одновременным проникновением и длительным удерживанием в ткани мозга крыс после в/б введения, что подтверждают способность вещества эффективно проникать через ГЭБ и его фармакологический потенциал для воздействия на мозговые функции.
5. ГТС-201 реализует анксиолитический эффект независимо от активации TrkB-рецепторов и MAPK/ERK сигнального пути. Вещество способствует увеличению синтеза серотонина и дофамина в головном мозге, снижает уровень кортизола, что, вероятно, и лежит в основе его анксиолитических и потенциально антиаддиктивных свойств.

## ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. Дальнейшая разработка препаратов на основе миметиков нейротрофинов должна быть направлена на повышение биодоступности и метаболической стабильности активного вещества.
2. Изучение модулирующего влияния пептидных миметиков BDNF на мотивационные эффекты этанола требует дальнейших исследований с обязательным использованием животных обоих полов.
3. Низкомолекулярный миметик 2-й петли BDNF ГТС-201 представляет интерес для дальнейшего изучения с учетом половых и возрастных различий в эффектах с целью разработки препарата с анксиолитическим и антиаддиктивным действием.

## СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Экспериментальное изучение анксиолитической активности низкомолекулярных миметиков 1-й, 2-й и 4-й петель мозгового нейротрофического фактора / Л.Г. Колик, А.В. Надорова, **Е.М. Григоревских**, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // **Экспериментальная и клиническая фармакология**. – 2020. – Т. 83. – № 11. – С. 3–7. DOI: 10.30906/0869-2092-2020-83-11-3-7 [Scopus].
2. Low-Molecular-Weight Mimetic of BDNF Loop 2 Reduces Ethanol Consumption in Female Rats / L.G. Kolik, A.V. Nadorova, **Е.М. Grigorevskikh**, N.M. Sazonova, T.A. Gudasheva, A.D. Durnev // **Bulletin of Experimental Biology and Medicine**. – 2021. – V. 171. – № 4. – P. 441-444. DOI: 10.1007/S10517-021-05245-W [Scopus].
3. Анксиолитическое действие низкомолекулярных миметиков мозгового нейротрофического фактора: исследование *in vivo* / **Е.М. Григоревских**, А.В. Надорова, Н.М. Сазонова, С.А. Лебедева, Л.Г. Колик – Текст: непосредственный // Тезисы докладов II Научной конференции молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии» / Вопросы биологической медицинской и фармацевтической химии. Приложение к научно-практическому журналу. – 28-29 октября 2021 г. – Москва: ИД «Русский врач». – С. 213.
4. **Григоревских, Е.М.** Пептидный миметик 2-й петли мозгового нейротрофического фактора ослабляет тревожную реакцию на стресс у мышей / Е.М. Григоревских, А.В. Надорова, С.А. Лебедева, Л.Г. Колик // Сборник: MedChem-Russia 2021. Материалы конференции 5-й Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021». – Волгоград: Издательство Волгоградского государственного медицинского университета, 2021. – С. 506.
5. **Патент на изобретение RU 2759023 С2.** Колик Л.Г., Надорова А.В., **Григоревских Е.М.**, Сазонова Н.М., Гудашева Т.А., Дурнев А.Д. Низкомолекулярный миметик мозгового нейротрофического фактора с анальгетическим, анксиолитическим и антиаддиктивным

действием. Патент на изобретение RU 2759023 C2, 08.11.2021. Заявка № 2020116968 от 29.04.2020.

6. Оценка фармакологической безопасности нового дипептидного миметика 2-й петли BDNF при совместном введении с этанолом / А.В. Надорова, **Е.М. Григоревских**, А.В. Тарасюк, Н.М. Сазонова, Л.Г. Колик // **Фармакокинетика и фармакодинамика**. – 2022. – № 4. – С. 55–61. DOI: 10.37489/2587-7836-2022-4-55-61.

7. LC-MS/MS determination of GTS-201, a dipeptide mimetic of the brain-derived neurotrophic factor, and neurotransmitter metabolites with application to a pharmacokinetic study in rats / P.A. Markin, N.E. Moskaleva, S.A. Lebedeva, S.V. Kozin, **Е.М. Grigorevskikh**, L.G. Kolik, T.A. Gudasheva, S.A. Appolonova // **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**. – 2023. – Vol. 223. – P. 115-125. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.115125> [Scopus].

8. Надорова, А.В. Анксиолитическая активность дипептидного миметика 2-й петли BDNF не зависит от его взаимодействия с TrkB-рецепторами / А.В. Надорова, **Е.М. Григоревских**, Л.Г. Колик // Экспериментальная и клиническая фармакология. Материалы VI Съезда фармакологов России, 20-24 ноября 2023. – Москва: ИД «Фолиум». – 2023. – Т. 86. – № 11 s. – С. 110.

9. Изучение фармакологической активности низкомолекулярного миметика 2-й петли BDNF при моделировании алкогольной зависимости у крыс / **Е.М. Григоревских**, А.В. Надорова, Н.М. Сазонова, Л.Г. Колик // Экспериментальная и клиническая фармакология. Материалы VI Съезда фармакологов России, 20-24 ноября 2023. – Москва: ИД «Фолиум». – 2023. – Т. 86. – № 11 s. – С. 43.

10. Anxiolytic Action of Dipeptide Mimetic of the BDNF Loop 2 in Adult Animals / L.G. Kolik, A.V. Nadorova, **Е.М. Grigorevskikh**, N.M. Sazonova, T.A. Gudasheva // *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. – 2024. – V. 177. – № 4. – P. 460–464. <https://doi.org/10.1007/s10517-024-06208-7> [Scopus].

11. Надорова, А.В. Изучение антиаддиктивных свойств миметиков 2-й и 4-й петель BDNF при моделировании алкогольной зависимости у крыс / А.В. Надорова, **Е.М. Григоревских**, Л.Г. Колик // Всероссийский конгресс с международным участием «Психическое здоровье в меняющемся мире», 23–24 мая 2024 года, Санкт-Петербург [Электронное издание] / под общей редакцией Н.Г. Незнанова. – СПб.: НМИЦ ПН им. В.М. Бехтерева, 2024. – С. 322-323.

12. Мозговой нейротрофический фактор как мишень для поиска препаратов, проявляющих антиаддиктивные эффекты / М.С. Халиманов, **Е.М. Григоревских**, К.А. Завадич, С.И. Сологов, Д.А. Тращенко, К.А. Татжикова, Е.В. Поликарпов, С.С. Сологова, Д.А. Кудлай, Е.А. Смолярчук // **Фармация и фармакология**. – 2025. – Т. 1, № 13. – С. 4-19. DOI: 10.19163/2307-9266-2025-13-1-4-19 [Scopus].

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АДЭ	– алкоголь-депривационный эффект
в/б	– внутрибрюшинно
ВОЗ	– Всемирная организация здравоохранения
ВЭЖХ-МС/МС	– высокоэффективная жидкостная хроматография с тандемной масс-спектрометрией
ГЭБ	– гематоэнцефалический барьер
ЕАЭС	– Евразийский экономический союз
ЗР	– закрытые рукава
НПКО	– нижний предел количественного определения
ОР	– открытые рукава
ПКЛ	– приподнятый крестообразный лабиринт
ЦНС	– центральная нервная система
BDNF	– мозговой нейротрофический фактор
EMA	– Европейское медицинское агентство
FDA	– Управление по контролю за качеством продуктов питания и лекарственных средств
GHRP-2	– релизинг-пептид гормона роста 2
МАРК/ERK	– митоген-активируемая протеинкиназа/киназа, регулируемая внеклеточными сигналами
PI3K/AKT	– фосфоинозитид-3-киназа/серин-треониновая киназа
PLC $\gamma$	– фосфолипаза С гамма
TrkB	– тропомиозин-киназа В