

УДК 577.112.6:615.214.31

ДИПЕПТИДНЫЙ МИМЕТИК 4-й ПЕТЛИ МОЗГОВОГО НЕЙРОТРОФИЧЕСКОГО ФАКТОРА ОБЛАДАЕТ АНАЛЬГЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Член-корреспондент РАН Т. А. Гудашева*, М. А. Константинопольский,
А. В. Тарасюк, Л. Г. Колик, академик РАН С. Б. Середенин

Поступило 28.11.2018 г.

Ранее мы синтезировали димерный дипептидный миметик 4-й петли мозгового нейротрофического фактора (BDNF) — ГСБ-106, который аналогично BDNF активировал TrkB, PI3K/AKT, MAPK/ERK и при системном введении обладал нейропротекторной, антидепрессивной, антидиабетической активностью, стимулировал нейрогенез и синаптогенез. В настоящей работе мы обнаружили, что ГСБ-106 обладает и характерной для BDNF анальгетической активностью, которую выявили у крыс в тестах горячей пластины и одергивания хвоста через 0,5–48 ч после внутрибрюшинного введения препарата в дозах 0,1 и 1 мг/кг.

Ключевые слова: мозговой нейротрофический фактор (BDNF), дипептидный миметик, ГСБ-106, анальгетическая активность.

DOI: <https://doi.org/10.31857/S0869-56524853366-369>

Мозговой нейротрофический фактор (BDNF) семейства нейротрофинов регулирует развитие и поддержание физиологических функций центральной и периферической нервной системы [1]. Связывание с трансмембранным тирозинкиназным рецептором TrkB и активация пострецепторных сигнальных путей PI3K/AKT и MAPK/ERK сопряжены с проявлением многих биологических эффектов, включая нейропротекторное, антидепрессивное, антидиабетическое и анальгетическое действия [2]. Поэтому BDNF рассматривается фармакологически перспективным соединением для лечения ряда неврологических, психиатрических, эндокринных и других заболеваний. Попытки использования полноразмерного BDNF в качестве заместительной терапии не увенчались успехом [3]. Ограничениями явились короткий период полужизни, неудовлетворительные фармакокинетические свойства. Поэтому актуальной стала проблема создания биологически стабильных низкомолекулярных миметиков BDNF.

Зрелый BDNF представляет собой белок 27 кДа, состоящий из двух идентичных полипептидных цепей, каждая из которых содержит 7 бета-листов, связанных четырьмя шпилькообразными петлями, три из которых (петли 1, 2 и 4) экспонированы наружу и могут играть важную роль во взаимодействии с рецептором [4]. В НИИ фармакологии

им. В.В. Закусова сконструированы и синтезированы димерные дипептидные миметики BDNF на основе бета-изгибов его 1-й ($-D^{30}-M^{31}-S^{32}-G^{33}$), 2-й ($-V^{44}-S^{45}-K^{46}-G^{47}$) и 4-й ($-D^{93}-S^{94}-K^{95}-K^{96}$) петель соответственно, гептаметилендиамид *бис*(*N*-моносукцинил-*L*-метионил-*L*-серина) (рабочее название ГСБ-214), гексаметилендиамид *бис*(*N*-гексаноил-*L*-серил-*L*-лизина) (ГТС-201) и гексаметилендиамид *бис*(*N*-моносукцинил-*L*-серил-*L*-лизина) (ГСБ-106) [5, 6]. В этих соединениях сохранён центральный дипептидный фрагмент бета-изгиба как наиболее доступная для рецептора часть бета-изгиба. Предшествующий остаток заменён на его биоизостер. Димерная структура BDNF воспроизведена в миметиках с помощью гекса- или гептаметилендиаминового спейсера (рис. 1). Все полученные миметики активировали рецептор TrkB, но только ГСБ-106, миметик наиболее экспонированной наружу 4-й петли, активировал основные сигнальные пути BDNF — AKT и ERK [6, 7]. Последнее дало основание для проверки гипотезы о возможности воспроизводства соединением ГСБ-106 биологических эффектов BDNF. Действительно в экспериментах *in vitro* и *in vivo* ГСБ-106 обладал нейропротекторным [7], антидепрессивным действием [8, 9], стимулировал синаптогенез и нейрогенез [10, 11] и обладал антидиабетической активностью [12].

Целью настоящей работы явилось выявление у ГСБ-106 анальгетической активности, характерной для полноразмерного BDNF [13, 14].

Научно-исследовательский институт фармакологии
им. В.В. Закусова, Москва

*E-mail: tata-sosnovka@mail.ru; gudasheva@academpharm.ru

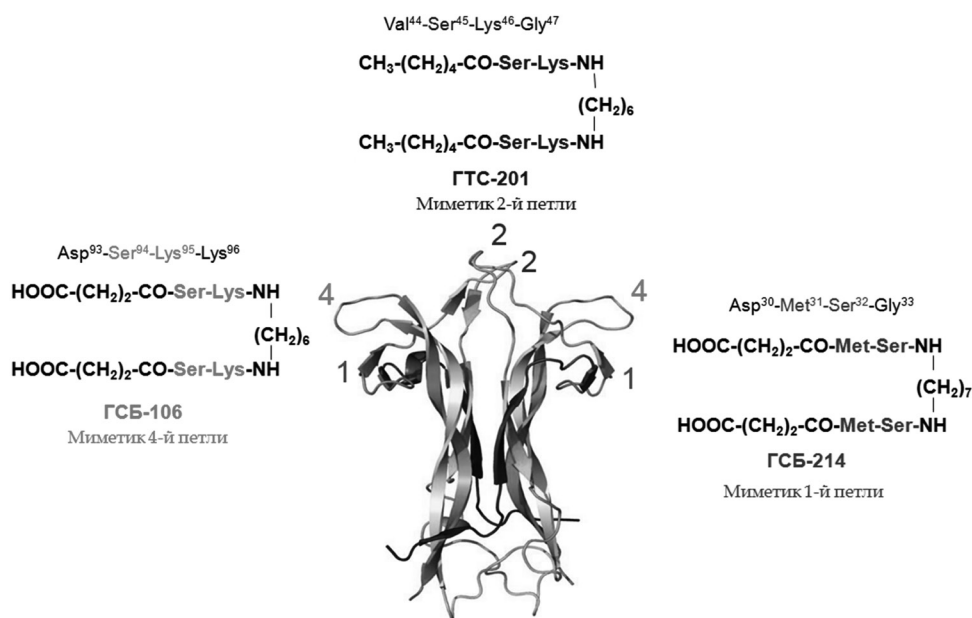


Рис. 1. Структуры BDNF и его димерных дипептидных миметиков.

Анальгетическую активность ГСБ-106 изучали с помощью тестов “отдёргивание хвоста” и “горячая пластина” у беспородных крыс-самцов (200–220 г, питомник “Столбовая”), используя анальгезиметры фирмы “Ugo Basile” (Италия) для анализа острой соматической боли при термической стимуляции. Тест “горячая пластина” разработан специально для оценки болевой реакции, ориентируясь на поведенческие компоненты (лизание лапы и прыжки), которые считаются супраспинально интегрированными ответами. Латентный период реакции в тесте “отдёргивание хвоста” определяется спино-бульбо-спинальным рефлексом, генерируемым мотонейронами при раздражении соматических и висцеральных афферентных путей [15]. Регистрировали латентный период переносимости животными теплового воздействия при температуре $54 \pm 0,1^\circ\text{C}$ в тесте “отдёргивания хвоста” и 36 усл. ед. инфракрасного нагревателя в тесте “горячая пластина”. Растворы исследуемого вещества в стерильной дистиллированной воде готовили *ex tempore*. Анальгетическую активность ГСБ-106 оценивали при однократном внутрибрюшинном введении в дозах 0,1 и 1,0 мг/кг, выбранных на основании эффективных доз для антидепрессивной активности. Регистрировали фармакологическое действие ГСБ-106 через 0,5; 1; 24; 48 и 72 ч после введения пептида. Результаты представляли в процентах от контроля. В каждой группе использовали не менее 10 животных. Для статистического анализа применяли описательную статистику для средних значений с вычислением стандартной ошибки и непараметрический критерий *U* Вилкоксона—Манна—Уитни.

В тесте “отдёргивание хвоста” ГСБ-106 в дозе 0,1 мг/кг статистически значимо увеличивал болевой порог через 0,5; 1 и 24 ч. Этот эффект через 48 ч мы не регистрировали. Максимум эффекта наблюдали через 24 ч после введения пептида, и его величина составила 144% ($p < 0,001$) от показателей контрольной группы. При дозе 1,0 мг/кг увеличение болевого порога мы наблюдали только через 0,5 ч после введения ГСБ-106 (рис. 2).

В тесте “горячая пластина” увеличение латентного периода реакции под действием ГСБ-106 мы выявили только при использовании максимальной дозы 1,0 мг/кг, однако в более широком временном

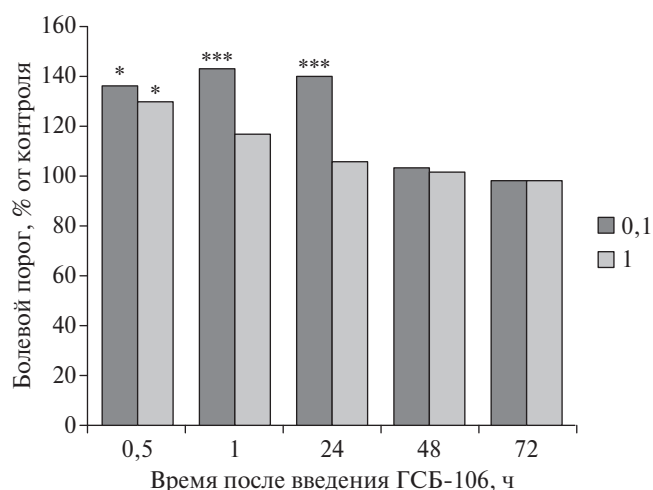


Рис. 2. Влияние ГСБ-106 на болевой порог в тесте “отдёргивание хвоста” у беспородных крыс. Здесь и на рис. 3 данные представлены в процентах от контроля. Дозы ГСБ-106 в мг/кг указаны сверху справа. * $p < 0,05$; *** $p < 0,001$ по сравнению с контролем.

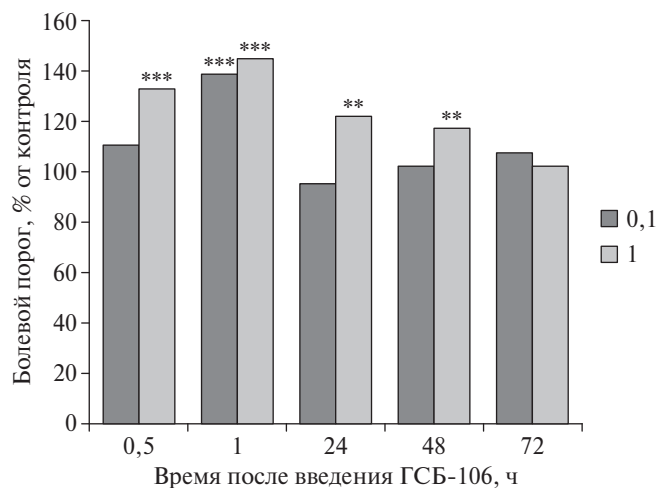


Рис. 3. Влияние ГСБ-106 на болевой порог в тесте “горячая пластина” у беспородных крыс. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$ по сравнению с контролем.

диапазоне 0,5–48 ч, при этом наибольшая активность 149% ($p < 0,001$) по сравнению с контрольной группой была через 1 ч после введения. Через 72 ч анальгетический эффект ГСБ-106 не сохранился (рис. 3).

Согласно данным литературы [14] BDNF в условиях перфузии среднего мозга в дозе 12 мкг/сут обладал анальгетической активностью у крыс в тесте “отдёргивание хвоста” начиная с 4 ч после введения в течение 11 сут с максимальным эффектом через 24 ч (134% от контроля), что коррелирует с полученными в нашей работе результатами.

Быстрый ответ через 0,5 и 1 ч после введения ГСБ-106 может быть связан с выбросом анальгетических нейропептидов из депо под действием BDNF, тогда как через 24 ч и более включаются механизмы синтеза и процессинга нейропептидов. В работе [14] было показано, что под действием BDNF при внутримозговом введении изменяется уровень таких болевых модуляторов, как бета-эндорфин, мет-энкефалин, субстанция Р и нейропептид Y.

Таким образом, ГСБ-106, низкомолекулярный миметик 4-й петли BDNF, активирующий сигнальные пути АКТ и ERK, обладает подобно полноразмерному белку длительным анальгетическим действием, что позволяет рассматривать дипептид ГСБ-106 как базовую структуру для создания новой группы анальгетических лекарственных средств.

Источник финансирования. Исследование выполнено в рамках государственного задания на 2019–2021 гг. “Изыскание фармакологических способов избирательной активации путей трансдукции сигнала тирозинкиназных нейротрофиновых рецепторов как основы для создания лекарственных средств, свободных от побочных эффектов нативных нейротрофинов” (тема № 0521–2019–0003).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Kaplan D.R., Miller F.D. // Curr. Opin. Neurobiol. 2000. V. 10. P. 381–391.
2. Autry A.E., Monteggia L.M. // Pharmacol. Rev. 2012. V. 64. № 2. P. 238–258.
3. Thoenen H., Sendtner M. // Nat. Neurosci. 2002. V. 5. P. 1046–1050.
4. Robinson R.C., Radziejewski C., Stuart D.I., Jones E.Y. // Biochemistry. 1995. V. 34. № 13. P. 4139–4146.
5. Гудашева Т.А., Тарасюк А.В., Помогайбо С.В., Логвинов И.О., Поварнина П.Ю., Антипова Т.А., Середенин С.Б. // Биоорг. химии. 2012. Т. 38. № 3. С. 280–290.
6. Гудашева Т.А., Тарасюк А.В., Сазонова Н.М., Поварнина П.Ю., Антипова Т.А., Середенин С.Б. // ДАН. 2017. Т. 476. № 1. С. 108–112.
7. Gudasheva T.A., Povarnina P.Yu., Logvinov I.O., Antipova T.A., Seredenin S.B. // Drug Des. Develop. Ther. 2016. № 10. P. 3545–3553.
8. Середенин С.Б., Воронина Т.А., Гудашева Т.А., Гарибова Т.Л., Молодавкин Г.М., Литвинова С.А., Елизарова О.А., Посева В.И. // Acta Natur. 2013. Т. 5. № 4. С. 116–120.
9. Таллерова А.В., Поварнина П.Ю., Блынская Е.В., Буюева В.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. // Хим.-фарм. журн. 2018. Т. 52. № 5. С. 15–17.
10. Гудашева Т.А., Поварнина П.Ю., Середенин С.Б. // БЭБиМ. 2016. Т. 162, № 9. С. 448–451.
11. Gudasheva T.A., Povarnina P.Yu., Antipova T.A., Seredenin S.B. // Doklady Biochemistry and Biophysics. 2018. V. 481. P. 225–227.
12. Островская Р.У., Ягубова С.С., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. // БЭБиМ. 2017. Т. 164. № 12. С. 701–705.
13. Siuciak J.A., Altar C.A., Wiegand S.J., Lindsay R.M. // Brain Res. 1994. V. 633. № 1/2. P. 326–330.
14. Siuciak J.A., Wong V., Pearsall D., Wiegand S.J., Lindsay R.M. // Eur. J. Neurosci. 1995. V. 7. № 4. P. 663–670.
15. Le Bars D., Gozariu M., Cadden S.W. // Pharmacol. Rev. 2001. V. 53. № 4. P. 597–652.

DIPEPTIDE MIMETIC OF THE BDNF LOOP 4 POSSESSES ANALGETIC ACTIVITY

**Corresponding Member of the RAS T. A. Gudasheva, M. A. Konstantinopolsky,
A. V. Tarasiuk, L. G. Kolik, Academician of the RAS S. B. Seredenin**

Zakusov State Foundation Institute of Pharmacology of the Russian Academy
of Medical Sciences, Moscow, Russian Federation

Received November 28, 2018

Previously, we synthesized a dimeric dipeptide mimetic of the brain-derived neurotrophic factor (BDNF) loop 4, GSB-106, which, similarly to BDNF, activated TrkB, PI3K/AKT, and MAPK/ERK. When administered systemically, it exhibited neuroprotective, antidepressant, and antidiabetic activities and stimulated neurogenesis and synaptogenesis. In this study, we established that GSB-106 also exhibits the analgesic activity, typical for BDNF, which was revealed in rats in hot plate and tail flick tests 0.5–48 h after intraperitoneal injection at doses of 0.1 and 1 mg/kg.

Keywords: BDNF, dipeptide mimetic, GSB-106, analgetic activity.