На правах рукописи



ДЕЕВА ОЛЬГА АЛЕКСЕЕВНА

Молекулярное конструирование, синтез дипептидных лигандов транслокаторного белка (18 кДа) и анализ связи «структура-активность» в их ряду

1.4.16 ‑ Медицинская химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва - 2026

Работа выполнена в отделе химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»

Научный руководитель:	**Гудашева Татьяна Александровна** чл.-корр. РАН, доктор биологических наук, профессор, заведующий лабораторией пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»
Официальные оппоненты:	**Аверина Елена Борисовна** доктор химических наук, профессор Кафедры медицинской химии и тонкого органического синтеза Химического факультета ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова», г. Москва **Золотарёв Юрий Александрович** доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной фармакологии пептидов ФГБУ Национальный исследовательский центр «Курчатовский институт», г. Москва
Ведущая организация:	Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Российской академии наук, г. Москва

Защита состоится «09» февраля 2027 г. в 13.00 на заседании диссертационного совета 24.1.108.03 при Федеральном исследовательском Центре проблем химической физики и медицинской химии РАН по адресу: 142432, Московская область, г. Черноголовка, Северный проезд, 1.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФИЦ ПХФ и МХ РАН: 142432, Московская область, г. Черноголовка, проспект академика Семенова, д. 1 и на сайте ФИЦ ПХФ и МХ РАН https://icp-ras.ru/. Автореферат размещён на официальном сайте Высшей аттестационной комиссии при Министерстве образования и науки Российской Федерации по адресу https://vak.gisnauka.ru.

Автореферат разослан «___» _____ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета 24.1.108.03
кандидат биологических наук Аникина Л.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность. По данным ВОЗ, нарушения, связанные с тревожными состояниями, включающими по МКБ-10 генерализованные тревожные, фобические, панические и обсессивно-компульсивные расстройства, наблюдаются примерно у 10% населения (WHO. https://www.who.int/ru/news). При тревоге высок риск коморбидных психических заболеваний, в числе которых большое депрессивное расстройство. Также повышен риск соматических заболеваний, включая болевые синдромы, гипертонию, проблемы с сердечно-сосудистой системой и желудочно-кишечным трактом.

Применяющиеся в настоящее время в клинической практике анксиолитики реализуют свой эффект через различные молекулярные мишени. Например, буспирон действует преимущественно как частичный агонист 5-HT_{1A}-рецепторов, прегабалин связывается с α2δ-субъединицей потенциалзависимых кальциевых каналов, гидроксизин блокирует центральные Н1-рецепторы (Garakani A. // *Frontiers in Psychiatry*. **2020.** V.23. №11 P.595584). Этифоксин аллостерически связывается с $ГАМК_A$-рецептором (Verleye M. // *Neuroscience research*. **2002**. V.44. №.2. P.167-172), а также усиливает синтез нейростероидов (Do-Rego J.L. et al // *PLoS One*. **2015**. V.18. № 10(3). P.0120473), которые, в свою очередь, также являются положительными модуляторами $ГАМК_A$.

Селективный небензодиазепиновый анксиолитик фабомотизол, производное меркаптобензимидазола, разработанный в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» (Середенин С.Б. //*Эксп. и клин. фарм.* **2009**. Т.72, № 1. С.3-11*;* Г.Г. Незнамов, и др. *// Психиатрия и психофармакотерапия.* **2006**. С.17-23]), проявляет выраженную анксиолитическую активность и не имеет характерных для бензодиазепиновых транквилизаторов побочных эффектов (Медведев В.Э. *// Врач.* – **2006**. № 14. С. 19-22). Фабомотизол действует через систему сигма-1 рецепторов и не обнаруживает прямого связывания с $ГАМК_A$. (И.В. Силкина, и др. // *Эксп. клин. фарм*. **2005**. № 1. С. 20-24). При этом он восстанавливает сниженное стрессом бензодиазепиновое связывание с модуляторными сайтами $ГАМК_A$ (Voronin M. V., at al. // *Int. J. of Molecular Sciences*, **2023**. V.24 №11. P.9580). Однако, максимальный анксиолитический эффект достигается только спустя 6 недель после начала приёма препарата. (Соловьева И.К. // *Русский медицинский журнал*. **2006**. №5. С.385).

Согласно клиническим рекомендациям Минздрава РФ (https://psychiatr.ru/news/1198) и Международному клиническому руководству по лечению психических расстройств (Bandelow B.// *World Federation of Societies of Biological Psychiatry (WFSBP). Version 3. Part II. World J Biol Psychiatry*. **2023**. V.24 P.118-134) для лечения тревожного состояния широко используются и бензодиазепиновые транквилизаторы, которые быстро снимают тревожный синдром, но их применение сопровождается многочисленными побочными явлениями, включая миорелаксацию, дневную сонливость, атаксию, ухудшение памяти, снижение концентрации внимания, лекарственную зависимость и синдром отмены (WHO. Programme on substance abuse; Аведисова А.С. // *Психиатрия и психофармакотерапия*. **1999**. №1. С.78-84). Разработка новых бензодиазепиновых транквилизаторов практически прекратилась к концу XX века.

Другой группой лекарственных препаратов для лечения тревожного состояния являются трициклические антидепрессанты и ингибиторы моноаминоксидазы (ИМАО)

Они могут применяться в случаях, когда симптомы имеющегося тревожного расстройства сочетаются с депрессивными симптомами. (Stein D.J. et al // *Int Clin Psychopharmacol*. **2000.** V. 15. Suppl 2, P. 1-6). Отложенность анксиолитического эффекта антидепрессантов, а также угроза обострения симптоматики остаются серьезными недостатками этой группы препаратов (Gillman P.K. // *B. J. Anaesthesia*. **2005** V. 95(4). P. 434-41).

Вследствие вышесказанного в настоящее время актуальным является создание быстродействующего анксиолитика с принципиально новым механизмом действия и свободного от побочных эффектов бензодиазепиновых транквилизаторов.

Степень разработанности проблемы. Перспективной мишенью для создания анксиолитического препарата является 18 кДа транслокаторный белок TSPO (B. Costa, et al. // *Biochem. Pharmacol.*, **2020**. V.177. P.114015). TSPO, известный ранее под названием периферический бензодиазепиновый рецептор (Papadopolous V., et al. // *Trends Pharmacol. Sci*. **2006**. № 8. P.402-409), был открыт в 1977 году. TSPO экспрессируется в различных периферических тканях, богатых митохондриями и продуцирующих стероидные гормоны (Anholt R.R., et al. // *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 1985. V.233(2). P.517-526). В центральной нервной системе TSPO в основном локализуется в глиальных клетках мозга, но также присутствует в нейронах (Dapozzo E., et al. // *Biochem. Soc. Trans*. **2015** V.43(4). P.559-565).

TSPO (человека, мыши, крысы, быка и овцы) представляет собой богатый триптофаном белок, состоящий из пяти α-спиралей, интегрированных в наружную митохондриальную мембрану. (Rupprecht R., et al. *// Nat. rev.*, **2010**. V.9, P.971-988). В 2014 году впервые была определена 3D-структура TSPO мыши (mTSPO) в комплексе с классическим лигандом PK11195 методом ЯМР-спектроскопии (PDB ID: 2MGY) (Jaremko L., et al. // *Science*. **2014**. V.343. P.1363−1366). TSPO способствует транспорту холестерина в митохондриальный матрикс, что является лимитирующим этапом биосинтеза нейростероидов. Холестерин метаболизируется до прегненолона, который далее превращается в другие нейростероиды, такие как аллопрегнанолон и 3-альфа-5-альфа-тетрагидродезоксикортикостерон, которые являются положительными модуляторами функции рецепторов $ГАМК_А$, оказывая тем самым анксиолитическое действие (Schüle C., et al. // *Neuroscience.* **2011**. №191, P.55-77). Поскольку эндогенные нейростероиды, такие как аллопрегнанолон и другие, имеют очень короткое время жизни в биологической среде (Mellon S.H.et al. // *Brain Res. Rev*., **2008**, V.*57*, P.410-420), их прямое применение в клинике затруднено. В то же время, использование физиологического потенциала нейростероидных гормонов может быть достигнуто путем модуляции рецептора TSPO с помощью его лигандов.

На сегодняшний день известно большое число синтетических лигандов TSPO, относящихся к различным химическим классам: бензодиазепины, оксазепины, тиоазепины, изохинолины, имидазопиридины, феноксифенилацетамиды, производные индола и пурина и других гетероциклических структур (Kim T. et al. // *Expert Opinion on Therapeutic Patents*, **2016**. V.26(11). P. 1325-1366). Для этих лигандов показана нейропсихотропная активность на моделях *in vivo,* например, соединение СВ-34 из группы 2-фенилимидазо[1,2-а]пиридинов проявляло выраженный антиконфликтный эффект в тесте Вогеля на крысах (Serra M., et al. // *B. J. of Pharmacol*. **1999**. V.127. P.177-187); производное индола FGIN-1-27 предотвращало развитие неофобии (Guillon J., et al. // *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, **2001**. V.53(11). P. 1561-1568); соединение YL-

IPA08 из группы производных пиридина проявляло антидепрессивное и анксиолитическое действие на различных моделях животных (Li-Ming Zhang et al. // *Neuropharmacol.* **2014**. V.81. P. 116-125). Соединение ГМЛ-1 из группы пирроло[1,2-a]пиразиновых лигандов обладало сочетанием анксиолитической, антидепрессивной и ноотропной активностей и не имело побочных эффектов бензодиазепиновых транквилизаторов (Mokrov G.V. et al. // *Bioorg. med. chem.* **2015.** V.23(13), P. 3368-33780). Кроме того, производное бензодиазепиа, соединение Ro 5-4864 (Giatti S., et al. // *Neuroscience*. **2009** V.164(2), P.520-529) обладающее анксиолитической, ноотропной и нейропротекторной активностью, и производное изохинолина, частичный агонист PK11195 (Le Fur G., et al. // *Life Sci.* **1983.** V.18. P1839-1847), стали классическим представителями лигандов TSPO, и в настоящее время используются в основном в качестве нейровизуализационных агентов и диагностических инструментов. Однако, в настоящее время не получено ни одного пептидного лиганда TSPO.

В рамках данной работы проводилось конструирование, синтез и изучение анксиолитической активности первых в своем классе лигандов TSPO дипептидной природы. Пептиды, будучи способны метаболизироваться до природных аминокислот, обладают особо низкой токсичностью. Ди- и трипептиды обладают наилучшими фармакокинетическими свойствами, так как легко проникают через биологические барьеры, включая ГЭБ. Дипептиды достаточно устойчивы к энзиматическому расщеплению и могут сохранять активность при пероральном введении.

Пептидные лиганды TSPO могут быть созданы с помощью оригинальной стратегии пептидного дизайна (drug-based peptide design, DBPD), основанной на получении топологических ди- трипептидных аналогов известного непептидного лекарства (T.A. Gudasheva et.al. // J.Med. Chem., **1998**. V41(3). 284-290; Т.А. Гудашева // *Известия АН*, **2015**. Т. 9. С. 2012-2021), которая уже в течение многих лет успешно развивается в ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» и привела к созданию таких дипептидных препаратов, как ноотроп Ноопепт, внедренный в медицинскую практику в 2006 г., анксиолитик Ранквилон, внедренный в 2025 г. и антипсихотик Дилепт, успешно прошедший 2-ю фазу клинических испытаний.

Целью работы являлось создание фармакологически активных дипептидных лигандов TSPO. Для достижения поставленной цели решались следующие **задачи**:

1. Конструирование дипептидных лигандов TSPO с помощью подхода drug-based peptide design (DBPD), который основывается на гипотезе топологического подобия некоторых непептидных лекарственных препаратов физиологически активным эндогенным пептидам, и далее верификация результатов конструирования с помощью молекулярного докинга.
2. Химический синтез сконструированных соединений и выявление анксиолитической активности у синтезированных соединений в валидированных скрининговых тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» на грызунах.
3. Синтез вариантов сконструированных дипептидных лигандов TSPO, отличающихся природой замещения по С- и N- концам, конфигурацией аминокислотных остатков (а.о.), делетированным боковым радикалом а.о., порядком а.о. в последовательности для изучения связи структуры и анксиолитической активности.

4. Выявление по результатам анализа связи «структура-активность» фармакофорных элементов дипептидных лигандов TSPO, ответственных за проявление анксиолитической активности.

5. Подтверждение лигандных свойств к TSPO наиболее активных дипептидов методом фармакологического ингибиторного анализа с использованием специфического антагониста TSPO, соединения PK-11195.

6. Доказательство нейростероидогенезного механизма анксиолитического действия полученных дипептидных лигандов с использованием ингибиторов энзимов биосинтеза нейростероидов.

7. Выявление дополнительных фармакологических свойств наиболее активных соединений, включая острую токсичность, антидепрессивную и ноотропную активности.

Научная новизна. Впервые в мире получены дипептидные лиганды 18 кДа транслокаторного белка (TSPO), обладающие нейростероидогенезным механизмом действия. Показано, что эти дипептиды обладают спектром фармакологических активностей (анксиолитической, антидепрессивной и ноотропной), совпадающим с таковым нейростероидных гормонов. Получены свидетельства в пользу существования эндогенного пептидного лиганда TSPO, содержащего трипептидный мотив -Phe-Trp-Leu-.

Теоретическая и практическая значимость работы. Получены знания о связи структуры и анксиолитической активности дипептидных лигандов TSPO (зависимость активности от конфигурации а.о., от природы С-замещения и важности наличия N-фенилалканоильного радикала). Эти данные позволят ускорить получение новых анксиолитиков – лигандов TSPO.

Получены фармакологически активные при системном введении, включая пероральное, дипептидные лиганды TSPO, которые могут стать основой для создания нетоксичных быстродействующих анксиолитиков, обладающих положительной мнемотропной активностью.

Связь темы диссертации с научными планами института. Диссертация выполнена в рамках НИР ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» «Изучение механизмов эндо- и экзогенной регуляции функций центральной нервной системы. Разработка новых оригинальных нейропсихотропных средств» рег. № 01201169192; гос. задания на 2019-2021 гг. по теме «Разработка новых средств и методов фармакотерапии тревожных расстройств и депрессивных состояний» рег. № 0521-2019-0002; гос. задания на 2022-2024 гг. «Создание новых химических структур – потенциальных лигандов фармакологических мишеней для лечения нервнопсихических и сердечно-сосудистых заболеваний» рег. № FGFG-2022-0005: проекта Президиума РАН «Конструирование, синтез и выявление фармакологических свойств оригинальных лигандов митохондриального транслокаторного белка TSPO»; проекта РФФИ № 17-04-00861 «Дизайн, синтез и изучение анксиолитической активности дипептидных лигандов TSPO рецептора как основа для создания нового класса быстродействующих анксиолитиков».

Положения, выносимые на защиту.

1. Стратегия создания фармакологически-активных дипептидных лигандов транслокаторного белка TSPO, кандидатов в лекарственные средства, с использованием оригинального подхода Drug-Based Peptide Design и молекулярного докинга.

2. Анксиолитическая активность сконструированных дипептидов Z-L-Trp-L-Ile-NH_2 (ГД-23) и Ph-$(CH_2)_2$-CO-L-Trp-L-Leu-NH_2 (ГД-102) при системном введении в тестах «Открытое поле» и «Приподнятый крестообразный лабиринт» у мышей.
3. TSPO-опосредованный и нейростероидогенезный механизм действия полученных дипептидных лигандов, подтвержденный фармакологическим ингибиторным анализом.
4. Зависимость анксиолитической активности дипептидных лигандов TSPO от конфигурации, последовательности и природы а.о., а также природы N- и C-заместителей.
5. Наличие антидепрессивной, ноотропной активностей и отсутствие токсичности у лидерных дипептидных лигандов TSPO.
6. -L-Phe-L-Trp-L-Leu- – последовательность возможного эндогенного лиганда TSPO.

Степень достоверности и апробация работы. Основные результаты диссертационной работы были представлены на 33-м и 34-м Европейских пептидных симпозиумах (София-2014, Болгария и Лейпциг-2016, Германия), на 7-м и 8-м Российских симпозиумах «Белки и пептиды» (Новосибирск-2015, Москва-2017), на 23-м международном симпозиуме по медицинской химии Европейской федерации медицинской химии (Салерно-2015, Италия), на 3-й, 4-й, 5-й, 6-й и 7-й Всероссийских конференциях по медицинской химии с международным участием (Новосибирск-2015, Екатеринбург-2019, Волгоград-2021, Нижний Новгород-2024 и Иркутск-2026), на 6-м международном конгрессе по медицинской химии (Нанкин-2016, КНР), на 5-м съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Ярославль-2018), на 2-й Всероссийской научно-практической конференции молодых ученых «Проблемы разработки новых лекарственных средств» (Москва-2021).

Личный вклад. Автор работы является основным исполнителем проведенного исследования на всех этапах: сборе и анализе данных литературы по теме диссертационной работы, проведении экспериментальной части исследования и анализе полученных результатов, формулировании выводов. При активном участии автора подготовлены все публикации по результатам работы.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 27 печатных работ, из которых 11 научных статей, в том числе 10 статей в ведущих рецензируемых научных журналах, 4 патента РФ, 12 тезисов в материалах российских и международных конференций.

Объем и структура диссертации. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы. Библиографический список включает 351 источников. Работа изложена на 212 страницах, содержит 68 рисунков и 17 таблиц.

Благодарности. Автор выражает глубокую благодарность научному руководителю д.б.н., профессору, член-корреспонденту РАН Гудашевой Татьяне Александровне за неоценимую помощь в выборе направления исследования, идею, постоянную поддержку, ценные рекомендации, терпение и внимание к работе на всех этапах её выполнения. Автор выражает искреннюю благодарность академику РАН Середенину С.Б. за организацию фармакологических исследований. Автор благодарит д.м.н. профессора РАН Яркову М.А., к.б.н. в.н.с. Поварнину П.Ю. за проведение фармакологических поведенческих экспериментов на животных; с.н.с. к.б.н. Алексееву С.В. с сотр. за проведение

исследований острой токсичности; в.н.с. к.б.н. Антипову Т.А. и н.с. Николаева С.В. за проведение экспериментов *in vitro*; н.с. Ребеко А.Г. за регистрацию и помощь в интерпретации ЯМР спектров; н.с. Пантилеева А.С. и асс. Н.А. Зефирова за проведение молекулярного докинга и помощь в интерпретации результатов. Автор благодарит и.о. генерального директора Центра д.фарм.н. профессора Дорофеева В.Л. за заинтересованность и внимание к работе.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Дизайн. Использовался оригинальный метод конструирования биологически активных ди- трипептидов «Drug-based peptide design» (Т.А. Гудашева // *Известия АН*, **2015**. Т. 9. С. 2012-2021).

Молекулярный докинг. Теоретическую оценку способности сконструированных пептидов взаимодействовать с TSPO проводили методом докинга с использованием программного обеспечения Glide (Schrodinger Release 2025-3) и AutoDock Vina 1.1.2; для определения площадей контактов а.о. TSPO и сконструированных пептидов применяли программу PISA (European Bioinformatics Institute). Для моделирования молекулярной динамики использовали программу GROMACS 2021.2.

Синтез. Дипептиды были синтезированы методами классического пептидного синтеза в растворе. Очистку проводили перекристаллизацией либо с помощью жидкостной адсорбционной хроматографии. Структура и диастереомерная чистота подтверждались методом ^{1}H- и ^{13}C-ЯМР-спектроскопии.

Биологические тесты. *Анксиолитическая активность* изучалась в тестах «Открытое поле» (ОП) со световой вспышкой на мышах BALB/c и «Приподнятый крестообразный лабиринт» (ПКЛ) на мышах CD1 (Миронов А.Н., // Изд-во Гриф и К. **2012**. 944 с.). Лигандные свойства подтверждались методом ингибиторного фармакологического анализа в тесте ПКЛ с использованием антагониста TSPO, соединения PK-11195, а нейростероидогенезный механизм – с использованием ингибиторов биосинтеза нейростероидов финастерида и трилостана. *Ноотропная активность* была изучена в тесте распознавания нового объекта (РНО) в условиях скополаминовой амнезии на крысах Wistar (Ennaceur A. et al. // *Behav Brain Res*. **1988.** V. 31(1). P. 47-59). *Антидепрессивная активность* определялась в тесте вынужденного плавания на мышах BALB/c в модифицированной конфигурации с двумя сессиями плавания (Angoa-Pérez M. et al. // *ACS Chem Neurosci*. **2014**. V. 5(10). P. 908-919). *Острая токсичность* для ГД-23 и ГД-102 была изучена на беспородных мышах-самцах. *Нейропротекторная активность* изучалась с использованием иммортализованных клеток гиппокампа мыши HT-22 в условиях окислительного стресса с H_2O_2. Оценку жизнеспособности клеток проводили с помощью теста MTT (Ueda Y.// *Neurosci. Lett*. **1994**, V.165, P.203-207).

Статистическая обработка. Статистическую обработку проводили с помощью стандартного пакета программ «ANOVA». Использовали непараметрические методы статистики: однофакторный критерий Краскела-Уоллиса с последующими тестами Данна и Данета.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Дизайн. При конструировании в качестве непептидного прототипа использовали анксиолитик Алпидем (2-[6-хлоро-2-(4-хлорфенил)-имидазо-[1,2-а]пиридин-3-ил]-*N*,*N*-дипропилацетамид), являющийся лигандом TSPO. Это соединение содержит в себе два ароматических ядра, фенильное и бициклическое азотсодержащее, и разветвленную алифатическую цепь, которые могут имитировать боковые радикалы фенилаланина, триптофана и изолейцина (лейцина) соответственно. Кроме того, в структуру Алпидема входит амидная группа, возможный прототип пептидной связи (рисунок 1). Таким образом, Алпидем может быть имитирован следующими трипептидными последовательностями: -Phe-Trp-Ile- или -Phe-Trp-Leu-. При конструировании на основе этих трипептидных последовательностей мы сохраняли неизменными остатки Trp и Ile (Leu) в последовательности -Trp-Ile- (для ГД-23) или -Trp-Leu- (для ГД-102). Остаток Phe был заменён биоизостерами – бензилоксикарбонильной (для ГД-23) или фенилпропионильной (для ГД-102) группами. Эти остатки не имеют заряженной аминогруппы как Алпидем и предполагаемые трипептидные последовательности. Возможный следующий за Ile (или Leu) остаток был представлен амидной группой, в результате чего была удалена отрицательно заряженная карбоксильная группа, отсутствующая в Алпидеме. Структуры сконструированных N-ацилзамещенных дипептидных аналогов Алпидема, амида N-карбобензокси-L-триптофанил-L-изолейцина (ГД-23) и амида N-фенилпропионил-L-триптофанил-L-лейцина (ГД-102), представлены на рисунке 1.

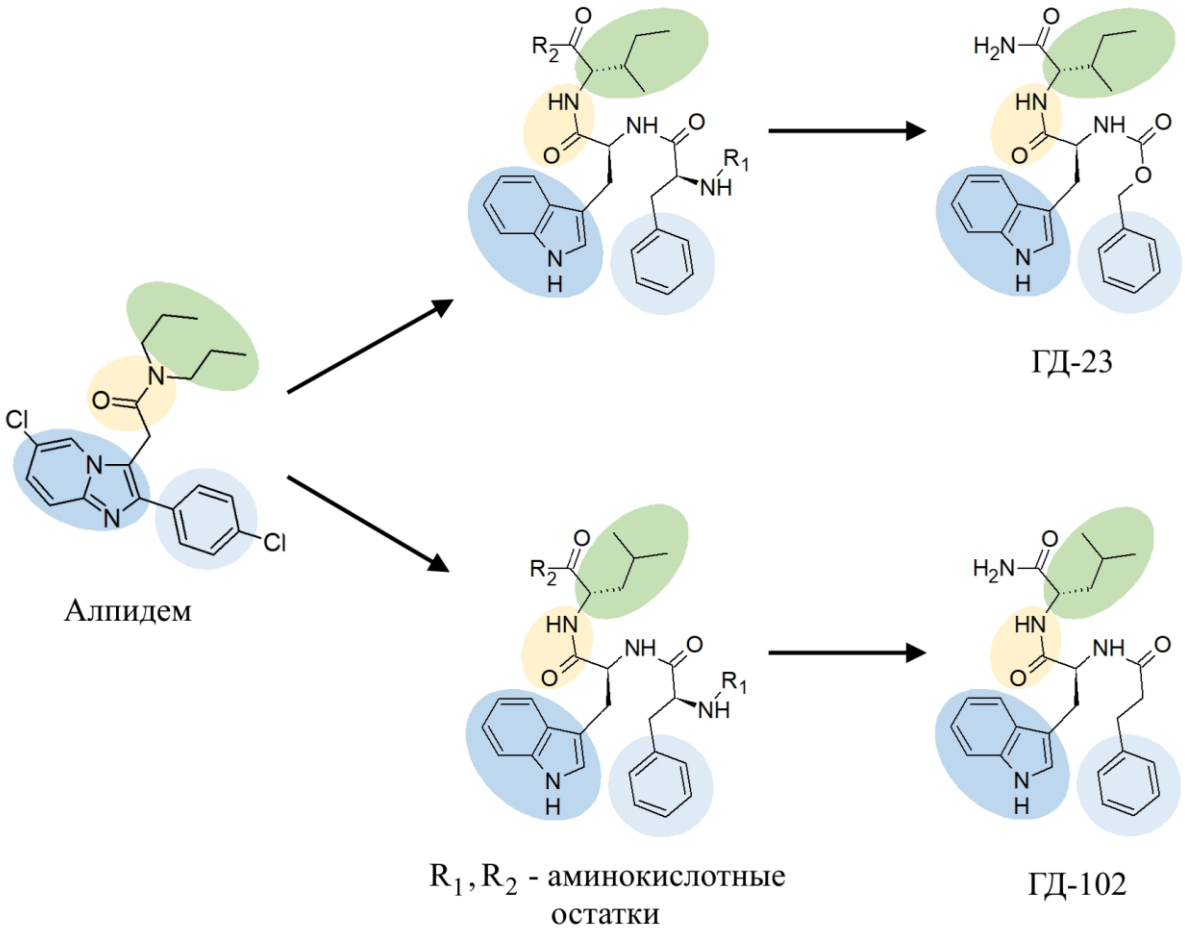


Рисунок 1 - Дизайн дипептидных лигандов TSPO, соединений ГД-23 и ГД-102

Молекулярный докинг. Для верификации лигандных свойств сконструированных ГД-23 и ГД-102 проводили молекулярный докинг в активный центр TSPO. Использовали пространственную структуру мышиного TSPO в комплексе с лигандом PK11195 (Jaremko L., et al. // *Science*. **2014**. V.343. P.1363−1366), (PDB ID: 2MGY). Расчеты проводили в полужесткой модели докинга в программе Glide, с помощью которой были отобраны для анализа комплексы с наименьшими очками G-score и Emodel. Эти величины отражают расчётную энергию связывания (табл.1). Трехмерные проекции попарного наложения Алпидема, ГД-23 и ГД-102 представлены на рисунке 2.

Таблица 1. Показатели оценочной функции G-score и расчетные энергии взаимодействия для лигандов TSPO, дипептидов ГД-23, ГД-102, непептидного прототипа Алпидема и модельного лиганда PK11195

Лиганд	Glide G-score	Glide Emodel, ккал/моль
ГД-102	−9.6	−71.97
ГД-23	−8.76	−52.85
Алпидем	−8.89	−66.73
PK11195	–8.56	–58.25

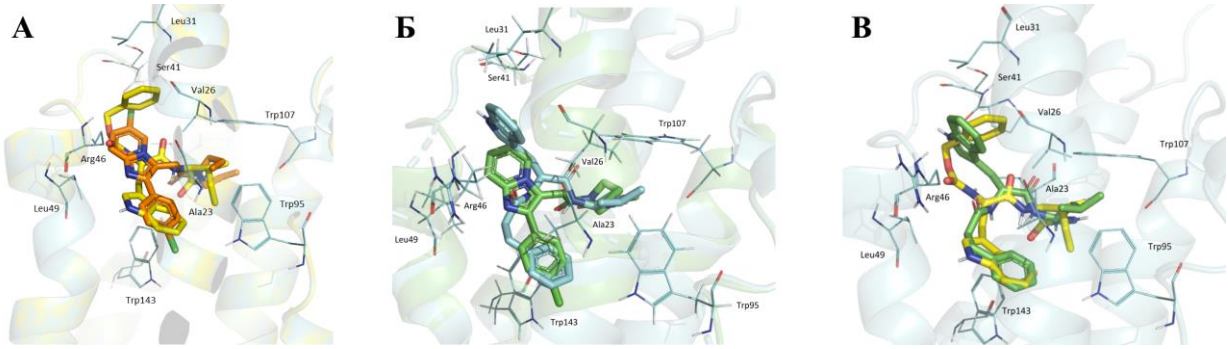


Рисунок 2 – Попарное наложение структур а) Алпидема (оранжевый) и ГД-23 (желтый) б) Алпидема (зеленый) и ГД-102 (голубой) в) ГД-23 (желтый) и ГД-102 (зеленый)

Результаты докинга визуализировались с помощью программы PyMol (https://pymol.org/2/) (рисунок 2). Согласно данным докинга, молекула алпидема располагается в сайте связывания TSPO следующим образом: бициклическое ароматическое ядро образует ван-дер-ваальсовы контакты с остатками Ala23, Val26, Pro40, Pro45, Arg46, фенильное ядро образует контакты с Ala23, Trp95, Leu114, Trp143. Алифатическая зона алпидема взаимодействует с Ala23, Val26, Trp95, Trp107, Ala110, Ala147, Leu150 (рисунок 2). Молекула ГД-23 располагается в сайте связывания TSPO таким образом, что боковая группа триптофана окружена остатками Ala23, Leu49, Trp95, Leu114, Trp143, Ala147. Фенильное кольцо бензилоксикарбонильной группы связано с остатками Val26, Ser41, His43, Arg46 и Trp107. Изолейциновая боковая цепь окружена остатками Val26, Trp95, Trp107, Ala110, Leu114, Ala147 и Leu150. Ala147 Боковая группа триптофанового фрагмента ГД-102 образует контакты с остатками Ala23, Val26, Leu31, Arg46 и Leu49. Фенильное кольцо N-ацильной группы образует контакты с остатками Ala23, Ile52, Leu114, а алифатическая часть - с остатками Ala23, Val26, Ala110 и Leu150. Для выявления а.о., контактирующих с отдельными фрагментами лиганда, использовалась

программа PISA (http://www.ebi.ac.uk/pdbe/prot_int/pistart.html). Распределение площадей контакта по аминокислотным остаткам интерфейса TSPO практически одинаково для всех трёх соединений (алпидема, ГД-23 и ГД-102). Наибольшие площади контакта наблюдаются у Ala23, Val26, Trp143 и Leu150 (рисунок 3).

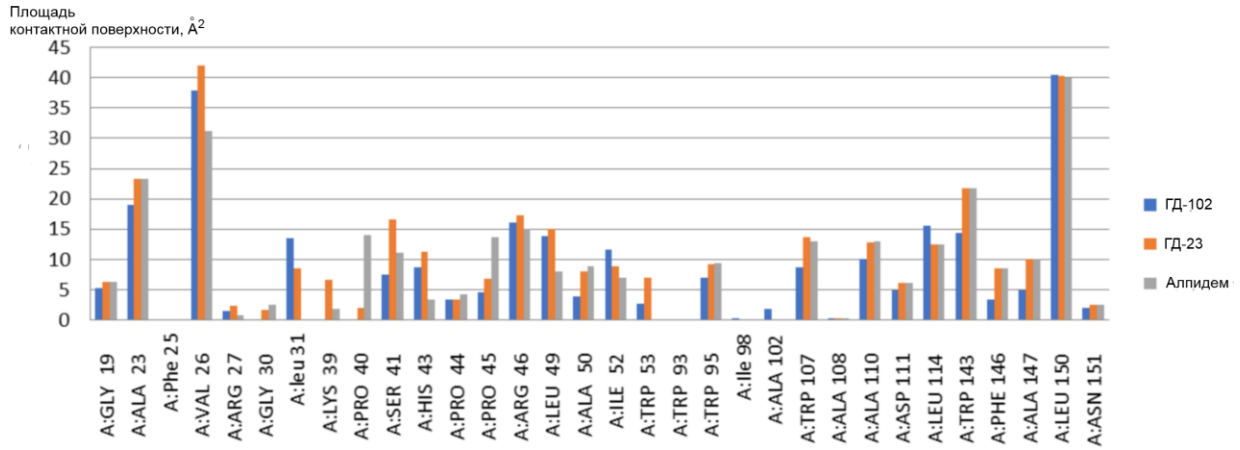


Рисунок 3- Аминокислотные остатки, контактирующие с отдельными фрагментами дипептидных лигандов TSPO, ГД-23 и ГД-102, и Алпидема

Таким образом, данные докинга свидетельствуют о том, что оба дипептидных соединения являются лигандами TSPO.

СИНТЕЗ СКОНСТРУИРОВАННЫХ СОЕДИНЕНИЙ И ИХ АНАЛОГОВ

Синтез дипептидов ГД-23 ГД-102 и их аналогов представлен на рисунке 4, структуры указаны в таблице 2.

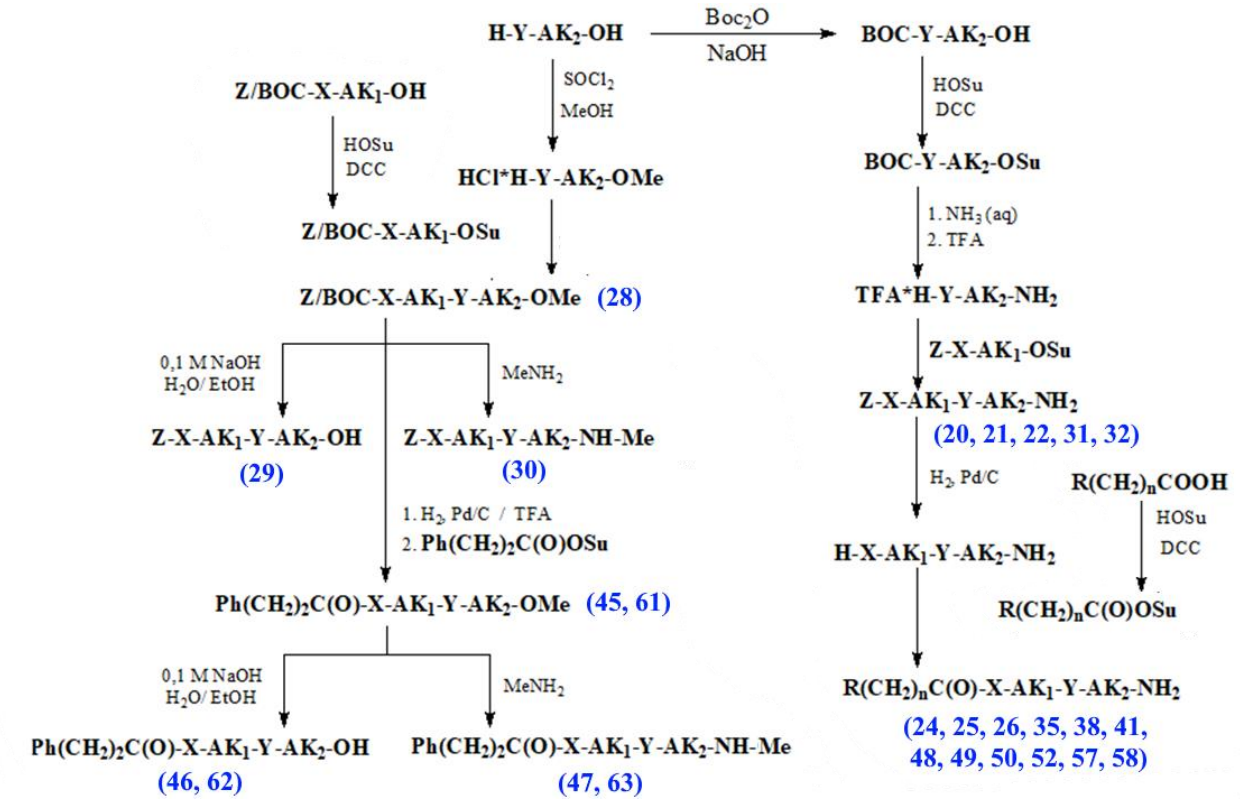


Рисунок 4- Синтез дипептидных лигандов TSPO

Таблица 2. Синтезированные лиганды TSPO, общей формулы R'-X-АК$_1$-Y-АК$_2$-R''

Номер	Шифр	R'	X	АК$_1$	Y	АК$_2$	R''
20	ГД-23	Z-	L	Trp	L	Ile	-NH_2
21	ГД-25	Z-	D	Trp	L	Ile	-NH_2
22	ГД-69	Z-	L	Trp	D	Ile	-NH_2
24	ГД-36	$PhCH_2CO$-	L	Trp	L	Ile	-NH_2
25	ГД-57	$Ph(CH_2)_2CO$-	L	Trp	L	Ile	-NH_2
26	ГД-28	$Ph(CH_2)_5CO$-	L	Trp	L	Ile	-NH_2
28	ГД-30	Z-	L	Trp	L	Ile	-OMe
29	ГД-32	Z-	L	Trp	L	Ile	-OH
30	ГД-33	Z-	L	Trp	L	Ile	-NHMe
31	ГД-39	Z-	L	Trp	-	Gly	-NH_2
32	ГД-56	Z-	-	Gly	L	Ile	-NH_2
35	ГД-102	$Ph(CH_2)_2CO$-	L	Trp	L	Leu	-NH_2
38	ГД-128	$Ph(CH_2)_2CO$-	D	Trp	L	Leu	-NH_2
41	ГД-123	$Ph(CH_2)_2CO$-	L	Trp	D	Leu	-NH_2
45	ГД-116	$Ph(CH_2)_2CO$-	L	Trp	L	Leu	-OMe
46	ГД-118	$Ph(CH_2)_2CO$-	L	Trp	L	Leu	-OH
47	ГД-119	$Ph(CH_2)_2CO$-	L	Trp	L	Leu	-NHMe
48	ГД-107	$PhCH_2CO$-	L	Trp	L	Leu	-NH_2
49	ГД-108	$CH_3(CH_2)_4CO$-	L	Trp	L	Leu	-NH_2
50	ГД-129	$Ph(CH_2)_2CO$-	-	Gly	L	Leu	-NH_2
52	ГД-125	$Ph(CH_2)_2CO$-	L	Trp	-	Gly	-NH_2
57	ГД-136	$Ph(CH_2)_2CO$-	L	Leu	L	Trp	-NH_2
58	ГД-141	$PhCH_2CO$-	L	Leu	L	Trp	-NH_2
61	ГД-138	$Ph(CH_2)_2CO$-	L	Leu	L	Trp	-OMe
62	ГД-139	$Ph(CH_2)_2CO$-	L	Leu	L	Trp	-OH
63	ГД-140	$Ph(CH_2)_2CO$-	L	Leu	L	Trp	-NHMe

Для образования пептидной связи использовался метод активированных сукцинимидных эфиров. В случае изолейцина, лейцина, а также глицина при проведении глицинового скана, использовали Boc-группу для защиты NH_2-группы, а в случае триптофана – Z-группу для исключения влияния кислой среды при деблокировании. Для получения первичной С-концевой амидной группы сукцинимидные эфиры подвергали аммонолизу водным аммиаком. Boc-защитную группу удаляли ацидолизом трифторуксусной кислотой с получением трифторацетата. Z-защитную группу удаляли гидрогенолизом с Pd/C в метаноле.

Для выявления влияния природы С-замещения на активность дипептидов получены соответствующие метиламиды (ГД-33, ГД-119), метиловые эфиры (ГД-30, ГД-116) и соединения со свободной карбоксильной группой (ГД-32, ГД-118). Для выяснения роли конфигурации и природы боковых радикалов а.о. синтезировали соответствующие стереоизомеры и глициновые аналоги: для ГД-23 соединения ГД-25, ГД-69 и ГД-39, ГД-56 соответсвенно, а для ГД-102 соединения ГД-123, ГД-128 и ГД-125, ГД-129 соответсвенно. Для выяснения влияния природы N-замещения синтезировали аналоги с укороченной цепью фенилалканоильного заместителя (ГД-36, ГД-57, ГД-108), с удлиненной цепью (ГД-28), а для ГД-102 дополнительно получено соединение без ароматического ядра в цепи (ГД-107). Для выявления роли последовательности а.о. были синтезированы 5 замещенных дипептидов, содержащие Leu-Trp-последовательность в своей структуре

(ГД-136, ГД-138, ГД-139, ГД-140 и ГД-141) (см. схему 1). Всего было синтезировано неописанных 26 целевых соединений.

ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ

Анксиолитическая активность дипептидов ГД-23 и ГД-102 в тестах ОП и ПКЛ[1]

К фармакологическому анализу полученных дипептидов приступили, исходя из того, что Алпидем и другие лиганды TSPO обладает выраженной анксиолитической активностью.

В тесте ОП за меру анксиолитического эффекта принимают увеличение общей двигательной активности (ОДА), рассчитанной как сумма количества квадратов, пересеченных на периферии арены (ПА), в центральных областях (ЦА), количества заходов в центр (Ц) и количества вертикальных стоек (В). Анксиолитическую активность ГД-23 в тесте ОП изучали в интервале доз 0,05-5,00 мг/кг при внутрибрюшинном (в/б) введении. Показано, что этот дипептид обладает активностью в дозах 0,05; 0,1; 0,5 и 1,0 мг/кг с наиболее выраженным эффектом в дозе 0,1 мг/кг (табл. 3). Как видно из таблицы эффект имеет куполообразную форму дозовой зависимости, что характерно для пептидов.

Таблица 3. Анксиолитическая активность дипептида ГД-23 в тесте ОП у мышей BALB/c при внутрибрюшинном введении

Дозы ГД-23, мг/кг	ПА	ЦА	Ц	В	ОДА
Контроль	16,00 (9,30)	0,25 (0,45)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	16,25 (9,22)
0,05	29,67 (9,24)**	7,67 (5,05)***	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	37,33 (14,04)**
0,1	38,13 (20,48)**	6,75 (4,94)***	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	44,88 (19,66)***
0,5	35,50 (8,33)***	5,63 (5,97)**	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	41,13 (13,05)***
1,0	35,00 (19,76)*	2,38 (2,20)*	0,00 (0,00)	0,13 (0,35)	37,38 (19,96)***
5,0	27,00 (13,79)	0,38 (0,52)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	27,38 (13,88)
p(ANOVA)	0,0042	0,000	1	1	0,0004

Примечание: ПА – количество секторов, пересеченных на периферии, ЦА – количество секторов, пересеченных в центре, Ц – количество выходов в центр, В – количество вертикальных стоек, ОДА – общая двигательная активность, ** $p<0,01$, *** $p<0,001$ статистически значимые различия по сравнению с группой «Контроль» согласно критерию Краскела-Уоллеса)

Дипептид ГД-23 сохранял анксиолитическую активность и при пероральном введении в дозах 0,1-5,0 мг/кг в тесте ОП у мышей BALB/c, наиболее выраженную активность имел в дозе 5,0 мг/кг, увеличивая значения ОДА в семь раз по сравнению с контролем.

Дипептид ГД-102 в тесте ОП показал наличие анксиолитической активности в интервале доз 0,01-1.0 мг/кг в/б у мышей BALB/c (табл. 4).

[1] Здесь и далее исследование анксиолитической активности в тестах ОП и ПКЛ выполнено совместно с лабораторией фармакогенетики, зав. лаб. академик РАН Середенин С.Б., научная группа д.м.н. профессора РАН Ярковой М.А., ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Таблица 4. Анксиолитическая активность дипептида ГД-102 в тесте ОП у мышей BALB/c при внутрибрюшинном введении.

Дозы ГД-102, мг/кг	ПА	ЦА	Ц	В	ОДА
Контроль 1	15,88 (7,75)	0,50 (0,53)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	16,38 (8,07)
0,01	36,75 (14,35)*	6,25 (6,88)*	0,25 (0,46)	0,50 (0,53)	43,75 (19,11)*
0,05	47,50 (20,45)*	3,75 (4,06)	0,00 (0,00)	0,50 (0,53)	51,75 (22,99)*
Контроль 2	5,50 (3,51)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	5,50 (3,51)
0,1	10,75 (4,46)*	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	10,75 (4,46)*
0,5	8,50 (3,07)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8,63 (3,16)
1,0	8,00 (3,63)	1,00 (1,41)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	9,00 (3,78)
5,0	7,13 (3,56)	0,38 (1,06)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	7,50 (3,21)
p (ANOVA)	0,0868	0,0363	1,000	1,000	0,0911

Примечание: Данные представлены в виде M(SD), где M-среднее арифметическое; SD-стандартное отклонение; * p<0,05(статистически значимые различия по сравнению с группой «Контроль» согласно критерию Краскела-Уоллеса).

Анксиолитический эффект ГД-23 и ГД-102 был подтвержден в тесте ПКЛ у мышей CD1. О наличии активности свидетельствует увеличение процента времени пребывания в открытых рукавах. ГД-23 проявлял эффект в дозах 0,5 и 1,0 мг/кг в/б (табл. 5). ГД-102 проявлял эффект в дозах 0,1 и 0,5 мг/кг (табл. 5). Причем по выраженности эффекта оба дипептида не уступали диазепаму (1,0 мг/кг), увеличивая процент времени в открытых рукавах примерно в 6 раз.

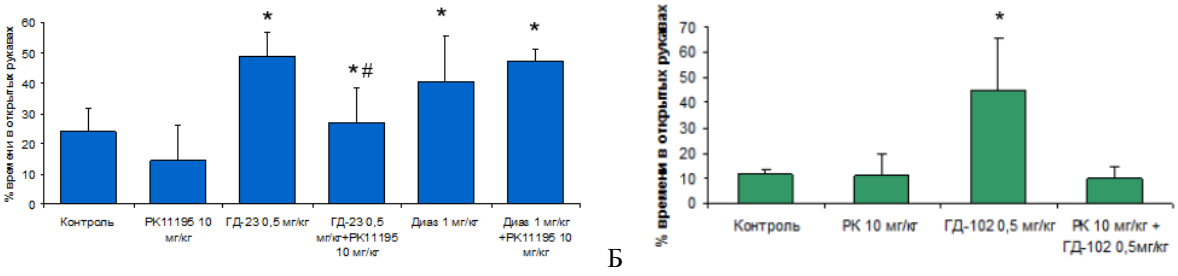
Таблица 5. Анксиолитическая активность дипептидов ГД-23 и ГД-102 в тесте ПКЛ у мышей CD-1 при внутрибрюшинном введении

Вещество	Доза мг/кг, в/б	Время, сек		% Времени, проведенного в открытых рукавах
		Открытые рукава	Закрытые рукава	
ГД-23	Контроль	14,25 (7,21)	232,88 (38,16)	6,06 (3,56)
	0,1	81,88***(32,40)	146,75***(43,57)	36,58*** (15,71)
	0,5	77,25***(42,53)	198,13(50,87)	28,48*** (16,51)
	1,0	20,50(6,05)	235,25(19,51)	8,00 (2,36)
	5,0	14,25(7,21)	232,88(38,16)	6,06 (3,56)
	p (ANOVA)	0,00001	0,0014	0,00001
ГД-102	Контроль	8,50 (14,08)	259,25(16,45)	3,12 (5,04)
	0,1	58,75 (62,21)*	206,38 (56,76)*	21,69 (22,37)*
	0,5	64,63 (47,73)*	198,88 (39,97)*	24,04 (16,85)*
	1,0	44,00 (26,53)*	214,38 (26,53)*	16,95 (10,27)*
	p (ANOVA)	0,0106	0,0080	0,0102
Диазепам	Контроль	35,25 (23.84)	168,50 (33,99)	16.55 (7,97)
	1,0	74,88(43.89)*	142,38 (25,52)	33,23 (12,72)*
	p (ANOVA)	0,0087	0,0742	0,0063

Примечания: Данные представлены в виде M(SD), где M-среднее арифметическое; SD-стандартное отклонение; число животных = 8 в каждой группе;* p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001 (статистически значимые различия по сравнению с группой «Контроль» согласно двухфакторному тесту ANOVA).

Механизм действия дипептидов ГД-23 и ГД-102

Для доказательства, что эффекты полученных дипептидов связаны с TSPO рецептором, был проведен фармакологический ингибиторный анализ с использованием антагониста TSPO, соединения PK11195, и ингибиторов биосинтеза нейростероидов. Предварительное введение PK11195 полностью блокировало анксиолитический эффект как ГД-23 так и ГД-102 (рис. 5 а, б), что подтверждает, что эффекты являются TSPO-опосредованными. Интересно отметить, что эффект диазепама в этих условиях не блокировался.

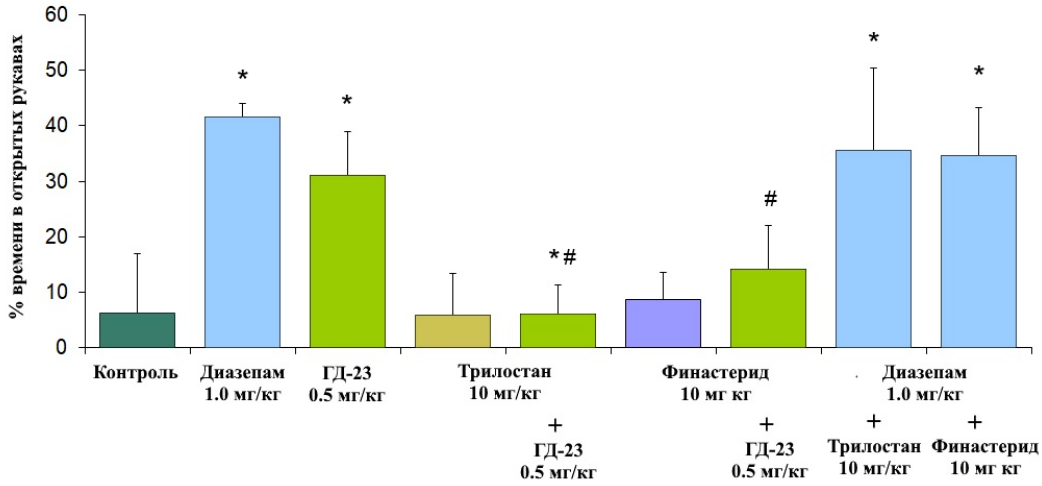


А Б

*Примечание: * p<0,05 статистически значимые различия по сравнению с группой «Контроль» согласно двухфакторному тесту ANOVA, # p<0,05 статистически значимые различия по сравнению с группой «ГД-23» согласно двухфакторному тесту ANOVA*

Рисунок 5 - а) Влияние антагониста TSPO, соединения PK-11195, на анксиолитическую активность ГД-23 в тесте ПКЛ у мышей CD1. б) Влияние антагониста TSPO, соединения PK-11195, на анксиолитическую активность ГД-102 в тесте ПКЛ у мышей CD1

Ингибиторы нейростероидгенеза (трилостан и финастерид) при введении за полчаса до ГД-23 (0,5 мг/кг в/б) полностью блокировали его анксиолитический эффект в тесте ПКЛ у мышей CD1 в отличии от препарата сравнения диазепама (1,0 мг/кг в/б) (рис.6).



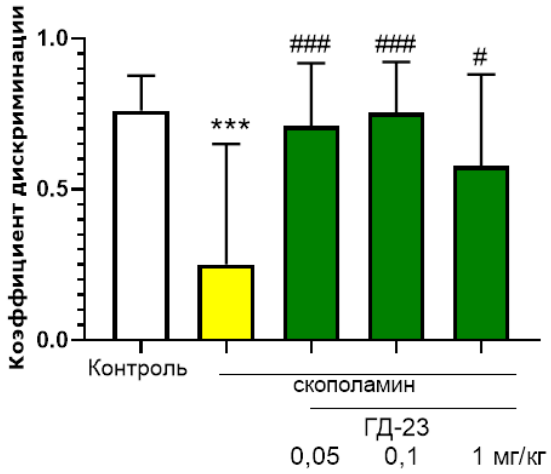
*Примечание: * p<0,05 статистически значимые различия по сравнению с группой «Контроль» согласно двухфакторному тесту ANOVA, # p<0,05 статистически значимые различия по сравнению с группой «ГД-23» согласно двухфакторному тесту ANOVA*

Рисунок 6 - Влияние ингибиторов биосинтеза нейростероидов, трилостана и финастерида, на анксиолитический эффект ГД-23 в тесте ПКЛ у мышей ICR.

Таким образом, показано, что анксиолитическая активность полученных дипептидов зависит как от взаимодействия с TSPO рецептором, так и от стероидогенеза.

Дополнительные фармакологические эффекты дипептидов ГД-23 и ГД-102

Для ГД-23 была выявлена **ноотропная активность**[2]**.** Дипептид ГД-23 в дозах 0,05 и 0,1 и 1,0 мг/кг в/б статистически значимо противодействовал скополаминовой амнезии в тесте РНО у крыс с наиболее выраженным эффектом в дозе 0,1 мг/кг (рис.7). Антагонист TSPO PK11195 снимал эффект ГД-23, что свидетельствует о вовлеченности TSPO в антиамнестическое действие ГД-23 (табл. 6).



*Примечание: Коэффициент дискриминации рассчитывали по формуле: (а-б)/(а+б), где а – время исследования нового объекта (с), б – знакомого объекта (с). Ск – скополамин. Данные представлены в виде средних и стандартных отклонений. *** - p<0,001 по сравнению с контролем; ### - p<0,001, # - p<0,05 по сравнению со скополамином (однофакторный ANOVA, тест Данна).*

Рисунок 7 - Ноотропный эффект ГД-23 в тесте распознавания нового объекта в условиях скополаминовой амнезии у крыс

Таблица 6. Антагонист TSPO PK11195 противодействует антиамнестическому эффекту ГД-23 в условиях скополаминовой амнезии у крыс тесте распознавания нового объекта

Группа	Число животных в группе	Коэффициент дискриминации
Контроль	8	0,8 (0,75–0,9)
Скополамин	9	0,08 (0,03-0,24)**
Скополамин + ГД-23	10	0,66 (0,52-0,95)#
Скополамин + ГД23 + PK11195	9	0,14 (-0,1-0,42)^
Скополамин + PK11195	7	0,4 (0,23-0,44)
PK11195	6	0,8 (0,64-0,99)

Примечание. Коэффициент дискриминации рассчитывали по формуле: (а-б)/(а+б), где а – время исследования нового объекта (с), б – время исследования знакомого объекта (с). Данные представлены в виде медиан и интерквартильных интервалов. ** - p<0,01 по сравнению с контролем, #- p<0,05 по сравнению с группой «Скополамин», ^ - p<0,05 по сравнению с группой «Скополамин + ГД23 + PK11195» (критерий Краскела-Уоллиса с последующими множественными сравнениями с использованием теста Данна).

Таким образом, ГД-23 обладает ноотропным эффектом и этот эффект, также, как и анксиолитический, опосредован его взаимодействием с TSPO.

У ГД-102 была выявлена **антидепрессивная активность.** Установлено, что ГД-102 в тесте вынужденного плавания по Порсолту достоверно снижает время иммобильности животных в дозах 0,01 и 0,05 мг/кг в/б по сравнению с контролем (табл. 7).

Таблица 7. Антидепрессивная активность ГД-102 в тесте Порсолта у мышей BALB/c

Группа животных/вещество/доза	Время иммобильности, с (средние и стандартные ошибки средних)
Контроль	239±10
ГД-102 (0,01 мг/кг, в/б)	**205±8***
ГД-102 (0,05 мг/кг, в/б)	**198±8****

Примечание: данные представлены в виде средних и стандартных отклонений. * -p=0,0399, ** - p=0,0098 по сравнению с группой «Контроль» (однофакторный ANOVA, тест Даннета).

[2] Исследование ноотропной и антидепрессивной активностей выполнено совместно с к.б.н. в.н.с. лаборатории пептидных биорегуляторов Поварниной П.Ю, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Острая токсичность дипептидов ГД-23 и ГД-102[3]

Изучение острой токсичности ГД-23 и ГД-102 проводили на беспородных белых мышах-самцах массой 18-20 г. Оба дипептида при введении в дозе 1000 мг/кг в/б не вызывали гибели экспериментальных животных. LD_{50} не удалось определить из-за невозможности введения бóльших доз. Таким образом, $LD_{50} > 1000$ мг/кг в/б.

Изучение связи структуры и анксиолитической активности

Для выявления фармакофорных элементов дипептидного лиганда TSPO было проведено изучение связи структуры и анксиолитической активности в рядах аналогов ГД-23 и ГД-102 (табл. 8).

Таблица 8. Анксиолитическая активность потенциальных дипептидных лигандов TSPO у мышей Balb/c в тесте открытого поля со световой вспышкой

Соединение, № (шифр)	Доза, мг/кг в/б	ПА	ЦА	Ц	В	ОДА
Аналоги дипептида ГД-23 ($PhCH_2OC(O)$-L-Trp-L-Ile-NH_2)						
ГД-23	Контроль	16,00 (9,30)	0,25 (0,45)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	16,25 (9,22)
	0.05	29,67 (9,24)**	7,67 (5,05)***	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	37,33 (14,04)**
	0,1	38,13 (20,48)**	6,75 (4,94)***	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	44,88 (19,66)***
	0.5	35,50 (8,33)***	5,63 (5,97)**	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	41,13 (13,05)***
	1.0	35,00 (19,76)*	2,38 (2,20)*	0,00 (0,00)	0,13 (0,35)	37,38 (19,96)***
	5.0	27,00 (13,79)	0,38 (0,52)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	27,38 (13,88)
	p (ANOVA)	0,0042	0,000	1	1	0,0004
Стереоизомеры						
ГД-25 (D,L)	Контроль	7,38 (5,13)	0,63 (1,77)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8,00 (5,76)
	0,1	7.50 (6.35)	1.38 (2.56)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	8.88 (8.37)
	0.5	6.25 (3.20)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	6.25 (3.20)
	5.0	7.13 (5.74)	1.50 (3.12)	0.13 (0.35)	0.00 (0.00)	8.75 (5.50)
	p (ANOVA)	0.997	0.442	0.406	1.000	0.151
ГД-69 (L,D)	Контроль	11,27 (6,86)	2,00 (2,65)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	13,27 (9,16)
	0.01	9,88 (6,98)	0,13 (0,35)*	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	10,00 (7,01)
	0.1	23,75 (15,53)	6,00 (2,56)*	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	29,75 (14,29)*
	0.5	34,13 (11,62)*	6,38 (6,35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	40,50 (15,13)*
	1.0	33,38 (8,28)*	4,50 (7,54)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	37,88 (13,85)*
	5.0	12,50 (6,85)	1,75 (1,91)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	14,25 (6,96)
	p (ANOVA)	0,000	0,002	1,000	1,000	0,000
Глициновый скан						
ГД-39 (Trp-Gly)	Контроль	10.50 (4.93)	0.38 (0.74)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	10.88 (5.30)
	0.1	10.13 (4.85)	1.13 (2.80)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	11.25 (4.53)
	0.5	7.38 (4.31)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	7.38 (4.31)
	1.0	9.50 (7.23)	0.63 (1.41)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	10.13 (7.32)
	5.0	7.25 (3.99)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	7.25 (3.99)
	p (ANOVA)	0.7067	0.1869	1.000	1.000	0.4065

[3] Исследование острой токсичности выполнено совместно с отделом лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий».

Таблица 8. Анксиолитическая активность потенциальных дипептидных лигандов TSPO у мышей Balb/c в тесте открытого поля со световой вспышкой

Соединение, № (шифр)	Доза, мг/кг в/б	ПА	ЦА	Ц	В	ОДА
Глициновый скан						
ГД-56 (Gly-Ile)	Контроль	18.13 (10.72)	1.75 (1.83)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	19.88 (11.27)
	0.1	30.67 (8.07)	4.50 (1.87)*	0.33 (0.52)	0.50 (0.84)	36.00 (8.63)*
	1.0	20.00 (12.30)	16.00 (5.62)***	0.83 (0.75)*	0.00 (0.00)	36.83 (13.64)*
	p (ANOVA)	0.2298	0.0009	0.0284	0.0858	0.0516
Модификация N-конца						
ГД-28 (фенил-гексаноил)	Контроль	7.88 (4.58)	0.13 (0.35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8.00 (4.78)
	0.1	11.63 (6.65)	1.13 (2.80)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	12.75 (7.96)
	0.5	4.75 (1.49)	0.25 (0.46)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	5.00 (1.31)
	1.0	14.00 (4.28)*	0.50 (1.07)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	14.50 (3.78)*
	5.0	8.25 (3.37)	0.13 (0.35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8.38 (3.58)
	p (ANOVA)	0.004	0.897	1.000	1.000	0.0004
ГД-36 (фенил-ацетил)	Контроль	3,50 (2,78)	1,50 (2,07)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	5,13 (3,94)
	0.1	8,75 (7,29)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8,88 (7,34)
	0.5	8,25 (4,50)	1,00 (1,51)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	9,25 (4,56)
	1.0	4,38 (5,13)	1,63 (1,60)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	6,00 (5,45)
	5.0	3,50 (3,46)	1,38 (2,13)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	4,88 (5,25)
	p (ANOVA)	0,096	0,342	0,406	1,000	0,29
ГД-57 (фенил-пропионил)	Контроль	18.13 (10.72)	1.75 (1.83)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	19.88 (11.27)
	0.1	32.50 (3.73)*	2.17 (2.32)	0.00 (0.00)	0.00 (0.00)	34.67 (1.97)*
	0.5	19.67 (7.20)	3.17 (4.26)	0.17 (0.41)	0.00 (0.00)	23.00 (11.38)
	1.0	36.17 (9.52)**	1.50 (2.07)	0.00 (0.00)	0.17 (0.41)	37.00 (8.90)*
	p (ANOVA)	0.006	0.9045	0.343	0.343	0.0197
Модификация C-конца						
ГД-30 (OMe)	Контроль	7.88 (4.58)	0.13 (0.35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8.00 (4.78)
	0.1	8.88 (6.22)	0.38 (1.06)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	9.25 (6.58)
	1.0	9.38 (8.05)	0.88 (2.47)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	10.25 (9.39)
	0.5	9.25 (3.88)	0.50 (0.76)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	9.75 (4.03)
	5.0	8.75 (3.73)	0.88 (1.64)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	9.63 (4.21)
	p (ANOVA)	0.943	0.744	1.000	1.000	0.878
ГД-32 (OH)	Контроль	5.88 (3.00)	0.75 (1.75)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	6,63 (3,34)
	0.1	12.88 (7.20)	1.25 (1.75)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	14,13 (8,18)
	0.5	6.13 (1.73)	0.00 (0.00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	6,13 (1,73)
	1.0	12.75 (6.43)	1.13 (2.80)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	13,88 (7,28)
	5.0	11.50 (4.84)*	0.00 (0.00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	11,50 (4,84)*
	p (ANOVA)	0.284	0.119	1,000	1,000	0,428
ГД-33 ($NHCH_3$)	Контроль	5,88 (3,00)	0,75 (1,75)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	6,63 (3,34)
	0.1	8,75 (10,71)	1,00 (2,07)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	9,75 (11,80)
	0.5	11,50 (7,50)	1,25 (1,91)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	12,75 (8,89)
	1.0	4,00 (2,93)	0,38 (0,74)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	4,38 (3,11)
	5.0	6,38 (5,80)	1,38 (2,56)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	7,75 (7,59)
	p (ANOVA)	0,157	0,945	1,000	1,000	0,177

Таблица 8. Анксиолитическая активность потенциальных дипептидных лигандов TSPO у мышей Balb/c в тесте открытого поля со световой вспышкой

Соединение, № (шифр)	Доза, мг/кг в/б	ПА	ЦА	Ц	В	ОДА
Аналоги дипептида ГД-102 ($Ph(CH_2)_2C(O)$-L-Trp-L-Leu-NH_2)						
ГД-102	Контроль 1	15,88 (7,75)	0,50 (0,53)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	16,38 (8,07)
	0,01	36,75 (14,35)*	6,25 (6,88)*	0,25 (0,46)	0,50 (0,53)	43,75 (19,11)*
	0,05	47,50 (20,45)*	3,75 (4,06)	0,00 (0,00)	0,50 (0,53)	51,75 (22,99)*
	Контроль 2	5,50 (3,51)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	5,50 (3,51)
	0,1	10,75 (4,46)*	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	10,75 (4,46)*
	0,5	8,50 (3,07)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	8,63 (3,16)
	1,0	8,00 (3,63)	1,00 (1,41)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	9,00 (3,78)
	5,0	7,13 (3,56)	0,38 (1,06)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	7,50 (3,21)
	p (ANOVA)	0,0868	0,0363	1,000	1,000	0,0911
Стереоизомеры						
ГД-128 (D,L)	Контроль	35,88 (9,03)	2,38 (2,62)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	38,25 (10,98)
	0,1 мг/кг	37,13 (16,23)	18,00 (10,42)*	0,75 (1,16)	0,00 (0,00)	55,88 (21,43)
	0,5 мг/кг	42,75 (16,02)	15,75 (9,27)*	1,38 (1,77)	0,00 (0,00)	59,88 (10,29)*
	1,0 мг/кг	35,25 (11,62)	21,88 (12,64)*	1,63 (2,39)*	0,13 (0,35)	58,88 (17,55)
	p (ANOVA)	0,7884	0,0009	0,0807	0,3916	0,0599
ГД-123 (L,D)	Контроль	35,88 (9,03)	2,38 (2,62)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	38,25 (10,98)
	0,1 мг/кг	23,00 (15,25)	1,25 (1,49)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	24,25 (15,10)
	0,5 мг/кг	23,63 (20,87)	4,13 (7,18)	0,13 (0,35)	0,13 (0,35)	28,00 (25,82)
	1,0 мг/кг	23,13 (20,59)	5,38 (9,61)	0,50 (1,41)	0,13 (0,35)	29,13 (21,31)
	p (ANOVA)	0,1998	0,8590	0,5583	0,5587	0,3491
Глициновый скан						
ГД-129 (Gly-Leu)	Контроль	35,88 (9,03)	2,38 (2,62)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	38,25 (10,98)
	0,1 мг/кг	32,38 (11,12)	3,75 (3,77)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	36,25 (13,68)
	0,5 мг/кг	45,88 (10,43)	13,63 (11,87)*	0,50 (0,76)	0,50 (0,76)	60,50 (18,74)*
	p (ANOVA)	0,0715	0,0294	0,1258	0, 3792	0,0299
ГД-125 (Trp-Gly)	Контроль	35,88 (9,03)	2,38 (2,62)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	38,25 (10,98)
	0,1 мг/кг	34,75 (11,02)	5,63 (5,42)	0,38 (0,74)	0,00 (0,00)	40,75 (9,79)
	0,5 мг/кг	56,75 (17,89)*	8,50 (5,18)*	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	65,38 (21,57)*
	1,0 мг/кг	24,88 (14,81)	24,88 (19,53)*	1,50 (1,60)*	0,00 (0,00)	51,25 (11,71)*
	p (ANOVA)	0,0022	0,0058	0,0198	1,0000	0,0032
Модификация N-конца						
ГД-107 (фенил-ацетил)	Контроль	26,00 (10,36)	3,38 (3,07)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	29,38 (11,70)
	0,1 мг/кг	55,88 (17,04)*	3,75 (2,87)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	59,63 (15,71)*
	0,5 мг/кг	54,38 (21,44)*	0,88 (1,36)	0,00 (0,00)	0,25 (0,46)	55,50 (22,67)*
	1,0 мг/кг	48,75 (13,38)*	2,38 (4,21)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	51,25 (17,45)*
	p (ANOVA)	0,0057	0,0993	0,3916	0,1023	0,0068
ГД-108 (капроил)	Контроль	26,00 (10,36)	3,38 (3,07)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	29,38 (11,70)
	0,1 мг/кг	24,88 (10,97)	1,50 (1,41)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	26,38 (11,62)
	0,5 мг/кг	46,00 (13,37)*	0,25 (0,46)*	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	46,25 (13,41)*
	1,0 мг/кг	59,50 (14,66)*	3,50 (5,04)	0,13 (0,35)	0,50 (1,07)	63,63 (12,53)*
	p (ANOVA)	0,0003	0,0193	0,3916	0,1026	0,0002

Таблица 8. Анксиолитическая активность потенциальных дипептидных лигандов TSPO у мышей Balb/c в тесте открытого поля со световой вспышкой

Соединение, № (шифр)	Доза, мг/кг в/б	ПА	ЦА	Ц	В	ОДА
Модификация С-конца						
ГД-116 (OCH_3)	Контроль	26,00 (10,36)	3,38 (3,07)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	29,38 (11,70)
	0,1 мг/кг	60,88 (18,53)*	7,50 (10,81)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	68,50 (22,65)*
	0,5 мг/кг	44,75 (10,65)*	11,13 (12,24)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	56,00 (20,34)*
	1,0 мг/кг	44,13 (17,37)*	4,25 (6,34)	0,13 (0,35)	0,00 (0,00)	48,50 (21,57)*
	p (ANOVA)	0,0033	0,1613	0,7846	1,000	0,0045
ГД-118 (OH)	Контроль	35,88 (9,03)	2,38 (2,62)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	38,25 (10,98)
	0,1 мг/кг	54,63 (21,75)*	15,13 (11,51)	0,50 (0,53)	0,00 (0,35)	70,38 (29,08)*
	0,5 мг/кг	36,63 (9,74)*	21,00 (11,21)	0,63 (0,74)	0,75 (1,04)	59,00 (20,31)*
	1,0 мг/кг	51,75 (14,80)*	27,88 (26,84)*	1,00 (1,31)*	0,63 (1,06)	81,25 (19,83)*
	p (ANOVA)	0,0481	0,0050	0,0626	0,0888	0,0063
ГД-119 ($NHCH_3$)	Контроль	26,00 (10,36)	3,38 (3,07)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	29,38 (11,70)
	0,1 мг/кг	44,50 (14,15)*	7,25 (7,69)	0,38 (0,74)	0,00 (0,00)	52,13 (18,47)*
	0,5 мг/кг	38,50 (9,32)*	31,38 (9,88)*	1,25 (1,28)*	0,00 (0,00)	71,13 (15,39)*
	1,0 мг/кг	67,25 (12,48)*	16,25 (23,39)*	0,50 (1,07)	0,00 (0,00)	84,00 (18,92)*
	p (ANOVA)	0,0002	0,0001	0,0192	1,000	0,0002
Аналог дипептида ГД-102 с обратной последовательностью а.о.(Leu-Trp)						
ГД-136 $Ph(CH_2)_2CO$-Leu-Trp-NH_2	Контроль	19,50 (8,60)	0,75 (0,89)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	20,25 (8,80)
	0,1	20,38 (8,42)	1,13 (1,13)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	21,50 (8,91)
	0,5	24,75 (8,84)	1,00 (1,60)	0,00 (0,00)	0,00 (0,00)	25,75 (9,72)
	1,0	22,00 (9,07)	0,88 (1,36)	0,00 (0,00)	0,25 (0,46)	23,13 (9,39)
	5,0	17,75 (7,29)	1,13 (1,81)	0,00 (0,00)	0,25 (0,46)	19,13 (8,08)
	p (ANOVA)	0,507	0,958	1,000	0,165	0,573

Примечание. ПА - число пересеченных квадратов на периферии; ЦА - число пересеченных квадратов в центральных областях; Ц - число заходов в центр; ВА - число вертикальных стоек; ОДА - суммарное число пересеченных квадратов вместе с числом вертикальных стоек; Количество животных в каждой группе-8; Данные представлены в виде S (SD), где S – среднее значение, SD – стандартное отклонение; *$p < 0.05$ критерий Краскела-Уоллеса

Как видно из таблицы, для проявления аксиолитической активности замещенных Trp-содержащих дипептидов важна природная L-конфигурация обоих а.о.: при поочередной замене каждого а.о. на D-изомер, активность снижалась, либо исчезала, как в случае ГД-23, так и в случае ГД-102.

При поочередной замене а.о. в обоих дипептидах на Gly активность сохраняется, но проявляется в больших дозах. Следовательно, наличие каждого из боковых радикалов а.о. (индольного и алифатического) играет важную роль в проявлении активности.

При варьировании N-фенилалканоильного заместителя в структуре аналогов ГД-23 удлинение цепи на 2 σ-связи приводит к снижению анксиолитической активности, а сокращение на 1 σ-связь приводит к потере активности. Варьирование С-замещения показало, что наиболее выраженные и достоверные значения ОДА имеет соединение с незамещенной амидной группой. Следовательно, наличие фенилалканоильного радикала, при котором расстояние между ароматическими фрагментами (фенильного и индольного ядер) равно 7 σ-связям и незамещенной амидной группы при С-конце является важным

структурным требованием для проявления анксиолитической активности дипептидного лиганда TSPO.

Варьирование N-фенилалканоильного заместителя в структуре аналогов ГД-102 показало, что сокращение длины цепи фенилалканоильного радикала на 1 σ-связь значимо не влияет на ОДА мышей. Отсутствие фенильного ядра в структуре N-заместителя приводило к повышению активных доз на 2 порядка. Модификация С-замещения приводило к уменьшению выраженности анксиолитического эффекта. Обращение последовательности а.о. в структуре дипептидного лиганда приводило к исчезновению анксиолитической активности.

Таким образом, изучение связи структуры и активности в ряду дипептидных лигандов показало важность природной L- конфигурации обоих а.о. и последовательности Trp-Leu в структуре дипептида, а также оптимальность незамещенной амидной группы при С-конце и фенилпропионильного остатка при N-конце для проявления анксиолитической активности. Эти данные позволили предположить, что в структуру эндогенного лиганда TSPO может входить фрагмент -Phe-Trp-Leu-. Анализ базы данных пептидов EROP-Moscow (A.A. Zamyatnin, et al. // *Nucleic acids research*. **2006**. V.34(1). P.261-266) показал, что из 19327 пептидов только два содержат последовательность Phe-Trp-Leu: Gastrin/cholecystokinin like peptide D1 (SEGGQDFWL) и Natalisin 2 (TLVMGSDGAFWLTR). Эти пептиды могут быть предшественниками активного трипептида H-L-Phe-L-Trp-L-Leu-NH_2. Этот трипептид был синтезирован, методом докинга и молекулярной динамики показано, что он хорошо встраивается в активный сайт TSPO аналогично классическому лиганду PK11195. Фармакологическое исследование трипептида H-L-Phe-L-Trp-L-Leu-NH_2 (шифр ГД-186) показало, что он обладает анксиолитической и антидепрессивной активностями в дозе 10 мг/кг в/б, а также нейропротекторной в концентрациях 10^{-5}-10^{-8}М.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

С использованием оригинальной стратегии пептидного дизайна (Drug-Based Peptide Design) и молекулярного докинга была получена новая группа фармакологически активных лигандов TSPO, представляющих собой замещенные триптофансодержащие дипептиды. Среди синтезированных соединений наиболее активными были дипептиды Z-L-Trp-L-Ile-NH_2 (ГД-23) и $Ph(CH_2)_2C(O)$-L-Trp-L-Leu-NH_2 (ГД-102), они обладали выраженной анксиолитической активностью в тестах ОП и ПКЛ на мышах при системном введении, включая пероральное, а также проявляли антидепрессивную и ноотропную активности. Дипептид ГД-102 обнаруживал активность в дозах 0,01-0,5 мг/кг в/б, а ГД-23 - в дозах 0,05 – 5,0 мг/кг в/б, п/о. Методом фармакологического ингибиторного анализа с использованием специфического антагониста TSPO, соединения PK11195, и ингибиторов нейростероидогенеза трилостана и финастерида, доказано, что фармакологические эффекты ГД-23 и ГД-102 зависят от взаимодействия с TSPO и от биосинтеза нейростероидов. Изучение связи структуры и анксиолитической активности в ряду аналогов ГД-23 и ГД-102 позволило предположить активную трипептидную последовательность -Phe-Trp-Leu-, которая может быть фрагментом эндогенного пептидного лиганда TSPO. Методом докинга и молекулярной динамики показано, что трипептид H-L-Phe-L-Trp-L-Leu-NH_2 (ГД-186) хорошо встраивается в активный сайт

TSPO. Этот трипептид проявляет in vivo анксиолитическую и антидепрессивную активности и in vitro нейропротекторную.

ВЫВОДЫ

1. Сконструированы оригинальные дипептидные лиганды транслокаторного белка TSPO – амид N-карбобензокси-L-триптофанил-изолейцина (ГД-23) и амид N-фенилпропионил-L-триптофанил-лейцина (ГД-102) как топологические аналоги непептидного лиганда Алпидема. Лигандные свойства ГД-23 и ГД-102 были верифицированы методом молекулярного докинга.

2. Сконструированные дипептиды синтезированы методом классического пептидного синтеза в растворе. Для полученных дипептидов ГД-23 и ГД-102 выявлена анксиолитическая активность у мышей в тесте открытого поля при остром внутрибрюшинном введении в интервале доз 0.05-1.0 мг/кг и 0.01-0.5 мг/кг соответсвенно. Для ГД-23 активность была показана также и при пероральном введении в интервале доз 0.1-5.0 мг/кг. Анксиолитическая активность для обоих дипептидов подтверждена в тесте приподнятого крестообразного лабиринта у мышей в дозах 0.1-0.5 мг/кг (ГД-23) и 0.1-1.0 мг/кг (ГД-102).

3. Синтезирован ряд аналогов для ГД-23 и ГД-102, отличающихся природой замещения по С- и N- концам, конфигурацией аминокислотных остатков, делетированным боковым радикалом а.о. и последовательностью а. о. В ряду синтезированных 26-и соединений изучена связь «структура-анксиолитическая активность». Для наиболее активного дипептида ГД-102 разработана оптимальная схема синтеза, которая может лечь в основу разработки лабораторного регламента.

4. Изучение связи «структура - анксиолитическая активность» в ряду аналогов ГД-23 и ГД-102 показало важность L-конфигурации обоих аминокислотных остатков, оптимальность NH_2-группы при С-конце и фенилалканоильной группы при N-конце дипептида на расстоянии равном 7 σ-связям от фенильного радикала до индольного радикала триптофана, а также важность Trp-Leu последовательности. Предложена структура трипептидной последовательности (-Phe-Trp-Leu-), возможного эндогенного пептидного лиганда TSPO.

5. Методом фармакологического ингибиторного анализа с использованием специфического антагониста TSPO, соединения PK-11195, показано, что фармакологические свойства лидерных дипептидов ГД-23 и ГД-102 обусловлены взаимодействием с TSPO.

6. На примере дипептида ГД-23 доказан стероидогенезный механизм анксиолитического действия в тесте приподнятого крестообразного лабиринта на мышах с использованием ингибиторов энзимов биосинтеза нейростероидов, трилостана и финастерида.

7. Дополнительно, для ГД-23 выявлена ноотропная активность в тесте распознавания нового объекта в условиях скополаминовой амнезии у крыс в дозах 0,05 – 0,5 мг/кг, а для ГД-102 выявлена антидепрессивная активность у мышей в тесте вынужденного плавания по Порсолту в дозах 0,01 и 0,05 мг/кг. Показано, что ноотропный эффект, как и в случае анксиолитического, блокируется специфическим антагонистом TSPO, соединением PK-11195. Оба дипептида являются малотоксичными, LD_{50} >1000 мг/кг у мышей.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Рекомендуется расширенное изучение фармакологических эффектов дипептидных лигандов TSPO, как потенциальных нейропсихотропных препаратов с нейростероидогенезным механизмом действия.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в рецензируемых научных изданиях

1. Гудашева, Т.А. Первый дипептидный лиганд транслокаторного протеина, обладающий анксиолитической активностью [Текст] / Т.А. Гудашева, **О.А. Деева**, Г.В. Мокров, С.А. Ярков, М.А. Яркова, С.Б. Середенин // «Доклады Академии наук». – 2015. – Т. 464, № 3. – С. 361-364.
2. Гудашева, Т.А. Зависимость аксиолитического действия дипептидного лиганда TSPO ГД-23 от биосинтеза нейростероидов [Текст] / Т.А. Гудашева, **О.А. Деева**, М.А. Яркова, С.Б. Середенин // «Доклады Академии наук». – 2016. – Т. 464, № 3. – С. 361-364.
3. Поварнина, П.Ю. Дипептидный лиганд транслокаторного белка ГД-23 проявляет анксиолитическую и ноотропную активность [Текст] / П.Ю. Поварнина, Т.А. Гудашева, **О.А. Деева**, С.А. Ярков, М.А. Яркова, С.Б. Середенин // «Acta Naturae». – 2015.- Т.7, №3. – С.120-125.
4. Gudasheva, T. A. Design, Synthesis and Anxiolytic Activity Evaluation of N-Acyl-tryptophanyl-Containing Dipeptides, Potential TSPO Ligands [Text] / Gudasheva T. A., **Deeva O. A.,** Mokrov G. V., Dyabina A. S., Yarkova M. A., Seredenin S. B // «Medicinal Chemistry». – 2019. – Т. 15. – №. 4. – С. 383-399.
5. **Деева О. А**. Новый дипептидный лиганд TSPO [Текст] / **О.А. Деева**, А.С. Пантилеев, И.В. Рыбина, М.А. Яркова, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // «Доклады Академии наук». – 2019. – Т. 484. – №. 2. – С. 228-232.
6. **Деева О. А**. Синтез и анализ зависимости анксиолитического эффекта от структуры лейцилтриптофановых лигандов 18 кДа транслокаторного белка [Текст] / **О.А. Деева**, А.С. Пантилеев, А.Г. Ребеко, И.В. Рыбина, М.А. Яркова, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // «Химико-фармацевтический журнал». – 2020. – Т. 54. – №. 6. – С. 24-34.
7. Gudasheva T. A. The New Dipeptide TSPO Ligands: Design, Synthesis and Structure–Anxiolytic Activity Relationship [Text] / Gudasheva T. A., **Deeva O. A.,** Pantileev A.S., Mokrov G.V., Rybina I.V., Yarkova M. A., Seredenin S. B // «Molecules». – 2020. – Т. 25. – №. 21. – С. 5132.
8. Mokrov G. V. The Ligands of Translocator Protein: Design and Biological Properties [Text] / Mokrov G. V., **Deeva O. A**., Gudasheva T. A. // «Current Pharmaceutical Design». – 2021. – Т. 27. – №. 2. – С. 217-237.
9. **Деева О.А.** Дипептидные лиганды TSPO [Текст] / **Деева О.А**., Яркова М.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б // «Химико-фармацевтический журнал». – 2022. – Т. 56. – №. 9. – С. 14-23.
10. **Деева О.А.** Разработка оптимальной схемы синтеза дипептидного лиганда TSPO, амида N-фенилпропионил-L-триптофанил–L-лейцина (ГД-102), потенциального

анксиолитика. [Текст] / **О.А. Деева** // «Фармакокинетика и фармакодинамика». - 2023. - № 4. - С. 83-94.

11. **Deeva O. A.** Tripeptide Phe-Trp-Leu-NH_2 – a putative endogenous ligand of TSPO: molecular modeling, synthesis and pharmacological activity [Text] / **Deeva O.A.,** Pantileev A.S., Kravtsova O.Y., Nikolaev S.V., Zefirov N.A., Povarnina P.U., Antipova T.A., Gudasheva T.A., Dorofeev V.L. // «Mendeleev Communications».-2024.- Т. 34 –№5. С.682-684.

Патенты

1. Пат. 2573823 Российская Федерация, МПК C07K 5/078, A61K 38/05, A61P 25/28. Замещенные дипептиды с нейропсихотропной активностью [Текст] / Середенин С.Б., **Деева О.А.,** Гудашева Т.А., Мокров Г.В., Ярков С.А., Яркова М.А., Жердев В.П., Алексеев К.В., Дурнев А.Д., Незнамов Г.Г; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». – № заявл. 2014111398, 26.03.2014; опубл. 27.01. 2016. Бюл. № 3.
2. Пат. 2756772 Российская Федерация, МПК C07K5/78, C07K5/62, A61K38/05, A61P25/22, A61P25/24**.** Дипептидные лиганды TSPO, обладающие нейропсихотропной активностью [Текст] / Середенин С.Б., **Деева О.А**., Гудашева Т.А., Яркова М.А., Поварнина П.Ю., Дурнев А.Д.; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». – № заявл. 2018143150, 06.12.2018; опубл. 05.10.2021. Бюл. № 28.
3. Пат. 2757476 Российская Федерация, МПК C07K 5/062, A61K 38/05, A61P 25/00. Лейцилтриптофановые лиганды TSPO, обладающие анксиолитической активностью [Текст] / Середенин С.Б., **Деева О.А.**, Яркова М.А., Гудашева Т.А.; заявитель и патентообладатель ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». – № заявл. 2020113978, 14.04.2020, опубл.18.10.2021 Бюл. № 29.
4. Пат. 2823022 Российская Федерация, МПК C07K 5/08, 5/087, A61K 38/06. Трипептид обладающий нейропсихотропной активностью [Текст] / **Деева О.А.**, Мокров Г.В., Пантилеев А.С., Поварнина П.Ю., Антипова Т.А., Гудашева Т.А, Дорофеев В.Л. заявитель и патентообладатель ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий». – № заявл. 2023131687, 04.12.2023, опубл.17.07.2024 Бюл. № 20.

Тезисы конференций

1. **Deeva O.A.** Dipeptide Ligands of Translocator Protein [Text] / **O.A. Deeva,** S.A. Yarkov**,** T.A. Gudasheva, S.B. Seredenin // Journal of Peptide Science, Abstracts of 33rd European Peptide Symposium, Sofia (Bulgaria) – 2014. – V. 20, Issue 1. – P. 229.
2. **Deeva O.A.** Design, Synthesis and Pharmacological Evaluation of Dipeptide Analogs of Alpidem, Potential Ligands of TSPO Receptor [Text] / **O.A. Deeva,** S.A. Yarkov, M.A. Yarkova, T.A. Gudasheva, S.B. Seredenin // Book of abstracts MedChem-2015. – 2015. – Novosibirsk. - P. 164.
3. **Деева О.А.** Дизайн, синтез и изучение связи структура-анксилотическая активность в ряду потенциальных дипептидных лигандов TSPO [Текст] / **О.А. Деева**, С.А. Ярков, М.А. Яркова, А.Г. Ребеко, Т.А. Гудашева // Материалы VII Российского симпозиума «Белки и пептиды». – Новосибирск. - 2015. – С. 294.

4. **Deeva O.A.** Design and pharmacological profile of novel dipeptide TSPO receptor ligand [Text] / **O.A. Deeva,** G.V. Mokrov, S.A. Yarkov, M.A. Yarkova, P.Y. Povarnina, T.A. Antipova, T.A. Gudasheva, S.S. Seredenin // 23th National Meeting on Medicinal Chemistry. – 2015. - Salerno (Italy). - P. 104.
5. **Deeva O.A.** Design, synthesis and pharmacological activity of dipeptide TSPO ligands [Text] / **O.A. Deeva**, T.A. Gudasheva, M.A. Yarkova, S.B. Seredenin // BIT's 6th Annual International Congress of Medichem-2016, Nanjin (China), Conference Abstract Book, P. 417.
6. **Deeva O.A.** Mechanism of anxiolytic-like effect of GD-23, the dipeptide TSPO ligand [Text] / **O.A. Deeva**, M.A. Yarkova, T.A. Gudasheva, S.B. Seredenin // J. of Peptide Science. Abstracts of 34rd European Peptide Symposium, Leipzig (Germany) – 2016. – V.22, Issue 52. - S. 161.
7. **Деева О.А.** Новый дипептидный лиганд TSPO: синтез и анксиолитическая активность [Текст] / **О.А. Деева**, М.А. Яркова, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Научные труды VIII Российского симпозиума «Белки и пептиды». Acta Naturae: спецвыпуск / Под ред. В.Т. Иванова, А.Г. Габибова.– Москва, изд-во Перо. – 2017. – С. 151.
8. **Деева О.А.** Дипептидные лиганды TSPO: дизайн, синтез и фармакологическая активность [Текст] / О.А. Деева, Е.С. Левицкая, П.Ю. Поварнина, М.А. Яркова, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин // Материалы V съезда фармакологов России. Экспериментальная и клиническая фармакология, приложение. - Ярославль. - 2018. – С. 68.
9. **Deeva O.A**. Design, synthesis and the pharmacological properties study of the novel dipeptide TSPO ligand [Text] / **O.A. Deeva**, I.V. Rybina, M.A. Yarkova, T.A. Gudasheva // Abstract book 4th Russian Conference on Medicinal Chemistry. MedChem Russia 2019. – Ekaterinburg. - 2019. – P. 174.
10. **Деева О.А.** Дипептидные лиганды TSPO как потенциальные анксиолитические препараты [Текст] / О.А. Деева, И.В. Рыбина, М.А. Яркова, Т.А. Гудашева, С.Б. Середенин. // Сборник тезисов 5 Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2021» – Волгоград: Издательство ВолгГМУ, 2021. – С. 190.
11. **Деева О.А**. Дипептидные лиганды TSPO как потенциальные быстродействующие анксиолитики, свободные от побочных эффектов бензодиазепинов [Текст] / **О.А. Деева**, М. А. Яркова, Т. А. Гудашева, В. Л. Дорофеев // Сборник тезисов 6 Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2024» - Нижний Новгород: Издательство «Адмирал-Принт», 2024 – С.133.
12. **Деева О.А**. Дипептидные лиганды TSPO как фундамент для создания быстродействующих анксиолитиков, с ноотропным компонентом действия [Текст] / **О.А. Деева**, Гудашева, В. Л. Дорофеев // Сборник тезисов 7 Российской конференции по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2026» - Иркутск-2026 – С.34.