



# Исследование острой токсичности димерного дипептидного миметика нейротрофина-3 на мышах

Алексеев И. В., Мирошкина И. А., Сорокина А. В., Алексеева С. В., Волкова А. В., Захаров А. Д., Качалов К. С., Цорин И. Б., Колик Л. Г., Дурнев А. Д.

ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий»,  
Москва, Российская Федерация

## Аннотация

**Введение.** Низкомолекулярные миметики нейротрофина-3 (NT-3) рассматриваются как перспективные соединения для создания новых лекарственных средств. Одним из первых обязательных этапов доклинического исследования лекарств-кандидатов является оценка острой токсичности. Целью настоящей работы явилась оценка острой токсичности вновь синтезированного димерного дипептидного миметика 4-й петли NT-3 (соединение ГТС-301), вводимого внутривентриально самкам и самцам беспородных мышей.

**Материалы и методы.** ГТС-301 (гексаметилендиамид бис-(N-моноуксинил-аспарагинил-аспарагина, субстанция, в 1 % крахмале) вводили однократно внутривентриально мышам в максимально возможном объёме и максимально возможной концентрации. Животные контрольной группы получили эквивалентный объём 1 % раствора крахмала. Регистрировали сроки развития интоксикации животных с подробным описанием наблюдаемой клинической картины. Эвтаназию и патологоанатомическое вскрытие проводили на 15-е сутки после введения ГТС-301.

**Результаты.** В ходе 14-дневного наблюдения за мышами, получившими ГТС-301 в дозах 1 и 2 г/кг, установлена гибель только одного животного после введения ГТС-301 в максимально допустимом объёме и максимально возможной концентрации (2 г/кг), что не позволило рассчитать среднесмертельную дозу соединения для мышей. Морфологическая картина внутренних органов, обнаруженная при патологоанатомическом вскрытии всех экспериментальных животных, не отличалась от таковой, наблюдаемой у контрольных животных.

**Заключение.** Установлено, что соединение ГТС-301 при внутривентриальном введении является практически нетоксичным и по классификации Сидорова К. К. (1973 г.) может быть отнесено к 5 классу токсичности.

**Ключевые слова:** миметик нейротрофина-3; ГТС-301; острая токсичность; мыши

## Для цитирования:

Алексеев И. В., Мирошкина И. А., Сорокина А. В., Алексеева С. В., Волкова А. В., Захаров А. Д., Качалов К. С., Цорин И. Б., Колик Л. Г., Дурнев А. Д. Исследование острой токсичности димерного дипептидного миметика нейротрофина-3 на мышах. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2025;(1):60–68. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-60-68>. EDN: RTSIIW

Поступила: 15.01.2025. В доработанном виде: 20.02.2025. Принята к печати: 12.03.2025. Опубликовано: 31.03.2025.

## Study of acute toxicity of dimeric dipeptide mimetic of neurotrophin-3 in mice

Ivan V. Alekseev, Irina A. Miroshkina, Alexandra V. Sorokina, Svetlana V. Alekseeva, Anna V. Volkova, Aleksei D. Zakharov, Kirill S. Kachalov, Iosif B. Tsorin, Larisa G. Kolik, Andrei D. Durnev

Federal research center for innovator and emerging biomedical and pharmaceutical technologies, Moscow, Russian Federation

## Abstract

**Introduction.** Low-molecular-weight mimetics of neurotrophin-3 (NT-3) are considered promising compounds for the development of novel drugs. One of the first stages in the preclinical studies of candidate drugs is the assessment of acute toxicity. The aim of this work was to evaluate the acute toxicity of the novel dimeric dipeptide mimic of the fourth loop of NT-3 (compound GTS-301) after intraperitoneal administration in female and male outbred mice.

**Materials and methods.** GTS-301 (hexamethylenediamide bis-(N-monosuccinyl L-asparaginy L-asparagine), substance in 1 % starch solution) was administered acutely intraperitoneally to mice in the maximum possible volume and concentration. The control group received an equivalent volume of 1 % starch solution. The time course of intoxication development in mice was recorded, along with a detailed description of the observed clinical signs. Euthanasia and postmortem examination were performed on the 15th day after GTS-301 administration.

**Results.** During a 14-day observation of mice that received GTS-301 at doses of 1 and 2 g/kg, caused the death of only one animal after the administration of the GTS-301 to the maximum permissible volume and the maximum possible concentration (2 g/kg) that did not allow calculating the median lethal dose of the compounds for mice. The morphological examination of internal organs during postmortem dissection of all experimental animals did not differ from that observed in controls.

**Conclusion.** It was determined that dipeptide mimetic of neurotrophin-3 (GTS-301) after acute intraperitoneal administration concerns to be practically non-toxic substance. According to classification by Sidorov K.K. (1973), this compound may be related to 5th toxicity class.

**Keywords:** Neurotrophin-3; GTS-301; acute toxicity; mice

## For citations:

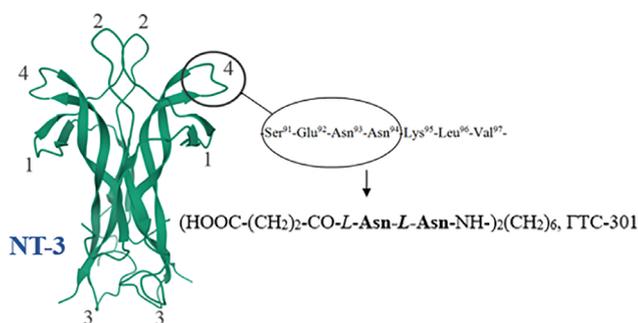
For citations: Alekseev IV, Miroshkina IA, Sorokina AV, Alekseeva SV, Volkova AV, Zakharov AD, Kachalov KS, Tsorin IB, Kolik LG, Durnev AD. Study of acute toxicity of dimeric dipeptide mimetic of neurotrophin-3 in mice. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2025;(1):60–68. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2025-1-60-68>. EDN: RTSIIW

Received: 15.01.2025. Revision received: 20.02.2025. Accepted: 12.03.2025. Published: 31.03.2025.

## Введение / Introduction

Нейротрофин-3 (NT-3), относящийся к семейству нейротрофических факторов, характеризуется стимулирующим действием на выживание и дифференцировку нейронов. NT-3 модулирует синаптический путь, включающий нейротрофиновый рецептор тирозинкиназу С (TrkC) и пресинаптический протеин тирозин-фосфатазу, являясь ключевым фактором в развитии возбуждающих синапсов, который может активировать различные внутриклеточные сигнальные каскады как положительный модулятор синаптогенеза [1]. Трудности доставки полноразмерных нейротрофинов в ЦНС млекопитающих при системном введении инициировали создание и разработку низкомолекулярных миметиков NT-3, которые рассматриваются как потенциальные средства для фармакотерапии психических расстройств [2].

На основе авторской стратегии создания фармакологически пригодных миметиков нейротрофинов на базе структуры наиболее экспонированного участка 4-й петли нейротрофина-3 сконструирован и синтезирован его оригинальный димерный дипептидный миметик гексаметилендиамид бис-(N-моносукцинил-L-аспарагинил-L-аспарагина) (ГТС-301) [3] (рис. 1).



**Рис. 1.** Структура гомодимера NT-3 (pdb ID: 1nt3) с указанием петель 1–4 [3] и схемой дизайна ГТС-301

**Fig. 1.** The structure of the NT-3 homodimer (pdb ID: 1 nt3) with the indication of loops 1–4 [3] and the design scheme of GTS-301

Спектр фармакологической активности ГТС-301 включает антидепрессантоподобные свойства [3], способность купировать соматические проявления отмены морфина у животных со сформированной зависимостью [4], а также нейропротективные свойства, выявленные на гиппокампальных клетках NT22 в условиях окислительного стресса [3].

Изучение распределения NT-3 в различных тканях у крыс с помощью иммуноферментного анализа позволило выявить широкое распространение нейротрофина в периферических тканях: в тимусе (31 нг/г), сердце (38 нг/г), диафрагме (21 нг/г), печени (45 нг/г), поджелудочной железе (892 нг/г), селезёнке (133 нг/г),

почках (40 нг/г) и надпочечниках (46 нг/г). У крыс NT-3 был обнаружен в высоких концентрациях в отдельных структурах головного мозга и в висцеральных мишенях узловых ганглиев, что указывает на возможные многочисленные биологически значимые роли NT-3 [5]. Оказалось, что NT-3 по разному регулирует синаптогенную активность TrkC: в концентрациях 10–25 нг/мл NT-3 усиливает увеличение плотности синапсов, вызванное избыточной экспрессией TrkC, а при повышении концентрации до 100 нг/мл NT-3 «отменяет» увеличение синаптической плотности [1]. Выявлен высокий уровень экспрессии TrkC-рецепторов в гладкомышечных клетках, в клетках лёгких, почек, сердца и сосудов [6, 7], где их биологическое действие остаётся до конца неясным. Согласно недавно полученным данным, интрамиокардиальные адипоциты и кардиомиоциты при аритмогенной дисплазии правого желудочка экспрессируют NT-3/TrkC, что позволяет предположить вовлечённость NT-3 и сопряжённых тирозинкиназных рецепторов в формировании электрической нестабильности миокарда [8].

Одним из первых обязательных этапов доклинического исследования перспективных лекарств-кандидатов является исследование острой токсичности. Целью настоящей работы явилась оценка острой токсичности вновь синтезированного димерного дипептидного миметика 4-й петли NT-3 (соединение ГТС-301), вводимого внутривнутрибрюшинно самкам и самцам беспородных мышей.

## Материалы и методы / Materials and methods

**Животные.** Исследование проводили на конвенциональных белых мышах из нелинейных популяций обоих полов в соотношении 1:1 (18 самок и 18 самцов) с начальной массой тела 18–20 г, возраст которых к началу эксперимента составлял 6–7 недель (Филиал «Андреевка» ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства»). Животных содержали в стандартных контролируемых условиях вивария (20–26 °С, 30–70 % относительная влажность, 12-часовой цикл освещения и 8–10-кратная смена объёма воздуха в час) в течение 5 дней до начала эксперимента в полипропиленовых клетках Т/3 (370×200×150 мм) по 6 особей с предоставлением комбикорма для лабораторных животных ПК-120-191 (ООО «МЭСТ», Москва, Россия) и фильтрованной водопроводной воды *ad libitum*. Все работы с лабораторными животными утверждены комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий» на предмет соответствия этическим принципам обращения с животными, выполнены в соответствии с ГОСТ 33044-2014 от 01.08.2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики» и Рекомендациями Коллегии Евразийской экономической комиссии от 14.11.2023 г. № 33.

**Препараты.** В эксперименте использовали субстанцию гексаметилендиамид бис-(N- моносуццинил-аспарагинил-аспарагина т.пл. 214–229 °С (с разл.);  $[\alpha]_{D22} - 20,2^\circ$  (с 1, DMSO)) (соединение ГТС-301), представляющую собой порошок белого цвета. Перед введением из субстанции готовили суспензию *ex tempore* дисперсионным методом на 1 % растворе крахмала.

ГТС-301 вводили однократно в дозах 1 и 2 г/кг внутрибрюшинно самкам и самцам мышей. Максимальная доза исследуемого соединения определялась максимально допустимым объёмом введения суспензии и его концентрацией, максимально возможной для технического прохождения через иглу. Животные контрольной группы однократно получили эквивалентный объём 1 % раствора крахмала, приготовленный непосредственно перед введением.

**Протокол исследования.** Наблюдение за контрольной и опытными группами мышей проводили в течение 14 суток. Первые 8 часов после введения препаратов каждая особь находилась в индивидуальной, прозрачной, пластиковой камере в целях непрерывного визуального наблюдения. Затем животных перемещали в клетки группового содержания, по 6 мышей в каждой. Дальнейшее наблюдение осуществляли ежедневно утром и вечером с целью выявления возможной гибели мышей. Оценивали общее состояние животных и особенности их поведения. Фиксировали следующие показатели: состояние шёрстного и кожного покрова; частота и глубина дыхания; ритм сердечных сокращений; угнетение исследовательского поведения и двигательной реакции (седация); возникновение активизации поведения (стимуляция); интенсивность и характер двигательной активности (гипо- или гиперактивность), наличие неврологического дефицита (нарушение координации движений, тремор и судороги); реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители; эмоциональная напряжённость и груминг; наличие корнеального рефлекса, ушного рефлекса и рефлекса Штрауба; а также любые другие возможные показатели, свидетельствующие о токсических эффектах.

Массу тела животных определяли перед введением ГТС-301 или 1 % раствора крахмала, в первую неделю ежедневно, в дальнейшем — один раз в неделю. Мышей взвешивали на электронных весах SPU 601 (ОНАУС Сорг.). Суточное потребление корма и воды мышами фиксировали до введения препаратов, в 1-е, 7-е и 14-е сутки, определяли суммарно по группе (клетке) посредством взвешивания, оставшегося в кормушке корма, и определения объёма выпитой из поилки воды (накануне фиксировали исходные значения показателей массы, корма и объёма воды).

Животных, павших в ходе исследования, вскрывали. Эвтаназию всех животных проводили способом дислокации шейных позвонков на 15-е сутки после однократного введения ГТС-301 или 1 % раствора

крахмала. При наружном осмотре павших мышей и выведенных из эксперимента животных оценивали их внешний вид, состояние кожного и шёрстного покровов, опорно-двигательного аппарата, естественных отверстий, видимых слизистых оболочек ротовой и носовой полости, конъюнктивы. В ходе патологоанатомического вскрытия с помощью макроскопической оценки исследовали головной мозг, органы дыхания, кровообращения, пищеварения, мочевыделения, репродукции, кроветворения, железы внутренней секреции.

Статистическую обработку полученных данных по динамике массы тела, потребления корма и воды проводили следующим образом. Нормальность распределения проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий проверяли с помощью критерия Левена для множественных сравнений. Так как некоторые выборки отличались от нормального распределения, были использованы непараметрические критерии. Для сравнения зависимых выборок использовали непараметрический аналог дисперсионного анализа повторных сравнений по Фридману с последующей обработкой, методом множественных сравнений по Даннету; для сравнения независимых выборок — непараметрический аналог однофакторного дисперсионного анализа по методу Краскела — Уоллиса с дальнейшей обработкой по Данну. Результаты были представлены в виде медиан и нижнего и верхнего квартилей. Различия считали статистически значимыми при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты и обсуждение / Results and discussion

Установлено, что ГТС-301 в дозе 1 г/кг не вызывает гибели животных. В группе, получившей ГТС-301 в дозе 2 г/кг, отмечена гибель одной мыши (самки) на второй день наблюдения.

В ходе эксперимента у мышей развивалась сходная клиническая картина. Первые 2–4 минуты после введения ГТС-301 у животных наблюдалась двигательная активность. Также в этот период регистрировали наличие выраженного местнораздражающего действия на внутрибрюшинное введение (мышцы втягивали бока, горбились и перемещались по клетке, вытягивая лапы так, чтобы не касаться животом пола). Затем отмечалось ухудшение состояния: мыши сидели неподвижно в углу. Периодически животные ложились, вытягивая задние лапы. У части мышей в этот же период наблюдали тремор, статическую атаксию и рефлекс Штрауба. Не было отмечено нарушений ушного и корнеального рефлексов. Когда через 8 часов животных перемещали в клетки группового содержания, все самки и самцы были активны и гиперактивны.

В течение всего 14-дневного периода исследования не было выявлено гибели мышей, за исключением самки № 4, найденной павшей в положении на животе утром на 2-е сутки после введения ГТС-301 в дозе

2 г/кг. Ухудшение её состояния (снижение активности, взъерошенность, сторбленность) и снижение массы тела на 20 % было зафиксировано в 1-е сутки эксперимента. Выжившие мыши на 2-е и 3-и сутки после введения ГТС-301 были взъерошены и слегка горбились, проявляли активность и гиперактивность. Исключением являлась самка № 1 (группа, получившая ГТС-301 в дозе 2 г/кг), у которой двигательная активность была понижена в течение всего времени наблюдения. Остальные мыши с 2 или 3 суток и до окончания эксперимента были активны. При этом их дыхание, сердечно-сосудистая деятельность, состояние шёрстного покрова, кожи и видимых слизистых оболочек соответствовали норме. Нарушений ушного и корнеального рефлексов, а также рефлекса Штрауба не отмечали.

В контрольной группе после введения 1 % раствора крахмала в объёме, соответствующем максимальному для введения данному виду животных, у мышей не наблюдалось снижения двигательной активности. Через 2–3 минуты у большинства мышей отмечали активный груминг. Состояние шерсти, кожи и видимых слизистых оболочек, а также реакция на внешние раздражители соответствовали норме. В течение первых суток наблюдения состояние мышей не изменялось — животные оставались активными, охотно потребляли корм, пили воду. В дальнейшем в течение 14-дневного наблюдения за мышами контрольной группы нарушений рефлексов и других отклонений в состоянии не установлено.

Отличия в общем состоянии и поведении животных контрольной и опытных групп представлены в таблице 1.

**В ходе наблюдения за потреблением корма и воды** мышами после введения ГТС-301 в дозах 1 и 2 г/кг установлены значимые различия между экспериментальными и контрольной группами животных (табл. 2).

Показано, что в течение первых суток после однократного введения ГТС-301 у всех опытных самок (1 и 2 г/кг) и самцов (1 г/кг) потребление комбикорма было снижено по сравнению с таковым показателем контрольных животных. Однако на 7-е сутки приём корма у мышей этих групп восстанавливался практически до уровня контроля. Исключение составили самки, у которых после введения ГТС-301 в дозе 2 г/кг потребление корма было на 27 % меньше аналогичного показателя в контроле. К окончанию эксперимента значимое различие с контролем наблюдали только в группе, получившей ГТС-301 в дозе 1 г/кг: мыши потребляли комбикорм в среднем на 24 % больше, чем контрольные животные.

Показатели потребления воды, регистрируемые у мышей обоего пола после введения ГТС-301 в дозе 2 г/кг и у самцов в дозе 1 г/кг, на 1-е и 7-е сутки эксперимента были статистически значимо ниже данных контрольной группы. Однако к окончанию эксперимента значимые отличия в потреблении воды между опытными и контрольными мышами отсутствовали.

**Наблюдение за динамикой массы и прироста массы тела** мышей после введения ГТС-301 в дозах 1 и 2 г/кг

Таблица 1

Оценка показателей общего состояния животных и особенностей их поведения

Table 1

Assessment of indicators of the general condition of animals and features of their behavior

Показатель	ГТС-301 в дозах 1 г/кг и 2 г/кг	Контроль (1 % раствор крахмала)
Состояние шёрстного и кожного покровов	Бледность кожного покрова и видимых слизистых в течение 8 часов после введения ГТС-301, взъерошенность в течение 2–3 суток после введения ГТС-301, далее нормальное состояние шёрстного покрова	Без особенностей
Частота и глубина дыхания	Частое и поверхностное в течение 8 часов после введения ГТС-301	Без особенностей
Интенсивность и характер двигательной активности (гипо- или гиперактивность)	Гипоактивность через 3–4 минуты после введения ГТС-301, гиперактивность в течение 2–3 суток, далее активность	Без особенностей
Наличие неврологического дефицита (нарушение координации движений, тремор и судороги)	Тремор, статическая атаксия периодически, в течение 8 часов после введения ГТС-301	Без особенностей
Реакция на тактильные, болевые, звуковые и световые раздражители	Без особенностей	Без особенностей
Эмоциональная напряженность и груминг	Без особенностей	Без особенностей
Наличие корнеального рефлекса	Без особенностей	Без особенностей
Наличие ушного рефлекса	Без особенностей	Без особенностей
Наличие рефлекса Штрауба	У части мышей в первые минуты после введения ГТС-301	Отсутствовал

Таблица 2

Оценка суточного потребления воды и корма мышей в течение двух недель после однократного внутрибрюшинного введения ГТС-301 в дозах 1 и 2 г/кг

Table 2

Assessment of daily intake of water and feed in mice for two weeks after a single intraperitoneal injection of GTS-301 at doses of 1 and 2 g/kg

		Корм, г				Вода, мл			
		До введения	1-е сутки	7-е сутки	14-е сутки	До введения	1-е сутки	7-е сутки	14-е сутки
Контроль	♀	6,1 5,5÷6,7	4,8* 4,3÷5,4	5,2* 4,9÷5,8	5,2* 4,9÷5,5	5,0 4,4÷5,4	7,4* 6,7÷8,3	7,4* 6,9÷8,2	3,3* 3,2÷3,5
	♂	6,3 6,3÷6,4	4,7* 4,6÷4,7	7,0* 6,9÷7,2	6,1* 6,0÷6,1	5,0 4,9÷5,0	9,2* 9,1÷9,2	8,3* 8,2÷8,6	6,7* 6,7÷6,8
ГТС-301 1 г/кг	♀	4,2* 4,1÷4,6	2,9* 2,8÷3,1	5,6* 5,2÷6,0	6,4* 6,2÷6,8	8,0* 7,9÷8,8	7,2* 7,0÷7,9	8,2* 7,6÷8,8	4,9* 4,7÷5,3
	♂	6,5 6,4÷6,8	5,0* 4,9÷5,2	6,5 6,2÷6,5	7,6* 7,2÷7,8	8,4* 8,2÷8,7	7,5* 7,4÷7,8	6,8* 6,5÷6,8	6,9* 6,5÷7,1
ГТС-301 2 г/кг	♀	9,6 9,2÷10,0	2,5* 2,4÷2,7	3,5* 3,5÷3,9	4,5* 4,4÷4,9	4,2* 4,0÷4,3	5,0* 4,8÷5,4	2,9* 2,9÷3,2	3,9 3,8÷4,3
	♂	5,6* 5,2÷5,8	3,4* 3,1÷3,5	6,3* 6,0÷6,7	6,4* 6,0÷7,0	6,8* 6,3÷7,0	3,4* 3,1÷3,5	5,0* 4,8÷5,3	6,6 6,1÷7,2

Примечания: Данные представлены в виде медиан групп, нижних и верхних квартилей. Оценку значимости различий между выборочными средними осуществляли при условии, что статистическая совокупность включает не менее 4 наблюдений (числовых значений); \* — статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с контрольной группой животных (обработка проведена по методу Краскела — Уоллиса с дальнейшими множественными сравнениями по Данну); \* — статистически значимые различия ( $p < 0,05$ ) по сравнению с исходными данными (обработка по критерию Фридмана с дальнейшими множественными сравнениями по Даннету).

Notes: The data are presented as medians of the groups, lower and upper quartiles. The significance of the differences between the sample averages was assessed on the condition that the statistical totality includes at least 4 observations (numerical values); \* — statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) compared with the control group of animals (processing was carried out using the Kraskel-Wallis method with further multiple comparisons according to Data); \* — statistically significant differences ( $p < 0.05$ ) compared with the initial data (processing according to the Friedman criterion with further multiple comparisons according to the Data).

позволило установить значимые различия между экспериментальными и контрольной группами животных (рис. 2).

В течение первых суток эксперимента фиксировали снижение массы тела как у контрольных, так и экспериментальных животных. Со вторых суток наблюдалась тенденция к увеличению массы тела одновременно с улучшением общего состояния мышей. Однако показатели прироста массы оставались

отрицательными: у самок от 2 суток (1 г/кг) — до 4 суток (2 г/кг), у самцов от 1 (1 г/кг) и до 2 суток (2 г/кг). На протяжении 1-й недели значимые различия с контролем отмечали: только у самок, получивших ГТС-301 в дозе 2 г/кг (2–4 сутки); у самцов первые 3 суток (1 г/кг) и всю первую неделю (2 г/кг). На 7-й и 14-й день эксперимента показатели прироста массы тела у самцов, которым вводили ГТС-301 в дозе 2 г/кг, были на 35 % ниже, чем в контроле.

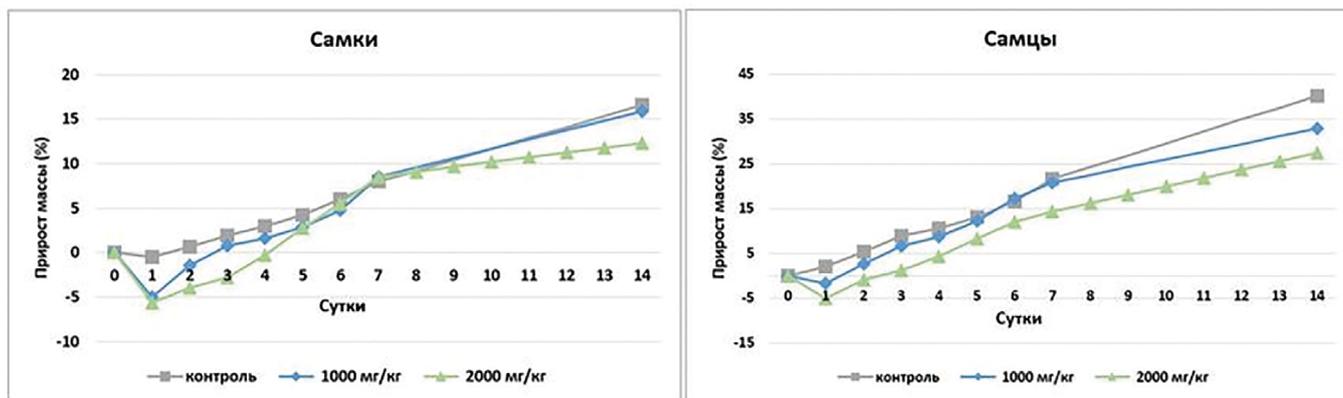


Рис. 2. Динамика прироста массы тела (%) у мышей после однократного внутрибрюшинного введения ГТС-301 в дозах 1 и 2 г/кг

Fig. 2. Dynamics of body weight gain (%) in mice after a single intraperitoneal injection of GTS-301 at doses of 1 and 2 g/kg

При патологоанатомическом вскрытии мыши № 4, павшей на 2-е сутки после введения ГТС-301 в дозе 2 г/кг, было обнаружено выраженное расстройство кровообращения. Венечные сосуды сердца были полнокровны. Полости желудочков и предсердий были переполнены тёмной, густой кровью. На поверхности почек и в их мозговом слое, а также на поверхности тимуса, яичников и надпочечников были обнаружены небольшие и точечные кровоизлияния. Была выявлена выраженная инъеция сосудов головного мозга, органов тазовой и брюшной полостей, а также брыжейки, тела и рогов матки.

В ходе патологоанатомического вскрытия всех выживших и выведенных на 15-е сутки после введения ГТС-301 из эксперимента мышей показано, что морфологическая картина их внутренних органов не отличалась от таковой, наблюдаемой у контрольных животных (табл. 3).

В процессе скрининга потенциальных лекарственных веществ возникает необходимость оценки их класса токсичности. На ранних этапах исследования, как правило, при определении острой токсичности предпочтение отдаётся парентеральным способам введения. Класс токсичности фармакологических ве-

Таблица 3

Данные патологоанатомического вскрытия мышей, выживших в ходе изучения острой токсичности ГТС-301

Table 3

Autopsy data from mice that survived the study of acute toxicity of GTS-301

Головной мозг	У мышей контрольной группы кости черепа без повреждений и изменений. Оболочки мозга гладкие, блестящие. Полушария большого мозга влажные, одинаковой формы и величины, упругой консистенции, умеренного кровенаполнения. Мозжечок и продолговатый мозг без изменений. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Органы дыхания	У мышей контрольной группы гортань без особенностей, трахея и бронхи обычного вида и размеров. Слизистая оболочка без повреждений, бледноватого оттенка, гладкая, блестящая. Лёгкие бледно-розового цвета, на разрезе упругие, воздушные, без истечения жидкости. Висцеральная плевро гладкая. Паратрахеальные лимфатические узлы без особенностей. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено
Органы кровообращения	У мышей контрольной группы размеры сердца, консистенция сердечной мышцы, эпикард, миокард, эндокард обычного вида. Предсердно-желудочковые отверстия проходимы. Толщина стенки правого и левого желудочка без изменений. Кровенаполнение венечных сосудов умеренное. Интима аорты гладкая, блестящая, диаметр аорты неизменён. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Органы пищеварения	У мышей контрольной группы язык, глотка, слизистая оболочка пищевода без видимых изменений. Желудок обычной формы и размеров, слизистая оболочка бледно-розовая, складчатая, блестящая. Тонкий и толстый кишечник заполнены характерным содержимым, их слизистая гладкая, блестящая. Лимфатические узлы стенок кишечника и брыжейки без особенностей. Печень по форме и величине изменений не имеет. Соскоб печени не выражен, капсула не напряжена. На разрезе заметен характерный рисунок дольчатости. Жёлчный пузырь заполнен прозрачной жидкостью жёлтого цвета. Поджелудочная железа не увеличена, мягкой консистенции, бледно-жёлтого цвета, на разрезе заметна дольчатая структура. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Органы мочевыделения	У контрольных мышей величина, форма, и консистенция почек без изменений. Соотношение коркового и мозгового слоя правильное, слизистая лоханок не изменена. Слизистая оболочка мочевого пузыря не повреждена, бледно-серого цвета. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Органы репродукции	У самок контрольных мышей тело матки плотное, величина и форма без изменений. Оба рога матки тонкие, слизистая оболочка бледноватая. Яичники по цвету и величине без изменений, плотные, с неровной поверхностью. У самцов контрольных мышей семенники эллипсоидной формы, бледно-серого цвета, их величина и консистенция без изменений. Придатки семенников и пузырьковые железы без особенностей. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Органы кроветворения	У мышей контрольной группы селезёнка плотная, обычной величины, пульпа на разрезе зернистая, красно-коричневого цвета. Капсула селезёнки не напряжена, соскоб не выражен. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.
Железы внутренней секреции	У мышей контрольной группы щитовидная железа по величине, форме, окраске и консистенции без изменений. Надпочечники обычного вида, размера, цвета и плотности. На разрезе заметна граница между корковым и мозговым слоем. Тимус бледно-жёлтого цвета, обычной формы, величины и консистенции. В опытных группах изменений по сравнению с контрольной группой не выявлено.

шеств, наряду с другими характеристиками, помогает в принятии решения о перспективности дальнейшей разработки лекарственного средства [9]. При изучении острой токсичности дипептидного миметика NT-3 соединения ГТС-301 на аутбредных мышах обоего пола при внутривентральном введении в дозах 1 и 2 г/кг, в максимально допустимом объёме и концентрации наблюдалась гибель одного животного, при этом средняя смертельная доза не была определена из-за технической невозможности введения препарата в дозах, способных вызвать гибель большинства животных. Это позволяет отнести ГТС-301 к 5-му классу токсичности («практически нетоксично») по классификации Сидорова К. К. [10]

Сходные данные ранее были получены при токсикологических исследованиях низкомолекулярных миметиков других нейротрофинов, в частности, миметика фактора роста нервов (NGF) [11] и мозгового нейротрофического фактора (BDNF) [12]. Так, например, при исследовании острой токсичности лиофилизата дипептидного димерного миметика 4-й петли NGF соединения под шифром ГК-2 при внутривентральном введении белым мышам LD<sub>50</sub> составила 15,4 г/кг для самок и 15,7 г/кг для самцов [13], что

позволило отнести ГК-2 к 6-му классу токсичности («относительно безвредный») [10]. Собственные исследования оригинальных лекарственных средств, разработанных на основе эндогенных регуляторных пептидов [14, 15], подтвердили безопасность препаратов пептидной природы и перспективность их разработки для внедрения в клиническую практику.

### Заключение / Conclusion

Таким образом, ГТС-301 при однократном внутривентральном введении является практически нетоксичным соединением и по классификации Сидорова К. К. [10] может быть отнесён к 5 классу токсичности («практически нетоксично»). Вместе с ранее опубликованными данными о фармакологической активности ГТС-301, полученные результаты предоставляют дополнительные доказательства, подтверждающие целесообразность дальнейшей разработки нового синтетического дипептидного миметика нейротрофина-3 в качестве первого в своём классе пептидного лекарственного кандидата для фармакотерапии психических нарушений, сопровождающихся когнитивными дисфункциями и снижением болевого порога.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

#### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### ADDITIONAL INFORMATION

#### Conflict of interests

The authors declare no conflict of interest.

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

**Алексеев Иван Владимирович** — врач-детский онколог отделения детской онкологии, н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

*Автор, ответственный за переписку*

e-mail: alekseev\_iv@academpharm.ru

РИНЦ SPIN-код: 9757-6210

**Ivan V. Alekseev** — Junior Research Scientist of the Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

*Corresponding autor*

e-mail: alekseev\_iv@academpharm.ru

RSCI SPIN code: 9757-6210

**Мирошкина Ирина Александровна** — к. б. н., с. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии, ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3208-198X>

SPIN-код: 4697-7938

**Irina A. Miroshkina** — PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher of Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3208-198X>

SPIN code: 4697-7938

**Сорокина Александра Валериановна** — к. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9600-7244>

**Alexandra V. Sorokina** — PhD, Cand. Sci. (Biology), Leading Researcher of the Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9600-7244>

**Алексеева Светлана Витальевна** — с. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1262-6997>  
РИНЦ SPIN-код: 8985-3418

**Svetlana V. Alekseeva** — Senior researcher of the laboratory of drug toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-1262-6997>  
RSCI SPIN code: 8985-3418

**Волкова Анна Валерьевна** — с. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация  
РИНЦ SPIN-код: 9587-6581

**Anna V. Volkova** — Senior Research Scientist of the Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation  
RSCI SPIN code: 9587-6581

**Захаров Алексей Дмитриевич** — м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация  
РИНЦ SPIN-код: 9013-6228

**Aleksei D. Zakharov** — Junior Research Scientist of the Laboratory of Drug Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation  
RSCI SPIN code: 9013-6228

**Качалов Кирилл Сергеевич** — м. н. с. лаборатории генетической и репродуктивной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1340-5034>  
РИНЦ SPIN-код: 2992-6789

**Kirill S. Kachalov** — Junior Research Scientist of the Laboratory of Genetic and Reproductive Toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-1340-5034>  
RSCI SPIN code: 2992-6789

**Цорин Иосиф Борисович** — д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакологии кровообращения ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3988-7724>  
РИНЦ SPIN-код: 4015-3025

**Iosif B. Tsorin** — PhD, Dr. Sci. (Biology), Leading Researcher of Laboratory of Circulation Pharmacology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-3988-7724>  
RSCI SPIN code: 4015-3025

**Колик Лариса Геннадьевна** — д. б. н., профессор РАН, руководитель лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9847-8058>  
РИНЦ SPIN-код: 9126-6922

**Larisa G. Kolik** — PhD, Dr. Sci. (Biology), Professor of the Russian Academy of Sciences, Head of laboratory of medicinal toxicology Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9847-8058>  
RSCI SPIN code: 9126-6922

**Дурнев Андрей Дмитриевич** — д. м. н., профессор, член-корр. РАН, зав. отделом лекарственной токсикологии ФГБНУ «ФИЦ оригинальных и перспективных биомедицинских и фармацевтических технологий», Москва, Российская Федерация  
e-mail: [durnev\\_ad@academpharm.ru](mailto:durnev_ad@academpharm.ru)  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0912-7684>  
РИНЦ SPIN-код: 8426-0380

**Andrei D. Durnev** — PhD, Dr. Sci. (Med.), professor, corresponding member RAS, Head of the department of drug toxicology, Federal Research Center for Innovator and Emerging Biomedical and Pharmaceutical Technologies, Moscow, Russian Federation  
e-mail: [durnev\\_ad@academpharm.ru](mailto:durnev_ad@academpharm.ru)  
ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-0912-7684>  
RSCI SPIN code: 8426-0380

#### Список литературы / References

- Han KA, Woo D, Kim S, et al. Neurotrophin-3 Regulates Synapse Development by Modulating TrkC-PTP $\sigma$  Synaptic Adhesion and Intracellular Signaling Pathways. *J Neurosci*. 2016 Apr 27;36(17):4816-31. doi: 10.1523/jneurosci.4024-15.2016.
- De Miranda AS, de Barros JLV, Teixeira AL. Is neurotrophin-3 (NT-3): a potential therapeutic target for depression and anxiety? *Expert Opin Ther Targets*. 2020 Dec; 24(12):1225-1238. doi: 10.1080/14728222.2020.1846720.
- Гудашева Т.А., Сазонова Н.М., Тарасюк А.В., и др. Первый дипептидный миметик нейротрофина-3: дизайн и фармакологические свойства. *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни*. 2022;505(1):303-309. [Gudasheva TA, Sazonova NM, Tarasiuk AV, et al. The First Dipeptide Mimetic of Neurotrophin-3: Design and Pharmacological Properties. *Dokl Biochem Biophys*. 2022;505(1):160-165. (In Russ)]. doi: 10.1134/S1607672922040032.
- Kolik LG, Konstantinopolsky MA, Nikolaev SV, et al. Low-Molecular Neurotrophin-3 Mimetics with Different Patterns of Postreceptor Signaling Activation Attenuate Differentially Morphine Withdrawal in Rats. *Biochemistry (Mosc)*. 2024 Nov;89(11):1961-1969. doi: 10.1134/S0006297924110105.
- Katoh-Semba R, Kaisho Y, Shintani A, et al. Tissue distribution and immunocytochemical localization of neurotrophin-3 in the brain and peripheral tissues of rats. *J Neurochem*. 1996 Jan; 66(1):330-7. doi: 10.1046/j.1471-4159.1996.66010330.x.
- Donovan MJ, Miranda RC, Kraemer R, et al. Neurotrophin and neurotrophin receptors in vascular smooth muscle cells. Regulation of expression in response to injury. *Am J Pathol*. 1995 Aug;147(2):309-24.
- Tessarollo L, Tsoulfas P, Martin-Zanca D, et al. trkC, a receptor for neurotrophin-3, is widely expressed in the developing nervous system and in non-neuronal tissues. *Development*. 1993 Jun;118(2):463-75. doi: 10.1242/dev.118.2.463.
- Ghenev P, Kitanova M, Popov H, et al. Neuroadipobiology of arrhythmogenic right ventricular dysplasia. An immunohistochemical study of neurotrophins. *Adipobiology*. 2017;8:55. doi: 10.14748/adipo.v8.2214.
- Березовская И.В. Классификация химических веществ по параметрам острой токсичности при парентеральных способах введения. *Химико-фармацевтический журнал*. 2003;37(3):32-34. [Berezovskaya IV. Klassifikatsiya khimicheskikh veshchestv po parametram ostroi toksichnosti pri parenteral'nykh sposobakh vvedeniya. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2003;37(3):32-34. (In Russ)]. Доступно по: <http://chem.folium.ru/index.php/chem/article/view/13>. Ссылка активна на 10.01.2025.

- Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения. *Токсикология новых промышленных химических веществ*. 1973;13:47-51. [Sidorov KK. O klassifikatsii toksichnosti yadov pri parenteral'nykh sposobakh vvedeniya. *Toksikologiya novykh promyshlennykh khimicheskikh veshchestv*. 1973;13:47-51. (In Russ)].
- Сорокина А.В., Алексеева С.В., Мирошкина И.А., и др. Исследование острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы ГК-2. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2019;(2):51-58. [Sorokina AV, Alekseeva SV, Miroshkina IA, et al. GK-2 new drug with neuroprotective properties the study of acute and chronic toxicity of the finished dosage forms. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2019;(2):51-58. (In Russ)]. doi: 10.24411/2588-0519-2019-10048.
- Алексеева С.В., Сорокина А.В., Волкова А.В., и др. Исследование острой и хронической токсичности готовой лекарственной формы дипептидного миметика мозгового нейротрофического фактора ГСБ-106. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2019;(2):46-50. [Alekseeva SV, Sorokina AV, Volkova AV, Zabrodina VV, Miroshkina IA, Kachalov KS, Alekseev IV, Zaharov AD, Povarnina PYu, Durnev AD. The study of the acute and chronic toxicity dipeptide mimetic of brain-derived neurotrophic factor GSB-106 finished dosage form. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2019;(2):46-50. (In Russ)]. doi: 10.24411/2588-0519-2019-10047.
- Сорокина А.В., Мирошкина И.А., Волкова А.В., Алексеева С.В. Исследование острой токсичности препарата ГК-2. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2018;81(S):229. [Sorokina AV, Miroshkina IA, Volkova AV, Alekseeva SV. Issledovanie ostroi toksichnosti preparata GK-2. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2018; 81(S):229. (In Russ)].
- Коваленко Л.П., Смольникова Н.М., Алексеева С.В. и др. Доклиническое изучение токсичности ноопепта. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2002;65(1):62-64. [Kovalenko LP, Smol'nikova NM, Alekseeva SV, et al. Doklinicheskoe izuchenie toksichnosti noopepta. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2002;65(1):62-64. (In Russ)]. doi: 10.30906/0869-2092-2002-65-1-62-64.
- Сорокина А.В., Алексеева С.В., Немова Е.П., и др. Доклиническое исследование безопасности дипептидного соединения ГВ-115. *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2010;73(6):29-32. [Sorokina AV, Alekseeva SV, Nemova EP, et al. Doklinicheskoe issledovanie bezopasnosti dipeptidnogo soedineniya GB-115. *Ekspierimental'naya i klinicheskaya farmakologiya*. 2010;73(6):29-32. (In Russ)]. doi: 10.30906/0869-2092-2010-73-6-29-32.