

Нейропротекторные свойства *in vitro* новых замещённых глипролинов

Антипова Т.А., Колясникова К.Н., Волкова Ю.С., Антипов П.И., Кузнецова Е.А., Николаев С.В.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

Резюме. Ранее в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова был сконструирован и синтезирован линейный замещенный глипролин ГЗК-111, этиловый эфир N-фенилацетил-глицил-L-пролина, способный превращаться в нейропептид цикло-пролилглицин (ЦПГ) в биологических средах и проявляющий характерные для последнего ноотропную, анксиолитическую, антигипоксическую и нейропротекторную активность. Цель данной работы состояла в изучении нейропротекторной активности аналогов замещённого глипролина ГЗК-111 по С- и N-концу *in vitro* на модели оксидативного стресса в сравнении с ЦПГ. Оксидативный стресс, вызванный H_2O_2 (1,5 мМ), приводил к достоверному снижению жизнеспособности гиппокампальных клеток линии HT-22. L-ЦПГ защищал клетки от повреждения H_2O_2 в концентрациях до 10^{-7} М при внесении как за 24 ч до, так и сразу после повреждения. Соединение с открытой карбоксильной группой (ГЗК-115) защищало клетки HT-22 от гибели, подобно L-ЦПГ, в обеих схемах эксперимента в концентрациях до 10^{-7} М. Замещённый амид ГЗК-119, внесённый за 24 ч до повреждения клеток, обладал цитопротекторным эффектом в концентрации 10^{-7} М, а после повреждения перекисью – в концентрациях 10^{-6} – 10^{-7} М. D-энантиомер этилового эфира N-фенилацетил-глицил-L-пролина (ГЗК-121) и соединение с удлинением N-ацильного фрагмента на CH_2 -группу (ГЗК-45) были эффективны в концентрациях до 10^{-6} М в обеих схемах эксперимента. Одновременное удлинение N-ацильного фрагмента на CH_2 -группу и замена эфира на амид (ГЗК-50) приводило к защите клеток от гибели только при внесении соединения после H_2O_2 . Таким образом, установлено, что все исследуемые замещённые глипролины обладали нейропротекторной активностью в экспериментах *in vitro* в условиях окислительного стресса на клетках HT-22, причём наиболее выражена она была у соединений ГЗК-119 и ГЗК-115.

Ключевые слова: циклопролилглицин; оксидативный стресс; HT-22; замещённые глипролины

Для цитирования:

Антипова Т.А., Колясникова К.Н., Волкова Ю.С., Антипов П.И., Кузнецова Е.А., Николаев С.В. Нейропротекторные свойства *in vitro* новых замещённых глипролинов // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – №3. – С.31–36. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10021.

Neuroprotective properties of novel substituted glyprolines *in vitro*

Antipova T.A., Kolyasnikova K.N., Volkova Y.S., Antipov P.I., Kuznetsova E.A., Nikolaev S.V.

FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow

Resume. Previously in the Zakusov Institute of Pharmacology the linear substituted glyproline GZK-111, N-phenylacetyl-glycyl-L-proline ethyl ester, which is capable to convert into the neuropeptide cyclo-prolylglycine (CPG) in biological media and displaying the nootropic, anxiolytic, antihypoxic and neuroprotective activity, was designed and synthesized. The aim of the work was to study the neuroprotective activity of analogues of substituted glyproline GZK-111 at the C- and N-terminus *in vitro* on the oxidative stress model in comparison to the GPG. Oxidative stress caused by H_2O_2 (1.5 mM) led to significant decrease in the hippocampal cells HT-22 viability. L-CPG protected cells against H_2O_2 in concentrations up to 10^{-7} M when applied both 24 h before and immediately after damage. The compound with an open carboxylic group (GZK-115) like CPG protected HT-22 cells from death in both experimental schemes at concentrations up to 10^{-7} M. The substituted amide GZK-119 added 24 h before cell damage, had a cytoprotective effect at a concentration of 10^{-7} M, and after peroxide damage in concentrations of 10^{-6} – 10^{-7} M. The D-enantiomer of ethyl ester N-phenylacetyl-glycyl-proline (GZK-121) and the compound with the extension of the N-acyl fragment to the CH_2 -group (GZK-45) were effective at concentrations up to 10^{-6} M in both experimental schemes. Simultaneous extension of the N-acyl fragment to the CH_2 group and replacement of the ester with an amide (GZK-50) resulted to protection of the cells from death only after H_2O_2 . Thus, it was established that all investigated substituted glyprolines possessed neuroprotective activity in experiments *in vitro* under conditions of oxidative stress in HT-22 cells. The most active compounds were GZK-119 and GZK-115.

Keywords: cycloprolylglycine; oxidative stress; HT-22; substituted glyproline

For citations:

Antipova TA, Kolyasnikova KN, Volkova YS, Antipov PI, Kuznetsova EA, Nikolaev SV. Neuroprotective properties of novel substituted glyprolines *in vitro*. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;3:31–36. (In Russ). DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10021.

Введение

В 1996 г. в НИИ фармакологии имени В.В. Заскусова был открыт эндогенный пептид циклопролилглицин (ЦПГ) [1], для которого были выявлены ноотропные [2], анксиолитические [3], антигипоксические [4] и нейропротекторные свойства [5]. Было показано, что ЦПГ по структуре и фармакологической активности подобен пираретаму [2–5]. Кроме того, было выявлено, что ЦПГ аналогично пираретаму оказывает положительное модулирующее действие на глутаматные AMPA-рецепторы [6] и усиливает синтез нейротрофина BDNF [7].

Нами был сконструирован линейный замещённый глипролин ГЗК-111, этиловый эфир *N*-фенилацетил-глицил-*L*-пролина, химическая структура которого предполагает возможность превращения его в ЦПГ в биологических средах. Действительно, ГЗК-111 *in vitro* в плазме крови крысы превращается в ЦПГ и проявляет весь спектр фармакологической активности, характерный для последнего [8, 9].

Для расширения группы фармакологически активных замещённых глипролинов в настоящей работе был синтезирован ряд аналогов ГЗК-111 с разным замещением по *C*- и *N*-концу и изучена их нейропротекторная активность *in vitro*.

Цель исследования

Цель данной работы состояла в изучении нейропротекторной активности аналогов замещённого глипролина ГЗК-111 по *C*- и *N*-концу *in vitro* на модели оксидативного стресса в сравнении с ЦПГ.

Материалы и методы

Экспериментальная химическая часть

В работе использовали коммерческие аминокислоты (Sigma, Reanal). Используемые растворители очищали и сушили стандартными методами. Температуру плавления определяли в открытых капиллярах на приборе Optimelt MPA100 (Stanford Research Systems, США) и не корректировали. ПМР-спектры регистрировали в растворах диметилсульфоксида- d_6 (DMCO- d_6) или CDCl₃ в шкале δ , м. д. (*J*, Гц) на спектрометре Fourier 300 (Bruker, Германия) с рабочей частотой 300 МГц. В качестве внутреннего стандарта использовали тетраметилсилан. Удельное оптическое вращение измеряли на поляриметре ADP 440 Polarimeter (Bellingham + Stanley Ltd., Англия). ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 G/F254 (Merck, Германия) в системах диоксан – вода 9:1 (А), хлороформ – метанол 9:1 (Б) и бензол – уксусная кислота – вода 3:1:1 (В). Соединения с амидными

группами обнаруживали в парах йода, соединения с открытой карбоксильной группой – бромкрезоловым зелёным, содержащие ароматические группы – в УФ-лучах. Элементный анализ проводили на приборе для определения углерода и водорода с четырьмя электрическими печами (600–900 °С, тип МА-Г/6Р, завод ЛЭТО, Россия) в токе кислорода и на аппарате для определения азота с тремя такими же электрическими печами в токе углекислого газа. Данные элементного анализа соединений относительно процентного содержания *C*, *H* и *N* отклоняются от теоретических не более чем на 0,4 %.

Энантимеры этилового эфира *N*-фенилацетил-глицилпролина (C₆H₅-CH₂-C(O)-Gly-Pro-OC₂H₅). Получали аналогично [8].

C₆H₅-CH₂-C(O)-Gly-L-Pro-OC₂H₅ (ГЗК-111): т.пл. 111–112 °С; $[\alpha]_D^{23}$ -90,0° (*c* 1, вода); *R_f* = 0,80 (А).

C₆H₅-CH₂-C(O)-Gly-D-Pro-OC₂H₅ (ГЗК-121): т.пл. 112–113 °С; $[\alpha]_D^{23}$ +90,0° (*c* 1, вода); *R_f* = 0,80 (А).

***N*-фенилацетил-глицил-*L*-пролин (C₆H₅-CH₂-C(O)-Gly-L-Pro-OH, ГЗК-115).** Получали аналогично [9]. Т.пл. 165–166 °С; $[\alpha]_D^{23}$ -75° (*c* 1, метанол); *R_f* = 0,35 (А).

Метиламид *N*-фенилацетил-глицил-*L*-пролина (C₆H₅-CH₂-C(O)-Gly-L-Pro-NHCH₃, ГЗК-119). Получали аналогично [9]. Т.пл. 180–181 °С; $[\alpha]_D^{23}$ -76° (*c* 1, метанол); *R_f* = 0,31 (Б).

Этиловый эфир *N*-фенилпропионил-глицил-*L*-пролина (C₆H₅-(CH₂)₂-C(O)-Gly-L-Pro-OC₂H₅, ГЗК-45). К охлажденному до -10 °С раствору 3 г (14,5 ммоль) *N*-фенилпропионил-глицина в 10 мл диметилформамида (DMFA) при интенсивном перемешивании одновременно прибавляли 1,89 мл (14,5 ммоль) изобутилхлорформиата и 2,32 мл (18,125 ммоль) *N*-этилморфолина. После 2–3 мин перемешивания прикапывали раствор 3,25 г (18,125 ммоль) хлоргидрата этилового эфира пролина и 1,86 мл (14,5 ммоль) *N*-этилморфолина в 15 мл DMFA. Реакционную смесь перемешивали ещё 30 мин при -10 °С и 1 ч при комнатной температуре. Осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме, остаток растворяли в CHCl₃. Раствор последовательно промывали 3 % NaHCO₃ водой, 1М раствором HCl и вновь водой, высушивали безводным сульфатом натрия и упаривали. Полученное масло перекристаллизовывали из смеси этилацетата и гексана и получали 3 г (62 %) этилового эфира *N*-фенилпропионил-глицил-*L*-пролина в виде кристаллического продукта. Т.пл. 111–112 °С; $[\alpha]_D^{23}$ -83° (*c* 1, этанол); *R_f* = 0,8 (В). ПМР-спектр (DMCO- d_6) δ , м.д.: 1,21 (м, 3H, CH₃CH₂O), 1,73–2,27 (м, 5H, C ^{γ} H₂ Pro, C ^{β} H₁ Pro, Ph-CH₂-CH₂), 2,46 (м, 1H, C ^{β} H₁ Pro), 2,83 (м, 2H, J₁ = 7,82, Ph-CH₂-CH₂), 3,38–3,62 (м, 2H, C ^{δ} H₂ Pro), 3,78–4,2 (м, 4H, CH₃CH₂O, C ^{α} H₂ Gly), 4,3 (д.д., 1H,

^1H Pro, мажорный конформер), 4,68 (д.д., ^1H , ^1H Pro, минорный конформер), 8,06 (т, ^1H , $J = 5,12$, NH Gly). Элементный анализ: вычислено, %: C 63,39; H 7,37; N 8,20; найдено, %: C 63,18; H 7,33; N 8,75; $\text{C}_{18}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_4 \cdot 0,5\text{H}_2\text{O}$.

Амид *N*-фенилпропионил-глицил-*L*-пролина (C₆H₅-(CH₂)₂-C(O)-Gly-*L*-Pro-NH₂, ГЗК-50). Раствор 0,300 г (0,9036 ммоль) этилового эфира *N*-фенилпропионил-глицил-*L*-пролина в 5,625 мл насыщенного аммиаком метанола оставляли плотно закрытым на 14 дней при комнатной температуре. Окончание реакции определяли с помощью ТСХ. После завершения реакции метанольный раствор упарили досуха, полученное масло перекристаллизовывали из этилового спирта. Получали 0,170 г (85 %) амида *N*-фенилпропионил-глицил-*L*-пролина в виде кристаллического продукта. Т.пл. 188–190 °С. $[\alpha]_D^{23} -62,2$ ° (с 1, метанол). $R_f = 0,41$ (Б). ПМР-спектр (CDCl₃) δ , м.д.: 1,93–2,4 (м, 4H, C ^{β} H₂Pro, C ^{γ} H₂Pro), 2,57 (м, 2H, Ph-CH₂-CH₂), 2,99 (м, 2H, Ph-CH₂-CH₂), 3,42–3,59 (м, 2H, C ^{δ} H₂Pro), 4,05 (д, $J = 4,32$, 2H, C ^{α} H₂Gly), 4,3 (д.д., ^1H , C ^{α} H Pro, мажорный конформер), 4,57 (д.д., ^1H , C ^{α} H Pro, минорный конформер), 5,45 и 6,68 (два с, 2H, NH₂), 6,45 (с, ^1H , NH Gly), 7,2–7,3 (м, 5H, Ar).

Экспериментальная биологическая часть

Для экспериментов использовались реактивы: H₂O₂ (Panreac), МТТ (Sigma Aldrich), ДМСО (Panreac), среда ДМЕМ (HyClone), фетальная бычья сыворотка FBS (Gibco).

Эксперименты проводились на клетках гиппокампа мыши линии НТ-22 (Голландия, Утрехт). Клетки культивировали в среде ДМЕМ с добавлением 5 % FBS в CO₂-инкубаторе при температуре 37 °С в атмосфере, содержащей 5 % CO₂.

Оксидативный стресс моделировали путём внесения перекиси водорода в конечной концентрации 1,5 мМ) [10]. Спустя 30 мин среду заменяли на обычную. Через 4 ч выполняли измерение жизнеспособности клеток.

Жизнеспособность клеток измеряли с использованием МТТ-теста с добавлением 0,5 % раствора бромида 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия (МТТ), для растворения образующихся кристаллов формазана использовали ДМСО. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре Multiscan EX при длине волны 600 нм [11].

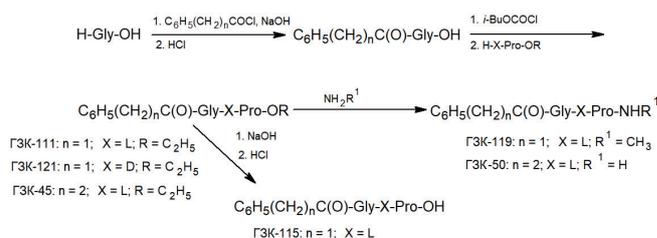
Исследуемые соединения (ЦПГ, ГЗК-115, ГЗК-119, ГЗК-121, ГЗК-45 и ГЗК-50) растворяли в деионизованной воде и вносили за 24 ч до повреждения или сразу после смены среды в конечных концентрациях 10⁻⁵ – 10⁻⁸М.

Статистическую обработку данных проводили с использованием критерия Краскела-Уоллиса с

последующим тестом по Данну (ANOVA). Данные представлены в виде $m \pm s.d$. Данные считались достоверными при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

Синтез замещённых глипролинов был осуществлён по общей схеме:



Низкоалкильные эфиры *N*-фенилалканоил-глицилпролинов (ГЗК-111, ГЗК-121, ГЗК-45) получали (схема 1) методом смешанных ангидридов с использованием изобутилхлорформиата в условиях Андерсона [12]. В качестве карбоксильной компоненты использовали *N*-фенилалканоилглицин, полученный из глицина и хлорангирида соответствующей фенилалкановой кислоты по Шоттен-Бауману [13], а в качестве аминоконенты – метиловый или этиловый эфир пролина, полученные из метанола или абсолютного этанола в присутствии хлористого тионила по методу Бреннера [14]. Амиды *N*-фенилалканоил-глицил-пролинов (ГЗК-113 и ГЗК-50) получали обработкой этилового эфира соответствующего *N*-замещённого дипептида аммиаком в метаноле. Дипептид ГЗК-115 с открытой карбоксильной группой получали гидролизом 1 М щёлочью этилового эфира *N*-фенилацетил-глицил-*L*-пролина. Метиламид *N*-фенилацетил-глицил-*L*-пролина (ГЗК-119) получали аминолизом метиламином соответствующего метилового эфира.

Оксидативный стресс, вызванный H₂O₂ (1,5 мМ), приводил к достоверному снижению жизнеспособности гиппокампальных клеток линии НТ-22. L-ЦПГ защищал клетки от повреждения H₂O₂ в концентрациях до 10⁻⁷М в обеих схемах внесения соединения. ГЗК-115 защищал клетки НТ-22 от гибели, подобно L-ЦПГ, в обеих схемах эксперимента в концентрациях до 10⁻⁷М. ГЗК-119, внесённый за 24 ч до повреждения клеток, обладал цитопротекторным эффектом в концентрации 10⁻⁷М, а после повреждения перекисью – в концентрациях 10⁻⁶ – 10⁻⁷М. ГЗК-121 и ГЗК-45 были эффективны в концентрациях до 10⁻⁶М в обеих схемах эксперимента. ГЗК-50

Таблица 1

Нейропротекторная активность *in vitro* замещённых глипролинов в сравнении с ЦПГ

Соединение	n	X	R	Концентрация, М	Нейропротекторная активность А (%)	
					Внесение за 24 ч до H ₂ O ₂ (n = 16)	Внесение после H ₂ O ₂ (n = 16)
L-ЦПГ	-	-	-	10 ⁻⁵ М	37*	32*
				10 ⁻⁶ М	37*	32*
				10 ⁻⁷ М	39*	35*
				10 ⁻⁸ М	37*	13
ГЗК-115	1	L	ОН	10 ⁻⁵ М	19*	25*
				10 ⁻⁶ М	22*	27*
				10 ⁻⁷ М	20*	27*
				10 ⁻⁸ М	13	9
ГЗК-119	1	L	NHCH ₃	10 ⁻⁵ М	29	33*
				10 ⁻⁶ М	31	31*
				10 ⁻⁷ М	33*	22
				10 ⁻⁸ М	31	17
ГЗК-121	1	D	OC ₂ H ₅	10 ⁻⁵ М	40*	56*
				10 ⁻⁶ М	33*	43*
				10 ⁻⁷ М	38*	26
					23	1
ГЗК-45	2	L		10 ⁻⁵ М	31*	21*
				10 ⁻⁶ М	36*	33*
				10 ⁻⁷ М	12	24*
				10 ⁻⁸ М	3	18
ГЗК-50	2	L		10 ⁻⁵ М	7	14*
				10 ⁻⁶ М	10	17*
				10 ⁻⁷ М	10	15*
					10	13*

Примечания: * $p \leq 0,05$ – от Контроля, ^ $p \leq 0,05$ – от H₂O₂ (критерий Краскела-Уоллиса с последующим тестом по Данну). Глипролины общей формулы C₆H₅-(CH₂)_n-C(O)-Gly-X-Pro-R где n = 1, 2; X = L, D; R = OC₂H₅, OH, NH₂, NHCH₃.

защищал клетки от гибели только в схеме внесения соединения после H₂O₂ (табл.1).

Таким образом, все полученные замещённые глипролины обладали нейропротекторной активностью в экспериментах *in vitro* в условиях окислительного стресса на клетках НТ-22, причём наиболее выраженная наблюдалась для соединений ГЗК-119 и ГЗК-115. Можно предположить, что выявленные нами различия в защитном действии исследуемых замещённых глипролинов на модели оксидативного стресса могут быть обусловлены особенностью строения их молекул.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Участие авторов. Антипова Т.А. – разработка модели, анализ и интерпретация результатов, написание текста, редактирование и финальное утверждение рукописи. Колясникова К.Н. – исполнение экспериментальной работы, написание текста. Волкова Ю.С. – исполнение экспериментальной работы, написание текста. Антипов П.И. – исполнение экспериментальной работы, написание текста. Кузнецова Е.А. – исполнение экспериментальной работы, анализ и интерпретация результатов. Николаев С.В. – исполнение экспериментальной работы, анализ и интерпретация результатов.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Антипова Татьяна Алексеевна*Автор, ответственный за переписку*

e-mail: zenina_tatyana@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-9309-4872

SPIN-код: 7723-6008

к. б. н., заведующая лабораторией фармакологии ней-
ропротекции, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени
В.В. Закусова», Москва**Antipova Tatyana***Corresponding author*

e-mail: zenina_tatyana@mail.ru

ORCID ID: 0000-0002-9309-4872

SPIN code: 7723-6008

Candidate of Biological Sciences, head of the
Laboratory of pharmacology of neuroprotection,
FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow**Колясникова Ксения Николаевна**

ORCID ID: 0000-0001-6797-692X

SPIN-код: 5682-2035

н. с. лаборатории пептидных биорегуляторов
отдела химии лекарственных средств, ФГБНУ
«НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»,
Москва**Koliasnikova Ksenia**

ORCID ID: 0000-0001-6797-692X

SPIN code: 5682-2035

Research Officer, Laboratory of peptide bioregulators
of the Department of drug chemistry, FSBI «Zakusov
Institute of Pharmacology», Moscow**Волкова Юлия Сергеевна**

Студент, РХТУ им. Д.И. Менделеева, Москва

Volkova Yulia

Student of Dmitry Mendeleev University, Moscow

Антипов Пётр Иванович

ORCID ID: 0000-0002-6093-8805

SPIN-код: 2591-3379

к. х. н., с. н. с. лаборатории пептидных биорегу-
ляторов отдела химии лекарственных средств,
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Заку-
сова», Москва**Antipov Petr**

ORCID ID: 0000-0002-6093-8805

SPIN code: 2591-3379

Candidate of Chemical Sciences, Senior Research
Officer laboratory of peptide bioregulators of the
Department of drug chemistry, FSBI «Zakusov
Institute of Pharmacology», Moscow**Кузнецова Елена Александровна**

ORCID ID: 0000-0001-9228-0596

к. х. н., с. н. с. лаборатории тонкого органи-
ческого синтеза отдела химии лекарственных
средств, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени
В.В. Закусова», Москва**Kuznetsova Elena**

ORCID ID: 0000-0001-9228-0596

Candidate of Chemical Sciences, Senior Research
Officer, laboratory of fine organic synthesis of the
Department of drug chemistry, FSBI «Zakusov
Institute of Pharmacology», Moscow**Николаев Сергей Владимирович**

ORCID ID: 0000-0002-9309-4872

SPIN-код: 7723-6008

н. с. лаборатории фармакологии нейропротек-
ции, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В.
Закусова», Москва**Nikolaev Sergey**

ORCID ID: 0000-0002-9309-4872

SPIN code: 7723-6008

Research Officer, laboratory of pharmacology
of neuroprotection, FSBI «Zakusov Institute of
Pharmacology», Moscow

Литература / References

- Gudasheva TA, Boyko SS, Akparov VKh, et al. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. *FEBS Letters*. 1996;391:149–152.
- Гудашева Т.А., Островская Р.У., Трофимов С.С., и др. Новый эндогенный дипептид циклопролилглицин подобен пирацетаму по селективности мнемотропного эффекта // *Бюлл. exper. биол. мед.* – 1999. – Т.128. – №10. – С.411–413. [Gudasheva TA, Ostrovskaya RU, Trofimov SS, et al. New Endogenous Dipeptide Cycloprolyl-Glycine Is Similar To Piracetam By Its Mnemotropic Selectivity. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 1999;128(4):411–413. (In Russ).]
- Гудашева Т.А., Константинопольский М.А., Островская Р.У., Середенин С.Б. Анксиолитическая активность эндогенного нотропного пептида циклопропилглицина в тесте приподнятого крестообразного лабиринта // *Бюлл. exper. биол. мед.* – 2001. – Т.131. – №5. – С.547–550. [Gudasheva TA, Konstantinopol'skii MA, Ostrovskaya RU, Seredenin SB. Anxiolytic Activity Of Endogenous Nootropic Dipeptide Cycloprolylglycine In Elevated Plus-Maze Test. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2001;131(5):464–466. (In Russ).]
- Колясникова К.Н., Гудашева Т.А., Назарова Г.А., и др. Сходство цикло-пролилглицина с пирацетамом по антигипоксическому и нейропротекторному эффектам // *Экспер. клин. фармакол.* – 2012. – Т.75. – №9. – С.3–6. [Kolyasnikova KN, Gudasheva TA, Nazarova GA, et al. Similarity of Cycloprolylglycine to Piracetam in Antihypoxic and Neuroprotective Effects. *Ekspierimental'naia i klinicheskaia farmakologija*. 2012;75(9):3–6. (In Russ).] DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2012-75-9-3-6>
- Поварнина П.Ю., Колясникова К.Н., Николаев С.В., и др. Нейропептид циклопролилглицин проявляет нейропротекторную активность при системном введении на модели неполной глобальной ишемии у крыс и в условиях глутаматной нейротоксичности *in vitro* // *Бюлл. exper. биол. мед.* – 2015. – Т.160. – №11. – С.600–603. [Povarnina PY, Kolyasnikova KN, Nikolaev SV, et al. Neuropeptide Cycloprolylglycine Exhibits neuroprotective activity after systemic administration to rats with modeled incomplete global ischemia and in vitro modeled glutamate neurotoxicity. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 2015;160(11):600–603. (In Russ).]
- Гудашева Т.А., Григорьев В.В., Колясникова К.Н., и др. Нейропептид циклопролилглицин является эндогенным положительным модулятором АМРА-рецепторов // *Доклады Академии наук.* – 2016. – Т.471. – №1. – С.106–108. [Gudasheva TA, Kolyasnikova KN, Seredenin SB, et al. Neuropeptide cycloprolylglycine is an endogenous positive modulator of ampa receptors. *Doklady Akademii nauk*. 2016;471(1):387–389 (In Russ).] DOI: [10.7868/S0869565216310273](https://doi.org/10.7868/S0869565216310273)
- Гудашева Т.А., Колясникова К.Н., Антипова Т.А., Середенин С.Б. Нейропептид циклопролилглицин увеличивает содержание мозгового нейротрофического фактора в нейрональных клетках // *Доклады Академии наук.* – 2016. – Т.469. – №4. – С.492–495. [Gudasheva TA, Kolyasnikova KN, Antipova TA, Seredenin SB. Neuropeptide cycloprolylglycine increases the levels of brain-derived neurotrophic factor in neuronal cells. *Doklady Akademii nauk*. 2016;469(4):273–276. (In Russ).] DOI: [10.7868/S0869565216220254](https://doi.org/10.7868/S0869565216220254)
- Гудашева Т.А., Колясникова К.Н., Кузнецова Е.А., и др. Этиловый эфир N-фенилацетил-глицил-L-пролина метаболизируется до цикло-L-пролилглицина, проявляя сходный спектр нейрорепсихотропной активности // *Хим.-фарм. журн.* – 2016. – Т.50. – №11. – С.3–8. [Gudasheva TA, Kolyasnikova KN, Kuznetsova EA, et al. N-Phenylacetylglucyl-L-Proline Ethyl Ester Converts Into Cyclo-L-Prolylglycine Showing A Similar Spectrum Of Neuropsychotropic Activity. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2016;50(11):3–8. (In Russ).] DOI: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2016-50-11-3-8>
- Колясникова К.Н., Кузнецова Е.А., Николаев С.В., и др. Анализ зависимости антигипоксической активности от структуры соединений в ряду замещенных глипролинов // *Хим.-фарм. журн.* – 2018. – Т.52. – №6. – С.13–17. [Kolyasnikova KN, Kuznetsova EA, Nikolaev SV, et al. Investigation of the Structure - Antihypoxic Activity Relationship in a Series of Substituted Glyprolines. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2018;52(6):13–17. (In Russ).] DOI: <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2018-52-6-13-17>
- Jackson GR, Werrbach-Perez K, Ezell EL, et al. Nerve growth factor effects on pyridine nucleotides after oxidant injury of rat pheochromocytoma cells. *Brain Res*. 1992;592:239–248.
- Twentyman PR, Luscombe M. A study of some variables in a tetrazolium dye (MTT) based assay for cell growth and chemosensitivity. *Br. J. Cancer*. 1987;56(3):279–285.
- Anderson GW, Zimmerman JE, Callahan FM. Reinvestigation of the mixed carbonic anhydride method of peptide synthesis. *J. Am. Chem. Soc*. 1967;89:5012–5017.
- Baumann E. Ueber eine einfache Methode der Darstellung von Benzolsäureestern. *Ber. Dtsch. Chem. Ges*. 1886;19:3218–3222.
- Brenner M, Huber W. Herstellung von α -Aminosäureestern durch Alkoholyse der Methylester. *Helv. Chim. Acta*. 1953;36:1109–1115.