

# Роль фармакокинетических и биофармацевтических исследований при создании новых дипептидных лекарственных средств (экспериментальное исследование)

**Жердев В.П., Бойко С.С., Шевченко Р.В., Гудашева Т.А.**

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

**Резюме.** В работе представлены результаты исследований фармакокинетики новых дипептидных нейропсихотропных лекарственных средств, модифицированных аналогов эндогенных нейропептидов, анализируются их преимущества с позиций фармакокинетики в сравнении с олигопептидами и методические подходы улучшения их фармакокинетических свойств как на стадии разработки субстанций дипептидов, так и на стадии создания их пероральных лекарственных форм.

**Ключевые слова:** фармакокинетика, биодоступность, энзиматическая устойчивость, дипептидные лекарственные средства, пероральные лекарственные формы

## The Role of pharmacokinetics and biopharmaceutical investigations in the creation of a new dipeptide drugs (experimental investigation)

Zherdev V.P, Boyko S.S., Shevchenko R.V., Gudasheva T.A.

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

**Resume.** In the paper presents the results of investigations pharmacokinetics a new dipeptides neuropsychotropics drugs modifycated analogues of endogenics neuropeptids analyzes in posishin of pharmacokinetics their comparable wich endogenics neuropeptids and metodical pathways of their pharmacokinetics impruwds on the studium of creating substation of dipeptids also on the sudium creating of oral drug forms.

**Keywords:** pharmacokinetics, bioavailability, enzymatics stability, oral drugs forms

Автор, ответственный за переписку:

*Жердев Владимир Павлович – д.м.н., профессор, зав. лабораторией фармакокинетики ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» РАН; 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8; +7 (495) 601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru*

## Введение

В связи с большим ростом в настоящее время нейропсихических заболеваний, таких как нарушение когнитивных функций, депрессии, неврозы, шизофрения, тревожные состояния, проблема разработки и создания новых нейротропных лекарственных средств является актуальной. В течение длительного времени для лечения заболеваний, сопровождающихся нарушением когнитивных функций (ишемия мозга, инсульт, травма мозга) использовали в основном пирарцетам и другие ноотропные средства этого ряда. Однако они применяются в высоких дозах, неэкономичны и вызывают привыкание. В клинической практике для лечения шизофрении до настоящего времени использовали типичные и атипичные нейролептики, результатом применения которых могут быть серьёзные осложнения, усугубляющие состояние пациентов. Кроме того, 25% больных оказались резистентными к терапии нейролептиками [1]. Длительное время для терапии тревожных состояний и фобий в качестве анксиолитиков применяли препараты бензодиазепинового ряда, которые также обладают рядом побочных эффектов, таких как атаксия, миорелаксация, утомля-

емость, сонливость, нарушение памяти, психическая и физическая зависимость, синдром отмены, что существенно снижает качество жизни пациентов. Одним из анксиолитиков, лишённых побочных эффектов бензодиазепинов, является созданный в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» препарат Афобазол, который занял в настоящее время прочное место в медицинской практике для лечения фобий и тревожных расстройств [2, 3].

Всё вышесказанное определяет необходимость разработки и создания новых высокоактивных и конкурентоспособных лекарственных средств, лишённых недостатков вышеуказанных лекарственных препаратов. В настоящее время учёные уделяют большое внимание поиску активных веществ среди эндогенных пептидов, которые образуются в центральной и периферической нервной системе и осуществляют все регулирующие физиологические функции организма.

Лекарственные препараты, созданные на основе природных нейропептидов, имеют ряд преимуществ по сравнению с препаратами непептидной структуры, а именно высокую фармакологическую активность, отсутствие токсичности благодаря метаболизму до эндогенных аминокислот, отсутствие грубых побоч-

ных эффектов благодаря регуляторному механизму действия, меньшую вероятность развития толерантности и зависимости. Но их использование в качестве лекарственных препаратов, особенно пероральных лекарственных форм, не всегда представляется возможным, так как пептиды обладают низкой энзиматической устойчивостью, подвергаются пресистемному метаболизму, ограничено всасываются в ЖКТ из-за большой молекулярной массы.

В связи с вышеизложенным, актуальным явилась разработка новых лекарственных препаратов на основе дипептидов, которые имеют дополнительные преимущества перед олигопептидами, такие как меньшая полифункциональность и большая синтетическая доступность, большая энзиматическая устойчивость. Они выгодно отличаются возможностью их перорального применения за счёт большей стабильности и способности проникать через биологические барьеры. Кроме того, в организме имеются специфические транспортные системы переноса дипептидов (PEPT-1, обеспечивающая транспорт через энтеральную слизистую ЖКТ, и PEPT-2 – через ГЭБ) [4, 5], что даёт возможность их перорального использования.

Поэтому возникла целесообразность создания новых конкурентоспособных препаратов для лечения расстройств памяти, шизофрении, тревожных расстройств, депрессий на основе дипептидов, защищённых химическими концевыми группировками, придающими молекуле препарата липофильность и энзиматическую устойчивость. Такая модификация дипептидов способствует их стабильности и повышает биодоступность. Т.А. Гудашевой [6] разработана стратегия создания дипептидных препаратов с нейротропной активностью с использованием дизайна дипептидов, имитирующих структуру непептидного прототипа с определённой нейротропной активностью, а также фрагмента исходного пептида с аналогичной активностью.

На основе предложенной стратегии создан дипептидный аналог пираретама – Ноопепт – этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицина [6]. Ноопепт по способности восстанавливать нарушенные когнитивные функции и по уровню активных доз оказался значительно эффективнее пираретама. Ноопепт внедрён в медицинскую практику в качестве ноотропного лекарственного средства и с 2006 г. прочно занял место в отечественной фармакотерапии когнитивных расстройств.

Аналогичный подход использован для дипептидного моделирования атипичного нейролептика сульпирида, в результате которого получено соединение – метиловый эфир N-капроил-L-пролил-L-тирозина [6]. В эксперименте была доказана его нейролептическая активность. Сконструированное соединение, получившее название Дилепт, прошло стадию доклинического изучения, а также I стадию клинического исследования, и в настоящее время решается вопрос о перспективности его внедрения в медицинскую практику.

Второй подход дизайна пептидов состоит в нахождении дипептидного участка нейропептида, распознающего рецептор. В основе этого подхода лежит представление о ведущей роли гидрофобного взаимодействия лиганда с рецептором. В рамках данного подхода на основе анксиогенного нейропептида холецистокинина-4 создан дипептидный анксиолитик ГБ-115 [6].

Анксиолитические свойства препарата ГБ-115 подтверждены в большом количестве экспериментальных тестов, проведена I фаза клинических исследований и рассматривается вопрос о его внедрении в клиническую практику.

### Доклинические исследования фармакокинетики новых лекарственных средств

Исследования доклинической фармакокинетики новых лекарственных средств являются необходимым этапом для их дальнейшего продвижения в медицинскую практику [7]. Кроме того, выявление оптимальных фармакокинетических параметров позволяет создавать лекарственные формы с улучшенными фармакокинетическими характеристиками, учитывающими скорость и степень всасывания, величины биодоступности и энзиматической стабильности. Инструментальные методы, используемые для изучения фармакокинетики создаваемых дипептидных соединений, подробно описаны в ряде работ, посвящённых этой проблеме [8, 9, 16, 18, 21]. Экспериментальные доклинические исследования фармакокинетики оригинальных лекарственных средств проводятся в соответствии с методическими рекомендациями по доклиническому изучению фармакокинетики лекарственных средств [7].

Фармакокинетические параметры изучаемых лекарственных средств позволяют оценить все взаимосвязанные процессы, происходящие с лекарственным веществом при его введении в организм: скорость и степень всасывания в ЖКТ, распределение во внутренней среде организма, процессы метаболизма и элиминации, а также биодоступность исследуемых препаратов.

Полученные фармакокинетические данные позволяют определить оптимальный путь и метод введения препарата, ориентировочную схему дозирования лекарственного средства при переносе данных с животных на человека, что является крайне важным при составлении протокола и проведения I фазы клинических исследований лекарственных средств.

### Фармакокинетические характеристики дипептидных лекарственных средств. Ноотропный препарат Ноопепт

Результаты доклинического изучения фармакокинетики ноопепта, представляющего собой этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицина показали, что в неизменённом виде он определяется в плазме

крови крыс в течение 25 мин после внутривенного введения, что свидетельствует о его большей энзиматической устойчивости по сравнению с природными нейропептидами [8, 9, 16, 17]. Одновременно с ним в течение 4–6 ч после введения определяются 3 его основных метаболита: N-фенилацетилпролил-глицин, N-фенилацетилпролин и активный метаболит цикло-пролилглицин, структура которого была установлена методами высокоэффективной жидкостной хроматографии и масс-спектрометрии и определено его количественное содержание в плазме и мозге крыс [9, 10, 12]. Установлено, что цикло-пролилглицин, как и исходное соединение, обладает ноотропной активностью [12, 14, 15].

Цикло-пролилглицин, как пептид циклической структуры, более продолжительное время находится в плазме крови крыс, значительно более устойчив к энзиматическому воздействию по сравнению с ноопептом, на что указывает его период полувыведения, MRT и площадь под фармакокинетической кривой, которые значительно выше аналогичных параметров исходного соединения (табл. 1). Учитывая выявленную фармакологическую активность этого метаболита, а также улучшенные фармакокинетические характеристики в сравнении с ноопептом, на базе цикло-пролилглицина и его аналогов в настоящее время ведутся исследования по созданию нового лекарственного средства [13–15].

Таблица 1

Фармакокинетические параметры ноопепта и его активного метаболита после внутривенного введения субстанции в дозе 10 мг/кг

Препарат	AUC, мкг/мл × ч	Cl <sub>p</sub> , л/ч	kel, ч <sup>-1</sup>	T <sub>1/2</sub> , ч	MRT, ч	V <sub>d</sub> , л/кг
Ноопепт	0,310	18,77	3,63	0,19	0,22	5,17
Цикло-пролилглицин	2,80	—	0,26	2,65	2,59	—

После перорального введения (табл. 2) ноопепт быстро всасывается в ЖКТ, через 5 мин поступает в системный кровоток, определяется в плазме крови крыс в течение 25 мин после введения. Хорошо распределяется во внутренней среде организма экспериментальных животных. Фармакокинетические параметры ноопепта у крыс после перорального введения субстанции в дозе 50 мг/кг представлены в табл. 2.

На основании полученных данных можно сделать заключение о большей энзиматической устойчивости ноопепта по сравнению с вазопрессином и другими природными нейропептидами, время определения которых в плазме составляет 2–5 мин [17]. Следует подчеркнуть, что абсолютная биодоступность ноопепта у крыс составляет 7,1% [11], что значительно превосходит биодоступность других известных пептидных препаратов [16].

Таблица 2

Фармакокинетические параметры ноопепта после перорального введения субстанции в дозе 50 мг/кг

Параметры	Величина
C <sub>max</sub> , нг/мл	820
T <sub>max</sub> , мин	10
AUC, нг/мл × ч	216
T <sub>1/2</sub> , мин	6,96
C <sub>max</sub> /AUC, ч <sup>-1</sup>	3,45
V/F, л	38,75
MRT, мин	15,36
Cl/F, л/мин	3,86

Полученные результаты доклинических фармакокинетических исследований ноопепта дали возможность рекомендовать создание его пероральной лекарственной формы, результаты исследования фармакокинетики которой в сравнительном аспекте с субстанцией ноопепта представлены в табл. 3.

Таблица 3

Фармакокинетические параметры ноопепта после перорального введения субстанции и таблеток в дозе 50 мг/кг

Параметры	Субстанция	Таблетки
C <sub>max</sub> , нг/мл	820	860
T <sub>max</sub> , ч	10	15
AUC, нг/мл × ч	216	208
T <sub>1/2</sub> , мин	6,96	6,18
C <sub>max</sub> /AUC, ч <sup>-1</sup>	3,45	3,25
V/F, л	38,75	40,52
MRT, мин	15,36	14,39
Cl/F, л/ч	3 86	4,02
F (отн) %	—	92

При сравнительном изучении фармакокинетики субстанции и таблеток ноопепта не было выявлено существенных различий по основным фармакокинетическим параметрам ноопепта. Относительная биодоступность ноопепта при введении в лекарственной форме составила 92%, что позволило рекомендовать её для дальнейших клинических исследований. Ноопепт в данной лекарственной форме впоследствии был внедрён в медицинскую практику в качестве ноотропного средства.

### Антипсихотик дилепт

Другой модифицированный препарат – Дилепт – метиловый эфир N-капроил-L-пролил-L-тирозина является трипептоидным аналогом эндогенного антипсихотика нейротензина, обладает антипсихотическим действием, улучшает когнитивные функции и способен оказывать нейропротективное действие [16, 18].

Его экспериментальная фармакинетика была изучена при разных способах введения у крыс. Показано, что в неизменённом виде дилепт определяется в плазме крови крыс в течение 45 мин после внутривенного введения, при этом хорошо распределяется в органах и тканях крыс, о чём свидетельствует большая величина плазменного клиренса и объёма распределения (табл. 4).

Таблица 4

**Основные фармакокинетические параметры дилепта в плазме крови крыс после внутривенного введения субстанции в дозе 10 мг/кг**

AUC, нг/мл×ч	Cl <sub>p</sub> , л/ч	K <sub>el</sub> , ч <sup>-1</sup>	T <sub>1/2</sub> , ч	MRT, ч	V <sub>d</sub> , л/кг
121,72	82,160	4,147	0,167	0,217	8,942

Следующий этап исследования был связан с изучением фармакокинетики дилепта после перорального введения его субстанции в дозе 200 мг/кг, основные фармакокинетические параметры которой представлены в табл. 5. Доза была значительно увеличена (до 200 мг/кг) с целью более продолжительного наблюдения периода элиминации из-за низких концентраций препарата на этом участке его фармакокинетической кривой. В табл. 5 представлены основные фармакокинетические параметры дилепта после перорального введения субстанции в дозе 200 мг/кг.

Таблица 5

**Фармакокинетические параметры дилепта у крыс после перорального введения в дозе 200 мг/кг**

Параметр, размерность	Субстанция
C <sub>max</sub> , нг/мл	8,5
T <sub>max</sub> , мин	15
AUC <sub>0-∞</sub> , нг/мл×ч	2,5
Cl <sub>po</sub> , л/ч	8,050
T <sub>1/2</sub> , мин	27
MRT <sub>po</sub> , мин	42
V <sub>Zpo</sub> , л	52,968
F <sub>абс.</sub> , %	0,1

Из представленных в табл. 5 данных следует, что дилепт быстро и интенсивно распределяется во внутренней среде организма крыс, на что указывает высокая величина его плазменного клиренса и большого объёма распределения, что свидетельствует о быстром перераспределении дилепта из центральной камеры в периферическую, независимо от способа введения (внутривенно или перорально). Дилепт быстро метаболизируется с образованием 2 метаболитов: N- капроил-L-пролил-L-тирозин (M1) и N- капроил-L-пролил (M2), вследствие чего величина его абсолютной биодоступности составляет 0,1% (табл. 5). Такая низкая величина биодоступности обусловлена, скорее всего, эффектом первого прохождения дилепта через печень и его быстрым метаболизмом. В то же время из-за

плохой растворимости, нельзя исключить неполное всасывание дилепта в ЖКТ. Указанные выше метаболиты определяются в плазме крови крыс в течение более 4 ч после введения. Следует подчеркнуть, что дилепт проявляет антипсихотическую активность при пероральном введении субстанции, а метаболит M1 обладает, как и исходное соединение, фармакологической активностью [16, 18].

Анализируя полученные результаты, можно заключить, что дипептидный аналог нейротензина дилепт, несмотря на быстрый метаболизм, значительно превосходит по энзиматической стабильности исходный тридекапептид – нейротензин (НТ). Тогда как НТ разрушается энзимами крови в течение 30 с [17], дилепт при введении в вену определяется в крови экспериментальных животных более 30 мин.

Следует подчеркнуть, что сам НТ проявляет эффекты лишь при внутримозговом введении, дилепт же эффективен в условиях внутривенного и, что наиболее важно, перорального введения, что согласуется с фармакокинетическими параметрами дилепта (табл. 4, 5).

Полученные данные указывают на перспективность разработки пероральной лекарственной формы препарата.

В связи с изложенными результатами для улучшения фармакокинетических свойств дилепта были проведены исследования его фармакокинетики после введения пероральной лекарственной формы. Фармакокинетические параметры, рассчитанные на основе экспериментальных данных по сравнительному изучению фармакокинетики дилепта после введения субстанции и лекарственной формы в виде таблеток, представлены в табл. 6.

Таблица 6

**Основные фармакокинетические параметры дилепта в плазме крови крыс после введения субстанции и таблетированной лекарственной формы в дозе 200 мг/кг**

Параметр, размерность	Субстанция	Таблетки
C <sub>max</sub> , нг/мл	8,5	20
T <sub>max</sub> , мин	15	10
AUC <sub>0-∞</sub> , нг/мл×ч	2,5	3,0
Cl <sub>po</sub> , л/ч	8,0502	6,5786
K <sub>el</sub> , ч <sup>-1</sup>	1,5	5,38
T <sub>1/2</sub> , мин	27	8
MRT <sub>po</sub> , ч	0,7	0,3
V <sub>Zpo</sub> , л	5,297	12,23
F <sub>отн.</sub> , %	—	122

Так, для дилепта были установлены значительные различия фармакокинетических параметров как на стадии всасывания, так и на стадии элиминации при введении субстанции и таблеточной массы (табл. 6). Дилепт быстрее и полнее всасывается при его введении в форме таблеток, о чем свидетельствует уменьшение T<sub>max</sub> и увеличение величины C<sub>max</sub> и AUC в сравнении с этими параметрами субстанции. Величина отно-

сительной биодоступности увеличивается за счёт вспомогательных веществ лекарственной формы и составляет 122%, это может быть связано с замедлением процессов метаболизма дилепта (табл. 5, 6), о чём свидетельствует значительное уменьшение величины  $C_{max}$  и AUC метаболита M1 при введении таблеток. Результаты изучения фармакокинетики метаболита M1 представлены в табл. 7.

Таблица 7

**Основные фармакокинетические параметры N-капроил-L-пролил-L-тирозина (M1) в плазме крови крыс после введения субстанции и таблеточной массы дилепта в дозе 200 мг/кг**

Параметр, размерность	Субстанция	Таблетки
$C_{max}$ , нг/мл	506,6	188,0
$T_{max}$ , мин	20	10
AUC <sub>0-240</sub> , нг/мл × ч	1047,20	191,91
$K_{el}$ , ч <sup>-1</sup>	0,33	0,54
$T_{1/2}$ , ч	2,089	1,284
AUC <sub>0-240 subst</sub> /AUC <sub>0-240 tab</sub>	5,45	

Из данных табл. 7 следует, что после введения таблеточной массы значительно уменьшается величина максимальной концентрации метаболита M1 и его площади под фармакокинетической кривой, при этом степень образования метаболита M1 уменьшается в 5,45 раз по сравнению с субстанцией. По всей вероятности, входящий в состав лекарственной формы лудипресс, существенно замедляет метаболизм дилепта [16]. Полученные результаты позволили рекомендовать предложенную лекарственную форму для дальнейшего фармакологического изучения.

### Селективный анксиолитик ГБ-115

При изучении фармакокинетики трипептоидного аналога холецистокинина-4 анксиолитика ГБ-115, представляющего собой амид N-фенилгексаноил-L-пролил-L-триптофана, было установлено, что соединение определяется в плазме крови крыс в течение 45 мин после его внутривенного введения, медленно элиминируется из крови и хорошо распределяется во внутренней среде организма, о чём свидетельствует величина клиренса и объёма распределения (табл. 8).

Следующий этап исследования был связан с изучением фармакокинетики после перорального введения субстанции соединения ГБ-115, результаты которого представлены в табл. 9.

Таблица 8

**Основные фармакокинетические параметры ГБ-115 в плазме крови крыс после внутривенного введения субстанции в дозе 10 мг/кг**

AUC, нг/мл × ч	$Cl_r$ , л/ч	$K_{el}$ , ч <sup>-1</sup>	$T_{1/2}$ , ч	MRT, ч	$V_d$ , л/кг
740	13,89	2,0667	0,33	0,35	4,70

Таблица 9

**Основные фармакокинетические параметры ГБ-115 в плазме крови крыс после перорального введения субстанции в дозе 100 мг/кг**

Параметр, размерность	Величина параметра
$C_{max}$ , нг/мл	240
$T_{max}$ , мин	15
AUC <sub>0-∞</sub> , нг/мл × ч	147,50
$C_{max}/AUC_{0-∞}$ , ч <sup>-1</sup>	1,6
$Cl_{po}$ , л/ч	305,06
$K_{el}$ , ч <sup>-1</sup>	1,76
$T_{1/2}$ , мин	19,8
MRT <sub>po</sub> , ч (мин)	5,08 (304,8)
$Vz_{po}$ , л	46,21
$F_{abs.}$ , %	199

Анализируя приведённые в таблице данные можно отметить, что соединение ГБ-115 достигает максимальной концентрации через 15 мин после перорального введения субстанции, но при этом быстро покидает системный кровоток и распределяется во внутренних органах и тканях крыс, о чём свидетельствует большая величина плазменного клиренса и объёма распределения, значительно превышающая реальный объём жидкости в организме крыс, вследствие чего величина площади под фармакокинетической кривой составляет 147,50 нг/мл × ч и абсолютная биодоступность равняется 199%.

### Оптимизация лекарственной формы анксиолитика ГБ-115 с использованием данных его фармакокинетики

Исследование фармакокинетики лекарственных форм для перорального применения ноопепта и дилепта и их оптимизация за счёт вспомогательных веществ, влияющих на фармакокинетику активного соединения, касались в основном стадии создания самой лекарственной формы, а не модификации субстанций. Имеется большое количество публикаций, касающихся различных методических подходов модификации субстанций лекарственных веществ, направленных на увеличение энзиматической устойчивости, скорости и степени всасывания, величины биодоступности [22–24]. Одним из таких подходов является микронизация субстанций, которая значительно увеличивает удельную поверхность субстанции, определены оптимальные размеры частиц, способствующие более полному всасыванию и увеличению биодоступности изучаемых лекарственных веществ [23].

Здесь целесообразно привести в качестве примера разработку пероральной лекарственной формы и оптимизации её фармакокинетических параметров анксиолитика ГБ-115, которая была связана как со стадией модификации субстанции, так и со стадией

разработки фармацевтической композиции, составляющей основу лекарственной формы препарата для перорального применения. Имеются литературные данные о влиянии на фармакокинетику, особенно на процессы абсорбции, именно, на скорость и степень всасывания и, следовательно, на величину биодоступности размерности частиц субстанции, установлен наиболее оптимальный размер частиц для пептидов, составляющий 10 мкм [21].

Нами была изучена фармакокинетика у крыс после перорального введения 2 видов субстанций: кристаллической и микронизированной в дозе 100 мг/кг, параметры частиц которой составляли 10 мкм. Результаты влияния микронизации субстанции соединения ГБ-115 на его фармакокинетические параметры представлены в табл. 10.

Таблица 10

**Фармакокинетические параметры соединения ГБ-115 у крыс после перорального введения кристаллической и микронизированной субстанций в одной дозе (100 мг/кг)**

Параметр, размерность	Кристаллическая субстанция	Микронизированная субстанция
$C_{max}$ , нг/мл	146,16	113,02
$T_{max}$ , мин	10	20
$AUC_{0-\infty}$ , нг/мл × ч	3279,311	4983,617
$Cl_{po}$ , л/мин	6,988	4,013
$C_{max}/AUC_{0-\infty}$ , ч <sup>-1</sup>	0,052	0,028
$T_{1/2}$ , мин	14,73	21,79
$K_{el}$ , мин <sup>-1</sup>	0,0471	0,0323
$MRT_{po}$ , мин	23,83	39,87
$Vz_{po}$ , л	129,60	124,40
$F$ , %	—	142,48

Установлены существенные различия фармакокинетики соединения ГБ-115 после введения кристаллической и микронизированной субстанций как на стадии всасывания, так и на стадии его элиминации и распределения (табл. 10). Так, величина максимальной концентрации меньше, а время её достижения больше после введения микронизированной субстанции по сравнению с аналогичными параметрами кристаллической субстанции. В данном случае микронизация субстанции ГБ-115 не привела к позитивному результату – увеличению скорости и степени всасывания, что, вероятно, связано с плохой смачиваемостью труднорастворимой субстанции препарата. Микронизация субстанции значительно увеличивает её удельную поверхность, что сопровождается накоплением электростатического заряда и приводит к агрегации и агрегации частиц субстанции, вследствие чего снижается скорость растворения и абсорбции препарата [17]. В то же время было установлено положительное влияние микронизации субстанции на стадии элиминации и распределения препарата. Такие параметры, как период полувыведения, MRT, константа элиминации, величина плазменного клиренса свидетельствуют о

более длительном пребывании соединения ГБ-115 (до 1,5 ч) в организме экспериментальных животных после введения микронизированной субстанции препарата. При этом величина AUC после введения микронизированной субстанции значительно увеличивается, по сравнению с этим параметром у кристаллической субстанции, и относительная биодоступность составляет 142%. Увеличение биодоступности при введении микронизированной субстанции, по сравнению с кристаллической, обусловлено увеличением величин периода полувыведения и MRT, а также снижением плазменного клиренса и константы элиминации препарата. Величина объёма распределения при введении обеих субстанций отличается незначительно, что указывает на сходный характер распределения этих субстанций в органах и тканях экспериментальных животных.

Следующий этап создания препарата был связан с разработкой его оптимальной по фармакокинетическим параметрам лекарственной формы. С этой целью в ОТО ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» были разработаны 4 фармацевтические композиции на основе кристаллической и микронизированной субстанций с различным составом вспомогательных веществ (табл. 11).

Таблица 11

**Состав фармацевтических композиций (ФК) для создания оптимальной лекарственной формы соединения ГБ-115**

№ ФК	Состав ФК
ФК 1	Кристаллическая субстанция, лудипресс, неусиллин
ФК 2	Микронизированная субстанция, твердая дисперсная система с поливинилпирролидоном
ФК 3	Микронизированная субстанция, лудипресс, неусиллин
ФК 4	Микронизированная субстанция, лактоза, микрокристаллическая целлюлоза, гидроксиметил пропицеллюлоза

В ранее опубликованной работе [20] представлены результаты детального изучения фармакокинетики 4 фармацевтических композиций с использованием кристаллической и микронизированной субстанций, а также различным составом вспомогательных веществ. Показано, что ФК №1, изготовленная на основе кристаллической субстанции характеризуется значительно худшими фармакокинетическими показателями: меньшей скоростью и степенью всасывания, и величиной биодоступности изучаемого соединения по сравнению с этими показателями ФК №3; использование микронизированной субстанции при том же составе вспомогательных веществ приводило к улучшению фармакокинетических параметров и увеличивало величину биодоступности на 42%. На основе полученных результатов по сравнительному изучению фармакокинетики этих фармацевтических композиций были рассчитаны их фармакокинетические параметры, представленные в табл. 12.

Таблица 12

## Фармакокинетические параметры 4 фармацевтических композиций соединения ГБ-115

Параметры	ФК 1	ФК 2	ФК 3	ФК 4
$C_{\max}$ , нг/мл	126,250	185,09	97,364	121,50
$T_{\max}$ , мин	20	15	20	15
$AUC_{0-\infty}$ , нг/мл × мин	2332,12	10399,65	11967,19	12615,99
$C_{\max}$ , нг/мл	126,250	185,098	97,384	121,50
$C_{\max}/AUC$ , ч <sup>-1</sup>	0,059	0,024	0,021	0,016
$Cl_{po}$ , мл/мин	8,576	1,923	1,672	1,58
$K_{el}$ , мин <sup>-1</sup>	0,1475	0,0155	0,0094	0,0109
$T_{1/2}$ , мин	4,70	44,75	74,01	63,86
$MRT_{po}$ , мин	18,26	68,32	113,20	95,75
$V_{zpo}$ , мл	58,15	124,20	178,50	146,00
$F$ , %	53,15	192,36	117,14	190,68

Полученные фармакокинетические характеристики позволили отобрать две оптимальные фармацевтические композиции (№2 и №4) по близкой величине биодоступности. Увеличение биодоступности ФК № 2 обусловлено, помимо микронизации субстанции, наличием в составе вспомогательных компонентов твёрдой дисперсной системы с поливинилпирролидоном, за счёт матрицы которой скорость и продолжительность действия лекарственного вещества может быть повышена в 2–3 раза, о чём свидетельствуют источники литературы [19–21]. В данном случае биодоступность значительно увеличилась и составила 192,36%. Что касается ФК № 4, то её высокую величину биодоступности можно объяснить наличием в качестве вспомогательного вещества гидроксипропилметилцеллюлозы – гидрофильной матрицы с контролируемой доставкой активного вещества, которая значительно повышает продолжительность высвобождения действующего вещества из фармацевтической композиции, что может в значительной степени пролонгировать фармакологический эффект лекарственного препарата [22–24]. В связи с полученными данными обе фармацевтические композиции № 2 и № 4 были рекомендованы для дальнейшего фармакологического изучения [21].

В результате дальнейшего изучения фармакологической активности этих двух фармацевтических композиций была отобрана композиция № 4, как наиболее оптимальная как по фармакокинетическим характеристикам, так и по выраженности фармакологической активности, что явилось основанием для создания таблеточной лекарственной формы ГБ-115, которая была рекомендована для проведения клинических испытаний [25].

### Заключение

Таким образом, в результате изучения фармакокинетики трёх дипептидных препаратов – модифицирован-

ных аналогов эндогенных нейропептидов – установлены существенные различия фармакокинетических параметров скорости метаболизма, энзиматической устойчивости и биодоступности в зависимости от структуры дипептида, его лекарственной формы, а также размерности частиц субстанции и состава вспомогательных веществ лекарственной формы. Большое теоретическое и практическое значение имеют полученные впервые результаты по созданию пероральных лекарственных форм новых активных пептидов с улучшенными фармакокинетическими параметрами за счёт использования микронизированных субстанций и контролируемой системы доставки активного вещества, обеспечивающей пролонгирование фармакологического эффекта. Внедрение нового поколения современного инструментального оборудования на основе масс-спектрометрии в разработку научных исследований по созданию оригинальных пептидных препаратов и оптимизации их лекарственных форм, особенно для перорального применения, позволит проводить изучение фармакокинетики и количественного определения низких, сопоставимых с уровнем эндогенных пептидов, концентраций перспективных пептидных соединений в биологическом материале, что позволит более адекватно оценивать результаты экспериментальных данных в плане переноса их на пациента. Полученные результаты будут способствовать созданию оптимальных, с позиций фармакокинетики, лекарственных форм новых пептидных препаратов и их более эффективному использованию в клинической практике.

### Выводы

1. Установлено, что изученные дипептидные препараты, защищённые концевыми группировками, обладают большей энзиматической устойчивостью, и более продолжительное время определяются в биологических средах экспериментальных животных в сравнении с эндогенными нейропептидами.

2. Фармакокинетические исследования дипептидов ноопепта, дилепта и ГБ-115 при разных путях введения показали возможность создания пероральных лекарственных форм этих препаратов.

3. Биофармацевтические исследования дилепта, ноопепта и ГБ-115 способствовали созданию оптимальных лекарственных форм этих препаратов и их внедрению (ноопепт) и рекомендации к внедрению (дилепт и ГБ-115) в медицинскую практику.

### Литература

1. Жердев В.П., Бойко С.С., Месонжик Н.В. и соавт. Экспериментальная фармакокинетика фармакологического препарата Дилепт. Эксп. биол. и мед. 2009; 22: 3: 16–21.
2. Аведисова А.С., Чахова В.О., Лесс Ю.Э. и соавт. Новый анксиолитик Афобазол при терапии генерализованного тревожного расстройства (результаты сравнительного исследования с диазепамом). Психиатр и психофармакотер. 2006; 8: 116–119.

3. Краснов В.Н., Вельтищев Д.Ю., Немцов А.В. и соавт. Новые подходы к лечению стрессовых и тревожных расстройств: результаты многоцентрового исследования эффективности афобазола в психиатрической практике. Психиатр и психофармаколог. 2007; 9 (4): 16–20.
4. Sala-Rabanal M., Loo D.F., Hirayama B.A. et al. Molekullar interaction betwin dipeptides drugs and the human intestinal H<sup>+</sup>-oligopeptide cotransport hPEPT. J. Physiol. 2006; 574: 149–166.
5. Ganapathy M.E., Prasad P.D., Makcenzje at al. Interaction of anionic cephalosporins wihc intestinal and renal peptide transporters PEPT1 and PEPT2. Biochim. Biophys Acta. 1997; 1324: 296–308.
6. Гудашева Т.А. Стратегия создания дипептидных лекарств. Вестник РАМН. 2011; 7: 8–16.
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I, ЗАО «ГРИФ и К», М.: 2013.
8. Бойко С.С., Жердев В.П., Дворянинов А.А., Гудашева Т.А., Островская Р.У. Фармакокинетика дипептидного аналога пирacetама с ноотропной активностью ГВС-111 и его основных метаболитов. Эксп. и клин. фармакол. 1997; 2: 53–55.
9. Бойко С.С., Жердев В.П., Коротков С.А., Гудашева Т.А., Островская Р.У. Фармакокинетика нового потенциально активного дипептидного препарата ГВС-111 и его метаболитов в мозге крыс. Хим-фарм. журнал. 2001; 9: 11–13.
10. Бойко С.С., Островская Р.У., Жердев В.П. и соавт. Фармакокинетика и проницаемость через гематоэнцефалический барьер нового ацилпролилдипептида с ноотропными свойства после перорального введения. Бюлл. экп. биол. и мед. 2000; 120 (4): 426–429.
11. Бойко С.С., Жердев В.П., Гудашева Т.А. и соавт. Биодоступность ноопепта — нового ноотропного препарата дипептидной структуры. Хим.-фарм. журнал. 2004; 38: 12: 3–5.
12. Gudashева T.A., Boyko S.S., Ostrovskaya R.U. et al. The major metabolite of dipeptide piracetam analogue GVS-111 in rat brain and similarity to endogenous neuropeptide cyclopropylglycine. European Journal of drug metabolism and pharmacokinetics. 1997; 22: 3: 245–252.
13. Колясникова К.Н., Гудашева Т.А., Назарова Г.А. и соавт. Сходство цикло-пролилглицина с пирacetамом по антигипоксическому и нейропротективному эффектам. Эксп. и клин. фармакол. 2012; 75: 9: 3–6.
14. Колясникова К.Н., Вичужанин М.В., Константинопольский М.А. и соавт. Синтез и фармакологическая активность аналогов эндогенного нейротропного цикло-пролилглицина. Хим-фарм. журнал. 2012; 46: 2: 31–37.
15. Гудашева Т.А., Колясникова К.М., Кузнецова Е.А. и соавт. Этиловый эфир N-фенилацетилпролил-глицина метаболизируется до циклопролил-глицина превосходный спектр нейротропной активности. Хим.фарм. журнал. 2016; 11: 3–8.
16. Gudashева T.A., Voronina T.A., Ostrovskaya R.U. et al. Design of N-acylprolyltyrosine Tripeptide Analogs of Neurotensin as Potential Atypical Antipsychotic Agents. J. Med. Chem. 1998; 41: 294–290.
17. Aronin N., R. Garrawaj. W., Ferris C.G. Peptides. 1982; 3 (4): 637–642.
18. Островская Р.У., Ретюнская М.В., Гузевых Л.И. Трипептидный аналог нейротензина дилепт сочетает нейролептическую активность с мнемотропным действием. Экспер. и клин. фармакол. 2005; 68: 1: 3–6.
19. Бойко С.С., Жердев В.П., Колыванов Г.Б. и соавт. Экспериментальная фармакокинетика анксиолитика ГБ-115 при разных способах введения. Бюлл. экп. биол. и мед. 2007; 144: 9: 285–288.
20. Жердев В.П., Бойко С.С., Блынская и соавт. Доклиническое изучение фармакокинетики нового анксиолитика дипептидной природы ГБ-115. Фармакокинетика и фармакодинамика. 2015; 1: 55–59.
21. Колик Л.Г., Жердев В.П., Бойко С.С. и соавт. Экспериментальная фармакокинетика и фармакодинамика субстанции дипептидного анксиолитика ГБ-115. Экспер. и клин. фармакол. 2016; 11: 42–46.
22. Harris J.M., Chess R.B. Effect of pegylation on pharmaceuticals. Nat. Rev. 2010; 2: 214–221.
23. Bodhankar M.M., Agnihotri V.V., Bhushan S.B. Feasibility formulation, characterization innovative microparticles for oral delivery of peptide drug. Int. J. of Research in Pharm. and Chem. 2011; 1 (3): 630–636.
24. Herrero E.P., Alonso M.J., Csaba N. Polymer-based oral peptide nanomedicines. Therapeutic Delivery. 2012; 3 (5): 657–668.
25. Жердев В.П., Бойко С.С., Константинопольский М.А. и соавт. Фармакокинетика и фармакодинамика фармацевтических композиций дипептидного анксиолитика ГБ-115. Хим-фарм. журнал. 2016; 50: 5: 42–46.