

# Изучение фармакокинетики [<sup>3</sup>H]-циклопролилглицина в крови крыс

Ковалёв Г.И.<sup>1</sup>, Золотарёв Ю.А.<sup>2</sup>, Дадаян А.К.<sup>2</sup>, Шрам С.И.<sup>2</sup>,  
Абдуллина А.А.<sup>1</sup>, Васильева Е.В.<sup>1</sup>, Колыванов Г.Б.<sup>1</sup>, Жердев В.П.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

<sup>2</sup> – ФГБНУ «Институт молекулярной генетики», Москва

**Резюме.** Изучена фармакокинетика меченого по третию метаболита ноопепта циклопролилглицина [<sup>3</sup>H]-ЦПГ после внутривенного болюсного введения в дозе 5,7 мкг (2 мКи). Мечение субстанции ЦПГ проводили с помощью реакции высокотемпературного твердофазного каталитического изотопного обмена. Обнаружено, что временной характер изменений концентрации [<sup>3</sup>H]-ЦПГ в крови крыс подчиняется двухкамерной модели. Расчёт фармакокинетических параметров показал, что α-фаза (фаза распределения) протекает очень быстро, а β-фаза элиминации [<sup>3</sup>H]-ЦПГ достаточно продолжительна. При этом величина  $T_{1/2\alpha}$  составляет 1 мин, а  $T_{1/2\beta}$  – 80 мин. Эти данные согласуются с ранее полученными результатами по фармакокинетике ЦПГ как метаболита, образующегося из лекарственного препарата ноопепт. ЦПГ существенно отличается от других дипептидных соединений по величинам фармакокинетических параметров ( $T_{1/2e}$ , MRT и др.), что предполагает наличие у него большей продолжительности фармакологического действия.

**Ключевые слова:** циклопролилглицин (ЦПГ); фармакокинетика [<sup>3</sup>H]-ЦПГ; фармакокинетическое моделирование; фармакокинетические параметры; крысы; кровь

## Для цитирования:

Ковалёв Г.И., Золотарёв Ю.А., Дадаян А.К., Шрам С.И., Абдуллина А.А., Васильева Е.В., Колыванов Г.Б., Жердев В.П. Изучение фармакокинетики [<sup>3</sup>H]-циклопролилглицина в крови крыс // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – №3. – С.48–56. DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10024.

## The Study of [<sup>3</sup>H]-Cycloprolylglycine Pharmacokinetics in Rat Blood

Kovalev G.I.<sup>1</sup>, Zolotarev Yu.A.<sup>2</sup>, Dadayan A.K.<sup>2</sup>, Shram S.I.<sup>2</sup>, Abdullina A.A.<sup>1</sup>, Vasileva E.V.<sup>1</sup>, Kolyvanov G.B.<sup>1</sup>, Zherdev V.P.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> – FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

<sup>2</sup> – Institute of Molecular Genetics, RAS, Moscow

**Resume.** The objective of this study is to evaluate pharmacokinetic parameters of tritium-labeled cycloprolylglycine [<sup>3</sup>H]-CPG following intravenous bolus administration of 5.7 μg (2 mCi). [<sup>3</sup>H]-CPG was prepared by solid-state catalytic isotopic exchange with spillover-tritium. It was found that plasma concentration-time profile of [<sup>3</sup>H]-CPG is adequately fit by a two-compartment model. The pharmacokinetic parameter estimates revealed rapid α-phase (distribution phase) ( $T_{1/2\alpha}$  1 min) followed by a slower β-phase of elimination ( $T_{1/2\beta}$  80 min). These findings are consistent with previous results of pharmacokinetic study of CPG as a noopept metabolite. CPG is differ significantly from other therapeutic peptides in pharmacokinetic profile ( $T_{1/2e}$ , MRT, etc), which implies that CPG has a more prolonged duration of action.

**Keywords:** cycloprolylglycine (CPG); pharmacokinetics; [<sup>3</sup>H]-CPG; pharmacokinetic modeling; pharmacokinetic parameters; rats; blood

## For citations:

Kovalev GI, Zolotarev YuA, Dadayan AK, Shram SI, Abdullina AA, Vasileva EV, Kolyvanov GB, Zherdev VP. The Study of [<sup>3</sup>H]-Cycloprolylglycine Pharmacokinetics in Rat Blood. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;3:48–56. (In Russ). DOI: 10.24411/2588-0519-2018-10024.

## Введение

Циклопролилглицин (ЦПГ, цикло-(Про-Гли)) был сначала описан в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова в качестве одного из основных метаболитов препарата ноопепт [1].

Впоследствии ЦПГ был обнаружен в мозге крыс с помощью ВЭЖХ и ГЖХ, а также масс-спектрометрического анализа с ионизацией электронным ударом в качестве эндогенного соединения, средняя концентрация которого составила  $2,8 \pm 0,3$  нмоль/г сырой

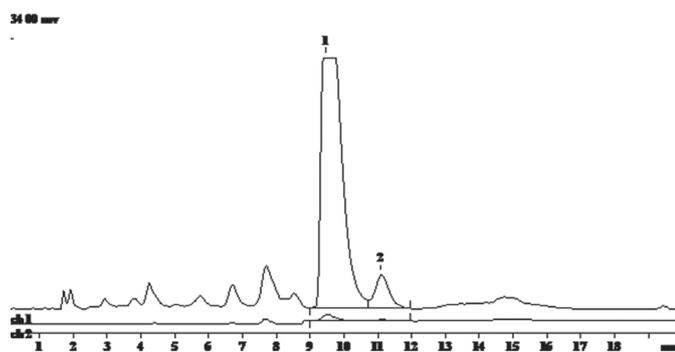
ткани [2]. Фармакологическое изучение позволило выявить у него антиамнестическую [3], анксиолитическую [4], антигипоксическую, нейропротекторную [5] активности, которые он проявляет в диапазоне доз от 0,05 до 1 мг/кг. Помимо этого, ЦПГ увеличивал содержание нейротрофина BDNF в культурах гиппокампальных мышечных клеток линии HT-22 и клеток нейробластомы человека линии SH-SY5Y как в норме, так и при моделировании повреждения с помощью глутамата и 6-гидроксидофамина [6].

Целью настоящего исследования стало изучение фармакокинетики пептида циклопролилглицин с использованием его радиоактивно меченного тритием производного [G- $^3\text{H}$ ]-ЦПГ.

### Материалы и методы

**Получение радиоактивно меченного тритием пептида ЦПГ.** Реакцию ВТКИО с газообразным тритием проводили при температуре 170 °С в твёрдой смеси, образованной ЦПГ, нанесённым на неорганический носитель, и высокодисперсным катализатором платиновой группы. ЦПГ в количестве 1,0 мг растворяли в 1 мл воды и смешивали с 20 мг неорганического носителя. Воду удаляли при уменьшенном давлении при 20 °С. Неорганический носитель с нанесённым препаратом смешивали с 10 мг гетерогенного катализатора платиновой группы. В ампулу объёмом 10 мл помещали полученную твёрдую смесь, вакуумировали, заполняли газообразным тритием до давления 250 торр и проводили реакцию ВТКИО при повышенной температуре. Ампулу охлаждали, вакуумировали, продували водородом. Пептид десорбировали 20 % водным этанолом. Для удаления лабильного трития меченый пептид ещё дважды растворяли в 20 % водном этаноле и упаривали досуха. Хроматографическую очистку проводили с помощью ВЭЖХ на колонке Кромасил в градиенте метанола в присутствии 0,1 % трифторуксусной кислоты (рис. 1). Пептид упаривали и растворяли в этаноле до радиоактивной концентрации 1 мКи/мл.

Реакцией ВТКИО с тритием были получены меченый тритием пептид [ $^3\text{H}$ ]-ЦПГ с молярной радиоактивностью 54 Ки/ммоль в количестве 20 мКи и радиохимической чистотой более 98 %, с использованием уникальной установки по обмену водорода на тритий ОВТ-1 (Отдел химии физиологически активных веществ ИМГ РАН).

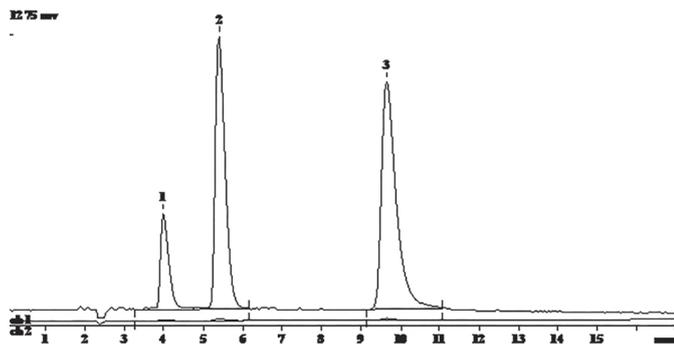


**Рис. 1.** Выделение меченого тритием пептида [ $^3\text{H}$ ]-ЦПГ на колонке Кромасил С18 8 x 150 мм в градиенте концентрации метанола 0-10 % в присутствии 0,1 % ТФА. Скорость подачи: 2,5 мл/мин. УФ детекция 225 нм, 1,0 А(Ch 1); 254 нм, 1,0 А(Ch 2)

**Животные и их содержание.** В исследованиях использовали здоровых половозрелых крыс-самцов линии Вистар ( $n = 3$ ), весом  $340 \pm 10$  г. Содержание животных соответствовало действующим санитарным правилам по содержанию лабораторных животных. Исследование выполнялось согласно Руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [7] и Правилам лабораторной практики в Российской Федерации [8]. Все процедуры в исследовании выполнялись согласно утверждённым Комиссией по гуманному обращению с животными протоколам.

**Введение животным пептида ЦПГ и отбор крови.** Введение пептида ЦПГ и отбор крови осуществляли через ярёмные вены. Перед введением пептида крыс анестезировали смесью кетамина (91 мг/кг) и ксилазина (9,1 мг/кг), после чего с вентральной стороны справа и слева препарировали две ярёмные вены и устанавливали внутривенные катетеры, слева — Flexicath G24 (Apexmed, Нидерланды), а в правую — Flexicath G22 (Apexmed, Нидерланды). В левую ярёмную вену вводили 80 мкл гепарина и затем в течение 10-15 с — раствор радиоактивно меченого пептида ЦПГ (2000 мКи, 5,7 мг/кг) в объеме 200 мкл. По истечении определенного времени (1; 2,5; 4; 6; 10; 20; 40; 60 и 90 мин) из правой ярёмной вены отбирали примерно по 0,4 мл венозной крови, которую помещали в пластиковые пробирки и быстро замораживали в жидком азоте.

**Анализ содержания пептида [ $^3\text{H}$ ]-ЦПГ в образцах крови.** При приготовлении препаратов для ВЭЖХ анализа замороженные и взвешенные образцы крови в пластиковых пробирках подвергались лиофильной сушке в течение 2 суток. После чего, высушенные образцы прогревались для удаления пептидазной активности тканей. Для приготовления пептидного экстракта проводили последовательные экстракции органическими растворителями, упаривание под уменьшенным давлением и центрифугирование. Лиофильно высушенные образцы крови прогревали при 65 °С в течение 30 минут, после чего образцы измельчались в этих же пластиковых пробирках горизонтальными ножами, вращающимися со скоростью 5000 об./мин. Первую экстракцию этих образцов проводили 90 % водным ацетонитрилом, содержащим 1 % трифторуксусной кислоты. После центрифугирования раствор, содержащий меченый тритием пептид и компоненты плазмы крови, подвергался сушке под уменьшенным давлением, реэкстракции метанолом и повторному центрифугированию. Полученный при этом раствор, содержащий меченый тритием пептид и компоненты плазмы крови, подвергался сушке под уменьшенным давлением, реэкстракции 0,1 % водным раствором гептафтормасляной кислоты и последующему центрифугированию.



**Рис. 2.** Хроматография смеси пептидов: 50 мкг PG (Пик №1), 20 мкг GP (Пик №2), 30 мкг ЦПГ (Пик №3), на колонке Кромасил С18 8 x 150 мм, подвижная фаза градиент метанола 0-10 % 0,1 % TFA, 3,0 мл/мин. УФ детекция 225 нм, 1,0 А (Ch 1), 254 нм, 1,0 А (Ch 2)

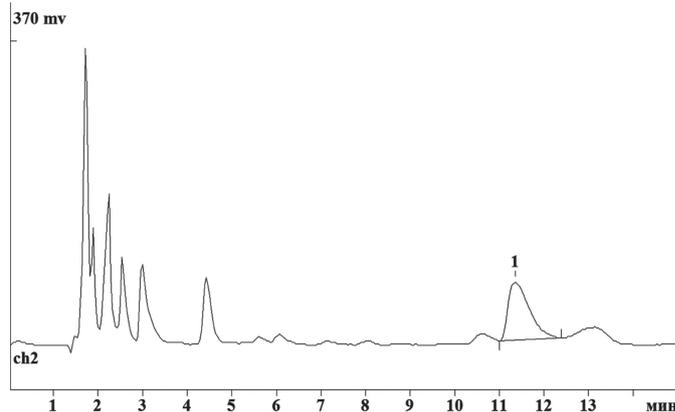
Радиохроматографический анализ проводили с помощью ВЭЖХ на колонке Кромасил С18,5 мкм, 150 x 4 мм в присутствии 0,1 % трифторуксусной кислоты. Выбраны условия анализа с помощью ВЭЖХ, позволяющие выделить фракцию, соответствующую ЦПГ, и отделить дипептиды PG и GP, являющиеся возможными пептидными метаболитами протеолитического гидролиза (рис. 2).

Хроматографические фракции, соответствующие пептиду ЦПГ, собирали и анализировали с помощью жидкостного сцинтилляционного счётчика TriCarb 2900TR ("PerkinElmer") с эффективностью счёта 45 %. Количественные значения радиоактивно меченого ЦПГ в пробе нормировали по внутреннему стандарту.

**Анализ фармакокинетических данных.** Анализ фармакокинетических параметров ЦПГ проводили в рамках модельного подхода согласно Рекомендациям по проведению доклинических исследований [7]. Для расчётов параметров и построения графиков использовали программу Sigma Plot 11.0. Фармакокинетические кривые («концентрация ЦПГ-время») для расчёта фармакокинетических параметров были построены по усреднённым значениям концентраций ЦПГ в крови, полученным из данных для 3 животных

## Результаты и обсуждение

Соединения пептидной природы находят все большее применение при разработке новых лекарственных препаратов [9, 10]. Важными их преимуществами являются высокая эффективность и чрезвычайно низкая токсичность. Однако исследование их фармакокинетических свойств сопряжено с целым рядом проблем. Прежде всего это обусловлено их быстрой деградацией в тканях и образованием множества метаболитов. Уникальные возможности для получения корректных результатов при



**Рис. 3.** Анализ меченого трипептида  $[^3\text{H}]$ -ЦПГ в пептидном экстракте крови крысы в присутствии 10 мкг ЦПГ (Пик №1) с помощью хроматографии на колонке Кромасил С18 4 x 150 мм, подвижная фаза 0,1 % TFA, 1,0 мл/мин. УФ детекция 225 нм, 1,0 А (Ch 2)

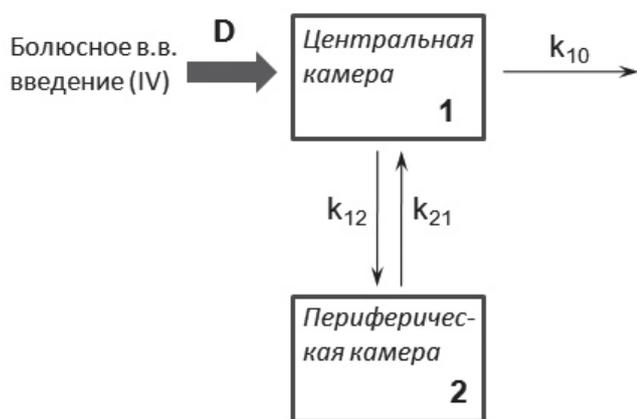
анализе фармакокинетики пептидов даёт использование равномерно меченных изотопами водорода пептидов, содержащих изотопную метку во всех аминокислотных остатках [11]. Для получения таких пептидов ранее было предложено использовать реакцию высокотемпературного твердофазного каталитического изотопного обмена (ВТКИО) [12, 13]. В Отделе химии физиологически активных соединений Института молекулярной генетики РАН в течение ряда лет проводятся исследования по изучению твердофазных каталитических реакций с изотопами водорода, получившие признание в нашей стране

Таблица 1

**Концентрация  $[^3\text{H}]$ -ЦПГ в крови крыс (нг/мл) после внутривенного болюсного введения в дозе 5,7 мкг ( $n = 3$ )**

№	Время, мин	Радиоактивность ЦПГ, DPM/мл* $10^6$	ЦПГ, нг/мл
1	1	$12,5 \pm 1,0$	$16,1 \pm 1,3$
2	2,5	$7,8 \pm 0,6$	$10,0 \pm 0,7$
3	4	$6,2 \pm 0,6$	$7,9 \pm 0,7$
4	6	$5,5 \pm 0,4$	$7,1 \pm 0,5$
5	10	$5,3 \pm 0,6$	$6,9 \pm 0,8$
6	20	$3,9 \pm 0,4$	$5,0 \pm 0,5$
7	40	$3,6 \pm 0,4$	$4,6 \pm 0,5$
8	60	$3,1 \pm 0,3$	$4,0 \pm 0,4$
9	90	$2,7 \pm 0,3$	$3,5 \pm 0,4$

**Примечания:** значения концентраций  $[^3\text{H}]$ -ЦПГ представлены в виде среднее  $\pm$  ошибка среднего ( $\bar{x} \pm S \bar{x}$ ).



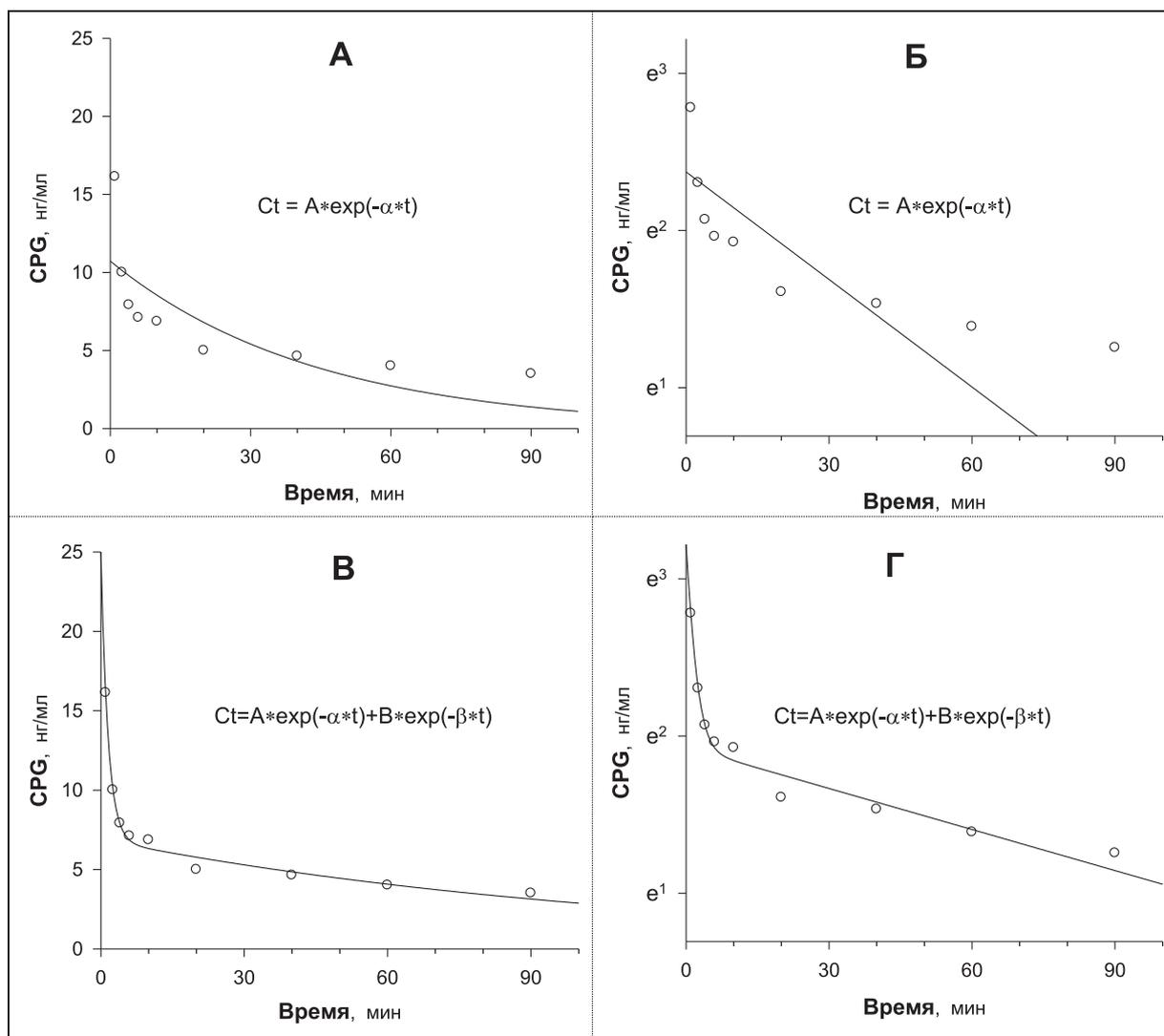
**Рис. 4.** Схематическое представление открытой двухкамерной фармакокинетической модели с элиминацией фармакологического вещества из центральной камеры

и за рубежом. Важной особенностью реакции ВТКИО является то, что изотопный обмен в пептидах и белках происходит с сохранением их биологических свойств [14]. Метод позволяет получать изотопномеченные белки и пептиды, в которых атомы изотопов распределены по всей молекуле, что открывает возможность мониторинга всех фрагментов, образующихся при их протеолитическом гидролизе в тканях организма.

Эта реакция была использована при синтезе меченого по тритию дипептида ЦПГ с молярной радиоактивностью 54 Ки/моль, что позволило использовать его для проведения фармакокинетических исследований на экспериментальных животных.

На рисунке 3 приведена типичная хроматограмма, полученная в ходе анализа ЦПГ в пептидных экстрактах из образцов крови.

В результате проведенного анализа были рассчитаны значения концентрации ЦПГ в цельной веноз-



**Рис. 5.** Аппроксимация экспериментальных данных уравнениями убывающих экспонент: моно- (А, Б) и биэкспоненциальных (В, Г) зависимостей с использованием нелинейной регрессии

Таблица 2

## Оценка «качества» аппроксимации экспериментальных данных в рамках одно- и двухкамерной фармакокинетических моделей

Показатель/критерий	Однокамерная модель	Двухкамерная модель
Математическая модель	$C_t = A \cdot \exp(-\alpha \cdot t)$	$C_t = A \cdot \exp(-\alpha \cdot t) + B \cdot \exp(-\beta \cdot t)$
$r$	0,7565	0,9953
$r^2$	0,5722	0,9906
Скорректированный $r^2$	0,5722	0,9850
Стандартная ошибка оценки регрессии	2,7487	0,4816
Дисперсионный анализ	F = 9,3636 p = 0,0183	F = 175,990 p < 0,0001
Нормальность распределения (тест Шапиро-Уилка)	W = 0,8667 p = 0,1134	W = 0,9445 p = 0,6304

Таблица 3

## Значения макроконстант в уравнении (2) для экспериментальных данных, представленных в таблице 1

Макроконстанта	Среднее	Ошибка среднего (SE)	t-критерий Стьюдента	p
A	18,13	2,04	8,902	0,0003
B	6,87	0,43	16,113	<0,0001
$\alpha$	0,6685	0,1075	6,221	0,0016
$\beta$	0,0087	0,0017	5,188	0,0035

ной крови крысы при однократном внутривенном болюсном введении (табл. 1).

Для расчёта фармакокинетических параметров был использован модельный подход. Минимальная ФК-модель, пригодная для описания полученных экспериментальных данных – открытая двухкамерная модель с элиминацией пептида из центральной камеры (рис. 4).

Это хорошо видно из графического представления данных (концентрация/время) в прямых и полулогарифмических координатах (рис. 5).

Убывающая моноэкспоненциальная зависимость используется для математического описания однокамерной ФК-модели, а убывающая биэкспоненциальная зависимость – для описания простейшей двухкамерной ФК-модели (рис. 1). Уравнения убывающих моно- и биэкспоненциальных зависимостей можно представить в виде:

$$C_t = A \cdot \exp(-\alpha \cdot t) \quad (1)$$

$$C_t = A \cdot \exp(-\alpha \cdot t) + B \cdot \exp(-\beta \cdot t) \quad (2)$$

где:  $C_t$  – концентрация фармакологического вещества в крови в момент времени  $t$ ;  $A$ ,  $B$ ,  $\alpha$  и  $\beta$  – гибридные константы (макроконстанты) интегральных уравнений (1) и (2).

В случае биэкспоненциальной зависимости (двухкамерная модель) первая экспонента (макроконстанты  $A$  и  $\alpha$ ) в основном отражает процесс распределения вещества между центральной и периферической

камерами, а вторая экспонента (макроконстанты  $B$  и  $\beta$ ) – процесс элиминации вещества из центральной камеры.

Для наилучшей подгонки значений параметров уравнений (1) и (2) (макроконстант) экспериментальным данным применяли нелинейную регрессию и метод наименьших квадратов с помощью Sigma Plot 11.0.

Корректность применения той или иной модели для описания имеющихся экспериментальных данных была оценена с помощью коэффициента детерминации ( $r^2$ ) и скорректированного коэффициента детерминации (adjusted  $r^2$ ). Значения этих и некоторых других показателей для двух рассматриваемых моделей приведены в таблице 2. Представленные результаты указывают на то, что экспериментальные данные хорошо описываются биэкспоненциальной зависимостью (уравнение (2)). Следовательно, полученные экспериментальные данные (табл. 2) корректно анализировать в рамках двухкамерной ФК-модели.

С использованием нелинейной регрессии определены значения макроконстант в уравнении (2) (табл. 3).

Исходя из значений макроконстант были рассчитаны значения микроконстант  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  и  $k_{21}$  (см. схему на рис. 1), периодов полуэлиминации фазы распределения ( $T_{1/2\alpha}$ ) и фазы элиминации ( $T_{1/2\beta}$ ) и ряд системных ФК-параметров (табл. 4).

Таблица 4

Расчётные значения фармакокинетических параметров пептида [<sup>3</sup>H]-ЦПГ в крови крысы при однократном болюсном внутривенном введении в дозе 5,7 мкг

ФК-параметр	Размерность	Расчётное значение
$C_0$	нг/мл	25,01
$t_{1/2\alpha}$	мин	1,04
$t_{1/2\beta}$	мин	79,67
<i>Микроконстанты для 2-камерной модели</i>		
$k_{12}$	мин <sup>-1</sup>	0,4565
$k_{21}$	мин <sup>-1</sup>	0,1901
$k_{10}$	мин <sup>-1</sup>	0,0306
<i>Системные фармакокинетические параметры</i>		
AUC	мин×нг/мл	817
AUMC	мин <sup>2</sup> ×нг/мл	90864
MRT	мин	111,18
$k_{el}$	мин <sup>-1</sup>	0,0306
$Cl_T$	мл/мин	6,974
$V_c$	мл	228
$Vd_{ss}$	мл	775
$Vd_{\beta}$	мл	802

где:

$C_0$	Концентрация фармакологического вещества в крови в начальный момент времени ( $t = 0$ мин)
$t_{1/2\alpha}$	Период полуэлиминации фазы распределения фармакологического вещества между центральной и периферической камерами
$t_{1/2\beta}$	Период полуэлиминации фазы элиминации фармакологического вещества из центральной камеры
$k_{12}$	Константа скорости (первого порядка) переноса фармакологического вещества из центральной камеры в периферическую
$k_{21}$	Константа скорости (первого порядка) переноса фармакологического вещества из периферической камеры в центральную
$k_{10}$	Константа скорости (первого порядка) элиминации фармакологического вещества из центральной камеры
AUC	Площадь под кривой зависимости $C_t$ от $t$
AUMC	Площадь под кривой зависимости $C_t \cdot t$ от $t$
MRT	Среднее время удерживания вещества в организме
$k_{el}$	Константа скорости (первого порядка) элиминации фармакологического вещества из центральной камеры
$Cl_T$	Общий клиренс
$V_c$	Объём центральной камеры (объём распределения фармакологического вещества в начальный момент времени – $t = 0$ мин)
$Vd_{ss}$	Объём распределения фармакологического вещества при достижении квазистационарного состояния в периферической камере (т. е. в момент достижения максимальной концентрации фармакологического вещества в периферической камере)
$Vd_{\beta}$	Объём распределения фармакологического вещества в фазе элиминации

Усреднённая концентрационная кривая [ $^3\text{H}$ ]-ЦПГ и рассчитанные из неё фармакокинетические параметры исследуемого соединения в крови животных после однократного внутривенного введения (в/в) представлены на рис. 5 и в табл. 4. [ $^3\text{H}$ ]-ЦПГ определялся в крови на протяжении 90 минут. Кажущаяся начальная концентрация ( $C_0$ ) ЦПГ в плазме крови крыс составила 25,01 нг/мл. Его период полуэлиминации ( $T_{1/2\beta}$ ) составил 79,7 минут.

Ранее на крысах была изучена фармакокинетика соединения дипептидной структуры – ноопепта, обладающего ноотропной активностью. В результате исследования биотрансформации ноопепта были установлены химические структуры его метаболитов. Среди основных продуктов биотрансформации был обнаружен циклопролилглицин [1].

Величина периода полуэлиминации ( $T_{1/2el}$ ) ЦПГ после в/в способа введения ноопепта крысам в дозе 5 мг/кг составила 2,65 ч (159 мин) и MRT – 2,52 ч (151,2 мин) [15]. Следовательно,  $T_{1/2el}$  ЦПГ после в/в введения ноопепта значительно больше аналогичного параметра незамещенных ди- и трипептидов.

Например, период полуэлиминации пептидного соединения – анксиолитика ГБ-115 у крыс после его перорального введения в дозе 100 мг/кг составил 0,24 ч (14,4 мин) и MRT – 0,28 ч (16,8 мин) [16]. Величина  $T_{1/2el}$  другого пептидного вещества – нейрорептика дилепта у крыс после его перорального введения в дозе 200 мг/кг составила 0,55 ч (33,0 мин) и MRT – 0,85 ч (51,0 мин) [17].

Учитывая, что период полуэлиминации ЦПГ после его в/в введения составил около 80,0 минут, ЦПГ можно отнести к группе «долгоживущих» лекарственных веществ пептидной природы. Такие ФК-параметры, как  $T_{1/2el}$  и среднее время удерживания вещества в организме (MRT – 111,2 мин) указывают на относительно долгое нахождение исследуемого вещества в системном кровотоке животных.

Таким образом, ЦПГ в сравнении с другими пептидными соединениями более длительно выво-

дится из организма крыс как в качестве метаболита, образующегося после введения ноопепта, так и при непосредственном его введении как лекарственного вещества.

## Выводы

1. Реакцией ВТКИО с тритием получен меченый тритием пептид ЦПГ с молярной радиоактивностью 54 Ки/ммоль и радиохимической чистотой более 98 %, что позволило использовать его для проведения фармакокинетических исследований на экспериментальных животных.

2. С использованием радиоактивно меченного тритием производного проведено исследование фармакокинетики [ $^3\text{H}$ ]-ЦПГ в крови крысы при однократном внутривенном болюсном введении пептида. Показано, что изменение концентрации [ $^3\text{H}$ ]-ЦПГ в крови (во времени) соответствует двухкамерной ФК-модели, описываемой двухэкспоненциальным уравнением. Это может быть обусловлено наличием достаточно ёмкого депо ЦПГ, характеризующегося относительно медленным накоплением и высвобождением пептида.

3. На основе модельного подхода рассчитаны значения модель-зависимых параметров (микромконстанты  $k_{10}$ ,  $k_{12}$  и  $k_{21}$ ) и системных фармакокинетических параметров (AUC, MRT,  $k_{el}$ ,  $Cl_T$ ,  $V_d$ ). Они свидетельствуют об относительно низкой скорости элиминации ( $k_{el}$ ) и о продолжительном времени удерживания [ $^3\text{H}$ ]-ЦПГ в организме – 0,03 мин $^{-1}$  и 111 мин соответственно.

4. После однократного внутривенного болюсного введения в дозе 5,7 мг/кг ЦПГ в организме крыс определяется на протяжении 90 минут. Величина периода полувыведения ЦПГ из крови составила 80 минут и среднего времени удерживания вещества в организме – 111 минут.

5. Большой период полувыведения [ $^3\text{H}$ ]-ЦПГ в  $\beta$ -фазе позволяет отнести его к относительно долгоживущим соединениям с пептидной структурой.

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Ковалёв Георгий Иванович***Автор, ответственный за переписку*

e-mail: kovalev@academpharm.ru

ORCID ID: 0000-0002-8597-7018

SPIN-код: 8461-8814

д. м. н., проф., заведующий лабораторией радиоизотопных методов исследований, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Золотарев Юрий Александрович**

ORCID ID: 0000-0001-8342-5888

SPIN-код: 2854-4997

д. х. н., проф., в. н. с. лаборатории изотопно-меченных физиологически активных веществ, ИМГ РАН, Москва

**Дадаян Александр Каренович**

ORCID ID: 0000-0002-9159-104X

к. х. н., с. н. с., лаборатории изотопно-меченных физиологически активных веществ, ИМГ РАН, Москва

**Шрам Станислав Иванович**

ORCID ID: 0000-0002-0331-5505

SPIN-код: 9784-7184

к. х. н., заведующий сектором нейрофармакологии, Отдела химии физиологически активных веществ, ИМГ РАН, Москва

**Абдулина Алия Анвяровна**

ORCID ID: 0000-0001-7499-0885

SPIN-код: 9781-1554

м. н. с. лаборатории радиоизотопных методов исследований, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Васильева Екатерина Валерьевна**

ORCID ID: 0000-0002-9178-2823

SPIN-код: 1054-4872

к. б. н., с. н. с. лаборатории радиоизотопных методов исследований, ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Колыванов Геннадий Борисович**

ORCID ID: 0000-0002-2571-0047

SPIN-код: 2538-8639

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Kovalev Georgy***Corresponding author*

e-mail: kovalev@academpharm.ru

ORCID ID: 0000-0002-8597-7018

SPIN code: 8461-8814

Doctor of Medical Sciences, Prof., head of the laboratory of radioisotope research methods, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Zolotarev Yurii**

ORCID ID: 0000-0001-8342-5888

SPIN code: 2854-4997

Doctor of Chemical Sciences, Prof., leading researcher the laboratory of isotope-labeled physiologically active substances, IMG RAS, Moscow

**Dadayan Alexander**

ORCID ID: 0000-0002-9159-104X

Candidate of Chemical Sciences, Senior Research Officer the laboratory of isotope-labeled physiologically active substances, IMG RAS, Moscow

**Shram Stanislav**

ORCID ID: 0000-0002-0331-5505

SPIN code: 9784-7184

Candidate of Chemical Sciences, head of neuropharmacology sector, Department of chemistry of physiologically active substances, IMG RAS, Moscow

**Abdullina Aliya**

ORCID ID: 0000-0001-7499-0885

SPIN code: 9781-1554

junior researcher, laboratory of radioisotope research methods, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Vasileva Ekaterina**

ORCID ID: 0000-0002-9178-2823

SPIN code: 1054-4872

Candidate of Biological Sciences, Senior Research Officer laboratory of radioisotope research methods, FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Kolyvanov Gennadiy**

ORCID ID: 0000-0002-2571-0047

SPIN code: 2538-8639

Doctor of Biological Sciences, leading researcher the laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Жердев Владимир Павлович**

ORCID ID: 0000-0003-2710-7134

SPIN-код: 2213-9592

д. м. н., проф., заведующий лабораторией фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Zherdev Vladimir**

ORCID ID: 0000-0003-2710-7134

SPIN code: 2213-9592

Doctor of Medical Sciences, Prof, Head of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

## Литература / References

1. Бойко С.С., Жердев В.П., Гудашева Т.А., и др. Фармакокинетика нового потенциального дипептидного ноотропного препарата ГВС-111 и его метаболитов в мозге крысы // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2001. – № 9. – С.11–13. [Boiko SS, Zherdev VP, Gudasheva TA, et al. Pharmacokinetics of the new potential dipeptide nootrope gvs-111 and related metabolites in rat brain. *Khimiko-Farmatsevticheskii Zhurnal*. 2001;35(9):11–13. (In Russ).] DOI: 10.1023/A:1014082406443
2. Gudasheva TA, Boyko SS, Ostrovskaya RU, et al. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. *FEBS Letters*. 1996; 391:149–152. DOI: 10.1016/0014-5793(96)00722-3
3. Гудашева Т.А., Островская Р.У., Трофимов С.С., и др. Новый эндогенный дипептид циклопролилглицин подобен пирacetаму по селективности мнемоторного эффекта // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 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).]
4. Гудашева Т.А., Константинопольский М.А., Островская Р.У., и др. Анксиолитическая активность эндогенного ноотропного пептида циклопролилглицина в тесте приподнятого крестообразного лабиринта // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. – 2001. – Т.131. – № 5 – С.464–466. [Gudasheva TA, Konstantinopol'skii MA, Ostrovskaya RU, et al. 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).]
5. Колясникова К.Н., Гудашева Т.А., Назарова Г.А., и др. Сходство цикло-пролилглицина с пирacetамом по антигипоксическому и нейропротекторному эффектам // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 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. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 2012;75(9):3–6. (In Russ).]
6. Гудашева Т.А., Колясникова К.Н., Антипова Т.А., и др. 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, et al. Neuropeptide cycloprolylglycine increases the levels of brain-derived neurotrophic factor in neuronal cells. *Doklady Akademii nauk*. 2016;469(4):492–495. (In Russ).] DOI: 10.7868/S0869565216220254
7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. / Под ред. Миронова А.Н. Часть первая. – М.: Гриф и К.; 2012. с. 944. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennykh sredstv. Ed by Mironov AN. Moscow: Grif i K.; 2012. (In Russ).]
8. Национальный стандарт Российской федерации. ГОСТ Р 53434 – (2009). [Natsional'nyi standart Rossiiskoi federatsii, GOST R 53434 – (2009). (In Russ).]
9. Malavolta L, Cabra FR. Peptides: Important tools for the treatment of central nervous system disorders. *Neuropeptides*. 2011;45(5):309–316. DOI: 10.1016/j.npep.2011.03.001
10. Diao L, Meibohm B. Pharmacokinetics and pharmacokinetic-pharmacodynamic correlations of therapeutic peptides. *Clinical Pharmacokinetics*. 2013;52(10):855–868. DOI: 10.1007/s40262-013-0079-0
11. Zolotarev YuA, Dadayan AK, Bocharov EV, et al. New development in the tritium labelling of peptides and proteins using solid catalytic isotopic exchange with spillover-tritium. *Amino Acids*. 2003; 24(3): 325–333. DOI: 10.1007/s00726-002-0404-7
12. Золотарев Ю.А., Далаян А.К., Долотов О.В., и др. Равномерно меченные тритием пептиды в исследованиях по их биодеградации in vivo и in vitro // *Биоорганическая химия*. – 2006. – Т. 32. – №2 – С.183–191. [Zolotarev YuA, Dadayan AK, Dolotov OV, et al. Evenly tritium-labeled peptides in study of peptide in vivo and in vitro biodegradation. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2006;32(2):183–191. (In Russ).]
13. Zolotarev YuA, Dadayan AK, Kozik VS, et al. Solid-state isotope exchange with spillover hydrogen in organic compounds. *Chem. Rev*. 2010;110(9):5425–5446. DOI: 10.1021/cr100053w
14. Zolotarev YuA, Dadayan AK, Borisov YuA, et al. New development in the solid-state isotope exchange with spillover hydrogen in organic compounds. *J. Phys. Chem. C*. 2013; 117(33):16878–16884. DOI: 10.1021/jp4015299
15. Коротков С.А. *Экспериментальное изучение фармакокинетики и биотрансформации нового дипептидного ноотропа ноопепта*. Дис. ... канд. биол. наук. – М.; 2003. [Korotkov SA. *Ekspperimental'noe izuchenie farmakokinetiki i biotransformatsii novogo dipeptidnogo nootropna noopepta*. [dissertation] Moscow; 2003. (In Russ).] Доступно по: <http://medical-diss.com/medicina/eksperimentalnoe-izuchenie-farmakokinetiki-i-biotransformatsii-novogo-dipeptidnogo-nootropna-noopepta>
16. Раскин С.Ю., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., и др. Фармакокинетика дипептидного анксиолитика ГБ-115 после перорального введения у различных видов животных и человека // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2017. – №3. – С.20–25. [Raskin SYu, Kolyvanov GB, Litvin AA, et al. Pharmacokinetics of dipeptide anxiolytic GB-115 after oral administration in different animals species and humans. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2017;(3):20–25. (In Russ).]
17. Шевченко Р.В., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., и др. Особенности фармакокинетики оригинального нейролептика дилепта у животных и человека // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. – 2014. – Т.77. – №7. – С.23–26. [Shevchenko RV, Litvin AA, Kolyvanov GB, et al. Specific features in pharmacokinetics of the original neuroleptic dilept in animals and humans. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 2014; 77(7): 23–26. (In Russ).] DOI: <https://doi.org/10.30906/0869-2092-2014-77-7-23-26>