

# Фармакокинетика инъекционной лекарственной формы ГК-2 у кроликов

Шевченко Р. В., Литвин А. А., Колыванов Г. Б., Бочков П. О., Грибакина О. Г.,  
Новицкий А. А., Жердев В. П.

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

**Аннотация.** Изучена фармакокинетика миметика фактора роста нервов ГК-2 (димерный дипептидный миметик 4-й петли NGF, производного фторзамещённого 5-[2-(5-фторпирид-3-ил)-этил]-2,8-диметил-2,3,4,5-тетрагидро-1Н-пиридо[4,3-б]индола) у кроликов после однократного внутривенного введения инъекционной лекарственной формы в дозе 24 мг (7,8–8,7 мг/кг). Концентрации ГК-2 в плазме крови животных определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. ГК-2 можно отнести к «короткоживущим» лекарственным веществам, т. к. период полувыведения из плазмы крови кроликов составил  $0,9 \pm 0,1$  ч.

**Ключевые слова:** нейропротектор ГК-2; доклиническая фармакокинетика

## Для цитирования:

Шевченко Р. В., Литвин А. А., Колыванов Г. Б., Бочков П. О., Грибакина О. Г., Новицкий А. А., Жердев В. П. Фармакокинетика инъекционной лекарственной формы ГК-2 у кроликов // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2020. – № 2. – С. 17–21. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-17-21X

## The pharmacokinetics of the injectable dosage form of GK-2 in rabbits

Shevchenko RV, Litvin AA, Kolyvanov GB, Bochkov PO, Gribakina OG, Novitskiy AA, Zherdev VP  
FSBI «Zakusov Research Institute of Pharmacology», Russia, Moscow

**Abstract.** The pharmacokinetics of the nerve growth factor mimetic GK-2 (dimeric dipeptide mimetic of the 4-th loop NGF, a derivative of fluoro-substituted 5-[2-(5-fluoropyrid-3-yl)-ethyl]-2,8-dimethyl-2,3,4,5-tetrahydro-1H-pyrido[4,3-b]indole) in rabbits after a single intravenous injection of an injectable dosage form at dose 24 mg (7,8-8,7 mg/kg). GK-2 concentrations in the blood plasma were determined by high-performance liquid chromatography with mass-spectrometric detection. GK-2 can be attributed to "short-lived" drugs, since the half-life from the rabbits blood plasma was  $0.9 \pm 0.1$  h.

**Keywords:** neuroprotector GK-2, preclinical pharmacokinetics

## For citations:

Shevchenko RV, Litvin AA, Kolyvanov GB, Bochkov PO, Gribakina OG, Novitskiy AA, Zherdev VP. The pharmacokinetics of the injectable dosage form of GK-2 in rabbits. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020;(2):17–21. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-17-21

## Введение

Разработка нейропротективных средств лечения острых нарушений мозгового кровообращения является одной из проблем современной фармакологии [1].

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» создан низкомолекулярный миметик фактора роста нервов — димерный дипептид ГК-2, активирующий специфические для NGF тирозинкиназные TrkA-рецепторы и пострецепторный сигнальный путь Акт, преимущественно вовлечённый в нейропротекцию [2].

Необходимым этапом разработки оригинального лекарственного средства (ЛС) является изучение его фармакокинетики и метаболизма в эксперименте [3]. Выявление общих закономерностей и различий в фармакокинетике фармакологически активных веществ у экспериментальных животных разных видов позволяет наиболее точно экстраполировать значения фармакокинетических параметров на человека. Анализ доклинических исследований очень важен для оценки вероятности развития и характера побочных эффектов, обеспечивает полезной информацией при переносе данных с животных на человека для выбора

пути введения, расчёта дозы ЛС и продолжительности отбора проб крови у добровольцев для фазы I клинических исследований.

В соответствии с требованиями «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» при изучении фармакокинетики нового фармакологического вещества требуется выполнить данное исследование минимум на двух видах экспериментальных животных [3]. Ранее была изучена доклиническая фармакокинетика соединения ГК-2 на крысах. Однако полученные в этих исследованиях результаты имеют некоторые недостатки, связанные с тем, что первичные данные носят дискретный характер. Другими словами, фармакокинетический профиль исследуемого вещества является суммой отдельных точек (концентраций), т. е. каждой концентрации соответствует отдельное животное. Изучение фармакокинетики ГК-2 на более крупных животных (не грызунах) — кроликах, позволяет обойти эти недостатки.

Цель данного исследования — изучение фармакокинетики инъекционной лекарственной формы ГК-2 на кроликах.

## Материалы и методы

Для проведения фармакокинетических исследований использовали фармацевтическую субстанцию ГК-2 (Серия—СН-13-88), синтезированную в лаборатории пептидных биорегуляторов ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». На 6 кроликах породы шиншилла (питомник «Столбовая», Московская область) массой 2,75–3,10 кг проведено открытое фармакокинетическое исследование. Кроликам в краевую ушную вену (правое ухо) вводили 2 мл раствора, полученного путём растворения содержимого двух флаконов, в которых находился лиофилизованный порошок ГК-2, в воде для инъекций. Доза исследуемого вещества составила 24 мг (7,8–8,7 мг/кг).

Отбор проб крови проводили перед введением (контроль) и через 10; 20; 30; 45 мин, 1; 1,5; 2; 3 и 4 ч после введения препарата из краевой ушной вены левого уха животного.

Все манипуляции с экспериментальными животными выполнены в соответствии с нормативной документацией, касающейся гуманного обращения с животными, и стандартными операционными процедурами лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Проведение экспериментов с животными одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», а также требованиям «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» [3].

Для определения ГК-2 в плазме крови крыс и кроликов использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием: высокоэффективный жидкост-

ной хроматограф с масс-селективным детектором типа «ионная ловушка» модели «Agilent 1200 Series LC/MSD Ion Trap» («Agilent», США), оборудованный системой автоматического ввода пробы, внешним источником ионов с ионизацией электроспреем при атмосферном давлении и управляемый компьютером с системой обработки данных «ChemStation» (v.1.0). Хроматографирование выполняли в условиях изократического элюирования. Детектирование проводили масс-спектрометрически по молекулярному иону с массовым числом  $m/z = 416$ , соответствующему дважды протонированному молекулярному иону ГК-2. Предел детектирования составил 5 нг/мл.

Межвидовые соотношения для фармакокинетических параметров ФС формируются на основе концепции биологического подобия, согласно которой у животных скорости протекания основных физиологических процессов одинаковы, если в качестве параметра «время» использовать не астрономическое (хронологическое), а «биологическое» или «физиологическое» время [5]. Для отображения полученных данных использовали метод Дедрика, где хронологические времена отбора проб крови животных пересчитывали в соответствующие «фармакокинетические» времена по уравнению:

$$t_{pk} = t/m^{0,25} \quad (1),$$

где:  $t_{pk}$  — «фармакокинетическое» время;

$m$  — масса тела кролика, кг;

$t$  — хронологическое время, ч [6].

По профилям изменения концентраций ГК-2 в плазме крови кроликов в хронологическом времени и координатах Дедрика рассчитывали периоды полуэлиминации, выраженные в реальном ( $t_{1/2el}$ ) и «фармакокинетическом» времени ( $t_{1/2el\ pk}$ ). Величину  $t_{1/2el}$

Таблица 1

Фармакокинетические параметры ГК-2 в плазме крови кроликов после однократного внутривенного введения в дозе 7,8–8,7 мг/кг

№	$AUC_{0-t}$ (мкг/мл×ч)	$k_{el}$ (ч <sup>-1</sup> )	$AUC_{0-\infty}$ (мкг/мл×ч)	$t_{1/2el}$ (ч)	MRT (ч)	Cl (л/ч)	$V_d$ (л)
1	8,46	0,7849	9,05	0,88	1,35	16,57	1,71
2	7,33	0,7493	7,90	0,93	1,43	18,99	1,92
3	8,42	0,7431	8,93	0,93	1,41	16,80	1,89
4	10,53	0,7761	11,15	0,89	1,18	13,45	1,52
5	13,02	0,6918	14,01	1,00	1,23	10,71	1,77
6	4,30	1,0427	4,63	0,66	1,04	32,40	0,99
$\bar{x}$	8,68	0,7980	9,28	0,88	1,27	18,15	1,63
SD	2,95	0,1243	3,15	0,12	0,15	7,56	0,35
C.V. %	33,95	15,57	33,94	13,22	11,87	41,62	21,24

Примечание:  $AUC_{0-t}$  — площадь под фармакокинетической кривой (площадь под кривой «концентрация фармацевтической субстанции (ФС) — время») после в/в введения;  $AUC_{0-t}$  рассчитывается от момента введения ФС до конкретного времени;  $AUC_{0-\infty}$  — площадь под фармакокинетической кривой (площадь под кривой «концентрация ФС — время») после в/в введения;  $AUC_{0-\infty}$  рассчитывается от момента введения ФС до бесконечности; MRT — среднее время удерживания ФС в организме;  $t_{1/2el}$  — период, за который выводится половина введённой и всосавшейся дозы ФС;  $k_{el}$  — константа скорости элиминации; Cl — плазменный клиренс после в/в введения;  $V_d$  — кажущийся объём распределения после в/в введения

ГК-2 у человека ( $t_{1/2el h}$ ) рассчитывали по уравнению:

$$t_{1/2el h} = t_{1/2el pk} \times 75^{0,25} \quad (2),$$

где: 75 — предполагаемая средняя масса тела добровольца, кг.

Полученные данные подвергали математической статистической обработке. В таблице 1, где приведены фармакокинетические параметры ГК-2, представлены средние арифметические значения ( $\bar{x}$ ), соответствующие им стандартные отклонения (SD) и коэффициенты вариации (C.V. %). Для расчётов фармакокинетических параметров был использован модельно-независимый метод [7].

### Результаты и их обсуждение

Хромато-масс-спектрометрический анализ плазмы крови показал, что в анализируемых образцах присутствует характеристический молекулярный ион, соответствующий неизменённой молекуле ГК-2. Усреднённая фармакокинетическая кривая ГК-2 в плазме крови кроликов после однократного внутривенного введения инъекционной лекарственной формы в натуральной (*a*) и полулогарифмической системе координат (*b*) представлена на рис. 1.

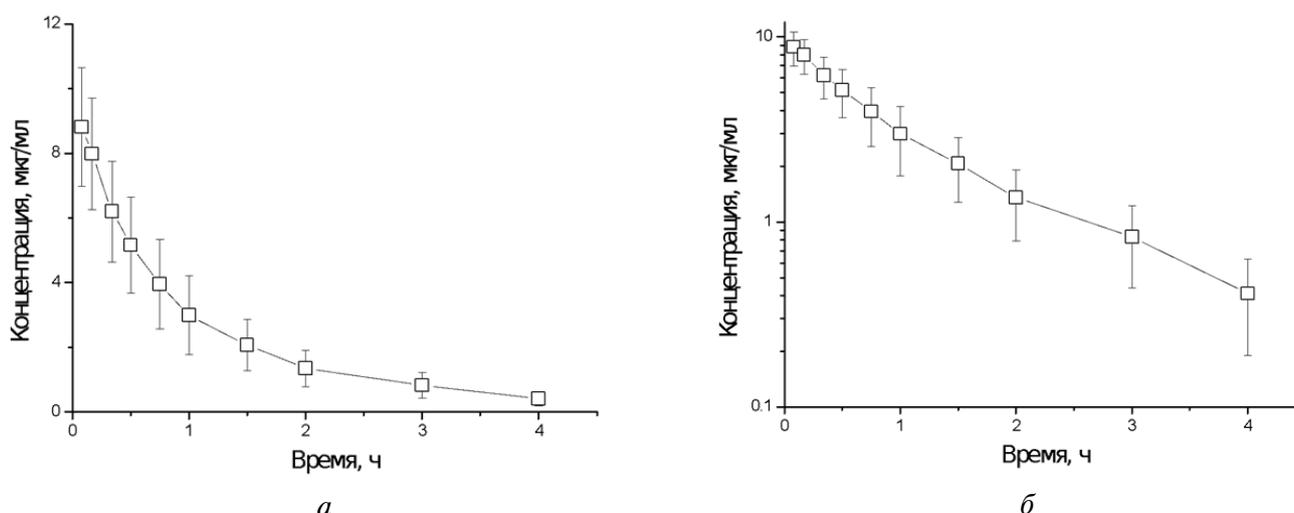
Из рис. 1 видно, что кинетика анализируемого соединения подчиняется кинетике первого порядка, поскольку снижение концентрации ГК-2 в плазме крови кроликов имеет монофазный характер. Концентрацию исследуемого вещества удалось отследить на всем протяжении эксперимента, т. е. 4 ч.

В табл. 1 представлены индивидуальные и усреднённые фармакокинетические параметры ГК-2 в плазме крови кроликов после однократного внутривенного введения лиофилизата ГК-2 в дозе 24 мг (7,8–8,7 мг/кг).

Такие фармакокинетические параметры, как период полувыведения, равный  $0,88 \pm 0,12$  ч, среднее время удерживания вещества в организме ( $1,27 \pm 0,15$  ч), а также значительная величина плазменного клиренса ( $18,15 \pm 7,56$  л/ч) указывают на относительно недолгое нахождение исследуемого вещества в системном кровотоке кроликов. Таким образом, ГК-2 можно отнести к группе «короткоживущих» ФС.

Объём распределения — мера степени распределения ФС, которая определяется связыванием ФС с тканью, а также с белками плазмы крови, — является важной детерминантой периода полувыведения. Величина кажущегося объёма распределения ( $V_d$ ) ГК-2 после в/в введения кроликам составила  $1,63 \pm 0,35$  л. Кажущийся объём распределения обычно не эквивалентен анатомическому объёму, а отражает распределение препарата и степень его связывания в организме. Так, если препарат связывается преимущественно белками крови,  $V_d$  будет меньше, чем реальный. С другой стороны, преимущественное связывание препарата во внесосудистом пространстве приводит к превышению значения  $V_d$  над реальным объёмом. В нашем случае, расчёт величины  $V_d$  дал высокие значения, указывающие, что ГК-2 распределяется во внесосудистом пространстве (плазма крови, органы) кроликов. Но учитывая, что исследуемая ФС практически полностью элиминируется из плазмы крови в течение 4 ч, можно предположить, что она не накапливается в тканях животных.

ГК-2 планируется использовать в клинической практике, поэтому необходимо спрогнозировать период полувыведения ФС у человека на основе экспериментальных данных, что может быть основой для оптимизации регламента отбора проб при фармакокинетическом изучении препарата в клинике, а также при оптимизации режима дозирования для



**Рис. 1.** Усреднённые фармакокинетические профили ГК-2 в плазме крови кроликов после однократного внутривенного введения 24 мг (7,8–8,7 мг/кг) лиофилизата ГК-2:

*a* — натуральные координаты; *b* — полулогарифмическая система координат ( $n = 6$ ;  $\bar{x} \pm SD$ )

поддержания терапевтических концентраций соединения в плазме крови [3].

На основе аллометрического подхода (метод Дедрика), хронологические времена отбора проб крови животных пересчитывали в соответствующие «фармакокинетические» времена. Установлено, что значение  $t_{1/2el}$  ГК-2 у кроликов, полученное на основании усреднённого фармакокинетического профиля, составило 0,88 ч, при этом после преобразований (в рамках 1-камерной модели с всасыванием) величина  $t_{1/2el, pk}$  снизилась до 0,69 ч.

Прогнозируемая величина  $t_{1/2el}$  ГК-2, рассчитанная для человека по уравнению (2) на основе данных, полученных на кроликах, составила 2,03 ч. Таким образом, полученные результаты позволяют сделать предположение, что  $t_{1/2el}$  у человека будет не менее 2 ч. Через 5 периодов полувыведения концентрация исследуемого вещества в плазме крови составит немногим более 3 %. Таким образом, продолжительность отбора проб крови у добровольцев для I фазы клинических исследований составит 10–12 ч.

Подобные расчёты, выполненные для других ФС, показали, что для антипсихотика дилепта фактический период полувыведения у человека, равный  $1,91 \pm 2,12$  ч в большей степени соответствует параметру, спрогнозированному на основе данных, полученных у крыс (2,02 ч), против 2,25 ч – у кроликов [5]. Для анксиолитика ГБ-115 среднее значение периода полуэлиминации у добровольцев составило  $1,0 \pm 0,2$  ч [8]. Прогностическая величина  $t_{1/2el}$  ГБ-115 у человека на ос-

нове данных, полученных на крысах, составила 1,73 ч и данных, полученных на кроликах – 2,60 ч, соответственно [9]. Близкие значения прогнозируемого и фактического периода полувыведения подтверждают актуальность межвидового переноса на основе аллометрического подхода.

### Выводы

1. Изучена фармакокинетика нового потенциального нейропротектора ГК-2 у кроликов после однократного внутривенного введения инъекционной лекарственной формы.

2. ГК-2 можно отнести к группе «короткоживущих» лекарственных веществ.

3. На основе межвидового переноса проведён расчёт периода полувыведения ( $t_{1/2el}$ ) ГК-2 у человека, который по предварительным оценкам, составил не менее 2 ч.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

*Конфликт интересов.* Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

*Участие авторов.* Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Шевченко Роман Владимирович**

ORCID ID: 0000-0003-4646-7733

SPIN-код: 1844-6202

к. м. н., н. с. лаборатории фармакокинетики  
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени  
В.В. Закусова», Россия, Москва

**Shevchenko Roman V.**

ORCID ID: 0000-0003-4646-7733

SPIN code: 1844-6202

PhD in Medicine, Research Officer of laboratory  
pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of  
Pharmacology», Russia, Moscow

**Литвин Александр Алексеевич**

ORCID ID: 0000-0002-2818-3457

SPIN-код: 6193-5770

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики  
ФГБНУ «НИИ  
фармакологии имени В.В. Закусова»,  
Россия, Москва

**Litvin Alexander A.**

ORCID ID: 0000-0002-2818-3457

SPIN code: 6193-5770

D. Sci. in Biology, leading researcher of the labora-  
tory of pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute  
of Pharmacology», Russia, Moscow

**Кольванов Геннадий Борисович**

ORCID ID: 0000-0002-2571-0047

SPIN-код: 2538-8639

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики  
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени  
В.В. Закусова», Россия, Москва

**Kolyvanov Gennadiy B.**

ORCID ID: 0000-0002-2571-0047

SPIN code: 2538-8639

D. Sci. in Biology, Leading researcher of the labora-  
tory of pharmacokinetics FSBI «Zakusov insti-  
tute of Pharmacology», Russia, Moscow

**Бочков Павел Олегович**

ORCID ID: 0000-0001-8555-5969

SPIN-код: 5576-8174

к. б. н., с. н. с. лаборатории фармакокинетики  
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени  
В.В. Закусова», Россия, Москва

**Bochkov Pavel O.**

ORCID ID: 0000-0001-8555-5969

SPIN code: 5576-8174

PhD in Biology, Senior Research Officer of labora-  
tory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of  
Pharmacology», Russia, Moscow

**Грибакина Оксана Геннадьевна**

ORCID ID: 0000-0002-4604-4346

SPIN-код: 6266-8161

к. б. н., н. с. лаборатории фармакокинетики  
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени  
В.В. Закусова», Россия, Москва

**Gribakina Oxana G.**

ORCID ID: 0000-0002-4604-4346

SPIN code: 6266-8161

PhD in Biology, Research Officer of laboratory  
pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of  
Pharmacology», Russia, Moscow

**Новицкий Александр Александрович**

ORCID ID: 0000-0003-3188-6257

н. с. лаборатории фармакокинетики ФГБНУ  
«НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»,  
Россия, Москва

**Novitskiy Alexander A.**

ORCID ID: 0000-0003-3188-6257

Research Officer of laboratory pharmacokinetics  
FSBI «Zakusov institute of Pharmacology»,  
Russia, Moscow

**Жердев Владимир Павлович****Автор, ответственный за переписку**

e-mail: zherdevpharm@mail.ru

ORCID ID: 0000-0003-2710-7134

SPIN-код: 2213-9592

д. м. н., профессор, заведующий лабораторией  
фармакокинетики ФГБНУ «НИИ  
фармакологии имени В.В. Закусова», Россия,  
Москва

**Zherdev Vladimir****Corresponding author**

e-mail: zherdevpharm@mail.ru

ORCID ID: 0000-0003-2710-7134

SPIN code: 2213-9592

D. Sci. in Medicine, professor, Head of labora-  
tory pharmacokinetics FSBI «Zakusov institute of  
Pharmacology», Russia, Moscow

**Литература / References**

1. Пирадов М.А., Таниян М.М., Домашенко М.А., Максимова М.Ю. Нейропротекция при цереброваскулярных заболеваниях: поиск жизни на Марсе или перспективное направление лечения? Часть 1. Хронические нарушения мозгового кровообращения // *Анналы клинической и экспериментальной неврологии*. – 2015. – Т. 9. – № 1. – С. 41–50. [Piradov MA, Tanashyan MM, Domashenko MA, Maksimova MYu. Neuroprotection in cerebrovascular diseases: is it the search for life on Mars or a promising trend of treatment? Part 1. Acute stroke. *Annals of Clinical and Experimental Neurology*. 2015;9(1):41–50. (In Russ).]

2. Gudasheva TA, Povarnina PYu, Antipova TA, Seredenin SB. A Novel Dimeric Dipeptide Mimetic of the Nerve Growth Factor Exhibits Pharmacological Effects upon Systemic Administration and Has No Side Effects Accompanying the Neurotrophin Treatment. *Neuroscience and Medicine*, 2014;5(2):101–108. DOI: 10.4236/nm.2014.52013.

3. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К; 2012. 17–24 с. [Guidance on Preclinical Evaluation of Medicines. Part 1. Moscow: Grif i K; 2012. (In Russ).]

4. Davies M, Jones R, Grime K et al. Improving the Accuracy of Predicted Human Pharmacokinetics: Lessons Learned from the AstraZeneca Drug Pipeline Over Two Decades. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2020;S0165-6147(20)30068-7. DOI: 10.1016/j.tips.2020.03.004

5. Шевченко Р.В. Клинико-экспериментальная фармакокинетика нового дипептидного препарата дилепт: Дисс. ... канд. мед. наук. – М.:

2016. [Shevchenko RV. Kliniko-eksperimental'naya farmakokinetika novogo dipeptidnogo preparata dilept. [dissertation] Moscow: 2016. (In Russ).] Доступно по: [https://www.academpharm.ru/images/upload/ru/1425/Dissertaciya\\_Shevchenko\\_R.V.1.pdf](https://www.academpharm.ru/images/upload/ru/1425/Dissertaciya_Shevchenko_R.V.1.pdf). Ссылка активна на 14.05.2020.

6. Dedrick RL. Animal scale-up. *J. Pharmacokin. and Biopharmac.* 1973;1(5):435–461.

7. Агафонов А.А., Пиотровский В.К. Программа M-ind оценки системных параметров фармакокинетики модельно-независимым методом статистических моментов // *Химико-фармацевтический журнал*. – 1991. – № 10. – С. 16–19. [Agafonov AA, Piotrovskii VK, Programma M-ind otsenki sistemnykh parametrov farmakokinetiki model'no-nezavisimym metodom statisticheskikh momentov. *Khimiko-farmatsevticheskii zhurnal*. 1991;(10):16–19. (In Russ).]

8. Жердев В.П., Колыванов Г.Б., Литвин А.А. и др. Клиническая фармакокинетика оригинального дипептидного анксиолитика ГБ-115. // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2017. – № 1. – С. 52–55. [Zherdev VP, Kolyvanov GB, Litvin AA et al. Clinical pharmacokinetics of a new original dipeptide anxiolytic GB-115. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2017;(1):52–55. (In Russ).]

9. Раскин С.Ю. Клинико-экспериментальная фармакокинетика нового дипептидного анксиолитика ГБ-115: Дисс. ... канд. мед. наук. – М.: 2019. [Raskin SYu. Kliniko-eksperimental'naya farmakokinetika novogo dipeptidnogo anksiolitika GB-115. [dissertation] Moscow: 2019. (In Russ).] Доступно по: [https://www.academpharm.ru/images/upload/ru/1540/Dissertaciya\\_Raskin\\_S.YU..pdf](https://www.academpharm.ru/images/upload/ru/1540/Dissertaciya_Raskin_S.YU..pdf). Ссылка активна на 14.05.2020.

Статья поступила в июне 2020 г.