

Влияние фармакокинетики и биодоступности цикло-*L*-пролилглицина на проявление его основных фармакологических эффектов у экспериментальных животных

Бойко С. С., Колясникова К. Н., Жердев В. П.

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

Аннотация. В работе представлены результаты изучения влияния фармакокинетики и проницаемости через ГЭБ цикло-*L*-пролилглицина на проявление его основных фармакологических эффектов у экспериментальных животных.

Ключевые слова: фармакокинетика; биодоступность для ЦНС; цикло-*L*-пролилглицин; фармакологические эффекты

Для цитирования:

Бойко С.С., Колясникова К.Н., Жердев В.П. Влияние фармакокинетики и биодоступности цикло-*L*-пролилглицина на проявление его основных фармакологических эффектов у экспериментальных животных // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2020. – № 3. – С. 25–29. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-3-25-29

The influence of the pharmacokinetics and bioavailability of cyclo-*L*-propylglycine to the manifestation of its main pharmacological effects in experimental animals

Boyko SS, Koljasnikova KN, Zherdev VP

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow, Russia

Abstract. In the article presented the results of research of the influence pharmacokinetics, bioavailability for CNS cyclo-*L*-prolylglycine to the manifestation of its main pharmacological effects in experimental animals.

Keywords: pharmacokinetics; bioavailability to the Central nervous system; cyclo-*L*-prolylglycine; pharmacological effects

For citations:

Boyko SS, Koljasnikova KN, Zherdev VP. The influence of the pharmacokinetics and bioavailability of cyclo-*L*-propylglycine to the manifestation of its main pharmacological effects in experimental animals. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020;(3):25–29. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-3-25-29

Введение

Дипептид цикло-*L*-пролилглицин (ЦПГ) был впервые обнаружен в плазме и мозге крыс в качестве основного метаболита при изучении фармакокинетики ноотропного препарата ноопепт – этилового эфира *N*-фенилацетил-*L*-пролилглицина, являющегося пептидным аналогом классического ноотропного средства пирацетам [1, 2]. Структура ЦПГ была установлена методами ГЖХ-ВЭЖХ-масс-спектрометрии, дипептид был идентифицирован как эндогенное соединение в мозге крыс и показана идентичность метаболита ноопепта и эндогенного ЦПГ [3, 4]. Показано, что ЦПГ обладает ноотропной [5], антигипоксической, анксиолитической [6], нейропротективной [7] и другими видами фармакологической активности [8]. Полученные экспериментальные данные о нейро-тропных эффектах ЦПГ явились основанием для его углублённого фармакологического изучения с целью дальнейшего продвижения в медицинскую практику в качестве ноотропного средства со свойствами анксиолитика и нейропротектора для лечения патологий головного мозга, связанных с его гипоксически-ишемическими повреждениями, нарушениями мозгового кровообращения, инсультами и другими патологиями

головного мозга, а также заболеваниями, связанными с увеличением продолжительности жизни (болезнь Альцгеймера, Паркинсона и др.).

Целью данной работы явилось изучение влияния фармакокинетики и биодоступности ЦПГ для ЦНС на проявление его основных фармакологических эффектов у экспериментальных животных.

Материалы и методы

Изучение фармакокинетики ЦПГ проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180–220 г после перорального введения водного раствора ноопепта в дозе 50 мг/кг как описано ранее [1, 2]. Идентификацию и количественное определение ЦПГ проводили методом ГЖХ-ВЭЖХ-масс-спектрометрии [3, 4]. Исследование фармакологических эффектов проводили как описано в ранее опубликованных работах [4–8].

Животных содержали в условиях вивария при естественной смене светового режима со свободным доступом к стандартному гранулированному корму и воде. Животных содержали в соответствии с правилами лабораторной практики (GLP) и нормативным документом «Санитарные правила по устройству,

оборудованию и содержанию вивариев», утверждённым Главным Государственным санитарным врачом 06.04.1973 г. №1045-73 и Приказом МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г. «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики». Эксперименты проводили с 10 до 16 часов.

Результаты исследования

ЦПГ был обнаружен в мозге интактных крыс в качестве эндогенного соединения и было определено его количественное содержание, которое составило 2,8 нМ/г влажной массы мозга крыс [3, 4]. В то же время эндогенное происхождение этого дипептида было показано в исследованиях зарубежных авторов: он образуется в результате метаболических превращений и циклизации концевой трипептида инсулиноподобного фактора роста нервов IGF-1 [9]. При изучении фармакокинетики разработанного на основе его структуры ноотропного препарата, получившего название ноопепт, было установлено, что ЦПГ обнаруживается в качестве его основного метаболита, быстро проникает через ГЭБ, обнаруживается в мозге крыс в максимальной концентрации через 30 мин и определяется в течение продолжительного времени [1, 2]. Впоследствии в наших исследованиях была установлена идентичность эндогенного ЦПГ метаболиту ноопепта [3, 4]. На основании данных по изучению фармакокинетики ЦПГ в мозге и плазме крови крыс были рассчитаны основные фармакокинетические параметры ЦПГ, которые представлены в табл. 1.

Из данных табл. 1 видно, что ЦПГ обнаруживается в мозге крыс в максимальной концентрации через 30 мин после введения ноопепта, при этом его период полувыведения из мозга меньше по сравнению с аналогичным параметром плазмы, что может быть связано с большой величиной объёма распределения и константы элиминации ЦПГ в мозге крыс. Кроме того, это может указывать на возможное связывание ЦПГ с внутриклеточными структурами мозга вследствие его структурной близости к эндогенным нейропептидам. В пользу этого предположения свидетельствует также и величина площади под фармакокинетической кривой ЦПГ в мозге, которая значительно больше по сравнению с аналогичным параметром в плазме;

тканевая доступность для мозга составляет 1,38, что указывает на хорошую проницаемость ЦПГ через ГЭБ и высокую тропность ткани мозга крыс к изучаемому дипептиду. Большая величина MRT для ЦПГ указывает на его распределение как в структурах мозга, так и в других органах и тканях крыс.

В связи с тем, что ЦПГ разрабатывался как топологический аналог пираретама, для его дальнейшего продвижения в медицинскую практику в качестве нейропротективного препарата с ноотропным и анксиолитическим компонентами действия было проведено углублённое изучение его нейротропной активности, в результате которого было показано, что он обладает комплексом фармакологических эффектов при его системном введении в миллимолярных дозах. Так, результаты исследований ноотропной активности ЦПГ с использованием тестов УРАИ и УРПИ [5] позволили установить, что дипептид обладает ноотропной активностью, которая проявляется в большей степени у плохо обучающихся животных и у животных с ишемией мозга. Кроме того, было показано положительное влияние ЦПГ на гематологические показатели крови, улучшающие мозговое кровообращение [10], что сопровождалось улучшением когнитивных функций экспериментальных животных. Выраженность ноотропного эффекта ЦПГ связана с его высокой биодоступностью к ткани мозга крыс, на что указывает его тканевая доступность, составляющая 1,38, поэтому нельзя исключить возможность непосредственного влияния ЦПГ на внутриклеточные структуры головного мозга, принимающие участие в реализации его ноотропного эффекта. В ранее проведённом изучении структурной и внутриклеточной локализации эндогенного ЦПГ в мозге экспериментальных животных было установлено, что в большей концентрации он определяется в нейрональной фракции коры и гипоталамуса головного мозга — структурах, принимающих участие в реализации ноотропного и анксиолитического эффектов [11, 12]. В дальнейшем нами были получены данные, свидетельствующие об участии ЦПГ в проявлении других его нейротропных эффектов. Так, было показано, что ЦПГ обладает выраженным антигипоксическим и анксиолитическим эффектами у беспородных крыс при его системном введении в дозах 0,5–1,0 мг/кг [6, 7, 12]. Кроме того, при изучении этих

Таблица 1

Фармакокинетические параметры ЦПГ в плазме и мозге крыс

Table 1

Pharmacokinetic parameters of CPG in rat plasma and brain

Параметры	C_{\max} , мкг/мл	T_{\max} , ч	K_{el} , ч ⁻¹	$AUC_{0 \rightarrow T}$, мкг/мл·ч	$T_{1/2}$, ч	MRT, ч	f_T
Плазма	0,720±0,085	0,25±0,08	0,17±0,06	3,78±0,43	3,99±0,67	5,98±0,68	—
Мозг	1,245±0,255	0,50±0,1	0,24±0,08	5,22±0,65	2,87±0,73	4,27±0,48	1,38

Примечания: C_{\max} , мкг/мл — максимальная концентрация ЦПГ; T_{\max} , ч — время достижения максимальной концентрации; K_{el} , ч⁻¹ — константа элиминации (скорость выведения препарата); $AUC_{0 \rightarrow T}$, мкг/мл·ч — площадь под фармакокинетической кривой; $T_{1/2}$, ч — период полувыведения; MRT, ч — среднее время удержания соединения в организме; f_T — тканевая доступность ЦПГ для мозга

эффектов ЦПГ у инбредных животных 2 линий была впервые установлена зависимость выраженности этих эффектов от количественного содержания эндогенного ЦПГ в мозге животных разного фенотипа [11, 12]. Так, у животных линии BALB/c содержание ЦПГ в мозге было меньше, чем в мозге стресс-устойчивой линии B6C/57, дефицит ЦПГ приводит к меньшей стресс-устойчивости животных и большей степени выраженности у этих животных анксиолитического эффекта [12]. В связи с актуальностью для современной психофармакологии создания лекарственных средств с нейропротективной активностью в сочетании с ноотропным и анксиолитическим эффектами, это направление исследований разрабатывается в России и за рубежом. В наших работах для изучения нейропротективного эффекта ЦПГ в опытах *in vitro* использовали 2 повреждающих нейроны токсических фактора — глутаматную эксайтотоксичность и 6-гидроксидафамин, которые являются общепринятыми для моделирования болезни Паркинсона и других заболеваний головного мозга, связанных с возрастом. Результаты наших исследований с использованием глутаминовой эксайтотоксичности позволили установить, что ЦПГ при предварительном введении за 24 часа до воздействия нейротоксином проявляет нейропротективный эффект в интервале концентраций 10^{-8} – 10^{-5} М, при дальнейшем увеличении дозы нейропротективный эффект не только не увеличивался, напротив, несколько снижался. Терапевтический эффект восстановления жизнеспособности нервных клеток составлял 30–70 % [7, 8]. Аналогичные результаты изучения нейротропной активности были показаны и при использовании другого токсического агента — 6-гидроксидафамин [7, 8]. Нейропротективный эффект ЦПГ был показан также зарубежными учёными на разных гипоксически-ишемических моделях головного мозга при использовании разных повреждающих нейроны факторов [9]. В сводной табл. 2 представлены результаты изучения фармакологиче-

ских эффектов ЦПГ у экспериментальных животных с указанием методов исследования, активных доз и концентраций изучаемого нейропептида.

Полученные результаты изучения нейропротективной активности указывают на возможность непосредственного влияния нейропептида на восстановление жизнеспособности нейрональных клеток, а его отдалённый нейропротективный эффект связан со сложным механизмом его действия. В настоящее время появились сообщения о наличии у ЦПГ антидепрессивноподобной активности, в которых с использованием метода рецепторного связывания показано влияние ЦПГ на глутаматные, GABA-, NMDA-, BDNF-рецепторы, а также на обмен моноаминов как дофамина, так и серотонина в гиппокампе и префронтальной коре мозга инбредных мышей разных линий, при этом показано, что выраженность этих эффектов проявляется в большей степени у мышей линии BALB/c, с низким содержанием эндогенного ЦПГ в целом мозге и его структурах [13–15].

Заключение

Полученные данные о нейропсихотропных эффектах ЦПГ указывают на сложный механизм действия изучаемого нейропептида, который связан не только с его различным содержанием в мозге экспериментальных животных, а также с его влиянием на рецепторные системы мозга: ГАМК-глутаматергические системы, BDNF-рецепторы и др., принимающие участие в реализации основных нейротропных эффектов ЦПГ [14, 15]. Кроме того, полученные экспериментальные данные о комплексе фармакологических эффектов ЦПГ, его оптимальные фармакокинетические параметры, высокая тканевая доступность в мозге и энзиматическая устойчивость, а также данные о его эндогенном содержании позволяют рассматривать его не только как потенциально перспективное лекарственное средство для внедрения в медицинскую

Таблица 2

Фармакологические эффекты ЦПГ у экспериментальных животных

Table 2

Pharmacological effects of CPG in experimental animals

Фармакологическая активность	Тест, животные	Активные дозы или концентрации	Ссылка
Ноотропная активность	Условный рефлекс пассивного избегания с амнезией, вызванной максимальным электрошоком, крысы	0,1–1,0 мг/кг в/б	[5]
Анксиолитическая активность	Открытое поле, мыши BALB/c	0,05–0,1 мг/кг в/б	[6]
Антигипоксическая активность	Нормобарическая гипоксия с гиперкапнией, мыши	0,5–1,0 мг/кг	[6]
Нейропротекторная активность	Модель 6-оксидофаминовой токсичности, клетки SH-SY5Y	10^{-8} – 10^{-5} М	[7]
	Модель глутаматной токсичности, клетки HT-22		[8]
Антидепрессивная активность	Неизбегаемое плавание по Порсолту, мыши BALB/c	1,0; 2,0 мг/кг хронически	[14, 15]

практику в качестве препарата для лечения коморбидных заболеваний, включая когнитивные нарушения, а также тревожные и депрессивные расстройства, но и как базисную структуру для создания новых, более перспективных нейротропных ЛС с лучшими фармакокинетическими свойствами.

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

Бойко Светлана Семеновна

Автор, ответственный за переписку

e-mail: svboyko@gmail.com

ORCID ID: 0000-0003-2177-2010

SPIN-код: 4176-8921

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

Boyko Svetlana S.

Corresponding author

e-mail: svboyko@gmail.com

ORCID ID: 0000-0003-2177-2010

SPIN code: 4176-8921

PhD in Biology, Senior Researcher of laboratory
pharmacokinetics FSBI «Zakusov Institute of
Pharmacology», Moscow, Russia

Колясникова Ксения Николаевна

e-mail: kszolotova@mail.ru

ORCID ID: 0000-0001-6797-692X

SPIN-код: 5682-2035

к. б. н., н. с. лаборатории пептидных
биорегуляторов отдела химии лекарственных
средств ФГБНУ «НИИ фармакологии имени
В.В. Закусова», Москва, Россия

Koliasnikova Ksenia N.

e-mail: kszolotova@mail.ru

ORCID ID: 0000-0001-6797-692X

SPIN code: 5682-2035

PhD in Biology, Research scientist of laboratory of
peptide bioregulators of the Department of drug
chemistry FSBI «Zakusov Institute of Pharmacol-
ogy», Moscow, Russia

Жердев Владимир Павлович

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», Москва,
Россия

Zherdev Vladimir P.

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», Moscow, Russia

Литература / References

1. Бойко С.С., Жердев В.П., Гудашева Т.А. и др. Фармакокинетика дипептидного аналога пирacetama с ноотропной активностью ГВС-111 и его основных метаболитов // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 1997;72(2):3-6. [Boyko SS, Zherdev VP, Gudasheva TA et al. Pharmacokinetics of dipeptide analog pycacetame wich nootropic activity GWS-111 and its main metabolites. *Russian Journal of Experimental and Clinical Pharmacology*. 1997;72(2):3-6. (In Russ).]

2. Бойко С.С., Жердев В.П., Коротков С.А. и др. Фармакокинетика нового потенциального ноотропного дипептидного препарата ГВС-111 и его метаболитов в мозге крыс // *Химико-фармацевтический журнал*. 2001;35(9):11-13. [Boyko SS, Zherdev VP, Korotkov SA et al. Pharmacokinetics of new potencial dipeptide nootrope GWS-111 and its main metabolites in rat brain. *Khimiko-Farmatsevicheskij Zhurnal*. 2001;35(9):11-13. (In Russ).] DOI:10.1023/A^10140824082406443.

3. Gudasheva TA, Boyko SS, Akparov VKh et al. Identification of a novel endogenous memory facilitating cyclic dipeptide cyclo-prolylglycine in rat brain. *FEBS Lett*. 1996;391(1-2): 149-152. DOI 10.1016/0014-5793(96)00722-311.

4. Gudasheva TA, Boyko SS, Ostrovskaya RU et al. The major metabolite of dipeptide piracetam analogue GVS-111 in rat brain and its similarity to endogenous neuropeptide cyclo-L-prolylglycine. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. 1997;22(3):245-52. DOI: 1007/BF03189814.

5. Гудашева Т.А., Островская Р.У., Трофимов С.С. и др. Новый эндогенный дипептид циклопролилглицин подобен пирacetamu по селективности мнемотропного эффекта // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1999;128(10):411-413. [Gudasheva TA, Ostrovskaya RU, Trofimov SS et al. New endogenous dipptide cycloprolylglycine is similar to piracetam by its mnemotropic selectivity. *Bulletin of experimental biology and medicine*. 1999;128(10):411-413. (In Russ).]

6. Колясникова К.Н., Гудашева Т.А., Назарова П.Н. и др. Сходство циклопролилглицина с пирacetamom по антигипоксическому и нейрорепротеktivному эффектам // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2012;75(9):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).] DOI: 10.30906/0869-2092-2012-75-9-3-6

7. Николаев С.В., Логвинов И.О., Антипов П.И. и др. Нейропротективное действие цикло-*L*-пролилглицина на моделях повреждения нейрональных клеток *in vitro* // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2017;(3):26-29. [Nikolaev SV, Logvinov IO, Antipov et al. Neuroprotective effect of cyclo-*L*-prolylglycine on models of neuronal cells damage *in vitro*. *Pharmacokinetics and Pharmacodynamics*. 2017;(3):26-29. (In Russ).]
8. Колясникова К.Н. Изучение механизма действия нейропептида цикло-пролилглицина и возможность создания на этой основе новых ноотропных соединений: Дис. ... канд. биол. наук. — Москва; 2018. [Kolyasnikova KN. *Izuchenie mekhanizma deistviya neiropeptida tsikloprolilglitsina i vozmozhnost' sozdaniya na etoi osnove novykh nootropnykh soedinenii*. [dissertation]. Moscow; 2018. (In Russ).] Доступно по: <https://www.academpharm.ru/dissertation/defence/kolyasnikova>. Ссылка активна на 12.12.2020.
9. Guan J. Insulin-like growth factor-1 and its derivatives potential pharmaceutical application for ischemic brain injury. *Recent Pat CNS Drug Discov*. 2008;3(2):112-27. DOI:10.2174/157488908784534630
10. Островская Р.У., Ляпина Л.А., Пасторова В.Е. и др. Многокомпонентный антитромботический эффект нейропротективного пролил-дипептида ГВС-111 и его основного метаболита цикло-*L*-пролилглицина // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2002;(2):34-37. [Ostrovskaya RU, Lyapina LA, Pastorova VE et al. A multicomponent antithrombotic effect of the neuroprotector prolyl-containing dipeptide GVS-111 and its metabolite cyclo-*L*-prolylglycine. *Russian Journal of Experimental and Clinical pharmacology*. 2002;2:34-37. (In Russ).] DOI: 10.30906/0869-2092-2002-65-2-34-37.
11. Бойко С.С., Гудашева Т.А., Вичужанин М.В. и др. Региональная и субклеточная локализация циклопролилглицина в мозге крыс // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2010;149(6):648-650. [Boiko SS, Gudasheva TA, Vichuzhanin MV et al. Regional and subcellular localization of cycloprolylglycine in the rat brain. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2010;149(6):709-711. (In Russ).]
12. Середенин С.Б., Гудашева Т.А., Бойко С.С. и др. Эндогенный дипептид циклопролилглицин проявляет селективную анксиолитическую активность у животных с выраженной реакцией страха // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2002. — Т. 133, № 4 — С. 417-419. [Seredenin SB, Gudasheva TA, Boiko SS et al. Endogenous dipeptide cycloprolylglycine shows selective anxiolytic activity in animals with manifest fear reaction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2002;133(4):360-362. (In Russ).]
13. Жердев В.П., Бойко С.С., Колясникова К.Н. Взаимосвязь между содержанием потенциального психофармакологического средства цикло-*L*-пролилглицина в мозге экспериментальных животных и его антигипоксическим эффектом // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2020;(1):25-29. [Zherdev VP, Boiko SS, Kolyasnikova KN. The relationship between the content of the potential psychopharmacological agent cyclo-*L*-prolylglycine in the brain of experimental animals and its antihypoxic effect. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2020;(1):25-29 (In Russ).] DOI: 10/37489/2587-7836-2020-1-25-29.
14. Абдуллина А.А., Васильева Е.В., Кондрахин Е.А., Ковалев Г.И. Участие серотонинергических, глутаматных, ГАМК-ергических рецепторов в проявлении антидепрессивноподобного эффекта циклопролилглицина // *Нейрохимия*. 2019;36(3):219-228. [Abdullina AA, Vasilyeva EV, Kondrakhin EA, Kovalev GI. Participation of serotonin, glutamate, and GABA receptors in the manifestation of antidepressive-like effect of cycloprolylglycine. *Neurochemistry*. 2019;36(3):219-228 (In Russ).] DOI: 10.1134/S1027813319030026.
15. Абдуллина А.А., Васильева Е.В., Кудрин В.С. и др. Влияние циклопролилглицина и его аналогов на моноаминергические системы мозга мышей BALB/c // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2020;(1):3-10. [Abdullina AA, Vasilyeva EV, Kudrin VS et al. The effects of cycloprolylglycine and its analogues on brain monoaminergic systems in BALB/c mice. *Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2020;(1):3-10. (In Russ).] DOI: 10.37489/2587-7836-2020-1-3-10.