

# 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 <sup>-1</sup>	$AUC_{0 \rightarrow T}$ , 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<sup>-1</sup> — 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-гидроксидофамин, 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-гидроксидофамина [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 пирacetамa 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 pircetame 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 pircetam 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 пирacetаму по селективности мнемотропного эффекта // *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1999;128(10):411-413. [Gudasheva TA, Ostrovskaya RU, Trofimov SS et al. New endogenous dipetide cycloprolylglicine is similar to pircetam by its mнемotropic 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 пирacetамом по антигипоксическому и нейрорепрoтективному эффектам // *Экспериментальная и клиническая фармакология*. 2012;75(9):3-6. [Kolyasnikova KN, Gudasheva TA, Nazarova GA et al. Similarity of cycloprolylglycine to pircetam 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.