

# ФАРМАКОКИНЕТИКА

## МЕЖВИДОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ ФАРМАКОКИНЕТИКИ НООПЕПТА

С. С. Бойко, С. А. Коротков, В. П. Жердев, Т. А. Гудашева,  
Р. У. Островская, Т. А. Воронина<sup>1</sup>

Установлены существенные межвидовые различия фармакокинетики ноопепта, заключающиеся в замедлении элиминации в ряду крыса > кролик > человек. Отмечен интенсивный метаболизм ноопепта после внутривенного введения препарата у крыс. В случае введения внутрь в результате пресистемной элиминации у этого вида животных образуется отличный по структуре метаболит, который предположительно является гидроксильрованным по фенильному кольцу продуктом биотрансформации ноопепта. У кроликов как при внутривенном, так и при введении внутрь ноопепт более длительно циркулирует в неизменном виде в крови, процессы биотрансформации протекают значительно медленнее и метаболиты, обнаруженные в плазме крови крыс, у кроликов не определяются. Фармакокинетика ноопепта у человека отличается от его фармакокинетики у животных более медленной элиминацией и значительной индивидуальной вариабельностью. Метаболиты в плазме крови человека не обнаружены возможно из-за невысокой дозы препарата и их небольших концентраций.

**Ключевые слова:** межвидовые различия, ноопепт, фармакокинетика и биотрансформация, метаболиты.

### ВВЕДЕНИЕ

Ноопепт — новый дипептидный ноотропный препарат с нейропротективными свойствами [5, 9, 10] в химическом плане представляет собой этиловый эфир N-фенилацетил-L-пролилглицин. Ранее нами была изучена фармакокинетика и основные пути биотрансформации ноопепта при его введении внутривенно и внутрь у крыс [2, 3]. В то же время имеются литературные данные о существенном различии активности протеолитических ферментов, участвующих в метаболизме пептидов у животных разных видов и человека [1, 4, 8, 11], что обуславливает межвидовые различия в процессах их фармакокинетики и биодоступности. Энзиматическое расщепление пептидов может приводить к образованию метаболитов с различным фармакологическим профилем, причем, у животных разных видов и человека могут различаться как метаболические пути, так и скорости образования метаболитов, как это показано для динорфина, лейэнкефалина и других пептидов [1, 4, 8, 11]. У одних и тех же видов значительные различия могут быть выявлены при разных способах введения пептидов. Так, при внутривенном введении метаболические превращения пептидов могут происходить под воздействием энзимов плазмы или сыворотки крови; при введении внутрь их энзиматическое расщепление происходит при участии протеолитических ферментов слизистой желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и вследствие “эф-

фекта первого прохождения” через печень, что приводит к образованию разных по структуре метаболитов.

Целью данной работы явилось изучение фармакокинетики ноопепта в сравнительном аспекте у крыс и кроликов, а также у человека и оценка его биодоступности.

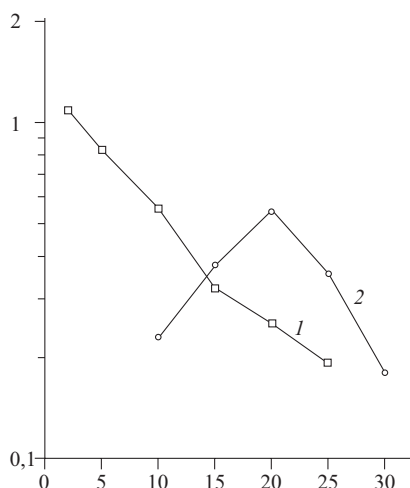
### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследования проводили на 2 видах животных: белых беспородных крысах-самцах массой 180 – 250 г и кроликах породы шиншилла массой 3,0 – 3,8 кг. Регламент проведения фармакокинетического эксперимента у крыс был описан ранее [2, 3].

Исследования фармакокинетики ноопепта у кроликов проводили по следующей схеме. У всех экспериментальных животных до введения препарата брали контрольные образцы крови из краевой ушной вены. Животных разделили на 2 группы. 1-й группе животных вводили водный раствор субстанции ноопепта в дозе 10 мг/кг внутривенно в ушную краевую вену; 2-й группе животных вводили до 8 мл субстанции ноопепта в воде в дозе 50 мг/кг в желудок с помощью зонда. Образцы крови брали из краевой ушной вены кроликов через 5, 10, 20, 30, 45, 60 и 75 мин после введения препарата в гепаринизированные пробирки, содержащие 250 ЕД гепарина.

Исследование фармакокинетики ноопепта у человека проводили на 3 добровольцах (мужчины 30 – 55 лет), которые получали препарат однократно после легкого завтрака в дозе 20 мг (2 таблетки). Образцы крови собирали через 15, 30, 45, 60, 90 и 120 мин по-

<sup>1</sup> Лаборатория фармакокинетики (руководитель — проф. В. П. Жердев) ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.



**Рис. 1.** Фармакокинетика ноопепта в плазме крови крыс после введения препарата внутривенно и внутрь в дозах 5 и 50 мкг/кг соответственно.

Здесь и на рис. 2 и 3: по оси абсцисс — время, мин; по оси ординат — концентрация, мкг/мл.

сле приема препарата в гепаринизированные пробирки. Экстракцию ноопепта из плазмы проводили 10-кратным объемом хлороформа. Хлороформные экстракты высушивали досуха. Количественное определение у человека анализируемой пробы проводили при длине волны 206 нм в объеме 200 мкл.

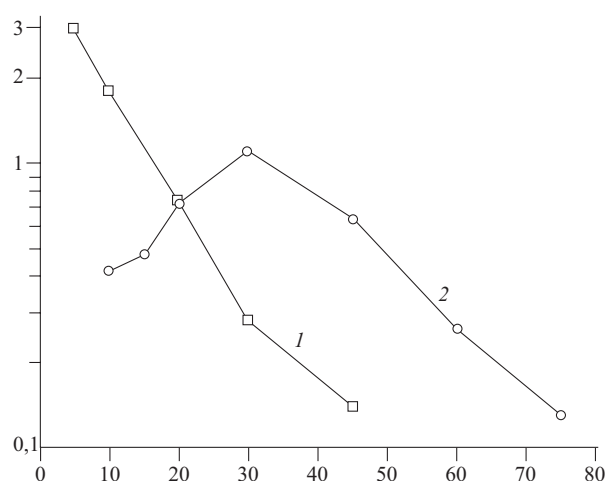
Расчет фармакокинетических параметров ноопепта проводили с использованием программы “Model-Independent” [2, 3].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены фармакокинетические профили кривых “концентрация – время” в плазме крови крыс после введения ноопепта внутривенного и внутрь в дозах 5 и 50 мг/кг соответственно.

Из рис. 1 видно, что при внутривенном введении ноопепт определяется в плазме крови крыс в течение 25 мин — его концентрация за этот период исследования быстро уменьшается и через 30 мин после введения препарат в плазме в неизменном виде не определяется. Довольно продолжительное нахождение препарата в плазме крови крыс по сравнению с природными нейропептидами [4, 8, 11] обусловлено по-видимому химической защитой молекулы ноопепта введением в его структуру фенилацетильного и эфирного заместителей в концевые положения пролилглицина.

При введении внутрь ноопепта крысам в дозе 50 мг/кг определяется короткая фаза всасывания препарата в ЖКТ и поступления его в системный кровоток, продолжающаяся в течение 15 мин, и непродолжительная фаза элиминации ноопепта — он определяется в плазме крови крыс при этом способе введения в течение 30 мин. Через 45 мин после введения концентрация препарата в крови была ниже предела чувстви-



**Рис. 2.** Фармакокинетика ноопепта в плазме крови кроликов после введения препарата внутривенно и внутрь в дозах 10 и 50 мкг/кг соответственно.

тельности метода обнаружения препарата. Видно, что при введении ноопепта внутрь его концентрации при увеличении дозы препарата в 10 раз на фазе элиминации сопоставимы с его концентрациями при внутривенном введении.

На рис. 2 представлена фармакокинетика ноопепта в плазме крови кроликов после введения внутривенно и внутрь в дозах 10 и 50 мг/кг. При сопоставлении кривых “концентрация – время” у крыс и кроликов видно, что фармакокинетика ноопепта у кроликов отличается от его фармакокинетики у крыс как при внутривенном, так и при введении внутрь. При обоих способах введения кинетические процессы ноопепта в плазме крови кроликов протекают более медленно: при внутривенном введении препарат определяется в плазме крови кроликов в течение 45 мин; через один час после введения его концентрация в плазме была ниже предела обнаружения используемого метода. При введении внутрь фаза всасывания и фаза элиминации ноопепта у кроликов более продолжительны по времени, чем у крыс. С целью сравнительного анализа фармакокинетики у крыс и кроликов фармакокинетические параметры рассчитывали модельно-независимым методом.

Основные фармакокинетические параметры ноопепта у крыс и кроликов при введении внутривенно и внутрь представлены в таблице.

При сравнении приведенных в таблице данных видно, что при внутривенном введении субстанции ноопепта у кроликов  $K_{el}$  в 3 раза меньше и соответственно величина  $T_{1/2}$  в 3 раза больше, чем у крыс. Величина  $V_d$  и особенно величина  $Cl_p$  существенно меньше у кроликов, чем у крыс, что свидетельствует о более медленной элиминации препарата из плазмы крови кроликов, чем из плазмы крови крыс и находится в соответствии с более длительным периодом полувыведения ноопепта у кроликов по сравнению с крысами.

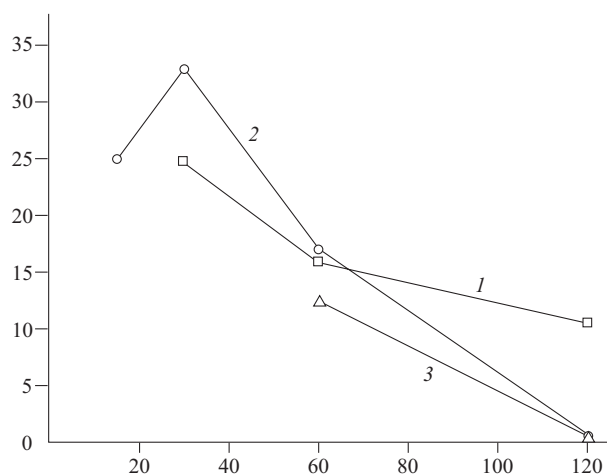


Рис. 3. Фармакокинетика ноопепта в плазме крови человека после однократного приема 20 мг препарата (2 таблетки).

При введении внутрь  $K_{el}$  возрастает в большей степени у кроликов (более чем в 2 раза) и соответственно величина  $T_{1/2}$  у них больше отличается при сравнении двух способов введения, чем  $T_{1/2}$  у крыс. Величины  $Cl_p$  и  $V_d$  у кроликов также, как у крыс, значительно возрастают при введении внутрь (в 20 и 8,7 раз соответственно), что свидетельствует о выраженном “эффекте первого прохождения” препарата через печень у обоих видов животных. Величина, характеризующая скорость всасывания ноопепта, определенная по соотношению  $C_{max}/AUC$  составила у крыс 2,45 ч, а у кроликов — 4,2 ч, т.е. в 1,7 раза препарат медленнее всасывается у кроликов по сравнению с крысами, при этом и величина  $MAT$  — среднего времени всасывания препарата у кроликов в 2 раза больше, чем у крыс. Величина абсолютной биодоступности ноопепта, рассчитанная по соотношению  $AUC$  при введении внутрь и внутривенно с учетом разности доз составила 7,09 % у крыс и 9,2 % — у кроликов.

#### Фармакокинетические параметры ноопепта в плазме крови крыс и кроликов после введения субстанции внутривенно и внутрь

Параметры	Крысы		Кролики	
	внутривенное	внутри	внутривенное	внутри
$K_{el}$ , ч <sup>-1</sup>	3,65	5,98	1,12	2,87
$T_{1/2}$ , ч	0,19	0,12	0,62	0,24
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ , мкг/мл · ч	0,31	0,22	1,52	0,70
$Cl_p$ , л/ч	16,13	231,70	3,29	71,16
$V_d$ , л	4,15	38,75	2,86	24,80
$MRT$ , ч	0,22	0,42	0,23	0,63
$MAT$ , ч		0,20		0,40
$F$ , %		7,09		9,62

**Примечание:**  $K_{el}$  — константа элиминации,  $T_{1/2}$  — период полувыведения,  $AUC$  — площадь под фармакокинетической кривой,  $Cl_p$  — плазменный клиренс,  $V_d$  — объем распределения,  $MRT$  — среднее время удержания,  $MAT$  — среднее время всасывания,  $F$  — абсолютная биодоступность.

Как было установлено ранее [2], при внутривенном введении в плазме крови крыс помимо неизмененного ноопепта были идентифицированы 3 метаболита: N-фенилацетил-L-пролин, фенилуксусная кислота и циклопролилглицин, которые циркулируют в крови более продолжительное время по сравнению с ноопептом.

Метаболизм ноопепта у крыс при введении внутрь существенно отличается от его метаболизма, наблюдаемого при внутривенном введении. При введении внутрь вышеуказанные метаболиты в плазме крови крыс не регистрировались, а обнаруживался один метаболит, который образовывался вследствие пресистемной элиминации и предположительно является гидроксированным по фенильному кольцу продуктом метаболизма ноопепта. Это предположение сделано на основании того факта, что гидроксирование является основным путем биотрансформации лекарственных веществ в печени. При сравнительном анализе метаболизма ноопепта у крыс и кроликов было установлено, что как при внутривенном, так и при введении внутрь процессы метаболизма ноопепта у кроликов протекают менее интенсивно и обнаруженные в плазме крови крыс метаболиты, в плазме крови кроликов не определялись.

При переходе к изучению фармакокинетики у добровольцев встал вопрос о выборе тест-дозы препарата. В доступной литературе нам удалось найти работу по межвидовым различиям и расчетным коэффициентам для определения фармакокинетических параметров у человека на основании данных, полученных у экспериментальных животных, при изучении гематорегуляторного пептида SK&F 107647 [7]. На основании полученных экспериментальных данных и в соответствии с рекомендациями [6] у добровольцев была использована доза ноопепта 20 мг и изучена его фармакокинетика с помощью модифицированного нами метода ВЭЖХ.

На рис. 3 представлены фармакокинетические профили кривых “концентрация – время” у добровольцев после приема 2 таблеток ноопепта (доза 20 мг). Из рис. 3 видно, что ноопепт быстро всасывается после приема таблеток, уже через 15 мин он обнаруживается в плазме,  $T_{max}$  — время достижения максимальной концентрации ( $C_{max}$ ) у мужчин составляет 30 мин после приема таблеток, через час концентрация ноопепта уменьшается почти вдвое; у добровольца № 1 кинетика была прослежена на протяжении 2-х часов, у добровольца № 2 исследование было ограничено 1-часовым интервалом времени, хотя из рис. 3 видно, что фаза элиминации ноопепта еще не завершена, у добровольца № 3 из-за большого количества коэкстрактных веществ удалось определить ноопепт только через час в концентрации, близкой к уровню ноопепта в этом интервале времени у двух других добровольцев. Метаболиты в плазме крови человека не обнаружены воз-

можно из-за невысокой дозы препарата и вследствие этого их небольших концентраций.

Таким образом установлены существенные межвидовые различия фармакокинетики и метаболизма нового ноотропного препарата ноопепт у животных 2 видов (крысы, кролики) и у человека. Установлены различные пути метаболизма ноопепта у крыс при введении внутривенно и внутрь. Показано, что у кроликов процессы фармакокинетики и метаболизма ноопепта происходят значительно медленнее, чем у крыс при обоих способах введения и метаболиты в плазме крови кроликов не обнаруживаются. Фармакокинетика ноопепта у человека отличается от его фармакокинетики у экспериментальных животных более медленной элиминацией и значительной индивидуальной вариабельностью. Метаболиты в плазме крови человека не обнаружены.

## ВЫВОДЫ

1. Установлены существенные межвидовые различия фармакокинетики препарата ноопепт заключающиеся в замедлении его элиминации в ряду крыса > кролик > человек.

2. Установлено, что при внутривенном введении ноопепта у крыс элиминация осуществляется за счет его биотрансформации до фенилацетилсодержащих метаболитов и циклопролилглицина; при введении внутрь отмечен выраженный “эффект первого прохождения” препарата через печень с образованием предположительно гидроксильированного метаболита.

3. Показано, что обнаруженные в плазме крови крыс метаболиты в плазме крови кроликов не определялись.

4. Фармакокинетика ноопепта у человека отличается значительной индивидуальной вариабельностью. Метаболиты в плазме крови человека не обнаружены.

Работа поддержана грантом РФФИ — 2002, проект 01-04-49706.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Азарян, *Пептидогидролазы ткани мозга*, Айастан, Ереван (1989).
2. С. С. Бойко, В. П. Жердев, А. А. Дворянинов и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, № 12, 669 – 672 (1997).
3. С. С. Бойко, Р. У. Островская, В. П. Жердев, и др., *Бюл. экпер. биол.*, № 4, 426 – 429 (2000).
4. В. Е. Клуша, *Пептиды — регуляторы функций мозга*, Зинатне, Рига, (1984).
5. Р. У. Островская, Т. А. Гудашева, Т. А. Воронина и др., *Бюл. экпер. биол.*, № 10, 404 – 408 (2001).
6. А. А. Фирсов, В. П. Жердев, Е. Ю. Барманова, А. П. Родионов, *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, Москва, (2000), сс. 107 – 114.
7. P. R. Brocks, M. I. Freed, D. K. Martin, et al., *Pharm. Res.*, **13**, 794 – 797 (1996).
8. S. Muller, R. Dunker, G. Hochhaus, et al., *Pharmazie*, **51**(8), 581 – 585 (1996).
9. R. U. Ostrovskaya, G. A. Romanova, S. S. Trofimov, et al., *Behav. Pharmacol.*, **8**, 261 – 268 (1997).
10. S. B. Seredenin, T. A. Voronina, T. A. Gudasheva, et al., US Patent № 5,439,930 (1995).
11. F. Venturelli, G. Roscetti, R. Rossenti, et al., *Neurochem. Res.*, **10**, 333 – 338, (1995).

Поступила 09.01.03

## INTERSPECIFIC DIFFERENCES OF NOOPEPT PHARMACOKINETICS

S. S. Boiko, S. A. Korotkov, V. P. Zherdev, T. A. Gudasheva, R. U. Ostrovskaya, and T. A. Voronina<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Pharmacokinetics, Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315 Russia

Significant interspecific differences in the pharmacokinetics of noopept are manifested by a decrease in the drug elimination rate on the passage from rats to rabbits and humans. Very intensive metabolism of noopept was observed upon intravenous administration in rats. In these animals, presystemic elimination mechanisms lead to the formation of a specific metabolite representing a product of drug biotransformation hydroxylated at the phenyl ring. In rabbits, unchanged noopept circulates in the blood for a longer time upon both intravenous and peroral introduction, biotransformation proceeds at a much slower rate, and no metabolites analogous to that found in rats are detected. The noopept pharmacokinetics in humans differs from that in animals by still slower elimination and considerable individual variability. No drug metabolites are found in the human blood plasma, probably because of a relatively small dose and low concentration.