

## ИССЛЕДОВАНИЕ БАЗОВЫХ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОНИКНОВЕНИЯ В ТКАНЬ МОЗГА ДИПЕПТИДА КАРНОЗИНА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Д. А. Абаимов<sup>1</sup>, А. К. Сариев<sup>1</sup>, М. В. Танкевич<sup>1</sup>, Е. Ю. Пантюхова<sup>1</sup>,  
Д. И. Прохоров<sup>1</sup>, Т. Н. Федорова<sup>1</sup>, А. В. Лопачев<sup>1,2</sup>, С. Л. Стволинский<sup>1</sup>,  
Е. В. Коновалова<sup>1</sup>, Р. Д. Сейфулла<sup>1</sup>

С помощью оригинального авторского хромато-масс-спектрометрического метода изучали фармакокинетику дипептида карнозина в эксперименте на мышах линии C57 Black/6 после внутрибрюшинного введения препарата в дозе 1 г/кг. Измерены основные фармакокинетические характеристики карнозина в крови и мозге. Результирующая фармакокинетическая кривая имеет биэкспоненциальный характер. Показано, что максимальная концентрация карнозина в плазме крови ( $C_{\max}$ ) составляет  $(1081,75 \pm 124,24)$  мкг/мл и достигается за промежуток времени ( $T_{\max}$ ), равный 0,25 ч. Доказано, что с помощью введения экзогенного карнозина возможно существенно увеличить тканевую концентрацию указанного вещества в мозге. Тканевая доступность дипептида карнозина для ткани головного мозга  $f_t$  составляет 59 %. Обнаружено, что максимальная концентрация карнозина в мозге наступает к 6 ч после введения, когда концентрация препарата в крови минимальна.

**Ключевые слова:** карнозин; дипептиды; фармакокинетика; тканевая доступность; плазма крови; мозг.

### ВВЕДЕНИЕ

Карнозин был впервые обнаружен, выделен и описан академиком АН СССР В. С. Гулевиным в рамках работы по изучению широкого спектра биоорганических молекул, входящих в состав мясного фарша [2]. Карнозин является биогенным дипептидом, в состав которого входят две аминокислоты —  $\beta$ -аланин и L-гистидин. Его структурная формула представлена на рис. 1.

Карнозин легко растворяется в воде, имеет щелочную реакцию и осаждается из воды спиртом в виде мелких игольчатых белых кристаллов, плавится с разложением при 239 °С. Молекулярная масса вещества составляет 226,3 г/моль ( $C_9H_{14}N_4O_3$ ). В организме человека карнозин присутствует во многих тканях. Наибольший тканевой уровень карнозина обнаруживается в головном мозге ( $\pm 2,5$  мМ) и мышечной ткани (20 мМ). У большинства животных также находят метилированную форму карнозина (анзерин), конъюгат карнозина с  $\gamma$ -аминомасляной кислотой (гомокарнозин) и еще около десятка производных данного дипептида [1]. Интактный карнозин не экскретируется из организма, что означает, что он активно метаболизируется. Метаболизм карнозина имеет ряд особенностей. Известно, что карнозин не расщепляется протеолитическими ферментами, такими как пепсин и трипсин, не гидролизуются кишечной флорой. Специфика структуры карнозина, содержащего в своем составе  $\beta$ -аминокислоту, делает его устойчивым к большин-

ству известных пептидаз. Работами сотрудников лаборатории С. Е. Северина [24, 23] было показано, что в почках, селезенке эритроцитах и печени содержится фермент карнозиназа, расщепляющий карнозин. В настоящее время описаны две изоформы карнозиназы — сывороточная (ЕС 3.4.13.20) и тканевая (цитозольная) (ЕС 3.4.13.18), различающиеся по своим молекулярным свойствам и субстратной специфичности [21]. Данные ферменты работают с очень высокой интенсивностью, что обуславливает особенности дозирования карнозина. Для достижения стабильного протекторного эффекта карнозина требуется введение его в избыточных дозах, чтобы компенсировать ферментативный гидролиз со стороны вышеуказанными карнозиназами.

Карнозин является природным гидрофильным антиоксидантом прямого и непрямого действия, способным усиливать эффективность эндогенной системы защиты от окислительного стресса [4, 15]. В настоящее время представления о биологических эффектах указанного дипептида значительно расширены: он демонстрирует свойства рН-буфера, хелатора ионов двухвалентных металлов, мембранопротектора, антигликирующего агента и молекулярного шаперона [12, 14]. Важным свойством карнозина является обнаруженная у него способность регулировать экспрес-

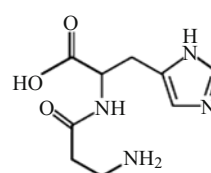


Рис. 1. Карнозин ( $\beta$ -аланил-L-гистидин).

<sup>1</sup> Федеральное государственное бюджетное научное учреждение “Научный центр неврологии”, Москва.

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биохимии им. А.Н. Баха Российской академии наук.

сию генов раннего ответа и смягчать экзайтотоксические свойства лигандов глутаматных NMDA-рецепторов [16, 20]. На различных экспериментальных моделях заболеваний ЦНС (болезнь Паркинсона, гипоксия/ишемия головного мозга и др.) было показано, что окислительный стресс, приводящий к повреждению вещества мозга, и его патофизиологические проявления ослабляются профилактическим и лечебным введением карнозина [15, 17, 9]. Все эти свойства привлекли к карнозину пристальное внимание как к важному биологически активному соединению [19]. В пилотных клинко-биохимических исследованиях показано, что карнозин повышает эффективность базисной терапии у пациентов с дисциркуляторной энцефалопатией, болезнью Паркинсона [13] и синдромом Альцгеймера [18, 12]. Несмотря на то, что карнозин достаточно давно изучается в качестве вещества-основы для создания лекарственного препарата, улучшающего функционирование ЦНС, литературные данные по фармакокинетике карнозина ограничены. Исследования, проведенные в 1980-х годах XX в. были выполнены с помощью полуколичественных методов на основе определения диазореактивных продуктов по реакции Паули в безбелково-водных этанольных экстрактах тканей крыс после внутрибрюшинного введения препарата. Полученные результаты были малоинформативны и позволяли лишь составить общее представление о времени достижения максимальной тканевой концентрации карнозина у крыс [3].

Известно, что только проведение доклинических экспериментальных исследований фармакокинетики на лабораторных животных способно получить наиболее полную картину, дающую представление о тропности препарата к тем или иным органам, о продолжительности циркулирования препарата в системном кровотоке и о скорости его элиминации из организма [6 – 8]. Поэтому представляло существенный интерес изучить фармакокинетику карнозина в эксперименте на животных с применением современных и точных количественных аналитических методов, таких как тандемная хроматомасс-спектрометрия. Поскольку карнозин рассматривается в качестве нейропротектор-

ного вещества, представлялось важным также изучить характеристики его проникновения в ткань мозга и вычислить тканевую доступность препарата.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты по изучению фармакокинетики карнозина были выполнены на 96 самцах мышей линии C57 Black/6 с массой ( $25 \pm 4$ ) г (питомник лабораторных животных “Столбовая”, Московская область, Россия) в соответствии с “Правилами лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ” (ГОСТ 351000.3 и 51000.4-96).

Все растворители имели квалификацию “Для хроматографии”, реактивы — не ниже “ч.д.а.”. Для приготовления растворов стандартных образцов использовали субстанции стандартов карнозина и аланил-карнозина производства Namari Chemicals Ltd.

Нами был разработан и метрологически валидирован авторский хроматомасс-спектрометрический метод определения карнозина в биологических жидкостях и гомогенатах тканей лабораторных животных. С помощью указанного метода проведено экспериментальное изучение фармакокинетических параметров карнозина в плазме крови и головном мозге мышей линии C57 Black/6. На определение тканевых и плазматических концентраций карнозина в каждом дискретном временном интервале использовали по 8 животных. Результирующая фармакокинетическая кривая построена по усредненным концентрациям. Всего было взято 12 временных точек в интервале от 0,25 до 48 ч после внутрибрюшинного введения карнозина в дозе 1 г/кг (изучено более 200 биообразцов). На рис. 2 и 3 изображены масс-хроматограммы и масс-спектры второго порядка карнозина и его внутреннего стандарта (L-аланил-карнозин). Концентрацию целевого вещества в ткани мозга мышей определяли методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии на приборе Finnigan Surveyor LC Pump Plus в сочетании с масс-спектрометрическим детектором “LCQ Fleet MS” (квадрупольная ионная ловушка). Для хроматографического разделения применяли аналитическую колонку Ultrasphere 5 ODS фирмы Nichrom Ltd.,

Таблица 1. Точность определения карнозина в гомогенате мозга в течение рабочего дня

Концентрация добавленная, мкг/г	1,56	6,25	25,00
Концентрация найденная, мкг/г	1,60	6,23	25,10
	1,52	6,28	24,80
	1,58	6,30	25,00
	1,56	6,20	25,40
	1,57	6,29	25,20
	1,49	6,32	25,20
$\bar{x}$	1,55	6,27	25,12
SD	0,04	0,05	0,20
% CV	2,63	0,73	0,81
% dev	- 0,43	0,32	0,47

Таблица 2. Точность определения карнозина в плазме крови в течение рабочего дня

Концентрация добавленная (мкг/мл)	50,00	200,00	800,00
Концентрация найденная (мкг/мл)	51,00	202,00	810,00
	49,00	199,00	805,00
	53,00	198,90	804,00
	48,70	201,00	799,00
	49,30	210,00	803,00
	52,00	204,00	800,00
$\bar{x}$	50,50	202,48	803,50
SD	1,77	4,15	3,94
% CV	3,51	2,05	0,49
% dev	1,00	1,24	0,44

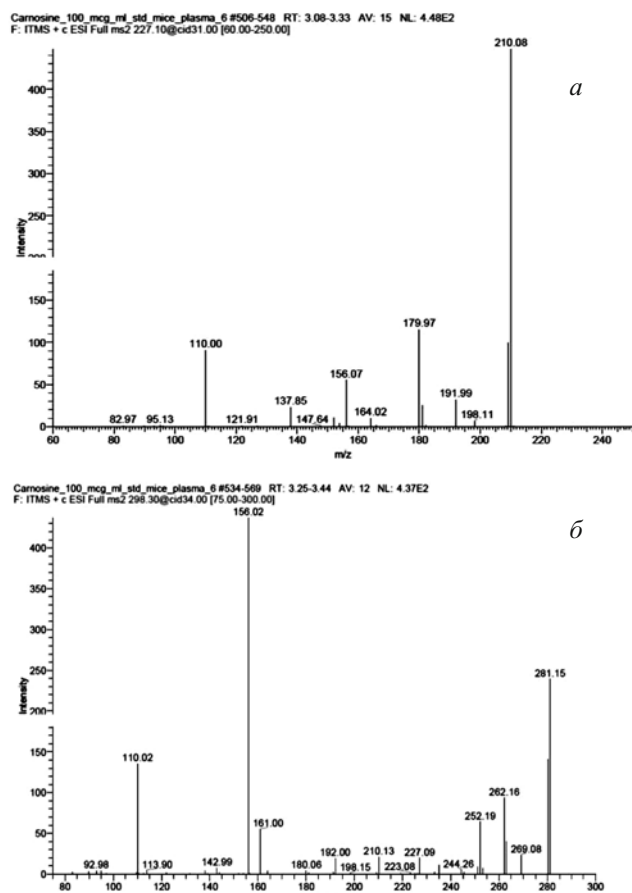


Рис. 2. Масс-спектры второго порядка для карнозина (а) и аланил-карнозина (б).

Великобритания (250 × 4,6 мм; 5 мкм). Подвижная фаза состояла из 2 растворов: 10 мМ ацетат аммония, подкисленный ледяной уксусной кислотой до рН 3,7 (раствор А), и ацетонитрил — 10 мМ ацетат аммония (90:10) (раствор Б); взятых в соотношении 90 % А:10 % Б, работа проводилась в изократическом режиме элюирования. Скорость потока подвижной фазы 0,7 мл/мин. Объем пробы — 25 мкл. Температура разделения 35 °С. Продолжительность хроматографирования 10 мин. Время удерживания аналита — (4,22 ± 0,05) мин. Время удерживания внутреннего стандарта (L-аланил-карнозин) — (4,27 ± 0,05) мин. Детектирование масс-спектрометрическое, по дочерним ионам с  $m/z$  110,0, 156,1, 180,0, 210,1, образующимся в результате распада молекулярного иона карнозина с  $m/z$  227,1 при нормализованной энергии соударений 31 эВ (масс-спектр второго порядка для карнозина представлен на рис. 2). Внутренний стандарт (L-аланил-карнозин) детектировали по суммарному ионному току дочерних ионов в диапазоне  $m/z$  75 – 300, образующихся в результате распада молекулярного иона L-аланил-карнозина с  $m/z$  298,3. Масс-спектрометр работал в режиме регистрации ионов, положительно заряженных электроспреем (ESI), создаваемым напряжением в 5 кВ. Скорость потока га-

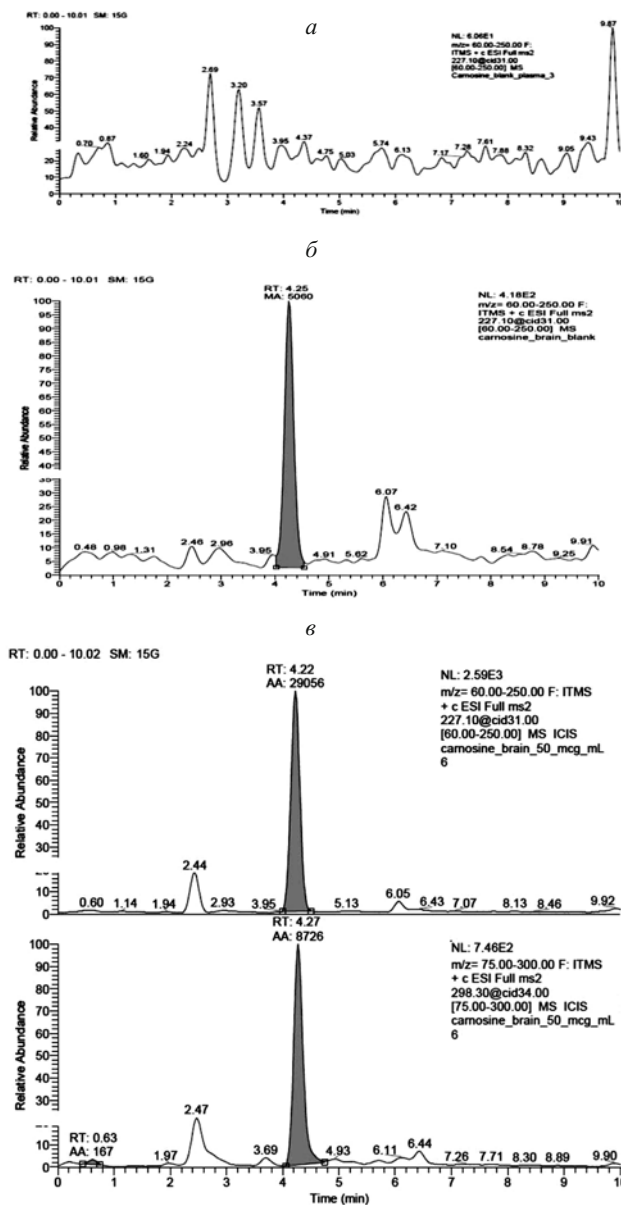


Рис. 3. Демонстрационные хроматограммы депротенизированного образца:

а) интактной плазмы крови; б) ткани мозга (пик с  $T_R$  = 4,25 мин — пик базального карнозина); в) гомогената ткани мозга с концентрацией карнозина 50 мкг/мл, верхний пик — пик аналита, нижний пик — пик внутреннего стандарта.

за-небулайзера (азота): 5 л/мин, давление на распылителе – 100 psi. Температура интерфейса капилляра составляла 350 °С, температура нагревателя – 300 °С. Амплитуда возбуждения на концевых электродах ловушки 0,1 В. В качестве демпфирующего газа в ионной ловушке использовался гелий. Данные обрабатывали с помощью Xcalibur 2.1 w/Foundation 1.0.1.

Для количественного измерения концентрации карнозина применяли метод внутреннего стандарта. При градуировке измеряли отношение площадей хроматографических пиков целевого вещества и внутреннего стандарта в зависимости от концентрации карнозина. Регрессия — линейная; метод наименьших квадратов.

Специфичность определения карнозина: установлено, что матричные эффекты коэкстрактивных веществ из плазмы крови не мешают определению карнозина и внутреннего стандарта. Типичные хроматограммы образцов интактной плазмы крови, гомогената интактного мозга и демонстрационная хроматограмма образца гомогената ткани мозга с концентрацией карнозина 50 мкг/мл представлены ниже (рис. 3).

Для количественного определения готовили маточные растворы стандартов карнозина и аланил-карнозина в метаноле с концентрациями 1 мг/мл. Раствор карнозина применяли для приготовления растворов рабочих стандартных образцов на плазме крови с концентрациями 3,13; 6,25; 12,5; 25; 50; 100; 200; 400; 800; 1600 мкг/мл. На основании проведенного нами пилотного исследования установлено, что в мозге максимальная концентрация экзогенного карнозина была значительно меньше чем в крови. Соответственно градуировку для количественного определения карнозина получали в концентрационном диапазоне 0,39 – 50 мкг/мл: 0,39; 0,78; 1,56; 3,13; 6,25; 12,5; 25; 50 мкг/мл. Раствор внутреннего стандарта с концентрацией 1 мг/мл разбавляли в 5 раз для получения рабочего раствора аланил-карнозина с концентрацией 200 мкг/мл. По причине того, что в интактной крови мышей карнозин отсутствует, а в мозге его базальная концентрация довольно высока, а также по причине существенных отличий в матричном эффекте со стороны разных биосубстратов, было принято решение сделать две самостоятельные градуировки для карнозина в мозге и карнозина в крови. Градуировочная зависимость для карнозина в плазме крови описывалась формулой:

$$C = 158,230602 \cdot AR,$$

где  $C$  — концентрация карнозина (мкг/мл),  $AR$  (Area Ratio) — отношение площадей пиков аналита и внутреннего стандарта. Коэффициент корреляции составил  $R^2 = 0,9986$ , что соответствует надлежащей аналитической аппроксимации.

Градуировочная зависимость для карнозина в гомогенате мозга описывалась формулой:

$$C = 13,38894 \cdot AR,$$

где  $C$  — концентрация карнозина, мкг/мл;  $AR$  (Area Ratio) — отношение площадей пиков аналита и внутреннего стандарта. Коэффициент корреляции составил  $R^2 = 0,995$ , что соответствует надлежащей аналитической аппроксимации. Поскольку в работе использовался гомогенат ткани мозга, полученный при гомогенизации мозга мышей в дистиллированной воде, взятой в соотношении 1:2 (m:v), при расчете содержания вещества в гомогенате мозга следует учитывать это разведение введением поправочного коэффициента, то есть концентрация карнозина, полученная при определении содержания вещества в гомогенате, должна быть перемножена на 3 ( $3 \cdot C$ , мкг/мл). Кроме того, в связи с наличием довольно высокого содержания карнозина в

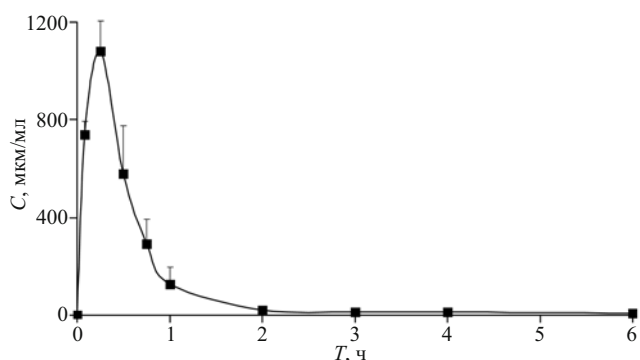


Рис. 4. Фармакокинетика карнозина в плазме крови до 6 ч.

ткани интактного мозга для определения содержания экзогенного карнозина был использован следующий метод перерасчета с учетом поправки на базальный карнозин:

$$C_{\text{экз}} = (S_{\text{общ}} - S_{\text{баз}}) / S_{\text{IS}} \cdot 0,0746885,$$

где  $C_{\text{экз}}$  — концентрация экзогенного карнозина;  $S_{\text{общ}}$  — площадь хроматографического пика карнозина в образце гомогената мозга животного, получавшего экзогенный карнозин;  $S_{\text{баз}}$  — рассчитанная средняя площадь пика базального карнозина;  $S_{\text{IS}}$  — площадь пика базального карнозина принимали среднее значение, рассчитанное из площадей пиков карнозина в гомогенате мозга 8 интактных мышей. Предел количественного определения составлял 0,39 мкг/мл. Точность выражалась в виде коэффициента вариации (% CV) в процентах для каждой серии образцов согласно уравнению:

$$\% CV = \frac{SD}{\bar{x}} \cdot 100,$$

где  $SD$  — стандартное отклонение серии определений;  $\bar{x}$  — среднее арифметическое значение полученных концентраций.

Воспроизводимость метода измеряли, как процент отклонения (% dev) от теоретического значения, по формуле:

$$\% dev = \frac{\bar{x} - \bar{\mu}}{\bar{\mu}} \cdot 100,$$

где  $\bar{x}$  — среднее арифметическое значение полученных концентраций.

Для метрологической валидации разработанного метода определяли точность в течение рабочего дня. Каждый из образцов, предназначенных для контроля качества, анализировали в течение 1 рабочего дня (6 определений). Также проводили контроль воспроизводимости во время исследования и после его окончания. Результаты представлены в табл. 1 и 2.

Таким образом, относительная ошибка метода определения карнозина не превышала 10 %. Извлечение карнозина из биологического материала осуществляли методом депотеинизации. К образцу плазмы крови или образцу гомогената ткани мозга (1:2, m:v, мозг:

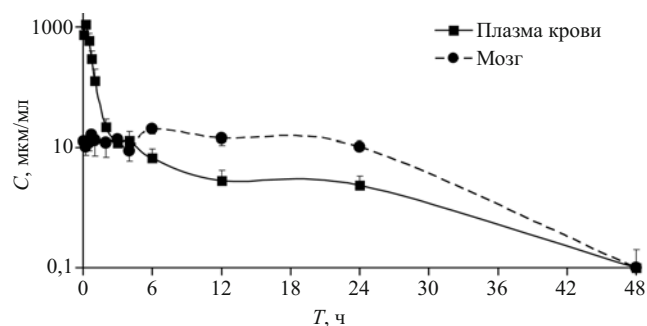


Рис. 5. Концентрации карнозина в плазме крови и мозге мышей после его внутрибрюшинного введения в дозе 1 г/кг.

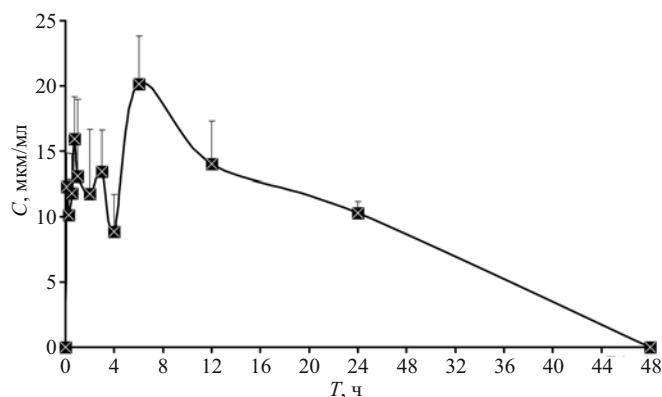


Рис. 6. Концентрации экзогенного карнозина в мозге мышей после его внутрибрюшинного введения в дозе 1 г/кг.

бидистиллят) объемом 100 мкл добавляли 10 мкл раствора внутреннего стандарта (L-аланил-карнозина) с концентрацией 200 мкг/мл. К полученной смеси добавляли 400 мкл 10% водного раствора трихлоруксусной кислоты с целью преципитации протеинов плазмы. Образовавшуюся взвесь денатурированных белков осаждали на ультрацентрифуге на скорости 16000 g. Надосадочную жидкость осторожно декантировали и переносили в хроматографическую виалу, которую помещали в автосамплер хроматографа для дальнейшего хроматомасс-спектрометрического анализа. Супернатант инжектировали в петлю хроматографа в объеме 10 мкл.

Фармакокинетические параметры карнозина были рассчитаны бескамерным модельно-независимым методом с помощью фармакокинетического приложения Excel PK-Solver [22].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам проведенных экспериментов нами были рассчитаны основные фармакокинетические характеристики карнозина у мышей (см. табл. 3, рис. 4, 5). Обнаружено, что после внутрибрюшинного введения животным карнозин очень быстро всасывается из брюшной полости со скоростью  $1,42 \text{ ч}^{-1}$  ( $C_{\max}/AUC_{0-t}$ ) и определяется в плазме крови на протяжении 24 ч. Результирующая фармакокинетическая кривая имеет бикспоненциальный характер. Показано, что максимальная концентрация карнозина в плазме крови ( $C_{\max}$ ) составляет  $(1081,75 \pm 124,24)$  мкг/мл и достигается за промежуток времени ( $T_{\max}$ ), равный 0,25 ч. В течение первого часа происходит десятикратное снижение концентрации карнозина в крови, в течение второго часа происходит снижение аналогичной кратности с выходом на плато. Такие фармакокинетические параметры, как период полужизни ( $t_{1/2el} = 0,19 \text{ ч}$ ) среднее время удерживания вещества в организме ( $MRT = 4,03 \text{ ч}$ ) и время достижения макси-

мальной концентрации ( $T_{\max}$ ) свидетельствуют о том, что большая часть процессов всасывания, распределения и элиминации карнозина в крови животных протекает в пределах первого часа после внутрибрюшинного введения (см. рис 4).

Фармакокинетические кривые изображены на рис. 5.

Это хорошо согласуется с современными представлениями о фармакокинетике дипептидов, поскольку известно, что короткий период полужизни и высокая скорость элиминации является общей характерной чертой для большинства дипептидных лекарственных препаратов, таких как дилепт, ноопепт и ГБ-115 [11, 10, 5]. Сравнение параметров площадей под фармакокинетическими кривыми ( $AUC_{0-t}$ ) от 0 до последней точки (48 ч) показывает, что дискретные интервалы времени, взятые для оценки фармакокинетики карнозина в плазме крови мышей, являются корректными, поскольку к 48 ч препарат не определяется, как в плазме крови, так и в мозге мышей.

Изучение фармакокинетических параметров карнозина в мозге животных дало неожиданные результаты. Неожиданным было существенное отличие между максимальными концентрациями в мозге и крови, а также большой временной лаг между временами достижения максимальных концентраций в крови и мозге. Показано, что время достижения максимальной концентрации карнозина в мозге ( $T_{\max}$ ) составляет 6 ч с максимальной концентрацией экзогенного карнозина 20,3 мкг/г, то есть максимум концентрации в мозге достигается на фоне минимальной концентрации карнозина в крови. Высокие показатели полупериода элиминации ( $t_{1/2el} = 31,62 \text{ ч}$ ), среднего времени удерживания вещества в мозге мышей ( $MRT = 24,36 \text{ ч}$ ), а также площади под фармакокинетическими кривыми

Таблица 3. Фармакокинетические параметры карнозина

Объект исследования	$C_{\max}/AUC_{0-t}$ , 1/ч	$MRT$ , ч	$t_{1/2el}$ , ч	$T_{\max}$ , ч	$C_{\max}$ , мкг/мл/г	$AUC_{0-t}$ , мкг/мл/г · ч	$f_T$ , %
Плазма	1,42	4,03	0,19	0,25	1081,75	762,49	
Мозг	—	24,36	31,62	6,0	20,13	448,99	0,59

( $AUC_{0-48} = 448,99$ ) от 0 до 48 ч, по всей видимости, связаны с постоянным присутствием в мозге эндогенного карнозина. Таким образом, количество экзогенного карнозина в мозге достоверно возросло по отношению к довольно высокому базальному уровню карнозина (~10 мкг/мл), причем это увеличение носило бимодальный характер (см. рис. 6).

Это вызвало определенные сложности с математическим расчётом фармакокинетических характеристик. Было показано, что препарат демонстрирует хорошую тканевую доступность для головного мозга. Тканевая доступность карнозина  $f_T$  по нашим расчётам составляет 59 % (см. рис. 5). Позднее время достижения максимальной концентрации в мозге, когда максимум достигается при фактическом отсутствии карнозина в крови, позволяет сделать предположение о том, что увеличение тканевой концентрации, возможно, связано с проникновением в мозг не самого карнозина, а аминокислот, входящих в его состав – бета-аланина и L-гистидина, образующихся в результате ферментативного разрушения карнозина, с последующим синтезом карнозина в мозге *de novo*. Однако это предположение нуждается в дополнительном экспериментальном подтверждении.

## ВЫВОДЫ

1. Изучены базовые фармакокинетические характеристики дипептида карнозина.

2. Обнаружено, что карнозин демонстрирует высокую скорость элиминации из крови.

3. Выявлено, что карнозин способен проникать в ткань мозга.

4. Более 50 % карнозина плазмы крови достигает ткани мозга ( $f_T - 59\%$ ).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ №14-04-01718 “Сравнительное исследование базовых фармакокинетических характеристик и эффективности проникновения через ГЭБ липосомальной и немодифицированной формы дипептида карнозина” и гранта РФФИ №14-04-00829 “Механизмы нейропро-

тективного действия гистидинсодержащих дипептидов и их производных при моделировании острых нарушений церебральной гемодинамики”.

## ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Болдырев, *Биохимия*, **77**(4), 403 – 418 (2012).
2. В. С. Гулевич, *Избранные труды*, Изд-во АН СССР, Москва (1954).
3. Н. В. Гуляева, *Биохимия*, **57**(9), 1398 – 1403 (1992).
4. О. Н. Давыдова, А. А. Болдырев, *Анн. клин. и эксперим. неврол.*, **4**(1), 28 – 35 (2007).
5. Е. В. Иванникова, С. С. Бойко, В. П. Жердев и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **77**(7), 31 – 34 (2014).
6. Г. И. Ковалёв, В. М. Рычихин, В. С. Кудрин и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **77**(11), 23 – 26 (2014).
7. Д. И. Прохоров, А. К. Сариев, Д. А. Абаимов и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **157**(6), 712 – 717 (2014).
8. А. К. Сариев, Д. А. Абаимов, М. В. Танкевич и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **77**(8), 42 – 47 (2014).
9. Т. Н. Федорова, С. Л. Стволинский, Г. Х. Багыева и др., *Усп. физиол. наук.*, **36**(2), 84 – 91 (2005).
10. Р. В. Шевченко, А. А. Литвин, Г. Б. Кольванов и др. *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **157**(6), 704 – 707 (2014).
11. Р. В. Шевченко, А. А. Литвин, Г. Б. Кольванов и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **77**(7), 23 – 27 (2014).
12. F. Bellia, G. Vecchio, S. Cuzzocrea, et al., *Mol. Aspects Med.*, **32**(4 – 6), 258 – 266 (2011).
13. A. A. Boldyrev, G. Aldini, and W. Derave, *Physiol. Rev.*, **93**(4), 1803 – 1845 (2013).
14. A. A. Boldyrev, E. I. Dudina, A. M. Dupin, et al., *Biul. Eksperimen. Biol. Med.*, **115**(6), 607 – 609 (1993).
15. A. A. Boldyrev, S. L. Stvolinsky, T. N. Fedorova, et al., *Rejuvenation Res.*, **13**(2 – 3), 156 – 158 (2010).
16. V. Calabrese, C. Colombrita, E. Guagliano, et al., *Neurochem. Res.*, **30**(6 – 7), 797 – 807 (2005).
17. D. Dobrota, T. N. Fedorova, M. S. Stepanova, et al., *Int. J. Clin. Experim. Med.*, **3**(2), 144 – 151 (2010).
18. A. N. Fonteh, R. J. Harrington, A. Tsai, et al., *Amino Acids*, **32**(2), 213 – 224 (2007).
19. A. R. Hipkiss, *Mol. Aspects Med.*, **32**(4 – 6), 267 – 278 (2011).
20. K. Kulebyakin, L. Karpova, E. Lakonsteva, et al., *Amino Acids*, **43**(1), 91 – 96 (2012).
21. J. F. Lenney, *Biol. Chem., Hoppe-Seyler*, **371**(2), 167 – 171 (1990).
22. I. Meinekeand, *J. Brockmoller, Comp. Methods Programs Biomed.*, **88**(3), 239 – 245 (2007).
23. S. E. Severin, *Biokhimiia*, **57**(9), 1285 – 1295 (1992).
24. S. E. Severin, *Uspekhi Biol. Khimii*, **2**, 355 – 377 (1954).

Поступила 18.12.14

## EXPERIMENTAL STUDY OF THE BASIC PHARMACOKINETIC CHARACTERISTICS OF DIPEPTIDE CARNOSINE AND ITS EFFICIENCY OF PENETRATION INTO BRAIN TISSUES

A. K. Sariev<sup>1</sup>, D. A. Abaimov<sup>1</sup>, M. V. Tankevich<sup>1</sup>, E. Yu. Pantyukhova<sup>1</sup>, D. I. Prokhorov<sup>1</sup>, T. N. Fedorova<sup>1</sup>, A. V. Lopachev<sup>1,2</sup>, S. L. Stvolinskii<sup>1</sup>, E. V. Konovalova<sup>1</sup>, and R. D. Seifulla<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Neurology Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Volokolamskoe shosse 80, Moscow, 125367 Russia

<sup>2</sup> A. N. Bach Institute of Biochemistry Russian Academy of Sciences

We have used an original chromatography/mass spectrometry technique to study the pharmacokinetics of dipeptide carnosine in C57 Black/6 mice after intraperitoneal administration of the drug at a dose of 1 g/kg. The basic pharmacokinetic characteristics of carnosine were measured in the blood and brain. The obtained concentration – time curve has a biexponential character. It is shown that the maximum concentration of carnosine in the blood plasma is  $C_{max} = 1081.75 \pm 124.24 \mu\text{g/mL}$  and it is achieved in a time interval of  $T_{max} = 0.25 \text{ h}$ . We showed that *i.p.* administration of exogenous carnosine could significantly increase the concentration of that substance in the brain. Tissue availability of dipeptide carnosine for brain tissue is relatively good and constitutes 59% from the total amount of blood carnosine. It was found that the maximum concentration of carnosine in the brain occurs at the sixth hour after *i.p.* administration when the concentration of drug in the blood is minimal.

**Keywords:** carnosine; dipeptides; pharmacokinetics; tissue accessibility; blood plasma; brain.