ФАРМАКОКИНЕТИКА

DOI: 10.30906/0869-2092-2023-86-1-8-11

ОЦЕНКА ЛИНЕЙНОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ НЕЙРОПРОТЕКТОРА ГЗК-111

О. Ю. Кравцова*, Г. Б. Колыванов, А. А. Литвин, П. О. Бочков, О. Г. Грибакина, Д. А. Дворянинов, С. С. Бойко, В. П. Жердев[1]

Проведена проверка гипотезы линейности фармакокинетики нового нейропротектора ГЗК-111 (этиловый эфир *N*-фенилацетилглицил-L-пролина) с использованием концентраций его мажорного метаболита (*N*-фенилацетилглицил-L-пролина) в плазме крови крыс после однократного внутрижелудочного введения в дозах 5, 10 и 20 мг/кг. Установлено, что фармакокинетика ГЗК-111 по мажорному метаболиту в плазме крови крыс линейна в изучаемом диапазоне доз.

Ключевые слова: нейропротектор; ГЗК-111; линейность кинетики; *N*-фенилацетилглицил-L-пролин; ВЭЖХ-масс-спектрометрия.

ВВЕДЕНИЕ

Важнейшим аспектом фармакокинетического анализа является проверка гипотезы линейности, поскольку она позволяет оценить предсказуемость изменений концентрации в ответ на изменение дозы фармакологического вещества (ФВ) — линейность предусматривает, что удвоение дозы препарата приводит к удвоению его концентрации в системном кровотоке в каждый период наблюдения [4].

В ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова" синтезирован и изучен этиловый эфир *N*-фенилацетилглицил-L-пролина — дипептид с рабочим шифром ГЗК-111 [6]. Спектр фармакологической активности данного ФВ после внутрибрюшинного введения (0,1 – 10 мг/кг) включает нейропротекторную, антиамнезическую, анксиолитическую, антигипоксическую, антидепрессивную и анальгетическую активность. Фармакологические эффекты сохраняются и после внутрижелудочного введения в дозах 10, 30 и 40 мг/кг [2, 8].

Для проверки линейности фармакокинетики того или иного ФВ обычно сравнивают его фармакокинетические данные (концентрации, профили и параметры), полученные после введения исследуемого вещества в разных дозах, однако если вследствие пресистемной элиминации ФВ оно подвергается пресистемному метаболизму и не обнаруживается (либо обнаруживается на пределе чувствительности методики количественного определения) в крови в неизмененном виде и (или) не обладает биологической активностью (пролекарство), необходимо определять концентрацию именно метаболита(-ов) [5].

Ранее установлено, что *N*-фенилацетилглицил-L-пролин (М-1) — мажорный метаболит ГЗК-111 определялся в плазме крови в количествах, на 4 порядка превышающих содержание нативного соединения и других его метаболитов (оценка проводилась по значениям AUC_{0-t} соответствующих веществ) [4]. В то же время в работе Т. А. Гудашевой и соавт. в опытах *in vitro* показано, что ГЗК-111 является пролекарством [1]. Поэтому правомерно для оценки линейности фармакокинетики ГЗК-111 использовать концентрации его мажорного метаболита — М-1, определяемого в плазме крови животных после введения нативного соединения.

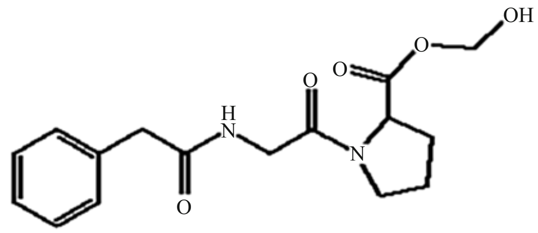
Цель настоящей работы — оценка линейности фармакокинетики ГЗК-111 после однократного внесосудистого введения в 3 дозах.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

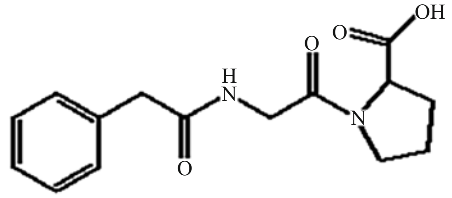
В работе использовали субстанции, синтезированные в отделе химии лекарственных средств ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова": этиловый эфир *N*-фенилацетилглицил-L-пролина, молекулярная масса — 318 а.е.м. (серия 465; рис. 1, *а*) и *N*-фенилацетилглицил-L-пролин, молекулярная масса — 290 а.е.м. (серия ЕК-450; рис. 1, *б*) [3].

Исследование проведено на половозрелых беспородных крысах-самцах с массой тела 180 – 220 г. Животные содержались в лабораторном виварии при 20 – 22 °C, относительной влажности воздуха 45 – 65 %, имели постоянный доступ к корму и воде. Эксперименты проводили в соответствии с решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 81 "Об утверждении Правил надлежа-

[1] ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова", Россия, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8.
* e-mail: mojaevdim@mail.ru



а)



б)

Рис. 1. Структурные формулы: этиловый эфир *N*-фенилацетилглицил-L-пролина (ГЗК-111) (*а*), *N*-фенилацетилглицил-L-пролин (метаболит ГЗК-111) (*б*).

щей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств".

Оценку линейности фармакокинетики ГЗК-111 осуществляли, используя определяемые концентрации его мажорного метаболита — М-1 в плазме крови животных. Исследование кинетики М-1 проводили после однократного внутрижелудочного введения крысам фармацевтической субстанции ГЗК-111 в дозах: 5, 10 и 20 мг/кг. ГЗК-111 вводили в виде суспензии в 1 % крахмальном клейстере.

Содержание *N*-фенилацетилглицил-L-пролина определяли в плазме крови крыс после введения ГЗК-111 в 3 разных дозах до введения нативного соединения (контроль) и через 0,25, 0,5, 1,0, 2,0, 4,0 и 6,0 ч после введения. Образцы крови крыс получали после декапитации животных. Все манипуляции с экспериментальными животными выполнены в соответствии с нормативной документацией (ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33216-2014), 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".

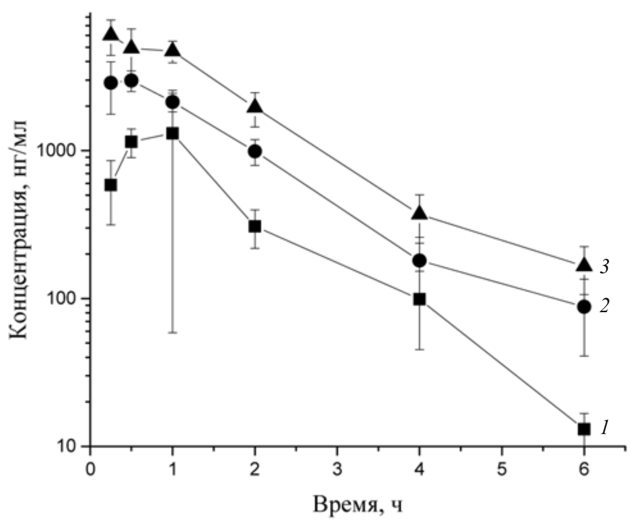


Рис. 2. Фармакокинетические профили *N*-фенилацетилглицил-L-пролина (М-1) в плазме крови крыс после однократного внутрижелудочного введения фармацевтической субстанции ГЗК-111 в 3 дозах: *1* – 5 мг/кг; *2* – 10 мг/кг; *3* – 20 мг/кг; $n = 3$; (среднее ± SD).

Для количественной оценки содержания *N*-фенилацетилглицил-L-пролина в плазме крови животных использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию с масс-спектрометрическим определением (нижний предел количественного определения составил 1 нг/мл) [3].

Расчёт фармакокинетических параметров М-1 (*N*-фенилацетилглицил-L-пролина) проводили немодельным методом. Кривые "концентрация — время" были построены по усреднённым значениям концентраций М-1 в плазме крови в дискретные интервалы времени, полученным у 3 животных в каждый временной интервал.

Основные расчётные фармакокинетические параметры: AUC_{0-t}, $AUC_{0-\infty}$ — площадь под кривой (пло-

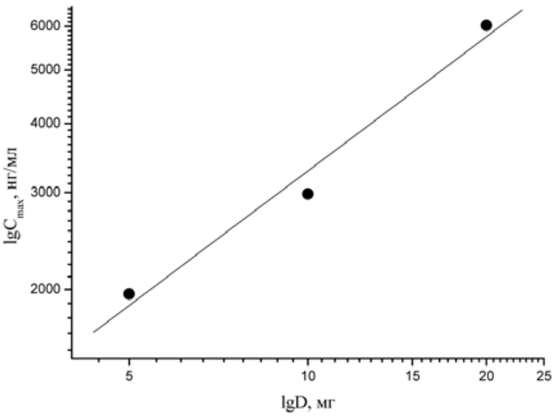
Таблица 1. **Фармакокинетические параметры *N*-фенилацетилглицил-L-пролина (М-1) в плазме крови крыс после однократного внутрижелудочного введения соединения ГЗК-111 в 3 дозах**

Параметр	Единица измерения	Доза, мг/кг		
		5	10	20
C_{max}	нг/мл	1963,80	2981,93	6022,93
T_{max}	ч	1,0	0,50	0,25
AUC_{0-t}	нг/мл · ч	2722,82	5369,74	10720,34
k_{el}	ч$^{-1}$	0,7898	0,6550	0,6652
$AUC_{0-\infty}$	нг/мл · ч	2739,36	5503,99	10969,18
$t_{1/2el}$	ч	0,88	1,06	1,04
MRT	ч	1,33	1,51	1,51

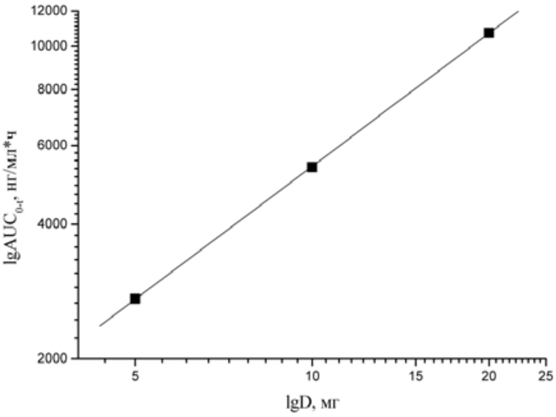
Таблица 2. **Параметры уравнений линейной регрессии ($Y = a + b \cdot X$), описывающих зависимости изменений C_{max} и AUC_{0-t} *N*-фенилацетилглицил-L-пролина (М-1) от дозы ГЗК-111**

Параметр	$Y = C_{max}$		$Y = AUC_{0-t}$	
	Значение	Ошибка	Значение	Ошибка
a	2,707	0,122	2,713	0,005
b	0,808	0,119	0,989	0,005
r	0,989		0,999	
n	3		3	
p	0,0929		0,0033	

Примечание: *a* — точка пересечения функции, описываемой уравнением линейной регрессии, с осью абсцисс; *b* — константа пропорциональности; *r* — коэффициент корреляции; *n* — число доз; *p* — уровень достоверности.



а)



б)

Рис. 3. Оценка линейности фармакокинетики *N*-фенилацетилглицил-L-пролина в плазме крови крыс по изменению значения lgC_{max} (*а*) и lg$AUC_{0\text{-}t}$ (*б*) в зависимости от дозы (lgD) ГЗК-111.

щадь под кривой “концентрация соединения — время”); T_{max} — время достижения максимальной концентрации исследуемого ФВ в плазме крови; C_{max} — максимальная концентрация; *MRT* — среднее время удерживания исследуемого ФВ в организме; k_{el} — константа скорости элиминации; $t_{1/2el}$ — период полувыведения исследуемого ФВ.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для оценки линейности фармакокинетики ГЗК-111 исследуемое ФВ вводили крысам однократно внутрижелудочно в дозах 5, 10 и 20 мг/кг и использовали определяемые концентрации в плазме крови метаболита нативного соединения — М-1.

На рис. 2 представлены усреднённые фармакокинетические профили анализируемого метаболита в полулогарифмической системе координат.

В табл. 1 представлены основные фармакокинетические параметры *N*-фенилацетилглицил-L-пролина (М-1) в плазме крови крыс после однократного внутрижелудочного введения ГЗК-111 в 3 дозах.

Статистический анализ фармакокинетических данных может обойти неопределённость, связанную с дозозависимостью, в ситуации, когда исследуемое ФВ находится в системном кровотоке. Действительно, при повышении дозы ФВ его кинетика может стать нелинейной (непропорциональное увеличение рассматриваемого параметра в зависимости от дозы). Общий метод оценки пропорциональности доз – нормирование значений *AUC* к дозе и оценка постоянства отношений между исследуемыми дозами [7]. В некоторых случаях нелинейность может быть не очевидна из-за вариабельности измеряемого показателя. Решить эту проблему может нелинейная степенная модель.

Пропорциональную (линейную) зависимость можно записать в виде степенной функции:

$$AUC = a \cdot \text{доза}^{b}, \quad (1)$$

где *b* — константа пропорциональности; *a* — точка пересечения функции с осью абсцисс. Линеаризация этой зависимости дает

$$\lg AUC = \lg a + \lg \text{доза} \cdot b. \quad (2)$$

При $b = 1$ зависимость является пропорциональной, другими словами, линейной. Следовательно, данный тип модели может количественно оценить отклонение от линейности фармакокинетики. Аналогичные рассуждения справедливы относительно другого фармакокинетического параметра — C_{max}.

На рис. 3 представлены графические зависимости десятичных логарифмов максимальной концентрации *N*-фенилацетилглицил-L-пролина в плазме крови крыс и площади под фармакокинетической кривой метаболита от десятичного логарифма введённой дозы исходного ФВ.

Из рис. 3 видно, что показатель *b*, характеризующий наклон кривых, достоверно приближается к 1. Для C_{max} этот показатель составил 0,81 и для $AUC_{0\text{–}t}$ равен 0,99. Таким образом, можно сделать вывод, что фармакокинетика М-1 в плазме крови крыс линейна в диапазоне доз ГЗК-111 5 – 20 мг/кг.

Для некоторых пролекарств и их метаболитов вышеописанная зависимость не выявлена. Однако в работе E. J. Perkins, T. Abraham при изучении фармакокинетики, метаболизма и экскреции пролекарства, обеспечивающего транспорт пептидов через стенку кишечника, на лабораторных животных установлено, что изучаемое соединение продемонстрировало широкий диапазон линейности доз (до 1000 мг/кг для крыс и до 140 мг/кг — для собак) [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Приведенные данные доказывают линейность фармакокинетики соединения ГЗК-111 в диапазоне доз 5 – 20 мг/кг.

ЛИТЕРАТУРА

1. Т. А. Гудашева, К. Н. Колясникова, Е. А. Кузнецова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **50**(11), 3 – 8 (2016); doi: 10.30906 / 0023-1134-2016-50-11-3-8
2. К. Н. Колясникова, П. Ю. Поварнина, Е. А. Кузнецова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **55**(10), 10 – 13 (2021); doi: 10.30906 / 0023-1134-2021-55-10-10-13
3. О. Ю. Кравцова, А. Л. Подолько, П. О. Бочков и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **85**(8), 21 – 25 (2022); doi: 10.30906 / 0869-2092-2022-85-8-21-25
4. И. И. Мирошниченко, *Основы фармакокинетики*, ГЭОТАР-МЕД, Москва (2002).
5. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Методические рекомендации по проведению доклинических исследований фармакокинетики новых лекарственных средств*, А. Н. Миронов (ред.), часть 1, Гриф и К, Москва (2013).
6. С. Б. Середенин, Т. А. Гудашева, К. Н. Колясникова и др., Патент РФ 2646604, Бюл. № 7 (2018).
7. G. Evans, *A Handbook of Bioanalysis and Drug Metabolism*, CRC Press, Boca Raton, London, New York, Washington (2004).
8. K. N. Koliasnikova, P. Yu. Povarnina, A. V. Tallerova, et al., Glyproline Pro-Ampakine with neuroprotective activity. *Neuroprotection — New Approaches and Prospects*, Matilde Otero-Losada, Francisco Capani and Santiago Perez Lloret (eds.), IntechOpen; doi: 10.5772 / intechopen.91192. Available from: https: // www.intechopen.com / chapters / 71098
9. E. J. Perkins, T. Abraham, *Drug Metab. Dispos.*, **35**(10), 1903 – 1909 (2007); doi: 10.1124 / dmd.107.016154

Поступила 27.12.22

EVALUATION OF THE LINEARITY OF NEUROPROTECTOR GZK-111 PHARMACOKINETICS

O. Yu. Kravtsova*, G. B. Kolyvanov, A. A. Litvin, P. O. Bochkov, O. G. Gribakina, D. A. Dvoryaninov, S. S. Boyko, and V. P. Zherdev

Research Zakusov Institute of Pharmacology, Moscow, 125315 Russia

* e-mail: mojaevdim@mail.ru

The hypothesis on the linearity of pharmacokinetics of the new neuroprotector GZK-111 (ethyl ether of *N*-phenylacetylglycyl-L-proline) was tested using concentrations of its major metabolite (*N*-phenylacetylglycyl-L-proline) in the blood plasma of rats after a single intragastric administration at doses of 5, 10 and 20 mg/kg. It was found that the GZK-111 pharmacokinetics by major metabolite in the blood plasma of rats is linear in the studied dose range.

Keywords: neuroprotector; GZK-111; linearity of kinetics; *N*-phenylacetylglycyl-L-proline; HPLC-mass spectrometry.