

А. А. Литвин<sup>1</sup>, Р. В. Шевченко<sup>1</sup>, Г. Б. Колыванов<sup>1</sup>, П. О. Бочков<sup>1</sup>, В. В. Смирнов<sup>2</sup>,  
С. Ю. Раскин<sup>1</sup>, О. Г. Грибакина<sup>1</sup>, В. П. Жердев<sup>1</sup>, Л. Г. Колик<sup>1</sup>, Т. А. Гудашева<sup>1</sup>,  
Н. Ю. Ивашкина<sup>3</sup>

## ОЦЕНКА ПЕРИОДА ПОЛУВЫВЕДЕНИЯ КОРОТКИХ ПЕПТИДНЫХ ПРЕПАРАТОВ У ЧЕЛОВЕКА ПО РЕЗУЛЬТАТАМ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ НА ЖИВОТНЫХ

<sup>1</sup> ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова", Россия, 125315, Москва.

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава РФ, Россия, 119991, Москва.

<sup>3</sup> ЗАО "Малуна-Фарм", Россия, 125315, Москва.

\* e-mail: lgkolik@mail.ru

Представлены результаты межвидового переноса периода полувыведения анксиолитика ГБ-115 и антипсихотика дилепта у крыс и кроликов на человека. Рассчитаны периоды полувыведения исследуемых лекарственных веществ в реальном (хронологическом) и скорректированном (фармакокинетическом) времени. Проведено сопоставление данных на животных с периодами полувыведения, полученными на добровольцах. Установлено, что для ГБ-115 лучшей трансляционной моделью являются кролики, для дилепта однозначных предпочтений не выявлено.

**Ключевые слова:** ГБ-115; дилепт; период полувыведения; межвидовой перенос.

Прогностическая ценность экспериментального изучения фармакокинетики лекарственных средств (ЛС) во многом определяется возможностями межвидовой экстраполяции полученных данных. Для этой цели, помимо физиологических моделей [1], используют аллометрический подход Дедрика [2]. В соответствии с данным подходом фармакокинетические профили ЛС, различающиеся у животных разных видов, могут быть сведены к одному, если для каждого вида используется не хронологическое, а "фармакокинетическое" время, которое определяется скоростными особенностями протекания фармакокинетических процессов у данного вида [3]. Одним из информативных фармакокинетических параметров является период полувыведения препарата из плазмы/сыворотки крови ( $t_{1/2el}$ ). Знание этого параметра обеспечивает надлежащее проведение как клинических исследований новых препаратов, так и практическое применение конкретного препарата в медицине. Еще одним преимуществом использования данной характеристики для межвидовой экстраполяции является то, что этот фармакокинетический параметр не зависит от дозы.

Цель настоящей работы — оценка периода полувыведения коротких пептидных препаратов (ГБ-115 и дилепта) у человека по результатам фармакокинетического исследования на крысах и кроликах с использованием аллометрического подхода.

Исследуемые лекарственные препараты созданы в ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова". Соединение ГБ-115 представляет собой дипептидный аналог тетрапептида холецистокинина — амид N-(6-фенилгексаноил)глицил-L-триптофана, сконструированный как антагонист центральных холецистокининовых рецепторов [4, 5] с выраженной анксиолитической активностью, сохраняющейся при перораль-

ном введении [6]. Дилепт — метиловый эфир N-капроил-L-пролил-L-тирозина. Это модифицированный дипептид, имитирующий структуру атипичного нейрорепептика сульпирида и "голову" бета-поворотной структуры нейротензина ( $NT_{8-13}$ ). Предпосылкой к созданию препарата явились данные о наличии у эндогенного нейропептида — нейротензина — антипсихотической активности [7, 8].

### Экспериментальная часть

Исследования на крысах и кроликах проведены с использованием фармацевтической субстанции дилепта (производства ЗАО "Мастерклон", РФ) и фармацевтической субстанции ГБ-115 (производства ФГБНУ "НИИ фармакологии имени В. В. Закусова").

Исследование проводили на белых беспородных крысах-самцах массой ( $200 \pm 20$ ) г (питомник "Столбовая", Московская область).

Дилепт вводили перорально крысам в дозе 200 мг/кг (в виде суспензии на 1 % крахмальном клейстере). Образцы крови отбирали через дискретные временные интервалы: 0 (контроль), 0,25; 0,5; 0,75; 1; 2; 4 ч.

Субстанцию ГБ-115 вводили в виде водной суспензии с добавлением 1 % твина 80 перорально в дозе 100 мг/кг. Животных декапитировали до введения препарата и через 0,17; 0,25; 0,34; 0,5; 0,75 и 1 ч после введения суспензии. Плазму крови получали центрифугированием образцов крови животных при 2500 об/мин в течение 10 мин и 4 °С.

Поскольку на каждую временную точку использовали по 6 животных, результирующие фармакокинетические кривые представлены в виде средней арифметической и соответствующего ей стандартного отклонения ( $x \pm SD$ ).

Работа выполнена на 12 кроликах-самцах (по 6 животных на препарат) породы шиншилла (питомник “Столбовая”, Московская область) массой  $(2,84 \pm 0,35)$  кг.

В случайном порядке животным с помощью зонда внутрь вводили субстанцию дилепта ( $12,5$  мг/кг) в виде суспензии, приготовленной на 1 % крахмальном клейстере. Взятие образцов крови для последующего определения содержания препарата в плазме крови осуществляли в дискретные интервалы времени: через 0; 0,25; 0,5; 0,75; 1; 2; 4; 6 ч.

Кроликам с помощью зонда внутрь вводили субстанцию ГБ-115 в виде водной суспензии с добавлением 1 % твина 80 в дозе 30 мг/кг.

Взятие образцов крови для последующего определения содержания препарата в плазме крови осуществляли в дискретные интервалы времени: до введения препарата (0,0) и через 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2; 3 и 4 ч после введения суспензии.

Образцы крови объемом 1,5 мл отбирали из краевой ушной вены с помощью игл и переносили в конические полиэтиленовые пробирки, предварительно обработанные раствором  $K_2$ ЭДТА.

Полученные пробы крови центрифугировали в течение 10 мин при 2500 об/мин и  $4^\circ C$ . Отбор плазмы крови проводили в стерильные пластиковые криопробирки. Плазму крови хранили при температуре  $-50^\circ C$ .

Крысы и кролики содержались в стандартных условиях вивария ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” при 12-часовом световом режиме на стандартном сбалансированном брикетированном корме со свободным доступом к корму и воде при естественном освещении и температуре воздуха  $20 - 21^\circ C$ . Все эксперименты с животными проводили в соответствии с международными правилами (Директива 86/609/ЕЕС) и правилами работы с животными, утвержденными этической комиссией ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова”. Содержание животных в виварии соответствовало Приказу МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 г. “Об утверждении правил лабораторной практики”.

Исследование выполнено согласно требованиям “Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств” [9].

Клиническое исследование дилепта I фазы проведено в соответствии с протоколом № 1 “Открытое клиническое исследование I фазы фармакокинетики, безопасности и переносимости препарата Дилепт<sup>®</sup>, таб-

летки 20 мг у здоровых добровольцев при однократном приеме внутрь” (разрешение Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития Российской Федерации на проведение клинического исследования № 639 от 17.01.2012 г.).

В рамках I фазы клинического исследования на 28 здоровых добровольцах изучена фармакокинетика ГБ-115 (таблетки 1 мг) после однократного и многократного приема внутрь (разрешение Минздрава РФ № 600 от 21.10.2015 г.).

Для определения ГБ-115 в плазме крови животных и человека применяли метод ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием (ВЭЖХ-МС-МС). Тип ионизации: электроспрей при атмосферном давлении (+); детектирование: режим множественных молекулярных реакций (MRM); анализируемые переходы:  $m/z$  435,5  $\rightarrow$  159,0. Дилепт и его метаболиты определяли с использованием аналогичной системы. Масс-спектры дилепта были получены с использованием DUIS-режима (одновременное использование АРС/ESI, т.е. химической ионизации при атмосферном давлении и ионизации электрораспылением) и регистрацией как положительных, так и отрицательных ионов; анализируемые переходы:  $m/z$  391,1  $\rightarrow$  70,0 [10]. Нижний предел количественного определения дилепта составил 0,5 нг/мл, ГБ-115 – 1,0 нг/мл.

Межвидовые соотношения для фармакокинетических параметров ЛС формируются на основе концепции биологического подобия, согласно которой у мелких и крупных животных скорости протекания основных физиологических процессов одинаковы, если в качестве параметра “время” использовать не астрономическое (хронологическое), а “биологическое” или “физиологическое” время [11].

Для отображения полученных данных на основе аллометрического подхода использовали метод Дедрика, где хронологическое время отбора проб крови животных пересчитывали в соответствующее “фармакокинетическое” время по уравнению:

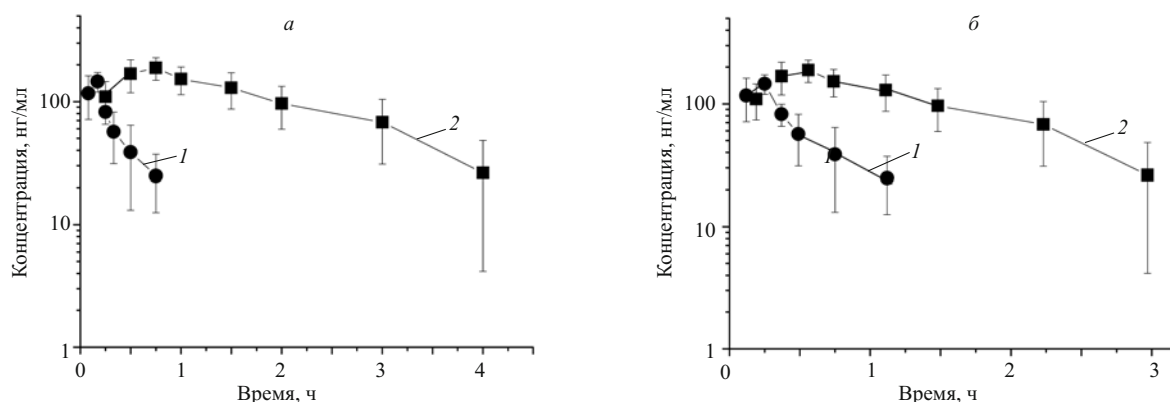
$$t_{pk} = t/m^{0,25},$$

где  $t_{pk}$  — “фармакокинетическое” время;  $m$  — масса тела кролика или крысы, кг;  $t$  — хронологическое время [2].

По профилям изменения концентраций ГБ-115 и дилепта в плазме крови крыс и кроликов в хронологическом времени и координатах Дедрика модельно-не-

**Реальные и скорректированные с учетом поправки Дедрика периоды полувыведения (ч) ГБ-115 и дилепта у животных и добровольцев после однократного перорального введения препаратов**

Группа	ГБ-115		Дилепт	
	$t_{1/2el}$	$t_{1/2elpk}$	$t_{1/2el}$	$t_{1/2elpk}$
Крысы	0,2 ( $n = 6$ )	0,6	0,6	0,7
Кролики	$1,3 \pm 0,3$ ( $n = 6$ )	$0,9 \pm 0,2$	$1,1 \pm 0,4$	$0,8 \pm 0,3$
Человек	$1,0 \pm 0,2$ ( $n = 3$ )	-	$1,9 \pm 2,1$ ( $n = 2$ )	-



**Рис. 1.** Усредненные фармакокинетические профили ГБ-115 в плазме крови крыс (1; доза 100 мг/кг) и кроликов (2; доза 30 мг/кг) после однократного перорального введения  $n = 6$ ;  $x \pm SD$ ): а — в хронологическом времени; б — те же данные в “фармакокинетическом” времени.

зависимым методом рассчитывали периоды полуэлиминации препаратов, выраженные в реальном ( $t_{1/2\text{el}}$ ) и “фармакокинетическом” времени ( $t_{1/2\text{elpk}}$ ).

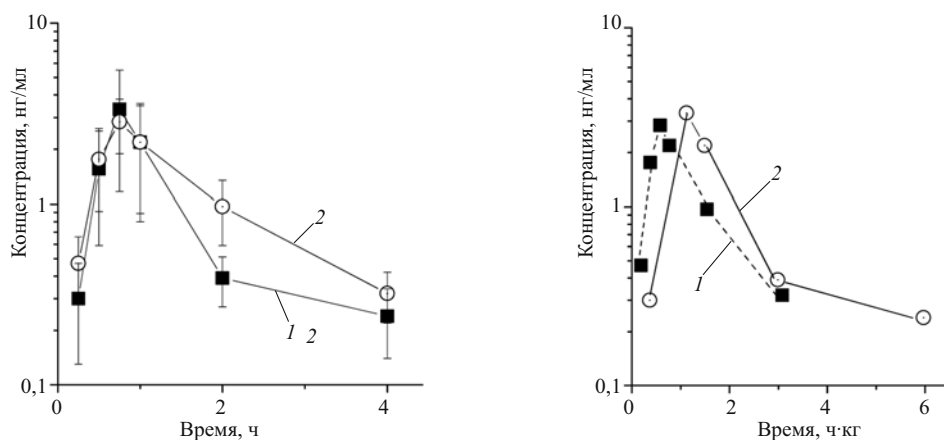
Полученные данные подвергнуты математической статистической обработке. В таблице приведены значения периода полувыведения из плазмы крови дилепта и ГБ-115, представлены средние арифметические значения ( $\bar{x}$ ), соответствующие им стандартные отклонения ( $SD$ ).

### Результаты и их обсуждение

На рис. 1 и 2 представлены усредненные фармакокинетические профили ГБ-115 и дилепта в плазме крови крыс и кроликов после однократного перорального введения исследуемых препаратов. Разработанные методики количественного определения позволили достоверно измерить уровни исследуемых лекарственных веществ в плазме крови животных. На рис. 1, а и 2, а представлены кривые изменения концентраций ГБ-115 и дилепта от времени в реальном — хронологическом времени и на рис. 1, б и 2, б — в “фармакокинетическом” времени, т.е. с поправкой Дедрика.

Из рис. 1, б и 2, б видно, что происходит “сближение” скорректированных фармакокинетических кривых по сравнению с исходными профилями. Такое “сближение” нашло отражение в величинах периода полувыведения исследуемых веществ из плазмы крови животных. Полученные результаты представлены в таблице, из которой видно, что значение  $t_{1/2\text{el}}$  ГБ-115 у крыс, полученное на основании усредненного фармакокинетического профиля, составило 0,2 ч, в то время как после преобразований величина  $t_{1/2\text{elpk}}$  увеличилась до 0,6 ч. Для кроликов отмечена обратная зависимость, т.е. среднее значение  $t_{1/2\text{el}}$ , рассчитанное для реального времени составило  $(1,3 \pm 0,3)$  ч и после коррекции на “фармакокинетическое” время —  $(0,9 \pm 0,2)$  ч. Другими словами, аллометрический подход обеспечивает межвидовое “сближение” определяемого параметра.

Для другого короткого пептидного препарата — дилепта — отмечена аналогичная зависимость. Величина  $t_{1/2\text{el}}$  дилепта у крыс, полученная на основании усредненного фармакокинетического профиля, составила 0,6 ч, в то время как после преобразований величина  $t_{1/2\text{elpk}}$  увеличилась до 0,7 ч. Как и в случае



**Рис. 2.** Усредненные фармакокинетические профили дилепта в плазме крови крыс (1; доза 200 мг/кг) и кроликов (2; доза 15 мг/кг) после однократного перорального введения  $n = 6$ ;  $x \pm SD$ ): а — в хронологическом времени; б — те же данные в “фармакокинетическом” времени.

ГБ-115, для кроликов отмечена обратная зависимость, т.е. среднее значение  $t_{1/2el}$ , рассчитанное для реального времени составило  $(1,1 \pm 0,4)$  ч, а после коррекции на “фармакокинетическое” время —  $(0,8 \pm 0,3)$  ч.

В рамках I фазы клинических исследований на добровольцах была изучена фармакокинетика таблетированных форм дилепта и ГБ-115. На основании индивидуальных фармакокинетических профилей рассчитаны основные фармакокинетические параметры, в частности, периоды полувыведения. Среднее значение  $t_{1/2el}$  дилепта составило  $(1,9 \pm 2,1)$  ч, ГБ-115 —  $(1,0 \pm 0,2)$  ч. Большая величина стандартного отклонения периода полувыведения для дилепта обусловлена тем, что только у 2 добровольцев удалось измерить концентрации лекарственного вещества на всем протяжении исследования (6 ч).  $t_{1/2el}$  дилепта из плазмы крови добровольцев 1 и 2 составил 0,41 и 3,41 ч, соответственно. Очевидно, что при увеличении выборки значение данного параметра может претерпеть существенные изменения.

Период полувыведения ГБ-115 оказался менее варибельным параметром. При выборке  $n = 3$  стандартное отклонение не превышало 0,2 ч.

Таким образом, прогностическая ценность кроликов, как модели оценки периода полувыведения ГБ-115 человека, оказалась более достоверной по сравнению с крысами. В то же время по данным, полученным для дилепта, нельзя сделать однозначного вывода о преимуществе прогностической ценности той или иной модели животных. С другой стороны, применение аллометрического подхода в межвидовой экстраполяции фармакокинетических данных и прогнози-

ровании периода полувыведения лекарственных веществ у человека может стать основой для оптимизации дизайна фармакокинетического исследования препаратов в клинике. Проведенные исследования экспериментальной и клинической фармакокинетики ГБ-115 и дилепта подтвердили актуальность применения аллометрического подхода для межвидовой экстраполяции фармакокинетических параметров при переносе на человека.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. И. Сергиенко, Р. Джеллифф, И. Б. Бондарева, *Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение*, Издательство РАМН, Москва (2003).
2. R. L. Dedrick, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **1**(5), 435 – 461 (1973).
3. А. А. Фирсов, Ю. А., Портной, С. А. Довженко и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **73**(12), 31 – 35 (2010).
4. Т. А. Гудашева, В. П. Лезина, Е. П. Кирьянова и др., *Хим.-фарм. журн.*, **40**(7), 21 – 26 (2006); *Pharm. Chem. J.*, **40**(7), 367 – 372 (2006).
5. Л. Г. Колик, Т. А. Гудашева, С. Б. Середенин, *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **153**(6), 828 – 832 (2012).
6. Л. Г. Колик, М. А. Константинопольский, И. В. Рыбина и др., *Бюл. эксперим. биол. и мед.*, **155**(2), 163 – 166 (2013).
7. Т. А. Гудашева, *Вестник РАМН*, **7**, 8 – 16 (2011).
8. Р. У. Островская, М. В. Ретюнская, Л. С. Гузевых и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **68**(1), 3 – 6 (2005).
9. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Ч. первая, Москва (2013).
10. Р. В. Шевченко, *Дис. канд. мед. наук*, Москва (2016).
11. О. В. Полехина, Н. В. Образцов, В. А. Петрунин, Т. А. Высоцкая, *Хим.-фарм. журн.*, **48**(7), 7 – 15 (2014); *Pharm. Chem. J.*, **48**(7), 421 – 429 (2014).

Поступила 05.10.17

## INTERSPECIES EXTRAPOLATION OF THE HALF-LIFE OF SHORT PEPTIDE DRUGS: FROM ANIMAL TO HUMAN PHARMACOKINETICS

A. A. Litvin<sup>1</sup>, R. V. Shevchenko<sup>1</sup>, G. B. Kolyvanov<sup>1</sup>, P. O. Bochkov<sup>1</sup>, V. V. Smirnov<sup>2</sup>, S. Yu. Raskin<sup>1</sup>, O. G. Grybakina<sup>1</sup>, V. P. Zherdev<sup>1</sup>, L. G. Kolik<sup>1\*</sup>, T. A. Gudashева<sup>1</sup>, and N. Yu. Ivashkina<sup>3</sup>

<sup>1</sup> V.V. Zakusov State Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 125315 Russia

<sup>2</sup> I. M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, 119991 Russia

<sup>3</sup> “Maluna-Pharm” Joint Stock Company, Moscow, 125315 Russia

\* e-mail: lgkolik@mail.ru

Results of the half-life interspecies scaling study of anxiolytic drug GB-115 and antipsychotic agent dilept in rats and rabbits are presented. Half-lives of both drugs on the real (chronological) and corrected (pharmacokinetic) time scale are estimated. Comparison of the data obtained for half-life in animals and volunteers shows that rabbits provide a better translation model for GB-115, while no well-defined preferences are revealed for dilept.

**Keywords:** GB-115; dilept; pharmacokinetics; half-life; interspecies scaling.