

Фармакокинетика димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 у крыс. Часть 1. Однократное и многократное внутрисосудистое и внесосудистое введение. Проверка гипотезы линейности фармакокинетики

© Кравцова О. Ю., Грибакина О. Г., Колыванов Г. Б., Литвин А. А., Бочков П. О., Поварнина П. Ю., Жердев В. П.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Аннотация. Изучена фармакокинетика димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 в плазме крови крыс при разных путях введения в дозе 150 мг/кг одно- и многократно. После однократного внутривенного и внутривнутрибрюшинного введения ГК-2 регистрировался на протяжении 2 ч, его период полувыведения составил 0,4 ч. Абсолютная биодоступность ГК-2 после однократного внутривнутрибрюшинного введения составила 84,62 %, что говорит о перспективе разработки его инъекционной (внутрибрюшинно) лекарственной формы. После 4-кратного (интервал дозирования 1,5 ч) введения внутривнутрибрюшинно дозозависимые фармакокинетические параметры ГК-2 практически не меняются по сравнению с однократным введением. Это указывает на то, что ГК-2 в организме крыс не кумулируется. Проведена проверка гипотезы линейности фармакокинетики ГК-2 в плазме крови крыс после однократного внутривнутрибрюшинного введения в дозах: 50, 100 и 150 мг/кг. Установлено, что кинетика ГК-2 в плазме крови крыс линейна в изучаемом диапазоне доз.

Ключевые слова: фактор роста нервов; димерный дипептидный миметик ГК-2; фармакокинетика; абсолютная биодоступность; линейность кинетики

Для цитирования:

Кравцова О. Ю., Грибакина О. Г., Колыванов Г. Б., Литвин А. А., Бочков П. О., Поварнина П. Ю., Жердев В. П. Фармакокинетика димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 у крыс. Часть 1. Однократное и многократное внутрисосудистое и внесосудистое введение. Проверка гипотезы линейности фармакокинетики. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2023;(3):12–18. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-3-12-18>

Поступила: 06.07.2023. **В доработанном виде:** 13.07.2023. **Принята к печати:** 17.07.2023. **Опубликована:** 30.09.2023.

Pharmacokinetics of dimeric dipeptide mimetic of nerve growth factor GC-2 in rats. Part 1. Single and multiple intravascular and extravascular administration. Testing the hypothesis of linearity of pharmacokinetics

© Oxana Yu. Kravtsova, Oxana G. Gribakina, Gennadiy B. Kolyvanov, Alexander A. Litvin, Pavel O. Bochkov, Polina Yu. Povarnina, Vladimir P. Zherdev
FSBI "Research Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russian Federation

Abstract. The pharmacokinetics of dimeric dipeptide mimetic of nerve growth factor GC-2 in the rat blood plasma after different routes of administration was studied. The drug was administered at dose of 150 mg/kg by single and repeatedly. After single intravenous and intraperitoneal injection, GC-2 was detected for 2 h, its half-life was 0.4 h. GC-2 absolute bioavailability after single intraperitoneal injection was 84.62 %, that indicates the prospect of development its injectable (intramuscularly) dosage form. After 4-fold (1.5 h dosing interval) intraperitoneal injection dose-independent pharmacokinetic parameters of GC-2 practically do not change compared to single administration. This indicates that GC-2 is not accumulated in the body of rats. The hypothesis of the linearity of the pharmacokinetics of GC-2 in the rats blood plasma after single intraperitoneal administration at doses of 50, 100 and 150 mg/kg was tested. It was found that the kinetics of GC-2 in the rat blood plasma is linear.

Keywords: nerve growth factor; dimeric dipeptide mimetic GK-2; preclinical pharmacokinetics; absolute bioavailability; linearity of kinetics

For citations:

Kravtsova OYu, Gribakina OG, Kolyvanov GB, Litvin AA, Bochkov PO, Povarnina PYu, Zherdev VP. Pharmacokinetics of dimeric dipeptide mimetic of nerve growth factor GC-2 in rats. Part 1. Single and multiple intravascular and extravascular administration. Testing the hypothesis of linearity of pharmacokinetics. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2023;(3):12–18. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2023-3-12-18>

Received: 06.07.2023. **Revision received:** 13.07.2023. **Accepted:** 17.07.2023. **Published:** 30.09.2023.

Введение / Introduction

В настоящее время отмечается рост больных с патологиями, сопровождающимися нейродегенеративными процессами. Основным методом лечения ишемических инсультов является реперфузионная терапия, которая однако не всегда может быть своевременно применена, имеет ряд противопоказаний и может приводить к геморрагическим осложнениям [1, 2]. В качестве другого важного вида фармакотерапии используются нейропротекторы, но существующие лекарственные средства (ЛС) недостаточно эффек-

тивны, и их действие в значительной степени зависит от времени начала применения.

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» на основе гипотезы о ключевой роли наиболее экспонированных дипептидных фрагментов β -изгибов петлеобразных структур нейротрофинов создан димерный дипептидный миметик четвертой петли NGF гексаметилендиамид бис-(*N*-моносукцинил-*L*-глутамил-*L*-лизин) с рабочим шифром ГК-2 [3]. В экспериментах *in vitro* на клетках линии НТ-22 Вестерн-блот анализом показано, что ГК-2 активирует специфические для NGF TrkA-рецепторы и его сигнальные пути PI3K/

АКТ и PLC- γ 1 [4, 5]. Выявлено, что дипептид ГК-2 проявляет нейротропную активность на ряде клеточных моделей в интервале концентраций 10^{-5} – 10^{-9} М [5, 6], при этом не проявляя нежелательных побочных эффектов, характерных для NGF, а именно, не вызывает гипералгезии и снижения массы тела [5].

Доклиническое изучение фармакокинетики (ФК) ЛС — необходимый этап в его продвижении в клиническую практику [7]. Важнейшим аспектом ФК анализа является проверка гипотезы линейности, поскольку она позволяет оценить предсказуемость изменений концентрации в ответ на изменение дозы ЛС — линейность предусматривает, что увеличение дозы препарата приводит к пропорциональному увеличению его концентрации в системном кровотоке в каждый период наблюдений [8]. В связи с вышесказанным целью данного исследования стало изучение ФК нового оригинального димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 в плазме крови крыс после его однократного внутри- и внесосудистого введений, многократного внесосудистого введения и проверка гипотезы линейности кинетики при однократном внесосудистом введении в трёх разных дозах.

Материалы и методы / Materials and methods

В работе использовали фармацевтическую субстанцию, синтезированную в лаборатории пептидных биорегуляторов отдела химии лекарственных средств ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»: гексаметилендиамид бис-(*N*-моносукцинил-*L*-глутамил-*L*-лизина), ГК-2 (серия—СН-13-88), молекулярная масса — 830,9 а. е. м. [9]. Субстанция представляет собой гомогенный порошок почти белого цвета, без запаха. Она легко растворима в воде, практически не растворима в этаноле, хлороформе и гексане.

Исследование ФК ГК-2 проводили на половозрелых белых беспородных крысах-самцах с массой тела 180–220 г. Животные содержались в лабораторном виварии при 20–22 °С, 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 надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств».

ФК ГК-2 изучали в плазме крови крыс после введения в дозе 150 мг/кг в виде водного раствора однократно (внутрибрюшинно (в/б) и внутривенно (в/в)) и многократно (4 раза с интервалом дозирования — 1,5 ч) в/б.

Оценку линейности ФК ГК-2 осуществляли после однократного в/б введения в виде водного раствора в дозах — 50, 100 и 150 мг/кг.

Содержание ГК-2 определяли в плазме крови через 0 (контроль), 5, 10, 20 и 30 мин и 1,0; 1,5; 2,0 ч после однократного введения. На каждый времен-

ной интервал использовали по 5 животных. После многократного введения количество ГК-2 оценивали в плазме крови через 0 (контроль), 30 мин, 1,0 и 1,5 ч после последнего введения (на временной интервал — 3 крысы). Образцы крови животных отбирали декапитацией в пробирки с антикоагулянтом (5 % K_2 ЭДТА) с последующим центрифугированием при 13500 об/мин в течение 15 мин для отделения плазмы. Пробы плазмы крови замораживали при –40 °С и хранили без добавления консервантов до анализа. 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».

Для количественного определения ГК-2 в плазме крови животных использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию с масс-спектрометрическим детектированием (нижний предел количественного определения применяемой валидированной методики составил 5 нг/мл биоматериала) [10].

Основные ФК параметры ГК-2 рассчитаны модельно-независимым методом [11]:

- AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ — площадь под фармакокинетической кривой (площадь под кривой концентрация соединения — время) рассчитанная от момента введения и до последнего временного интервала отбора проб (t) или до бесконечности (∞), соответственно;
- C_0 — кажущаяся концентрация вещества в плазме крови после в/в введения в нулевой момент времени;
- C_{max} — максимальная концентрация вещества в плазме крови после в/б введения;
- T_{max} — время достижения C_{max} исследуемого соединения в плазме крови после в/б введения;
- MRT — среднее время удерживания исследуемого соединения ЛС в организме;
- k_{el} — константа скорости элиминации;
- $t_{1/2el}$ — период, за который выводится половина введённой и всосавшейся дозы анализируемого вещества;
- Cl — клиренс после в/в введения;
- Cl/F — клиренс после в/б введения;
- V_d — кажущийся объём распределения после в/в введения;
- Vd/F — кажущийся объём распределения после в/б введения.

Величину абсолютной биодоступности ($f_{абс.}$) определяли по следующей формуле [7]:

$$f_{абс.} = \frac{AUC_{0-\infty(в/б)}}{AUC_{0-\infty(в/в)}} \times 100,$$

где $AUC_{0-\infty(v/b)}$ — AUC в плазме крови после в/б введения;

$AUC_{0-\infty(v/v)}$ — AUC в плазме крови после в/в введения.

Поскольку на каждую временную точку использовали по 5 или 3 крысы, результирующие ФК кривые были построены по усредненным концентрациям и поэтому при расчетах ФК параметров отсутствует статистическая обработка результатов.

Результаты и их обсуждение / Results and discussion

Фармакокинетика ГК-2 в плазме крови крыс после его однократного внутри- и внесосудистого введения

Усредненные ФК кривые ГК-2 в плазме крови крыс после в/в и в/б введений в дозе 150 мг/кг представлены на рис. 1, соответствующие фармакокинетические параметры — в табл. 1. Установлено, что после и внутри-, и внесосудистого введения целевое соединение определяется в плазме крови животных на протяжении 2 ч. Максимальная концентрация (C_{max} — 8,27 мкг/мл) ГК-2 после в/б введения регистрировалась через 0,08 ч (T_{max}), а C_0 после в/в введения составила 16,19 мкг/мл. Снижение концентраций ГК-2 в плазме крови после обоих введений носит моноэкспоненциальный характер. Период полуэлиминации ГК-2 ($t_{1/2el}$) при в/в и в/б введениях составил 0,41 ч и 0,39 ч, соответственно, а величины MRT — 0,64 и 0,54 ч, соответственно. Величины этих параметров характеризуют исследуемое соединение, как «короткоживущее» в кровяном русле ЛС.

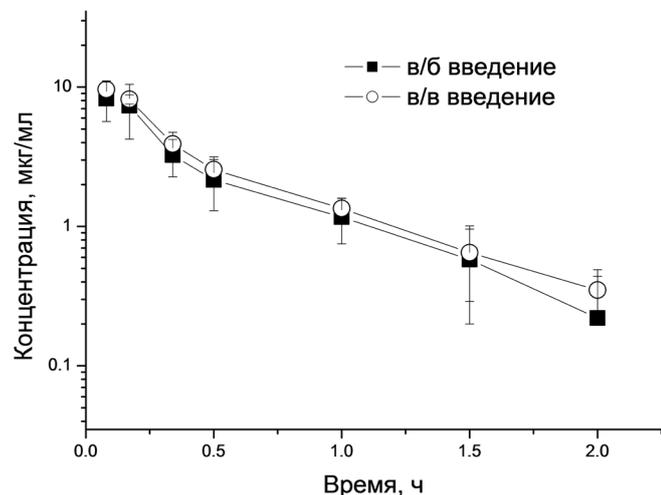


Рис. 1. Фармакокинетические профили ГК-2 в плазме крови крыс после однократного внутрибрюшинного и внутривенного введений в дозе 150 мг/кг, полулогарифмическая система координат ($n = 5$; среднее \pm стандартное отклонение)

Fig. 1. Pharmacokinetic profiles of GC-2 in rat blood plasma after a single intraperitoneal and intravenous administration at a dose of 150 mg/kg, semi-logarithmic coordinate system ($n = 5$; mean \pm SD)

Таблица 1

Фармакокинетические параметры ГК-2 в плазме крови крыс после однократного в/в и в/б введений в дозе 150 мг/кг

Table 1

Pharmacokinetic parameters of GC-2 in rat blood plasma after a single intravenous and intravenous administration at a dose of 150 mg/kg

Параметры	Способ введения	
	в/в	в/б
C_0, C_{max} (МКГ/МЛ)	16,19	8,27
T_{max} (ч)	—	0,08
AUC_{0-t} (МКГ/МЛ×Ч)	4,08	3,51
$AUC_{0-\infty}$ (МКГ/МЛ×Ч)	4,29	3,63
$t_{1/2el}$ (ч)	0,41	0,39
k_{el} (ч ⁻¹)	1,68	1,79
MRT (ч)	0,64	0,54
$V_d, V_d/F$ (Л/КГ)	21,75	24,05
Cl, Cl/F (Л/Ч/КГ)	36,76	42,74
$f_{abs.}$ (%)	—	84,62

Величина кажущегося объема распределения (V_d/F) ГК-2 после в/б введения составила 24,05 л/кг. Кажущийся объем распределения обычно не эквивалентен анатомическому объему, а отражает распределение препарата и степень его связывания в организме. Так, если препарат связывается преимущественно белками крови, V_d будет меньше, чем реальный. С другой стороны, преимущественное связывание препарата во внесосудистом пространстве приводит к превышению значения V_d над реальным объемом. Учитывая, что величина V_d/F ГК-2 превышает анатомический объем крови крысы можно утверждать, что исследуемое ЛС распределяется во внесосудистом пространстве (плазма крови, ткани) животных, но не накапливается в тканях. Величина кажущегося объема распределения (V_d) для в/в введения была меньше значения полученного после в/б введения на 10 % и составила 21,75 л/кг, что говорит о том, что в/б введение обеспечивает более интенсивное распределение исследуемого вещества в органах и тканях крыс [11].

Абсолютная биодоступность соединения ГК-2 после в/б введения в сравнении с в/в введением составила 84,62 %, что говорит о потенциальной возможности разработки его лекарственной формы для внутримышечного применения.

Фармакокинетика ГК-2 в плазме крови крыс после многократного внесосудистого введения

Изучение ФК ГК-2 в плазме крови крыс проводилось также после его 4-кратного в/б введения в дозе 150 мг/кг. Интервал дозирования исследуемого вещества определяли, исходя из величины $t_{1/2el}$ ГК-2 после однократного в/в введения, т. е. 0,41 ч. Другими словами, через 2 ч после введения уровень препарата

в плазме крови составит немногим более 3,1 % от максимальной концентрации. Поэтому для обеспечения достаточно высоких концентраций ГК-2 в плазме крови и для удобства дозирования препарат вводили через каждые 1,5 ч.

Была построена усреднённая ФК кривая ГК-2 в плазме крови крыс после последнего из 4-х введений с интервалом дозирования 1,5 ч, рассчитаны соответствующие ФК параметры (табл. 2).

Таблица 2

Фармакокинетические параметры ГК-2 в плазме крови крыс после его 4-кратного (интервал дозирования 1,5 ч) в/б введения в дозе 150 мг/кг

Table 2

Pharmacokinetic parameters of GC-2 in rat blood plasma after its 4-fold (1.5 h dosing interval) intravenous administration at a dose of 150 mg/kg

Параметр	Значение
C_{\max} (мкг/мл)	6,70
T_{\max} (ч)	0,50
AUC_{0-t} (мкг/мл×ч)	18,25
$t_{1/2el}$ (ч)	0,34
k_{el} (ч ⁻¹)	2,05
Cl/F (л/ч/кг)	32,19
V_d/F (л/кг)	15,79

На основании значений ФК параметров, приведённых в табл. 2, была смоделирована (программа PK-Calc) усреднённая ФК кривая ГК-2 в плазме крови крыс при многократном введении (рис. 2).

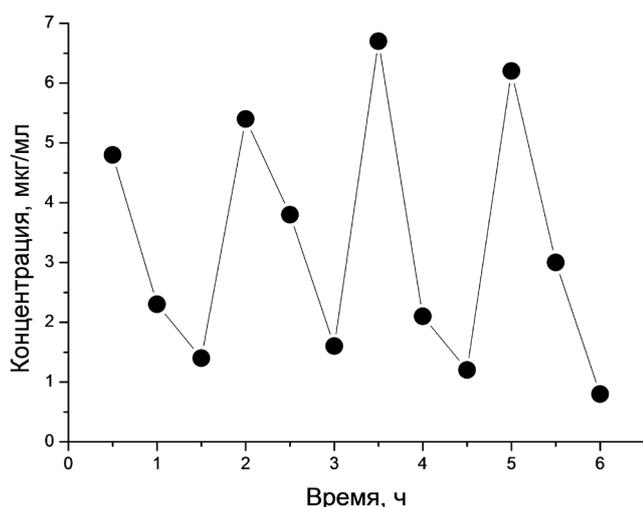


Рис. 2. Усреднённая фармакокинетическая кривая ГК-2 в плазме крови крыс после 4-кратного введения внутривенно в дозе 150 мг/кг (симуляция)

Fig. 2. Averaged pharmacokinetic curve of GC-2 in rat blood plasma after 4-fold intraperitoneal administration at a dose of 150 mg/kg (simulation)

Из табл. 2 следует, что по сравнению с однократным, после 4-кратного введения ГК-2 в дозе 150 мг/кг дозозависимые ФК параметры исследуемого соединения практически не изменились (см. табл. 1). Так, период полувыведения ГК-2 уменьшился с 0,41 до 0,34 ч, т. е. на 5 мин, а кажущийся объём распределения — с 21,75 до 15,79 л/кг. При этом общий плазменный клиренс изучаемого соединения уменьшился с 36,76 до 32,19 л/ч/кг. Полученные результаты указывают на то, что ГК-2, по-видимому, не кумулируется в организме крыс.

Проверка гипотезы линейности фармакокинетики ГК-2

Для оценки линейности ФК ГК-2 субстанцию препарата вводили крысам в/б однократно в дозах 50, 100 и 150 мг/кг.

ФК параметры ГК-2, рассчитанные по усреднённым ФК кривым в плазме крови крыс после однократного в/б введения в 3 разных дозах, представлены в табл. 3.

Таблица 3

Фармакокинетические параметры ГК-2 в плазме крови крыс после его однократного в/б введения в дозах 50, 100 и 150 мг/кг

Table 3

Pharmacokinetic parameters of GC-2 in rat blood plasma after its single intravenous administration at doses of 50, 100 and 150 mg / kg

Параметр	Доза (мг/кг)		
	50	100	150
C_{\max} (мкг/мл)	3,09	6,21	8,27
T_{\max} (ч)	0,08	0,08	0,08
AUC_{0-t} (мкг/мл×ч)	1,58	3,15	3,83
$AUC_{0-\infty}$ (мкг/мл×ч)	1,63	3,29	3,96
k_{el} (ч ⁻¹)	1,73	1,61	1,79
$t_{1/2el}$ (ч)	0,40	0,43	0,39
MRT (ч)	0,65	0,68	0,56

Статистический анализ ФК данных может обойти неопределённость, связанную с дозозависимостью, в ситуации, когда исследуемое вещество находится в системном кровотоке. Действительно, при повышении дозы препарата его кинетика может стать нелинейной (непропорциональное увеличение рассматриваемого параметра в зависимости от дозы). Общий метод оценки пропорциональности доз — нормирование значений AUC (или C_{\max}) к дозе и оценка постоянства отношений между исследуемыми дозами [11, 12]. В некоторых случаях нелинейность может быть неочевидна вследствие вариабельности измеряемого показателя. Решить эту проблему может нелинейная степенная модель.

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

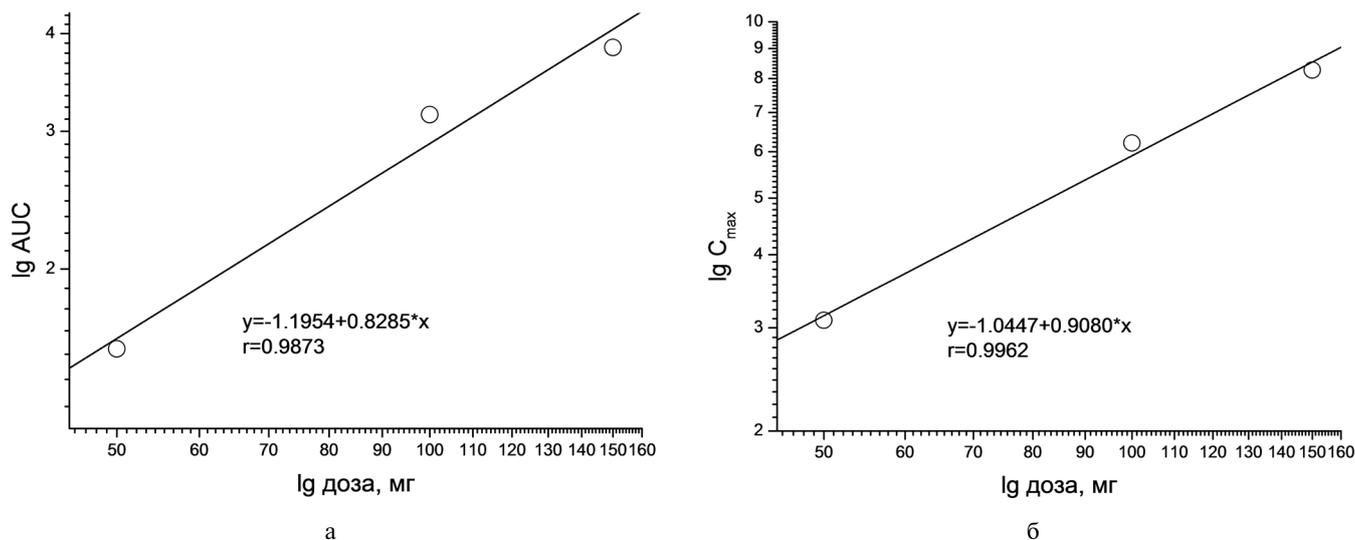


Рис. 3. Оценка линейности фармакокинетики ГК-2 в плазме крови крыс по изменению значения $AUC_{0 \rightarrow t}$, мкг/мл \times ч (а) и C_{max} , мкг/мл (б) в зависимости от дозы
Fig. 3. Evaluation of the linearity of the pharmacokinetics of GK-2 in rat blood plasma by changing the $AUC_{0 \rightarrow t}$, mkg/ml \times h (a) and C_{max} , mkg/ml (b) depending on the dose

$$AUC = a \times \text{доза}^b,$$

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

$$\lg AUC = \lg a + \lg \text{доза} \times b$$

При $b = 1$ зависимость является пропорциональной, другими словами, линейной. Следовательно, данный тип модели может количественно оценить отклонение от линейности кинетики.

На рис. 3 представлены графические зависимости десятичных логарифмов $AUC_{0 \rightarrow t}$ (а) и C_{max} (б) ГК-2 в плазме крови крыс от десятичного логарифма введённой дозы ЛС.

Из рис. 3 видно, что показатель b , характеризующий наклон кривых, достоверно приближается к 1. Для AUC показатель составил 0,83 и для C_{max} — 0,91. Таким образом, можно сделать вывод, что кинетика ГК-2 в плазме крови крыс в диапазоне доз 50–150 мг/кг линейна.

Заключение / Conclusion

В результате проведённого доклинического исследования ФК димерного дипептидного миметика фактора роста нервов ГК-2 выявлено:

- 1) после однократных в/в и в/б введений в дозе 150 мг/кг ГК-2 определяется в плазме крови крыс на протяжении 2 ч, его период полувыведения составляет около 0,41 ч после обоих путей введения, что характеризует ЛС как «короткоживущее» в кровяном русле;
- 2) абсолютная биодоступность ГК-2 после в/б введения в сравнении с в/в введением составляет 84,62 %, что говорит о потенциальной возможности разработки его лекарственной формы для внутримышечного применения;
- 3) после 4-кратного (интервал дозирования 1,5 ч) в/б введения в дозе 150 мг/кг ГК-2 в организме крыс не кумулируется;
- 4) ФК ГК-2 в плазме крови крыс после однократного в/б введения линейна в диапазоне доз 50–150 мг/кг.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Кравцова Оксана Юрьевна

e-mail: oukravtsova@yahoo.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0693-2007>

SPIN-код: 1733-2330

к. б. н., с. н. с. лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Oxana Yu. Kravtsova

e-mail: oukravtsova@yahoo.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0693-2007>

SPIN code: 1733-2330

PhD, Cand. Sci. (Biology), senior research scientist of the laboratory of pharmacokinetics FSBI “Zakusov Institute of Pharmacology”, Moscow, Russian Federation

Грибакина Оксана Геннадьевна

e-mail: pron-ox@yandex.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4604-4346>
 SPIN-код: 6266-8161
 к. б. н., н. с. лаборатории фармакокинетики
 ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Заку-
 сова», Москва, Российская Федерация

Oxana G. Gribakina

e-mail: pron-ox@yandex.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-4604-4346>
 SPIN code: 6266-8161
 PhD, Cand. Sci. (Biology), research scientist of the
 laboratory of pharmacokinetics FSBI “Zakusov In-
 stitute of Pharmacology”, Moscow, Russian Federa-
 tion

Кольванов Геннадий Борисович

e-mail: 7822535@mail.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2571-0047>
 SPIN-код: 2538-8639
 д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики
 ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Заку-
 сова», Москва, Российская Федерация

Gennadiy B. Kolyvanov

e-mail: 7822535@mail.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2571-0047>
 SPIN code: 2538-8639
 Dr. Sci. in Biology, leading researcher of the labora-
 tory of pharmacokinetics FSBI “Zakusov Institute
 of Pharmacology”, Moscow, Russian Federation

Литвин Александр Алексеевич

Автор, ответственный за переписку
 e-mail: litbiopharm@yandex.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2818-3457>
 SPIN-код: 6193-5770
 д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики
 ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусо-
 ва», Москва, Российская Федерация

Alexander A. Litvin

Corresponding author
 e-mail: litbiopharm@yandex.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2818-3457>
 SPIN code: 6193-5770
 Dr. Sci. in Biology, Leading researcher of the
 laboratory of pharmacokinetics FSBI “Zakusov
 Institute of Pharmacology”, Moscow, Russian
 Federation

Бочков Павел Олегович

e-mail: bok-of@yandex.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8555-5969>
 SPIN-код: 5576-8174
 к. б. н., с. н. с. лаборатории фармакокинетики
 ФГБНУ «НИИ фармакологии имени
 В.В. Закусова», Москва, Российская Федерации

Pavel O. Bochkov

e-mail: bok-of@yandex.ru
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8555-5969>
 SPIN code: 5576-8174
 PhD, Cand. Sci. (Biology), Senior Research Officer
 of laboratory pharmacokinetics FSBI “Zakusov
 Insti-tute of Pharmacology”, Moscow, Russian
 Federation

Поварнина Полина Юрьевна

e-mail: povarnina@gmail.com
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3278-8915>
 SPIN-код: 5498-6724
 к. б. н., с. н. с. лаборатории пептидных
 биорегуляторов отдела химии лекарственных
 средств ФГБНУ «НИИ фармакологии имени
 В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Polina Yu. Povarnina

e-mail: povarnina@gmail.com
 ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3278-8915>
 SPIN code: 5498-6724
 PhD, Cand. Sci. (Biology), senior researcher of the
 Laboratory of peptide bioregulators of the Depart-
 ment of Chemistry of Medicines, FSBI “Zakusov
 Institute of Pharmacology”, Moscow, Russian
 Federation

Жердев Владимир Павлович

e-mail: zherdevpharm@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2710-7134>

SPIN-код: 2213-9592

д. м. н., профессор, заведующий лабораторией фармакокинетики ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва, Российская Федерация

Vladimir P. Zherdev

e-mail: zherdevpharm@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2710-7134>

SPIN code: 2213-9592

Dr. Sci. (Med.), professor, Head of laboratory pharmaco-cokinetics FSBI “Zakusov Institute of Pharmacology”, Moscow, Russian Federation

Список литературы / References

1. Пирадов М.А., Максимова М.Ю., Танашиан М.М. Инсульт Пошаговая инструкция. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2019. 288 с. [Piradov MA, Maximova MYu, Tanashyan MM. Insult. Poshagovaya instruktsiya. Moscow: GEOTAR-Media; 2020. (In Russ.)].

2. Liaw N, Liebeskind D. Emerging therapies in acute ischemic stroke. *F1000Res*. 2020 Jun 5;9:F1000 Faculty Rev-546. DOI: 10.12688/f1000research.21100.1.

3. Середенин С.Б., Гудашева Т.А. Патент РФ — RU2410392C2, 2011. [Seredenin SB, Gudasheva TA. Patent RF — RU2410392C2, 2011. (In Russ.)]. <https://patentimages.storage.googleapis.com/75/fa/e7/322e854039eb0f/RU2410392C2.pdf>

4. Гудашева Т.А., Логвинов И.О., Николаев С.В. и др. Дипептидные миметики отдельных петель NGF и BDNF активируют PLC-γ1. *Доклады Российской академии наук. Науки о жизни*. 2020;494(1):486-490. [Gudasheva TA, Logvinov IO, Nikolaev SV, et al. Dipeptide mimetics of different NGF and BDNF loops activate PLC-γ1. *Doklady Rossiyskoy Akademii nauk. Yauki o zhizni*. 2020;494(1):486-490. (In Russ.)]. DOI: 10.31857/s2686738920050133.

5. Gudasheva TA, Povarnina PY, Antipova TA, et al. Dimeric dipeptide mimetics of the nerve growth factor Loop 4 and Loop 1 activate TRKA with different patterns of intracellular signal transduction. *J Biomed Sci*. 2015 Dec 8;22:106. DOI: 10.1186/s12929-015-0198-z.

6. Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Исследование *in vitro* нейропротективных свойств нового оригинального миметика фактора роста нервов ГК-2. *Бюлл. экп. биол. Мед*. 2010;150(11):537-540. [Antipova TA, Gudasheva TA, Seredenin SB. *In vitro* study of neuroprotective properties of a new original nerve growth factor mimetic GC-2. *Bull. exp. biol. Med*. 2010;150(11):537-540 (In Russ.)].

7. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К; 2012. С. 865-880 [Guidelines for conducting preclinical studies of drugs. Part one. Moscow: Grif and K; 2012;865-880. (In Russ.)].

8. Мирошниченко И.И. Основы фармакокинетики. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2002. 282 с. [Miroshnichenko II. *Osnovy pharmacokinetiki*. Moscow: GEOTAR-Media; 2002. (In Russ.)].

9. Антипова Т.А., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Новые низкомолекулярные миметики фактора роста нервов. *Доклады Академии Наук*. 2010;434(4):549-552. [Antipova TA, Gudasheva TA, Seredenin SB. Novel low-molecular-weight mimetics of the nerve growth factor. *Doklady Biochemistry and Biophysics*. 2010;434(4):549-552. (In Russ.)]. DOI: 10.1134/S160767291005011X.

10. Литвин А.А., Колыванов Г.Б., Блынская Е.В. и др. Количественное определение гексаметилендиаминдиамид бис-(N-моно-сукцинил-L-глутамил-L-лизина) в плазме крови с использованием ВЭЖХ-МС. *Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия*. 2019;60(3):194-197. [Litvin AA, Kolyvanov GK, Blynskaya EV, et al. Quantification of hexamethylenediaminediamide bis-(N-monosuccinyl-L-glutamyl-L-lysine) in the blood plasma by HPLC-MS. *Vestnik Moscovskogo Universiteta. Seria 2. Khimia*. 2019;60(3):194-197. (In Russ.)].

11. Сергиенко В.И., Джеллифф Р., Бондарева И.Б. Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение. М.: Издательство РАМН; 2003. 302 с. [Sergienko VI, Gelliff R, Bondareva IB. *Prikladnaya Pharmacokinetika*. Moscow: Izdatelstvo RAMN; 2003. (In Russ.)].

12. Evans G. A Handbook of Bioanalysis and Drug Metabolism. CRC Press. 2004. 425 p.