

А.О. Руденко¹, Т.Э. Елтышева¹, М.М. Дьяконов²

Влияние аминокислотного спектра пептидных органопрепаратов на эффективность фармакотерапии

¹Закрытое акционерное общество «Фарм-Холдинг», Санкт-Петербург²Группа компаний «ГЕРОФАРМ», Санкт-Петербург

Резюме. С использованием современной аналитической аппаратуры, обоснованных и разработанных методических подходов и расчётов изучен аминокислотный состав отечественных пептидных препаратов кортексина, ретиналамина, пинеамина. В указанных препаратах впервые установлены точные величины каждой из 17 аминокислот, а также тот факт, что в кортексине имеется дополнительная непротеиногенная аминокислота орнитин, в ретиналамине – таурин, в пинеамине – орнитин и таурин, а в церебролизине отсутствует свободная аминокислота цистин. Определено, что 65% аминокислот кортексина составляют L-глутаминовая и L-аспарагиновая кислоты, которые вместе с орнитином определяют биоэнергетическую направленность препарата. В кортексине по сравнению с церебролизинем в расчёте на 1 мг органопрепарата абсолютное количество каждой аминокислоты достоверно больше, в частности аспарагиновой, глутаминовой кислот и тирозина в 6,5–7 раз, серина – в 9 раз, аргинина – в 12 раз. Установлена стабильность спектра аминокислот каждого отечественного пептидного препарата, не изменяющаяся от серии и сроков изготовления. Для адекватной трактовки результатов и оценки фармакокинетики кортексина в качестве препарата сравнения выбран церебролизин. Выбор церебролизина в качестве препарата сравнения с кортексином объясняется тем, что другого близкого по показаниям и структуре препарата просто нет, хотя по степени готовности церебролизин – это гидролизат, то есть конечный продукт технологического процесса, являющегося важным этапом его изготовления. В то же время пептидные препараты отечественного производства – кортексин, ретиналамин и пинеамин, имеющие двухкомпонентный состав – оригинальную пептидную субстанцию и стабилизатор (аминокислота глицин), реально переносят процесс гидролиза на метаболизм пациента. Многолетний опыт применения кортексина не выявил изменения обмена веществ при его внутримышечном введении, что объясняется минимальным количеством препарата (10 мг), постоянным наличием и доступностью аминопептидазы, кратковременностью действия препарата.

Ключевые слова: пептидные препараты, аминокислотный спектр, кортексин, ретиналамин, пинеамин, церебролизин, фармакокинетика, нейропротекция, ультраэффективная жидкостная хроматография.

Введение. В клинической практике специалистов отечественного здравоохранения и Содружества Независимых Государств в последние 20 лет при терапии актуальной неврологической, офтальмологической, педиатрической, нейрохирургической и других видов патологии стали активно применяться отечественные лекарственные препараты пептидной структуры – кортексин, ретиналамин и пинеамин (последние 2 года). Эти препараты в конце прошлого столетия были разработаны специалистами Военно-медицинской академии им. С.М. Кирова, а внедрены в практику здравоохранения исследователями и сотрудниками группы компаний «ГЕРОФАРМ» (Санкт-Петербург).

Большой положительный опыт применения пептидных препаратов [8, 12] подтвердил свойства, характерные для этой группы лекарств:

- адресность и органотропность;
- высокая эффективность при минимальных дозировках и курсах;
- совместимость со всеми видами препаратов и терапии;
- оптимальная фармакокинетика;
- отсутствие побочных эффектов в процессе лечения.

Создатели пептидных препаратов установили и другие характеристики. Так, на примере кортексина было найдено, что его пептиды состоят из 15 и более L-аминокислот, имеют более 15 различных микро- и макроэлементов, витаминную группу (тиамин, рибофлавин, ниацин, α-токоферол и ретинил) [14].

Понятно, что состав лекарственного препарата определяет его фармакокинетику и терапевтический эффект. Этот постулат подтверждается и «Инструкцией по применению...», где, например, сказано «Сложный состав церебролизина, активные фракции которого состоят из сбалансированной и стабильной смеси биологически активных олигопептидов, обладающих суммарным полифункциональным действием, не позволяет провести обычный фармакокинетический анализ отдельных компонентов» [9].

С учётом вышеизложенного и того факта, что аминокислоты определяют большинство терапевтических характеристик пептидных препаратов, возникла необходимость точного, адресного изучения аминокислотного состава кортексина, ретиналамина и пинеамина. Были взяты несколько серий препаратов, выпущенных в период 2012–2014 гг. При этом для более адекватной оценки результатов исследования

кортексина препаратом сравнения выбран известный многие десятилетия препарат пептидной структуры церебролизин фирмы «ЭВЕР Нейро Фарма ГмБХ» (Австрия).

Цель исследования. Разработать методику анализа свободных и связанных аминокислот в белках и пептидах, определить их качественный и количественный состав в современных известных органолепептатах, используемых в лечении пациентов.

Материалы и методы. Первым этапом работы явилась необходимость разработки отдельных методик анализа для определения свободных и связанных аминокислот в форме белков и пептидов. «Связанные аминокислоты» – это общее количество свободных аминокислот и аминокислот, определяемых после гидролиза пептидных связей в белках и пептидах.

Методика исследования состояла из двух этапов: оптимизация условий подготовки проб к анализу и поиск условий хроматографического разделения, что требовало максимальной унификации разрабатываемых методик с целью упрощения проведения анализа. Максимальной унификации удалось достичь в сфере хроматографического разделения. Так, в случае определения свободных и связанных аминокислот условия хроматографического анализа были абсолютно идентичны и предполагали разделение в режиме обращенно-фазовой ультраэффективной жидкостной хроматографии (ОФ УЭЖХ) как одного из самых современных вариантов хроматографического процесса.

Особенности методики определения свободных и связанных аминокислот отличались лишь условиями подготовки проб. Для свободных аминокислот подготовка проб заключалась в приготовлении раствора органолепептата в 0,1 М соляной кислоте с концентрацией около 4 мг/мл и в последующем проведении предколонной дериватизации аминокислот. В случае определения связанных аминокислот пробоподготовка включала в себя стадию кислотного гидролиза белков и пептидов, входящих в состав органолепептата. После гидролиза пробы нейтрализовывали и осуществляли предколонную дериватизацию.

Исключение составляли анализы (пробы) связанного триптофана, так как при кислотном гидролизе происходит почти полное разрушение триптофана, поэтому для его определения проводится щелочной гидролиз насыщенным раствором гидроксида бария [13]. Определяя триптофан, не требуется проводить предколонной дериватизации, поскольку в состав молекулы входит хромофорная ароматическая функциональная группа. Количественный анализ триптофана проводился по оригинальной разработанной методике.

Хроматографическая часть методик анализа и условия предколонной дериватизации разработаны и проведены на основании материалов приложения «UPLC Amino Acid Analysis Solution (System Guide – 71500129702/Revision B, Waters)». Все анализы выпол-

нены с использованием жидкостного хроматографа «Waters Acquity UPLC», оборудованного спектрофотометрическим диодно-матричным детектором (свидетельство о проверке № 242/4441-2015 от 01.07.2015 г.), и хроматографической колонки AccQ•Tag Ultra Colum, 2,1×100 мм, диаметр сорбента 1,7 мкм фирмы «Waters» (Соединенные Штаты Америки).

Применялись все известные материалы и реактивы, а для сравнения – стандартный образец: раствор стандартного образца аминокислот фирмы «Waters» (part # WAT088122) и триптофана (Sigma-Aldrich, кат. №. T0254).

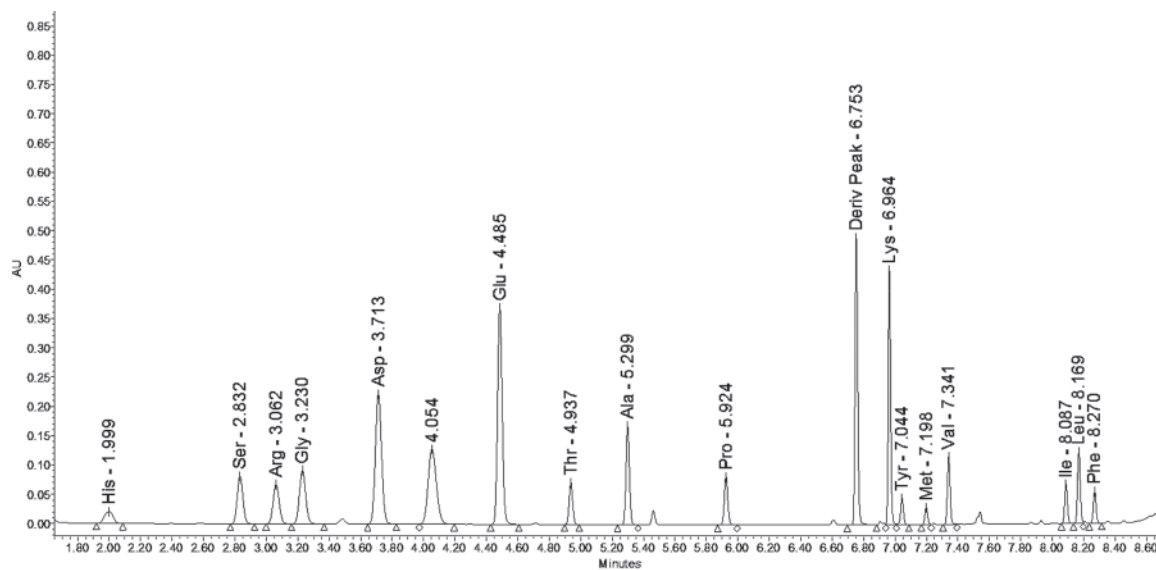
Исследование предусматривало приготовление подвижных фаз и растворов, подготовку проб и градуировочных растворов для анализа. Приготовленные испытуемые растворы конкретных органолепептатов и градуировочные растворы подвергались хроматографическому анализу в специальных оптимизированных условиях.

Внутрилабораторную валидацию методов определения содержания свободных и связанных аминокислот в органолепептатах проводили согласно рекомендациям ICH Validation Of Analytical Procedures: Text And Methodology Q2 (R1) (Complementary Guideline on Methodology dated 6 November 1996, incorporated in November 2005) по наиболее критическим с точки зрения аналитического контроля показателям «Специфичность», «Линейность» и «Правильность». В качестве модельной системы, с использованием которой выполнена валидация, выбран образец кортексина, лиофилизат (серия 11112).

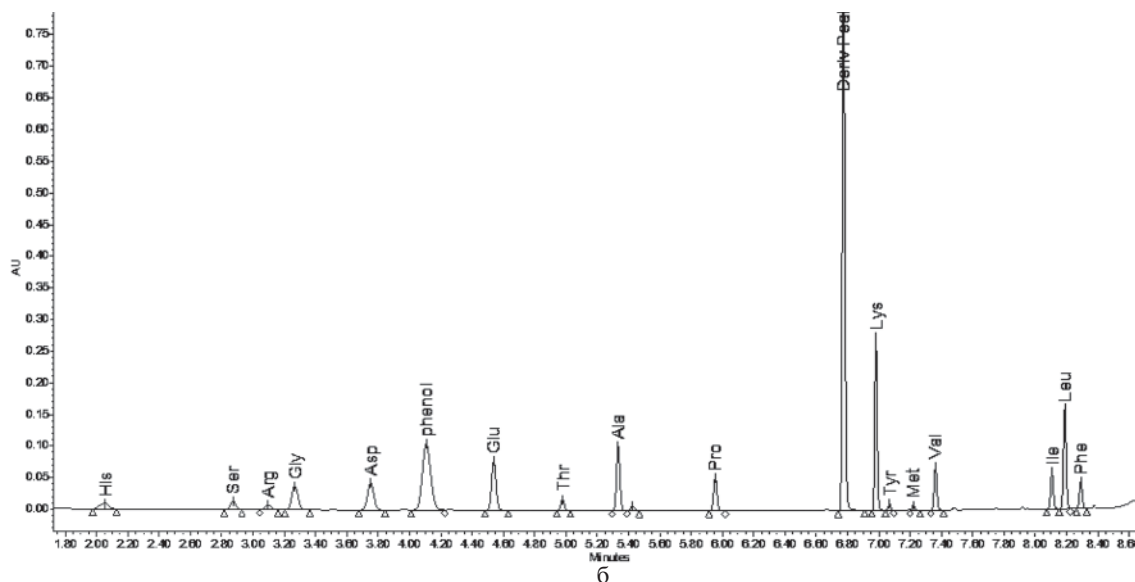
Для доказательства специфичности методик количественного определения свободных и связанных (кроме триптофана) аминокислот необходимо было, чтобы на хроматограммах бланк-раствора отсутствовали хроматографические пики в области выхода пиков дериватов аминокислот, на хроматограмме испытуемого раствора обнаруживались пики, соответствующие по времени удерживания пикам соответствующих дериватов аминокислот на хроматограмме стандартного раствора, а также требование, чтобы относительное стандартное отклонение (RSD, %), рассчитанное по времени удерживания пиков дериватов аминокислот, для всех измерений не превышало 2% (рисунок).

Обязательным шагом являлась оценка показателя линейности методики количественного определения свободных и связанных аминокислот, что доказывает наличие линейной зависимости площадей хроматографических пиков дериватов аминокислот от их концентрации в градуировочных растворах. С учетом уравнения линейной регрессии для каждой аминокислоты и коэффициента корреляции от 0,99953 до 0,99990 диапазон линейности для каждой аминокислоты не превышал в среднем 0,05 мкг/мл.

При оценке правильности методик определения аминокислот была подтверждена близость (сходимость) получаемых результатов определения концентрации аминокислот к истинному значению. Для этого



а



б

Рис. Хроматограммы исследованного раствора кортексина лиофилизата, серия 11112 (а) при определении связанных аминокислот и раствора церебролизина для инъекций, серия РВ4468 (б)

хроматографическому анализу подвергали образец кортексина, лиофилизат (серия 11112) с известной добавкой аминокислоты глицин и тот же самый образец, но уже без добавки глицина. Такой же подход использован в исследовании при анализе и других пептидных препаратов, выпускаемых ГК «ГЕРОФАРМ».

Правильность (R, %) рассчитывали по формуле:

$$R = \frac{X_{\text{найденно}}}{\mu_{\text{введено}}} \times 100 \%,$$

где $X_{\text{найденно}}$ – концентрация добавки стандартного раствора аминокислот, полученная в процессе анализа, мкг/мл; $\mu_{\text{введено}}$ – теоретическое значение концентрации добавки стандартного раствора аминокислот, мкг/мл.

В результате расчётов установлено, что правильность полученных результатов находится в пределах от 89 до 107,8%.

Качественный анализ аминокислотного состава, то есть идентификация аминокислот в органопрепаратах, проводился путем сопоставления времени удерживания хроматографических пиков аминокислот в испытуемых и стандартных образцах. Получен список идентифицированных аминокислот с указанием их времени удерживания, также выявлено, что в линейке исследуемых органопрепаратов содержатся непротейногенные, заменимые L-аминокислоты – орнитин (в кортексине и пинеамине) и таурин (в пинеамине и ретиналамине).

Количественный анализ исследованных протеиногенных L-аминокислот проведен способом абсолют-

ной градуировки с использованием индивидуальных для каждой аминокислоты градуировочных зависимостей. Результат количественного определения представлен в виде содержания аминокислоты (мкг) в 1 мг органопрепарата.

Концентрацию аминокислот определяли по формуле:

$$C = \frac{C_{\text{град}} \times V_{\text{обр}} \times F}{a_{\text{обр}}},$$

где C – концентрация аминокислот, мкг/мл; $a_{\text{обр}}$ – навеска органопрепарата, мг; $C_{\text{град}}$ – концентрация аминокислоты, полученная по градуировочной зависимости, мкг/мл; $V_{\text{обр}}$ – объем раствора образца органопрепарата, мл; F – коэффициент разбавления образца (в случае определения свободных аминокислот F=1).

Статистическая обработка полученных результатов выполнена согласно требованиям Государственной фармакопии Российской Федерации [2]. Полученные результаты изучения аминокислотного спектра

пептидных препаратов являются пилотными и пионерскими.

Результаты и их обсуждение. Установлены следующие неизвестные факты:

1. В пределах одного конкретного пептидного препарата спектр аминокислот остаётся стабильным и не изменяется от серии к серии и сроков хранения.

2. Кортексин, ретиналамин, пинеамин и церебролизин имеют по 17 протеиногенных аминокислот. В пинеамине обнаружены две непротеиногенные заменимые аминокислоты – таурин и орнитин, в ретиналамине – также таурин, в кортексине – орнитин, в церебролизине отсутствует свободная аминокислота цистин (табл. 1–3).

3. В кортексине по сравнению с церебролизинном (в расчёте на 1 мг органопрепарата), при одинаковых величинах триптофана абсолютное количество каждой из остальных 16 аминокислот достоверно большее, в частности аспарагиновой, глутаминовой кислот и тирозина – в 6,5 – 7 раз, серина – в 9 раз, аргинина – в 12 раз.

Таблица 1

Общее количество связанных и свободных аминокислот в кортексине и церебролизине, мкг/мг

| Аминокислота | Кортексин, лиофилизат | | | | | Церебролизин, раствор для инъекций | | | |
|--------------|-----------------------|-------|--------|--------|------------------|------------------------------------|--------|--------|------------------|
| | 11112* | 10110 | 230216 | 250216 | Среднее значение | PВ4464 | PВ4468 | PВ7520 | Среднее значение |
| His | 19,7 | 21,8 | 19,2 | 20,8 | 20,38 | 6,88 | 7,24 | 8,26 | 7,46 |
| Ser | 33,2 | 39,7 | 33,6 | 35,3 | 35,45 | 3,51 | 3,64 | 4,23 | 3,79 |
| Arg | 53,6 | 61,7 | 52,5 | 54,7 | 55,63 | 4,31 | 4,58 | 5,13 | 4,67 |
| Gly | 32,4 | 42,9 | 33,3 | 33,7 | 35,58 | 9,27 | 9,89 | 11,34 | 10,17 |
| Asp | 131,6 | 131,4 | 120,2 | 127,5 | 127,68 | 17,3 | 18,8 | 22,6 | 19,57 |
| Glu | 187,4 | 199,2 | 195 | 197,6 | 194,8 | 26,7 | 28,9 | 34,5 | 30,03 |
| Thr | 21,8 | 27,5 | 22,8 | 23,9 | 24 | 3,75 | 4,01 | 4,67 | 4,14 |
| Ala | 35,3 | 43 | 36,8 | 37,3 | 38,1 | 15,1 | 16 | 19 | 16,7 |
| Pro | 25,9 | 35,8 | 27,1 | 28,5 | 29,33 | 11,7 | 12,2 | 14,2 | 12,7 |
| Lys | 62,9 | 77,9 | 61,2 | 65,1 | 66,78 | 28,4 | 29,2 | 35,5 | 31,03 |
| Tyr | 15,9 | 19,8 | 16,6 | 16,8 | 17,28 | 2,4 | 2,61 | 2,97 | 2,66 |
| Met | 8,19 | 9,61 | 8,35 | 5,1 | 7,81 | 1,61 | 1,78 | 2,15 | 1,85 |
| Val | 27,4 | 32,6 | 29,5 | 29,1 | 29,65 | 11,8 | 11,8 | 14,6 | 12,73 |
| Ile | 16,8 | 21,3 | 17,5 | 18,1 | 18,43 | 10,4 | 10,4 | 12,8 | 11,2 |
| Leu | 31,7 | 40,2 | 34 | 33,5 | 34,85 | 29,1 | 29,1 | 35,8 | 31,33 |
| Phe | 18 | 21,7 | 19,1 | 19,1 | 19,48 | 9,94 | 10,55 | 12,17 | 10,89 |
| Trp | 1,87 | 2,55 | 2,3 | 2,05 | 2,19 | 2,05 | 2,17 | 2,4 | 2,21 |
| Taurin | – | – | – | – | – | – | – | – | – |
| Ornitin | 1,77 | 3,22 | 1,24 | 1,52 | 1,51 | – | – | – | – |
| Сумма | 725,3 | 831,7 | 730,3 | 749,5 | 759,2 | 194,1 | 203 | 242,3 | 213,13 |

Примечание: * – здесь и в табл. 2 цифры серий исследованных препаратов.

Таблица 2

Общее количество связанных и свободных аминокислот в пинеамине и ретиналамине, мкг/мг

| Аминокислота | Пинеамин, лиофилизат | | | | Ретиналамин, лиофилизат |
|--------------|----------------------|-------|-------|------------------|-------------------------|
| | 10314* | 20514 | 30514 | Среднее значение | 10513 |
| His | 16,9 | 16,2 | 16,4 | 16,5 | 14,1 |
| Ser | 33,1 | 33,6 | 35,4 | 34,03 | 28,8 |
| Arg | 53,6 | 51 | 53 | 52,53 | 35,7 |
| Gly | 38,1 | 37,7 | 38,8 | 38,20 | 27,5 |
| Asp | 86 | 78,3 | 83,8 | 82,7 | 69,2 |
| Glu | 171,1 | 161,6 | 172 | 168,23 | 112,6 |
| Thr | 28,2 | 28,2 | 30 | 28,8 | 24,3 |
| Ala | 39,7 | 38,7 | 41,5 | 39,97 | 33,6 |
| Pro | 31,8 | 32,5 | 33,5 | 32,6 | 31,3 |
| Lys | 67,5 | 65,8 | 70,1 | 67,8 | 51,7 |
| Tyr | 18,1 | 17,5 | 18,1 | 17,9 | 17,1 |
| Met | 8,29 | 8,81 | 5,41 | 8,55 | 3,1 |
| Val | 36 | 35,4 | 37,5 | 36,3 | 31,1 |
| Ile | 21,9 | 38,5 | 22,8 | 22,35 | 18,1 |
| Leu | 38,6 | 21,6 | 40,4 | 39,5 | 40,8 |
| Phe | 18 | 18,4 | 19 | 18,47 | 19,5 |
| Trp | 1,69 | 2,13 | 2,42 | 2,08 | 1,11 |
| Taurin | 9,15 | 7,27 | 7,37 | 7,93 | 4,1 |
| Ornitin | 18,7 | 20,6 | 16,1 | 18,47 | - |
| Сумма | 736,5 | 713,7 | 743,5 | 731,23 | 563,7 |

4. Выявлены различия в аминокислотной структуре препаратов: в кортексине основная доля свободных и связанных аминокислот приходится на глутаминовую (45%) и аспарагиновую (20%) кислоты, а в церебролизине из свободных аминокислот лейцин занимает 17%, лизин – 16%, глутаминовая кислота – 11%, а среди связанных аминокислот аспарагиновая кислота определяется в 3%, глутаминовая кислота – в 1,6%, и полностью отсутствует цистин. Наличие в кортексине непротеиногенной аминокислоты орнитина (табл. 3), являющейся в метаболизме предшественником глутаминовой кислоты, нужно рассматривать как фактор, дополнительно увеличивающий энергетическую составляющую препарата.

5. Основной свободной аминокислотой пинеамина является глутаминовая кислота (35%) и орнитин (14%), что суммарно (49%) определяет энергетический пул препарата. В аминокислотном составе офтальмонейропротектора ретиналамина общее количество аминокислот значительно меньше, чем в остальных органопрепаратах, а основную долю составляет также глутаминовая кислота – 20%. При-

сутствие в ретиналамине таурина подтверждает обоснованность офтальмологического использования препарата, при этом таурин снижает резистентность к инсулину, что в клинической практике подтверждается эффективностью ретиналамина в терапии диабетической офтальмопатии.

Таким образом, факт стабильности пептидных препаратов подтверждает надежность существующей технологии их изготовления, неизменность лечебных свойств и устойчивость всех рассмотренных отечественных пептидных препаратов при соблюдении регламентирующих условий хранения и применения. Тезис о том, что «Сложный состав церебролизина ... не позволяет провести обычный фармакокинетический анализ отдельных компонентов» [9] – не подтверждается.

Установленные факты различия спектра аминокислот в исследованных пептидных препаратах дают основания для трактовки их фармакокинетики, в частности – наличие в кортексине большого количества глутаминовой (45%) и аспарагиновой (20%) свободных аминокислот, считающихся активными нейро-

Таблица 3

Содержание свободных аминокислот в исследованных органопрепаратах, мкг/мг

| Аминокислота | Кортексин, лиофилизат | | | | Церебролизин, раствор для инъекций | | | Пинеамин, лиофилизат | | | Ретиналамин, лиофилизат |
|--------------|-----------------------|-------|--------|--------|------------------------------------|--------|--------|----------------------|-------|-------|-------------------------|
| | 11112 | 10110 | 230216 | 250216 | PB4464 | PB4468 | PB7520 | 10314 | 20514 | 30514 | 10513 |
| His | 1,06 | 1,02 | 0,75 | 0,96 | 5,59 | 5,47 | 5,49 | 1,05 | 1,14 | 0,88 | 0,49 |
| Asn | 3,14 | 2,72 | 4,05 | 3,59 | 1,04 | 1,14 | 1,71 | 3,21 | 2,33 | 2,43 | 1,11 |
| Ser | 4,36 | 4,89 | 3,31 | 4,07 | 1,46 | 1,47 | 1,43 | 4,47 | 4,04 | 3,94 | 3,16 |
| Arg+Gln | 22,7 | 21 | 24 | 22,4 | 3,19 | 3,19 | 3,13 | 14,4 | 14,7 | 13,5 | 6,39 |
| Gly | 4,07 | 4,61 | 2,85 | 4,32 | 6,83 | 6,7 | 6,65 | 4,89 | 4,95 | 4,41 | 2,71 |
| Asp | 45,7 | 30,9 | 24,5 | 35,3 | 13,2 | 13 | 12,6 | 12,9 | 9,94 | 10,1 | 8,3 |
| Glu | 78,5 | 66,5 | 77,6 | 82,8 | 17,7 | 16,4 | 16,7 | 52,7 | 49,3 | 50,1 | 26,9 |
| Thr | 1,84 | 1,89 | 1,16 | 1,54 | 1,57 | 1,56 | 1,55 | 2,15 | 1,52 | 1,75 | 1,49 |
| Ala | 5,6 | 5,71 | 3,98 | 4,94 | 12,8 | 12,6 | 12,3 | 6,49 | 5,16 | 5,2 | 3,9 |
| Pro | 0,87 | 0,89 | 0,3 | 0,82 | 8,95 | 8,78 | 8,63 | 1,29 | 0,74 | 0,81 | 1,04 |
| Cys | 1,55 | 1,34 | 1,38 | 1,84 | – | – | – | 1,49 | 1,2 | 1,23 | 0,64 |
| Lys | 10,96 | 11,17 | 7,29 | 8,97 | 25,9 | 25,4 | 24,6 | 9,4 | 8,92 | 9,06 | 5,98 |
| Tyr | 1,1 | 1,12 | 0,67 | 0,57 | 1,78 | 1,81 | 1,79 | 1,81 | 1,51 | 1,41 | 0,73 |
| Met | 1,15 | 1,66 | 0,53 | 0,7 | 2,21 | 2,19 | 2,18 | 0,84 | 0,77 | 0,75 | 0,09 |
| Val | 1,85 | 1,66 | 1,36 | 1,48 | 9,43 | 9,28 | 9,17 | 2,33 | 1,46 | 1,68 | 1,75 |
| Ile | 1,15 | 1,05 | 0,98 | 1,02 | 8,86 | 8,69 | 8,55 | 1,48 | 1,16 | 1,13 | 0,82 |
| Leu | 3,13 | 2,53 | 2,13 | 2,76 | 26,8 | 26,3 | 25,9 | 4,44 | 3,04 | 3,28 | 3,12 |
| Phe | 1,81 | 1,62 | 0,96 | 1,33 | 9,15 | 9,06 | 9,06 | 1,94 | 1,83 | 1,76 | 1,1 |
| Trp | 0,28 | 0,32 | – | 0,14 | 2,22 | 2,19 | 2,22 | 0,31 | 0,24 | 0,17 | 0,83 |
| Taurin | – | – | – | – | – | – | – | 9,72 | 6,24 | 6,45 | 4 |
| Ornithin | 1,8 | 2,98 | 1,31 | 1,41 | – | – | – | 20,6 | 19 | 19,4 | – |
| Сумма | 192,6 | 165,6 | 159,1 | 181 | 158,9 | 155,4 | 153,6 | 157,8 | 139,1 | 139,3 | 74,6 |

медиаторами [1, 5], может являться объяснением активной положительной динамики неврологического статуса пациентов с 1–2 суток при острых нарушениях мозгового кровообращения (табл. 4). В этой связи известно, что L-глутаминовая и L-аспарагиновая кислоты, составляющие суммарно в кортексине 65% всех аминокислот, активно влияют на функцию головного мозга. Будучи нейромедиаторами, они обеспечивают передачу нервного импульса между нейронами, улучшают когнитивный статус, в целом – оказывают многогранное влияние на обмен веществ. При этом они активируют энергообмен в нейронах (в процессе метаболизма L-глутаминовая кислота превращается в α -кетоглутарат с выделением энергии).

Последнее обстоятельство даёт возможность выстроить всю цепь исследований, проведенных за последнее десятилетие, доказывающих лечебную эффективность кортексина и выявленное основное свойство его фармакокинетики – энергетически сберегающее действие.

Логическая последовательность установленных этапов фармакокинетики:

а) результаты, приведенные выше, прямо указывают на L-глутаминовую, L-аспарагиновую кислоты и орнитин как на основные биоэнергетические «источники» препарата;

б) доказана возможность кортексина восстанавливать содержание аденозинтрифосфата в молодых и старых нейронах [6];

в) чёткое инструментально и наглядно продемонстрированное влияние кортексина на модулирование электрического потенциала нейронов [11];

г) доказанный в клинических условиях с помощью функциональной магнитно-резонансной томографии факт энергетически сберегающего действия кортексина у пациентов, страдающих хроническими нарушениями мозгового кровообращения [7], что также в обобщенном виде [3] подтверждается ранее опубликованными результатами.

Заключение. Впервые установлены конкретные цифровые значения аминокислотного спектра пептидных препаратов, имеющие не только теоретическое, но и важное практическое значение. Выбор церебролизина в качестве препарата сравнения с кортексином объясняется тем, что другого близкого по показаниям и структуре препарата просто нет, хотя по степени готовности церебролизин – это гидролизат, то есть конечный продукт технологического процесса, являющегося важным этапом его изготовления. В то же время пептидные препараты отечественного производства – кортексин, рети-

Таблица 4

Сравнительная характеристика свойств и клинической эффективности кортексина и церебролизина

| Показатель | Кортексин | Церебролизин |
|-------------------------------------|--|--|
| Исходный продукт | корковая часть головного мозга телят (cortex) | весь головной мозг свиньи |
| Форма препарата | лиофилизат | раствор |
| Ингредиенты | кортексин (субстанция, пептиды) 10 мг (48%) – глицин (стабилизатор) 12 мг (52%) – аминокислота глицин | церебролизина: – пептиды из головного мозга – 15% – свободные аминокислоты – 85% |
| Способ введения | внутримышечно | внутривенно |
| Условия введения | амбулаторно | помещение больничного типа, асептика |
| Средства введения | одноразовые шприцы | системы и растворы для внутривенного введения |
| Дозировки на курс лечения (инсульт) | 10–20 мг ежедневно, курс 10 дней | от 10 до 50 мл и более ежедневно, курс от 10–14 до 20 дней |
| Количество пептидов на курс лечения | 100–200 мг | от 29100 до 150500 мг |
| Эффективность терапии, динамика: | | |
| – клиническая картина | 2–3 сутки | 6–8 сутки |
| – ЭЭГ | 2–3 сутки | 6–8 сутки |
| – шкала Бартель | с 3–5 суток | с 7–10 суток |
| – когнитивные функции (баллы): | | |
| шкала MMSE | 10,4±2,1 | 6,6±0,7 |
| тест Ходкинсона | 2,1±0,6 | 1,6±0,3 |
| Побочные эффекты | индивидуальная гиперчувствительность к препарату | малая эффективность в неонатологии, гиперактивность в детской неврологии, лихорадка, головная боль, спутанность сознания, галлюцинации [4] |

наламин и пинеамин, имеющие двухкомпонентный состав – оригинальную пептидную субстанцию и стабилизатор (аминокислота глицин), реально переносят процесс гидролиза на метаболизм пациента. Многолетний опыт применения кортексина не выявил изменения обмена веществ при его внутримышечном введении, что объясняется минимальным количеством препарата (10 мг), постоянным наличием и доступностью аминопептидаз, кратковременностью действия препарата (через час после его введения электрогенез головного мозга возвращается к исходным значениям [10]). Последнее обстоятельство, на примере низкодозированного нейропротектора кортексина, доказывает и определяет необходимость более частых ежедневных инъекций пептидных препаратов, увеличения длительности и частоты курсов лечения.

Таким образом, можно считать, что определено точное фармакокинетическое название «Кортексин низкодозированный» – препарат пептидной структуры, обладающий биоэнергетической направленностью по оптимизации метаболизма нейронов.

Литература

1. Биохимия // ред. Северин Е.С. – М.: ГЭОТАР – Медиа, 2003. – 779 с.
2. Государственная фармакопея Российской Федерации. – 13-е издание. ОФС.1.1.0013.15. – М. – Т. 1. – С. 235–264.

3. Дьяконов, М.М. К вопросу о нейропротекторном действии пептидных препаратов / М.М. Дьяконов, П.Д. Шабанов // Вестн. Росс. воен.-мед. акад. – 2011. – № 3 (33). – С. 255–258.
4. Левин, О.С. Основные лекарственные средства, применяемые в неврологии / О.С. Левин // Справочник. – М.: МЕДпресс-информ, 2007. – 336 с.
5. Маршалл, В.Д. Клиническая биохимия / В.Д. Маршалл. – СПб.: Бином, 2000. – 368 с.
6. Пинелис, В.Г. Влияние кортексина на выживаемость культивируемых нейронов мозга, подвергнутых токсическому действию глутамата или лишенных ростовых факторов / В.Г. Пинелис [и др.] / Пептидная нейропротекция. – СПб.: Наука, 2009. – С. 107–125.
7. Танашян, М.М. Эффективность нейропротекции у больных с хроническими цереброваскулярными заболеваниями / М.М. Танашян [и др.] // Вестник Росс. воен.-мед. акад. – 2011. – № 3(35). – С. 181–187.
8. Цереброваскулярная патология – новые возможности низкодозированной нейропротекции / Под ред. А.А. Скоромца и Л.В. Стаховской. – СПб.: Наука, 2014. – 152 с.
9. Церебролизин / Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России. – М.: АльфаФармСервис. – 2010. – С. 1396.
10. Цыган, В.Н. Клиническая электроэнцефалография / В.Н. Цыган, М.М. Богословский, А.В. Миролубов. – СПб.: Наука, 2012. – 256 с.
11. Шабанов, П.Д., Нейропротекторное действие кортексина и кортагена / П.Д. Шабанов, А.И. Вислобоков // Обзоры фармакологии и лекарственной терапии. – 2013. – № 2. – Т.11. – С. 17–26.
12. Шавловская, О.А. Клиническая эффективность нейропептидов при церебральной патологии / О.А. Шавловская // Журн. невролог. и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2016. – Т. 116. – № 8. – С. 88–93.

13. Landry, J. Determination of tryptophan in feedstuffs: Comparison of two methods of hydrolysis prior to HPLC analysis / J. Landry, S. Delhay, D.G. Jones // Science of Food and Agriculture. – 1992. – № 58 (3). – P. 439–441.
14. Platonova, T.N. Long – term use of cortexin in pediatrics: Cortexin – Five years in neurological practice in Russia / T.N. Platonova, A.P. Skoromets, N.P. Shabanov. – St. Petersburg: Nauka, 2007. – P. 3–14.

A.O. Rudenko, T.E. Eltysheva, M.M. Dyakonov

Influence of amino-acid spectrum of peptide organic drugs on drug therapy effectiveness

Abstract. Using modern analytical equipment and justified and developed methodological approaches and calculations amino-acid composition of the domestic peptide drugs cortexin, retinalamin, pineamin has been studied. For the first time the exact amounts of each amino-acid out of 17 have been discovered in the specified drug products as well as the fact that cortexin has additional non-proteinogenic ornithine amino acid, retinalamin has taurine, pineamin has ornithine and taurine while cerebrolysin does not contain free amino acid cystine. It has been determined that among the cortexin amino acids 65% of them constitute L-glutamic and L-aspartic acids that together with ornithine specify bioenergetic characteristics of the drug. Absolute amount of every amino acid in cortexin in comparison with cerebrolysin (in an amount of 1 mg of the organic drug) is reasonably larger, in particular amount of aspartic, glutamic acids and tyrosine is 6,5–7 times larger, amount of serine is 9 times larger and amount of arginine is 12 times larger. Stability of amino acid spectrum of every domestic peptide drug has been achieved that is stable notwithstanding lot and time of manufacturing. For reasonable results interpretation and cortexin pharmacokinetics evaluation cerebrolysin was chosen as a reference product. Choosing of Cerebrolysin as a comparator with cortexin is explained by the fact that another medication close by indications and the structure does not exist, although in degree of preparedness the cerebrolysin is hydrolyzate, that is the final product of the process, which is an important stage of its production. At the same time, peptide medications of domestic production – cortexin, retinalamin and pineamin which having a two-component – the original peptide substance and a stabilizer (amino acid glycine), are really transferred hydrolysis process on the patient's metabolism. Years of experience in applying cortexin was revealed no changes in metabolism when intramuscular administration, due to the minimal amount of medication (10 mg), constant availability and accessibility of aminopeptidases, short duration of the preparation.

Key words: peptide drug products, amino-acid spectrum, cortexin, retinalamin, pineamin, cerebrolysin, pharmacokinetics, neuroprotection, ultra-performance liquid chromatography.

Контактный телефон: +7 (812) 703-79-75; e-mail: Mark.Dyakonov@geropharm.com