

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОКИНЕТИКА И БИОРАСПРЕДЕЛЕНИЕ ПЕПТИДОВ HAEE И HASS

А. В. Иванова <sup>✉</sup>, П. А. Лазарева, И. А. Кузьмичев, В. В. Вадехина, А. В. Косых, Н. Г. Гурская, М. А. Абакумов

Научно-исследовательский институт трансляционной медицины, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва, Россия

В связи с ограниченной доступностью современных методов диагностики болезни Альцгеймера особый интерес представляют малые молекулы и короткие пептиды, способные специфично связываться с  $\beta$ -амилоидом. Целью работы было провести сравнительное изучение фармакокинетики и биораспределения двух модельных пептидов — HAEE (His-Ala-Glu-Glu) и HASS (His-Ala-Ser-Ser) как потенциальных платформ для разработки диагностических систем и установить взаимосвязь между структурой пептидов и их органотропностью. Исследование выполнено на мышах линии BALB/c ( $n = 10$ ) с использованием флуоресцентно меченых соединений. Применяли IVIS-визуализацию *in vivo*, флуоресцентную микроскопию *ex vivo* и фармакокинетический анализ. Результаты выявили принципиальные различия: HAEE с отрицательным зарядом преимущественно накапливался в почках ( $T_{1/2\beta} = 4,39$  ч) благодаря реабсорбции в канальцах, тогда как нейтральный HASS быстро захватывался печенью ( $T_{1/2\beta} = 2,76$  ч). Полученные данные демонстрируют ключевую роль аминокислотного состава в определении органотропности и открывают перспективы для разработки органоспецифичных пептидных систем.

**Ключевые слова:** пептид HAEE, пептид HASS, BALB/c здоровые мыши, фармакокинетика HAEE, фармакокинетика HASS, *in vivo* флуоресцентная визуализация (IVIS), гематоэнцефалический барьер, биораспределение HAEE, биораспределение HASS

**Финансирование:** работы выполнены в рамках Государственного задания «Создание радиофармацевтического лекарственного препарата для диагностики болезни Альцгеймера с использованием тетрапептида HAEE в качестве векторной молекулы», регистрационный номер ЕГИСУ НИОКТР 1024110600012-8-3.2.25;3.2.26;3.2.12.

**Вклад авторов:** А. В. Иванова — обзор литературы, экспериментальные исследования на мышинной модели BALB/c, проведение транскардиальной перфузии всех органов, подготовка рукописи; П. А. Лазарева — экспериментальные исследования на модели мышей BALB/c, проведение транскардиальной перфузии всех органов, анализ полученных результатов, подготовка рукописи; И. А. Кузьмичев — синтез флуоресцентного пептида HAEEGGGGK-Cy5 и HASSGGGGGK-Cy5; В. В. Вадехина — внутривенное введение пептида HAEEGGGGK-Cy5 и HASSGGGGGK-Cy5 через хвостовую вену, проведение транскардиальной перфузии всех органов; А. В. Косых — фиксация, подготовка гистологических срезов для съемки на микроскопе, съемка и подготовка рукописи; Н. Г. Гурская — получение изображений на флуоресцентном микроскопе и анализ, подготовка рукописи; М. А. Абакумов — постановка цели, разработка дизайна исследования, подготовка рукописи; все авторы внесли равнозначный вклад в подготовку публикации, подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE.

**Соблюдение этических стандартов:** исследование одобрено этическим комитетом РНИМУ им Н. И. Пирогова Минздрава России (номер протокола 03/2025 от 23 января 2025 г.), проведено в соответствии с принципами надлежащей лабораторной практики (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации № 708н от 23.08.2010, Директива 2010/63/EU Европейского парламента и Совета о защите животных, используемых в научных целях).

<sup>✉</sup> Для корреспонденции: Анна Валерьевна Иванова  
ул. Островитянова, д. 1, стр. 1, г. Москва, 117513, Россия; super.fosforit@yandex.ru

Статья получена: 10.07.2025 Статья принята к печати: 24.07.2025 Опубликовано онлайн: 31.07.2025

DOI: 10.24075/vrgmu.2025.036

**Авторские права:** © 2025 принадлежат авторам. **Лицензиат:** РНИМУ им. Н. И. Пирогова. Статья размещена в открытом доступе и распространяется на условиях лицензии Creative Commons Attribution (CC BY) (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

## COMPARATIVE PHARMACOKINETICS AND BIODISTRIBUTION OF HAEE AND HASS PEPTIDES

Ivanova AV <sup>✉</sup>, Lazareva PA, Kuzmichev IA, Vadekhina VV, Kosykh AV, Gurskaya NG, Abakumov MA

Research Institute of Translational Medicine, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

Due to the limited availability of advanced methods to diagnose Alzheimer's disease, small molecules and short peptides capable of specifically binding  $\beta$ -amyloid are of special interest. The study aimed to perform comparative assessment of pharmacokinetics and biodistribution of two model peptides, HAEE (His-Ala-Glu-Glu) and HASS (His-Ala-Ser-Ser), as potential platforms for the development of diagnostic kits, as well as to determine the relationship between the peptide structure and organotropism. The study involving BALB/c mice ( $n = 10$ ) was conducted using the fluorescence labeled compounds. We used *in vivo* IVIS imaging, *ex vivo* fluorescence microscopy, and pharmacokinetic analysis. The results showed fundamental differences: the negatively charged HAEE was accumulated mainly in the kidney ( $T_{1/2\beta} = 4.39$  h) due to tubular reabsorption, while neutral HASS was soon captured by the liver ( $T_{1/2\beta} = 2.76$  h). The data obtained demonstrate the key role of amino acid composition in determining organotropism and open prospects for the development of organ-specific peptide systems.

**Keywords:** HAEE peptide, HASS peptide, BALB/c healthy mice, HAEE pharmacokinetics, HASS pharmacokinetics, *in vivo* fluorescence imaging (IVIS), blood brain barrier, HAEE biodistribution, HASS biodistribution

**Funding:** the study was conducted under the State Assignment "Development of a Radiopharmaceutical for the Diagnosis of Alzheimer's disease Using the HAEE Tetrapeptide as a Vector Molecule", EGISU R&D registration number 1024110600012-8-3.2.25;3.2.26;3.2.12.

**Author contribution:** Ivanova AV — literature review, BALB/c mouse model experimental research, ensuring transcadiac perfusion of all organs, manuscript writing; Lazareva PA — BALB/c mouse model experimental research, ensuring transcadiac perfusion of all organs, analysis of the results, manuscript writing; Kuzmichev IA — synthesis of HAEEGGGGK-Cy5 and HASSGGGGGK-Cy5 fluorescent peptides; Vadekhina VV — intravenous tail vein injection of HAEEGGGGK-Cy5 and HASSGGGGGK-Cy5 peptides, ensuring transcadiac perfusion of all organs; Kosykh AV — fixation, histology slide preparation for microscopic imaging, imaging and manuscript writing; Gurskaya NG — imaging using the fluorescence microscope and analysis, manuscript writing; Abakumov MA — goal setting, developing the study design, manuscript writing; all the authors contributed to preparation of the paper equally, they confirmed compliance of their authorship with the international ICMJE criteria.

**Compliance with ethical standards:** the study approved by the Ethics Committee of the Pirogov Russian National Research Medical University (protocol 03/2025 dated 23 January 2025) was conducted in accordance with the principles of Good Laboratory Practice (Order of the Ministry of Health of the Russian Federation No. 708n dated 23.08.2010, Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council on the protection of animals used for scientific purposes).

<sup>✉</sup> Correspondence should be addressed: Anna V. Ivanova  
Ostrovityanova, 1, stroenie 1, Moscow, 117513, Russia; super.fosforit@yandex.ru

Received: 10.07.2025 Accepted: 24.07.2025 Published online: 31.07.2025

DOI: 10.24075/brsmu.2025.036

**Copyright:** © 2025 by the authors. **Licensee:** Pirogov University. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Болезнь Альцгеймера остается одним из наиболее социально значимых нейродегенеративных заболеваний и является основной причиной возникновения деменции у пожилых людей [1, 2]. Ее распространенность экспоненциально растет с возрастом: 53 новых случаев на 1000 человек в возрасте 65–74 лет; 170 новых случаев на 1000 человек в возрасте 75–84 лет и 230 новых случаев на 1000 человек в возрасте старше 85 лет [3, 4]. Патогенез заболевания сложен и многокомпонентен, однако достаточно часто этот процесс сопровождается накоплением  $\beta$ -амилоида ( $A\beta$ ) в виде сенильных бляшек в коре головного мозга [5].  $A\beta$  представляет собой пептид, который имеет длину 39–43 аминокислотных остатков и образуется из белка-предшественника APP [6] — этот уникальный процесс расщепления APP обеспечивает важные мишени для лечения болезни Альцгеймера [7]. Два основных пептида имеют длину 40 ( $A\beta_{40}$ ) и 42 ( $A\beta_{42}$ ) аминокислотных остатка.  $A\beta_{42}$  проявляет склонность к агрегации *in vivo* и часто считается более токсичным [8, 9]. Накопление  $A\beta_{42}$  приводит к каскаду патологических нарушений, включающих образование олигомеров и фибрилл, активацию нейровоспаления, нарушение синаптической передачи, гибель нейронов [6, 10, 11]. Детальное изучение амилоидной и других патогенетических гипотез, к сожалению, не привело к созданию по-настоящему действенных терапевтических стратегий, развитие которых продолжается с момента первого описания заболевания в 1906 г. [12]. Современные методы диагностики болезни Альцгеймера остаются труднодоступными для широкого применения ввиду технической сложности и значительных финансовых затрат. В этой связи особый интерес представляют малые молекулы, способные специфично связываться с  $A\beta$ , а их многофункциональность и возможность химической модификации открывают перспективы для разработки более доступных диагностических платформ. Среди таких молекул наиболее перспективными оказались короткие пептидные последовательности — в частности, тетрапептиды HAEE (His-Ala-Glu-Glu) и HASS (His-Ala-Ser-Ser), которые сочетают высокую аффинность к  $\beta$ -амилоиду, ингибирование его агрегации, хорошие фармакокинетические свойства и способность преодолевать гематоэнцефалический барьер [13]. Для реализации их диагностического потенциала необходимо детальное изучение фармакокинетических свойств, включая их биораспределение, способность преодолевать гематоэнцефалический барьер и динамику выведения из организма. Настоящее исследование направлено на комплексную характеристику этих параметров с использованием флуоресцентно-меченых аналогов HAEE и HASS в моделях на животных.

Его цель — определить фармакокинетические параметры тетрапептидов HAEE и HASS у здоровых животных, включая период полувыведения ( $T_{1/2}$ ), для оценки их биораспределения, стабильности *in vivo* и перспектив дальнейшего применения в качестве основы для радиофармпрепаратов или терапевтических средств.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все экспериментальные работы проводили в исследовательской лаборатории отдела медицинских нанобиотехнологий, а также в отделе регенеративной медицины научно-исследовательского института трансляционной медицины РНИМУ им. Н. И. Пирогова.

## IVIS-визуализация *in vivo/ex vivo*

Самки мышей породы BALB/c возрастом 3 месяца, весом 20–25 г были приобретены в питомнике научного центра биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства России филиала «Столбовая» (Московская область, Россия).

Мыши имели свободный доступ к пище и воде. Животные получали комбикорм полнорационный экструдированный для лабораторных животных — мышей, крыс, хомяков («Лаборантснаб», Россия). Световой день составлял 12 ч (с 7:00 до 19:00), освещенность в светлый период цикла — 70–90 лкс, температура в помещении постоянного содержания — 22 °С.

В каждом эксперименте участвовало пять животных. Исследуемые пептиды HAEEGGGGK-Cy5 и HASSGGGGK-Cy5 (чистота > 95% по данным ВЭЖХ). Перед введением пептиды растворяли в стерильном 0,9%-м растворе NaCl до конечной концентрации 250 мкМ. Полученные растворы фильтровали через 0,22 мкм фильтр и вводили внутривенно в хвостовую вену ( $n = 4$  животных на группу) в объеме 100 мкл. Контрольной группе вводили 100 мкл 0,9%-го раствора NaCl.

Визуализацию прижизненной флуоресценции осуществляли с помощью IVIS Spectrum CT imaging system (Perkin Elmer, США) во временных точках 15 мин, 1 ч, 2 ч, 3 ч, 4 ч, 5 ч, 6 ч, 24 ч после введения. Все съемки флуоресценции выполняли под ингаляционной анестезией 2%-м изофлюраном (Аерран, Baxter HealthCare Corporation, США) в смеси с воздухом.

Для последующих экспериментов животных анестезировали внутривенной инъекцией тилетамина (Золетил, Virbac, Франция), после чего выполняли транскардиальную перфузию. Для этого надрезали правое предсердие, в левый желудочек вставляли канюлю и промывали кровеносное русло последовательно стерильным фосфатно-солевым буфером (Sigma-Aldrich, США) и раствором 10%-го забуференного формалина HistoSafe (Biovitrum, Россия). Затем извлекали органы и выполняли *ex vivo* съемку их флуоресценции.

## Анализ флуоресценции и кинетическое моделирование

Эмиссию фотонов обчитывали с использованием программы Living Image 4.3 с выбором региона интереса (ROI). Значения флуоресценции контрольного животного для каждой временной точки вычитали из значений флуоресценции животных для устранения систематических ошибок измерения. Для органов выполняли то же самое.

## Широкопольная флуоресцентная микроскопия

Криосрезы толщиной 10 мкм были получены при помощи криотома HM525 (Thermo Scientific, США). Для дальнейшего анализа срезы фиксировали в 10%-м растворе забуференного формалина (Biovitrum, Россия) в течение 15 мин, последовательно 3 раза отмывали в фосфатно-солевом буферном растворе без  $Ca^{2+}$  и  $Mg^{2+}$  («ПанЭко», Россия) и заключали со средой VECTASHIELD Atifade Mounting Medium with DAPI (VectorLabs, США). Изображения были получены при помощи системы для визуализации EVOS FL Auto (Thermo Scientific, США).

Таблица 1. Средняя интенсивность флуоресценции (ф/с/см<sup>2</sup>/ср) пептидов HAEE и HASS в динамике

Время, ч	HAEE (Mean ± SD)*	HASS (Mean ± SD)*
0,25	$(1,23 \pm 0,18) \times 10^9$	$(1,31 \pm 0,19) \times 10^9$
1	$(4,61 \pm 0,51) \times 10^8$	$(2,11 \pm 0,18) \times 10^8$
2	$(1,76 \pm 0,16) \times 10^8$	$(8,69 \pm 0,75) \times 10^7$
3	$(1,21 \pm 0,09) \times 10^8$	$(6,04 \pm 1,01) \times 10^7$
4	$(9,53 \pm 1,07) \times 10^7$	$(5,57 \pm 0,92) \times 10^7$
5	$(7,53 \pm 0,82) \times 10^7$	$(4,93 \pm 0,94) \times 10^7$
6	$(7,87 \pm 0,99) \times 10^7$	$(4,20 \pm 0,71) \times 10^7$
24	$(3,14 \pm 0,28) \times 10^7$	$(1,97 \pm 0,23) \times 10^7$

Примечание: \* — данные представлены как среднее ± среднеквадратичное отклонение (Mean ± SD) для  $n = 4$

### Статистический анализ

Анализ данных выполняли с помощью GraphPad Prism 8.0.1 (GraphPad Software, США). График зависимости интенсивности флуоресцентного сигнала от времени представлен в виде средних значений со среднеквадратичными отклонениями с линией тренда для двухкамерной модели. График накопления препарата в органах *ex vivo* содержит среднее, максимальное и минимальное значения в группе.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

После однократного внутривенного введения флуоресцентных пептидов HAEE и HASS мышам BALB/c были зарегистрированы временные изменения интенсивности флуоресценции (табл. 1). Оба соединения демонстрировали быструю системную абсорбцию с достижением максимума концентраций через 0,25 ч после введения, при этом HASS ( $(1,31 \pm 0,19) \times 10^9$  ф/с/см<sup>2</sup>/ср) показал на 6,5% более высокую интенсивность флуоресценции по сравнению с HAEE ( $(1,23 \pm 0,18) \times 10^9$  ф/с/см<sup>2</sup>/ср) с последующим экспоненциальным снижением показателей. Более наглядно полученные результаты представлены на рис. 1.

Построение полученных кинетических профилей в логарифмической шкале позволяют предположить двухкамерную модель элиминации пептидов HASS и HAEE (рис. 2).

Кинетические кривые HAEE и HASS (рис. 1, 2), описываемые двухкамерной моделью ( $A_p = A_1 \cdot e^{-at} + A_2 \cdot e^{-bt}$ ), демонстрируют существенные различия в параметрах элиминации (табл. 2): HASS характеризуется доминированием быстрой фазы (96,43% против 93,37%), более высокой константой скорости — ( $3,11 \text{ ч}^{-1}$  против  $1,6 \text{ ч}^{-1}$ ) и укороченным  $T_{1/2\alpha}$  (0,22 ч против 0,43 ч), что коррелирует с крутым начальным спадом на графиках, тогда как HAEE проявляет пролонгированную элиминацию с удлинённым  $T_{1/2\beta}$  (4,39 ч против 2,76 ч), характеризуется пологим спадом на кинетической кривой и большим AUC ( $3,69 \times 10^9$  против  $1,51 \times 10^9$  ч·ф/с/см<sup>2</sup>/ср), что указывает на его потенциальное преимущество для длительной диагностики.

Исследование *ex vivo* накопления пептидов HAEE и HASS проводили через 24 ч после инъекции. Согласно полученным данным (рис. 3), пептиды демонстрируют различную органную специфичность: HAEE преимущественно локализуется в почках, тогда как HASS — в печени. Оба соединения накапливаются в легких и в мозге без статистически значимых межгрупповых различий ( $p > 0,05$ ). В сердце и селезенке флуоресцентная интенсивность в группе HAEE была достоверно выше по сравнению с группой HASS ( $p < 0,05$ ).

Более длительный период полувыведения HAEE обусловлен его преимущественной почечной элиминацией, что подтверждено флуоресцентной микроскопией срезов, выявившей интенсивное накопление флуоресцентного сигнала в эпителии почечных канальцев (рис. 4), что согласуется с данными IVIS (рис. 5), где почки

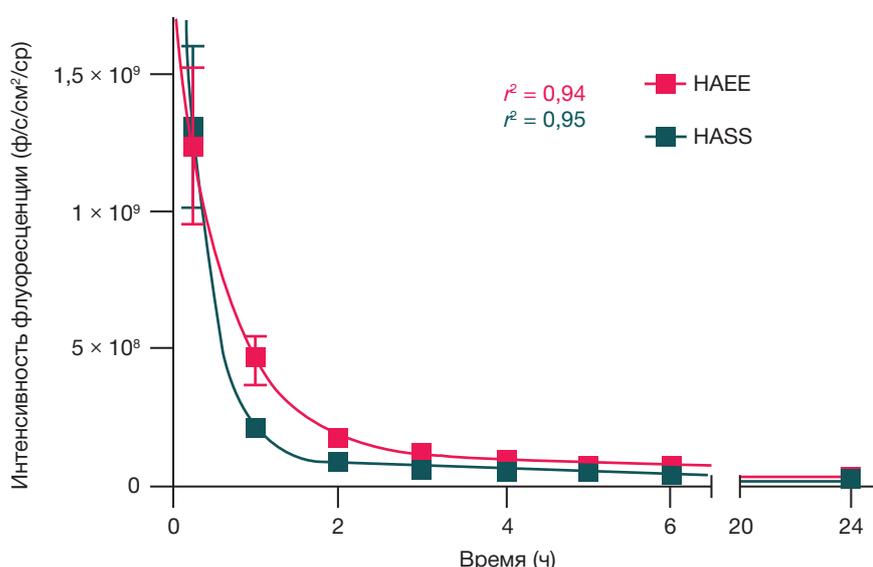


Рис. 1. Кинетические кривые флуоресценции исследуемых пептидов HAEE ( $r^2 = 0,94$ ) и HASS ( $r^2 = 0,95$ ) *in vivo*

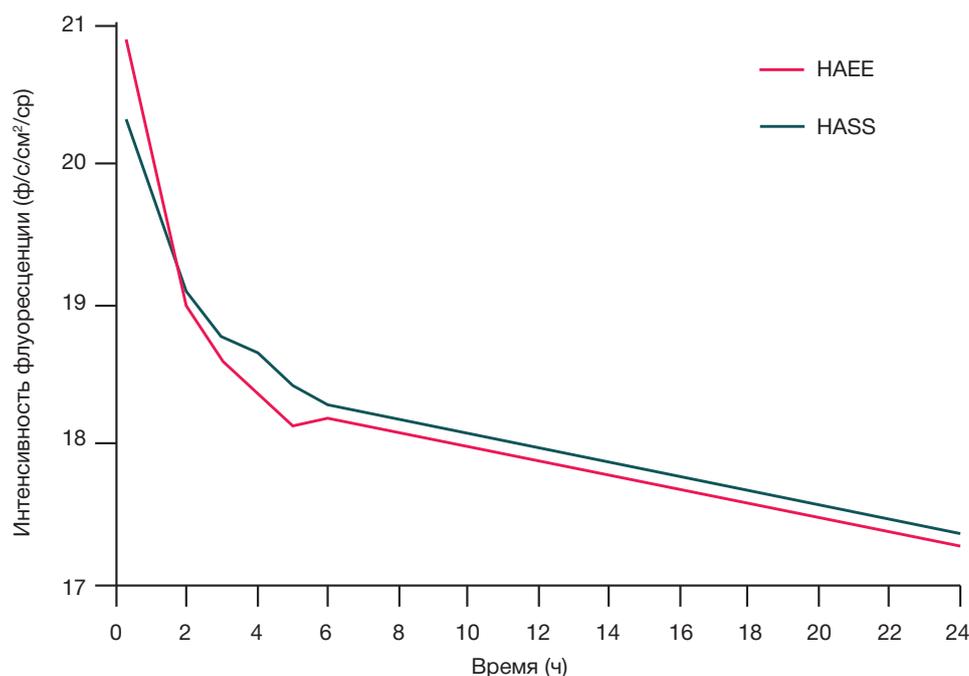


Рис. 2. Сравнительная кинетика элиминации пептидов HAEE и HASS

демонстрируют более высокий флуоресцентный сигнал по сравнению с другими органами через 24 ч, тогда как HASS преимущественно аккумулируется в печени (рис. 5).

Исследование репрезентативных микрофотографий срезов тканей почек мыши подтверждает повышенное содержание HAEE в виде скопления большого числа  $\text{Cu}^{2+}$  агрегатов в клетках проксимальных канальцев эпителия почек (рис. 4А, Б) в сравнении с HASS (рис. 4В, Г).

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Наши исследования выявили существенные различия в биораспределении пептидов HAEE и HASS, что может быть объяснено их структурно-функциональными особенностями. HAEE, обладая небольшой молекулярной массой (< 2 кДа) и слабым отрицательным зарядом, демонстрирует преимущественно почечную экскрецию. Этот процесс характерен для низкомолекулярных пептидов [14], которые после клубочковой фильтрации подвергаются реабсорбции через пиноцитоз. Наличие флуоресцентной метки Суанип 5 (Су5) в структуре пептида может увеличивать его липофильность, способствуя проникновению через клеточные мембраны, в частности, в эпителий проксимальных канальцев почек, что объясняет наблюдаемое накопление соединения в почечной ткани. Нельзя также исключить возможность специфического

взаимодействия пептида с клеточными рецепторами, однако этот аспект требует дальнейшего изучения. Проникновение HAEE в печень может осуществляться посредством облегченного транспорта через мембраны гепатоцитов и клеток Купфера. Кроме того, учитывая ключевую роль печени в процессах метаболизма и детоксикации, накопление пептида в этом органе может быть связано с его биотрансформацией или активным транспортом через гепатоциты. При системном введении легочный эпителий также проницаем для малых липофильных молекул [15], что подтверждается обнаружением флуоресцентного сигнала в легких. Экспериментальные исследования на мышах BALB/c продемонстрировали, что HAEE характеризуется преимущественно почечным выведением, что подтверждается тремя ключевыми наблюдениями: 1) высокой флуоресцентной интенсивностью в почках через 24 ч после введения, зарегистрированной как методом IVIS-визуализации, так и флуоресцентной микроскопией; 2) пролонгированным периодом полувыведения ( $T_{1/2} \beta = 4,39$  ч), что объясняется процессом реабсорбции в почечных канальцах; 3) быстрой начальной элиминацией ( $T_{1/2} \alpha = 0,43$  ч), свидетельствующей об отсутствии стабильных комплексов с белками плазмы крови.

В отличие от HAEE, пептид HASS обладает нейтральным зарядом и демонстрирует принципиально иные фармакокинетические характеристики. Его

Таблица 2. Сравнение фармакокинетических параметров HAEE и HASS после внутривенного введения

Параметр	HAEE	HASS
Фаза быстрой элиминации, %	93,37	96,43
$\alpha$ , ч	1,6	3,11
$\beta$ , ч	0,16	0,25
$T_{1/2}$ быстрой фазы распределения, ч	0,43	0,22
$E_{1/2}$ фазы элиминации, ч	4,39	2,76
$A_1$ быстрой фазы распределения, ф/с/см <sup>2</sup> /ср	$1,64 \times 10^9$	$2,61 \times 10^9$
$A_2$ фазы элиминации, ф/с/см <sup>2</sup> /ср	$1,16 \times 10^8$	$9,67 \times 10^7$
AUC (0→∞), ч * ф/с/см <sup>2</sup> /ср	$3,69 \times 10^9$	$1,51 \times 10^9$

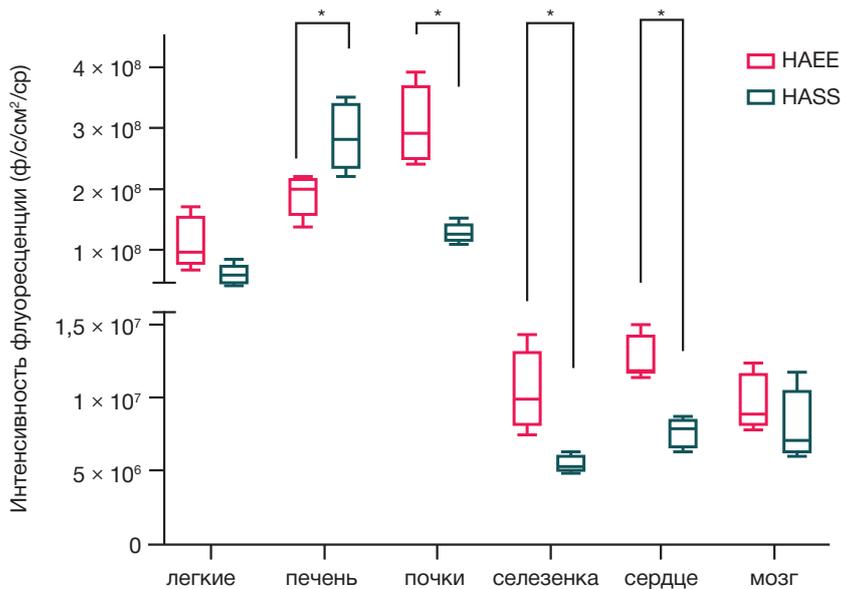


Рис. 3. *Ex vivo* анализ накопления HAEE и HASS в органах через 24 ч после внутривенного введения. \* —  $p < 0,05$ , статистическая значимость между группами с использованием критерия Манна-Уитни

пиковый флуоресцентный сигнал на 6,5% превышает аналогичный показатель HAEE, что, вероятно, обусловлено уменьшенным связыванием с тканевыми структурами. Для HASS характерна ускоренная элиминация с периодами полувыведения  $T_{1/2\alpha} = 0,22$  ч и  $T_{1/2\beta} = 2,76$  ч, обусловленная, скорее всего, активным захватом гепатоцитами. Исследования *ex vivo* через 24 ч после введения подтвердили избирательное накопление пептида в печеночной ткани.

Несмотря на схожие размеры ( $< 2$  кДа), HAEE показывает в 1,7 раз лучшую проницаемость гематоэнцефалического барьера (AUC (0→∞)), вероятно,

благодаря электростатическим эффектам и особенностям взаимодействия с транспортными системами.

Полученные результаты демонстрируют выраженные различия в органном распределении исследуемых пептидов. В частности, установлено, что HAEE преимущественно экскретируется почками, что определяет его потенциальную диагностическую ценность при почечных патологиях. В отличие от HAEE, HASS проявляет выраженную гепатоспецифичность и высокую скорость печеночного метаболизма, что позволяет рассматривать его как перспективную основу для разработки печеночно-

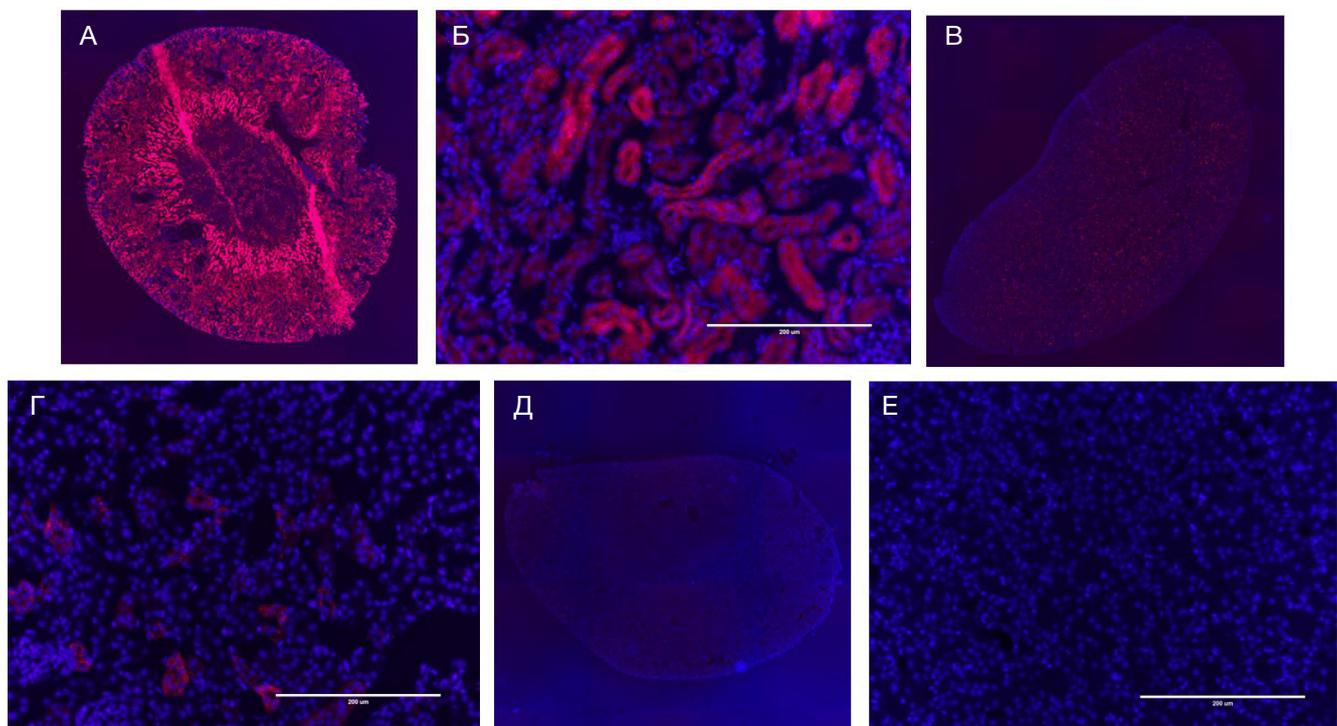
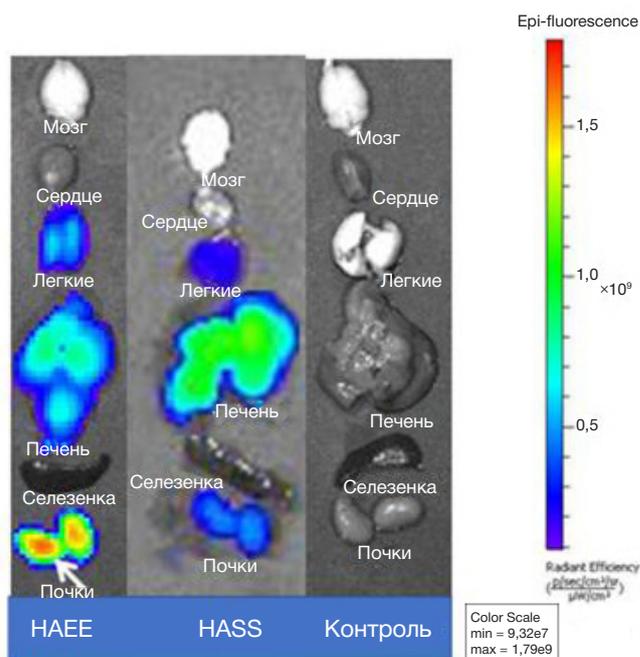


Рис. 4. Гистологический анализ тканей почек мыши после системного введения HAEE и HASS. А, Б. Локализация HAEE, меченного Су5 (красный), в почках мышей через 24 ч после внутривенного введения. А. Тотальный срез почки мыши. Б. Накопление флуоресцентных гранул в эпителиальных клетках проксимальных канальцев почки. В, Г. Локализация HASS, меченного Су5 (красный), в почках мышей через 24 ч после внутривенного введения. В. Тотальный срез почки мыши. Г. Накопление флуоресцентных гранул в эпителиальных клетках проксимальных канальцев почки. Д, Е. Почки мышей контрольной группы через 24 ч после внутривенного введения физиологического раствора. Д. Тотальный срез почки. Е. Увеличенное изображение ткани почки, полученное в результате наложения красной и синей флуоресценции. Ядра окрашены DAPI (синий). Масштабный отрезок — 200 мкм

направленных систем доставки. Присутствие метки Су5 увеличивает липофильность обоих пептидов, что способствует их проникновению через клеточные мембраны, однако ограниченное прохождение через гематоэнцефалический барьер (особенно для HASS) указывает на необходимость структурной оптимизации для нейрордиagnostических применений. Для более полного понимания механизмов биораспределения тетрапептидов требуются дополнительные исследования: 1) идентификация транспортных систем (мегалин/ОАТР (транспортный полипептид органических анионов)); 2) полный метаболический профиль в биологических жидкостях; 3) корреляция между структурными изменениями пептидов и их органным распределением.

## ВЫВОДЫ

Таким образом, проведенное сравнительное исследование выявило фундаментальные различия в поведении HAEE и HASS *in vivo*. Пептиды демонстрируют не только различную органный тропность, но и принципиально разные фармакокинетические профили (включая период полувыведения  $T_{1/2}$ ), что открывает перспективы для их дифференцированного применения в диагностике и направленной доставке лекарств. Установлено, что HAEE с коротким  $T_{1/2}$  и почечной экскрецией перспективен для разработки диагностических радиофармпрепаратов, тогда как HASS с гепатотропностью и быстрым печеночным метаболизмом представляет интерес для создания систем направленной доставки. Следует отметить, что полученные результаты были установлены на модели здоровых мышей. Эти данные требуют дальнейшего изучения на моделях



**Рис. 5.** Органная специфичность HAEE и HASS через 24 ч (IVIS). Белая стрелка указывает на почки с максимальным накоплением. Цветовая шкала: от синего (min) до красного (max)

трансгенных животных с болезнью Альцгеймера, но уже сейчас предлагают новые стратегии для комплексной терапии, сочетающей органоспецифичный транспорт пептидов и патогенетическое воздействие. Кроме того, влияние флуоресцентной метки на фармакокинетические параметры нуждается в отдельной оценке.

## Литература

- Huang LK, Kuo HY, Chen HJ, et al. Clinical trials of new drugs for Alzheimer disease: a 2020–2023 update. *J Dent Res.* 2023; 88 (3): 1–19.
- Facts D. Alzheimer's disease facts and figures report: executive summary. *Alzheimers Dement.* 2024; 20 (5): 40–42.
- Adlard PA, Bush AI. A review of  $\beta$ -amyloid neuroimaging in Alzheimer's disease. *Front Neurosci.* 2014; 8 (OCT): 1–23.
- Thies W, Bleiler L. 2011 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 2011; 7 (2): 208–44.
- Tackenberg C, Kulic L, Nitsch RM. Familial Alzheimer's disease mutations at position 22 of the amyloid  $\beta$ -peptide sequence differentially affect synaptic loss, tau phosphorylation and neuronal cell death in an *ex vivo* system. *PLoS One.* 2020; 15 (9): 1–14.
- Hayne DJ, Lim S, Donnelly PS. Metal complexes designed to bind to amyloid- $\beta$  for the diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. *Chem Soc Rev.* 2014; 43 (19): 6701–15.
- Carroll CM, Li YM. Physiological and pathological roles of the  $\gamma$ -secretase complex. *Brain Res Bull.* 2016; 126: 199–206.
- Haass C, Selkoe DJ. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid  $\beta$ -peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2007; 8 (2): 101–12.
- Citron M. Alzheimer's disease: strategies for disease modification. *Nat Rev Drug Discov.* 2010; 9 (5): 387–98.
- Masters CL, Simms G, Weinman NA, et al. Molecular mechanisms for Alzheimer's disease: implications for neuroimaging and therapeutics. *J Neurochem.* 2006; 97 (6): 1700–25.
- Masters CL, Beyreuther K. Science, medicine, and the future: Alzheimer's disease. *BMJ.* 1998; 316 (7129): 446.
- Hippius H, Neundörfer G. The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci.* 2003; 5 (1): 101–8.
- Zolotarev YA, Dadayan AK, Bocharov EV, et al. Pharmacokinetics and molecular modeling indicate nAChR $\alpha$ 4-derived peptide HAEE goes through the blood-brain barrier. *Biomolecules.* 2021; 11 (6): 902.
- Maack T, Johnson V, Kau ST, et al. Renal filtration, transport, and metabolism of low-molecular-weight proteins: a review. *Kidney Int.* 1979; 16 (3): 251–70.
- Agu RU, Ugwoke MI, Armand M, et al. The lung as a route for systemic delivery of therapeutic proteins and peptides. *Respir Res.* 2001; 2 (4): 198–209.
- Alzheimer's disease. *Front Neurosci.* 2014; 8 (OCT): 1–23.
- Thies W, Bleiler L. 2011 Alzheimer's disease facts and figures. *Alzheimers Dement.* 2011; 7 (2): 208–44.
- Tackenberg C, Kulic L, Nitsch RM. Familial Alzheimer's disease mutations at position 22 of the amyloid  $\beta$ -peptide sequence differentially affect synaptic loss, tau phosphorylation and neuronal

- cell death in an ex vivo system. *PLoS One*. 2020; 15 (9): 1–14.
6. Hayne DJ, Lim S, Donnelly PS. Metal complexes designed to bind to amyloid- $\beta$  for the diagnosis and treatment of Alzheimer's disease. *Chem Soc Rev*. 2014; 43 (19): 6701–15.
  7. Carroll CM, Li YM. Physiological and pathological roles of the  $\gamma$ -secretase complex. *Brain Res Bull*. 2016; 126: 199–206.
  8. Haass C, Selkoe DJ. Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid  $\beta$ -peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2007; 8 (2): 101–12.
  9. Citron M. Alzheimer's disease: strategies for disease modification. *Nat Rev Drug Discov*. 2010; 9 (5): 387–98.
  10. Masters CL, Simms G, Weinman NA, et al. Molecular mechanisms for Alzheimer's disease: implications for neuroimaging and therapeutics. *J Neurochem*. 2006; 97 (6): 1700–25.
  11. Masters CL, Beyreuther K. Science, medicine, and the future: Alzheimer's disease. *BMJ*. 1998; 316 (7129): 446.
  12. Hippus H, Neundörfer G. The discovery of Alzheimer's disease. *Dialogues Clin Neurosci*. 2003; 5 (1): 101–8.
  13. Zolotarev YA, Dadayan AK, Bocharov EV, et al. Pharmacokinetics and molecular modeling indicate nAChR $\alpha$ 4-derived peptide HAEE goes through the blood-brain barrier. *Biomolecules*. 2021; 11 (6): 902.
  14. Maack T, Johnson V, Kau ST, et al. Renal filtration, transport, and metabolism of low-molecular-weight proteins: a review. *Kidney Int*. 1979; 16 (3): 251–70.
  15. Agu RU, Ugwoke MI, Armand M, et al. The lung as a route for systemic delivery of therapeutic proteins and peptides. *Respir Res*. 2001; 2 (4): 198–209.