

## ФАРМАКОКИНЕТИКА

### ОЦЕНКА ЛИНЕЙНОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ФЕНОЛЬНОГО АНТИОКСИДАНТА 4-МЕТИЛ-2,6-ДИИЗОБОРНИЛФЕНОЛА ПРИ ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ ВВЕДЕНИИ

В. И. Смольякова<sup>1</sup>, Г. А. Чернышева<sup>1</sup>, Е. А. Яновская<sup>1</sup>, Р. В. Гурто<sup>1</sup>,  
А. В. Кучин<sup>2</sup>, И. Ю. Чукичева<sup>2</sup>, В. В. Удуд<sup>1</sup>, М. Б. Плотников<sup>1</sup>

Проведены исследования линейности фармакокинетики 4-метил-2,6-диизоборнилфенола после его однократного внутрижелудочного введения крысам в дозах 10 – 200 мг/кг. Показано, что фармакокинетика 4-метил-2,6-диизоборнилфенола не является линейной вследствие ограниченной абсорбции препарата из кишечника.

**Ключевые слова:** 4-метил-2,6-диизоборнилфенол; фармакокинетика; линейность; абсорбция

#### ВВЕДЕНИЕ

4-Метил-2,6-диизоборнилфенол (ИБФ) — эффективный антиоксидант, синтезированный в Институте химии Коми НЦ УрО РАН, обладающий мультимодальной активностью — гемореологической, эндотелийпротекторной, антитромбоцитарной, антитромбогенной [5, 6]. По химической структуре ИБФ представляет пространственно затрудненное фенольное соединение. Проведенные ранее исследования фармакокинетики препарата показали, что препарат быстро проникает в интенсивно перфузируемые органы и достаточно медленно выводится из плазмы с  $k_{el}$  равной  $0,1 \text{ ч}^{-1}$  [9].

В рамках доклинических исследований фармакокинетики соединения обязательным этапом является исследование линейности фармакокинетической модели, так как это позволяет оценить предсказуемость концентрации препарата в ответ на изменение дозы.

Цель исследования — проверка гипотезы линейности фармакокинетики 4-метил-2,6-диизоборнилфенола при однократном внутрижелудочном введении.

#### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проведено на 240 крысах-самцах линии Вистар массой 380 – 420 г, полученных из отдела экспериментальных биологических моделей ФГБУ “НИИ фармакологии имени Е. Д. Гольдберга” СО РАМН. Эксперименты на животных выполнены в со-

ответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей [10].

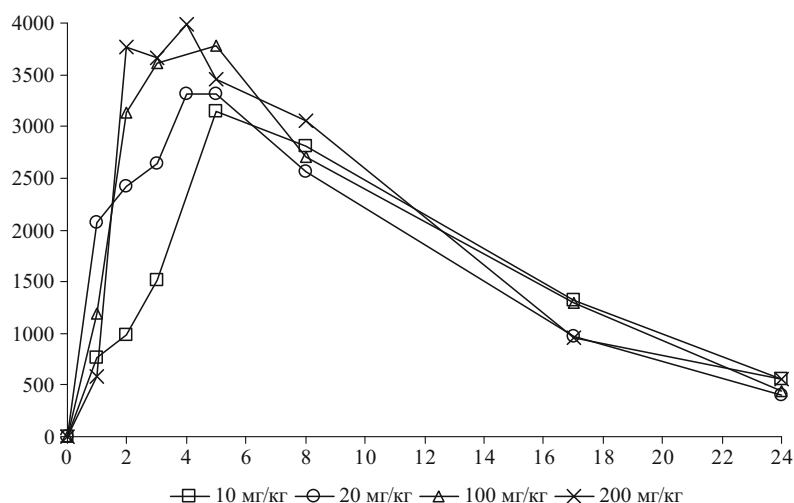
ИБФ вводили крысам внутрижелудочно в виде взвеси в крахмальной слизи в дозах 10, 20, 100 и 200 мг/кг в объеме 1 мл. Забор крови у крыс в объеме 12 мл для получения плазмы осуществляли под эфирным наркозом из общей сонной артерии после предварительного внутривенного введения гепарина в дозе 1500 ЕД/кг, после чего проводили эвтаназию животных передозировкой эфира. Кровь забирали через 1, 2, 3, 5, 8, 17, 24 ч после внутрижелудочного введения ИБФ в дозах 10 и 100 мг/кг, через 1, 2, 3, 4, 5, 8, 17 и 24 ч после внутрижелудочного введения ИБФ в дозах 20 и 200 мг/кг (по 8 животных на точку). Плазму получали центрифугированием крови при 3000 об/мин. Для анализа использовали биоматериал в количестве 4 мл.

Подготовка биологического материала включала стадии денатурации белка термическим способом (30 мин на кипящей водяной бане) и гомогенизации с добавлением 2 мл изотонического раствора натрия хлорида, после чего отделяли супернатант центрифугированием (3000 об/мин, 10 мин). Для экстрагирования ИБФ к супернатанту добавляли смесь хлороформ-изопропиловый спирт-ортофосфорная кислота (9:1:0,15, v/v/v) в соотношении 1:1, встряхивали в течение 20 мин и центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин. Органический слой отбирали и высушивали в токе азота при 45 °С. Сухой остаток растворяли в 100 мкл смеси гексан-изопропиловый спирт-ацетонитрил (3:5:2, v/v/v), фильтровали через фильтр 0,45 мкм (Millipore, Германия) и 5 мкл использовали для хроматографии.

Анализ проводили на хроматографе Милихром А-02 с фотометрическим детектором при  $\lambda = 210 \text{ нм}$  в

<sup>1</sup> Лаборатория фармакологии кровообращения (зав. — проф. М. Б. Плотников); лаборатория физиологии, молекулярной и клинической фармакологии (зав. — член-корр. РАМН В. В. Удуд) ФГБУ “НИИ фармакологии имени Е. Д. Гольдберга” СО РАМН, 634028, Томск, пр. Ленина, 3.

<sup>2</sup> Лаборатория органического синтеза и химии природных соединений (зав. — член-корр. РАН А. В. Кучин) ФГБУН Институт химии Коми НЦ УрО РАН, 167982, Сыктывкар, ул. Первомайская, 48.



**Рис. 1.** Содержание 4-метил-2,6-диизоборнилфенола в плазме крови крыс после однократного внутрижелудочного введения в дозах 10, 20, 100 и 200 мг/кг. По оси абсцисс — время, ч; по оси ординат — концентрация, нг/мл.

соответствии с максимумом поглощения ИБФ. Использовали хроматографическую колонку ProntoSIL — 120-5-C18 AQ  $2 \times 75$  мм, скорость потока 100 мкл/мин. Элюирование проводили подвижной фазой ацетонитрил-вода (95:5, v/v) в изократическом режиме. Количественное содержание ИБФ определяли методом абсолютной калибровки. Для построения калибровочных кривых в интактную плазму добавляли раствор ИБФ в диапазоне от 1 до 1500 мкг/мл. Калибровочный график описывается линейной функцией  $y = 2,834x$ , коэффициент корреляции составляет 0,9914.

Оценку параметров фармакокинетики проводили модельным способом. С учетом ранее полученных сведений [9] об интенсивном обмене ИБФ между центральным и периферическим компартментами организма (полупериод распределения составляет 0,007 ч),

для упрощения расчетов фармакокинетических параметров вместо двухкамерной модели использовали более простую однокамерную модель. Расчет констант и предэкспоненциальных множителей производили методом остатков [2, 4, 7, 8].

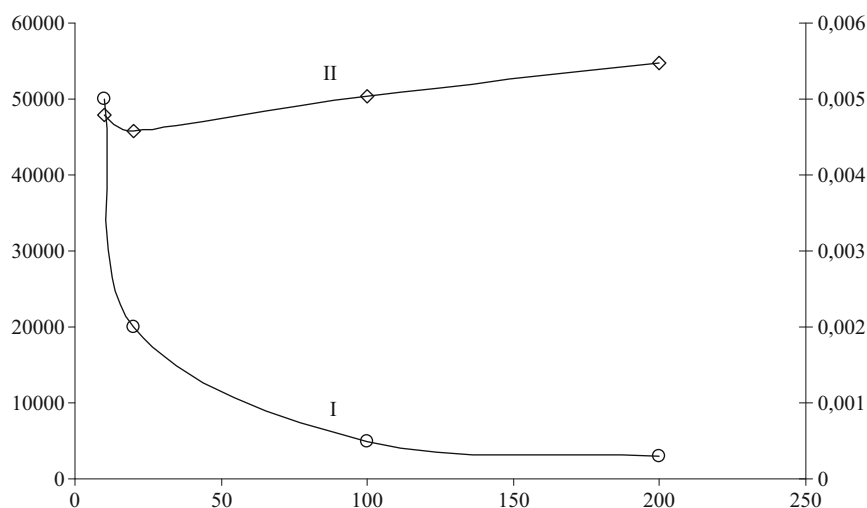
Статистическую обработку результатов проводили с помощью программы Microsoft Excel. Рассчитывали среднее значение, стандартную ошибку, для выявления межгрупповых различий использовали  $t$ -критерий Стьюдента [8].

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Концентрационные профили ИБФ в плазме крыс после его внутрижелудочного введения в дозах 10, 20, 100 и 200 мг/кг представлены на рис. 1. Параметры однокамерной модели и основные фармакокинетические параметры приведены в таблице.

**Параметры фармакокинетики 4-метил-2,6-диизоборнилфенола после однократного внутрижелудочного введения крысам в дозах 10, 20, 100 и 200 мг/кг в виде взвеси в крахмальной слизи**

Параметры	Дозы, мг/кг			
	10	20	100	200
A	6400	6900	7008	6860
$K\alpha$ , ч <sup>-1</sup>	0,45	0,45	0,50	0,55
$K_{el}$ , ч <sup>-1</sup>	0,103	0,113	0,109	0,102
$t_{max}$ , ч	4,2	4,1	3,9	3,8
$C_{max}$ , нг/мл	2681	3251	3584	3807
$T_{1/2}$ абс, ч	1,5	1,5	1,4	1,3
$T_{1/2}$ эл, ч	6,7	6,1	6,4	6,8
MRT, ч	11,9	11,1	11,2	11,6
$V_d$ , мл/кг	516,7	472,0	492,7	536,9
Cl, мл/(кг·ч)	53,2	53,3	53,7	54,8
F, %	25,5	12,2	2,7	1,5
AUC, нг · ч/мл	47913,4	45728,6	50277,6	54782,2
AUMC, нг · ч <sup>2</sup> /мл	571659,1	506297,4	561817,3	636684,9
AUC/D, кг · ч · мл <sup>-1</sup>	0,005	0,002	0,0005	0,0003



**Рис. 2.** Графики зависимостей  $AUC/D$  от дозы (I) и  $AUC$  от дозы (II) для однократного внутривенного введения 4-метил-2,6-диизоборнилфенола в дозах 10 – 200 мг/кг. По оси абсцисс —  $D$ , мг/кг; по оси ординат (основной) —  $AUC$ , по оси ординат (вспомогательной) —  $AUC/D$ .

При введении ИБФ в исследованных дозах существенных различий в значениях фармакокинетических параметров не отмечено: сохраняли свое значение константа элиминации  $K_{el}$ , среднее время удерживания  $MRT$ , объем распределения  $V_d$ , общий клиренс  $Cl$  (таблица).

Для проверки линейности фармакокинетики исследуемого препарата проводят сравнение фармакокинетических кривых, полученных при введении его в различных дозах. При этом если отклонение фармакокинетических кривых, нормированных относительно дозы, не носит систематического характера, то соблюдается принцип суперпозиции, то фармакокинетика имеет линейный характер. Увеличение вводимой дозы ИБФ не приводило к адекватному увеличению площади под фармакокинетической кривой  $AUC$ : при различии доз на порядок  $AUC$  различались не более, чем на 20 %. Это свидетельствует о том, что при введении любой из исследованных доз, системной циркуляции достигает количество вещества, не пропорциональное введенной дозе. Следовательно, при нормировании площади под фармакокинетической кривой относительно дозы ( $AUC/D$ ) принцип суперпозиции не соблюдается (кривая I на рис. 2).

Кинетика всасывания большинства лекарственных веществ имеет первый порядок вследствие значительного концентрационного градиента между количеством в кишечнике и крови, при этом увеличение вводимой дозы приводит к возрастанию градиента и соответствующему повышению скорости всасывания и величины абсорбции вещества. Увеличение градиента концентрации ИБФ при повышении дозы от 10 до 100 – 200 мг/кг приводит к определенному ускорению процессов всасывания вещества: на 22 % возрастает коэффициент абсорбции, на 34 – 42 % — максимальная концентрация препарата в плазме и на 10 % — скорость ее достижения, на 5 – 20 % — площадь под

фармакокинетической кривой (таблица, рис. 2, кривая II). В то же время, увеличение градиента концентрации в месте всасывания при повышении дозы не приводит к адекватному увеличению абсорбции препарата: при введении 10, 20, 100 и 200 мг/кг системной циркуляции достигает соответственно 2,5; 2,4; 2,7 и 3 мг ИБФ. График зависимости  $AUC/D$  — доза для ИБФ отклоняется вниз от графика зависимости в случае линейности фармакокинетики. Это может быть обусловлено следующими причинами.

Во-первых, ИБФ обладает выраженными гидрофобными свойствами, что делает невозможным его перемещение по кровеносному руслу без участия переносчика. По аналогии с транспортом жирорастворимых биологически активных веществ в организме, осуществляемым липопротеидами плазмы крови [3], наиболее вероятной транспортной формой для ИБФ также являются липопротеиды. Растворимость ИБФ в жирах не превышает 3 – 5 %, поэтому возможно развитие насыщения процесса связывания молекул ИБФ переносчиком, что может существенно ограничить абсорбцию соединения.

Во-вторых, известно, что вещества с выраженными гидрофобными свойствами могут испытывать значительные трудности при абсорбции из кишечника вследствие необходимости преодоления водного слоя, выстилающего стенку кишечника, а также проблемы перехода из липидной среды клеточных мембран в водную среду плазмы крови [1, 4]. Следовательно, ограниченная биодоступность ИБФ при пероральном введении может быть обусловлена также затрудненной абсорбцией соединения из кишечника.

## ВЫВОД

Фармакокинетика 4-метил-2,6-диизоборнилфенола при однократном внутривенном введении в диапазоне доз от 10 до 200 мг/кг не является линейной

вследствие ограниченной абсорбции препарата из кишечника.

## ЛИТЕРАТУРА

1. О. М. Ипатова, Т. И. Торховская, Н. В. Медведева и др., *Биомедицинская химия*, **56**(1), 101 – 119 (2010).
2. Н. Н. Каркищенко, В. В. Хоронько, С. А. Сергеева, В. Н. Каркищенко, *Фармакокинетика*, Феникс, Ростов-на-Дону (2001).
3. А. Н. Климов, Н. Г. Никульчева, *Обмен липидов и липопротеидов и его нарушения*, Литер, Санкт-Петербург (1999).
4. И. И. Мирошниченко, *Основы фармакокинетики*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2002).
5. М. Б. Плотников, В. И. Смольякова, И. С. Иванов и др., *Бюл. экспер. биол.*, **145**(3), 296 – 298 (2008).
6. М. Б. Плотников, В. И. Смольякова, И. С. Иванов и др., *Бюл. экспер. биол.*, **148**(6), 660 – 663 (2010).
7. В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева, *Математическая статистика в клинических исследованиях*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2001).
8. В. И. Сергиенко, И. Б. Бондарева, Р. Джеллифф, *Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение*, Изд. РАМН, Москва (2003).
9. Г. А. Чернышева, В. И. Смольякова, М. Б. Плотников и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **74**(9), 20 – 22 (2011).
10. *European Convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purposes*, ETS № 123, Strasbourg (1986).

Поступила 02.10.13

## EVALUATION OF THE LINEARITY OF PHARMACOKINETICS OF THE PHENOLIC ANTIOXIDANT 4-METHYL-2,6-DIISOBORNYPHENOL UPON INTRAGASTRIC ADMINISTRATION

V. I. Smol'yakova<sup>1</sup>, G. A. Chernysheva<sup>1</sup>, E. A. Yanovskaya<sup>1</sup>, R. V. Gurto<sup>1</sup>, A. V. Kuchin<sup>2</sup>,  
I. Yu. Chukicheva<sup>2</sup>, V. V. Udut<sup>1</sup>, and M. B. Plotnikov<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Laboratory of Circulation Pharmacology, Laboratory of Physiology, Molecular and Clinical Pharmacology, Goldberg Institute of Pharmacology, Siberian Branch, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Lenina 3, Tomsk, 634028, Russia

<sup>2</sup> Laboratory of Organic Synthesis and Chemistry of Natural Compounds, Institute of Chemistry, Komi Scientific Center, Ural Branch, Russian Academy of Sciences, ul. Pervomaiskaya 48, Syktyvkar, 167982, Russia

The linearity of pharmacokinetics of 4-methyl-2,6-diisobornylphenol after single intragastric administration in doses within 10 – 200 mg/kg has been studied in rats. It has been established that pharmacokinetics of 4-methyl-2,6-diisobornylphenol in the indicated dose range is not linear due to a limited absorption of the drug from the intestine.

**Keywords:** 4-methyl-2,6-diisobornylphenol; pharmacokinetics; linearity; absorption