

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ И ОБЕЗБОЛИВАЮЩИЕ СВОЙСТВА НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ИМИДАЗОБЕНЗИМИДАЗОЛА — СОЕДИНЕНИЯ РУ-1205 — С КАППА-АГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ В ТАБЛЕТИРОВАННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ

А. А. Спасов^{1, 3}, Л. А. Смирнова^{2, 3}, О. Ю. Гречко¹, А. И. Раценко¹,
Д. М. Штарева¹, В. А. Анисимова⁴

Установлены фармакокинетические свойства производного имидазобензимидазола — соединения РУ-1205 — при введении внутрь кроликам в виде субстанции и гранулята таблеток, покрытых оболочкой в дозе 50 мг/кг. Установлено, что для таблетированной лекарственной формы изучаемого вещества характерны высокие значения относительной биодоступности ($105,3 \pm 11,7\%$). В тестах “горячая пластина” и “уксусные корчи” показано, что лекарственная форма и субстанция исследуемого вещества оказывают одинаковый анальгетический эффект. Гранулят соединения РУ-1205 оказывал максимум обезболивающей активности ($138,8\%$ по отношению к контролю) к 4 ч исследования и сохранял большее значение анальгетического эффекта до 12 ч эксперимента по сравнению с субстанцией (в среднем на 58% , $p \leq 0,05$).

Ключевые слова: фармакокинетика; фармакодинамика; анальгезия; соединение РУ-1205; бензимидазол; относительная биодоступность; горячая пластина; твердая лекарственная форма.

ВВЕДЕНИЕ

Используемые в клинической практике опиоидные анальгетики имеют ряд побочных эффектов (зависимость, угнетение центра дыхания, седативный и снотворный эффекты и т.д.). Поэтому создание лекарственных препаратов с наименьшим количеством нежелательных эффектов весьма актуально. Одним из направлений разработки новых анальгетических средств является поиск соединений, обладающих к-агонистической активностью [6]. В ранее проведенных исследованиях было показано, что производное морфолиноэтилимидазобензимидазола, соединение РУ-1205, является агонистом каппа-опиоидных рецепторов и проявляет обезболивающие свойства [2]. В результате исследований фармакокинетических свойств субстанции соединения РУ-1205 установлено, что абсолютная биодоступность при введении внутрь для данного вещества составляет $44,17\%$ [1]. К уже известным препаратам с подобным механизмом действия относится буторфанол тартрат. Однако при пероральном применении он подвергается активному метаболизму, теряя, таким образом, анальгетическую активность. В связи с

этим он используется только в инъекционной лекарственной форме [7]. Поэтому представляет интерес создание подобных препаратов для введения внутрь.

Целью работы явилось исследование фармакокинетических и обезболивающих свойств соединения РУ-1205 при введении внутрь в виде таблетированной лекарственной формы в сравнении с субстанцией.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Субстанция соединения РУ-1205-9-(2-морфолиноэтил)-2-(4-фторфенил)имидазо[1,2- α]бензимидазол — синтезирована в НИИ ФОХ Южного федерального университета (Патент РФ № 2 413 512 С1 от 29.07.2009 г.). Содержание чистого вещества — не менее $99,46\%$ [4]. Таблетки, покрытые оболочкой, и гранулят для приготовления таблеток состава: 9-(2-морфолиноэтил)-2-(4-фторфенил)имидазо[1,2- α]бензимидазол — 0,011; лактоза — 0,02; лудипресс — 0,1669; магния стеарат — 0,002, разработаны и изготовлены в ГБУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” РАМН, г. Москва.

Фармакокинетическое исследование субстанции и гранулята таблеток соединения РУ-1205 проводили на 10 кроликах-самцах породы шиншилла массой $2,5 - 3$ кг (питомник РАМН, Москва). Изучение уровня обезболивающего эффекта выполняли на 98 самцах белых мышей массой $25 - 30$ г с использованием теста “уксусные корчи” [9]. Продолжительность анальгезии оценивали в тесте “горячая пластина” на 102 белых мышцах-самцах массой $25 - 30$ г [8]. Животных содер-

¹ ВолгГМУ, Волгоград, 400131, пл. Павших Борцов, 1.

² НИИ Фармакологии ВолгГМУ, Волгоград, 400131, пл. Павших Борцов, 1.

³ Волгоградский Медицинский Научный Центр, Волгоград, 400131, пл. Павших Борцов, 1.

⁴ НИИ физической и органической химии Южного федерального университета, Ростов-на-Дону, 344090, пр. Стачки, 194/2.

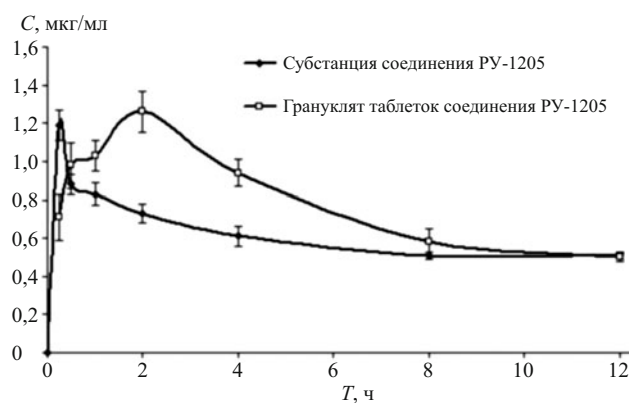


Рис. 1. Содержание соединения РУ-1205 в плазме крови кроликов при его введении внутрь в виде гранулята таблеток по сравнению с субстанцией ($n = 5$; $x \pm SD$). Обозначения: по оси абсцисс — время (ч), по оси ординат — концентрация мкг/мл.

жали в условиях вивария на стандартном корме с соблюдением правил лабораторной практики при проведении доклинических исследований в РФ (ГОСТ 3 51000.3 – 96 и 1000.4 – 96), а также правил и Международных рекомендаций Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых при экспериментальных исследованиях (1997). За 12 ч до эксперимента животные не получали корм без ограничения доступа к воде [5].

Количественное определение изучаемого соединения в плазме крови проводили по ранее разработанному методу [2]. В работе использовали высокоэффективный жидкостной хроматограф Shimadzu (Япония) с УФ-детектором при $\lambda = 205$ нм, аналитическая колонка SUPELCOSIL LC-18 (5 мкм; 100 мм \times 4,6 мм), температура хроматографирования 50 °С. Мобильная фаза включала ацетонитрил (J. T. Baker, США) и буферную систему, состоящую из однозамещенного

Фармакокинетические параметры гранулята таблеток соединения РУ-1205 в сравнении с субстанцией после однократного введения внутрь кроликам в дозе 50 мг/кг ($M \pm m$)

Фармакокинетический параметр	Субстанция	Гранулят таблеток
AUC , (мкг/мл) \cdot ч	14,7 \pm 1,2	15,6 \pm 1,4
$T_{1/2}$, ч	10,0 \pm 1,25	7,6 \pm 2,4
K_{el}	0,07 \pm 0,01	0,09 \pm 0,02
MRT , ч	7,3 \pm 0,3	6,0 \pm 0,9*
Cl , л/ч/кг	3,4 \pm 0,3	3,2 \pm 0,3
V_d , л/кг	49,2 \pm 2,3	34,8 \pm 7,5*
$F_{отн}$, %	-	105,3 \pm 11,7

Примечание: AUC — площадь под фармакокинетической кривой; $T_{1/2}$ — период полувыведения; K_{el} — константа элиминации; MRT — среднее время удерживания одной молекулы в организме животных; Cl — клиренс; V_d — кажущийся объем распределения; $F_{отн}$ — относительная биодоступность.

* Статистически значимо по отношению к группе животных, которым вводили субстанцию соединения РУ-1205 ($p \leq 0,05$) по t -критерию Стьюдента.

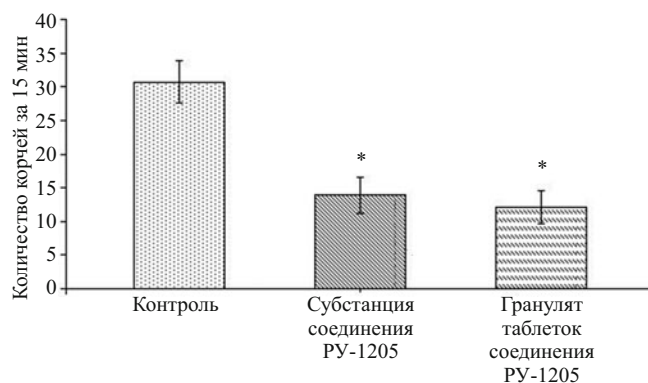


Рис. 2. Влияние соединения РУ-1205 после введения внутрь в виде субстанции или гранулята таблеток на развитие укусных корчей у мышей через 1 ч в ответ на инъекцию 0,6 % уксусной кислоты внутривенно в объеме 0,1 мл/10 г животного ($M \pm m$).

* Статистически значимо по отношению к контролю ($p \leq 0,05$), тест Манна-Уитни.

фосфата калия 50 мМ рН = 5,0 в соотношении 1:1. Для калибровочного графика строили график зависимости стандартных концентраций (0,5; 1; 5; 10; 25 мкг/мл) от площадей хроматографических пиков по методу абсолютных стандартов. На каждую точку брали по 5 калибровочных растворов. Коэффициент аппроксимации $R^2 = 0,9975$. Чувствительность разработанного метода составила 1 мкг/мл. Средняя ошибка измерения не превышала 10 %.

Введение кроликам раствора изучаемой субстанции соединения РУ-1205 (растворитель — вода дистиллированная, концентрация — 1 %, объем — 12,5 мл) и гранулята таблеток осуществляли однократно внутрь в одинаковой дозе 50 мг/кг с помощью зонда. Пробы крови отбирали из краевой вены уха кролика с помощью иглы (0,8 \times 40 мм) в течение 12 ч после введения в дискретные интервалы времени 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 12 ч. На каждый временной интервал использовали по 5 животных. Для одновременной преципитации белков и извлечения анализируемого вещества к плазме крови добавляли ацетонитрил в соотношении 1:1 (v:v). Все эксперименты выполняли согласно заключению этической экспертизы (протокол № 155 – 2012 от 23 марта 2012 года, Региональный Независимый Этический Комитет).

Обезболивающее действие определяли в тесте “укусные корчи”. Химическое раздражение брюшины мышей производили путем внутривенного введения 0,6 % уксусной кислоты в объеме 0,1 мл/10 г массы животного. В течение 15 мин после введения кислоты подсчитывали количество корчей, проявляющихся характерными потягиваниями. Раствор субстанции соединения РУ-1205 и гранулят для таблеток вводили внутрь в дозе 5 мг/кг за 1 ч до введения уксусной кислоты. Об анальгетическом действии судили по уменьшению количества “корчей” за период регистрации данной поведенческой реакции.

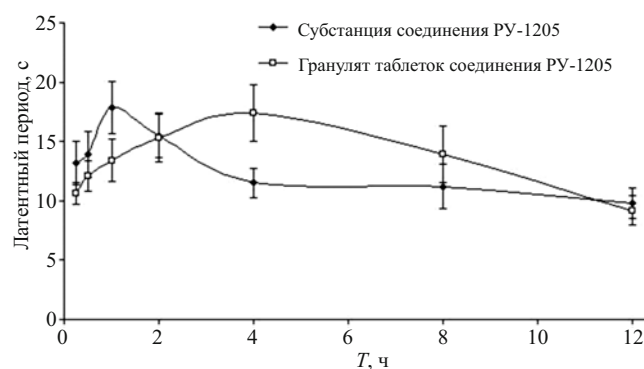


Рис. 3. Влияние соединения РУ-1205 после введения внутрь мышам в виде субстанции или гранулята таблеток в дозе 5 мг/кг на продолжительность обезболивающего эффекта в тесте “горячая пластина” ($M \pm m$). По оси абсцисс — время (ч), по оси ординат — изменение уровня активности (%).

* Статистически значимо по отношению к группе, которой вводили субстанцию соединения РУ-1205 ($p \leq 0,05$) тест Манна-Уитни.

В тесте “горячая пластина” субстанцию и таблеточную массу вводили внутрь в дозе 5 мг/кг. Через 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 и 12 ч после инъекции животных помещали на медную пластину, являющуюся дном пластикового цилиндра диаметром 15 см, с заранее установленной температурой (55 °С). При этом фиксировали латентное время появления ноцицептивной реакции. Об уровне анальгетического эффекта судили по изменению латентного периода, по сравнению с контролем.

Полученные экспериментальные данные статистически обработаны с помощью программы Microsoft Excel 2003 и GraphPad Prism 5.0 с использованием непараметрического метода сравнения независимых групп Манна-Уитни (U-test), рангового однофакторного анализа Краскела-Уоллиса. Уровень значимости $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Фармакокинетическая кривая соединения РУ-1205 в виде твердой лекарственной формы при введении внутрь представлена в сравнении с фармакокинетической кривой, полученной при введении внутрь субстанции (рис. 1). Основные фармакокинетические параметры таблетированной лекарственной формы и субстанции соединения РУ-1205 при введении кроликам внутрь приведены в таблице.

При введении внутрь субстанции РУ-1205 соединение быстро всасывается. Фармакокинетическая кривая вещества носит моноэкспоненциальный характер. Максимальная концентрация (1,19 мкг/мл) наблюдается к 15 мин после введения. Затем происходит резкое снижение содержания вещества в плазме, и к 12 ч исследования оно составляет 0,51 мкг/мл.

Соединение РУ-1205 в виде гранулята таблеток всасывается медленнее и достигает максимальной концентрации (1,26 мкг/мл) через 2 ч после введения. Затем содержание исследуемого соединения в плазме

кроликов плавно уменьшается и к 12 ч эксперимента составляет 0,5 мкг/мл. Фармакокинетическая кривая носит моноэкспоненциальный характер.

При исследовании анальгетических свойств субстанции и гранулята таблеток соединения РУ-1205 установлено, что через 1 ч после введения отмечается обезболивающий эффект (рис. 2). Так, при изучении субстанции количество корчей, вызываемых внутрибрюшинным введением 0,6 % уксусной кислоты, уменьшалось на 54,7 %, при введении гранулята — на 60,6 % по отношению к контрольной группе.

Продолжительность обезболивающего эффекта субстанции и гранулята таблеток соединения РУ-1205 представлена на рис. 3. В обоих случаях продолжительность действия исследуемого вещества ограничивалась 12 ч. При введении субстанции максимальный эффект наблюдается к 1 ч после введения, затем резко снижается и выходит на плато.

При введении гранулята таблеток соединения РУ-1205 болевой порог мышей постепенно повышается и к 4 ч эксперимента достигает пика. Снижение антиноцицептивного эффекта происходит плавно, и уровень активности соединения с 4 по 12 ч эксперимента выше, чем при введении субстанции.

Таким образом, при проведении биофармацевтического анализа установлено, что разработанная пероральная лекарственная форма является биоэквивалентной по отношению к субстанции, не препятствует высвобождению и всасыванию лекарственных веществ в желудочно-кишечном тракте и имеет высокий показатель относительной биодоступности. Для сравнения, применяемый в клинике агонист капса-опиоидных рецепторов буторфанол тартрат в экспериментах на животных имеет низкое значение биодоступности при введении внутрь, составляющее менее 10 %, и используется поэтому только в виде инъекционных лекарственных форм [7].

Уровень анальгетической активности соединения РУ-1205 в опытах на экспериментальных животных не отличается при введении внутрь гранулята таблеток и при введении внутрь субстанции.

ВЫВОДЫ

1. Относительная биодоступность таблетированной лекарственной формы соединения РУ-1205 в опытах на экспериментальных животных составляет $105,3 \pm 11,7$ %.

2. Гранулят соединения РУ-1205 проявляет максимум (138,8 % по отношению к контролю) обезболивающей активности к 4 ч исследования и сохраняет большее значение анальгетического эффекта (в среднем на 58 % по сравнению с субстанцией, $p \leq 0,05$) до 12 ч эксперимента.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Спасов, Л. А. Смирнова, А. И. Ращенко, *Эксперим. и клин. фармакол.*, 77(1), 17 – 19 (2014).

2. Д. М. Чикун, Н. В. Елисева, *Сб. материалов IV Всероссийского научно-практического семинара молодых ученых с международным участием "Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств"*, Волгоград (2012), сс. 138 – 139.
3. Л. А. Смирнова, А. И. Рашченко, А. Ф. Рябуха и др., *Волгоград. научно-мед. журн.*, № 2, 15 – 17 (2012).
4. Патент РФ № 2 413 512 С1 (2009).
5. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А. Н. Миронов (ред.), ЗАО "Триф и К", Тула (2012).
6. B. Kivell, T. E. Prinszano, *Psychopharm.*, **210**(2), 109 – 119 (2010).
7. D. S. Guzman, K. Flamer, J. R. Paul-Murphy, et. al., *J. Avian. Med. Surg.*, **25**(3), 185 – 191 (2011).
8. I. Kitchen, *J. Pharmacol. Methods*, **13**(1), 1 – 7 (1985).
9. R. Köster, *Offentl Gesundheitswes.*, **39**(7), 387 – 393 (1977).

Поступила 03.04.14

PHARMACOKINETIC AND ANALGESIC PROPERTIES OF TABLETIZED DOSAGE FORM OF RU-1205—NEW IMIDAZOBENZIMIDAZOLE DERIVATIVE WITH KAPPA AGONIST ACTIVITY

A. A. Spasov^{1,3}, L. A. Smirnova^{2,3}, O. Yu. Grechko¹, A. I. Rashchenko¹, D. M. Shtareva¹, and V. A. Anisimova⁴

¹ Department of Pharmacology, Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131 Russia

² Laboratory of Pharmacokinetics, Institute of Pharmacology, Volgograd State Medical University, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131, Russia

³ Laboratory of Experimental Pharmacology, Volgograd State Medical Research Center, Russian Academy of Sciences, pl. Pavshikh Bortsov 1, Volgograd, 400131, Russia

⁴ Laboratory of Synthesis of Biologically Active Compounds, Institute of Physical and Organic Chemistry, South Federal University, prosp. Stachki 194/2, Rostov-on-Don, 344090 Russia

The pharmacokinetic properties of a new imidazobenzimidazole derivative, compound RU-1205, were studied after peroral administration to rabbits at a dose of 50 mg/kg as a parent substance and in coated tablet dosage form. It was found that RU-1205 tablets are characterized by high values of the relative bioavailability ($105.3 \pm 11.7\%$). The results of hot-plate and vinegar-cramp tests showed that both the dosage form and parent substance produced the same analgesic effect. Granulated RU-1205 produced maximum analgesic effect (138.8% relative to control) within 4-h investigation and retained higher analgesic activity compared to that of parent substance (on the average by 58%, $p < 0.05$) up to 12 h.

Keywords: pharmacokinetics; pharmacodynamics; analgesia; compound RU-1205; benzimidazole derivative; relative bioavailability; hot plate test; solid dosage form