

ФАРМАКОКИНЕТИКА

DOI: 10.30906/0869-2092-2019-82-4-37-40

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОКИНЕТИКА НОВОГО АНКСИОЛИТИКА ГМЛ-1 У РАЗЛИЧНЫХ ВИДОВ ЖИВОТНЫХ

А. А. Новицкий¹, П. О. Бочков¹, Р. В. Шевченко¹, О. Г. Грибакина¹,
Г. Б. Колыванов¹, В. П. Жердев¹, В. В. Смирнов^{2, 3}, А. А. Литвин¹

Изучена фармакокинетика нового анксиолитика ГМЛ-1 (N-бензил-N-метил-1-фенилпирроло[1,2-*a*]пиазин-3-карбоксамид) у крыс и кроликов после однократного внутривенного введения в дозах 10 и 50 мг/кг соответственно. Концентрации ГМЛ-1 в плазме крови животных определяли методом ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием. Установлено, что фармакокинетика ГМЛ-1 у крыс линейна в диапазоне 10–50 мг/кг. ГМЛ-1 можно отнести к лекарственным средствам с длительным периодом полувыведения, так как он составил у крыс и кроликов 2,3 ч и $(7,0 \pm 0,9)$ ч, соответственно. С помощью аллометрического подхода проведена межвидовая экстраполяция периода полувыведения ГМЛ-1. Прогнозируемая продолжительность периода полувыведения ГМЛ-1 у человека составила 8 ч.

Ключевые слова: ГМЛ-1; фармакокинетика; межвидовые различия.

ВВЕДЕНИЕ

Проблема создания нетоксичных лекарственных средств (ЛС) с анксиолитической активностью, не обладающих седативно-снотворными, миорелаксирующими, амнестическими свойствами, не вызывающих зависимости и синдрома отмены, является центральной в современной психофармакологии.

В ряду синтезированных в ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” оригинальных производных пирроло[1, 2-*a*]пиазина, лигандов 18 кДа транслокаторного белка (TSPO) выявлено соединение ГМЛ-1, обладающее при высокой аффинности к TSPO выраженной анксиолитической активностью [5, 6].

Необходимым этапом разработки оригинального ЛС является изучение его экспериментальной фармакокинетики и метаболизма [3]. Выявление общих закономерностей и различий в фармакокинетике фармакологически активных веществ у экспериментальных животных разных видов позволяет наиболее точно экстраполировать значения фармакокинетических параметров на человека. Анализ доклинических исследований очень важен для оценки вероятности развития и характера побочных эффектов, обеспечивает полезной информацией при переносе данных с животных на человека для выбора пути введения, расчёта дозы ЛС и продолжительности отбора проб крови у добровольцев для фазы I клинических исследований.

Цель настоящего исследования — выявление общих закономерностей и различий в фармакокинетике нового анксиолитика ГМЛ-1 у экспериментальных животных, а также прогнозирование периода полувыведения ГМЛ-1 у человека по результатам фармакокинетического исследования на крысах и кроликах с использованием аллометрического подхода.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В качестве стандартного вещества использовали фармацевтическую субстанцию ГМЛ-1 (серия — 20.12.2016, производитель — ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова”, годен до 12.2018 г.), содержание основного вещества в которой было не ниже 98 %. Общая характеристика исследуемого вещества приведена в табл. 1.

Крысы

Эксперименты выполнены на белых беспородных крысах-самцах (с массой тела 180–220 г), полученных из питомника “Столбовая” (Московская область). Животных содержали по 10 особей в клетке (580 × 375 × 200 мм) в стандартных условиях вивария ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” при естественном освещении, постоянной температуре (21–23 °С) и свободном доступе к брикетированному корму и воде. Все эксперименты были проведены в осенне-зимний период.

До проведения исследования крысы получали только воду. Субстанцию ГМЛ-1 вводили однократно перорально в виде суспензии в 1 % крахмальном клейстере в дозах 10, 25, 50 мг/кг. Образцы крови получали при декапитации крыс в течение 12 ч в дискретные моменты времени: 0,0 (контроль), 5, 15 и 30 мин, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 и 12 ч.

¹ ФГБНУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова”, Россия, 125315, Москва, Балтийская ул., 8.

² ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И. М. Сеченова Минздрава РФ (Сеченовский университет), Россия, 119991, Москва, Большая Пироговская ул., 2–4.

³ ФГБУ “ГНЦ Институт иммунологии” ФМБА России, Россия, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24.

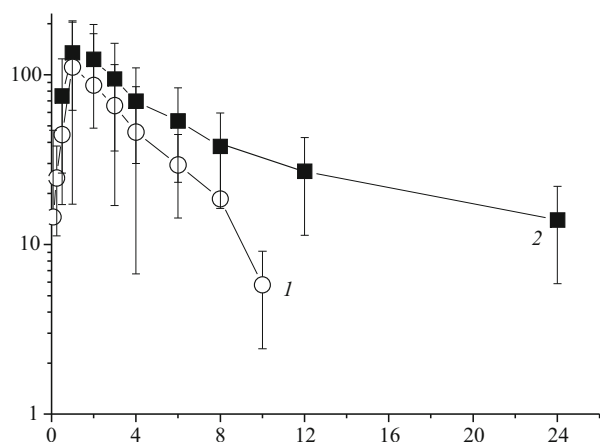


Рис. 1. Фармакокинетические профили ГМЛ-1 в плазме крови животных после однократного перорального введения фармацевтической субстанции: 1 — крысы (10 мг/кг); 2 — кролики (50 мг/кг).

По оси абсцисс — время, ч; по оси ординат — концентрация, нг/мл.

Плазму крови получали центрифугированием образцов крови животных при 2500 об/мин в течение 10 мин и 4 °С.

Поскольку на каждую временную точку использовали по 6 животных, результирующая фармакокинетическая кривая была построена по усредненным концентрациям, поэтому при расчетах фармакокинетических параметров отсутствует статистическая обработка результатов.

Кролики

На 6 кроликах-самцах породы шиншилла (питомник “Манихино”, Московская область) массой 2,75 – 3,10 кг проведено открытое фармакокинетическое исследование. Животные содержались в стандартных условиях вивария при 12-часовом цикле освещения. За 12 ч до эксперимента животных лишали корма. Кроликам с помощью зонда внутрь вводили субстанцию препарата. Объем суспензии в 1 % крахмальном клейстере лекарственного средства — 3 мл (доза ГМЛ-1 составила 50 мг/кг).

Образцы крови объемом 1,5 мл отбирали из краевой ушной вены с помощью игл и переносили в конические полиэтиленовые пробирки, предварительно обработан-

ные раствором К2ЭДТА. Взятие образцов крови для последующего определения содержания препарата в плазме крови осуществляли в дискретные интервалы времени: до введения препарата (0,0) и через 15 и 30 мин, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 и 24 ч после введения суспензии. Затем полученные пробы крови центрифугировали в течение 10 мин при 2500 об/мин и 4 °С. Отбор плазмы крови проводили в стерильные пластиковые криопробирки. Плазма крови хранилась при температуре – 50 °С.

Исследование выполнено согласно требованиям “Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств” [3].

Количественное определение ГМЛ-1 проводили с использованием метода ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием [2].

Межвидовые соотношения для фармакокинетических параметров ЛС формируются на основе концепции биологического подобия, согласно которой у мелких и крупных животных скорости протекания основных физиологических процессов одинаковы, если в качестве параметра “время” использовать не астрономическое (хронологическое), а “биологическое” или “физиологическое” время [4].

Для отображения полученных данных на основе аллометрического подхода использовали метод Дедрика, где хронологические показатели времени отбора проб крови животных пересчитывали в соответствующие “фармакокинетические” показатели времени по уравнению:

$$t_{pk} = t/m^{0,25},$$

где t_{pk} — “фармакокинетическое” время; m — масса тела кролика или крысы, кг; t — “хронологическое время” [7].

По профилям изменения концентраций ГМЛ-1 в плазме крови крыс и кроликов в хронологическом времени и координатах Дедрика модельно-независимым методом рассчитывали периоды полуэлиминации, выраженные в реальном ($t_{1/2el}$) и “фармакокинетическом” времени ($t_{1/2el\ pk}$).

Полученные данные подвергали математической статистической обработке. В табл. 2 приведены фармакокинетические параметры ГМЛ-1 в плазме крови кроликов, представлены средние арифметические значения (\bar{x}), со-

Таблица 1. Характеристика объекта исследования

Химическая формула	Физико-химические свойства
	<p>ГМЛ-1 — <i>N</i>-бензил-<i>N</i>-метил-1-фенилпирроло[1,2-<i>a</i>]пирозин-3-карбоксамид. Молекулярная масса — 341,4 г/моль.</p> <p>Фармацевтическая субстанция представляет собой гомогенный порошок желто-зеленого цвета без запаха. Субстанция мало растворима в воде, легко растворима в этиловом спирте, очень легко растворима в хлороформе и диметилсульфоксиде.</p>

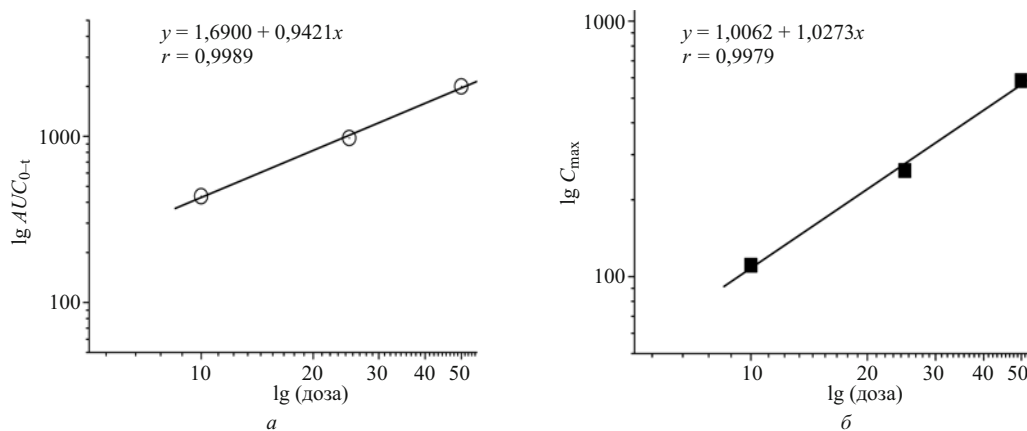


Рис. 2. Оценка линейности фармакокинетики ГМЛ-1 в плазме крови крыс по изменению значения $AUC_{(0-t)}$ (а) и C_{max} (б) в зависимости от дозы.

По оси абсцисс — $\lg AUC_{(0-t)}$; по оси ординат — \lg (доза).

ответствующие им стандартные отклонения (SD). Для расчетов фармакокинетических параметров был использован модельно-независимый метод [1].

Все манипуляции с экспериментальными животными выполнены в соответствии с нормативной документацией, касающейся гуманного обращения с животными, и стандартными операционными процедурами (СОП) 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”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Хроматомасс-спектрометрический анализ плазмы крови показал, что в анализируемых образцах присутствует характеристический молекулярный ион, соответствующий неизменной молекуле ГМЛ-1.

На рис. 1 (кривая 1) представлена усредненная фармакокинетическая кривая ГМЛ-1 в плазме крови крыс после однократного перорального введения ГМЛ-1 в виде суспензии (доза 10 мг/кг).

Таблица 2. Фармакокинетические параметры ГМЛ-1 в плазме крови крыс и кроликов после однократного внутрижелудочного введения фармацевтической субстанции ($n = 6$) $x \pm SD$

Параметр	Крысы, 10 мг/кг	Кролики, 50 мг/кг
C_{max} , нг/мл	110,93	155,22 ± 81,82
$AUC_{0 \rightarrow t}$, нг/мл · ч	430,46	931,82 ± 532,13
k_{el} , ч ⁻¹	0,3068	0,1000 ± 0,0130
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$, нг/мл · ч	449,33	1076,05 ± 607,04
$AUC_{0 \rightarrow t} / AUC_{0 \rightarrow \infty}$	95,80	86,61 ± 4,42
$t_{1/2}$, ч	2,26	7,03 ± 0,87
MRT , ч	3,78	13,20 ± 3,91
V_d/F , л/кг	72,52	76,06 ± 12,75
Cl/F , л/ч/кг	22,25	7,44 ± 1,10
T_{max} , ч	1,0	1,3 ± 0,5
$C_{max}/AUC_{0 \rightarrow \infty}$, ч ⁻¹	0,2469	0,1442 ± 0,0410

Как видно из рис. 1, ГМЛ-1 быстро всасывался из ЖКТ в системный кровоток и определялся в плазме крови уже через 5 мин после введения. Максимальная концентрация соединения в плазме крови крыс (110,93 нг/мл) достигалась через 1 ч после введения субстанции. Соединение ГМЛ-1 достаточно медленно выводится из организма животных. Об этом свидетельствуют значения следующих фармакокинетических параметров (в табл. 2 представлены основные фармакокинетические параметры ГМЛ-1 у кроликов после однократного введения внутрь субстанции): период полувыведения ($t_{1/2}$) исследуемого вещества составил 2,26 ч, а среднее время удерживания (MRT) ГМЛ-1 в организме животных — 3,78 ч. При этом величина плазменного клиренса (Cl/F) исследуемого вещества составила 22,25 л/ч/кг.

Параметром, характеризующим степень проникновения лекарственного вещества в ткани, является кажущийся объем распределения (V_d/F). Его величина для крыс составила 72,52 л/кг. Высокое значение данного параметра указывает на то, что ГМЛ-1 распределяется во всех жидких средах организма животных.

На рис. 1 (кривая 2) представлен усредненный фармакокинетический профиль ГМЛ-1 в плазме крови кроликов после однократного перорального введения субстанции в дозе 50 мг/кг. Тестируемое вещество определялось в биожидкости на протяжении 24 ч. Снижение концентраций ГМЛ-1 после достижения максимальных концентраций носило монофазный характер.

Время наступления максимальной концентрации анализируемого вещества в плазме крови (T_{max}) составило (1,3 ± 0,5) ч. Уровень максимальной концентрации в плазме крови животных (C_{max}) в среднем составил (155,22 ± 81,82) нг/мл. При этом среднее значение константы скорости элиминации (k_{el}) ГМЛ-1 из плазмы крови кроликов составило (0,1000 ± 0,0130) ч⁻¹, а $t_{1/2}$ ГМЛ-1 в плазме крови — (7,03 ± 0,87) ч. MRT ГМЛ-1 в организме животных равнялось (13,20 ± 3,91) ч.

Далее представляется целесообразным сравнить фармакокинетические характеристики ГМЛ-1 у животных разных видов. Причем следует сравнивать как завися-

щие, так и независимые от введенной дозы фармакокинетические параметры, поскольку нами показана линейная зависимость фармакокинетики ГМЛ-1 у крыс в диапазоне доз 10 – 50 мг/кг.

Так, на рис. 2 представлены графические зависимости десятичных логарифмов площади под фармакокинетической кривой и максимальной концентрации ГМЛ-1 в плазме крови крыс от десятичного логарифма введенной дозы ЛС.

Из рис. 2 видно, что показатель b , характеризующий наклон кривых, достоверно приближается к 1. Для AUC показатель составил 0,94 и для C_{max} — 1,03. Таким образом, можно сделать вывод о том, что кинетика ГМЛ-1 в плазме крови крыс линейна в изучаемом диапазоне доз.

Средняя величина кажущегося объема распределения ГМЛ-1 у кроликов практически совпала с аналогичным параметром у крыс и составила $(76,06 \pm 12,75)$ л/кг. Так как плазменный клиренс ЛВ является произведением V_d/F и k_{el} , очевидно, что Cl/F ГМЛ-1 из плазмы крови кроликов будет в 3 раза меньше, чем у крыс — $(7,44 \pm 0,10)$ и $22,25$ л/ч/кг, соответственно.

Параметр, характеризующий скорость всасывания ЛС ($C_{max}/AUC_{0-\infty}$) из ЖКТ крыс, в среднем составил $0,2469 \text{ ч}^{-1}$, для кроликов — $(0,1442 \pm 0,0410) \text{ ч}^{-1}$. Таким образом, ГМЛ-1 попадал в системный кровоток крыс в 1,7 раза быстрее, чем у кроликов.

Выведение ЛС из плазмы крови крыс и кроликов также происходило с различными скоростями. Об этом свидетельствуют величины k_{el} , $t_{1/2el}$ и MRT (табл. 2). Другими словами, выведение ГМЛ-1 из организма кроликов происходило в среднем в 3 раза медленнее, чем у крыс.

На основе аллометрического подхода (метод Дедрика) хронологическое время отбора проб крови животных пересчитывали в соответствующее “фармакокинетическое” время. Установлено, что значение $t_{1/2el}$ ГМЛ-1 у крыс, полученное на основании усредненного фармакокинетического профиля, составило 2,26 ч, в то время как после преобразований (в рамках 1-камерной модели с всасыванием) величина $t_{1/2el \text{ pk}}$ выросла до 7,47 ч. Для кроликов отмечена обратная зависимость, т.е. среднее значение $t_{1/2el}$, рассчитанное для реального времени, составило

7,03 ч, а после коррекции на “фармакокинетическое” время — 6,68 ч. Другими словами, аллометрический подход обеспечивает межвидовое “сближение” определяемого параметра.

Полученные результаты позволяют сделать предположение о том, что $t_{1/2el}$ у человека будет составлять не менее 8 ч. Через 5 периодов полувыведения концентрация исследуемого вещества в плазме крови составит чуть более 3 %. Таким образом, продолжительность отбора проб крови у добровольцев для I фазы клинических исследований составит 40 – 48 ч.

ВЫВОДЫ

1. Изучена фармакокинетика нового анксиолитика ГМЛ-1 у крыс и кроликов после однократного внутривенного введения фармацевтической субстанции в дозах 10 и 50 мг/кг, соответственно.

2. ГМЛ-1 можно отнести к ЛС с длительным периодом полувыведения.

3. На основе межвидового переноса проведен расчет периода полувыведения ($t_{1/2el}$) ГМЛ-1 у человека, который по предварительным оценкам составит не менее 8 ч.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. А. Агафонов., В. К. Пиотровский, *Хим.-фарм. журн.*, **25**(10), 16 – 19 (1991).
2. А. А. Новицкий, П. О. Бочков, А. А. Литвин и др., *Вестник МГУ, Сер. 2, Химия*, **59**(1), 43 – 45 (2018).
3. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А. Н. Миронов (ред.), Часть первая, Гриф и К, Москва (2012).
4. Р. В. Шевченко, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Москва (2017).
5. М. А. Яркова., Г. В. Мокров, Т. А. Гудашева, С. Б. Серединин, *Хим.-фарм. журн.*, **50**(8), 3 – 6 (2016); *Pharm. Chrm. J.*, **50**(8), 501 – 504 (2016).
6. М. А. Яркова, П. Ю. Поварнина, Г. В. Мокров и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **80**(4), 3 – 7 (2017).
7. R. L. Dedrick, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, **1**, 435 – 461 (1973).

Поступила 30.01.18

COMPARATIVE PHARMACOKINETICS OF NEW ANXIOLYTIC GML-1 IN DIFFERENT ANIMAL SPECIES

A. A. Novitskii¹, P. O. Bochkov¹, R. V. Shevchenko¹, O. G. Gribakina¹, G. B. Kolyvanov¹, V. P. Zherdev¹, V. V. Smirnov^{2,3}, and A. A. Litvin¹

¹ Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Moscow

² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, ul. Trubetskaya 8/2, Moscow, 119991 Russia

³ Institute of Immunology, Federal Medico-Biological Agency of the Russian Federation, Kashirskoe shosse 24, Moscow, 115478 Russia

Pharmacokinetics of a new anxiolytics GML-1 (*N*-benzyl-*N*-methyl-1-phenylpyrrolo[1,2-*a*]pyrazin-3-carbamide) after single intragastric administration in rats (dose, 10 mg/kg body weight) and rabbits (dose, 50 mg/kg body weight) was studied. The drug concentration in the blood plasma was determined by HPLC/MS method. The GML-1 pharmacokinetics in rats was linear within 10 – 50 mg/kg. GML-1 belongs to long-elimination drugs because its half-life in the blood plasma was 2.3 and 7.0 h in rats and rabbits, respectively. Using the allometric approach, the interspecies extrapolation of the elimination rate of GML-1 was carried out, according to which the half-life of GML-1 in humans is predicted to be 8 h.

Keywords: GML-1; pharmacokinetics; interspecies differences.