

ФАРМАКОКИНЕТИКА

DOI: 10.30906/0869-2092-2021-84-11-29-34

ФАРМАКОКИНЕТИКА ДИНИТРАТА 9-[2-(N,N-ДИЭТИЛАМИНО)]ЭТИЛ-2-ФЕНИЛИМИДАЗО[1,2-*a*]БЕНЗИМИДАЗОЛА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Д. О. Митракова¹, А. М. Доманина¹, М. В. Черников¹,
И. П. Ремезова¹, А. В. Морозов²

Изучена фармакокинетика динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-*a*]бензимидазола и определена его биодоступность в таблетированной лекарственной форме. Соединение блокирует H₂-гистаминовые рецепторы, за счет этого снижает кислотность желудочного сока и оказывает гастропротекторное действие. Эксперименты проводили на крысах и кроликах. Основной аналитический метод — высокоэффективная жидкостная хроматография. Расчет фармакокинетических параметров проводили с использованием программы BORGIA. Изучаемое соединение проникает во все исследуемые органы и ткани, максимально — в печень, что может быть связано с его метаболизмом. Биодоступность субстанции составляет 79,38 %. Фармакокинетические кривые для почек, головного мозга, сердца, скелетных мышц, кожи описываются в рамках однокамерной модели со всасыванием, а фармакокинетическая кривая для печени описывается в рамках двухкамерной модели без всасывания. Биодоступность в таблетированной лекарственной форме составляет 79,6 %.

Ключевые слова: производное имидазо[1,2-*a*]бензимидазола; субстанция; готовая лекарственная форма; фармакокинетика; биодоступность; ВЭЖХ; крысы; кролики.

ВВЕДЕНИЕ

В связи с широким распространением язвенной болезни поиск, разработка и исследования новых биологически активных соединений, проявляющих гастропротекторное и антисекреторное действие, остаются актуальными в настоящее время.

Одним из новых соединений с гастропротекторной активностью является производное имидазо[1,2-*a*]бензимидазола. Ранее было показано, что оно обладает наибольшей H₂-гистаминблокирующей активностью среди других производных имидазо[1,2-*a*]бензимидазола и препаратов сравнения (циметидина, ранитидина) [4].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объекты исследования: субстанция динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-*a*]бензимидазола — мелкокристаллический гигроскопичный порошок белого или светло-серого цвета без запаха (получена в НИИ физической и органической химии ФГАОУ ВО «Южный федеральный универси-

тет»), таблетки на основе динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-*a*]бензимидазола — округлой формы, светло-зеленого цвета, без запаха.

Для исследования фармакокинетики анализировали образцы внутренних органов (печень, почки, головной мозг, сердце), тканей (скелетные мышцы, кожа) и сыворотку крови крыс, а также сыворотку крови кроликов [3]. Образцы отбирали у 756 аутбредных крыс-самцов линии Вистар массой 180–240 г (по 6 животных на каждую временную точку для каждой дозы и типа образца) и 42 кроликов-самцов линии Советская шиншилла весом 2–2,5 кг. Животные получены из ФГУП «Питомник лабораторных животных «Рапполово», после питомника содержались в условиях карантина в течение 2 недель.

Содержание и манипуляции, проводимые с животными, соответствуют общепринятым этическим нормам экспериментальной работы [1, 2]. Вывод из эксперимента проводили согласно правилам «Руководства по проведению доклинических исследований лекарственных средств» (протокол этического комитета № 46 от 23.06.2017 г.) [3].

В ранее проведенных исследованиях, направленных на изучение влияния биологической матрицы на степень извлечения данной субстанции, был сделан вывод о том, что состав и структура исследуемого биологического материала не влияют на степень извлечения [5]. Таким образом, разработанные ранее методы подготовки проб и анализа методом ВЭЖХ были ис-

¹ Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ФГБОУ Волгоградский государственный медицинский университет Минздрава России, 357532, Ставропольский край, Пятигорск, пр. Калинина, д. 11.

² Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик Минпромторга России, 109044, Москва, Лавров пер., дом 6.

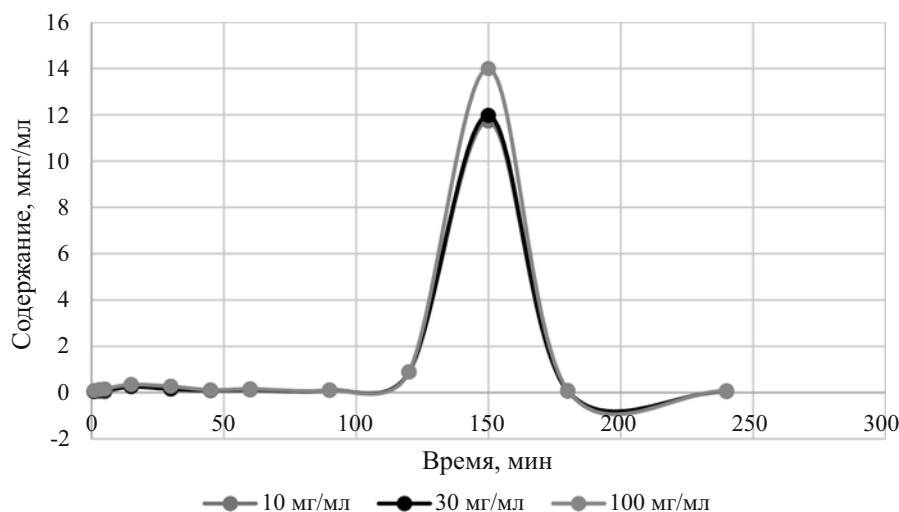


Рис. 1. Средний фармакокинетический профиль динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-a]бензимидазола после однократного внутрижелудочного введения крысам в дозах 10, 30, 100 мг/кг.

пользованы в исследовании фармакокинетики на лабораторных животных. Субстанцию вводили в виде водного раствора (для внутривенного введения использовали воду для инъекций, для внутрижелудочного введения использовали воду очищенную), таблетки перед введением кроликам растирали и смешивали с водой очищенной. Для проверки гипотезы линейности субстанцию вводили крысам внутрижелудочно через атравматический зонд в дозах 10, 30 и 100 мг/кг. Для отбора крови использовали следующие временные точки: 1, 3, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 и 240 мин после введения.

В исследованиях на крысах для оценки биодоступности субстанцию вводили в хвостовую вену с помощью катетера и внутрижелудочно через атравматический зонд в дозе 10 мкг/кг. Для отбора крови использовали не менее 3 временных точек для каждого фрагмента фармакокинетической кривой: 1, 3, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180 и 240 мин после введения.

Отбор органов и тканей проводили в следующие временные точки: 15, 30, 60, 90, 120, 240, 360, 480 и 600 мин после внутрижелудочного введения в дозе 10 мкг/кг. После забора органов и тканей их замораживали и хранили в морозильной камере при $t = -20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Таблица 1. Значения фармакокинетических параметров динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-a]бензимидазола в сыворотке крови крыс после однократного внутривенного введения и однократного внутрижелудочного введения в дозе 10 мг/кг

Определяемый фармакокинетический параметр	Величина параметров при	
	внутривенном введении с учетом двухкамерной модели	внутрижелудочном введении с учетом однокамерной модели
Период полураспределения, мин	4,539	83,959
Период полувыведения, мин	63,340	32,201
Константа резорбции, мин^{-1}		0,00825
Константа элиминации, мин^{-1}	0,08095	0,00275
Время достижения максимума, мин		0,366
K_{21} , мин^{-1}	0,02063	
K_{12} , мин^{-1}	0,06202	
Максимальная концентрация, мкг/мл		0,002
Объем распределения, мл		129302,512
Объем распределения в центральной камере, мл	3489,184	
Кинетический объем распределения, мл	25816,268	
Стационарный объем распределения, мл	13976,999	
Клиренс, мл/мин	282,456	355,711
Площадь под кривой “концентрация — время”, AUC , мкг/мл · мин	35,4	28,1
Среднее время удерживания, MRT , мин	40,5	

Каждый образец крови, органов и тканей отбирали у каждого животного однократно (одно животное — одна точка). Для каждой временной точки использовали 6 животных.

В экспериментах с кроликами исследованию подвергали только сыворотку крови после внутрижелудочного введения таблетированной готовой лекарственной формы (ГЛФ) на основе данной субстанции в дозе 10 мг/кг. Использовали следующие временные точки: 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150 мин для каждого фрагмента фармакокинетической кривой. Пробы крови собирали многократно у каждого животного в каждой временной точке из установленного катетера по 0,4 мл из правой яремной вены. Все пробы крови отбирали в установленное время и сразу центрифугировали в течение 15 мин при 2000 мин⁻¹. Далее собирали по 100 мкл полученной от каждого животного сыворотки, прибавляли к ней 9000 мкл ацетонитрила. Смесь встряхивали в течение 3 мин при 5000 мин⁻¹. Верхний слой в объеме 900 мкл отделяли, выпаривали в токе теплого воздуха, остаток растворяли в 5 мл ацетонитрила и исследовали.

Изучение фармакокинетики субстанции проводили при многократном внутрижелудочном введении крысам (14 дней, ежедневно, 1 раз в сутки в дозе 10 мг/кг). Для отбора крови использовали временные точки: 1, 3, 5, 15, 30, 45, 60, 90, 120, 150, 180, 240 мин на 1 и 14 день.

Основной метод анализа вещества в образцах — ВЭЖХ [6].

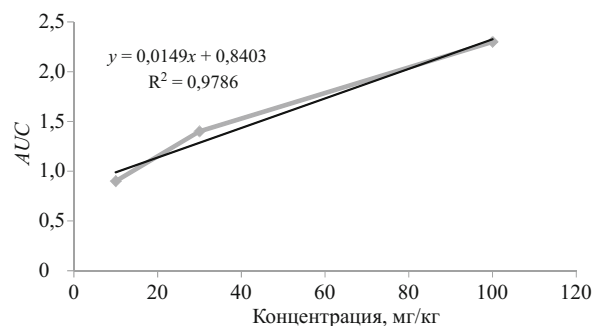


Рис. 2. Зависимость площади под фармакокинетической кривой от дозы динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-a]бензимидазола крыс при внутрижелудочном введении.

Расчеты фармакокинетических параметров были получены с использованием программного продукта BORGIA.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные зависимости концентрации исследуемой субстанции в сыворотке крови крыс от времени при внутрижелудочном введении в дозах 10, 30, 100 мг/кг представлены на рис. 1.

На основании полученных данных был рассчитан параметр AUC (площадь под фармакокинетической кривой) и построен график зависимости между вводимой дозой данного соединения и площадью под фармакокинетической кривой (рис. 2). Полученный график подтвердил наличие линейной зависимости меж-

Таблица 2. Значения фармакокинетических параметров субстанции в печени (с учетом двухкамерной модели без всасывания), почках, головном мозге, сердце, скелетных мышцах и коже крыс (с учетом однокамерной модели со всасыванием) после однократного внутрижелудочного введения в дозе 10 мг/кг

Определяемый параметр	Величина параметров					
	печень	почки	головной мозг	сердце	скелетные мышцы	кожа
Период полувсасывания, мин	1,898					
Период полураспределения, мин		13,993	15,904	14,245	11,560	17,223
Период полувыведения, мин	79,839	41,980	47,711	42,736	34,681	51,670
K ₂₁ , мин ⁻¹	0,18099					
K ₁₂ , мин ⁻¹	0,17538					
Константа резорбции, мин ⁻¹		0,04953	0,04357	0,04865	0,05995	0,04024
Константа элиминации, мин ⁻¹	0,01751	0,01651	0,01453	0,01622	0,01998	0,01341
Объем распределения в центральной камере, мл	330,644					
Кинетический объем распределения, мл	667,182					
Стационарный объем распределения, мл	651,042					
Максимальное время достижения максимума, мин		0,366	0,366	0,366	0,366	0,366
Максимальная концентрация, мкг/мл		0,031	0,008	0,014	0,032	0,025
Объем распределения, мл		5707,705	20576,368	12626,263	6747,582	5931,198
Клиренс, мл/мин	5,791	94,223	298,872	204,747	134,830	79,549
Площадь под кривой “концентрация — время”, AUC, мкг/мл · мин	1726,8	106,1	33,5	48,8	74,2	125,7
Тканевая доступность, fT	61,45	3,78	1,19	1,74	2,64	4,47
Среднее время удерживания, MRT, мин	112,4					

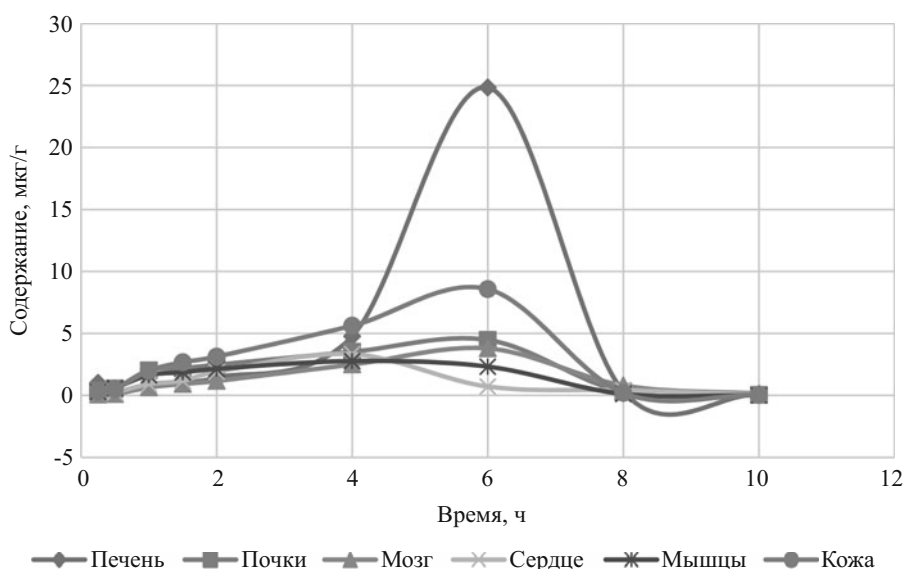


Рис. 3. Средние фармакокинетические профили тканей печени, почек, головного мозга, сердца, кожи и скелетных мышц после однократного внутривенного введения крысам динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-a]бензимидазола в дозе 10 мг/кг.

ду данными параметрами (коэффициент аппроксимации $R^2 = 0,9786$).

Полученные в ходе проведенного исследования данные о наличии линейной зависимости фармакокинетических параметров соединения от его дозы позволяют использовать и сопоставить данные полного фармакокинетического профиля, полученного при введении вещества экспериментальным животным в любых других дозах, а также пути и кратность введения изучаемого соединения [7, 8].

Средние значения основных фармакокинетических параметров субстанции при внутривенном введении с использованием двухкамерной модели фармакокинетических параметров субстанции при внутривенном введении с учетом однокамерной модели приведены в табл. 1, поскольку с помощью математической модели программы BORGIA установлено, что способ введения динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-

фенилимидазо[1,2-a]бензимидазола влияет на его перераспределение из центральной камеры в периферическую.

Биодоступность динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-a]бензимидазола составляет 79,38 %.

Далее анализировали распределение субстанции в органах и тканях. Результаты зависимости концентрации в печени, почках, сердце, головном мозге, коже и скелетных мышцах крыс от времени при внутривенном введении представлены на рис. 3 в виде стандартных кривых.

Анализ стандартного фармакокинетического профиля печени позволяет отнести его к двухкамерной модели без всасывания. Анализ стандартных фармакокинетических профилей почек, головного мозга, сердца, скелетных мышц и кожи позволяет отнести их к однокамерной модели со всасыванием.

Таблица 3. Значения фармакокинетических параметров в сыворотке крови крыс на 1 и 14 день после внутривенного введения динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-a]бензимидазола в дозе 10 мг/кг ежедневно 1 раз в сутки в течение 14 дней

Определяемый параметр	Величина параметров	
	1 день	14 день
Период полураспределения, мин	83,959	71,771
Период полувыведения, мин	32,201	33,721
Константа резорбции, мин^{-1} ·ед измерения	0,00825	0,00912
Константа элиминации, мин^{-1} ·ед измерения	0,00275	0,00205
Максимальное время достижения максимума, мин	0,366	0,366
Максимальная концентрация, мкг/мл	0,002	0,003
Объем распределения, мл	129302,512	112990,351
Клиренс, мл/мин	355,711	233,565
Площадь под кривой “концентрация — время”, AUC, мкг/мл·мин	28,1	33,4

Средние значения основных фармакокинетических параметров для печени с учётом двухкамерной модели без всасывания, которой описывается полученный концентрационный профиль, а также средние значения основных фармакокинетических параметров с учётом однокамерной модели со всасыванием для других органов и тканей приведены в табл. 2.

Анализ результатов изучения фармакокинетики в органах и тканях крыс при внутрижелудочном введении показывает, что субстанция определяется во всех изучаемых объектах.

Средние значения тканевой доступности (отношение значения AUC в ткани к соответствующей величине AUC в плазме, безразмерная величина) для печени, почек, головного мозга, сердца, скелетных мышц, кожи составляют 61,45; 3,78; 1,19; 1,74; 2,64; 4,47, соответственно [3].

Оценка тканевой доступности свидетельствует о том, что субстанция проникает во все органы и ткани: более интенсивно — в печень, менее интенсивно — в почки, головной мозг, сердце, скелетные мышцы и кожу. Особо следует отметить значительное проникновение вещества в печень, вероятно, поскольку этот орган активно участвует в его метаболизме.

Фармакокинетические параметры в сыворотке крови при многократном внутрижелудочном введении крысам в дозе 10 мг/кг на 1 и 14 день эксперимента приведены в табл. 3.

Полученные данные свидетельствуют о том, что на 14 день уменьшаются период полураспределения, клиренс, объем распределения. Незначительно увеличиваются период полувыведения, максимальная концентрация. Площадь под фармакокинетической кривой увеличивается на 15,8 %. Такая тенденция изменения фармакокинетических параметров свидетельствует об отсутствии кумуляции субстанции в организме крыс в течение 14 дней.

Исследование биодоступности при внутрижелудочном введении ГЛФ проводили в экспериментах на кро-

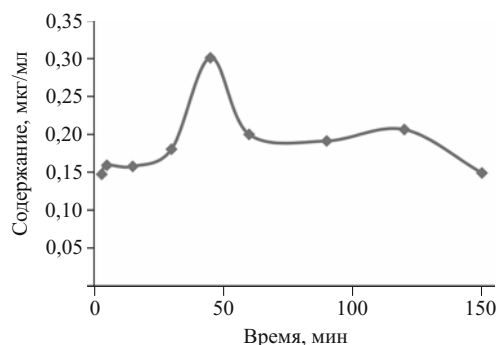


Рис. 4. Содержание динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-а]бензимидазола в сыворотке крови кроликов после однократного внутрижелудочного введения в таблетированной готовой лекарственной форме в дозе 10 мг/кг.

ликах. Результаты среднего фармакокинетического профиля в сыворотке крови кроликов от времени при внутрижелудочном введении ГЛФ представлены на рис. 4.

Оценка биодоступности вещества после внутрижелудочного введения в ГЛФ кроликам свидетельствует о том, что максимальная концентрация в общем кровотоке достигается спустя 40 мин и составляет 0,301 мкг/мл, а биодоступность — 79,6 %.

Средние значения основных фармакокинетических параметров вещества с учётом двухкамерной модели, которой описывается полученный концентрационный профиль, приведены в табл. 4.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что для обоих видов животных фармакокинетический профиль кривых описывается однокамерной моделью со всасыванием. Основные фармакокинетические параметры (AUC, $T_{1/2}$) у крыс и у кроликов отличаются более чем в 1,3 – 1,9 раза. Это может быть связано с различиями в видовых отличиях животных и с физиологическими особенностями кроликов.

ВЫВОДЫ

1. Динитрат 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-а]бензимидазола при однократном внутривенном введении крысам в дозе 10 мг/кг проникает во все органы и ткани: более интенсивно — в печень, менее интенсивно — в почки, головной мозг, сердце, скелетные мышцы и кожу. Биодоступность субстанции составляет 79,38 %.

2. В экспериментах на кроликах максимальная концентрация вещества в общем кровотоке достигается спустя 40 мин и составляет 0,301 мкг/мл, биодоступность в таблетированной лекарственной форме составляет 79,6 %.

ЛИТЕРАТУРА

1. Национальный стандарт РФ ГОСТ Р 33044-2014 “Принципы надлежащей лабораторной практики”, дата введения 2015-08-01.

Таблица 4. Значения фармакокинетических параметров динитрата 9-[2-(N,N-диэтиламино)]этил-2-фенилимидазо[1,2-а]бензимидазола в сыворотке крови кроликов после однократного внутрижелудочного введения в дозе 10 мг/кг

Определяемый фармакокинетический параметр	Величина параметров
Период полураспределения, мин	21,298
Период полувыведения, мин	63,894
Константа резорбции	0,03254
Константа элиминации	0,01085
Максимальное время достижения максимума, мин	0,366
Максимальная концентрация, мкг/мл	0,005
Объем распределения, мл	260869,5
Клиренс, мл/мин	2829,4
Площадь под кривой “концентрация — время”, AUC, мкг/мл · мин	35,3

- Приказ Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 01 апреля 2016 г. № 199н “Об утверждении Правил лабораторной практики”.
- Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, А. Н. Миронов (ред.), Гриф и К, Москва (2013).
- А. А. Спасов, В. И. Петров, В. А. Анисимова и др., Патент РФ 2395282, *Бюл. изобрет.*, № 21 (2010).
- Д. О. Ступина, И. П. Ремезова, А. В. Морозов, *Беликовские чтения: материалы VII Всероссийской научно-практической конференции*, Пятигорск (2019).
- Д. О. Ступина, И. П. Ремезова, А. В. Морозов, *Во имя жизни и здоровья: материалы 71-й Международной научно-практической конференции*, Пятигорск (2018), сс. 88 – 97.
- Guidance for the Validation of Analytical Methodology and Calibration of Equipment used for Testing of Illicit Drugs in Seized Materials and Biological Specimens / United Nations Office on Drugs and Crime, Laboratory and Scientific Section, New York: United Nations (2009).
- Guideline on bioanalytical method validation / European Medicines Agency. Committee for Medicinal Products for Human Use (CHMP), London (2009).

Поступила 01.07.21

STUDY OF THE PHARMACOKINETICS OF 9-[2-(N,N-DIETHYLAMINO)]ETHYL-2-PHENYLIMIDAZO[1,2-*a*]BENZIMIDAZOLE DINITRATE IN EXPERIMENT

D. O. Mitrakova¹, A. M. Domanina¹, M. V. Chernikov¹, I. P. Remezova¹, and A. V. Morozov²

¹ Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Branch of the Volgograd State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, prosp. Kalinina 11, Pyatigorsk, Stavropol Krai, 357532 Russia

² State Institute of Drugs and Good Medical Practices, Ministry of Industry and Trade of the Russian Federation, Lavrov per. 6, Moscow, 109044 Russia

The pharmacokinetics of 9-[2-(N,N-diethylamino)]ethyl-2-phenylimidazo[1,2-*a*]benzimidazole dinitrate has been studied and the bioavailability of a tablet dosage form based on this substance has been determined. The drug blocks H₂-histamine receptors, thereby reducing the acidity of gastric juice and producing a gastroprotective effect. The experiments were carried out on laboratory rats and rabbits. The main analytical method was high performance liquid chromatography (HPLC). Parameters of the drug pharmacokinetics were calculated using the BORGIA program. As a result of experiments, it was found that the compound under study penetrated into all studied organs and tissues, maximally into the liver, which can be associated with metabolism in this organ. Bioavailability of the parent substance was 79.38 %. Pharmacokinetic curves for kidney, brain, heart, muscles, and skin were described in the framework of a single-chamber model with absorption, and the pharmacokinetic curve for the liver was described in the framework of a two-chamber model without absorption. The bioavailability of the tablet dosage form was 79.60%.

Keywords: imidazo[1,2-*a*]benzimidazole derivative; parent drug substance; pharmacokinetics; bioavailability; HPLC; rats; rabbits.