

ФАРМАКОЛОГИЯ РЕПРОДУКТИВНОЙ СИСТЕМЫ

МОДЕЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ РАСПРЕДЕЛЕНИЯ АФОБАЗОЛА У БЕРЕМЕННЫХ И КОРМЯЩИХ САМОК КРЫС И НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫСЯТ

О. В. Шредер, Г. Б. Колыванов, А. А. Литвин, Д. В. Бастрыгин, Е. Д. Шредер, А. С. Соломина, А. О. Виглинская, В. В. Забродина, В. П. Жердев, А. Д. Дурнев, С. Б. Середенин¹

Установлено, что при однократном введении афобазола (100 мг/кг, внутрь) беременным самкам крыс препарат и его метаболит М-11 обнаруживаются в плацентарных и эмбриональных тканях крыс. После четырехдневного введения анксиолитика (200 мг/кг) кормящим самкам крыс афобазол и его основной метаболит определяются в молоке крыс и организме вскормленных молоком крысят.

Ключевые слова: афобазол, фармакокинетика, крысы, эмбриональные ткани, молоко, крысята

ВВЕДЕНИЕ

В НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН совместно с компанией “МастерФарм” разработан и внедрен в медицинскую практику в качестве анксиолитика препарат афобазол (2-[2-(морфолино)этилтио]-5-этоксипбензимидазола гидрохлорид) [11].

При изучении механизма действия афобазола выявлена его тропность к σ_1 , MT_1 , MT_3 рецепторам и MAO_A , что позволило сформулировать гипотезу о цитопротекторном потенциале афобазола [10].

Это предположение подтверждено данными опытов *in vitro*, продемонстрировавшими защитное действие препарата на моделях оксидативного стресса и глутаматной токсичности [7], и *in vivo*, выявившими нейрпротекторные [2, 12], антимутагенные [4–6] и антитератогенные свойства [3]. Последнее определило целесообразность изучения коррекции афобазолом разнообразных эффектов, вызывающих репродуктивную токсичность и постнатальные нарушения. Постановка этой задачи, в свою очередь, требует дальнейшего выяснения фармакокинетики афобазола, а именно возможности его прохождения через плаценту, поступления в организм эмбриона и новорожденного, молочные железы. Поэтому целью данной работы явилось изучение распределения в модельном исследовании с применением высокой дозы афобазола и его основного метаболита [9, 11] в системе “мать — плацента — плод”, молочных железах крыс и в органах крысят, вскормленных самками, получавшими афобазол.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В исследовании использовали 29 самок беспородных белых крыс питомника Столбовая РАМН массой 200–250 г, 28 крысят в возрасте 15 дней, 43 эмбриона и 43 плаценты.

Животных содержали на стандартной диете с добавлением овощей, при естественном освещении, с соблюдением требований, определенных Директивами Совета ЕС 86/609/ЕЕС, об использовании животных в экспериментальных исследованиях.

Проведено три серии экспериментов. В первой серии самкам на 14-й день беременности однократно вводили афобазол внутрь в дозе 100 мг/кг. Через 15 мин после введения препарата крыс забивали дислокацией шейных позвонков, вскрывали и в гомогенатах плацент и эмбрионов определяли концентрации афобазола и его основного метаболита М-11. Во второй серии экспериментов афобазол вводили самкам с 12-го по 15-й день лактации в дозе 200 мг/кг. Через 1 ч после последнего введения препарата самкам внутрибрюшинно вводили 0,3 мл окситоцина (5МЕ/мл) для стимуляции выделения молока. Через 5 мин молоко сцеживали для количественного определения афобазола и его метаболита М-11 в молочных железах. В третьей серии исследовали степень проникновения афобазола в организм 15-дневных крысят через молоко. В этом случае самкам вводили афобазол с 12-го по 15-й день лактации в дозе 200 мг/кг. На 15-й день лактации самок отсаживали в отдельные клетки на 1 ч и вводили препарат в дозе 200 мг/кг. Через 1 ч после последнего введения афобазола самок снова подсаживали к крысятам. Крысят отнимали от самок через 10 и 30 мин высасывания молока, проводили забой и определяли концентрации афобазола и его метаболита в плазме крови и мозге крысят. Для этого кровь крысят

¹ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, 125315, ул. Балтийская, 8.

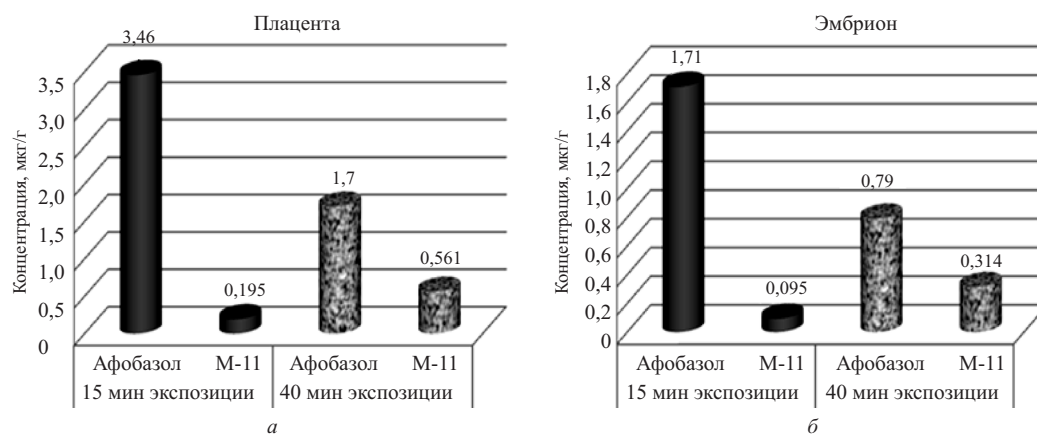


Рис. 1. Содержание афобазола и его метаболита М-11 после однократного введения афобазола внутрь в дозе 100 мг/кг самкам крыс на 14-й день беременности: *а* — в плаценте, *б* — в тканях эмбриона.

собирали в пластиковые пробирки, предварительно обработанные гепарином (5000 МЕ/мл), далее центрифугировали в течение 10 мин при 3000 об/мин и отбирали плазму.

Плаценты, эмбрионы и мозг крысят гомогенизировали в изотоническом растворе натрия хлорида. Полученные гомогенаты, плазму крови и молоко экстрагировали диэтиловым эфиром (2 раза по 15 мл). Эфирный слой выпаривали досуха. Остаток растворяли в подвижной фазе.

Количественное определение афобазола и его метаболита М-11 в биологических образцах проводили методом ВЭЖХ [1]. Разделение проводили на персональном хроматографе Beckman-Coulter (США), состоящем из изократической помпы System Gold 127, УФ-детектора — System Gold 166 и компьютера с соответствующим пакетом программ для обсчета хроматограмм.

Рассчитывали концентрации и процент проникновения от введенной дозы препарата и его метаболита в исследуемых образцах.

Статистический анализ проводили с помощью программы Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Анализ фармакокинетики афобазола в системе “мать — плацента — плод” показал, что через 15 мин после введения беременным самкам препарат и его метаболит М-11 обнаруживаются в эмбриональных и плацентарных тканях крыс (рис. 1).

Как видно из данных, представленных на рис. 1, *а*, содержание афобазола в плаценте через 15 мин после его введения беременным самкам в 2 раза больше по сравнению с 40-минутной экспозицией. Концентрация метаболита М-11 в плацентарной ткани, наоборот, через 40 мин увеличилась в 2,9 раза по сравнению с данными, полученными при 15-минутной экспозиции.

В тканях эмбрионов (рис. 1, *б*), как и в плаценте, выявлено характерное распределение концентраций афобазола и М-11. Через 15 мин после введения афобазола в эмбриональных тканях установлено более высокое содержание препарата по сравнению с 40-минутной экспозицией. В то же время отмечено увеличение уровня М-11 в 3,3 раза по сравнению со значением, наблюдаемым при 15-минутной экспозиции.

Таким образом, установлено, что максимальный уровень концентрации афобазола в тканях плацент и эмбрионов достигается через 15 мин экспозиции. Значительное увеличение уровня метаболита М-11 отме-

Содержание афобазола и его метаболита М-11 в тканях и биологических жидкостях крыс и новорожденных крысят

Объект исследования	Доза афобазола, мг/кг	Время экспозиции, мин	% афобазола от введенной дозы, $\bar{x} \pm SD$	% метаболита М-11 от введенной дозы, $\bar{x} \pm SD$
Плацента	100	15	$3,5 \pm 1,6$	$0,19 \pm 0,16$
Плацента	100	40	$1,7 \pm 0,3$	$0,56 \pm 0,01$
Эмбрион	100	15	$1,7 \pm 0,9$	$0,10 \pm 0,07$
Эмбрион	100	40	$0,8 \pm 0,5$	$0,31 \pm 0,08$
Молоко	200	60	$0,6 \pm 0,4$	$0,006 \pm 0,01$
Плазма крови крысят	200	10	$0,032 \pm 0,023$	$0,014 \pm 0,009$
Плазма крови крысят	200	30	$0,0618 \pm 0,021$	$0,007 \pm 0,005$
Мозг крысят	200	10	$0,00024 \pm 0,0002$	—
Мозг крысят	200	30	$0,0007 \pm 0,0003$	—

чено через 40 мин экспозиции. Кроме того, сходство и характер распределения концентраций афобазола и М-11, а также увеличение уровня М-11 через 40 мин экспозиции на фоне снижения содержания афобазола может свидетельствовать о том, что в плацентарной и эмбриональной тканях крыс может происходить дальнейшая биотрансформация афобазола с образованием М-11. Эти данные согласуются с литературными сведениями о фармакокинетических особенностях лекарственных веществ и их метаболическом превращении в системе “мать — плацента — плод” [8, 13].

На рис. 2 представлено содержание афобазола и метаболита М-11 в молоке кормящих самок крыс на 15-й день лактации после четырехдневного введения препарата внутрь в дозе 200 мг/кг.

Установлено, что афобазол и его метаболит М-11 обнаруживаются в молоке в концентрации 1,11 мкг/мл и 0,013 мкг/мл соответственно, через 1 ч после введения препарата кормящим самкам крыс.

Эти данные позволили провести изучение фармакокинетики афобазола и его основного метаболита в организме 15-дневных крысят, получавших препарат через материнское молоко.

Установлено, что после введения афобазола кормящим крысам в дозе 200 мг/кг в плазме крови крысят через 10 и 30 мин вскармливания молоком определяются неизменный препарат и М-11 (рис. 3, а). Через 30 мин вскармливания молоком в плазме крови крысят отмечено увеличение концентрации афобазола в 1,5 раза и его метаболита М-11 в 4,8 раза, по сравнению с 10-минутной экспозицией.

Сравнение концентраций препарата в мозге крысят через 10 и 30 мин вскармливания молоком показало, что при разных временных экспозициях обнаруживается одинаковое незначительное количество афобазола (рис. 3, б). Кроме того, метаболит М-11 в эти временные интервалы в мозге крысят не обнаружен, по-видимому, из-за его чрезвычайно низких концентраций (ниже порога чувствительности). Ранее было

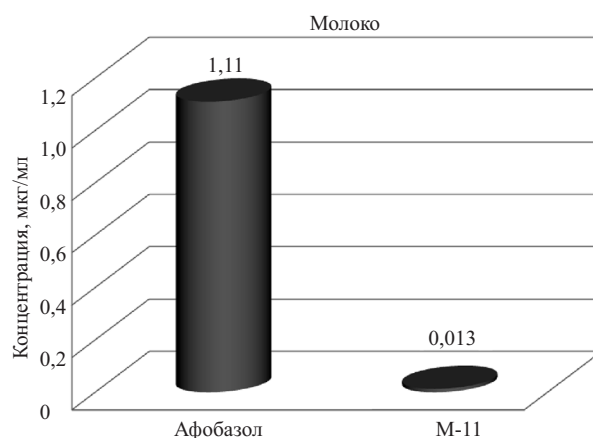


Рис. 2. Содержание афобазола и его метаболита М-11 в молоке после четырехдневного введения афобазола в дозе 200 мг/кг кормящим самкам крыс.

показано, что метаболит М-11, как и афобазол проникает через гематоэнцефалический барьер [1].

Таким образом, изучение фармакокинетики афобазола показало, что при однократном введении внутрь в дозе 100 мг/кг беременным самкам препарат и его основной метаболит М-11 определяются в плацентарных и эмбриональных тканях крыс. Была отмечена высокая степень проникновения афобазола и М-11 в молоко кормящих самок. Максимальная концентрация афобазола в тканях эмбрионов и плацент достигается, по крайней мере, через 15 мин и составляет 1,7 % и 3,5 % от введенной беременной самке дозы препарата (таблица).

Таким образом, установлена принципиальная возможность распределения афобазола в системе “мать — плацента — плод”. Вопрос об экстраполяции данных настоящего исследования, полученных при использовании высоких доз афобазола, на диапазон доз, соответствующих терапевтическим, требует дальнейших исследований с применением для анализа фармакокинетики метода большей чувствительности.

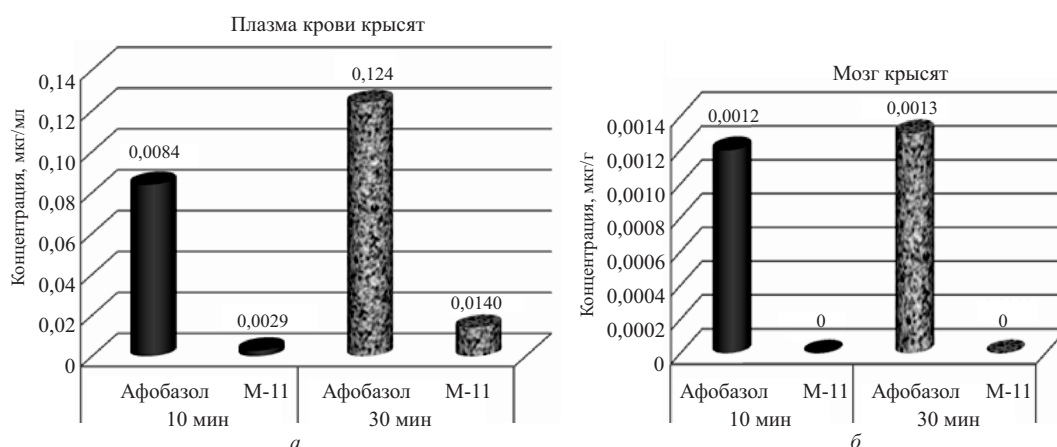


Рис. 3. Содержание афобазола и его метаболита М-11 в плазме крови (а) и мозге (б) 15-дневных крысят.

ВЫВОДЫ

1. При однократном введении афобазола внутрь в дозе 100 мг/кг беременным самкам препарат и его метаболит М-11 обнаруживаются в плацентарных и эмбриональных тканях крыс.

2. Афобазол и его метаболит М-11 после четырехдневного перорального введения в дозе 200 мг/кг кормящим самкам определяется в молоке крыс и в организме вскормленных молоком крысят.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. О. Виглинская, Г. Б. Колыванов, А. А. Литвин и др., *Бюл. exper. биол.*, **143**(5), 529 – 53 (2007).
2. Т. С. Ганьшина, И. Н. Курдюмов, А. И. Турилова и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **72**(6), 21 – 24 (2009).
3. А. Д. Дурнев, А. К. Жанатаев, О. В. Шредер, С. Б. Середенин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **72**(1), 46 – 51 (2009).
4. А. Д. Дурнев, С. Б. Середенин, *Мутагены: скрининг и фармакологическая профилактика*, Медицина, Москва (1998).
5. А. К. Жанатаев, А. Д. Дурнев, С. Б. Середенин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **63**(2), 57 – 59 (2000).
6. А. К. Жанатаев, А. Д. Дурнев, С. Б. Середенин, *Бюл. exper. биол.*, **11**, 539 – 542 (2000).
7. Т. А. Зенина, И. В. Гавриш, Д. С. Мелкумян и др., *Бюл. exper. биол.*, **140**(8), 194 – 196 (2005).
8. Е. Ю. Лозинский, Е. В. Елисева, И. И. Шмыкова, Ю. Д. Галанова, *Тихоок. мед. журн. (Pacific Medical Journal)*, **3**, 14 – 18 (2005).
9. С. Б. Середенин, А. О. Виглинская, Т. Я. Можаяева и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **71**(2), 50 – 52 (2008).
10. С. Б. Середенин, М. В. Воронин, *Экспер. и клин. фармакол.*, **72**(1), 3 – 11 (2009).
11. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Г. Г. Незнамов и др., *Вестн. РАМН*, **11**, 3 – 9 (1998).
12. И. В. Силкина, В. В. Александрин, С. Б. Середенин, Р. С. Мирзоян, *Экспер. и клин. фармакол.*, **67**(5), 9 – 12 (2004).
13. М. М. Шехтман, *Руководство по экстрагенитальной патологии у беременных*, Триада, Москва (1999).

Поступила 03.02.10

MODEL STUDY OF AFOBAZOLE DISTRIBUTION IN PREGNANT AND LACTATING FEMALE RATS AND INFANT RAT PUPS

O. V. Shreder, G. B. Kolyvanov, A. A. Litvin, D. V. Bastrygin, E. D. Shreder, A. S. Solomina, A. O. Viglinskaya, V. V. Zabrodina, V. P. Zherdev, A. D. Durnev, and S. B. Seredenin

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

Afobazole and M-11, its major metabolite were detected in placental and embryonic rat tissues after single peroral administration to pregnant female rats at a dose of 100 mg/kg. The anxiolytic drug and its metabolite are also detected in rat milk and body of the breast-fed infant rat pups after 4 days of daily administration (200 mg/kg, per os) to lactating female rats.

Key words: Afobazole, pharmacokinetics, rats, embryonic tissue, milk, rat pups