

ФАРМАКОКИНЕТИКА

ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ БЕМИТИЛА ПРИ ИНГАЛЯЦИОННОМ ВВЕДЕНИИ

А. Ф. Курпякова¹, Д. С. Гейбо¹, В. Н. Быков², А. С. Никифоров¹

Проведено сравнительное исследование фармакокинетики бемитила при ингаляционном, внутривенном и внутривенном путях введения, идентифицированы основные метаболиты препарата, рассчитаны фармакокинетические параметры. Полученные результаты позволяют рассматривать ингаляционный путь поступления бемитила в организм как альтернативу приему внутрь, что связано с высокой биодоступностью и отсутствием эффекта “первого прохождения” через печень.

Ключевые слова: фармакокинетика; бемитил; ингаляционное введение.

ВВЕДЕНИЕ

Бемитил (2-этилтиобензимидазола гидробромида моногидрат) представляет собой препарат, обладающий антигипоксической и актопротекторной активностью, повышающий работоспособность в экстремальных условиях [5, 6]. Однако ряд недостатков, таких как небольшая терапевтическая широта, медленное всасывание и склонность препарата к кумуляции увеличивает вероятность возникновения побочных эффектов при его курсовом применении [1, 4].

В настоящее время бемитил выпускают в форме капсул для приема внутрь (торговое название – метапрот) [3]. Однако биодоступность препарата при таком способе применения невысока, что связано с разрушением в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), неполным всасыванием в кишечнике, интенсивным метаболизмом и элиминацией.

Альтернативой приему внутрь может быть ингаляционное введение бемитила, при котором препарат быстрее проникает в кровь и предотвращается эффект “первого прохождения” через печень.

Таким образом, целью настоящей работы явилось экспериментальное сравнительное изучение фармакокинетики бемитила при ингаляционном, внутривенном и внутривенном введении.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 380 нелинейных белых крысах-самцах, массой 180 – 220 г, полученных из питомника РАН “Рапполово”. Животных содержали в условиях вивария на стандартном рационе. Все животные до начала экспериментов находились в карантине от 14 до 30 сут [2]. Все манипуляции проводили в

соответствии с правилами и принципами гуманного обращения с животными.

Анализ проводили на жидкостном хроматографе Agilent Technologies 1260 Infinity, оснащенным время-пролетным масс-спектрометрическим детектором Agilent 6530 Accurate-Mass Q-TOF LC/MS. Хроматографическая колонка Hypersil GOLD aQ, (2,1 × 150 мм, 3 мкм), предколонка ZORBAX Extend-C18 Narrow-Bore Guard Column (2,1 × 12,5 мм, 5 мкм). Элюирование осуществляли смесью, состоящей из компонентов А и В, в градиентном режиме: до 3 мин – 30 % В, с 3 по 5,5 мин увеличивается до 50 % В, с 5,51 – до 100 % и удерживается в течение 1,5 мин, с 7,01 мин – возвращается в исходные условия. Компонент А представлял собой 0,1 % раствор муравьиной кислоты в деионизированной воде, компонент В – 0,1 % раствор муравьиной кислоты и 10 % деионизированной воды в метаноле. Скорость потока – 300 мкл/мин, время анализа составило 16 мин.

Идентификацию бемитила проводили по выбранному иону с m/z – 151,0315 (переход 179,0637 → 151,0315). Наряду с определением бемитила анализировали два его основных метаболита: М1 (2-этилсульфинилбензоимидазол) (переход 195,0584 → 149,0168) и М2 (2-этилсульфонилбензоимидазол) (переход 211,0536 → 165,0115). Чувствительность метода количественного определения бемитила составила 10 нг/мл. Количественное определение метаболитов бемитила не проводили, в связи с чем содержание М1 и М2 в крови выражали в относительных единицах.

Распределение бемитила и его метаболитов в крови изучали в течение первых суток после однократного ингаляционного, внутривенного и внутривенного введения препарата крысам в дозах 10 и 50 мг/кг. Растворы бемитила вводили животным из расчета 1 мл на 100 г массы тела при внутривенном введении и 0,1 мл на 100 г массы тела при ингаляционном и внутривенном введении. Препарат растворяли в деионизи-

¹ ООО “ИФК “Сильвер Фарм”, 195279, Санкт-Петербург, Индустриальный пр., 45 А.

² Научно-исследовательский испытательный институт (военной медицины) Военно-медицинской академии им. С. М. Кирова, 195043, Санкт-Петербург, ул. Лесопарковая, 4.

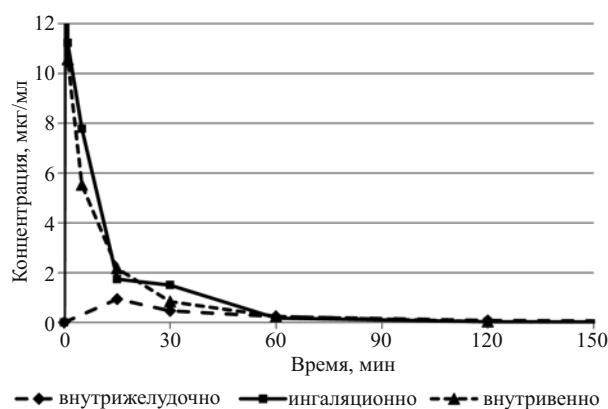


Рис. 1. Фармакокинетические кривые бемитила при различных путях введения в дозе 10 мг/кг.

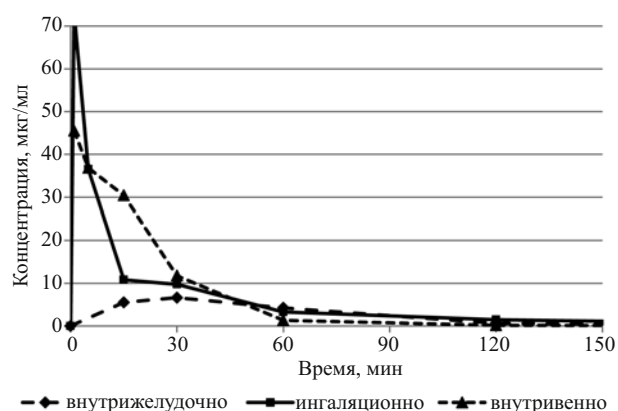


Рис. 2. Фармакокинетические кривые бемитила при различных путях введения в дозе 50 мг/кг.

рованной воде. Забор крови осуществляли через 0,5; 1; 5 (для внутривенного и ингаляционного введения); 15; 30; 60; 120; 240; 360; 720 и 1440 мин после введения.

Перед измерением концентрации бемитила в крови животных проводили пробоподготовку. С этой целью кровь (4 мл) отбирали в пробирки с цитратом натрия (3,8%), центрифугировали в течение 10 мин при 8000 об/мин. К полученной плазме добавляли 100 мкл хлорной кислоты, перемешивали и центрифугировали в течение 10 мин при 8000 об/мин. Доводили pH надосадочной жидкости до 7 – 8 ед. с помощью карбонатного буфера (9,5 – 10,2). Пробы вновь центрифугировали в течение 10 мин при 8000 об/мин, отделяли надосадочный слой. Далее проводили твердофазную экстракцию бемитила с использованием патронов Oasis HLB, фирмы “Waters”. Элюирование целевого соединения осуществляли 1 мл метанола. Все эксперименты проводили при температуре 22 – 24 °С.

Фармакокинетические параметры получали с помощью программы Thermo Kinetica 4.4.1 (Thermo Electron Corporation, США). Рассчитывали такие параметры, как площадь под кривой “концентрация – время” (AUC_{tot} , мг/мл · мин); общий клиренс (Cl , мл/мин);

среднее время удержания препарата в тест-ткани (MRT , мин); стационарный объем распределения (V_{ss} , мл); период полувыведения ($T_{1/2}$, мин); константа скорости всасывания (K_{abs} , мин⁻¹) и элиминации (K_{el} , мин⁻¹); максимальная концентрация препарата в крови (C_{max} , мг/мл) и время ее достижения (T_{max} , мин). Также оценивали биодоступность (f_a , %) препарата.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты анализа экспериментальных данных, полученных при различных путях введения бемитила, показали, что в случае ингаляционного и внутривенного введения первоначально превалирует процесс всасывания препарата. Однако в отличие от приема бемитила внутрь, при котором максимальное содержание соединения в крови регистрировали через 15 – 30 мин, его ингаляционное введение обеспечивало практически мгновенное и полное поступление препарата в кровоток в количестве, соизмеримом с таковым при внутривенном введении. Высокая скорость всасывания подтверждается значениями константы скорости абсорбции, которые при ингаляционном введении в 9 и 5 раз превосходили показатель при внутри-

Фармакокинетические параметры бемитила при различных путях введения в дозах 10 и 50 мг/кг

Показатель	Путь введения					
	внутрижелудочный		ингаляционный		внутривенный	
	10 мг/кг	50 мг/кг	10 мг/кг	50 мг/кг	10 мг/кг	50 мг/кг
C_{max} , мкг/мл	0,94	6,64	29,97	73,02	-	-
T_{max} , мин	15	30	0,5	1	-	-
AUC_{tot} , (мкг/мл) · мин	43,37	478,04	151,33	1000	127,52	1011
K_{abs} , мин ⁻¹	0,022	0,014	0,198	0,073	-	-
$T_{1/2}$, мин	150	138	376	239	68	199
MRT , мин	82	82	50	46	21	22
Cl , мл/мин	46	21	13	10	16	10
K_{el} , мин ⁻¹	0,0046	0,0050	0,0018	0,0029	0,0100	0,0035
V_{ss} , л	3,80	1,70	0,66	0,46	0,32	0,22
f_a , %	34	47	119	99	-	-

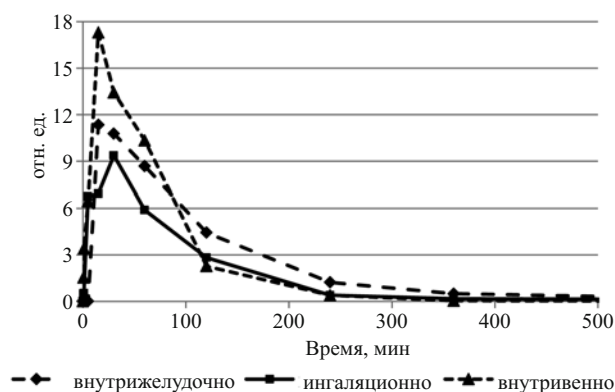


Рис. 3. Динамика уровня М1 в крови при различных путях введения бемитила в дозе 10 мг/кг.

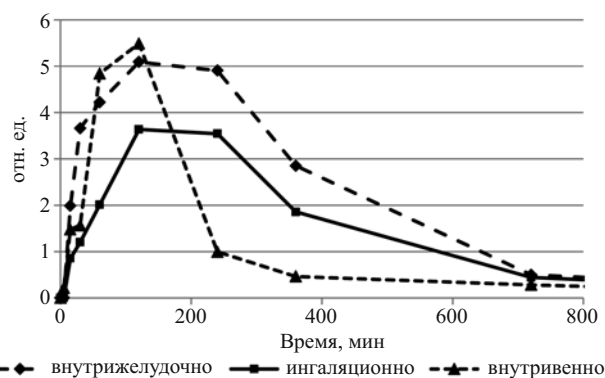


Рис. 4. Динамика уровня М2 в крови при различных путях введения бемитила в дозе 10 мг/кг.

желудочном введении в дозах 10 и 50 мг/кг, соответственно. Быстрое всасывание препарата обеспечивалось за счет большой поверхности легких, использования бемитила в жидкой форме и отсутствия эффекта “первого прохождения” через печень. Кривые, иллюстрирующие зависимость изменения концентрации бемитила от времени при различных путях введения, приведены на рис. 1 и 2.

На основании полученных фармакокинетических кривых бемитила были рассчитаны значения кинетических параметров (таблица).

Максимальные значения концентрации бемитила при ингаляционном введении отмечали через 0,5 – 1 мин, после чего уровень препарата снижался более чем в 7 раз. В период 15 – 30 мин концентрация бемитила в крови практически не изменялась, вероятно, за счет его поступления из ЖКТ, поскольку при ингаляционном введении часть вещества проглатывается и может всасываться из кишечника. После 30 мин происходило постепенное снижение концентрации бемитила, и через 1 сутки препарат в крови животных не выявляли. Период полувыведения составил 376 (10 мг/кг) и 239 мин (50 мг/кг).

Анализ параметров кинетики позволил заключить, что препарат относительно быстро выводится из организма как в результате экскреции в неизменном виде, так и за счет его биотрансформации. При изучении распределения бемитила в крови экспериментальных животных были выявлены метаболиты препарата – 2-этилсульфинилбензоимидазол (М1) и 2-этилсульфонилбензоимидазол (М2), которые относятся к продуктам окисления серы, входящей в состав бемитила. Формирование более полярной и способной к глюкуронированию молекулы является характерным направлением биотрансформации ксенобиотиков.

М1 выявляли в крови сразу же после ингаляционного введения бемитила с достижением максимального уровня к 30-й минуте при введении 10 мг/кг препарата (рис. 3). Однако относительное количество образующегося метаболита уступало аналогичному показателю при внутривенном введении, несмотря на соизме-

римые значения концентраций бемитила, поскольку при ингаляционном поступлении препарата в организм отсутствует стадия первого прохождения через печень, где, главным образом, происходит биотрансформация исходного соединения. Аналогичную ситуацию отмечали при введении бемитила в дозе 50 мг/кг.

Метаболит М2 при ингаляционном введении препарата в дозе 10 мг/кг выявляли в крови через 15 мин после введения, в дозе 50 мг/кг – через 5 мин. Максимальный уровень метаболита в крови регистрировали через 120 мин (10 мг/кг) и 240 мин (50 мг/кг) (рис. 4 и 5). В период времени 120 – 240 мин (10 мг/кг) или 240 – 360 мин (50 мг/кг), как и в случае внутривенного введения бемитила, содержание М2 практически не изменялось. Через 720 мин содержание метаболита при различных путях введения выравнивалось.

Таким образом, динамика уровня М1 была сопоставима после ингаляционного и внутривенного введения бемитила, а содержание М2 после ингаляционного введения было значительно меньше, чем при других путях введения. Этот факт, вероятно, можно объяснить меньшим количеством препарата, попадающего в печень, и, соответственно, меньшей скоростью его биотрансформации.

Максимальную скорость элиминации отмечали при внутривенном введении бемитила в дозе 10 мг/кг (зна-

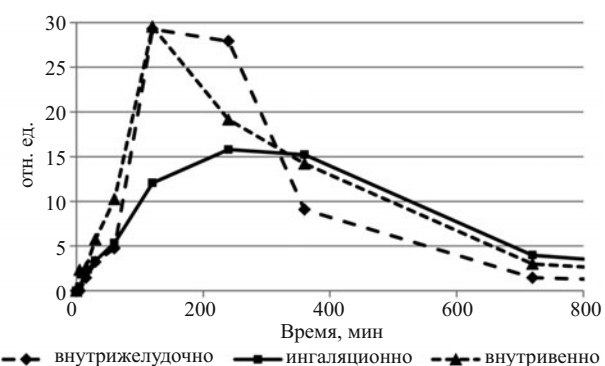


Рис. 5. Динамика уровня М2 в крови при различных путях введения бемитила в дозе 50 мг/кг.

чение константы скорости элиминации составило $0,010 \text{ мин}^{-1}$), в то время как для ингаляционного пути скорость выведения была наименьшей. Величина стационарного объёма распределения, составившая $0,46 - 0,66 \text{ л}$ после ингаляционного введения бемитила, незначительно превышает объём экстрацеллюлярной жидкости в организме крысы, что свидетельствует о низкой способности препарата распределяться и накапливаться в тканях. При внутривенном введении этот показатель в несколько раз превышал значения для ингаляционного введения и составил $1,7 - 3,8 \text{ л}$, что отражает более высокую интенсивность распределения бемитила в биологические жидкости и ткани.

Биодоступность при внутривенном введении препарата составила $35 - 50 \%$. Поскольку бемитил обладает не только гидрофильными, но и, в определенной мере, липофильными свойствами [7], он достаточно быстро всасывается из ЖКТ. Тем не менее, после перорального приема препарат более медленно попадает в системный кровоток, по сравнению с ингаляционным применением, что может быть связано с более быстрым прохождением липофильных неполярных соединений через гемато-альвеолярный барьер и отсутствием первой стадии метаболизма. Абсолютная биодоступность при ингаляционном введении бемитила составила около 100% .

ВЫВОД

Ингаляционное введение бемитила обеспечивает быстрое и полное поступление препарата в системный кровоток в количестве, соизмеримом с таковым при внутривенном введении. Абсолютная биодоступность бемитила при ингаляционном введении составляет $99 - 119 \%$, скорость биотрансформации – минимальна, по сравнению с внутривенным и внутривенным путями введения препарата в организм.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Смирнов, А. Б. Томчин, Е. Б. Шустов, Патент РФ 2150273 (2000).
2. А. Н. Миронов, Н. Д. Бунатян, *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Гриф и К, Москва (2012).
3. Государственный реестр лекарственных средств <http://grls.rosminzdrav.ru>.
4. И. Л. Гуляева, *Автореф. дис. д-ра мед. наук*, Томск (2009).
5. Л. И. Бугаева, А. А. Спасов, И. Н. Веровский и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **63**(6), 53 – 57 (2000).
6. М. Д. Машковский, *Лекарственные средства*, 16-е изд., Новая волна, Москва (2011).
7. Ю. С. Макляков, В. В. Хоронько, А. А. Степанов и др., *Биомедицина*, № 6, 111 – 119 (2007).

Поступила 12.11.13

FEATURES OF BEMITHYL PHARMACOKINETICS UPON INHALATION ADMINISTRATION

A. F. Kurpyakova¹, D. S. Geibo¹, V. N. Bykov², and A. S. Nikiforov¹

¹ “Silver Pharm” Company, Industrialnyi prosp. 45A, St. Petersburg, 195279 Russia

² Scientific Research Institute of Military Medicine, Ministry of Defense of Russian Federation, ul. Lesoparkovaya 4, St. Petersburg, 105043, Russia

A comparative study of bemithyl pharmacokinetics was carried out upon its inhalation, intragastric and intravenous administration. The main drug metabolites were identified and the pharmacokinetic parameters were calculated. The obtained results suggest that the inhalation administration of bemithyl is a promising replacement for oral administration, which is related to high bioavailability of the drug and the absence of the effect of “first pass” through the liver.

Keywords: pharmacokinetics; bemithyl; inhalation administration