

УДК 615.3:616-073
©Коллектив авторов

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИЕ И ОБЕЗБОЛИВАЮЩИЕ СВОЙСТВА ИНЪЕКЦИОННОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЫ НОВОГО ПРОИЗВОДНОГО ИМИДАЗОБЕНЗИМИДАЗОЛА – СОЕДИНЕНИЯ РУ-1205 С КАППА-АГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

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

¹ВолгГМУ, 400131, Волгоград, пл. Павших Борцов, 1; эл. почта: a.rashenko@yandex.ru

²НИИ фармакологии ВолгГМУ, 400131, Волгоград, пл. Павших борцов, 1

³Волгоградский медицинский научный центр, 400131, Волгоград, пл. Павших борцов, 1

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

Исследованы фармакокинетические свойства производного имидазобензимидазола соединения РУ-1205 при подкожном введении кроликам в виде субстанции и лекарственной форме (лиофилизат для приготовления инъекций) в дозе 25 мг/кг. Установлено, что для лиофилизата изучаемого вещества относительная биодоступность составляет 81,94%. В тестах “горячая пластина” и “уксусные корчи” показано, что лекарственная форма и субстанция исследуемого вещества оказывают одинаковый анальгетический эффект.

Ключевые слова: фармакокинетика, фармакодинамика, анальгезия, соединение РУ-1205, бензимидазол, инъекционная лекарственная форма

DOI: 10.18097/PBMC20156105636

ВВЕДЕНИЕ

Наиболее часто в клинической практике используют наркотические обезболивающие препараты, которые неселективно действуют на опиоидные рецепторы [1]. Однако, μ -агонисты обладают рядом серьезных нежелательных реакций, самой опасной из которых является угнетение дыхательного центра [2]. В случае передозировки угнетение дыхания может быть смертельным [3]. Зависимость и толерантность также существенно влияют на результат терапии опиоидами [4]. При длительном использовании опиоидов развивается привыкание к обезболивающему эффекту, что в итоге приводит к необходимости повышать дозу применяемого препарата, а их наркогенный потенциал может стать причиной сложной социальной адаптации после окончания терапии [1]. В связи с этим, большое значение имеет разработка опиоидных обезболивающих средств, не вызывающих зависимость и другие побочные эффекты морфиноподобных препаратов [5]. К подобным веществам относятся соединения, обладающие каппа-агонистической активностью [6]. Согласно проведенным исследованиям, производное

морфолиноэтилимидазобензимидазола проявляет анальгетическую активность, являясь κ -агонистом [7]. Поэтому является целесообразным создание инъекционных лекарственных форм для подобных препаратов.

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

МЕТОДИКА

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% [8]. Инъекционная лекарственная форма в виде лиофилизата, состава – 9-(2-морфолиноэтил)-2-(4-фторфенил)имидазо [1,2- α] бензимидазол – 0,05 г; маннит – 2,65 г – разработана и изготовлена в “НИИ фармакологии имени В.В. Закусова” РАМН г. Москва.

* - адресат для переписки

Фармакокинетические исследования субстанции и лиофилизата соединения РУ-1205 проводили на 10 кроликах-самцах породы шиншилла массой 2,5-3 кг [9]. Изучение уровня обезболивающего эффекта выполняли на 98 самцах белых мышей массой 25-30 г с использованием теста “уксусные корчи” [10]. Продолжительность анальгезии оценивали в тесте “горячая пластина” на 102 белых мышках-самцах массой 25-30 г [11]. Животных содержали в условиях вивария на стандартной диете 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 животных лишали пищи без ограничения доступа к воде [9].

Количественное определение изучаемого соединения проводили по ранее разработанному методу [12]. В работе использовали высокоэффективный жидкостной хроматограф Shimadzu (Япония) с УФ-детектором при $\lambda=205$ нм, аналитическая колонка SUPELCOSIL LC-18 (5 мкм; 100 мм × 4,6 мм), температура хроматографирования 50°C. Мобильная фаза включала ацетонитрил (США) и буферную систему, состоящую из однозамещенного фосфата калия 50 мМ рН 5,0, в соотношении 1:1. Для калибровочного графика строили зависимость стандартных концентраций (диапазон 0,5-25 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 и лиофилизата соединения РУ-1205 осуществляли однократно подкожно в одинаковой дозе 25 мг/кг. Пробы крови отбирали в течение 12 ч после введения в дискретные интервалы 0,25 ч; 0,5 ч; 1 ч; 2 ч; 4 ч; 8 ч; 12 ч. Фармакокинетическую кривую снимали параллельно с 5 животных. Для одновременной преципитации белков и извлечения анализируемого вещества к плазме крови добавляли ацетонитрил в соотношении 1:1. Все эксперименты выполняли согласно заключению этической экспертизы (протокол № 155-2012 от 23 марта 2012 года, Региональный Независимый Этический Комитет).

Обезболивающее действие определяли в тесте “уксусные корчи”. Химическое раздражение брюшины мышей производили путём внутрибрюшинного введения 0,6% уксусной кислоты. В течение 15 мин после введения кислоты подсчитывали количество корчей, проявляющихся характерными потягиваниями. Раствор субстанции и лиофилизата соединения РУ-1205 вводили в холку в дозе 1 мг/кг за 1 ч до введения уксусной кислоты. Об анальгетическом действии судили по уменьшению количества “корчей” за период регистрации данной поведенческой реакции.

В тесте “горячая пластина” раствор субстанции и лиофилизата соединения РУ-1205 вводили перорально в дозе 1 мг/кг. Через 0,25 ч; 0,5 ч; 1 ч; 2 ч; 4 ч; 8 ч и 12 ч после инъекции животное помещали на медную пластину, являющуюся дном пластикового цилиндра диаметром 15 см, с заранее установленной температурой (55°C). При этом фиксировали латентное время появления ноцицептивной реакции. Об уровне анальгетического эффекта судили по изменению латентного периода по сравнению с контрольной группой.

Полученные экспериментальные данные были статистически обработаны с помощью программы Microsoft Excel 2003 и GraphPad Prism 5.01.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Фармакокинетическая кривая действующего компонента при введении раствора лиофилизата представлена в сравнении с фармакокинетической кривой, полученной при введении раствора субстанции (рис. 1). В таблице приведены основные фармакокинетические параметры инъекционной лекарственной формы и субстанции соединения РУ-1205 при подкожном введении кроликам.

Таблица. Фармакокинетические параметры лиофилизата соединения РУ-1205 в сравнении с субстанцией после однократного подкожного введения кроликам в дозе 25 мг/кг.

	Субстанция	Ллиофилизат
AUC (мкг/мл)·ч	17,18±0,6	14,035±1,29*
T _{1/2} , ч	15,09±0,72	10,31±1,12*
Kel	0,04±0,002	0,065±0,004*
MRT, ч	8,38±0,26	7,55±0,34*
Cl, л/ч/кг	1,46±0,03	1,78±0,17*
Vd, л/кг	31,94±1,69	26,51±0,68*
F _{отн} , %	-	81,94±10,12

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

При подкожном введении раствора субстанции РУ-1205 соединение быстро всасывается. Фармакокинетическая кривая носит моноэкспоненциальный характер. Максимальная концентрация наблюдается через 15 мин после введения. Снижение содержания исследуемого вещества происходит через 2 ч, а далее до 12 ч уровень вещества практически не изменяется и колеблется от 0,66 мкг/мл до 0,62 мкг/мл.

При введении раствора инъекционной лекарственной формы соединение также быстро всасывается и достигает максимальной концентрации через 15 мин, которая практически в два раза превышает таковую при введении субстанции. После чего содержание исследуемого вещества в плазме

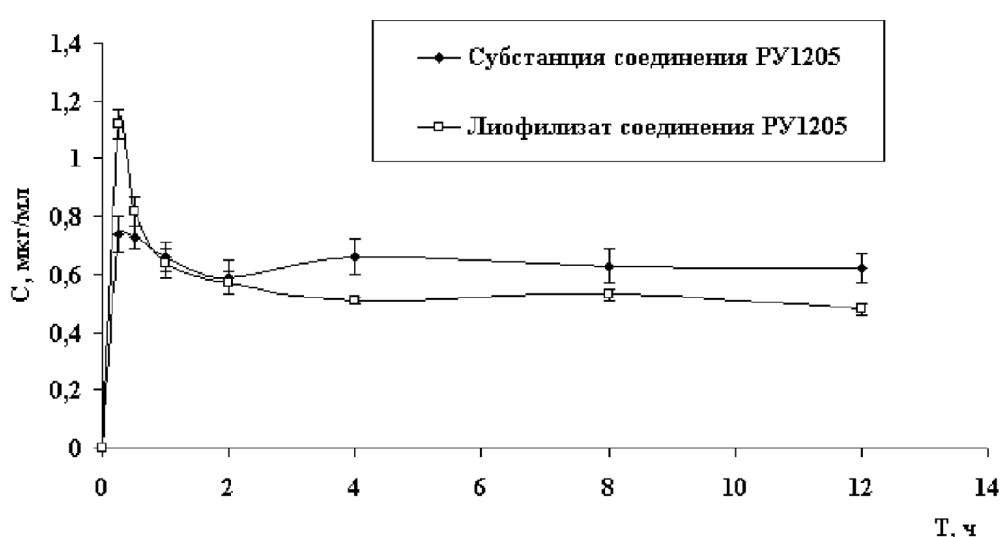


Рисунок 1. Содержание соединения РУ-1205 в плазме крови кроликов при подкожном введении лиофилизата по сравнению с субстанцией. Обозначения: по оси абсцисс - время (ч), по оси ординат - концентрация мкг/мл.

крови кроликов уменьшается и к 12 ч эксперимента составляет 0,48 мкг/мл. Фармакокинетическая кривая носит моноэкспоненциальный характер.

При исследовании анальгетических свойств субстанции и лиофилизата соединения РУ-1205 было установлено, что через час после введения отмечается обезболивающий эффект. При этом анальгетическая активность лекарственной формы на 16% выше, чем у субстанции (рис. 2).

Продолжительность обезболивающего эффекта субстанции и лиофилизата соединения РУ-1205 представлена на рисунке 3. В обоих случаях продолжительность действия исследуемого вещества ограничено 12 ч. Характер кривых идентичен. Максимальный эффект наблюдается к 2 ч исследования, затем антиноцицептивное действие плавно снижается и выходит на плато.

Таким образом, разработанная лекарственная форма является биоэквивалентной по отношению

к субстанции и не препятствует высвобождению и всасыванию лекарственного вещества при подкожном введении.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

1. Относительная биодоступность инъекционной лекарственной формы соединения РУ-1205 составляет $81,94 \pm 10,12\%$.

2. При подкожном введении мышам лиофилизата соединения РУ-1205 наблюдается увеличение анальгетической активности, по сравнению с субстанцией, без пролонгации обезболивающего эффекта.

Работа выполнена в рамках ФЦП "Доклинические исследования лекарственного средства с каптаптоидной агонистической активностью на основе производного имидазобензимидазола" Шифр "2.1 Имидазобензимидазол 2011" по государственному контракту № 11411.1008700.13.090 от 13.09.2011 г.

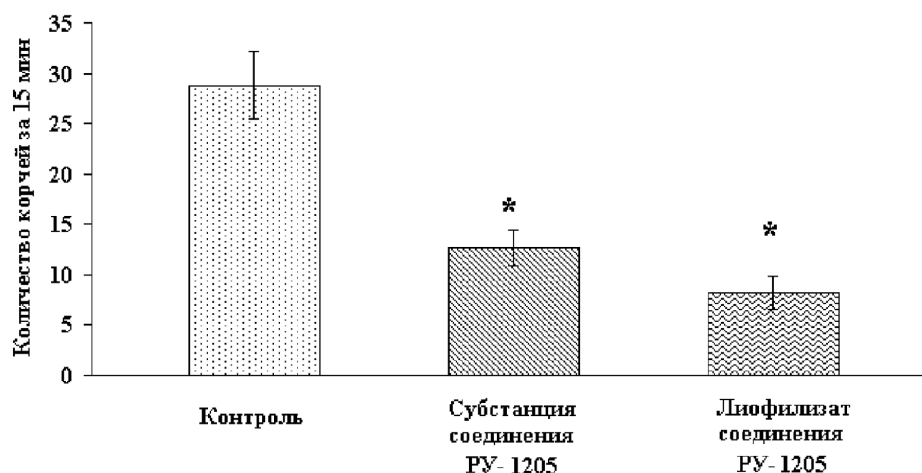


Рисунок 2. Влияние соединения РУ-1205 при подкожном введении мышам в виде субстанции и лиофилизата на развитие укусных корчей у мышей через 1 ч после инъекции 0,6% уксусной кислотой. * - статистически значимо по отношению к контрольной группе животных ($p \leq 0,05$), по критерию Манна-Уитни.

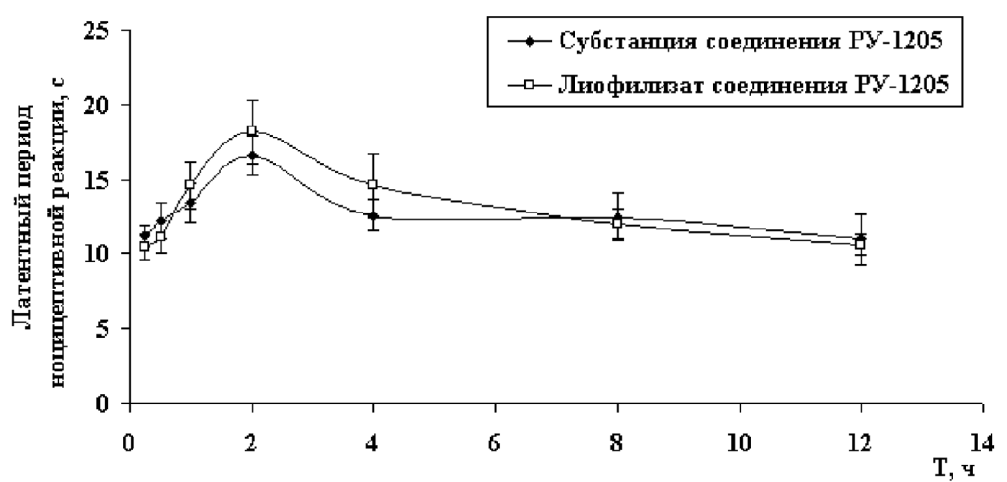


Рисунок 3. Влияние соединения РУ-1205 при подкожном введении мышам в виде субстанции и лиофилизата на продолжительность обезболивающего эффекта в тесте “горячая пластина”. Обозначения: по оси абсцисс - время (ч), по оси ординат - латентный период ноцицептивной реакции (с).

ЛИТЕРАТУРА

1. Savage S.R., Kirsh K.L., Passik S.D. (2008) *Addiction Science Clinical Practice*, **4**(2), 4-25.
2. Bagheri S.C. (2014) *Clinical Review of Oral and Maxillofacial Surgery*, 49-52.
3. Manchikanti L., Abdi S., Atluri S. et al. (2012) *Pain physician*, **15**(3 Suppl.), S67-S116.
4. Brennan F., Carr D.B., Cousins M. (2007) *Anesthesia Analgesia*, **109**, 208-209.
5. Kivell B., Prinszano T.E. (2010) *Psychopharm.*, **210**(2), 109-119.
6. Guzman D.S., Flamer K., Paul-Murphy J.R. et al. (2011) *J. Avian. Med. Surg.*, **25**(3) 185-191.
7. Чикун Д.М., Елисеева Н.В. (2012) Сб. материалов IV Всероссийского научно-практического семинара молодых ученых с международным участием “Современные проблемы медицинской химии. Направленный поиск новых лекарственных средств”, Волгоград, 138-139.
8. Анисимова В.А. и др. Патент РФ №2413512С1 от 29.07.2009 г. Оpubл. 10.03.2011; Бюл. №7.
9. Миронов А.Н. (ред.) (2012) Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств, ЗАО “Гриф и К”, Тула.
10. Köster R. (1977) *Offentl. Gesundheitswes*, **39**(7), 387-393.
11. Kitchen I., Crowder M. (1985) *J. Pharmacol. Methods*, **13**(1), 1-7.
12. Смирнова Л.А., Ращенко А.И., Рябуха А.Ф., Кузнецов К.А., Сучков Е.А. (2012) *Волгогр. научно-мед. журнал*, №2, 15-17.

Поступила: 05. 02. 2014.

PHARMACOKINETIC AND ANALGESIC PROPERTIES OF THE INJECTABLE DOSAGE FORM OF A NEW IMIDAZOBENZIMIDAZOLE DERIVATIVE RU-1205 WITH KAPPA AGONIST ACTIVITY

A.A. Spasov^{1,3}, L.A. Smirnova^{2,3}, O.U. Grechko¹, A.I. Raschenko¹, D.M. Shtareva¹, V.A. Anisimova⁴

¹Volgograd State Medical University,

1 Pavshikh Bortsov sq., Volgograd, 400131 Russia; e-mail: a.rashenko@yandex.ru

²Volgograd State Medical University, 1 Pavshikh Bortsov sq., Volgograd, 400131 Russia

³Volgograd Medical Research Center, 1 Pavshikh Bortsov sq., Volgograd, 400131 Russia

⁴Institute of Physical and Organic Chemistry, South Federal University,

194/2, pr. Statchki, Rostov-on-Don, 344090 Russia

Pharmacokinetic properties of imidazobenzimidazole derivative compound RU-1205 were investigated after subcutaneous administration to rabbits as a substance and a dosage form (lyophilisates for injection) at a dose of 25 mg/kg. The lyophilisate was characterized by high values of the relative bioavailability. In tests, the “hot plate” and “vinegar cramps” the dosage form and the substance exhibited the same analgesic effect.

Key words: pharmacokinetics, pharmacodynamics, analgesia, compound RU-1205, benzimidazols, injection dosage form