

ФАРМАКОКИНЕТИКА ТРЁХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ НОВОГО ДИПЕПТИДНОГО АНКСИОЛИТИКА ГБ-115 ДЛЯ ПРИЕМА ВНУТРЬ

Е. В. Иванникова, С. С. Бойко, В. П. Жердев, С. Ю. Раскин, Е. В. Блынская, К. Г. Турчинская, А. А. Илларионов¹

Проведён сравнительный анализ фармакокинетики 3 лекарственных форм для приема внутрь, разработанных в опытно-технологическом отделе ФГБУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” РАМН на базе нового анксиолитика ГБ-115. Лекарственные формы отличались составом и технологией производства. По результатам исследований фармакокинетики ГБ-115 лекарственная форма № 2 (относительная биодоступность 192 %) показала свои преимущества, по сравнению с субстанцией и двумя другими лекарственными формами (относительная биодоступность 53 и 117 %), и может быть рекомендована для дальнейшего изучения.

Ключевые слова: биодоступность; высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детектором; ГБ-115; лекформа; микронизация; фармакокинетика.

ВВЕДЕНИЕ

В связи со значительным ростом заболеваний, связанных с тревожными и депрессивными расстройствами, актуальными являются разработка и внедрение новых анксиолитических средств. Сегодня препараты, обладающие таким фармакологическим эффектом, представлены, в основном, группой соединений бензодиазепинового ряда, для которых характерны такие побочные эффекты, как утомляемость, сонливость, нарушение памяти, психическая и физическая лекарственная зависимость, синдром отмены, что снижает качество жизни пациентов.

Известно, что холецистокинин, в свою очередь, играет важную роль в формировании тревожных и депрессивных расстройств [6, 7]. Доказано, что агонисты холецистокининовых (ХЦК) рецепторов в ЦНС провоцируют развитие тревожных состояний и стресса, что побудило к активному поиску и созданию антагонистов ХЦК-рецепторов, эффективных при системном введении. Основными требованиями для этих соединений являются биологическая стабильность, устойчивость к действию ферментов, проницаемость через ГЭБ и высокая биодоступность. В ФГБУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” РАМН была разработана стратегия создания дипептидных лекарств, которая послужила основой для синтеза нетоксичного высокоактивного антиаддиктивного потенциально селективного анксиолитика ГБ-115 [1, 2, 4]. Данное соединение представляет собой ретропептидный аналог холецистокинина-4 [3, 5].

До сих пор не существуют препараты, являющиеся антагонистами холецистокининовых рецепторов, что подчёркивает научную новизну и уникальность разра-

ботки данной субстанции и её оптимальной лекарственной формы.

В опытно-технологическом отделе ФГБУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” РАМН на базе нового анксиолитика ГБ-115 синтезированы 3 лекарственных формы, содержащие одинаковое количество активного вещества, но отличающиеся по составу вспомогательных веществ (ПВП-ТДС, неусилин, лудипресс) и технологии их приготовления (использование кристаллической и микронизированной субстанций).

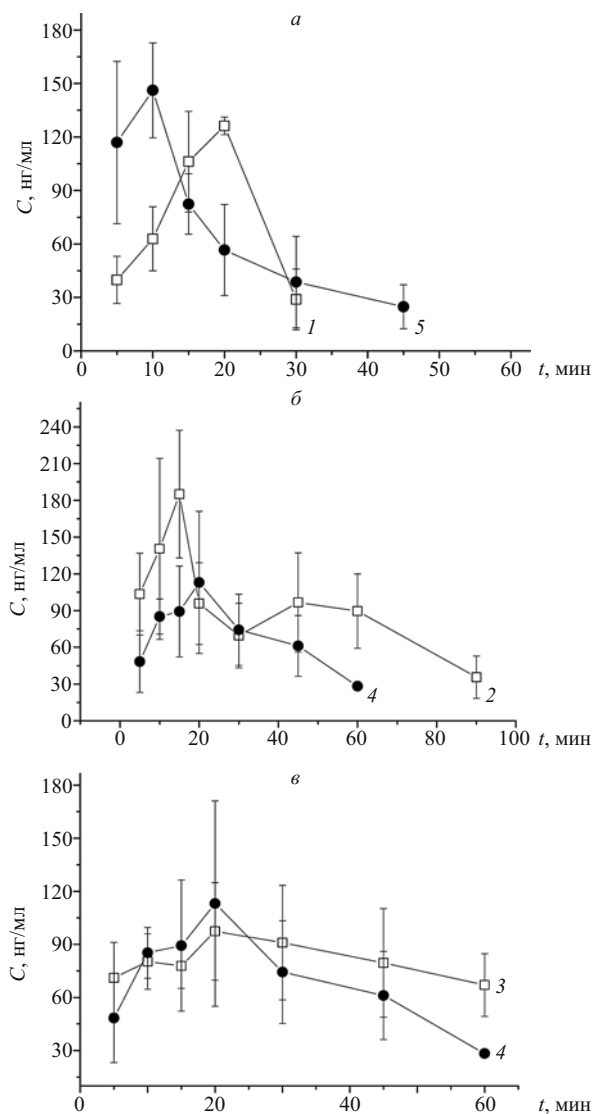
Мелкодисперсная субстанция получена методом рекристаллизации. Изучение микроскопии позволило установить, что мелкодисперсная субстанция имеет частицы размером 10 мкм. Степень измельчения лекарственных веществ может влиять на скорость растворения, абсорбцию и, соответственно, на эффект лекарственного препарата. Также многочисленными исследованиями доказано, что скорость и продолжительность действия лекарственного вещества в качестве моносоставляющего, диспергированного в матрице ПВП, может быть повышена в 2 – 3 раза.

Целью настоящей работы явилось изучение фармакокинетики 3 лекарственных форм ГБ-115 для приема внутрь, изготовленных по различным технологиям, и выбор оптимальной лекформы.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Анализируемые лекарственные формы ГБ-115 имели следующий состав: в 100 мг лекарственной формы 1 содержалось 10,0 мг кристаллической субстанции ГБ-115, 45 мг неусилина, 45,0 мг лудипресса; в 100,0 мг лекарственной формы 2 содержалось 10,0 мг микронизированной субстанции ГБ-115, 40,0 мг неусилина, 50,0 мг ПВП; в 100,0 мг лекарственной формы 3 – 10,0 мг микронизированной субстанции ГБ-115, 45,0 мг неусилина, 45,0 мг лудипресса. Контрольные группы животных получали внутрь субстан-

¹ ФГБУ “Научно-исследовательский институт фармакологии им. В. В. Закусова” Российской академии медицинских наук, Москва, 125315, ул. Балтийская, д. 8.



Фармакокинетические кривые ГБ-115 после однократного введения внутрь крысам в дозе 100 мг/кг: а) лекарственной формы 1 (1) и кристаллической субстанции (5); б) лекарственной формы 2 (2) и микронизированной субстанции (4); в) лекарственной формы 3 (3) и микронизированной субстанции (4).

цию ГБ-115 в кристаллическом (группа 4) и микронизированном состоянии (группа 5).

Эксперименты проведены на 250 белых беспородных крысах-самцах массой 250 ± 30 г, полученных из питомника РАМН “Столбовая”. Животных содержали по 10 особей в клетке на стандартной диете вивария ФГБУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” РАМН. Исследования были выполнены согласно “Правилам лабораторной практики” (Приказ Минздрава России от 23 августа 2010 г.). Лекарственную форму и субстанцию вводили животным внутрь с помощью зонда в водном растворе в дозе 100 мг/кг из расчета на субстанцию. Эксперименты проводили приблизительно в один и тот же промежуток светового дня. Животные были разделены на 5 групп: животным 1-й группы

вводили лекарственную форму 1, 2-й группы — лекарственную форму 2, 3-й группы — лекарственную форму 3, 4-й группы — микронизированную субстанцию и крысам 5-й группы вводили кристаллическую субстанцию. Каждая группа включала по 46 крыс. 6-я группа животных, которым не вводили ГБ-115, составила контрольную группу (20 крыс). Животных умерщвляли декапитацией через 5, 10, 15, 30, 45, 60, 90 мин после введения дипептида и собирали кровь в гепаринизированные пробирки. Плазму получали центрифугированием при 8000 об/мин в течение 10 мин.

Экстракцию проводили следующим способом: к 1 мл плазмы крови крыс, содержащей ГБ-115, добавляли двукратный объем ацетонитрила (2 мл) для осаждения белков. Водно-ацетонитрильный раствор центрифугировали при $t = 2$ °С со скоростью 8000 об/мин в течение 10 мин. Далее отбирали очищенную от белков плазму, добавляли 5 мл диэтилового эфира, встряхивали в течение 15 мин, отделяли эфирный слой и сушили в токе азота досуха, остаток растворяли в элюенте и вводили в систему ВЭЖХ-УФ. Система представляла собой жидкостной хроматограф, состоящий из изократической помпы SYSTEM COLD 127 (США), ультрафиолетового детектора и компьютера с соответствующим пакетом программ для обьчета хроматограмм “Амперсенд” (Россия). Хроматографическое разделение проводили на аналитической колонке — Luna 5u C 18 (2) 100А, $250 \times 4,6$ мм, детектирование проводили при длине волны 282 нм, что позволило избежать влияния коэкстрактивных веществ, которые бы мешали определению ГБ-115. В качестве элюента использовали систему ацетонитрил — вода в соотношении 400:450 по объёму с добавлением трифторуксусной кислоты до рН = 3,2. Скорость потока подвижной фазы составляла 1,0 мл/мин.

Количественное определение ГБ-115 проводили методом абсолютной калибровки. Калибровочный график был линеен в интервале концентраций 50 – 1000 нг/мл. Коэффициент корреляции составил 0,99965. Основные фармакокинетические параметры рассчитывали модельно-независимым методом статистических моментов. Относительная биодоступность была рассчитана по формуле: $AUC(per\ os\ ЛФ \times \text{доза\ субст.}) / AUC(per\ os\ субст. \times \text{доза\ ЛФ}) \cdot 100\ %$. Полученные результаты обработаны статистически с помощью программы “Statistica 7”.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке представлены фармакокинетические кривые ГБ-115 в плазме крови крыс после однократного введения внутрь ГБ-115 в виде водного раствора субстанции и его 3 лекарственных форм в дозе 100 мг/кг.

ГБ-115 быстро всасывается в ЖКТ, поступает в системный кровоток и определяется в плазме крови крыс

уже через 5 мин после введения как самой субстанции, так и всех 3 лекарственных форм.

Однако на стадии абсорбции препарата отмечаются значительные различия в динамике изменения концентраций для лекарственных форм и субстанции. Как для препарата в лекарственной форме 1, так и для микронизированной субстанции характерно постепенное увеличение концентрации активного соединения с достижением максимального значения через 20 мин после введения, которое составляет 126,25 и 113,02 нг/мл соответственно. Динамика концентрации ГБ-115 в лекарственной форме 2 отличается резким подъёмом: уже через 5 мин после введения она составляет 103,41 нг/мл и достигает максимума 185,10 нг/мл через 15 мин. В последующие интервалы времени концентрация ГБ-115 постепенно снижалась на протяжении 1,5 ч и в конечный период времени составила 35,61 нг/мл. Максимальная концентрация дипептида в лекарственной форме 3 была самой низкой и составила 97,36 нг/мл через 20 мин после введения. Для данной лекарственной формы характерно наличие достаточно высоких концентраций в последующие интервалы времени.

Значительные различия в кинетике ГБ-115 наблюдались и на стадии его элиминации из плазмы крыс. Так, при введении дипептида в лекарственной форме 1 отмечали быстрое снижение концентрации ГБ-115 в период 20 – 30 мин, и через 45 мин активное вещество в плазме крови крыс не обнаруживали. После введения лекарственной формы 2 концентрация ГБ-115 в плазме крыс снижалась медленно, и через 60 мин дипептид определяли в достаточно высоком количестве (89,58 нг/мл), и при увеличении времени исследования ГБ-115 удалось определить через 90 мин после введения (35,61 нг/мл). Характер элиминации после введения внутрь микронизированной субстанции и ле-

карственной формы 3 — более медленный, причём высокая концентрация ГБ-115 66,35 нг/мл сохранялась в течение 60 мин после введения. Следует отметить, что концентрации ГБ-115 в плазме крови во все исследуемые интервалы времени были выше при введении лекарственных форм по сравнению с субстанцией, что может свидетельствовать о влиянии вспомогательных веществ на скорость и степень всасывания ГБ-115.

На основании полученных экспериментальных данных рассчитаны основные фармакокинетические параметры ГБ-115 модельно-независимым методом, которые представлены в сводной таблице.

Для сравнения длительности пребывания активного вещества в неизменном виде в организме испытуемых животных после введения субстанции и каждой из предложенных лекарственных форм необходимо сравнить следующие параметры: K_{el} , $T_{1/2}$, MRT , C_{max}/AUC . ГБ-115 быстрее выводится из организма после введения в виде лекарственной формы 1, что может быть обусловлено присутствием кристаллической субстанции в составе данной лекарственной формы. Как видно из таблицы, фармакокинетические параметры кристаллической субстанции отличаются от микронизированной, особенно величины площади под кривой, клиренса и времени удерживания вещества в крови, которые составляют 2821,050 нг/мл · мин, 6,099 л/мин, 23,83 мин соответственно. Для лекарственной формы 1 характерны высокое значение константы скорости элиминации — $0,1475 \text{ мин}^{-1}$, короткий период полувыведения — 4,7 мин и небольшое среднее время удерживания лекарственного вещества в плазме крыс — 18,26 мин. После введения микронизированной субстанции ГБ-115 активное вещество находится более длительное время в организме животных. Лекарственная форма 3 (K_{el} — $0,0323 \text{ мин}^{-1}$, $T_{1/2}$ — 74,01 мин, MRT — 113,20 мин) отличается от лекарственной фор-

Фармакокинетические параметры кристаллической и микронизированной субстанций дипептида ГБ-115, а также 3 его лекарственных форм для приема внутрь

Параметр	Кристаллическая субстанция ГБ-115	Микронизированная субстанция ГБ-115	Лекарственная форма		
			1	2	3
AUC , нг/мл · мин	2821,050	4019,415	2136,225	7731,801	4708,205
T_{max} , мин	10	20	20	15	20
C_{max} , нг/мл	146,16	113,022	126,250	185,098	97,364
C_{max}/AUC , мин^{-1}	0,052	0,028	0,059	0,024	0,021
Cl_{po} , л/мин	6,099	4,013	8,576	1,923	1,672
K_{el} , мин^{-1}	0,0471	0,0323	0,1475	0,0155	0,0094
$T_{1/2}$, мин	14,73	21,49	4,70	44,75	74,01
MRT , мин	23,83	39,87	18,26	68,32	113,20
V_{zpo} , л	129,60	124,40	58,15	124,20	178,50
Относительная биодоступность F , %	70,19 %		53,15 %	192,36 %	117,14 %

Примечание: AUC , нг/мл · мин — площадь по фармакокинетической кривой. T_{max} , мин — время достижения максимальной концентрации лекарственного вещества. C_{max} , нг/мл — максимальная концентрация лекарственного вещества. C_{max}/AUC , мин^{-1} — параметр, характеризующий скорость всасывания. Cl_{po} , л/мин — плазменный клиренс. K_{el} , мин^{-1} — константа скорости элиминации. $T_{1/2}$, мин — период полувыведения. MRT , мин — среднее время удержания лекарственного вещества в организме. V_{zpo} , л — объём распределения. F , % — относительная биодоступность.

мы 1 и субстанции более медленным выведением неизменённого вещества в течение 60 мин, что является потенциально полезным показателем для лекарственной формы, содержащих пептидные соединения. Лучшие показатели достигнуты, вероятно, в результате удачного сочетания вспомогательных веществ и микронизированной субстанции. Однако величина C_{\max} у неё самая низкая, и к 90 мин после введения концентрация активного вещества ГБ-115 стремится к нулю. Кроме того, для лекарственной формы 2, в отличие от других, регистрируется 2-й максимум концентраций вещества (между 40 и 60 мин после введения), что может быть связано с эффектом энтерогепатической рециркуляции. Отличные фармакокинетические характеристики получены для лекарственной формы 2: для неё характерны более медленное снижение концентрации вещества в плазме крыс с $K_{el} = 0,0155 \text{ мин}^{-1}$, длительный период полувыведения — 44,75 мин и значительное среднее время удержания ГБ-115 в плазме крови крыс $MRT = 68,32 \text{ мин}$.

Для фазы распределения в подтверждение вышесказанного в таблице приведены значения клиренса: большой объём плазмы крови, полностью освобождающийся от активного соединения ГБ-115 за единицу времени, характерен для лекарственной формы 1. Достаточно высокий клиренс определяется после введения микронизированной субстанции. Невысокие, близкие значения клиренса характерны для лекарственных форм 2 и 3, что также говорит о более длительном удержании ГБ-115 в неизменённом виде в организме животных после введения данных лекарственной форм. Для этих 2 данных лекарственных форм 2 и 3, а также для микронизированной субстанции характерны высокие значения гипотетического объёма распределения — 178,50, 124,20 и 124,40 л соответственно, что значительно выше объёма распределения лекарственной формы 1 — 58,15 л.

Лекарственная форма 2 имеет самую большую площадь под фармакокинетической кривой (таблица) и

соответственно самую высокую величину относительной биодоступности, составляющую 192 %, что говорит о её фармакокинетическом преимуществе этой лекарственной формы по сравнению с микронизированной субстанцией и другими исследуемыми лекарственными формами. Такие высокие показатели обусловлены присутствием в составе лекарственной формы 2 активного вещества в форме твёрдой дисперсии с ПВП. Такой технологический приём значительно повышает скорость всасывания и продолжительность действия лекарственного вещества.

Таким образом, лекформа 2 по степени всасывания превосходит лекарственные формы 1 и 3. При анализе скорости всасывания (C_{\max}/AUC) различий в лекарственных формах 2 и 3 не обнаружено.

ВЫВОД

Лекарственная форма 2 нового дипептидного анксиолитика ГБ-115 (в 100,0 мг лекформы — 10,0 мг микронизированной субстанции ГБ-115, 40,0 мг неусилина, 50,0 мг ПВП) превосходит по величине относительной биодоступности в 2 – 4 раза две другие изученные лекарственные формы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Т. А. Гудашева, *Вестн. Рос. акад. мед. наук*, № 7, 8 – 15 (2011).
2. Т. А. Гудашева, Е. П. Кирьянова, Л. Г. Колик и др., *Биоорганическая химия*, **33**(4), 413 – 420 (2007).
3. Т. А. Гудашева, В. П. Лезина, Е. П. Кирьянова и др., *Хим-фарм. журн.*, **40**(7), 21 – 26 (2006).
4. Л. Г. Колик, Т. Л. Гарибова, С. А. Литвинова и др., *Вестник РАМН*, № 7, 37 – 42 (2011).
5. Патент РФ 2227144, *Бюл. изобрет.*, № 11 (2004).
6. J. L. Abelson, *J. Psychiatr. Res.*, **29**(5), 389 – 396 (1995).
7. H. Kim, W. W. Whang, H. T. Kim, et al., *Brain Res.*, **983**(1 – 2), 201 – 208 (2003).

Поступила 02.04.14

PHARMACOKINETICS OF THREE PERORAL DOSAGE FORMS OF NEW DIPEPTIDE ANXIOLYTIC DRUG GB-115

E. V. Ivannikova, S. S. Boiko, V. P. Zherdev, S. Yu. Raskin, E. V. Blynskaya, K. G. Turchinskaya, and A. A. Illarionov

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

Comparative analysis of the pharmacokinetics and bioequivalence of a new dipeptide anxiolytic compound GB-115 in three drug forms for peroral administration, developed in the experimental technology department of the Institute of pharmacology RAMS, was carried out. Three drug forms of GB-115 and a micronized substance of this compound were different in composition and technology of production. As a result of the investigations of GB-115 pharmacokinetics, drug form No. 2 (with a relative bioequivalence of 192%) showed advantages in comparison to the micronized parent substance and two other drug forms (bioequivalence, 53 and 117%) and can be recommended for further pharmacological studies.

Keywords: bioavailability; high-performance liquid chromatography with UV detector; compound GB-115; drug dosage form; micronization; pharmacokinetics