

Доклиническое изучение фармакокинетики нового анксиолитика дипептидной структуры ГБ-115

*Жердев В.П., Бойко С.С., Бlynская Е.В.,
Турчинская К.Г., Гудашева Т.А., Иванникова Е.В.*
ФБГНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», г. Москва

Резюме. В работе представлены результаты исследования экспериментальной фармакокинетики дипептидного анксиолитика ГБ-115 после перорального введения кристаллической и микронизированной субстанций и 4-х его новых лабораторных образцов фармацевтических композиций, отличающихся по технологии приготовления и составу вспомогательных веществ. Показано, что различные вспомогательные вещества, входящие в состав фармацевтических композиций, и технология приготовления существенно влияют на фармакокинетику изучаемого дипептида и следствием её оптимизации является улучшение фармакокинетических свойств разрабатываемого соединения, а именно увеличения полноты всасывания, максимальной концентрации, скорости и степени всасывания и в конечном итоге биодоступности ГБ-115. На основе полученных экспериментальных данных две лекарственные композиции рекомендованы для дальнейшего фармакологического изучения.

Ключевые слова: фармакокинетика, лекарственная композиция, дипептид ГБ-115, микронизированная субстанция, вспомогательные вещества

Preclinical study the pharmacokinetics new anxiolytic drug of dipeptide structure GB-115

Zherdev V.P., Boyko S.S., Blynskaya E.V., Turchinskaya K.G., Gudasheva T.A. Ivannikova E.V.

FGBNI «Research Institute of Pharmacology V.V. Zakusov», Moscow

Abstract. The paper presents the results of experimental studies of pharmacokinetics GB-115 after oral administration of crystalline and micronized substances and 4 new laboratory samples pharmaceutical compositions which differ in the technology of preparation and composition of excipients. It is shown that different excipients and preparation technology significantly affect the pharmacokinetics and effect of studied dipeptide; its optimization is improve the pharmacokinetics properties of the developed compound, namely increasing completeness of absorption, maximum concentration, rate and extent of absorption in the final result in bioavailability GB-115. On the basis of experimental data obtained two pharmaceutical compositions recommended for further pharmacological study.

Keywords: pharmacokinetics, drug composition, dipeptide GB-115, micronized substance

Автор, ответственный за переписку:

Жердев Владимир Павлович — д.м.н., профессор, зав. лабораторией фармакокинетики ФГБУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» РАН, г. Москва; адрес: 125315, г. Москва, ул. Балтийская, 8; тел.: +7 (495) 601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

Введение

При создании новых лекарственных средств необходимым этапом является изучение их фармакокинетики на доклиническом уровне. Результаты доклинического изучения дают возможность оценить скорость и степень всасывания лекарственных соединений из места введения, проницаемости через гистогематические барьеры и доставки их к месту действия, тканевой биодоступности, их биотрансформации с выявлением основных «мажорных» метаболитов, а также активных метаболитов, обладающих такой же или иной фармакологической активностью и выведения из организма лекарственного вещества, и продуктов его превраще-

ния. Кроме того, эти исследования позволяют установить взаимосвязь между фармакокинетикой и фармакодинамикой изучаемых лекарственных веществ, что в дальнейшем может играть важную роль при переносе данных с животных на человека, выбора оптимального пути введения лекарственного вещества с учётом его метаболизма в результате «первого прохождения» через печень, а также его биологической доступности. Особо значимым и в практическом отношении являются исследования фармакокинетики различных лекарственных форм изучаемых препаратов и выбор на этой основе оптимальных, обладающих большей биодоступностью, позволяющих рекомендовать их для дальнейшего изучения и внедрения в медицинскую практику.

В ФБГНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» создан новый дипептидный ретроаналог холецистокинина — ГБ-115 (амид N-фенил-гексаноил-глицил-L-триптофана), обладающий анксиолитической, антиалкогольной, антидепрессивной и анальгетической активностью [1].

Целью работы являлось изучение экспериментальной фармакокинетики и биодоступности субстанции ГБ-115 и четырёх его фармацевтических композиций для перорального применения, отличающихся по технологии приготовления и составу вспомогательных веществ, а также выбор оптимальной лекарственной формы с большей скоростью и степенью всасывания.

Экспериментальная часть

Материалы и методы исследования. В качестве стандартных веществ была использована фармацевтическая субстанция ГБ-115, содержание основного вещества в которой было не ниже 99%.

В работе использовались кристаллическая и микронизированная субстанции ГБ-115, а также 4-х лабораторных образца фармацевтических композиций ГБ-115, предоставленные опытно-технологическим отделом ФБГНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», отличающихся по составу и технологии приготовления:

1. фармацевтическая композиция №1: Субстанция ГБ-115, неусиллин, лудипресс;
2. фармацевтическая композиция №2: Микронизированная субстанция ГБ-115, твёрдая дисперсная система с поливинилпирролидоном;
3. фармацевтическая композиция №3: Микронизированная субстанция ГБ-115, неусиллин, лудипресс;
4. фармацевтическая композиция №4: Микронизированная субстанция ГБ-115, лактоза, микрокристаллическая целлюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза.

Экспериментальные животные. Фармакокинетику ГБ-115 изучали после перорального введения кристаллической и микронизированной субстанций и фармацевтических композиций в виде водной суспензии белым беспородным крысам самцам (массой 180-220 г), полученных из питомника «Столбовая». Животных содержали в стандартных условиях вивария при 12 часовом световом режиме и свободном доступе к корму и воде. Исследования проводили на здоровых, бодрствующих животных. До проведения исследования животные находились в течение 12 ч на водной диете.

Масс-спектрометрический анализ соединения ГБ-115 в плазме крови крыс. Анализ биологических проб ГБ-115 проводили с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектором для точной идентификации структуры пептида. Разделение проводили с помо-

щью хроматографа Agilent 1200 Series LC-MSD TRAP (Agilent Technologies, Palo Alto, США) с автоматическим вводом проб, детектора Agilent 6300 series ion-trap (США) и компьютера с соответствующим пакетом для обчёта хроматограмм. Мобильная фаза состояла из 1 л водного раствора с добавлением 50 мл 0.1 М раствора аммония ацетата и 5 мл муравьиной кислоты (А) и 100% ацетонитрила (В). ВЭЖХ анализ проводился в режиме градиентного элюирования: 0 мин — 5% (В), 5 мин — 60% (В), 7 мин — 80% (В), 12 мин — 80% (В), 15 мин — 10% (В). Скорость потока подвижной фазы составляла 0,25 мл/мин. Температура колонки составила 30°C. Объём вкола: 1 мкл.

Масс-спектры были получены с использованием ионизации электрораспылением (ИЭР) и регистрацией как положительных, так и отрицательных ионов. В результате позитивной ионизации образуется ряд положительных ионов с m/z 473, 457, 435, 418, которые предположительно соответствуют катионизированным молекулярным ионам $[M+K]^+$, $[M+Na]^+$, $[MH]^+$ и $[MH-NH_3]^+$ соответственно. Наличие большого количества пиков затрудняет количественное определение анализируемого вещества. Поэтому была выбрана негативная ионизация, посредством которой образуется один отрицательный ион с $m/z=434$, который в дальнейшем подвергается фрагментации с образованием ионов с массовыми числами — 286 и 304, что предположительно соответствует следующим фрагментам: ацетат глицил-L-триптофана и гидроксильированный ацетат глицил-L-триптофана, соответственно.

В качестве распыляющего газа использовали азот со скоростью — 9 л/мин.

Методика количественного определения соединения ГБ-115 в плазме крови крыс с применением метода высокоэффективной хроматографии с УФ-детектором. Разделение проводили на жидкостном хроматографе, состоящем из изократической помпы SYSTEM COLD 127 (США), ультрафиолетового детектора и компьютера с соответствующим пакетом программ для обчёта хроматограмм «Амперсэнд» (Россия).

Хроматографическое разделение проводили на аналитической колонке — Luna 5μ C 18(2), 250×4,6 мм, детектирование проводили при длине волны 282 нм, что позволило избежать влияния коэкстрактивных веществ, которые мешали бы определению ГБ-115. При использовании диапазона длин волн 200-230 нм наблюдается совпадение максимумов поглощения ГБ-115 и примесей, что и обусловило выбор максимума поглощения в УФ-свете при длине волны 282 нм.

Подвижная фаза — ацетонитрил:вода (400:450), трифторуксусная кислота. Скорость потока подвижной фазы — 1,0 мл/мин. рН раствора составлял 3,2.

Хроматографический анализ проводили при комнатной температуре (22-24°C). Перед хроматографированием подвижную фазу дегазировали на ультразвуковой бане. Пробу вводили при помощи микрошприца в петлю хроматографа объёмом 100 мкл.

Обработка биологических проб, экстракция ГБ-115 из биологических образцов. Подготовка плазмы крови крыс к хроматографическому анализу. Экстракцию ГБ-115 из биологических образцов проводили следующим образом: к 1 мл плазмы крови, содержащей ГБ-115, добавляли двукратный объём ацетонитрила для осаждения белков. Водно-ацетонитрильный раствор центрифугировали при $T - 2^{\circ}\text{C}$ со скоростью 4000 об/мин в течение 10 мин. Далее отбирали очищенную от белков плазму, добавляли 5 мл эфира, встряхивали в течение 15 мин, отделяли эфирный слой и высушивали в токе азота до суха, остаток растворяли в элюенте и вводили в систему ВЭЖХ-УФ.

Фармакокинетические параметры, используемые для интерпретации экспериментальных данных. Основные фармакокинетические параметры рассчитаны модельно-независимым методом (программа «M-IND») [3]:

$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ (нг/мл×мин) — площадь под кривой «концентрация лекарственного вещества — время», рассчитывается от момента введения до бесконечности;

$AUC_{0 \rightarrow t}$ (нг/мл×мин) — площадь под фармакокинетической кривой, рассчитывается от момента введения до момента последней регистрации концентрации исследуемого соединения;

C (нг/мл) — концентрация препарата в плазме крови после перорального введения;

T_{max} (мин) — время достижения максимальной концентрации препарата в плазме крови после перорального введения;

C_{max} (нг/мл) — максимальная концентрация лекарственного вещества в плазме крови после перорального введения;

C_{max}/AUC (мин⁻¹) — параметр, характеризующий скорость всасывания препарата в системный кровоток;

MRT (мин) — среднее время пребывания лекарственного вещества в организме;

K_{el} (мин⁻¹) — константа скорости элиминации, параметр, характеризующий скорость выведения препарата из организма;

$T_{1/2}$ (мин) — период, за который выводится половина введённой и всосавшейся дозы лекарственного вещества;

V_{zpo} (л) — гипотетический объём распределения;

F (%) — относительная биодоступность: $(AUC_{0 \rightarrow t}(A) / AUC_{0 \rightarrow t}(B) \times 100\%)$.

Статистическая обработка полученных результатов. Полученные экспериментальные данные были обработаны с помощью программы «Excel v.11.0». Достоверность различий для сравниваемых концентраций исследуемых соединений оценивали с помощью критерия Стьюдента [4].

Поскольку представленные фармакокинетические кривые были построены по усреднённым значениям 5-8 полученных данных на каждую временную точку, то при расчётах фармакокинетических параметров отсутствует статистическая обработка результатов. На всех графиках представлены средние значения $X_{cp} \pm SD$ (SD — стандартное отклонение).

Результаты исследований и их обсуждение

Фармакокинетика ГБ-115 у крыс после перорального введения кристаллической и микронизированной субстанции в дозе 100 мг/кг. Фармакокинетические кривые ГБ-115 после перорального введения крысам микронизированной и кристаллической субстанций в дозе 100 мг/кг представлены на рис. 1. Время регистрации ГБ-115 в плазме крови крыс колеблется от 45 до 60 мин для кристаллической и микронизированной субстанций, соответственно. Максимумы концентраций ГБ-115 наблюдаются через 10 мин после введения кристаллической и через 20 мин после введения микронизированной субстанции. Исходя из данных рис. 5, можно сделать вывод, что после введения кристаллической субстанции, регистрируются более высокие концентрации ГБ-115 в течение первых 15 мин, но в последующие интервалы времени концентрации соединения снижаются и их значения становятся ниже, чем концентрации после введения микронизированной субстанции.

Кроме того, можно отметить, что после перорального введения ГБ-115 как в виде микронизированной, так и кристаллической субстанций неизменённое соединение быстро всасывается и поступает в системный кровоток, и уже через 5 мин в плазме крови крыс регистрируются значительные концентрации анализируемого вещества.

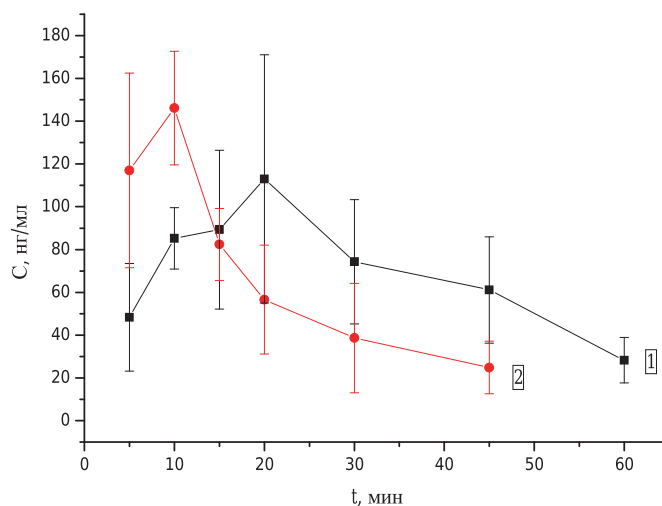


Рис. 1. Фармакокинетические кривые ГБ-115 после перорального однократного введения в дозе 100 мг/кг микронизированной (1) и кристаллической (2) субстанций

Средние концентрации ГБ-115 в различные интервалы времени и его фармакокинетические параметры после введения кристаллической и микронизированной субстанций вещества представлены в табл. 1 и 2, соответственно.

Как видно из приведённых выше таблиц, время достижения максимальной концентрации ГБ-115 после введения кристаллической субстанции в дозе 100 мг/кг в плазме крови крыс составило 10 мин, а её вели-

Средние концентрации ГБ-115 после перорального введения кристаллической и микронизированной субстанций ГБ-115 крысам в дозе 100 мг/кг

Анализируемое вещество	Показатель	Концентрация, нг/мл						
		5	10	15	20	30	45	60
Микр. субст.	Время	5	10	15	20	30	45	60
	Хср	48,35	85,21	89,30	113,02	74,32	61,10	28,26
	SD	25,163	14,336	37,126	58,039	29,036	24,892	10,600
Крист. субст.	Время	5	10	15	20	30	45	60
	Хср	116,93	146,16	82,36	56,60	38,64	24,84	-
	SD	45,502	26,600	16,908	25,500	25,558	12,320	-

чина — 146,16 нг/мл. Максимальная же концентрация ГБ-115 после введения микронизированной субстанции в той же дозе составила 113,02 нг/мл, и достигалась через 20 мин.

Анализ параметров кинетики позволяет заключить, что ГБ-115 быстро выводится из организма после перорального введения микронизированной и в большей степени кристаллической субстанций, на что указывают значения констант скорости элиминации из плазмы крови (K_e), которые составили 0,0323 и 0,0471 мин⁻¹ соответственно. Быстрое выведение ГБ-115 из плазмы крови животных также характеризуется такими фармакокинетическими параметрами, как среднее время удерживания препарата в организме, которое почти в 2 раза выше для ГБ-115 после введения микронизированной субстанции 39,87 мин, чем после введения кристаллической — 23,83 мин. Соответственно это нашло отражение и для периода полувыведения, значения которого ниже для кристаллической субстанции — 14,73 мин, чем для микронизированной субстанции — 21,49 мин.

Подводя итоги, следует отметить, что ГБ-115 в 1,5 раза более продолжительное время находится в организме испытуемых животных после его введения в виде микронизированной субстанции, чем при введении в той же дозе кристаллической субстанции. На это также указывают полученные значения плазменного клиренса ГБ-115 (4,013 л/мин для микронизированной и 6,099 л/мин для кристаллической субстанции).

Значения гипотетического объёма распределения ГБ-115 после введения анализируемых субстанций незначительно отличается, что указывает на сходный характер распределения активного вещества в органах и тканях.

Скорость всасывания и площадь под фармакокинетической кривой ГБ-115 существенно отличается после введения крысам двух субстанций. Так, площадь под фармакокинетической кривой ГБ-115 после введения микронизированной субстанции в 1,5 раза выше, чем после введения кристаллической, что свидетельствует о более высокой относительной биодоступности ГБ-115 после введения микронизированной субстанции. Однако, скорость всасывания ГБ-115 после

введения микронизированной субстанции, судя по времени достижения C_{max} , происходит медленнее, чем после введения кристаллической субстанции, что может рассматриваться как преимущество данного технологического приёма — микронизации и более продолжительно определяться в плазме крови животных после введения микронизированной субстанции. Это может сопровождаться более продолжительным фармакологическим действием вещества. Надо отметить, что микронизация, которая должна способствовать увеличению скорости всасывания, не всегда увеличивает скорость растворения и абсорбцию лекарственного вещества, в частности, вследствие плохой смачиваемости труднорастворимых веществ. Важно учитывать и то, что появление на измельченном материале электростатического заряда приводит к его комкованию, потере сыпучести, плохой смачиваемости. Одной из причин отсутствия желаемого эффекта (увеличение скорости растворения и абсорбции) от изучаемого технологического приёма микронизации является наличие процессов агломерации и агрегации. При микронизации происходит резкое увеличение удельной поверхности частиц и вместе с тем усиление притяжения Ван-дер-Ваальсовых сил между неполярными молекулами, что и лежит в основе процессов агломерации и агрегации.

Возможно, вследствие одной из приведённых причин, ГБ-115 более медленно всасывается в организме подопытных животных после введения микронизированной субстанции и неизменное соединение регистрируется в плазме крови животных более продолжительное время. С целью проверки фармакокинетических закономерностей ГБ-115, полученных после перорального введения крысам различных субстанций изучаемого соединения, в опытно-технологическом отделе ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова» были созданы 4 лабораторных образца фармацевтических композиций ГБ-115 с использованием кристаллической и микронизированной субстанций, а также различных вспомогательных веществ. Результаты проведённых исследований фармакокинетики и биодоступности четырёх фармацевтических композиций изучаемого соединения представлены на рис. 2 и в табл. 3.

Фармакокинетические параметры ГБ-115 у крыс после перорального введения кристаллической и микронизированной субстанций

Параметры	Кристаллическая субстанция	Микронизированная субстанция
$AUC_{0 \rightarrow t}$, нг/мл×мин	2821,050	4019,415
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$, нг/мл×мин	3279,311	4983,617
T_{max} , мин	10	20
C_{max} , нг/мл	146,16	113,022
C_{max}/AUC , мин ⁻¹	0,052	0,028
$C_{пр}$, л/мин	6,099	4,013
K_{el} , мин ⁻¹	0,0471	0,0323
$T_{1/2}$, мин	14,73	21,49
MRT, мин	23,83	39,87
$Vzр$, л	129,60	124,40
F , %		142,48

Сравнительная фармакокинетика и биодоступность четырёх фармацевтических композиций ГБ-115

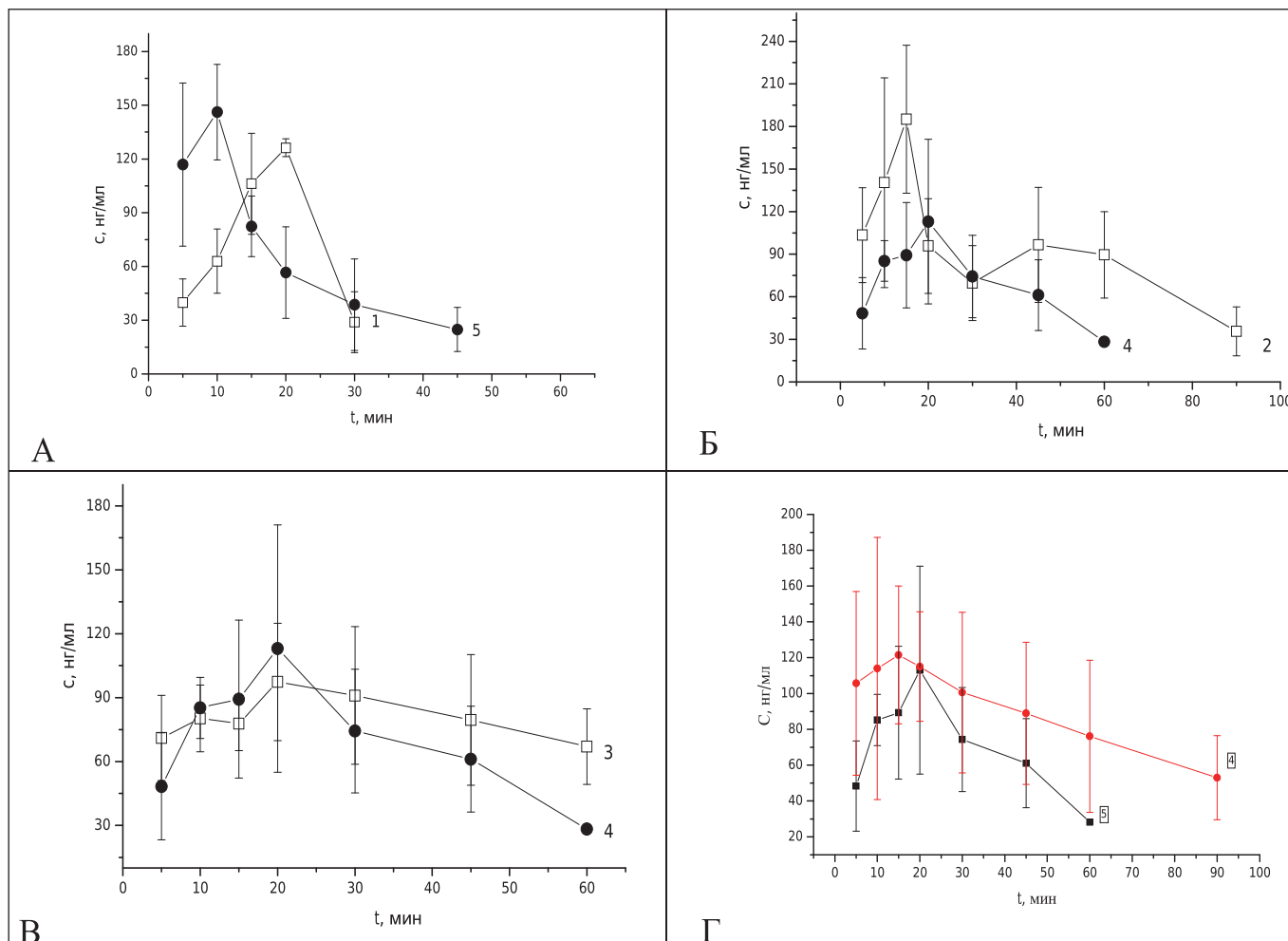


Рис. 2. Фармакокинетические кривые ГБ-115 после перорального однократного введения в дозе 100 мг/кг а) фармацевтической композиции №1 (1) и кристаллической субстанции (5) б) фармацевтической композиции №2 (2) и микронизированной субстанции (4) в) фармацевтической композиции №3 (3) и микронизированной субстанции (4) г) фармацевтической композиции №4 (4) и микронизированной субстанции (5).

На рис. 2 представлены фармакокинетические кривые ГБ-115 в плазме крови крыс после однократного перорального введения ГБ-115 в виде водного раствора кристаллической и микронизированной субстанции, а также его четырёх фармацевтических композиций в дозе 100 мг/кг. Как видно из рис. 2 ГБ-115 быстро всасывается в ЖКТ, поступает в системный кровоток и определяется в плазме крови крыс уже через 5 мин после введения как субстанций, так и 4-х фармацевтических композиций.

Однако на стадии абсорбции препарата отмечаются значительные различия как в количественном содержании ГБ-115, так и в динамике изменения его концентраций после введения анализируемых фармацевтических композиций. Для фармацевтической композиции №1 характерно постепенное увеличение концентрации активного соединения с достижением максимальной концентрации через 20 мин после введения, которая составляет 126,25 нг/мл. Фармацевтическая композиция №2 отличается резким подъёмом концентрации фармакологически активного соединения: уже через 5 мин после введения она составляет 103,41 нг/мл и достигает максимума через 15 мин — 185,10 нг/мл. 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 ГБ-115 после введения фармацевтической композиции №3 была самой низкой и составила 97,36 нг/мл через 20 мин после введения. Для данной фармацевтической композиции характерно наличие достаточно высоких концентраций в последующие интервалы времени. Концентрация ГБ-115 после введения фармацевтической композиции №4 достигает своего максимального значения через 15 мин и составляет 121,5 нг/мл.

Значительные различия в кинетике ГБ-115 наблюдались и на стадии его элиминации из плазмы крови крыс. Так, для фармацевтической композиции №1 от-

мечалось быстрое снижение концентрации ГБ-115 в период 20–30 мин и через 45 мин активное вещество в плазме крови крыс не обнаруживалось. Для фармацевтической композиции №2 и №4 концентрация ГБ-115 в плазме крови крыс снижалась более медленно и через 90 мин соединение регистрировалось в достаточно высоком количестве. Характер элиминации ГБ-115 после перорального введения фармацевтической композиции №3 более медленный, причём, высокая его концентрация сохранялась в течение 60 мин и составила в этот интервал времени 66,35 нг/мл.

На основании полученных экспериментальных данных рассчитаны основные фармакокинетические параметры ГБ-115, которые представлены в сводной табл. 3.

Для сравнения длительности пребывания активного вещества в неизменном виде в организме испытуемых животных после введения каждой из предложенных фармацевтических композиций необходимо сравнить следующие параметры: K_{el} , $T_{1/2}$, MRT, C_{max}/AUC . ГБ-115 быстрее выводится из организма после введения фармацевтической композиции №1. Для неё характерны высокое значение константы скорости элиминации — 0,1475 мин⁻¹, короткий период полувыведения — 4,7 мин и небольшое среднее время удержания лекарственного вещества в плазме крови крыс — 18,26 мин. Фармацевтическая композиция №3 (K_{el} — 0,0323 мин⁻¹, $T_{1/2}$ — 74,01 мин, MRT — 113,20 мин), отличается от фармацевтической композиции №1 более медленным выведением неизменённого вещества в течение 60 мин, что является хорошим показателем для фармацевтических композиций, содержащих пептидные соединения. 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 фармацевтической композиции №2 в отличие от других регистрируется 2-ой максимум концентраций вещества (между 40 и 60 мин после введения), что может быть

Таблица 3

Фармакокинетические параметры (ФК) ГБ-115 после введения четырёх разработанных фармацевтических композиций в дозе 100 мг/кг

Параметры	ФК_1	ФК_2	ФК_3	ФК_4
$AUC_{0 \rightarrow t^*}$, нг/мл×мин	2136,225	7731,801	4708,205	7664,125
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$, нг/мл×мин	2332,120	10399,650	11962,190	12615,99
T_{max} , мин	20	15	20	15
C_{max} , нг/мл	126,250	185,098	97,364	121,5
C_{max}/AUC , мин ⁻¹	0,059	0,024	0,021	0,016
$C_{100'}$, мл/мин	8,576	1,923	1,672	1,585
K_{el} , мин ⁻¹	0,1475	0,0155	0,0094	0,0109
$T_{1/2}$, мин	4,70	44,75	74,01	63,86
MRT, мин	18,26	68,32	113,20	95,75
$V_{zpo'}$, мл	58,15	124,20	178,50	146,00
F, %	53,15	192,36	117,14	190,68

связано с эффектом энтерогепатической рециркуляции. Оптимальные фармакокинетические характеристики получены для фармацевтических композиций №2 и №4: для них характерны более медленное снижение концентраций вещества в плазме крови крыс с K_{el} — 0,0155 мин⁻¹ и 0,0109 мин⁻¹, невысокие значения клиренса Cl_{po} 1,923 мл/мин и 1,585 мл/мин, длительные периоды полувыведения — 44,75 мин и 63,86 мин и значительные показатели среднего времени удержания ГБ-115 в плазме крови крыс — MRT — 68,32 мин и 95,75 мин, соответственно.

Кроме того, для фармацевтических композиций №2 и №3, а также для фармацевтической композиции №4 характерны высокие значения гипотетического объёма распределения — 178,50 мл, 124,20 мл и 146,00 мл, соответственно, что значительно выше объёма распределения фармацевтической композиции №1 — 58,15 мл.

После введения животным фармацевтических композиций №2 и №4 определяются самые высокие площади под фармакокинетической кривой ГБ-115 (табл. 3) и, соответственно, самые высокие величины относительной биодоступности, составляющие 192,36% и 190,68% соответственно, что указывает на их преимущество по сравнению с другими исследуемыми фармацевтическими композициями. При анализе скорости всасывания (C_{max}/AUC) существенных различий для фармацевтических композиций №2 и №4 не обнаружено.

Заключение

При разработке любого оригинального лекарственного средства важным и необходимым являются фармакокинетические и биофармацевтические исследования. Они, помимо расчёта основных фармакокинетических характеристик вещества, позволяют определить перспективность того или иного пути его введения, а также выбрать оптимальную лекарственную форму изучаемого фармакологического соединения. Для соединения ГБ-115 эти исследования показали возможность использования перорального пути его введения для дальнейшего использования и внедрения его в медицинскую практику. При этом, проанализировав различные субстанции ГБ-115, были найдены существенные отличия их фармакокинетических характеристик и получено значительное преимущество микронизированной субстанции, относительная биодоступность которой превышала таковую для кристаллической субстанции в 1,5 раза. Это послужило основанием для рекомендации этой субстанции при изготовлении различных фармацевтических композиций ГБ-115 для перорального применения. Фармакокинетическое и биофармацевтическое изучение различных фармацевтических композиций показало, что фармацевтические композиции №2 и №4, изготовленные с применением микронизированной субстанции ГБ-115 и вспомогательных веществ, имели преимущество перед другими представленными на анализ фармацевтическими композициями.

Во-первых, они определялись более продолжительное время в плазме крови крыс, а во-вторых, была достигнута высокая относительная биодоступность, что позволило выделить эти две фармацевтические композиции и рекомендовать их для дальнейшего фармакологического изучения. Фармацевтическая композиция №2 отличалась самой высокой максимальной концентрацией. В её состав вошли следующие вспомогательные вещества: микронизированная субстанция ГБ-115, твёрдая дисперсная система с поливинилпирролидоном. Такие положительные фармакокинетические характеристики были связаны, с одной стороны, с микронизацией, с другой, с положительным влиянием матрицы поливинилпирролидона, на основе которой была создана фармацевтическая композиция №2. Многочисленными исследованиями доказано, что скорость и продолжительность действия лекарственного вещества в качестве моносоставляющего, диспергированного в матрице поливинилпирролидона, может быть повышена в 2-3 раза [5-8].

Фармацевтическая композиция №4 (в её состав входят микронизированная субстанция ГБ-115, лактоза, микрокристаллическая целлюлоза, гидроксипропилметилцеллюлоза) характеризовалась самой высокой площадью под фармакокинетической кривой, ввиду того, что концентрации сохранялись на высоком уровне в течение всего периода наблюдения. Это можно объяснить присутствием в фармацевтической композиции №4 вспомогательного вещества гидроксипропилметилцеллюлозы — гидрофильной матрицы с контролируемой доставкой активного вещества, которая существенно повышает продолжительность высвобождения действующего вещества, что может в значительной степени пролонгировать фармакологический эффект лекарственного препарата [9, 10].

Поэтому эти две фармацевтические композиции рекомендованы для дальнейшего проведения фармакологических исследований.

Основные выводы

1. Разработаны высокочувствительные методики качественного (на основе хроматомасс-спектрометрии) и количественного (на основе ВЭЖХ) определения ГБ-115 в биоматериале.
2. Методика экстракции и количественного определения ГБ-115 в биоматериале, основанная на ВЭЖХ с УФ-детектором, обладала высокой чувствительностью и селективностью и была адаптирована для изучения фармакокинетики ГБ-115 у крыс.
3. Сравнительное изучение фармакокинетики и относительной биодоступности кристаллической и микронизированной субстанции ГБ-115 у крыс показало преимущество микронизированной субстанции и перспективность создания на её основе пероральной лекарственной формы.

4. Показано, что из всех вспомогательных веществ, используемых при приготовления фармацевтических композиций ГБ-115, поливинилпирролидон в форме твёрдой дисперсной системы и гидроксипропилметилцеллюлоза оказывают существенное влияние на скорость и степень всасывания изучаемого соединения у крыс.
5. Изучение фармакокинетических характеристик ГБ-115 после перорального введения крысам его четырёх разработанных фармацевтических композиций, отличающихся как по составу, так и по технологии приготовления позволили выявить две оптимальные фармацевтические композиции и рекомендовать их для дальнейшего фармакологического изучения.

Литература

1. Середенин С.Б., Гудашева Т.А., Зайцева Н.И., Колик Л.Г., Брилинг В.К., Константинопольский М.А. // Пат РФ №2227144 С1 от 15.11.2001. «Замещённые триптофансодержащие дипептиды с холецистокининнегативной и холецистокининпозитивной активностью». Оpubл. 20.04.2004; Бюл. №11.
2. Гудашева Т.А., Кирьянова Е.П., Колик Л.Г., Константинопольский М.А., Середенин С.Б. Дизайн и синтез дипептидных аналогов холецистокинина-4 с анксиолитическими и анксиогенными свойствами. // Биоорганическая химия.-2007.-Т.33.-№4, — С.413-420.
3. Агафонов А.А., Пиотровский В.К. Метод статистических моментов и внемоделные характеристики распределения и элиминации лекарственных средств. // Хим-фарм. журн. — 1984, №.7, — С. 845-849.
4. Сергиенко В.И., Бондарева И.Б. Математическая статистика в клинических исследованиях — М.; ГЕОТАР-МЕД, 2001, — с. 256.
5. Craig D.Q.M. The mechanism of drug release from solid dispersion in water-soluble polymers. // Int. J. of Pharmaceutics.-2002, -V. 231, — P. 131-144.
6. Anurama K., Poddar M. Solid dispersion: an approach toward enhancing dissolution rate. // International J. of Pharm. and Pharm.Sci.-2011, - V. 3(4), — P. 22-23.
7. Tiwari R., Tiwari G., Srivastava B. et al. Solid dispersion: An Overview To Modify Bioavailability of Poorly Water Soluble drugs. // International J. of Pharmtech Research, — 2009,— V.4(1), — P. 1338-1349.
8. Хабриев Р.У., Решетняк В.Ю., Понков В.А. и др. Повышение растворимости мезапама путём получения его твёрдых дисперсий. // Хим-фарм. журн.- 2010, №11, — С. 25-29.
9. Li C.L. Martini L.G. Ford G.L. et al. The use of hipromellose in oral drug delivery. // J. Pharm. Pharmacol. — 2005, -V. 57(5), — P. 533-546.
10. Mitchell S.A., Balwinski K.M. A frame to investigate drug release variability arising from hypromellose viscosity specifications in controlled release matrix tablets. //J. Pharm. Sci.-2008, -V. 97(6), — P. 2277-2285.