

# Экспериментальное изучение системной биодоступности препарата «Гармина гидрохлорид, капсулы» в сравнении с нативным гармином на кроликах породы Шиншилла

Адекенов С. М.<sup>1</sup>, Шнаукишта В. С.<sup>2</sup>, Епифанцева Е. В.<sup>3</sup>, Абаимов Д. А.<sup>4</sup>,

Абдрахманова М. Г.<sup>3</sup>, Сариев А. К.<sup>5</sup>

<sup>1</sup> – АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Республика Казахстан, Караганда

<sup>2</sup> – РГП на ПХВ «Национальный центр экспертизы лекарственных средств и медицинских изделий» Комитета контроля качества и безопасности товаров и услуг Министерства здравоохранения Республики Казахстан, Республика Казахстан, Нур-Султан

<sup>3</sup> – НАО «Медицинский университет Астаны» МЗ РК, Республика Казахстан, Нур-Султан

<sup>4</sup> – ФГБНУ «Научный центр неврологии», Россия, Москва

<sup>5</sup> – ФГАОУ ВО Первый Московский Государственный Медицинский Университет им И.М. Сеченова, Россия, Москва

**Аннотация.** В эксперименте на 12 кроликах-самцах породы Шиншилла проведено сравнительное исследование относительной биодоступности природного алкалоида гармина (нативного, в виде основания) и его производного гармина гидрохлорида, которые вводились перорально, в дозе 50 мг, в виде двух капсул, содержащих эквимольное количество гармина (25 мг). Показано, что гармина гидрохлорид в сравнении с нативным гармином обладает фармакокинетическими преимуществами в виде сравнительно быстрого достижения максимальной концентрации ( $T_{max}$ ) в плазме крови и достоверно большего значения максимальной концентрации действующего вещества в крови. В то же время показано, что химическая модификация гармина не оказывает значимого влияния на такой параметр, как площадь под фармакокинетической кривой, что свидетельствует об отсутствии разницы в степени абсорбции у сравниваемых лекарственных форм.

**Ключевые слова:** бета-карболиновые алкалоиды; гармин; гармина гидрохлорид; фармакокинетика; биодоступность

## Для цитирования:

Адекенов С.М., Шнаукишта В.С., Епифанцева Е.В., Абаимов Д.А., Абдрахманова М.Г., Сариев А.К. Экспериментальное изучение системной биодоступности препарата «Гармина гидрохлорид, капсулы» в сравнении с нативным гармином на кроликах породы Шиншилла // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2020. – № 2. – С. 22–27. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-22-27

## An experimental study of the systemic bioavailability of the drug "Harmin hydrochloride, capsules" in comparison with native garmin on chinchilla rabbits

Adekenov SM<sup>1</sup>, Schnaukshta VS<sup>2</sup>, Epifantseva EV<sup>3</sup>, Abaimov DA<sup>4</sup>, Abdrakhmanova MG<sup>3</sup>, Sariyev AK<sup>5</sup>

<sup>1</sup> – JSC "International Research and Production Holding "Phytochemistry", Republic of Kazakhstan, Karaganda

<sup>2</sup> – Republican State Enterprise on the Right of Economic Management "National Center for Expertise of Medicines and Medical Devices" of the Ministry of Health of the RK, Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan

<sup>3</sup> – "Астана Medical University" Non-commercial joint-stock company, Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan

<sup>4</sup> – Research Center of Neurology, Russia, Moscow

<sup>5</sup> – FSAEI HE I.M. Sechenov First MSU MOH Russia (Sechenovskiy University) Russia, Moscow

**Abstract.** An experimental comparative study of the relative bioavailability of plant alkaloid harmine (native, in the form of a base) in comparison with its derivative harmine hydrochloride was carried out on chinchilla rabbit. Both substances was administered in capsules, containing an equimolar amount of harmine (50 mg, p.o.). Harmin hydrochloride was shown to have some pharmacokinetic advantages in comparison with native harmine due to a relatively rapid achievement of the maximal plasma concentration ( $T_{max}$ ) and a significantly higher maximum concentration of the active substance in the blood. At the same time, there was shown that the chemical modification of harmine does not significantly affect on such pharmacokinetics parameter as the area under the curve (AUC), which indicates the absence of a difference in the degree of absorption in the compared dosage forms.

**Keywords:** beta-carboline alkaloids; harmine; harmine hydrochloride; pharmacokinetics; bioavailability

## For citations:

Adekenov SM, Schnaukshta VS, Epifantseva EV, Abaimov DA, Abdrakhmanova MG, Sariyev AK. An experimental study of the systemic bioavailability of the drug "Harmin hydrochloride, capsules" in comparison with native garmin on chinchilla rabbits. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020; (2):22–27. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-22-27

## Введение

Бета-карболиновые алкалоиды уже давно привлекают внимание фармакологов, благодаря наличию у них треморогенных свойств и их способности ингибировать ферменты из группы моноаминоксидаз. Кроме того, данные вещества являются действующими

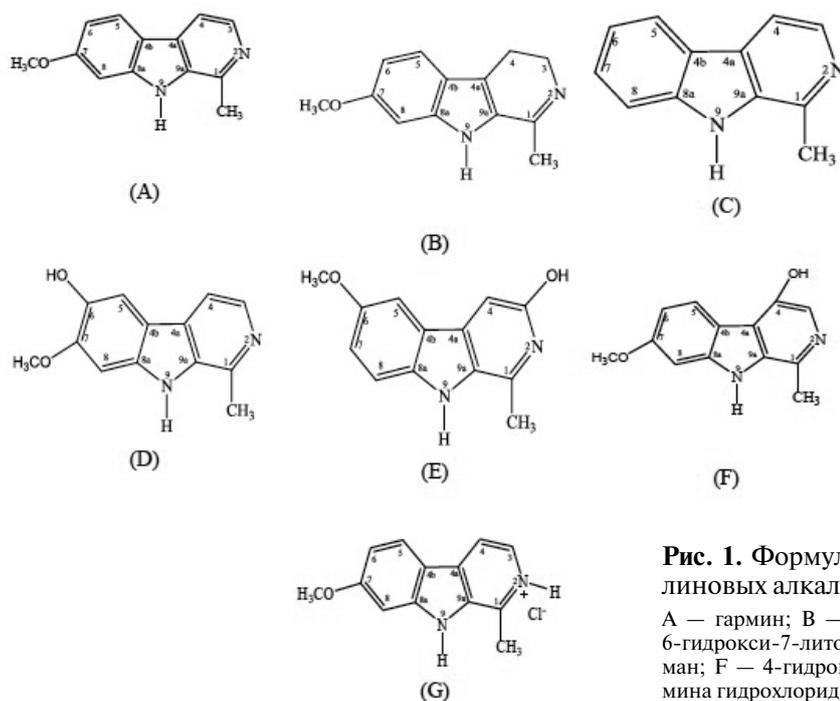
компонентами различных фитопрепаратов, применяемых в этнофармакологии. В частности, они входят в состав побегов аяхуаски и гармалы, известных галлюциногенных растений, которые применяются в этнофармакологии в рекреационных целях. Существует целый ряд работ, посвященных фармакокинетике данной группы алкалоидов. Пер-

вые работы по фармакокинетике бета-карболинового алкалоида гармина появились ещё в 70-х г. XX в. Так, в работе *Zetler G u соавт.* в эксперименте на крысах линии Вистар изучена фармакокинетика гармина (рис. 1А) и гармалина (рис. 1В) после их внутривенного введения в дозе 10 мг/кг [1]. С помощью метода тонкослойной хроматографии было показано, что оба препарата способны проникать в мозг, а гармин имеет тропность по отношению к ткани лёгкого. В исследовании *Guan Yu соавт.*, 2001 изучалась токсикокинетика гармина в сравнении с другим бета-карболиновым алкалоидом гарманом (рис. 1С) после внутривенного болюсного введения веществ в дозе 0,5 мг/кг у крыс Спрэг-Дуули [2]. При этом обнаружено, что фармакокинетика гармина наиболее релевантно описывается биэкспоненциальным уравнением с помощью двухкомпарментной модели. Было показано, что гармин может более эффективно распределяться в тканевом компартменте, чем гарман. В отношении системного клиренса: гармин выводился из крови в два раза быстрее, чем гарман. Время для достижения  $C_{max}$  после перорального введения гармина в среднем составляло  $T_{max} = 9,7$  мин. Гармин (А) имел более длинную терминальную элиминацию  $t_{1/2el}$ , чем гарман. Абсолютная биодоступность перорального препарата гармина составляла только 3,1 %, что в целом довольно низко для такого высоколипофильного соединения. Общими фармакокинетическими свойствами обоих бета-карболиновых алкалоидов были следующие: во-первых, концентрация соединений в крови быстро снижается после их попадания

в системный кровоток; во-вторых, оба соединения имели сравнимую продолжительность периода терминальной элиминации  $t_{1/2\beta}$ , хотя гармин выводился из крови в два раза быстрее, чем гарман; в третьих, оба соединения обладали объёмом распределения в центральной камере  $V_c$  и общим объёмом распределения  $V_d$ , превышающими общий объём крови (58 мл/кг) или объём воды всего тела (132 мл) экспериментальных животных, что указывает на распределение и возможное накопление данных алкалоидных соединений в тканях крыс. Гармин, по-видимому, распределяется по тканям лучше, чем гарман, с большим объёмом распределения ( $V_d$ ) (3,9 и 1,6 л/кг для гармина и гармана, соответственно).

В работе *Tweedie DJ and Burke MD* (1987) было продемонстрировано, что гармин в основном метаболизируется микросомальными ферментами печени до 6-гидрокси-7-метоксигармана (рис. 1D) и в меньшей степени трансформируется в 3-гидрокси-7-метоксигарман (рис. 1E) или 4-гидрокси-7-метоксигарман (рис. 1F) [3]. В исследовании *Yu AM u соавт.* было обнаружено, что цитохром P450 катализирует O-деметилирование гармина и выявлено, что основными изоферментами, вовлеченными в данный процесс, являются CYP2D6 и CYP1A1 [4]. Следовательно, можно сделать предположение, что экстенсивный печёночный метаболизм, определяющий эффект первого прохождения, может способствовать сравнительно низкой биодоступности гармина (3,1 %).

На основе бета-карболинового алкалоида гармина (А) в Международном научно-производственном



**Рис. 1.** Формулы основных бета-карболиновых алкалоидов:

А — гармин; В — гармалин; С — гарман; D — 6-гидрокси-7-метоксигарман; E — 3-метоксигарман; F — 4-гидрокси-7-метоксигарман; G — гармина гидрохлорид

холдинге «Фитохимия» (Караганда, Республика Казахстан) синтезирован гармина гидрохлорид, который является солевым производным природного алкалоида (рис. 1G).

Основным его отличием от родительского соединения является более высокая гидрофильность, которая позволяет избежать различных ограничений, связанных с созданием инъекционной формы. Кроме того, указанная химическая модификация (получение гидрохлоридного производного) может положительно сказаться на его пероральной биодоступности. С целью выяснения вышеприведённых теоретических предположений нами проведён эксперимент на лабораторных кроликах породы Шиншилла по изучению энтеральной биодоступности инкапсулированного гармина гидрохлорида в сравнении с нативным гармином, который также вводился в капсулах *per os*.

### Материалы и методы

Исследование было проведено на 12 кроликах породы Шиншилла с массой тела 2500–3000 г. Исследуемые препараты в дозе 50 мг (2 капсулы) вводили животным внутрь с последующим введением небольшого количества воды (20 мл). Образцы крови объёмом 1,0–1,5 мл отбирали из краевой ушной вены до введения препарата (0 ч) и через 10, 20, 30, 45 мин, 1, 2, 4, 8 и 12 ч после введения. Полученные образцы крови отстаивались в течение 15 мин в условиях комнатной температуры. После центрифугирования (5000 об/мин в течение 10 мин) отбирали плазму крови в пластиковые пробирки и подвергали заморозке при температуре — 70 °С.

Перед проведением анализа исследуемых образцов плазму размораживали и подвергали повторному центрифугированию при 5000 об/мин с последующим добавлением ацетонитрила и гексана (1:1 об/об). Пробу встряхивали на шейкере и проводили повторное центрифугирование при 15 000 об/мин в течение 10 мин с последующим отделением супернатанта и упариванием в токе азота. К сухому остатку добавляли 500 мкл мобильной фазы и использовали для определения гармина. Содержание гармина определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с ультрафиолетовым детектором (ВЭЖХ-УФ) на жидкостном хроматографе Waters 2475, США, ультрафиолетовый детектор 2489 с установленной длиной волны 240 нм, термостат колонок 1500 СН, автосамплер 2707, объём петли 100 мкл.

Исследуемые вещества разделяли на колонке XBridge™ C18 (4,6 × 250) 5 мкм (Waters, USA), насос Binary HPLC Pump Waters 1525 (Waters, США), скорость потока подвижной фазы — 0,8 мл/мин, время анализа — 15 мин. Мобильная фаза: (0,05M Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>) фосфатный буфер — ацетонитрил (55:45) с рН — 6,0. В этих условиях время выхода гармина составляло 4,9 ± 0,1 мин (рис. 2).

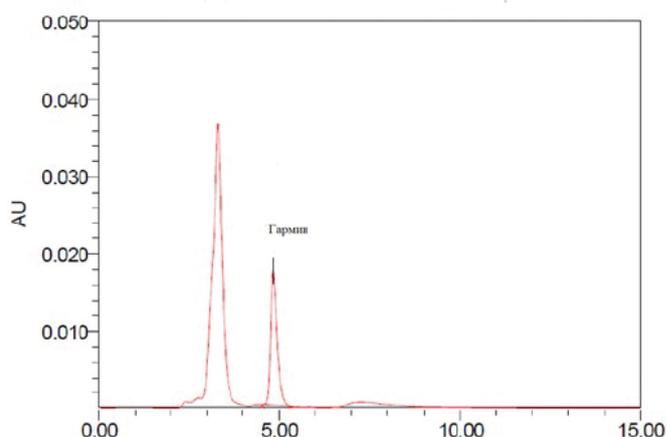


Рис. 2. Демонстрационная хроматограмма экстракта плазмы крови, содержащей гармин

Регистрацию образцов и обработку хроматограмм проводили с применением программного обеспечения Empower® 3 Software, Copyright 2010 Waters Corporation. Все использовавшиеся для анализа реактивы были высокой степени чистоты: о.с.ч., х.ч. или analytical grade.

Величину концентрации гармина (основания) в опытных образцах плазмы крови рассчитывали по калибровочной кривой в диапазоне концентраций 250–6000 нг/мл. Для построения калибровочной кривой для гармина применяли линейную модель, построенную методом наименьших квадратов в координатах, где по оси Y — площадь хроматографического пика исследуемого анализа, а по оси X — концентрация исследуемого анализа в калибраторе. Калибровочная кривая была линейна на всём диапазоне концентраций с коэффициентом корреляции  $R > 0,99$  (рис. 3).

Валидация методики количественного анализа гармина в плазме крови лабораторных животных выполнена в полном соответствии с руководством по валидации биоаналитических методик ЕМЕА и FDA как по валидируемым параметрам, так и по критериям их оценки. Селективность определения гармина, проверенная на шести источниках бланковой плазмы, удовлетворяет установленным ЕМЕА и FDA критериям приемлемости. На хроматограммах образцов не обнаружено никаких помех и пиков интерферирующих веществ, которые могли бы мешать определению исследуемого анализа. Валидированный диапазон количественно определяемых концентраций гармина находился в пределах от 250 нг/мл (НПКО) до 6000 нг/мл. В указанном диапазоне концентраций гармин может быть правильно и прецизионно определён в биообразцах объёмом 400 мкл. Основные результаты валидации приведены в таблице 1.

Таким образом, как видно из таблицы 1, все внутри- и межсуточные вариации найденных концентраций анализов в образцах, приготовленных из модельных биообразцов, покрывающих ожидаемый концентрационный диапазон, удовлетворяют надлежащим критериям приемлемости.

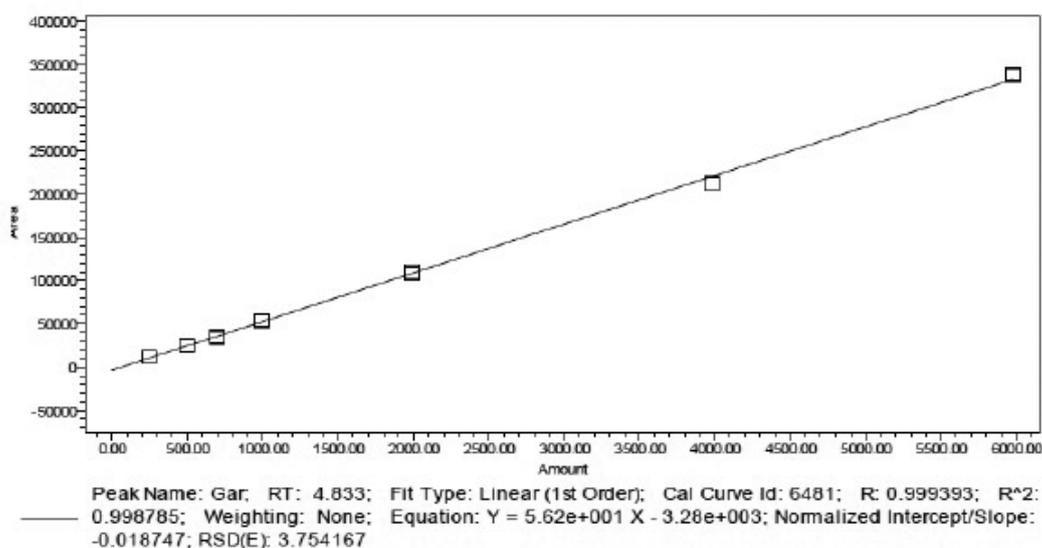


Рис. 3. Калибровочная кривая гармина

Таблица 1

Основные результаты валидации методики количественного определения гармина

Правильность					
Внутрипрогонная		$\bar{\delta}$ , % для прогонов:			$ \bar{\delta} $ , %
		1-го	2-го	3-го	
ГАРМИН	248,90нг/мл	2,23	-2,15	0,20	< 20
	746,70нг/мл	1,52	-0,67	-6,16	< 15
	1194,72нг/мл	1,75	10,03	7,94	< 15
	2986,81нг/мл	1,94	12,95	8,16	< 15
	4480,21 нг/мл	3,74	13,86	10,35	< 15
Межпрогонная (усреднённая по 3 прогонам)		$\bar{\delta}$ , %			$ \bar{\delta} $ , %
ГАРМИН	248,90нг/мл	0,87			< 20
	746,70нг/мл	0,93			< 15
	1194,72нг/мл	2,57			< 15
	2986,81нг/мл	1,08			< 15
	4480,21 нг/мл	3,88			< 15
Прецизионность					
Внутрипрогонная		CV <sub>s</sub> , % для прогонов:			CV <sub>s</sub> , %
		1-го	2-го	3-го	
ГАРМИН	248,90нг/мл	1,42	8,24	13,85	< 20
	746,70нг/мл	1,53	4,80	6,61	< 15
	1194,72нг/мл	0,63	4,57	4,18	< 15
	2986,81нг/мл	0,85	3,20	1,60	< 15
	4480,21 нг/мл	0,87	1,32	3,13	< 15
Межпрогонная (усреднённая по 3 прогонам)		CV <sub>s</sub> , %			CV <sub>s</sub> , %
ГАРМИН	248,90нг/мл	8,80			< 20
	746,70нг/мл	5,52			< 15
	1194,72нг/мл	4,82			< 15
	2986,81нг/мл	4,79			< 15
	4480,21 нг/мл	4,40			< 15

Также было проведено расширенное исследование стабильности гармина, благодаря которому установлено, что модельные биообразцы с заранее добавленным гармином стабильны в течение 4 ч при комнатной температуре и после трёх циклов замораживания/оттаивания (замораживание при температуре не выше  $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ , оттаивание при комнатной температуре). Кроме того, было определено, что исследуемые образцы, полученные из модельных биообразцов после этапа пробоподготовки, стабильны в автосамплере при температуре  $(20 \pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 48,0 ч.

### Результаты и обсуждение

Результаты проведённого исследования по определению относительной биодоступности препарата гармина гидрохлорида (в виде капсул 25 мг) на экспериментальных животных показали, что тестируемый препарат (Т) — «Гармина гидрохлорид» в капсулах 25 мг, несколько быстрее всасывается при введении внутрь, что приводит к более интенсивному увеличению концентрации действующего вещества (гармина основания) в плазме крови (рис. 4).

Исходя из характеристик полученных фармакокинетических кривых, были получены следующие значения фармакокинетических параметров для гармина гидрохлорида и нативного гармина (табл. 2).

Из таблицы видно, что время достижения максимального содержания в крови у гармина гидрохлорида наблюдалось через 0,75 ч, а для нативного гармина — через 0,81 ч. Максимальное значение концентрации в плазме крови действующего вещества (гармина) было достоверно выше при введении препарата в виде гидрохлоридной соли и достигало значения  $480,1 \pm 46,61\text{ нг/мл}$  для тестируемого препарата, что на 32,8 % выше по сравнению с референтным препаратом ( $C_{\max} = 361,4 \pm 46,19\text{ нг/мл}$  для нативного гармина). В то же время площадь под фармакокинетической кривой для тестируемого препарата составила:  $AUC_{0-t} = 1160,04\text{ нг/мл}\cdot\text{ч}$ , а для нативного гармина площадь составила:  $AUC_{0-t} = 1102,02\text{ нг/мл}\cdot\text{ч}$ . Полученные результаты показывают, что относительная биодоступность гармина гидрохлорида составляет 112,7 %. Таким образом, разница в степени абсорбции препарата практически отсутствует.

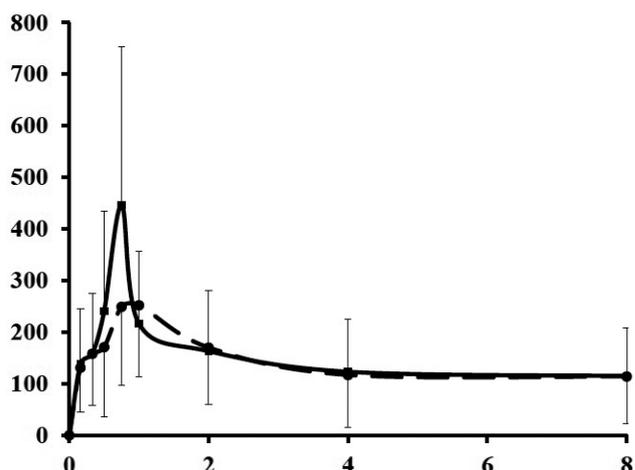


Рис. 4. Фармакокинетические кривые гармина гидрохлорида (сплошная линия) и нативного гармина (1) (пунктирная линия) по действующему веществу (гармину)

### Заключение

Модифицированная форма алкалоида гармина в виде гидрохлоридного производного обладает определёнными фармакокинетическими преимуществами, заключающимися в сравнительно быстром достижении максимальной концентрации в плазме крови и достоверно большем значении максимальной концентрации действующего вещества в крови. В то же время это не оказывает значимого влияния на значение такого параметра, как площадь под фармакокинетической кривой, что свидетельствует о том, что разница в степени абсорбции у сравниваемых образцов фактически отсутствует.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

*Конфликт интересов.* Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы несут полную ответственность за предоставление окончательной версии рукописи в печать.

*Участие авторов.* Все авторы принимали участие в разработке концепции статьи и написании рукописи. Окончательная версия рукописи была одобрена всеми авторами.

Таблица 2

Фармакокинетические характеристики гармина гидрохлорида и нативного гармина

Препарат	$T_{\max}$ час	$C_{\max}$ нг/мл	MRT ч	$T_{1/2el}$ ч	$AUC_{0-t}$ нг/мл·ч	$AUC_{0-\infty}$ нг/мл·ч	$C_{\max}/AUC_{0-t}$ ч <sup>-1</sup>	$C_{\max}/AUC_{0-\infty}$ ч <sup>-1</sup>
Гармина гидрохлорид	0,75±0,03	480,1±46,61	7,8±1,37	5,14±0,93	1160,04±89,72	1984,14±328,84	0,4732±0,0861	0,3224±0,0697
Гармин нативный	0,81±0,07	361,4±46,19	8,76±1,37	5,86±0,95	1102,02±125,36	1960,08±214,78	0,3586±0,0549	0,2244±0,0439

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Адекенов Сергазы Мынжасарови**

ORCID ID: 0000-0001-7588-6174

д. х. н., профессор, академик Национальной академии наук Республики Казахстан, генеральный директор АО «Международный научно-производственный холдинг «Фитохимия», Республика Казахстан, Караганда

**Шнаушта Валентина Станиславовна**

к. б. н., доцент, заведующий лабораторией фармакологических испытаний (ЛФИ) ТФ РГП на ПХВ «НЦЭС и МИ» ККК и БТУ МЗ РК, Республика Казахстан, Нур-Султан

**Епифанцева Елена Валериевна**

ORCID ID: 0000-0003-4195-7901

SPIN-код: 5243-3894

PhD-докторант НАО «МУА», Республика Казахстан, Нур-Султан

**Абаимов Денис Александрович**

*Автор, ответственный за переписку*

e-mail: abaidenis@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0001-6888-3223

SPIN-код: 7548-0933

к. б. н., с. н. с. лаборатории гемореологии, гемостаза и фармакокинетики с клинической и лабораторной диагностикой ФГБНУ ИЦН, Россия, Москва

**Абдрахманова Майра Галимжановна**

ORCID ID: 0000-0002-2804-7770

д. м. н., профессор, кафедры неврологии НАО «МУА», Республика Казахстан, Нур-Султан

**Сариев Абрек Куангалиевич**

ORCID ID: 0000-0003-1603-067X

SPIN-код: 3945-1271

д. м. н., профессор, кафедры неврологии ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет), Россия, Москва

**Adekenov Sergazy M.**

ORCID ID: 0000-0001-7588-6174

D. Sci. in Chemical, professor, Academician of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, General Director of JSC «International Research and Production Holding «Phytochemistry», Republic of Kazakhstan, Karaganda

**Schnaukshta Valentina S.**

Candidate of Biological Sciences, Associate Professor, Head of the Laboratory of Pharmacological Testing (LFI) NCEMMD of the Ministry of Health of the RK, Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan

**Epifantseva Elena V.**

ORCID ID: 0000-0003-4195-7901

SPIN code: 5243-3894

PhD doctoral student «AMU» NCJSC, Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan

**Abaimov Denis A.**

*Corresponding author*

e-mail: abaidenis@yandex.ru

ORCID ID: 0000-0001-6888-3223

SPIN code: 7548-0933

Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher at the Laboratory of Hemorheology, Hemostasis and Pharmacokinetics with Clinical and Laboratory Diagnostics of the RCN, Russia, Moscow

**Abdrakhmanova Mayra G.**

ORCID ID: 0000-0002-2804-7770

D. Sci. in Medicine, professor, Department of Neurology, «AMU» NCJSC, Republic of Kazakhstan, Nur-Sultan

**Sariev Abrek K.**

ORCID ID: 0000-0003-1603-067X

SPIN code: 3945-1271

D. Sci. in Medicine, professor, Department of Neurology, FSAEI HE I.M. Sechenov First MSMU MOH Russia (Sechenovskiy University), Russia, Moscow

**Литература / References**

1. Zetler G, Back G, Iven H. Pharmacokinetics in the rat of the hallucinogenic alkaloids harmine and harmaline. *Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 1974;285(3):273–292. DOI: 10.1007/bf00498996

2. Guan Y, Louis ED, Zheng W. Toxicokinetics of tremorogenic natural products, harmine and harmine, in male Sprague-Dawley rats. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*. 2001;64(8):645–660. DOI: 10.1080/152873901753246241

3. Tweedie DJ, Burke MD. Metabolism of the beta-carbolines, harmine and harmol, by liver microsomes from phenobarbitone- or 3-methylcholanthrene-treated mice. Identification and quantitation of two novel harmine metabolites. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 1987;15(1):74–81.

4. Yu AM, Idle JR, Krausz KW, Kupfer A, Gonzalez FJ. Contribution of individual cytochrome P450 isozymes to the O-demethylation of the psychotropic beta-carboline alkaloids harmaline and harmine. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics*. 2003;305(1):315–322. DOI: 10.1124/jpet.102.047050

Статья поступила в июне 2020 г.