

# Исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксичности таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1 (N-бензил-N-метил-1-фенилпирроло[1,2-а]пиразин-3-карбоксамид)

Коваленко Л. П., Коржова К. В., Журиков Р. В., Дурнев А. Д.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Аннотация.** Проведено исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксического действия таблетированной лекарственной формы препарата ГМЛ-1 (N-бензил-N-метил-1-фенилпирроло[1,2-а]пиразин-3-карбоксамид), лиганда транслокаторного белка (TSPO), обладающего выраженной анксиолитической активностью. Исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксического действия ГМЛ-1 выполнено на самцах морских свинок альбиносов массой 250–300 г и на самцах мышей линий CBA, C57BL/6, гибридах F<sub>1</sub>(CBAxС57BL/6). При оценке иммунотоксичности ГМЛ-1 вводили мышам перорально 14 дней в дозах 2,2 мг/кг и 22 мг/кг, при изучении аллергенности ГМЛ-1 морским свинкам альбиносам вводили препарат в дозах 1 мг/кг и 10 мг/кг, согласно стандартным схемам иммунизации. Результаты проведенного исследования иммунотоксичности и аллергенности ГМЛ-1 позволяют заключить, что введение таблетированной лекарственной формы препарата ГМЛ-1 в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия и не обладает аллергизирующими свойствами.

**Ключевые слова:** таблетированная лекарственная форма ГСБ-106; фагоцитоз; хемилюминесценция; гуморальный иммунный ответ; клеточный иммунный ответ; иммунотоксичность; реакция системной анафилаксии; гиперчувствительность замедленного типа; реакция воспаления на Кон А

## Для цитирования:

Коваленко Л. П., Коржова К. В., Журиков Р. В., Дурнев А. Д. Исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксичности таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1 (N-бензил-N-метил-1-фенилпирроло[1,2-а]пиразин-3-карбоксамид) // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2020. – № 2. – С. 34–36. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-34-36

## Evaluation of allergenic properties and immunotoxicity tablet dosage form GML-1 (N-benzyl-N-methyl-1-phenylpyrrolo[1,2-a]pyrazin-3-carboxamide)

Kovalenko LP, Korzhova KV, Zhurikov RV, Durnev AD  
FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

**Abstract.** The study of allergenic properties and immunotoxic effects of the ready-to-use drug form of GML-1 (N-benzyl-N-methyl-1-phenylpyrrolo[1,2-a]pyrazin-3-carboxamide), compounds with high TSPO affinity and pronounced anxiolytic activity, was carried out. The study of allergenic properties and immunotoxicity of GML-1 was performed on male albino guinea pigs weighing 250-300 g and on male CBA, C57BL / 6, F1 hybrids (CBAxС57BL/6) mice. When assessing immunotoxicity, GML-1 was inject to mice per os for 14 days in doses of 2.2 mg / kg and 22 mg / kg. When studying the allergenicity, GML-1 was injected to albino guinea pigs in doses of 1 mg / kg and 10 mg / kg according to standard regimens of immunization. The results of the study of the immuno-toxicity and allergenicity of GML-1 allow us to conclude that the injection of tablet dosage form of GML-1 in the range of studied doses does not have an immunotoxic effect and allergenic properties.

**Keywords:** tablet dosage form of GML-1 (N-benzyl-N-methyl-1-phenylpyrrolo[1;2-a]pyrazin-3-carboxamide); phagocytosis; chemiluminescence; humoral immune response; cellular immune response; immunotoxicity; systemic anaphylaxis; delayed hypersensitivity; concanavalin A-induced inflammation

## For citations:

Kovalenko LP, Korzhova KV, Zhurikov RV, Durnev AD. Evaluation of allergenic properties and immunotoxicity tablet dosage form GML-1 (N-benzyl-N-methyl-1-phenylpyrrolo[1,2-a]pyrazin-3-carboxamide). *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2020;(2):34–36. DOI: 10.37489/2587-7836-2020-2-34-36

## Введение

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» синтезировано оригинальное соединение N-бензил-N-метил-1-фенилпирроло[1,2-а]пиразин-3-карбоксамид (ГМЛ-1), лиганд транслокаторного белка (TSPO), обладающее выраженной анксиолитической активностью. Экспериментами в приподнятом крестообразном лабиринте было установлено, что анксиолитический эффект ГМЛ-1 полностью блокируется ингибиторами ферментов нейростероидогенеза трилостаном и финастеридом [1, 2].

Целью данной работы являлось доклиническое изучение аллергизирующих свойств и иммунотоксического действия таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1.

## Материалы и методы

Исследование аллергизирующих свойств и иммунотоксического действия таблетированной лекарственной формы ГМЛ-1 выполнено на сертифицированных лабораторных животных: самцах мышей линий CBA, C57BL/6, гибридах F<sub>1</sub>(CBAxС57BL/6) массой

18–20 г., самцах морских свинок альбиносов массой 250–300 г., клинически здоровых особях, полученных из питомников «Столбовая» и «Андреевка».

При оценке иммунотоксичности ГМЛ-1 мышам опытных групп 14 дней перорально вводили лекарственную форму препарата в дозах 2,2 и 22 мг/кг (активного вещества), при изучении аллергенности ГМЛ-1 морским свинкам альбиносам вводили препарат в дозах 1 и 10 мг/кг, согласно стандартным схемам иммунизации. При изучении иммунотоксичности в качестве контроля мышам контрольных групп вводили дистиллированную воду, при изучении аллергенности – воду для инъекций. Каждая группа включала 10 животных.

При изучении иммунотоксичности ГМЛ-1 использовали следующие методы:

- определение массы и клеточности органов иммунной системы мышей-гибридов  $F_1$  (СВА×С57ВL/6);
- оценка фагоцитарной активности перитонеальных макрофагов мышей-гибридов  $F_1$  (СВА×С57ВL/6);
- оценка активности нейтрофилов в тесте хемилюминесценции на мышцах-гибридах  $F_1$  (СВА×С57ВL/6);
- постановка реакции гиперчувствительности замедленного типа на мышцах-гибридах  $F_1$  (СВА×С57ВL/6);
- постановка реакции гематглютинации на мышцах линии СВА и линии С57ВL/6 [3, 4].

При оценке аллергенности ГМЛ-1 проводили постановку реакции общей системной анафилаксии и активной кожной анафилаксии на морских свинках альбиносах; при изучении реакции гиперчувствительности замедленного типа морских свинок альбиносов иммунизировали ГМЛ-1 в смеси с полным адьювантом Фрейнда. Наличие псевдоаллергических реакций на таблетированную лекарственную форму ГМЛ-1 изучали в реакции воспаления на неиммунологический активатор конканавалин А (Кон А) на мышцах линии СВА [2]. Для всех показателей иммунотоксикологических исследований с нормальным распределением проводили межгрупповые сравнения по непарному  $t$ -критерию Стьюдента. Для множественных сравнений показателей с распределением, отличающимся от нормального, применяли непараметрический критерий Манна–Уитни, различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты и обсуждение

При оценке иммунотоксичности ГМЛ-1 было выявлено, что 14-дневное пероральное введение препарата в дозах 2,2 мг/кг и 22 мг/кг мышам-гибридам  $F_1$  (СВА×С57ВL/6) не оказывало значимого влияния на массу и клеточность тимуса, селезёнки и подколенных лимфатических узлов.

Курсовое введение ГМЛ-1 в дозах 2,2 и 22 мг/кг не влияло на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов у мышей-гибридов  $F_1$  (СВА×С57ВL/6).

Двухнедельное пероральное введение ГМЛ-1 в дозах 2,2 и 22 мг/кг не оказывало достоверного влияния на параметры хемилюминесценции полиморфноядер-

ных гранулоцитов, активированных опсонизированным зимозаном.

Введение ГМЛ-1 на протяжении 14 дней в дозах 2,2 и 22 мг/кг перорально мышам линий СВА и С57ВL/6 не вызывало значимого влияния на антителообразование по сравнению с данными контрольных групп. Двухнедельное пероральное введение ГМЛ-1 в дозах 2,2 и 22 мг/кг мышам гибридам  $F_1$  (СВА×С57ВL/6) также не вызывало значимой стимуляции клеточного иммунитета по сравнению с контрольной группой.

Результаты проведённого исследования иммунотоксичности ГМЛ-1 позволяют заключить, что введение препарата ГМЛ-1 в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия.

При оценке аллергенности введение ГМЛ-1 по стандартной схеме иммунизации в дозах 1 и 10 мг/кг (по активному веществу) не вызывало у морских свинок альбиносов системной реакции анафилаксии и реакции активной кожной анафилаксии. После иммунизации морских свинок препаратом ГМЛ-1 в дозах 1 и 10 мг/кг в смеси с полным адьювантом Фрейнда (ПАФ) на 21-й день опыта у всех животных опытных групп при внутрикожном (в/к) введении разрешающей дозы препарата не выявлено аллергических реакций замедленного типа.

Однократное пероральное введение ГМЛ-1 в дозах 2,2 и 22 мг/кг мышам линии СВА не вызывало значимого уменьшения реакции воспаления на Кон А по сравнению с данными контрольной группы.

Проведённое исследование не установило данных, препятствующих клиническому испытанию таблетированной лекарственной формы препарата ГМЛ-1.

### Заключение

Результаты проведённого комплексного исследования позволяют заключить, что таблетированная лекарственная форма потенциального анксиолитика ГМЛ-1 в диапазоне изученных доз не оказывает иммунотоксического действия, не вызывает системной реакции анафилаксии, активной кожной анафилаксии, гиперчувствительности замедленного типа и псевдоаллергических реакций.

Проведённое исследование не установило данных, препятствующих клиническому испытанию таблетированной лекарственной формы ГМЛ.

### ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ СВЕДЕНИЯ

*Конфликт интересов.* Исследование выполнено в рамках Федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу». 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.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Коваленко Лариса Петровна**  
 Автор, ответственный за переписку  
 e-mail: kovalenko.larisa@mail.ru  
 ORCID ID: 0000-0002-2083-0832  
 SPIN-код: 5185-4250  
 д. б. н., в. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

**Kovalenko Larisa P.**  
 Corresponding author  
 e-mail: kovalenko.larisa@mail.ru  
 ORCID ID: 0000-0002-2083-0832  
 SPIN code: 5185-4250  
 D. Sci. in Biology, Leading Researcher of drug toxicology department FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Russia, Moscow

**Коржова Ксения Витальевна**  
 ORCID ID: 0000-0002-8087-4976  
 SPIN-код: 3831-3782  
 м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова», Россия, Москва

**Korzhova Ksenia V.**  
 ORCID ID: 0000-0002-8087-4976  
 SPIN code: 3831-3782  
 Junior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Russia, Moscow

**Журиков Руслан Валерьевич**  
 ORCID ID: 0000-0003-1084-690X  
 SPIN-код: 6648-1794  
 м. н. с. лаборатории лекарственной токсикологии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

**Zhurikov Ruslan V.**  
 ORCID ID: 0000-0003-1084-690X  
 SPIN code: 6648-1794  
 Junior researcher of laboratory of drug toxicology FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Russia, Moscow

**Дурнев Андрей Дмитриевич**  
 ORCID ID: 0000-0003-0218-8580  
 SPIN-код: 8426-0380  
 д. м. н., профессор, член-корр. РАН, зав. отдела лекарственной токсикологии, директор ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Россия, Москва

**Durnev Andrei D.**  
 ORCID ID: 0000-0003-0218-8580  
 SPIN code: 8426-0380  
 D. Sci. in Medicine, professor, RAS corresponding member of the RAS, Head of the department of drug toxicology, Director FSBI «Zakusov institute of Pharmacology», Russia, Moscow

**Литература / References**

1. Яркова М.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Анксиолитическое действие оригинальных производных пирроло[1,2-а]пиразина, лигандов TSPO, зависит от биосинтеза нейростероидов // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2016. – Т. 50. – № 8. – С. 3–6. [Yarkova MA, Mokrov GV, Gudashева TA, Seredenin SB. Molecular-biological problems of drug design and mechanism of drug action: novel pyrrolo[1,2-A]pyrazines (tspo ligands) with anxiolytic activity dependent on neurosteroid biosynthesis. *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2016;50(8): 3–6. (In Russ).]

2. Яркова М. А., Литвин А. А., Колыванов Г. Б., Жердев В. П., Середенин С. Б., Гегечкори В. И. Поиск взаимосвязи между анксиолитическим действием оригинального производного пирроло [1,2-а] пиразина, лиганда TSPO – ГМЛ-1 и его концентрациями в плазме крови крыс // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2018. – №2. – С. 52–58. [Yarkova MA, Litvin AA, Kolyvanov GB, Zherdev VP, Seredenin SB, Gegchkori VI. Search of the correlation between anxiolytic effect of original derivative of pyrrolo[1,2-a]pyrazine TSPO-ligand (GML-1) and its concentrations in the rat blood plasma. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2018;(2):52–58. (In Russ).] DOI: 10.24411/2587-7836-2018-10014

3. Коваленко Л.П., Федосеева В.Н., Дурнев А.Д. и др. Методические рекомендации по оценке алергизирующих свойств лекарственных

средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – Гл.2. – С. 51–63. [Kovalenko LP, Fedoseeva VN, Durnev AD, et al. Metodicheskie recomendacii po otsenke allergiziruushchih svoystv lekarstvennih sredstv. *Rukovodstvo po provedeniiu doklinicheskikh issledovanii lekarstvennih sredstv*. Ch.1. Moscow: Grif i K, 2012; Ch.2:51–63. (In Russ).]

4. Хаитов Р.М., Иванова А.С., Коваленко Л.П. и др. Методические рекомендации по оценке иммунотоксического действия лекарственных средств. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – Гл.3. – С. 64–79. [Haitov RM, Ivanova AS, Kovalenko LP, et al. Metodicheskie recomendacii po otsenke immunotoksicheskogo deistviia farmakologicheskikh veshchestv. *Rukovodstvo po provedeniiu doklinicheskikh issledovanii lekarstvennih sredstv*. Ch.1. Moscow: Grif i K, 2012; Ch.3:64–79. (In Russ).]

5. Хаитов Р.М., Гушин И.С., Пинегин Б.В. и др. Методические рекомендации по доклиническому изучению иммунотропной активности фармакологических веществ. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. – М.: Гриф и К, 2012. – Гл. 38. – С. 624–639. [Haitov RM, Gushchin IS, Pinegin BV, et al. Metodicheskie recomendacii po doklinicheskomu izucheniiu immunotropnoi aktivnosti farmakologicheskikh veshchestv. *Rukovodstvo po provedeniiu doklinicheskikh issledovanii lekarstvennih sredstv*. Ch.1. Moscow: Grif i K, 2012; Ch.38:624–639. (In Russ).]

Статья поступила в июне 2020 г.