

Кинетика распределения кардиопротектора АЛМ-802 в органах и тканях крыс

Кравцова О. Ю., Колыванов Г. Б., Литвин А. А., Бочков П. О., Жердев В. П.

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

Аннотация. Изучена кинетика распределения соединения, обладающего кардиопротекторной активностью, N1-(2,3,4-триметоксибензил)-N2-{2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил}-1,2-этандиамина (АЛМ-802) в тканях и органах крыс после однократного внутривенного введения в дозе 100 мг/кг. Определены величины тканевой доступности АЛМ-802. Тканевая доступность АЛМ-802 падает в ряду: почки→печень→сердце→селезёнка→скелетная мышца→головной мозг (129,3; 27,2; 20,9; 15,3; 5,9 и 0,3, соответственно). Установлено, что АЛМ-802 выводится из организма животных достаточно медленно: значения k_{el} варьировали от 0,0252 до 0,0885 ч⁻¹, значения MRT составили 7,6–59,3 ч.

Ключевые слова: кардиопротектор; АЛМ-802; фармакокинетика; тканевая доступность; ВЭЖХ-масс-спектрометрия

Для цитирования:

Кравцова О. Ю., Колыванов Г. Б., Литвин А. А., Бочков П. О., Жердев В. П. Кинетика распределения кардиопротектора АЛМ-802 в органах и тканях крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2022;(2):17–22. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2022-2-17-22>

Поступила: 02 июня 2022 г. **Принята:** 08 июня 2022 г. **Опубликована:** 30 июня 2022 г.

Disribution kinetics of cardioprotector ALM-802 in rat organs and tissues

Kravtsova OYu, Kolyvanov GB, Litvin AA, Bochkov PO, Zherdev VP

FSBI "Zakusov Institute of Pharmacology", Moscow, Russia

Abstract. The distribution kinetics of a compound with cardioprotective activity, N1-(2,3,4-trimethoxybenzyl)-N2-{2-[(2,3,4-trimethoxybenzyl)amino]ethyl}-1,2-ethanediamine (ALM-802) in rat tissues and organs after single intragastric administration at a dose of 100 mg/kg. The values of ALM-802 tissue availability were determined. Tissue availability of ALM-802 falls in a row: kidneys→liver→heart→spleen→skeletal muscle→brain (129.3; 27.2; 20.9; 15.3; 5.9 and 0.3, respectively). It was found that ALM-802 is excreted from the body rather slowly: k_{el} values ranged from 0.0252 to 0.0885 h⁻¹, MRT values were 7.6–59.3 h.

Keywords: cardioprotector; ALM-802; pharmacokinetics; tissue availability; HPLC/mass- spectrometry

For citations:

Kravtsova OYu, Kolyvanov GB, Litvin AA, Bochkov PO, Zherdev VP. Disribution kinetics of cardioprotector ALM-802 in rat organs and tissues. *Farmakokinetika i farmakodinamika = Pharmacokinetics and pharmacodynamics*. 2022;(2):17–22. (In Russ). <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2022-2-17-22>

Received: June 02, 2022. **Accepted:** June 08, 2022. **Published:** June 30, 2022

Введение / Introduction

Важным и обязательным этапом при проведении фармакокинетических исследований является изучение тканевой доступности (f_t) новых оригинальных лекарственных средств (ЛС). Основным результатом процессов распределения является транспорт ЛС в зону действия, где оно взаимодействует со структурами, определяющими эффект ЛС. На основании определения величины f_t возможна количественная оценка интенсивности проникновения действующего вещества в периферические ткани [1].

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» синтезировано соединение N₁-(2,3,4-триметоксибензил)-N₂-(2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил)-1,2-этандиамина (в виде тригидрохлорида) с рабочим шифром АЛМ-802, которое по своей кардиопротективной активности, изученной на животных с интактным сосудистым руслом, как минимум, не уступает эталонному препарату триметазидину [2–5].

Цель настоящего исследования заключалась в изучении кинетики распределения потенциального кардиопротектора АЛМ-802 в органах и тканях крыс после однократного внутривенного (в/в) введения в дозе 100 мг/кг.

Материалы и методы исследования / Materials and methods

В работе использовали субстанции, синтезированные в отделе химии лекарственных средств ФГБНУ «НИИ фармакологии им. В.В. Закусова»: N₁-(2,3,4-триметоксибензил)-N₂-(2-[(2,3,4-триметоксибензил)амино]этил)-1,2-этандиамина (в виде тригидрохлорида) с рабочим шифром АЛМ-802 (серия 270421; рис. 1) [7].

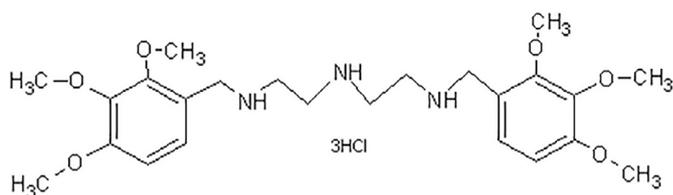


Рис. 1. Структурная формула АЛМ-802

Fig. 1. ALM-802 Structural formula

Исследование проведено на половозрелых беспородных крысах-самцах с массой тела 180–220 г. Животные содержались в лабораторном виварии при 20–22 °С, относительной влажности воздуха 45–65 %, имели постоянный доступ к корму и воде. Эксперименты проводили в соответствии с решением Совета Евра-

зийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 81 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики Евразийского экономического союза в сфере обращения лекарственных средств».

Изучение кинетики распределения АЛМ-802 в органах и тканях крыс проводили после однократного в/ж введения фармацевтической субстанции в дозе 100 мг/кг. Исследуемое вещество вводили в виде суспензии в 1 % крахмальном клейстере.

Содержание АЛМ-802 определяли в плазме крови и гомогенатах органов до введения исследуемого вещества (контроль) и через 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 4; 5; 6; 8; 12; 24; 48 и 72 ч после введения. Образцы крови крыс получали декапитацией животных с последующим центрифугированием при 13500 об/мин в течение 15 мин для отделения плазмы. У всех декапитированных животных также изымали: цельный головной мозг, селезёнку, левую долю печени, левую почку, скелетную мышцу (бедро), сердце. Органы промывали в холодной деионизованной воде и обсушивали на фильтровальной бумаге, затем взвешивали и фиксировали массу в протоколе. Далее органы (за исключением печени) гомогенизировали с помощью гомогенизатора тканей с добавлением 2-кратного объёма деионизованной воды (печень гомогенизировали с добавлением 4-кратного объёма деионизованной воды). Полученные гомогенаты центрифугировали при 13500 об/мин в течение 15 мин, затем отобраный супернатант и образцы плазмы крови замораживали при -40°C и хранили без добавления консервантов до анализа.

Все манипуляции с экспериментальными животными выполнены в соответствии с нормативной документацией (ГОСТ 33215-2014, ГОСТ 33216-2014), касающейся гуманного обращения с животными, и стандартными операционными процедурами лаборатории фармакокинетики ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Проведение экспериментов с животными одобрено Комиссией по биомедицинской этике ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

Для количественного определения АЛМ-802 в плазме крови и гомогенатах органов/тканей животных использовали высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) с масс-спектрометрическим детектированием. Нижний предел количественного определения составил 1 нг/мл (г) для АЛМ-802 [6]. Полученные концентрации АЛМ-802 (нг/мл(г)) в образцах были рассчитаны с учётом всех разведений, которым подвергались пробы органов и тканей в ходе пробоподготовки.

Расчёт фармакокинетических (ФК) параметров АЛМ-802 проводили немодельным методом. ФК кривые («концентрация лекарственного вещества/метаболита — время») были построены по усреднённым значениям концентраций АЛМ-802 в органах и тканях в дискретные интервалы времени, полученным у 5 животных в каждый временной интервал.

Основные расчётные ФК параметры: AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$ — площадь под ФК кривой (площадь под кривой концентрация — время); T_{max} — время достижения максимальной концентрации исследуемого соединения в плазме крови; C_{max} — максимальная концентрация; MRT — среднее время удерживания исследуемого соединения в организме; k_{el} — константа скорости элиминации; $t_{1/2el}$ — период полувыведения исследуемого соединения. f_t — тканевая доступность — величина, характеризующая интенсивность распределения вещества в органах и тканях, рассчитывается по формуле:

$$f_t = AUC_{T_{0-t_{last}}} / AUC_{P_{0-t_{last}}}$$

где: $AUC_{T_{0-t_{last}}}$ — АUC в ткани/органа и $AUC_{P_{0-t_{last}}}$ — АUC в плазме крови, рассчитанные для одного и того же t_{last} [1].

Результаты и их обсуждение / Results and discussion

Распределение соединения АЛМ-802 изучали в органах и тканях, отличающихся друг от друга степенью кровоснабжения (селезёнка, скелетные мышцы, сердце, головной мозг), органах, обеспечивающих элиминацию (печень, почки).

В распределении кардиопротектора по органам прослеживается значительная гетерогенность. Установлено, что АЛМ-802 плохо проникает через ГЭБ, так величина АUC в головном мозге в десятки раз меньше, чем в других органах.

Усреднённые ФК профили АЛМ-802 в органах и тканях крыс после однократного в/ж введения представлены на рис. 2.

Поскольку ФК кривые построены по средним значениям, при расчётах ФК параметров отсутствует статистическая обработка результатов. ФК характеристики исследуемого соединения в органах/тканях животных представлены в табл. 1. Изучаемое соединение определялось в органах на протяжении 72 ч. T_{max} АЛМ-802 в исследуемых органах составило 3–6 ч, за исключением головного мозга ($T_{max} = 24$ ч) (табл. 1). Значения C_{max} кардиопротектора возрастали в ряду: головной мозг → плазма крови → скелетная мышца → печень → сердце → селезёнка → почки (46,6; 1064,8; 1821,6; 3481,9; 3561,6; 5088,3 и 47352,8 нг/мл (г), соответственно). Значения $AUC_{0-t_{last}}$ АЛМ-802 возрастали в ряду: головной мозг → плазма крови → скелетная мышца → селезёнка → сердце → печень → почки (1669; 5243; 31112; 79984; 109516; 142544 и 677833 нг/мл (г), соответственно). Анализ величин f_t АЛМ-802 показал, что исследуемое вещество распределяется в хорошо васкуляризованные органы (почки, печень, селезёнка) и в орган-мишень — сердце. Так, тканевая доступность АЛМ-802 в системе «почки/плазма крови» составила 129,3; «печень/плазма крови» — 27,2; «селезёнка/плазма крови» — 15,3, при этом «сердце/плазма крови» — 20,9. Таким образом, f_t АЛМ-802

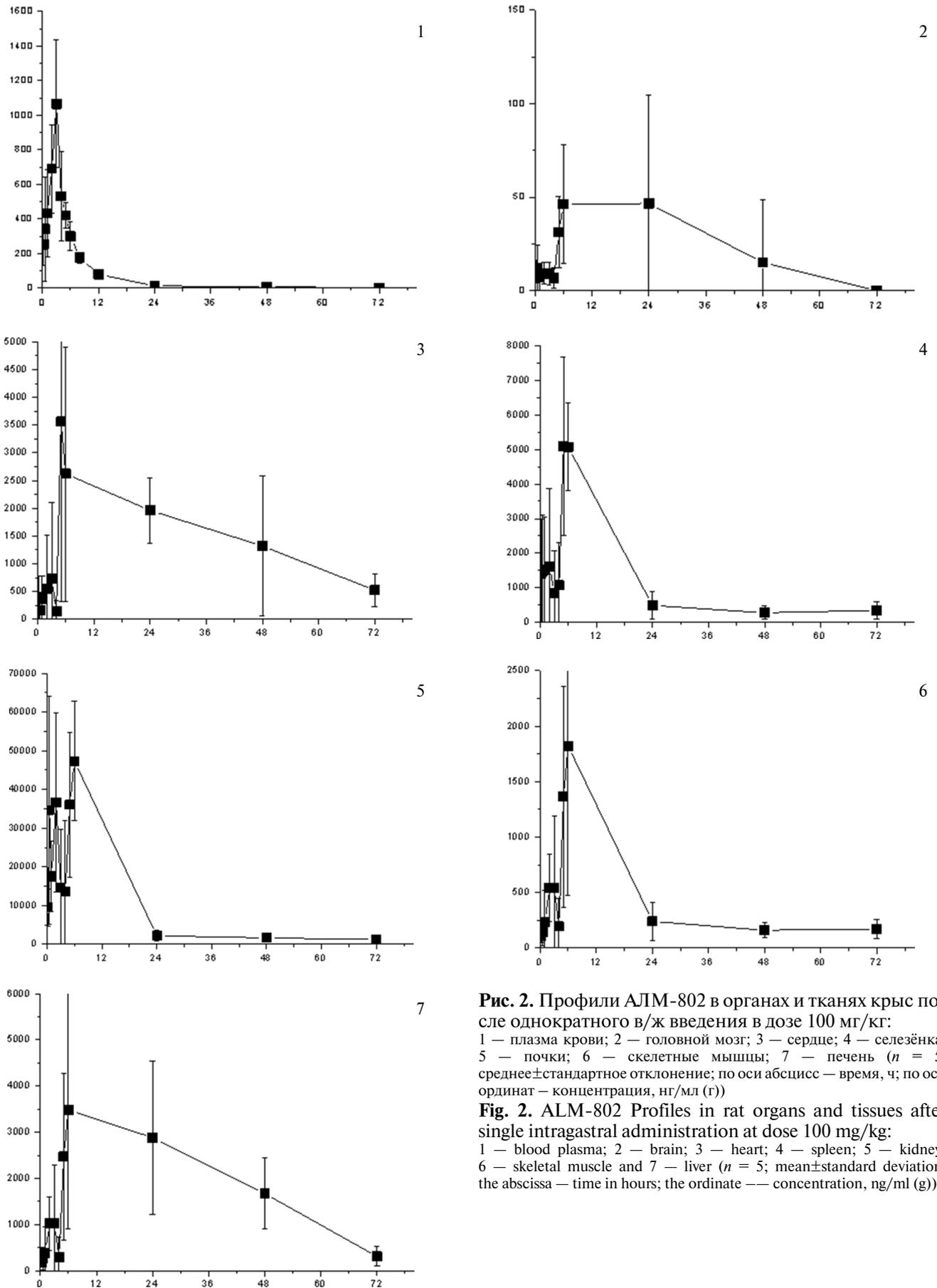


Рис. 2. Профили АЛМ-802 в органах и тканях крыс после однократного в/ж введения в дозе 100 мг/кг: 1 – плазма крови; 2 – головной мозг; 3 – сердце; 4 – селезёнка; 5 – почки; 6 – скелетные мышцы; 7 – печень ($n = 5$; среднее \pm стандартное отклонение; по оси абсцисс – время, ч; по оси ординат – концентрация, нг/мл (г))

Fig. 2. ALM-802 Profiles in rat organs and tissues after single intragastral administration at dose 100 mg/kg: 1 – blood plasma; 2 – brain; 3 – heart; 4 – spleen; 5 – kidney; 6 – skeletal muscle and 7 – liver ($n = 5$; mean \pm standard deviation; the abscissa – time in hours; the ordinate – concentration, ng/ml (g))

Таблица 1

Фармакокинетические параметры АЛМ-802 в органах и тканях крыс после однократного внутрижелудочного введения фармацевтической субстанции АЛМ-802 в дозе 100 мг/кг

Table 1

Pharmacokinetic parameters of ALM-802 in rat organs and tissues after a single intragastric administration of the ALM-802 pharmaceutical substance at dose of 100 mg/kg

Параметры / Parameters	Единицы измерения / Units	Органы и ткани/Organs and tissues						
		Плазма крови / Blood plasma	Головной мозг / Brain	Сердце / Heart	Селезёнка / Spleen	Почки / Kidney	Скелетная мышца / Skeletal muscle	Печень / Liver
C_{max}	нг/мл	1064,8	46,6	3561,6	5088,3	47352,8	1821,6	3481,9
T_{max}	ч	3,0	24,0	5,0	5,0	6,0	6,0	6,0
$AUC_{0 \rightarrow t_{last}}$ ($t_{last} = 72$ ч)	нг/мл(г)×ч	5243	1669	109516	79984	677833	31112	142544
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$	нг/мл(г)×ч	5258	2210	130250	123238	699665	36429	39608
k_{el}	ч ⁻¹	0,0885	0,0279	0,0252	0,0431	0,0542	0,0322	0,0360
$t_{1/2el}$	ч	7,8	24,9	27,5	16,1	12,8	21,52	19,26
MRT	ч	7,6	36,4	59,3	13,4	12,9	30,6	35,7
f_T		—	0,3	20,9	15,3	129,3	5,9	27,2

в сердце была соизмерима с тканевой доступностью в печени — органе, обеспечивающим элиминацию и хорошо васкуляризованном (рис. 3). Вообще, f_T — величина относительная, значение её не зависит от способа введения исследуемого вещества и обуславливается исключительно его физико-химическими свойствами [5] (см. табл. 1).

Анализ ФК параметров, характеризующих элиминацию изучаемого соединения, позволяет заключить, что АЛМ-802 выводится из организма животных достаточно медленно: значения k_{el} варьировали от 0,0252 до 0,0885 ч⁻¹, а величины MRT составили 7,6 — 59,3 ч.

Выводы / Conclusion

1. Соединение АЛМ-802 распределяется по органам и тканям неравномерно. Тканевая доступность изучаемого соединения в системе «головной мозг/плазма крови» составила 0,3; «печень/плазма крови» — 27,2; «почки/плазма крови» — 129,3. В органе-мишени — сердце — тканевая доступность АЛМ-802 составила 20,9.

2. Интенсивность проникновения АЛМ-802 в органы и ткани снижается в ряду: почки→печень→сердце→селезёнка→скелетная мышца→головной мозг.

Финансирование. Работа выполнена в рамках Государственного задания № FGFG-2022-0003 «Изучение патофизиологических механизмов формирования алкоголь-обусловленной патологии сердца и поиск молекулярных мишеней для фармакологической коррекции выявленных нарушений».

Financing. The work was carried out within the framework of State task No. FGFG-2022-0003 «Study of pathophysiological mechanisms of the formation of alcohol-related heart pathology and search for molecular targets for pharmacological correction of the revealed disorders».

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare that there is no conflict of interest.

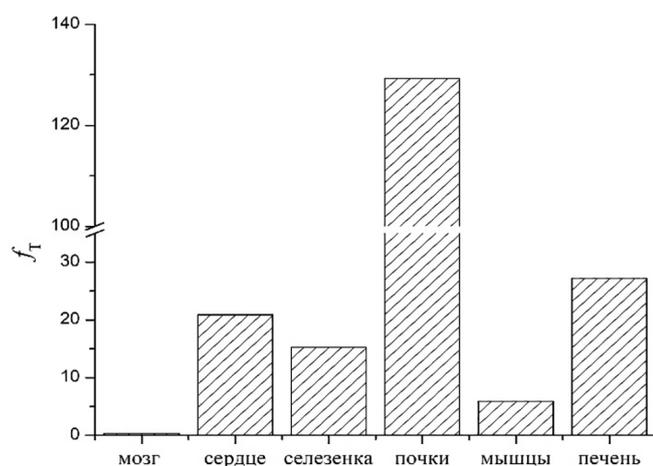


Рис. 3. Тканевая доступность (f_T) АЛМ-802 в тканях и органах крыс после однократного в/ж введения в дозе 100 мг/кг

Fig. 3. ALM-802 Tissue availability (f_T) in rat organs and tissues after single intragastric administration at a dose 100 mg/kg

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ / ABOUT THE AUTHORS

Кравцова Оксана Юрьевна*Автор, ответственный за переписку*

e-mail: oukravtsova@yahoo.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0693-2007>

SPIN-код: 1733-2330

к. б. н., н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Заку-
сова», Москва, Россия**Kravtsova Oksana Yu.***Corresponding author*

e-mail: oukravtsova@yahoo.com

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-0693-2007>

SPIN code: 1733-2330

PhD of Biological sciences, researcher scientist of
pharmacokinetics laboratory FSBI «Zakusov Insti-
tute of Pharmacology», Moscow, Russia**Колыванов Геннадий Борисович**

e-mail: 7822535@mail.ru

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2571-0047>

SPIN-код: 2538-8639

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени
В.В. Закусова», Москва, Россия**Kolyvanov Gennadiy B.**

e-mail: 7822535@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2571-0047>

SPIN code: 2538-8639

Dr. Sci. in Biology, Leading researcher of the labo-
ratory of pharmacokinetics FSBI «Zakusov Institute
of Pharmacology», Moscow, Russia**Литвин Александр Алексеевич**

e-mail: litbiopharm@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2818-3457>

SPIN-код: 6193-5770

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени
В.В. Закусова», Москва, Россия**Litvin Alexander A.**

e-mail: litbiopharm@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-2818-3457>

SPIN code: 6193-5770

Dr. Sci. in Biology, Leading researcher of the labo-
ratory of pharmacokinetics FSBI «Zakusov Institute
of Pharmacology», Moscow, Russia**Бочков Павел Олегович**

e-mail: bok-of@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8555-5969>

SPIN-код: 5576-8174

к. б. н., с. н. с. лаборатории фармакокинетики
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени
В.В. Закусова», Москва, Россия**Bochkov Pavel O.**

e-mail: bok-of@yandex.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-8555-5969>

SPIN code: 5576-8174

PhD in Biology, Senior Research Officer of labora-
tory pharmacokinetics FSBI «Zakusov Institute of
Pharmacology», Moscow, Russia**Жердев Владимир Павлович**

e-mail: zherdevpharm@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2710-7134>

SPIN-код: 2213-9592

д. м. н., профессор, заведующий лабораторией
фармакокинетики ФГБНУ «НИИ фарма-
кологии имени В.В. Закусова», Москва, Россия**Zherdev Vladimir P.**

e-mail: zherdevpharm@mail.ru

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-2710-7134>

SPIN code: 2213-9592

Dr. Sci. in Medicine, professor, Head of laboratory
pharmacokinetics FSBI «Zakusov Institute of Phar-
macology», Moscow, Russia

Список литературы / References

1. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Методические рекомендации по проведению доклинических исследований фармакокинетики новых лекарственных средств, А.Н. Миронов (общ. Ред.), часть 1, Москва: Гриф и К, 2013. [Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovaniy lekarstvennyh sredstv. Ch.I. Moscow:Grif I K, 2013 (In Russ).].
2. Крыжановский С.А., Лихошерстов А.М., Цорин И.Б., Столярук В.Н., Вититнова М.Б., Мокров Г.В., Гудашева Т.А. Скрининг кардиотропной активности в ряду α , ω -диарилметильных производных бис-(ω -аминоалкил)аминов. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2016;(2):10–13. [Kryzhanovskii SA, Likhosherstov AM, Tsorin IB, Stolyaruk VN, Vititnova MB, Mokrov GV, Gudasheva TA. Screening of the compounds having cardiotropic activity among the α , ω -diarilmethyl derivatives of bis-(ω -aminoalkyl) amines. *Farmakokinetika i Farmakodinamika*. 2016;(2):10–13. (In Russ).].
3. Цорин И.Б., Барчуков В.В., Вититнова М.Б., Лихошерстов А.М., Мокров Г.В., Крыжановский С.А. Кардиопротекторные эффекты соединения АЛМ-802 на моделях субэндокардиальной ишемии. *Фармакокинетика и Фармакодинамика*. 2021;(1):18–22. [Tsorin IB, Barchukov VV, Vititnova MB, Likhosherstov AM, Mokrov GV, Kryzhanovskii SA. Cardioprotective effects of compound ALM-802 on subendocardial ischemia models. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2021;(1):18–22 (In Russ).]. DOI: 10.37489/2587-7836-2021-1-18-22.
4. Барчуков В.В., Цорин И.Б., Лихошерстов А.М., Вититнова М.Б., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Крыжановский С.А. Противоишемическая активность триамина АЛМ-802 в условиях эндотелиальной дисфункции. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 2019;167(4):443–446. [Barchukov VV, Tsorin IB, Likhosherstov AM, Vititnova MB, Mokrov GV, Gudasheva TA, Kryzhanovskii SA. Anti-ischemic activity of triamine ALM-802 under conditions of endothelial dysfunction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*. 2019;167(4):443–446. (In Russ).].
5. Барчуков В.В., Цорин И.Б., Лихошерстов А.М., Вититнова М.Б., Мокров Г.В., Крыжановский С.А. Сравнительное изучение антиишемической активности триметазидина и соединения АЛМ-802 в условиях эндотелиальной дисфункции. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2019;(2):23–27. [Barchukov VV, Tsorin IB, Likhosherstov AM, Vititnova MB, Mokrov GV, Kryzhanovskii SA. A comparative study of the anti-ischemic activity of trimetazidine and the compound ALM-802 under conditions of endothelial dysfunction. *Farmakokinetika i Farmakodinamika*. 2019;(2):23–27. (In Russ).]. DOI: 10.24411/2587-7836-2019-10042.
6. Кольванов Г.Б., Бочков П.О., Литвин А.А., Шевченко Р.В., Подолько А.Л., Жердев В.П. Абсолютная биодоступность соединения, обладающего кардиопротективной активностью (АЛМ-802), у крыс. *Фармакокинетика и фармакодинамика*. 2021;(2):31–35. [Kolyvanov GB, Bochkov PO, Litvin AA, Shevchenko RV, Podolko AL, Zherdev VP. Absolute bioavailability of a substance with cardioprotective activity (ALM-802) in rats. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2021;(2):31–35. (In Russ).]. DOI: 10.37489/2587-7836-2021-2-31-35.
7. Середенин С.Б., Мокров Г.В., Крыжановский С.А., Лихошерстов А.М., Столярук В.Н. и др. Бис(метоксибензиламиноалкил)амины, обладающие кардиотропной активностью. Патент на изобретение RU 2624438, 04.07.2017. Заявка № 2014105635 от 17.02.2014. [Seredenin SB, Mokrov GV, Kryzhanovskii SA, Likhosherstov AM, Stolyaruk VN et al. Bis(methoxybenzylaminoalkyl)aminy, obladayushie kardiotropnoy aktivnost'yu. Patent na izobretenie RU 2624438, 04.07.2017. Заявка № 2014105635 от 17.02.2014 (In Russ).].