

О. Б. Орленко², Н. І. Волощук², С. С. Басок¹,
В. Б. Ларіонов¹, М. Я. Головенко¹

Фармакокінетика габальгіну в організмі мишей

¹Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського
Національної академії наук України, м. Одеса

²Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова

Ключові слова: габальгін, краун-етери, фармакокінетика, метаболізм

Останніми роками домінуючою парадигмою у відкритті ліків є розробка максимально селективних сполук, що націлені на одну біомолекулу та відповідають за певне захворювання [1]. Зазначений підхід є успішним для лікування захворювання з чітко визначеним механізмом, етіологією та патофізіологією. Проте існує безліч захворювань з більш складними патологічними механізмами, для яких класична парадигма «одна мішень, один препарат» частково або повністю зазнала невдачі [2]. У цьому випадку препарати, які діють на декілька мішеней (так звані мульти-таргетні препарати), створюють кращі фармакологічні профілі й тому є більш ефективними у випадку багатфакторних захворювань [3]. Багатоцільовий підхід було запропоновано [4] для лікування розладів центральної нервової системи, у разі яких генетичні, біохімічні та екологічні фактори можуть відігравати значну роль у розвитку захворювання. Мульти-таргетні лікарські засоби можуть бути більш ефективними й за нейро-дегенеративних захворювань з досить складною етіопатологією, таких як хвороба Альцгеймера, хвороба Паркінсона тощо [5]. До того ж імовірність розвитку резистентності клітини одночасно до багатоцільових препаратів, що діють на неспоріднені білки, статистично нижча, ніж імовір-

ність розвитку її до одноцільових сполук. Припускають, що резистентність до ліків, яку викликає хіміотерапія, потенційно можна подолати за допомогою мультитаргетних препаратів.

Крім того, порівняно з комбінаціями лікарських засобів мультицільові сполуки також можуть демонструвати кращі фармакокінетичні профілі безпеки. Усе це вказує на те, що поліфармакологія є однією з найперспективніших та інноваційних парадигм у пошуку нових хімічних сполук для лікування складних захворювань.

У зв'язку з цим особливий інтерес становлять краун-етери з фармакофорними групами (амінокислоти, пептиди тощо), оскільки дія традиційних біологічно активних речовин, що входять до цих груп, може бути посилена внаслідок полегшення їхнього транспорту через гематоенцефалічний бар'єр і клітинні мембрани. Синтез численних краун-етерів та аналогів, а також вивчення їхніх фармакологічних властивостей показали, що ці сполуки мають низку фізіологічних активностей [7]. Встановлено, що власне макрогетероцикли не мають психотропної активності, а в прояві сполукою специфічної дії значну роль відіграє характер фармакофорного фрагмента, що ковалентно зв'язаний з ними. На підставі дослідження закономірностей залежності між хімічною структурою похідних краун-етерів та проявами біологічної активності [8], відібрано найактивнішу сполуку гідрохлорид

N-(γ -амінобутирил)-1-аза-4,7,10,13-тетраоксациклопентадекану (габальгін), що характеризується антиамнестичною, антигіпоксичною та протисудомною дією [9] і має низьку токсичність [10].

Мета дослідження – визначити фармакокінетичні особливості габальгіну на етапах всмоктування, розподілу та метаболізму в організмі мишей.

Матеріали та методи. Експерименти виконано на мишах лінії СВА масою 18–22 г з дотриманням принципів біоетики відповідно до Директиви 2010/63/EU Європейського Парламенту та Ради ЄС «Про охорону тварин, які використовуються з науковою метою» [11].

Габальгін було синтезовано у Фізико-хімічному інституті ім. О. В. Богатського НАН України, його радіохімічна чистота становила понад 95 %. Сполуки 2,5-дифенілоксазол (РРО) та 1,4-біс-2-(5-феніл)-оксазолілбензен (РОРОР) – фірми «Beckman», інші реактиви (органічні розчинники, кислоти, луги тощо) виробництва фірми «Chernapol» та вітчизняного виробництва марки ч.д.а. та о.с.ч.

^{14}C -габальгін з питомою активністю 0,074 Кю/моль вводили тваринам перорально (а для визначення абсолютної біодоступності – внутрішньовенно) у фізіологічному розчині в дозі 50 мг/кг. Через 0,5, 1, 2, 4, 6, 12 та

24 год тварин декапітували, органи та тканини ізолювали, зважували та гомогенізували в розчині NaCl (0,9 %). Вміст загальних радіоактивних сполук визначали в гомогенатах органів і тканин експериментальних тварин (1:3, маса : об'єм, у 0,9 % NaCl, аліквоти гомогенату 0,2–0,5 см³).

Загальне кількісне визначення вихідної сполуки та її метаболітів, вилучених з біологічних субстратів, проводили методом рідиної сцинтиляційної фотометрії на приладі Beckman LS-1000 при зовнішній і внутрішній стандартизації зразків [12].

Статистичну обробку даних проводили з використанням середньої арифметичної та середніх квадратичних помилок. Регресійний аналіз експериментальних даних проводили з використанням методу найменших квадратів зі застосуванням вагового множника.

Результати та їх обговорення. Попередньо було визначено радіохроматографічну чистоту отриманого зразка сполуки (рис. 1). Вона характеризується наявністю одного піка радіоактивного матеріалу, що за величиною R_f відповідає референтній нерадіоактивній сполуці. Відсутність інших піків підтверджує високу радіохроматографічну чистоту синтезованої міченої сполуки, питома активність якої складає 0,074 Кю/моль.

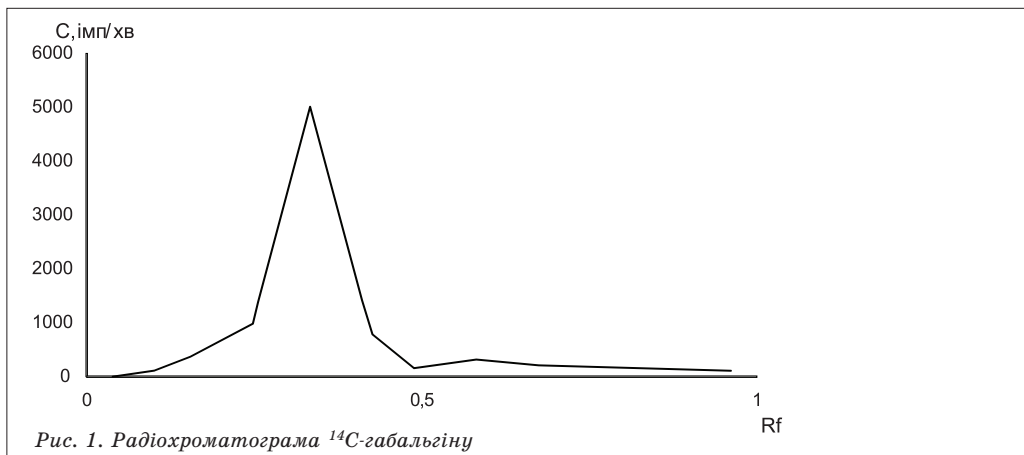


Рис. 1. Радіохроматограма ^{14}C -габальгіну

Вивчення фармакокінетичного профілю за загальною радіоактивністю в органах і тканинах тварин визначали без використання екстракції зразків, очищення та поділу метаболітів, оскільки використання водовмісних сцинтиляторів дозволяє проводити визначення без попереднього гідролізу проб, що підвищує чутливість визначення в 2–5 разів.

Розподіл загального радіоактивного матеріалу в організмі мишей свідчить про те, що сполука та її метаболіти швидко надходять до органів і тканин, та максимальний вміст спостерігається через 0,5 год у плазмі крові, а через 1–2 год у печінці > нирках > легенях > плазмі крові тварин. Згодом концентрація сполуки в усіх органах і тканинах виходить на стаціонарний рівень. Швидкої фази надходження не визначено в головному мозку тварин у всі терміни дослідження (0,5–24 год). Найменшу концентрацію радіоактивного матеріалу виявлено в серці та м'язовій тканині мишей. Не виявлено органа або тканини, які накопичують ^{14}C -продукти (табл. 1).

Подальшими дослідженнями було визначено наявність деяких груп метаболітів габальгіну. Оскільки в клітинах печінки знаходяться ферменти, які каталізують метаболічні перетворення лікарських речовин, нами було вивчено процеси розподілу й обміну сполуки в цьому органі та для порівняння в плазмі крові.

Із використанням методів рідинної екстракції з наступним визначенням радіоактивних сполук у різних фракціях виявлено достовірні кількості ^{14}C -продуктів, які незворотно зв'язані з білками печінки та плазми крові, в інтервалі 0,5–24 год, а також водорозчинних похідних і вільних метаболітів (табл. 2, 3).

Отже, за перорального введення ^{14}C -габальгіну певною мірою зростає

Таблиця 1

Кінетика вмісту ^{14}C -продуктів в органах і тканинах мишей після перорального введення ^{14}C -габальгіну (50 мг/кг), $\text{імп} \cdot 10^3 \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{хв}^{-1}$ ($M \pm m$, $n = 6$)

Орган, тканина	Час, год							
	0,5	1	2	4	6	12	24	
Печінка	2,9 ± 0,9	5,05 ± 0,70	4,6 ± 0,8	3,03 ± 0,40	3,5 ± 0,7	2,4 ± 1,2	0,9 ± 0,4	
Нирки	1,5 ± 0,4	2,6 ± 0,7	3,1 ± 0,5	0,80 ± 0,15	1,9 ± 0,4	0,7 ± 0,2	0,4 ± 0,1	
Легені	1,6 ± 0,9	1,4 ± 0,4	3,4 ± 1,2	2,2 ± 0,8	2,5 ± 0,6	0,5 ± 0,2	0,8 ± 0,1	
Плазма крові	2,1 ± 0,9	1,2 ± 0,1	1,3 ± 0,1	0,50 ± 0,08	0,70 ± 0,09	0,40 ± 0,09	0,20 ± 0,04	
Мозок	0,5 ± 0,1	0,40 ± 0,06	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1	0,5 ± 0,2	0,50 ± 0,04	
Селезінка	0,3 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,90 ± 0,06	0,90 ± 0,06	0,7 ± 0,3	0,20 ± 0,07	0,6 ± 0,3	
Серце	0,3 ± 0,1	0,40 ± 0,09	0,3 ± 0,1	0,30 ± 0,05	0,2 ± 0,1	0,10 ± 0,03	0,3 ± 0,1	
М'язи	0,4 ± 0,1	0,6 ± 0,1	1,1 ± 0,2	0,50 ± 0,09	0,6 ± 0,1	0,40 ± 0,06	0,7 ± 0,2	
Жир	1,1 ± 0,3	0,7 ± 0,3	1,9 ± 0,6	0,5 ± 0,2	1,3 ± 0,6	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,2	

Таблиця 2

Кінетика вмісту вільних (тих, що екстрагуються хлороформом), водорозчинних і зв'язаних з білками печінки метаболітів після введення ^{14}C -габальгіну (50 мкг/кг), $\text{Імп} \cdot 10^3 \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{хв}^{-1}$

Метаболіти	Час, год						
	0,5	1	2	4	6	12	24
Вільні	1,2 ± 0,3	2,3 ± 0,4	2,3 ± 0,4	1,6 ± 0,3	2,2 ± 0,8	1,3 ± 0,8	0,20 ± 0,05
Водорозчинні	0,50 ± 0,07	0,9 ± 0,1	1,1 ± 0,2	0,90 ± 0,07	0,8 ± 0,2	0,5 ± 0,1	0,30 ± 0,09
Зв'язані з білками	0,6 ± 0,2	0,7 ± 0,2	1,1 ± 0,2	0,5 ± 0,2	1,0 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,50 ± 0,08

Таблиця 3

Кінетика вмісту вільних (тих, що екстрагуються хлороформом), водорозчинних і зв'язаних з білками плазми крові метаболітів після введення ^{14}C -габальгіну (50 мкг/кг), $\text{Імп} \cdot 10^3 \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{хв}^{-1}$

Метаболіти	Час, год						
	0,5	1	2	4	6	12	24
Вільні	1,5 ± 0,6	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,1	0,5 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,40 ± 0,07	0,30 ± 0,07
Водорозчинні	0,40 ± 0,08	0,5 ± 0,1	0,7 ± 0,1	0,9 ± 0,3	0,9 ± 0,2	0,9 ± 0,5	0,30 ± 0,09
Зв'язані з білками	0,4 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,7 ± 0,2	1,1 ± 0,5	1,0 ± 0,4	0,5 ± 0,2	0,3 ± 0,1

кількість метаболітів, що екстрагуються хлороформом, тож можна очікувати, що деякі з шляхів метаболізму сполуки призводять до утворення більш ліпофільних метаболітів (імовірно за рахунок ацетилювання γ -аміногрупи).

Оцінку біодоступності ^{14}C -габальгіну здійснювали з використанням даних площ під фармакокінетичним концентраційними кривими в плазмі крові та головному мозку (на підставі даних загальної радіоактивності) як після перорального, так і після внутрішньовенного введення (табл. 4).

За даними співвідношення площ під концентраційними кривими досліджуваної сполуки в плазмі крові після внутрішньовенного та перорального введення абсолютна біодоступність складає $\sim 0,97$ (табл. 4), що вказує на високий ступінь всмоктування її зі шлунково-кишкового тракту. Разом з тим, співвідношення площ під кривими вмісту сполуки в головному мозку при цих способах введення становить $0,23$, що є показником її нейродоступності (табл. 4). Отже, спостерігається значний ступінь всмоктування габальгіну зі шлунково-кишкового тракту.

Подальші дослідження вільних метаболітів ^{14}C -габальгіну, що ґрунтуються на радіохроматографії зразків, попередньо очищених від коекстрактивних речовин, свідчать про наявність вихідної сполуки ($R_f 0,3$) та метаболіту зі значенням $R_f 0,6$ (рис. 2).

Як метаболіт вільна γ -аміномасляна кислота не була виявлена, отже, можна припустити, що вона не є метаболітом габальгіну. Попередніми дослідженнями було доведено, що циклічна структура краун-етеру зберігається при введенні в організм експериментальних тварин, тобто, вона не перетворюється на ациклічні фрагменти й не відбувається відщеплення γ -аміномасляної кислоти від молекули габальгіну. У той самий час в організмі експериментальних тварин відбувається обмін залишку γ -аміномасляної кислоти в складі поліефіру з утворенням ацетильного похідного. Нами не було виявлено такого метаболіту γ -аміномасляної кислоти, як бурштиновий напівальдегід (який утворюється внаслідок реакції переамінування γ -аміномасляної кислоти з α -кетоглутаратом) з його подальшим окисненням до сукцинату. Ацетилювання амінопохідних – поширений механізм їхньої детоксикації в організмі людини та тварин [13].

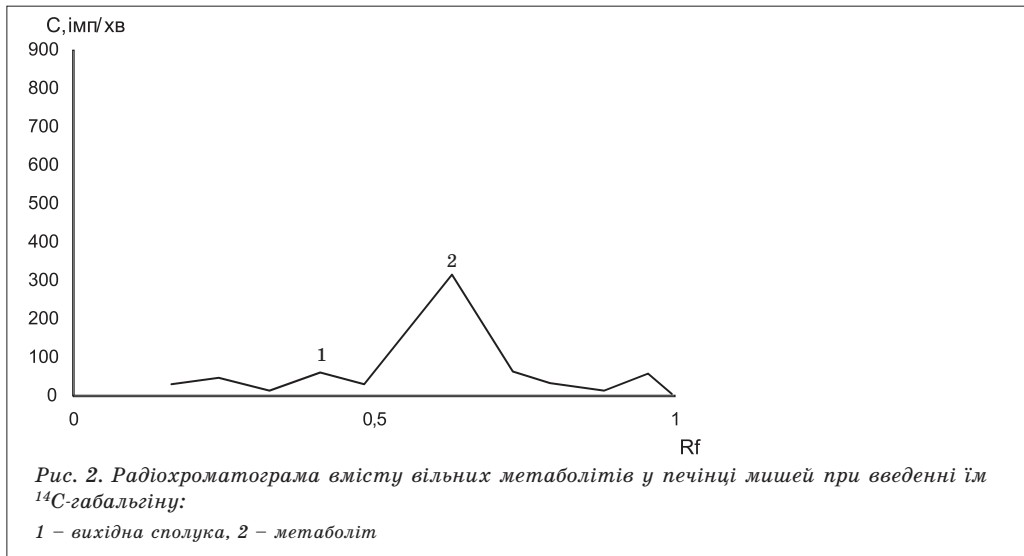
Висновки

1. Максимальний вміст радіоактивного матеріалу після перорального введення ^{14}C -габальгіну спостерігається через $0,5$ год у плазмі крові, а через $1-2$ год у печінці $>$ нирках $>$ легенях $>$ плазмі крові тварин. Не визначено наявності швидкої фази надходження в головний мозок тварин у всі терміни дослідження ($0,5-24$ год). Не виявлено органа або тканини, що накопичують ^{14}C -продукти.

Таблиця 4

Величини площ під фармакокінетичними кривими в плазмі крові та головному мозку після одноразового внутрішньовенного та перорального введення ^{14}C -габальгіну (50 мг/кг, 0,074 Кю/моль), ум. од.

Тканина/орган	Внутрішньовенне введення	Пероральне введення	Біодоступність, f
Плазма крові	$9,17 \pm 1,17$	$8,89 \pm 1,14$	0,969
Головний мозок	$20,94 \pm 1,99$	$4,85 \pm 0,46$	0,232



2. У гомогенатах органів виявлено достовірні кількості ^{14}C -продуктів, які незворотно зв'язані з білками печінки ($0,5\text{--}1,1 \text{ імп} \cdot 10^3 \cdot \text{г}^{-1} \cdot \text{хв}^{-1}$) та плазми крові ($0,3\text{--}1,1 \text{ імп} \cdot 10^3 \cdot \text{мл}^{-1} \cdot \text{хв}^{-1}$), а також у фракціях водорозчинних похідних і вільних метаболітів в інтервалі 0,5–24 год.

3. За даними співвідношення площ під концентраційними кривими досліджуваної сполуки в плазмі крові після перорального та внутрішньовенного введення абсолютна біодоступність складає $\sim 0,97$, що вказує на високий ступінь всмоктування її зі шлунково-кишкового тракту.

1. From magic bullets to designed multiple ligands. R. Morphy et al. *Drug Discov. Today*. 2004. V. 9. P. 641–651.
2. Magic shotguns versus magic bullets: selectively nonselective drugs for mood disorders and schizophrenia. B. L. Roth et al. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2004. V. 3. P. 353–359.
3. Morphy R., Rankovic Z. Designed multiple ligands. An emerging drug discovery paradigm. *J. Med. Chem.* 2005. V. 48. P. 6523–6543.
4. Youdim M. B., Buccafusco J. J. Multi-functional drugs for various CNS targets in the treatment of neurodegenerative disorders. *Trends Pharmacol. Sci.* 2005. V. 26. P. 27–35.
5. Multi-target-directed ligands to combat neurodegenerative diseases. A. Cavalli et al. *J. Med. Chem.* 2008. V. 51. P. 347–372.
6. Silver L. L. Multi-targeting by monotherapeutic antibacterials. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2007. V. 6. P. 41–55.
7. Богатський А. В., Назаров Е. И., Головенко Н. Я. Биологические аспекты действия краун-эфиров, криптандов и их аналогов. *ЖВХО им. Д. И. Менделеева*. 1985. Т. 30, № 5. С. 593–599.
8. Карасёва Т. Л., Басок С. С., Лукьяненко Н. Г. Поиск новых веществ с ноотропной активностью в ряду N-замещенных азакраун-эфиров. *Украинский химический журнал*. 1999. Т. 65, № 10. С. 104–111.
9. Патент України № 7121. N-(γ -амінобутирил)-аза-)1-аза-4,7,10,13-тетра-оксациклопентадекан гідрохлорид, що має антиамнестичну, антигіпоксичну та противосудорожну активність. Богатський А. В., Лукьяненко Н. Г., Воронина Т. А., Головенко Н. Я., Гарибова Т. Л., Карасева Т. Д., Тимофеева С. Э., Басок С. С., Вальдман А. В., Середенин С. Б., Александровский Ю. А., Любимов Б. И. Дата публікації 30.06.1995.
10. Визначення гострої токсичності габальгіну за внутрішньочеревного введення у мишей. М. Головенко, Н. Волощук, С. Басок, В. Ларіонов, О. Орленко. Innovative ways of improving medicine, psychology and biology: collective monograph. International Science Group. Boston : Primedia eLaunch, 2023. 305 p.
11. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Official Journal of the European Union. 20.10.2010. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/oj>.

12. Liquid chromatography-accurate radioisotope counting and microplate scintillation counter technologies in drug metabolism studies. A. E. Nassar, Y. Parmentier, M. Martinet, D. Y. Lee. *J. Chromatogr. Sci.* 2004. V. 42 (7). P. 348–353. <https://doi.org/10.1093/chromsci/42.7.348>.
13. Головенко Н. Я. Физико-химическая фармакология. Одесса : Астропринт, 2004. 720 с.

О. Б. Орленко, Н. І. Волощук, С. С. Басок, В. Б. Ларіонов, М. Я. Головенко
Фармакокінетика габальгіну в організмі мишей

Останнім часом велику увагу приділяють розробці лікарських засобів з полімодальним механізмом дії (мультицаргетні препарати), які можуть бути більш ефективними та безпечними ніж ті, що впливають лише на одну, чітко визначену ланку патологічного процесу. Значний інтерес з огляду на це становлять похідні краун-етерів, в яких фармакофорний фрагмент зумовлює специфічну фармакологічну дію, а залишок краун-етеру полегшує їхній транспорт крізь гістогематичні (зокрема, гематоенцефалічний) бар'єри. Один з представників – N-(γ -амінобутирил)-1-аза-4,7,10,13-тетраоксациклопентадекану (габальгін) характеризується антиамнестичною, антигіпоксичною та противо-судомною дією та має низьку токсичність.

Мета дослідження – визначити фармакокінетичні особливості габальгіну на етапах всмоктування, розподілу та метаболізму в організмі мишей.

Білим безпорідним мишам вводили перорально ^{14}C -габальгін (50 мг/кг, 0,074 Кю/моль) та визначали вміст радіоактивних сполук (вихідної та метаболітів) методом рідинної скінтіляційної фотометрії.

Встановлено, що максимальний вміст радіоактивних продуктів спостерігається через 0,5 год у плазмі та через 1–2 год у внутрішніх органах (печінка, нирки, легені), водночас не було виявлено органа або тканини, що накопичують ^{14}C -продукти. За даними концентрації в плазмі крові абсолютна біодоступність після перорального введення складає $\sim 0,97$. Не було виявлено γ -аміномасляної кислоти та її подальшого метаболіту бурштинового напівальдегіду, отже, можна припустити, що вона не є метаболітом габальгіну, та ця частина зберігається в молекулі, принаймні, протягом часу дослідження.

Ключові слова: габальгін, краун-етери, фармакокінетика, метаболізм

O. B. Orlenko, N. I. Voloshyuk, S. S. Basok, V. B. Larionov, M. Ya. Golovenko
Gabalgin pharmacokinetics in mice

Recently, much attention has been paid to the development of drugs with a polymodal mechanism of action (multitarget drugs), which can be more effective and safer than those that affect only one, clearly defined link of the pathological process. Of considerable interest from this point of view are derivatives of crown ethers, where the pharmacophor fragment determines a specific pharmacological effect, and the crown ether moiety facilitates the transport through histoematic (in particular, blood-brain) barriers. One of the compounds is N-(γ -aminobutyryl)-1-aza-4,7,10,13-tetraoxacyclo-pentadecane (gabalgin), which is characterized by anti-amnestic, antihypoxic, anticonvulsant activities and low toxicity.

The aim of the study is to determine the processes of absorption, distribution and metabolism of gabalgin in the mice organism.

White outbred mice were administered orally with ^{14}C -gabalgin (50 mg/kg, 0.074 Cu/mol) and the common radioactivity (parent compound and metabolites) was determined by liquid scintillation photometry.

It has been shown, that the maximum content of radioactive products was observed after 0.5 h in plasma and 1–2 h in internal organs (liver, kidneys, lungs), while no organ or tissue accumulating ^{14}C -products was detected. According to the concentration in the blood plasma, the absolute bioavailability after oral administration is ~ 0.97 . γ -Aminobutyric acid and its subsequent metabolite succinic semialdehyde were not detected, so it can be assumed that it is not the metabolite of gabalgin and that this part stays in the molecule, at least during the time of the study.

Key words: gabalgin, crown-ethers, pharmacokinetics, metabolism

ORCID ID авторів:

Орленко О. Б. (ORCID ID 0000-0001-8653-5206);

Волощук Н. І. (ORCID ID 0000-0002-0166-9676);

Басок С. С. (ORCID ID 0000-0001-6389-5081);

Ларіонов В. Б. (ORCID ID 0000-0003-2678-4264);

Головенко М. Я. (ORCID ID 0000-0003-1485-128X).

Надійшла: 27 березня 2023 р.

Прийнята до друку: 26 квітня 2023 р.

Контактна особа: Ларіонов Віталій Борисович, доктор біологічних наук, лабораторія молекулярної фармакології та медицини відділу біомедицини, Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, буд. 86, вул. Люстдорфська дорога, м. Одеса, 65080. Тел.: + 38 0 48 766 20 40. Електронна пошта: e-mail vitaliy.larionov@gmail.com