

Ю. И. Сысоев<sup>1,2,3</sup>, А. К. Уэйли<sup>2</sup>, В. А. Приходько<sup>1,2,\*</sup>, Е. В. Семивеличенко<sup>1,2</sup>,  
Е. И. Елецкая<sup>1,2</sup>, В. Г. Лужанин<sup>2</sup>, С. В. Оковитый<sup>1,2</sup>

## ФАРМАКОКИНЕТИКА МАФЕДИНА-НАТРИЯ У МЫШЕЙ ПРИ ВНУТРИБРЮШИННОМ И ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ

<sup>1</sup> ФГБУН Институт мозга человека имени Н. П. Бехтерева РАН, Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. Академика Павлова, 9.

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет Министерства здравоохранения РФ, Россия, 197376, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 14, лит. А.

<sup>3</sup> Институт трансляционной биомедицины, Санкт-Петербургский государственный университет, Россия, 199034, Санкт-Петербург, Университетская наб. д. 7 – 9, пом. 1050.

\* e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

Изучены особенности фармакокинетики и предложена методика количественного определения натриевой соли мафедина методом ВЭЖХ при внутрибрюшинном и внутривенном введении лабораторным мышам. Показано, что мафедин-натрий имеет короткий период полувыведения при внутрибрюшинном и внутривенном введении (15,73 и 6,98 мин соответственно) и высокую биодоступность при внутрибрюшинном введении (~94%). Дальнейший поиск и изучение метаболитов мафедина-натрия и их фармакокинетики позволят раскрыть особенности альфа-2-адреномиметической активности данного соединения.

**Ключевые слова:** мафедин-натрий; фармакокинетика; ВЭЖХ.

Мафедин (6-оксо-1-фенил-2-(фениламино)-1,6-дигидропиримидин-4-ол) — производное пиримидина, обладающее гипотензивным действием за счет активации центральных альфа-2-адренорецепторов [1].

В серии экспериментальных исследований на мышах, крысах и кошках мафедин (в виде основания), в отличие от клонидина, оказывал более медленное, равномерное и длительное гипотензивное действие при различных путях введения [1]. Несмотря на высокую гипотензивную эффективность, в настоящее время агонисты альфа-2-адренорецепторов не представляют большого интереса в качестве средств коррекции сердечно-сосудистых нарушений. Однако экспериментальные и клинические исследования с использованием препаратов этой группы продолжают в свете возможности их использования в неврологической практике. Так, например, клонидин и лофексидин показывают эффективность в лечении героиновой и метадоновой зависимости [2], гуанфацин может быть эффективной заменой селективных ингибиторов обратного захвата серотонина при лечении ажитации и гипервозбудимости у пациентов с посттравматическим стрессовым расстройством [3], а дексмететомидин рассматривается как перспективный адъювант при лечении боли [4]. Отдельно стоит отметить большой интерес исследователей к нейропротекторным свойствам центральных альфа-2 адреномиметиков [5 – 7]. Наиболее убедительным аргументом в пользу изучения данной группы в качестве средств коррекции неврологического дефицита можно назвать результаты метаанализа применения дексмететомидина, включившего в себя 9 рандомизированных плацебо-контролируемых исследований с участием 879 пациентов, перенесших ишемический инсульт [8]. Препарат пока-

зал способность снижать выброс провоспалительных медиаторов и нейроэндокринных гормонов, поддерживать внутричерепной гомеостаз и снижать объем повреждения головного мозга. Нейропротекторная активность натриевой соли мафедина была показана на модели черепно-мозговой травмы у крыс [9]. Курсовое введение мафедина приводило к снижению объема повреждения головного мозга и уменьшению интенсивности воспалительных процессов в области травмы при общем снижении выраженности неврологического дефицита у травмированных животных.

Несмотря на долгую историю изучения, ни в случае основания мафедина, ни его натриевой соли не были оценены их фармакокинетические свойства. Для дальнейшего изучения мафедина-натрия как нейропротекторного средства необходимо понимание особенностей его фармакокинетики, что позволит выбирать наиболее эффективные схемы его введения. Метод ВЭЖХ с УФ-детектированием является универсальным и доступным для большинства лабораторий мето-

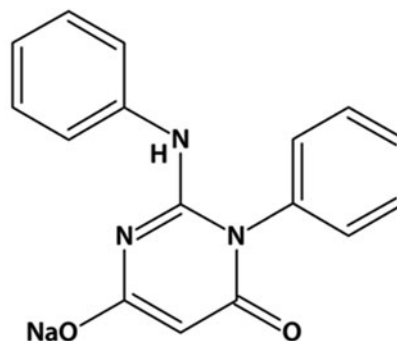


Рис. 1. Структурная формула натриевой соли мафедина.

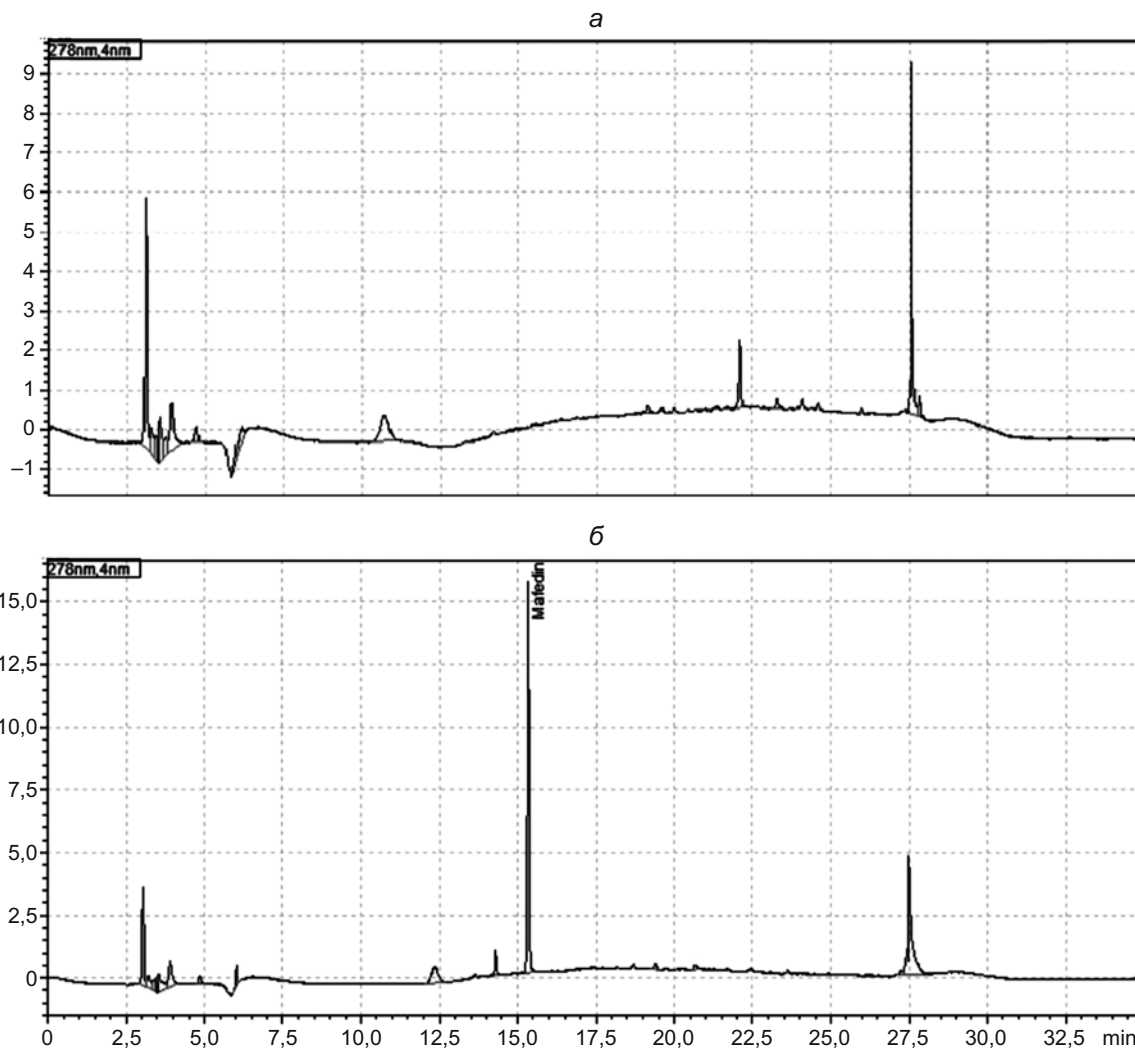


Рис. 2. Хроматограммы intactной плазмы крови (а) и плазмы крови с мафедином в концентрации 0,12 мг/мл (б).

дом количественного анализа по сравнению, например, с масс-спектрометрией. Кроме того, хроматографические методы широко используются для анализа производных пиридина в фармакокинетических исследованиях, а также для терапевтического лекарственного мониторинга [10]. Таким образом, целью исследования стало изучение особенностей фармакокинетики натриевой соли мафедина при внутривенном и внутривенном введении мышам методом ВЭЖХ с УФ-детектированием.

#### Экспериментальная часть

Натриевая соль мафедина (рис. 1), отличающаяся более высокой растворимостью от основания, была

синтезирована на кафедре органической химии Санкт-Петербургского государственного химико-фармацевтического университета.

В качестве стандарта применяли субстанцию мафедина-натрия, полученную химическим синтезом на базе лаборатории органического синтеза СПХФУ.

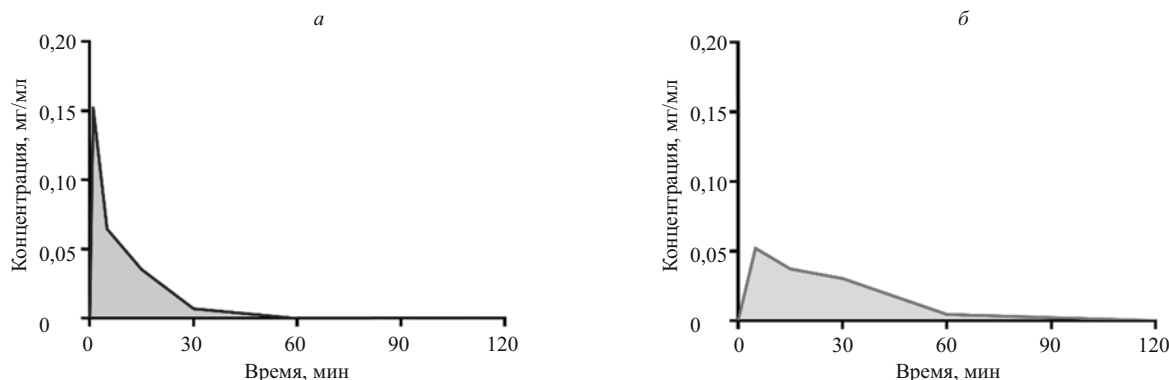
Количественное определение мафедина-натрия в плазме крови проводили с помощью высокоэффективного жидкостного хроматографа на базе Prominence LC-20 (Shimadzu, Япония) с использованием диодно-матричного детектора SPD-M20A, оснащенного автосемплером SIL-20A, при длине волны 278 нм. Ана-

Таблица 1  
Программа градиента во время хроматографического анализа

Время, мин	Элюент в подвижной фазе, %
0	10
5	10
18	100
21	100

Таблица 2  
Основные фармакокинетические параметры мафедина-натрия при внутривенном и внутривенном введении

Параметр	в/б	в/в
$T_{1/2}$ , мин	15,73	6,98
$Cl_{общ}$ , мин	5,00	1,00
$C_{max}$ , мг/мл	0,05	0,15
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ , мг/мл · мин	1,59	1,69
$Cl_{общ}$ , мл/мин	6,29	7,04



**Рис. 3.** Изменение концентраций мафедина-натрия в плазме крови мышей при внутривенном (а) и внутрибрюшинном (б) введении (10 мг/кг).

лизы проводили на обращенно-фазовой колонке SUPELCOSIL LC-18 (250 × 4,6) с зернением 5 мкм при температуре 40 °С. Ввод пробы объемом 2 мкл осуществлялся автосамплером.

Исследования проводили в градиентном режиме (табл. 1). В качестве подвижной фазы «А» применяли деионизованную воду с 0,1 % v/v трифторуксусной кислотой (ТФУ). В качестве неподвижной фазы «В» применяли ацетонитрил с 0,1 % v/v ТФУ. Скорость потока — 1 мл/мин. Время удерживания в приведенных условиях составило  $15,5 \pm 0,38$  мин (рис. 2, б). Количественное определение мафедина-натрия в плазме проводили методом абсолютной градуировки по площади пиков.

Эксперименты проводили на белых беспородных мышках-самках массой 18 – 20 г, полученных из ФГУП “ПЛЖ Рапполово” (Ленинградская область). Животные получали полноценный корм (ООО Лабораторкорм”, РФ) и воду, соответствующую требованиям ГОСТ 2874–82 “Вода питьевая”. Доступ к корму и воде был обеспечен *ad libitum*.

Натриевую соль мафедина вводили внутрибрюшинно и внутривенно в дозе 10 мг/кг. Взятие крови животных осуществляли из ретроорбитального синуса спустя 5, 15, 30 мин, 1, 2, 4, 8, 12 и 24 ч при внутрибрюшинном введении и спустя 1, 5, 15, 30 мин, 1, 2, 4, 8, 12 и 24 ч — при внутривенном. На каждую точку было взято по 4 животных. После взятия кровь центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин на центрифуге Sigma 2-16 PK (Sartorius AG, Германия). Полученную плазму переносили в стерильные микропробирки типа “Эппендорф” и хранили при – 40 °С для последующего анализа.

Для осаждения белков и высвобождения связанного мафедина-натрия из плазмы крови в качестве компонентов подвижной фазы использовали ацетонитрил (J. T. Baker, Польша), кислоту трифторуксусную (ТФУ) х.ч. (Chemical-Line, Россия) и воду деионизованную, полученную с помощью системы очистки воды “Arium mini” (Sartorius, Германия).

Для построения калибровочной кривой были подготовлены 6 стандартных растворов мафедина-натрия следующих концентраций, мкг/мл: 5,64, 28,19, 56,37,

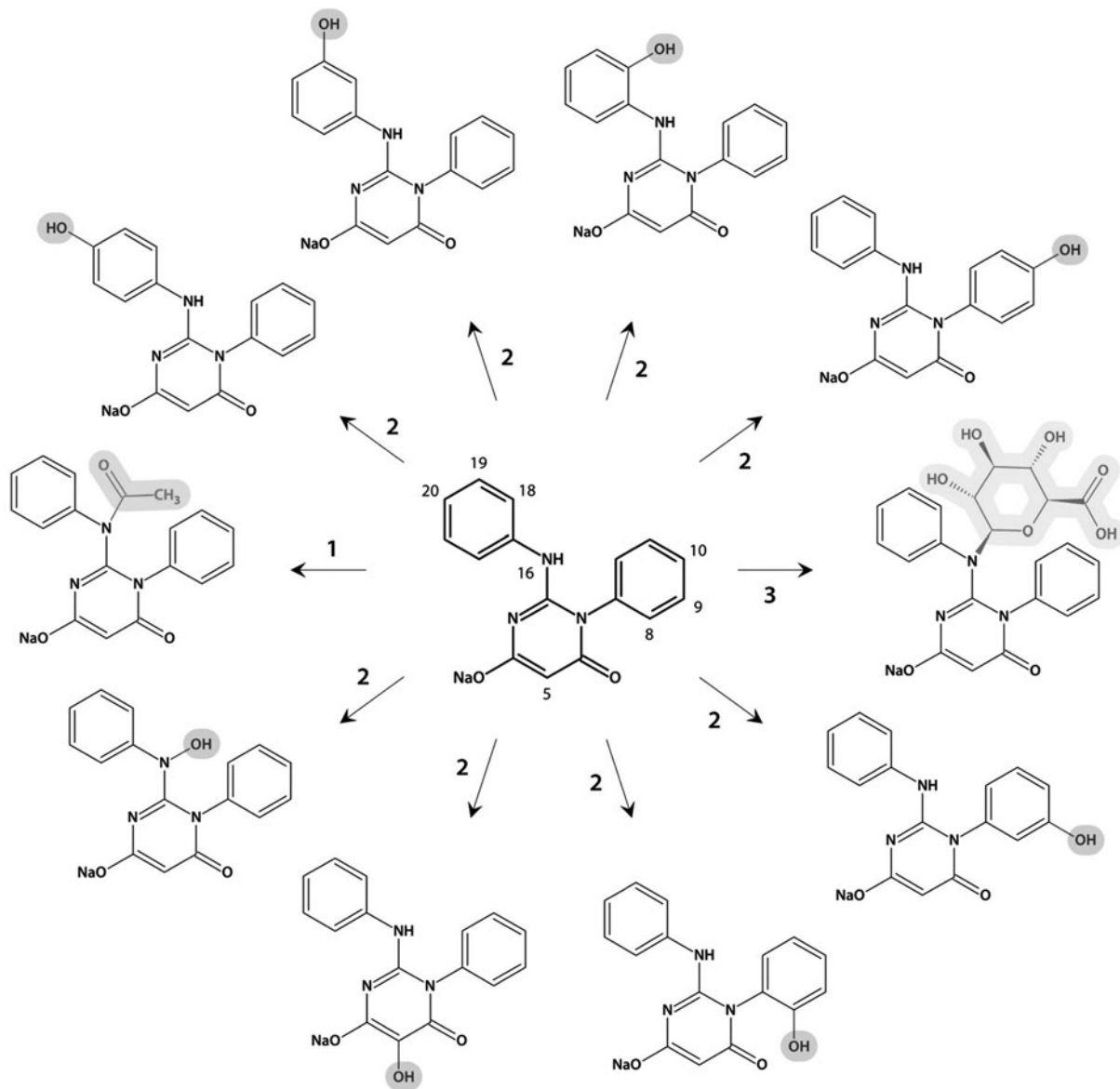
84,55, 225,48, на основе анализа которых создавали калибровочный график зависимости концентрации вещества от площади его хроматографического пика. В результате было получено уравнение регрессии:  $y = 511,13x$ ,  $R^2 = 0,9992$ .

Фармакокинетические параметры рассчитывали с помощью надстройки для MS Excel PK Solver 2.0 на основании кривой зависимости средней концентрации мафедина-натрия от времени после однократного внутрибрюшинного или внутривенного введения. Значения максимальной концентрации в плазме крови ( $C_{max}$ ), времени достижения максимальной концентрации после введения препарата ( $T_{max}$ ), времени полувыведения ( $T_{1/2}$ ) и общего клиренса ( $Cl_{общ}$ ) определяли по индивидуальным графикам зависимости концентрации мафедина-натрия в плазме крови от времени. Площадь под фармакокинетическими кривыми “концентрация — время” ( $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ) рассчитывали методом трапеций. Биодоступность мафедина-натрия при внутрибрюшинном введении определяли как:  $AUC_{в/б}/AUC_{в/в} \cdot 100\%$ .

### Результаты и их обсуждение

Установлено, что потенциально мешающие вещества не оказывают влияния на определение мафедина-натрия. На рис. 2 представлены типичные хроматограммы интактной плазмы крови мышей (а) и экстракта плазмы крови, содержащей 0,12 мг/мл мафедина-натрия (б).

Анализ фармакокинетических параметров показал, что у мышей при внутривенном введении (в/в) пик плазменной концентрации мафедина-натрия достигается спустя 1 мин (т.е. практически моментально) после инъекции, а при внутрибрюшинном введении (в/б) — спустя 5 мин. При этом период полувыведения при данных способах введения составляет 6,98 и 15,73 мин соответственно. На основании значений AUC была рассчитана абсолютная биодоступность мафедина-натрия при внутрибрюшинном введении, которая составила ~94 %. Показатели основных фармакокинетических параметров при внутрибрюшинном и внутривенном введении представлены в табл. 2.



**Рис. 4.** Вероятные пути метаболизма молекулы мафедина-натрия: 1 — ацетилирование; 2 — гидроксирование; 3 — глюкуронирование.

По результатам фармакокинетических исследований были построены графики зависимости концентрации мафедина-натрия в плазме крови от времени (фармакокинетические кривые концентрация — время) для внутривенного и внутривенного введения (рис. 3).

Стоит отметить, что полученные короткие периоды полувыведения мафедина-натрия при в/б и в/в (15,73 и 6,98 мин соответственно) в некоторой степени противоречат результатам проведенных ранее фармакологических исследований. Так, например, для основания мафедина было показано, что при внутривенном введении крысам в дозе 1 мг/кг длительность его гипотензивного эффекта составляет до 7 ч и более [1]. Позже в рамках скрининговых исследований для дозы 2,5 мг/кг при внутривенном введении были получены аналогичные результаты (данные не опубликованы). Одним из возможных объяснений этого феномена может быть реализация фармакологического действия

не исходной молекулой соединения, а ее возможными метаболитами. Дополнительно данное предположение может быть аргументировано тем, что два наиболее характерных представителя группы агонистов альфа-2-адренорецепторов — клонидин и дексмететомидин — оказывают гипотензивное действие в дозах на несколько порядков ниже (мкг/кг), чем мафедин (мг/кг). Согласно результатам компьютерного прогнозирования возможных метаболитов с помощью онлайн-ресурса Way2Drug ([www.way2drug.com](http://www.way2drug.com)), в первой фазе биотрансформации молекула мафедина-натрия может подвергаться гидроксированию по положениям 5, 8, 9, 10, 16, 18, 19 или 20. Во второй фазе биотрансформации возможна конъюгация с остатками уксусной или глюкуроновой кислот по вторичному атому азота в положении 16 (рис. 4).

Таким образом, в настоящем исследовании впервые предложена методика количественного определения мафедина-натрия в плазме крови мышей методом

ВЭЖХ с УФ-детектированием. На основании полученных фармакокинетических кривых показано, что вещество имеет короткий период полувыведения при внутривенном и внутривенном введении, что противоречит его длительному гипотензивному действию. В связи с этим в рамках дальнейших исследований представляется актуальной задача поиска и изучения активных метаболитов мафедина-натрия, обладающих активностью в отношении альфа-2-адренорецепторов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Анисимова, *Автореф. дис. канд. биол. наук*, Санкт-Петербург (1984).
2. L. Gowing, M. Farrell, R. Ali, J. M. White, *Cochrane Database Syst. Rev.*, **2016**(5), CD002024 (2016).
3. M. R. Belkin, T. L. Schwartz, *Drugs Context*, 4, 212286 (2015).
4. S. Lee, *Korean J. Anesthesiol.*, **72**(4), 323 – 330 (2019).
5. B. Weber, M. Steinfath, J. Scholz, B. Bein, *Drug News Perspect.*, **20**(3), 149 – 154 (2007).
6. A. Alam, K. C. Suen, Z. Hana, et al., *Neurotoxicol. Teratol.*, **60**, 102 – 116 (2017).
7. S. Endesfelder, H. Makki, C. von Haefen, et al., *PLoS One*, **12**(2), e0171498 (2017).
8. L. Jiang, M. Hu, Y. Lu, et al., *J. Clin. Anest.*, No. 40, 25 – 32 (2017).
9. Ю. И. Сысоев, С. Г. Дагаев, Л. Г. Кубарская и др., *Биомедицина*, **15**(1), 62 – 77 ( ).
10. Д. В. Моисеев, С. И. Марченко, А. М. Моисеева и др., *Хим.-фарм. журн.*, **41**(1), 26 – 34 (2007).

Поступила 22.10.20

## INVESTIGATION OF PHARMACOKINETICS OF INTRAVENOUSLY AND INTRAPERITONEALLY ADMINISTERED MAFEDINE-SODIUM IN MICE

Yu. I. Sysoev<sup>1, 2, 3</sup>, A. K. Whaley<sup>2</sup>, V. A. Prihodko<sup>1, 2</sup>, E. D. Semivelichenko<sup>1, 2</sup>, E. I. Eletskaia<sup>1, 2</sup>, V. G. Luzhanin<sup>2</sup>, S. V. Okovityi<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> N. P. Bechtereva Institute of the Human Brain of the Russian Academy of Sciences, 197376 Russia

<sup>2</sup> Saint Petersburg State Chemical and Pharmaceutical University of the Ministry of Health of the Russian Federation, 197376, Russia

<sup>3</sup> Institute of Translational Biomedicine, Saint Petersburg State University, 199034, Russia

\* e-mail: veronika.prihodko@pharminnotech.com

Following intravenous and intraperitoneal administration to laboratory mice, the pharmacokinetic characteristics of mafedine sodium salt were studied, and a method for its quantitative determination by means of high-performance liquid chromatography (HPLC) was developed. Mafedine-sodium was shown to have a short biological half-life after intravenous and intraperitoneal administration (15,73 and 6,98 min, respectively), and a high intraperitoneal bioavailability (\*~\* 94 %). Identification and further investigation of mafedine-sodium metabolites and their pharmacokinetics may shed light on the nature of the alpha-2-adrenomimetic activity of this drug.

Keywords: mafedine-sodium; pharmacokinetics; high-performance liquid chromatography.