

УДК 615.45, 615.21/26

DOI: 10.15372/ChUR2021300

## Сравнительная фармакокинетика аэрозольной и пероральной форм пипразинамида

С. В. АНЬКОВ<sup>1,2</sup>, Т. Г. ТОЛСТИКОВА<sup>1,2</sup>, С. В. ВАЛИУЛИН<sup>2</sup>, А. А. ОНИЩУК<sup>2</sup>, М. С. БОРИСОВА<sup>1,2</sup>, С. Н. ДУБЦОВ<sup>2</sup><sup>1</sup>Новосибирский институт органической химии СО РАН,  
Новосибирск (Россия)

E-mail: sergey.ankov42@gmail.com

<sup>2</sup>Институт химической кинетики и горения СО РАН,  
Новосибирск (Россия)

(Поступила 10.02.21)

### Аннотация

Исследована фармакокинетика аэрозольной и пероральной форм доставки противотуберкулезного лекарственного средства – пипразинамида. Показано, что фармакокинетические параметры для обеих форм препарата имеют сопоставимые значения. Рассмотрены преимущества применения для терапии аэрозольной формы пипразинамида.

**Ключевые слова:** аэрозоль, пипразинамид, фармакокинетика, туберкулез

### ВВЕДЕНИЕ

По данным Всемирной организации здравоохранения, туберкулез, вызываемый бактерией *Mycobacterium tuberculosis*, входит в десятку самых опасных смертельных заболеваний в мире [1]. Лечение туберкулеза длительное и осложняется приемом большого количества препаратов в высокой дозе, что приводит к нежелательным последствиям со стороны печени и желудочно-кишечного тракта [2]. Таким образом, важные задачи в лечении туберкулеза заключаются не только в поиске новых высокоэффективных противотуберкулезных лекарственных средств, но и в снижении токсичности, равно как повышению биодоступности уже существующих. В связи с этим разработка аэрозольных форм препаратов представляет повышенный интерес. Поскольку одним из основных органов-мишеней при аэрозольном пути доставки являются легкие, это особенно актуально при введении препаратов для лечения вирусных и бактериальных заболеваний, особенно связанных с поражением как верхних дыхательных путей в целом, так и легких в частности. Для

аэрозольной формы противовирусного препарата триазиавирин при исследовании фармакокинетики показано увеличение биодоступности в четыре раза в сравнении с пероральной формой [3]. Из группы противотуберкулезных лекарственных средств аэрозоль был получен для изониазида, и показана аналогичная фармакокинетика с пероральной формой введения. Также было установлено, что при введении аэрозольной формы изониазида происходит его накопление в верхних дыхательных путях с дальнейшим системным поступлением в общий кровоток [4]. Получение аэрозольной формы другого противотуберкулезного средства первого ряда – пипразинамида, является логичным продолжением работ в направлении изменения пути доставки лекарственных соединений для лечения такого сложно поддающегося терапии и социально-значимого заболевания, как туберкулез легких.

В лаборатории наночастиц Института химической кинетики и горения СО РАН (ИХКГ СО РАН, Новосибирск) был впервые получен аэрозоль пипразинамида термokonденсационным методом, без разложения исходного вещества при

образовании аэрозоля [5], что было подтверждено данными хроматографического анализа вещества, осажденного на фильтре, после прохождения через ингаляционные камеры. Ранее термоконденсационным методом были синтезированы аэрозоли нестероидных противовоспалительных [6–10] и гипотензивных лекарственных средств [11]. С помощью ингаляционных камер аэрозоль пипразинамида в дозе 2.7 мг/кг доставлялся в организм экспериментальных животных с последующим определением фармакокинетических параметров в крови, а также измерением концентрации пипразинамида в легких. Доза аэрозоля определялась расчетным методом, описанным ранее в [4], и обусловлена оптимальным соотношением размера частиц, их концентрацией и временем экспозиции (нахождения экспериментальных животных в аэрозольной камере). Сравнение проводили с установленными в ходе эксперимента фармакокинетическими параметрами пипразинамида, введенного перорально в дозе 30 мг/кг.

Цель работы – определение фармакокинетических параметров аэрозольной формы пипразинамида в сыворотке крови мышцей и сравнительный анализ этих параметров при различных способах доставки пипразинамида. Это может дать понимание перспективности данного способа введения при снижении эффективной дозы доставляемого в организм лекарственного средства, поскольку крайне важна разработка альтернативного пути доставки противотуберкулезных лекарственных средств, вызывающих осложнения при традиционном пероральном приеме.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

### Материалы и методы

Исследования проводили на аутбредных мышцах-самцах CD-1 массой тела 20–30 г первой категории, конвенциональных. Животные содержались в стандартных условиях при неограниченном доступе к воде и гранулированному корму.

Манипуляции с животными проводили в соответствии с Приказом Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01 апреля 2016 г. № 199н “Правила надлежащей лабораторной практики” и положениями Директивы 2010/63/EU Европейского парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 г. по охране животных, используемых в научных целях.

Исследуемое соединение пипразинамид (Acros Organics, Бельгия) вводили в виде сухого наноаэрозоля, который получали на установке, раз-

работанной на базе ИХКГ СО РАН в лаборатории наночастиц, а также перорально с помощью желудочного зонда.

На первом этапе определяли фармакокинетические параметры пероральной формы пипразинамида в дозе 30 мг/кг. Животных разделили на 14 групп по 4 животных в каждой. После однократного введения пипразинамида у мышцей отбирали кровь методом декапитации через 3, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 и 360 мин.

На втором этапе исследовали фармакокинетику аэрозольной формы пипразинамида в дозе 2.7 мг/кг в ингаляционной камере “Nose only”. Время нахождения животных в камере (экспозиция), в которую подавался аэрозоль, составило 20 мин. Мыши были разделены на 9 групп по 4 особи в каждой. Кровь отбирали методом декапитации через 3, 5, 10, 20, 40, 60, 90, 120 и 180 мин.

Далее кровь центрифугировали при скорости 3000 об/мин в течение 15 мин. В полученной сыворотке концентрацию пипразинамида определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с помощью прибора “Милихром-02” (ООО ИХ “ЭкоНова”, Россия).

На третьем этапе определяли концентрацию пипразинамида в легких при аэрозольном способе доставки. Для оценки этой концентрации животных разделяли на 9 групп по 4 особи в каждой. Легкие животных забирали через 5, 10, 15, 20, 30, 60, 90, 120 и 180 мин после 20-минутной экспозиции аэрозоля. Органы помещали в 0.5 мл раствора NaCl (0.89 %) и измельчали на ультразвуковом гомогенизаторе (QSonica, USA), с последующим добавлением к гомогенату трифторуксусной кислоты в соотношении 1 : 3. Затем проводили центрифугирование при скорости 12 000 об/мин в течение 15 мин. Концентрацию пипразинамида в супернатанте определяли методом ВЭЖХ с использованием прибора “Милихром-02”.

Фармакокинетические параметры: максимальная концентрация ( $C_{max}$ ), время достижения максимальной концентрации ( $T_{max}$ ), период полувыведения ( $T_{1/2}$ ), площадь под кривой (AUC) и среднее время удерживания (MRT) – рассчитывали с помощью программы PKSolver [12]. Результаты представлены в виде средних значений. Статистическая обработка данных проведена с помощью программного пакета Statistica 7.0.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты измерения фармакокинетических параметров пипразинамида, введенного перорально (в дозе 30 мг/кг) и в виде аэрозоля (в дозе

ТАБЛИЦА 1

Фармакокинетические параметры пиразинамида при пероральном и аэрозольном способах доставки в дозе 30 мг/кг и 2.7 мг/кг соответственно

Параметр	Способ доставки	
	Пероральный	Аэрозольный
$T_{1/2}$ , мин	76.10±1.72	84.61±1.03
$T_{max}$ , мин	9.50±2.47	10.00±0.00
$C_{max}$ , мкг/мл	30.76±0.60	3.78±0.18
AUC, мкг/(мл · мин)	3403.3±60.88	311.46±21.75
MRT, мин	108.85±2.44	119.94±5.47

2.7 мг/кг), представлены в табл. 1. Фармакокинетические кривые для перорального и аэрозольного способов введения пиразинамида представлены на рис. 1 и 2 соответственно.

Видно, что значения  $C_{max}$  и AUC для аэрозольного способа доставки существенно ниже показателей при пероральном способе. Значение  $C_{max}$  характеризует количественный показатель концентрации вещества в сыворотке крови после введения в определенный момент времени  $T_{max}$ . Значение  $C_{max}$  зависит от количества введенного в организм вещества и его биодоступности, в то время как  $T_{max}$  связано лишь со свойством самого соединения и мало зависит от дозы. Показатель AUC характеризует время нахождения вещества в высокой концентрации и также зависит от дозы введенного соединения и его биодоступности. Показатели  $T_{1/2}$  и MRT также связаны со свойством самого вещества и не зависят от количества введенного в организм соединения. Таким образом, из данных табл. 1 следует, что изменились фармакокинетические параметры  $C_{max}$  и AUC, которые главным образом зависят от дозы введенного вещества и биодоступности в целом. Поскольку разность этих показателей кратна 10, как и разность введенных доз перорального и аэрозольного пирazi-

намида, мы получили равнозначные фармакокинетические параметры для обоих способов доставки.

Исследования, проведенные на третьем этапе с аэрозольной формой пиразинамида, а именно определение его концентраций в легких с течением времени после 20-минутной экспозиции, также имели большое значение с точки зрения выводов о перспективности ингаляционного применения пиразинамида.

Значения концентрации пиразинамида в легких животных при аэрозольном способе введения в дозе 2.7 мг/кг составляют ~50 % от концентрации в сыворотке крови в зависимости от времени после 20-минутной экспозиции (рис. 3). Концентрацию пиразинамида в легких при пероральном способе введения в дозе 30 мг/кг установить не удалось, так как его количество было ниже порога чувствительности прибора.

Таким образом, установлено, что концентрация пиразинамида в легких экспериментальных животных составляет ~50 % от концентрации в сыворотке крови, что свидетельствует о возможной высокой эффективности лечения туберкулеза легких аэрозольными формами противотуберкулезных препаратов.

**ВЫВОДЫ**

На основании вышеизложенного можно сделать следующие выводы:

1. Впервые получен стабильный аэрозоль пиразинамида термоконденсационным методом.
2. Установлены фармакокинетические параметры аэрозольной формы пиразинамида и сопоставлены с таковыми для перорального способа доставки. Выявлено, что фармакокинетика аэрозольной и пероральной форм имеет сопо-

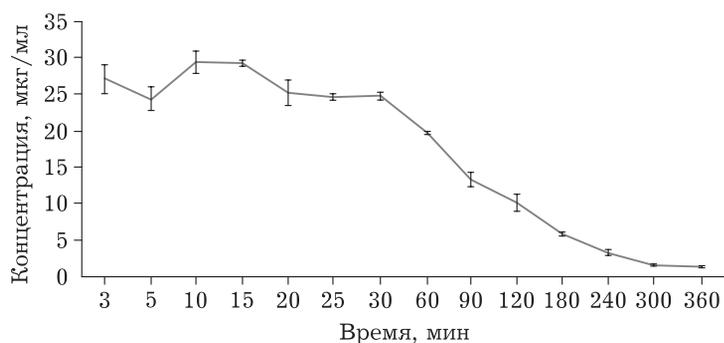


Рис. 1. Фармакокинетическая кривая пиразинамида в сыворотке крови при пероральном способе доставки в дозе 30 мг/кг.

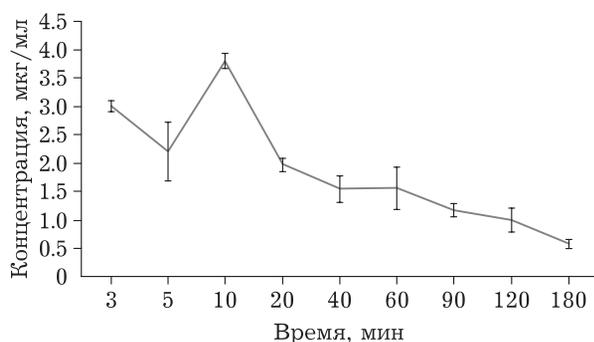


Рис. 2. Фармакокинетическая кривая пиразинамида при аэрозольном способе доставки в сыворотке крови в дозе 2.7 мг/кг; экспозиция 20 мин.

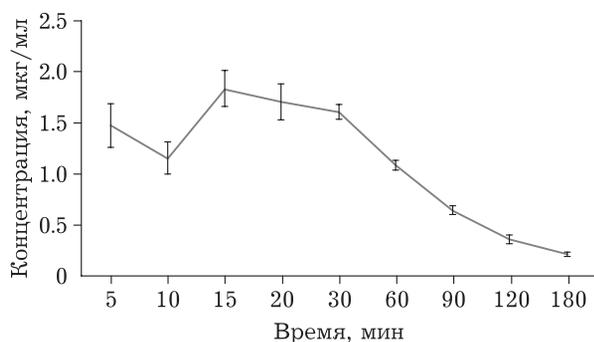


Рис. 3. Фармакокинетическая кривая пиразинамида в легких при аэрозольном способе доставки в дозе 2.7 мг/кг; экспозиция 20 мин.

ставимые значения, следовательно, аэрозольная терапия может применяться как альтернативный путь в лечении туберкулеза легких.

3. Измерена концентрация пиразинамида в легких экспериментальных животных при аэрозольном способе доставки в дозе 2.7 мг/кг в зависимости от времени после 20-минутной экспозиции. Показано, что концентрация пиразинамида в легких и сыворотке крови согласуются между собой, при этом концентрация в ткани легких составляет примерно 50 % от концентрации в сыворотке. Эти данные позволяют сделать вывод о возможном повышении эффективности и снижении эффективной дозы для лечения туберкулеза легких.

Исследования фармакокинетики перорального введения выполнены в рамках государственного задания Лаборатории фармакологических исследований НИОХ СО РАН (проект № АААА-А21-121011490015-1).

Валиулин С. В., Аньков С. В., Толстикова Т. Г., Борисова М. С. благодарят Российский научный фонд

(проект № 19-73-10143) за поддержку части работы, связанной с аэрозольными исследованиями.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Global tuberculosis report. World Health Organization. 2018. [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/274453> (дата обращения: 09.02.2021).
- 2 Kaur M., Garg T., Narang R. K. A review of emerging trends in the treatment of tuberculosis // *Artif. Cells Nanomed. Biotechnol.* 2016. Vol. 44. P. 478–484.
- 3 Valiulin S. V., Onischuk A. A., Dubtsov S. N., Baklanov A. M., An'kov S. V., Plokhotnichenko M. E., Tolstikova T. G., Dultseva G. G., Rusinov V. L., Charushin V. N., Fomin V. M. Aerosol inhalation delivery of triazavirin in mice: Outlooks for advanced therapy against novel viral infections // *J. Pharm. Sci.* 2016. Vol. 110, No. 3. P. 1316–1322.
- 4 Valiulin S. V., Onischuk A. A., Baklanov A. M., Dubtsov S. N., An'kov S. V., Tolstikova T. G., Plokhotnichenko M. E., Dultseva G. G., Mazunina P. S. Excipient-free isoniazid aerosol administration in mice: Evaporation-nucleation particle generation, pulmonary delivery and body distribution // *Int. J. Pharm.* 2019. Vol. 563. P. 101–109.
- 5 Rabinowitz J. D., Wensley M., Lloyd P., Myers D., Shen W., Lu A., Hodges C., Hale R., Mufson D., Zaffaroni A. Fast onset medications through thermally generated aerosols // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004. Vol. 309. P. 769–775.
- 6 Onischuk A. A., Tolstikova T. G., Sorokina I. V., Zhukova N. A., Baklanov A. M., Karasev V. V., Dultseva G. G., Boldyrev V. V., Fomin V. M. Anti-inflammatory effect from indomethacin nanoparticles inhaled by male mice // *J. Aerosol Med. Pulmon. Drug Deliv.* 2008. Vol. 21. P. 231–244.
- 7 Onischuk A. A., Tolstikova T. G., Sorokina I. V., Zhukova N. A., Baklanov A. M., Karasev V. V., Borovkova O. V., Dultseva G. G., Boldyrev V. V., Fomin V. M. Analgesic effect from ibuprofen nanoparticles inhaled by male mice // *J. Aerosol Med. Pulmon. Drug Deliv.* 2009. Vol. 22. P. 245–253.
- 8 Onischuk A. A., Tolstikova T. G., An'kov S. V., Baklanov A. M., Valiulin S. V., Khvostov M. V., Sorokina I. V., Dultseva G. G., Zhukova N. A. Ibuprofen indomethacin and diclofenac sodium nanoaerosol: Generation, inhalation delivery and biological effects in mice and rats // *J. Aerosol Sci.* 2016. Vol. 100. P. 164–177.
- 9 Аньков С. В., Толстикова Т. Г., Хвостов М. В., Онищук А. А., Бакланов А. М., Болдырев В. В. Влияние наноаэрозольной формы лекарственных препаратов на их базовую активность // *Химия уст. разв.* 2014. Т. 22, № 3. С. 223–227.
- 10 Аньков С. В., Толстикова Т. Г., Онищук А. А., Хвостов М. В., Сорокина И. В., Бакланов А. М., Фомин В. М., Болдырев В. В. Анальгетический эффект наноаэрозольной формы некоторых нестероидных противовоспалительных препаратов // *Хим.-фармацевт. журн.* 2015. Т. 49, № 10. С. 37–39.
- 11 Onischuk A. A., Tolstikova T. G., Baklanov A. M., Khvostov M. V., Sorokina I. V., Zhukova N. A., An'kov S. V., Borovkova O. V., Dultseva G. G., Boldyrev V. V., Fomin V. M., Huang G. S. Generation, inhalation delivery and anti-hypertensive effect of nisoldipine nanoaerosol // *J. Aerosol Sci.* 2014. Vol. 2078. P. 41–54.
- 12 Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel // *Computer Methods and Programs in Biomedicine.* 2010. Vol. 99. P. 306–314.