

**ОЦЕНКА ПОКАЗАТЕЛЕЙ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ПЕРФТОРДЕКАЛИНА В
ЦЕЛЬНОЙ КРОВИ И В ЛЁГКИХ КРЫС
ПРИ ОДНОКРАТНОМ ЭНДОТРАХЕАЛЬНОМ И ВНУТРИЖЕЛУДОЧНОМ
ВВЕДЕНИИ**

Баринов В.А.¹, Островидова Е.В.¹, Белякова Н.А.¹, Бонитенко Е.Ю.^{1,2},
Трефилов В.В.¹, Утсаль В.А.¹, Луговкина Н.В.¹, Баринов В.В.¹

¹ФГБУ «Научно-клинический центр токсикологии имени академика С.Н. Голикова
Федерального медико-биологического агентства» (ФГБУ НКЦТ им. С.Н. Голикова
ФМБА России), ул. Бехтерева, дом 1, Санкт-Петербург, Россия, 192019

²ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет», (ФГАОУ ВО
«СевГУ»), Университетская ул., дом 33, Севастополь, Россия, 299053

Резюме

Актуальность изучения безопасности, токсикокинетики и фармакокинетики перфторорганических соединений определяется развитием в медицине перспективного направления по их использованию в качестве средств для лечебного бронхоальвеолярного лаважа, систем транспорта лекарственных средств в лёгкие, а также в качестве газотранспортных дыхательных жидкостей для разрабатываемых технологий жидкостной вентиляции легких, включая варианты частичной, полной и газожидкостной вентиляции. Важную роль при этом имеет оценка фармакокинетических показателей, позволяющих получить представление о закономерностях поступления, распределения и выведения перфторорганических соединений из организма при эндотрахеальном пути их введения.

Цель. Изучение фармакокинетики перфтордекалина в цельной крови и в легких половозрелых белых крыс при однократном внутрижелудочном и эндотрахеальном путях его введения.

Материалы и методы. В исследовании использовали перфтордекалин (CAS 306-94-5). Эксперименты выполнены на половозрелых белых крысах-самцах линии Вистар. Для определения перфтордекалина в цельной крови и в лёгких использовали метод газожидкостной хромато-масс-спектрометрии. Процедуру подготовки осуществляли путём жидкостной экстракции целевого соединения из биоматериала гептаном, содержащим в качестве внутреннего стандарта перфторбензол.

Результаты. В результате проведенного исследования содержания перфтордекалина в образцах цельной крови и легких крыс с использованием метода газожидкостной хромато-масс-спектрометрии показано, что при эндотрахеальном введении это вещество характеризуется нестандартным процессом распределения. В этой связи анализ фармакокинетических кривых возможен с применением модельно-независимого метода. Перфтордекалин

характеризуется очень низкой биодоступностью как при эндотрахеальном, так и при внутрижелудочном путях его введения в организм. В биообразцах не выявлено каких-либо метаболитов перфтордекалина, что подтверждает его высокую химическую стабильность.

Заключение. Поскольку перфтордекалин не метаболизируется в организме и обладает тропностью к богатым жирами тканям, он относится к медленно выводимым веществам, а в его распределении и элиминации из организма можно выделить три этапа. Первый этап связан с наличием не всосавшегося перфтордекалина в лёгких или в желудочно-кишечном тракте. Второй этап идёт на фоне значительного сокращения или даже прекращения поступления перфтордекалина из места введения и сложных процессов его перераспределения между органами и тканями, преимущественно богатыми жирами. Третий этап связан с длительным выведением перфтордекалина из организма, в основном, через легкие.

Ключевые слова: перфтордекалин, жидкостная вентиляция легких, бронхоальвеолярный лаваж, доклиническое исследование фармакокинетики, белые крысы, эндотрахеальное введение, внутрижелудочное введение, цельная кровь, лёгкие, газожидкостная хромато-масс-спектрометрия

**EVALUATION OF THE PHARMACOKINETICS OF PERFLUORODECALIN
IN WHOLE BLOOD AND LUNGS OF RATS WITH SINGLE ENDOTRACHEAL
AND INTRAGASTRIC INTRODUCTION**

Barinov V.A.¹, Ostrovidova E.V.¹, Belyakova N.A.¹, Bonitenko E.U.^{1,2},
Trefilov V.V.¹, Utsal V.A.¹, Lugovkina N.V.¹, Barinov V.V.¹

¹*FGBI «Scientific and Clinical Center of Toxicology named after S.N. Golikov of the
Federal Medical and Biological Agency»,
Bekhterev St., 1, St. Petersburg, Russia, 192019*

²*FGAOU GU «Sevastopol State University»,
Universitetskaya St., 33, Sevastopol, Russia, 299053*

Abstract

The relevance of studying the safety, toxicokinetics and pharmacokinetics of perfluoroorganic compounds is determined by the development in medicine of a promising direction for their use as agents for therapeutic bronchoalveolar lavage, systems for transporting drugs to the lungs, as well as gas transport respiratory fluids for the developed technologies of liquid ventilation of the lungs, including options for partial, full and gas-liquid ventilation. An important role in this is played by the evaluation of pharmacokinetic parameters, which allow one to get an idea of the patterns of intake, distribution and excretion of perfluoroorganic compounds from the body during the endotracheal route of their administration.

Aim. Study of the pharmacokinetics of perfluorodecalin in whole blood and in the lungs of mature albino rats with a single intragastric and endotracheal routes of administration.

Materials and methods. Perfluorodecalin (CAS 306-94-5) was used in the experiment. The experiments were carried out on mature white male Wistar rats. To determine perfluorodecalin in whole blood and lung tissues, gas-liquid chromatography-mass spectrometry is used. A preparation required liquid extraction of the target compound from the biomaterial with heptane, using perfluorobenzene as an internal standard.

Results. As a result of the study of the content of perfluorodecalin in samples of whole blood and lungs of rats using the method of gas-liquid chromatography-mass spectrometry, it was shown that this substance is characterized by a non-standard distribution process upon endotracheal administration. In this regard, the analysis of pharmacokinetic curves is possible using a model-independent method. Perfluorodecalin is characterized by very low bioavailability in both endotracheal and intragastric routes of its introduction into the body. No metabolites of perfluorodecalin were found in biosamples, which confirms its high chemical stability.

Conclusions. Since perfluorodecalin is not metabolized in the body and has a tropism for fat-rich tissues, it belongs to slowly excreted substances, and three stages can be distinguished in its distribution and elimination from the body. The first stage is associated with the presence of non-absorbed perfluorodecalin in the lungs or in the gastrointestinal tract. The second stage takes place against the background of a significant

reduction or even cessation of perfluorodecalin intake from the injection site and complex processes of its redistribution between organs and tissues, mainly rich in fats. The third stage is associated with prolonged excretion of perfluorodecalin from the body, mainly through the lungs.

Key words: perfluorodecalin, liquid lung ventilation, bronchoalveolar lavage, preclinical pharmacokinetic study, white rats, endotracheal administration, intragastric administration, whole blood, lungs, gas-liquid chromatography-mass spectrometry

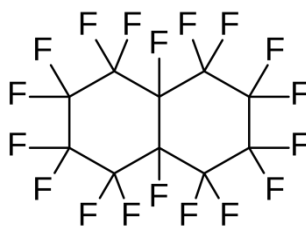
Введение

В современной медицине относительно новым и перспективным направлением является использование перфторорганических соединений (ПФОС) в качестве средств для лечебного бронхоальвеолярного лаважа (БАЛ), систем транспорта лекарственных средств в лёгкие, а также в качестве газотранспортных дыхательных жидкостей для разрабатываемых технологий жидкостной вентиляции легких, включая варианты частичной, полной и газожидкостной вентиляции [1, 2]. Данное направление требует внимательного изучения безопасности, токсикокинетики и фармакокинетики ПФОС, в том числе оценки фармакокинетических показателей, позволяющих получить представление о закономерностях поступления, распределения и выведения ПФОС из организма при эндотрахеальном пути их введения в организм [3, 4]. Одним из ПФОС с наиболее изученными свойствами является перфтордекалин (ПФД), который широко применялся в составе кровезамещающей эмульсии «Перфторан». В ряде работ «Перфторан» использовали для лечения острого респираторного дистресс-синдрома посредством частичной жидкостной вентиляции легких [5, 6]. Однако подавляющее большинство исследований по жидкостной вентиляции легких проводится с использованием монокомпонентных перфторуглеродных дыхательных жидкостей (ПФУ ДЖ) или смесей различных ПФОС, которые, вследствие высокой растворимости в них респираторных газов, способны обеспечивать эффективный газообмен в легких [1, 2, 7]. Кроме того, за счет высокой плотности ПФОС при эндотрахеальном введении раскрывают и стабилизируют альвеолы с дефицитом сурфактанта, способствуя уменьшению ателектазов, перераспределению крови в незадействованные зоны легких и увеличению поверхности газообмена [2]. Изучение абсорбции, распределения и выведения ПФУ ДЖ необходимо проводить при двух путях их введения в организм, из которых эндотрахеальный путь введения является основным, а внутрижелудочный дополнительным, в связи с возможностью заглатывания ПФОС пациентом непроизвольно или при нарушении технологии введения.

Цель исследования. Изучение фармакокинетики перфтордекалина в цельной крови и в легких половозрелых белых крыс при однократном внутрижелудочном и эндотрахеальном путях его введения.

Материалы и методы

В исследовании использовали перфтордекалин (CAS 306-94-5) производства ФГБОУ ВО «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (г. Томск). Структурная формула перфтордекалина ($C_{10}F_{18}$) представлена на рисунке 1. Перфтордекалин представляет собой бесцветную прозрачную жидкость без запаха, не растворим в воде и полярных органических растворителях. Химически и биологически инертен, устойчив к действию кислот и щелочей. Хорошо растворяет кислород и диоксид углерода.

Рисунок 1. структурная формула перфтордекалина ($C_{10}F_{18}$)

Исследования на животных проводились в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики. Эксперименты выполнены на половозрелых белых крысах-самцах линии Вистар массой от 180–200 г (формировались однородные по массе и возрасту группы), прошедших акклиматизационный период. Во время карантина и в процессе исследования животные содержались в соответствии с требованиями ГОСТ 33215-2014 и ГОСТ 33216-2014 на стандартном водном и пищевом рационе в отдельном помещении. Кормление прекращалось за 12 часов до проведения эксперимента при сохранении неограниченного доступа к воде.

Перфтордекалин вводили крысам натошак однократно в дозе 19,4 г/кг (10 мл/кг) внутривентрикулярно через атравматичный металлический зонд и эндотрахеально через полимерную интубационную трубку внутренним диаметром 0,3 мм при общей анестезии внутримышечным введением золептила в дозе 0,3 мг/кг и ксиланита 0,8 мг/кг за 15 минут до манипуляции. Кровь и ткани лёгких отбирали до введения препарата (фон), через 1 час, а также через 1, 3 и 10 суток после введения. Образцы тканей лёгких отмывали от крови и гомогенизировали на холоду. В каждой временной точке для анализа использованы биообразцы крови и лёгких от 5 животных.

Исследование проведено с выполнением правил гуманного обращения с лабораторными животными и имеет Заключение комиссии по биоэтике №1/20-4-5 от 10.02.2020 г. ФГБУН ИТ ФМБА России.

Для определения перфтордекалина в цельной крови и ткани лёгких использовали метод газожидкостной хромато-масс-спектрометрии (ГЖХ-МС). Пробоподготовку осуществляли путём жидкостной экстракции целевого соединения из биоматериала гептаном. Количественное определение ПФД в испытуемых образцах производили с использованием метода внутреннего стандарта. Идентификацию перфтордекалина проводили по хроматографическим параметрам удерживания и значениям массовых чисел характеристичных ионов [8]. Демонстрационная хроматограмма и масс-спектры фрагментации ионов ПФД представлены на рисунках 2 и 3, соответственно. На хроматограмме сигналы со временем удерживания в диапазоне 1,55–1,63 мин соответствуют цис- и транс-изомерам ПФД, а сигнал со временем удерживания около 1,75 мин – перфторбензолу (внутреннему стандарту).

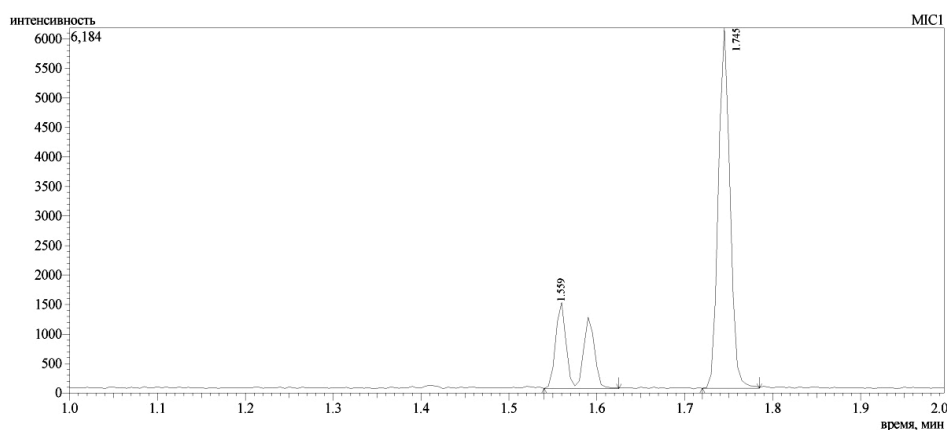


Рисунок 2. Определение перфтордекалина методом ГЖХ-МС

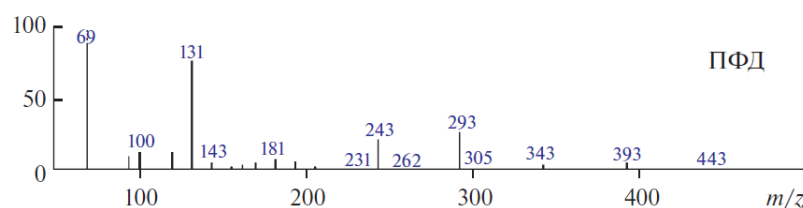


Рисунок 3. Масс-спектр фрагментации ионов перфтордекалина, выбранный для определения в режиме электронной ионизации

Результаты и их обсуждение

В таблицах 1 и 2 представлены усреднённые данные по содержанию перфтордекалина в крови и в тканях лёгких крыс при эндотрахеальном и внутрижелудочном путях введения. На рисунках 4 и 5 представлены соответствующие графики значений концентраций ПФД.

Таблица 1

Средние значения концентраций перфтордекалина (мкг/мл) в крови крыс при эндотрахеальном и внутрижелудочном путях введения

Способ введения ПФД	Время после введения, часы			
	1	24	72	240
Эндотрахеально	0,557	0,355	0,520	0,175
Внутрижелудочно	0,640	0,150	0,164	0,122

Таблица 2

Средние значения концентраций перфтордекалина (мкг/мл) в тканях лёгких крыс при эндотрахеальном и внутрижелудочном путях введения

Способ введения ПФД	Время после введения, часы			
	1	24	72	240
Эндотрахеально	490,0	2,49	3,53	0,56
Внутрижелудочно	0,42	1,72	0,40	0,29

При эндотрахеальном введении уровень перфтордекалина в крови достаточно долго сохраняется на относительно высоком уровне, очевидно за счёт поступления из лёгких. Судя по кинетике концентрации перфтордекалина в крови, при внутрижелудочного введении ПФД быстро покидает желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) в ходе пассажа и его дальнейшее поступление в организм прекращается задолго до истечения первых суток.

Получение различных профилей кривых для тканей лёгких при двух способах введения перфтордекалина предсказуемо, так как в первом случае вещество вводилось непосредственно в лёгкие, что обеспечивало высокий уровень начальных концентраций. В случае внутрижелудочного введения имеется ожидаемый участок нарастания концентрации.

Следует обратить внимание, что в интервале 72–240 часов графики содержания перфтордекалина в лёгких и в крови, с учётом погрешности оценок, идут практически параллельно. Это говорит о том, что между лёгкими и кровью в этот период достигнуто и сохраняется динамическое равновесие. Что касается дальнейшего снижения содержания перфтордекалина в крови, оно заметно различается при двух путях введения. Формальная оценка времени полувыведения (таблица 3) при эндотрахеальном и внутрижелудочном введении даёт 4-х кратную разницу. Теоретически скорость снижения любого препарата на хвосте распределения не должна зависеть от того, каким путём препарат поступил в организм. Наблюдаемая же значительная разница в скорости снижения говорит о том, что в случае эндотрахеального применения ПФД продолжает поступать в кровоток из лёгких и спустя 72 часа после введения.

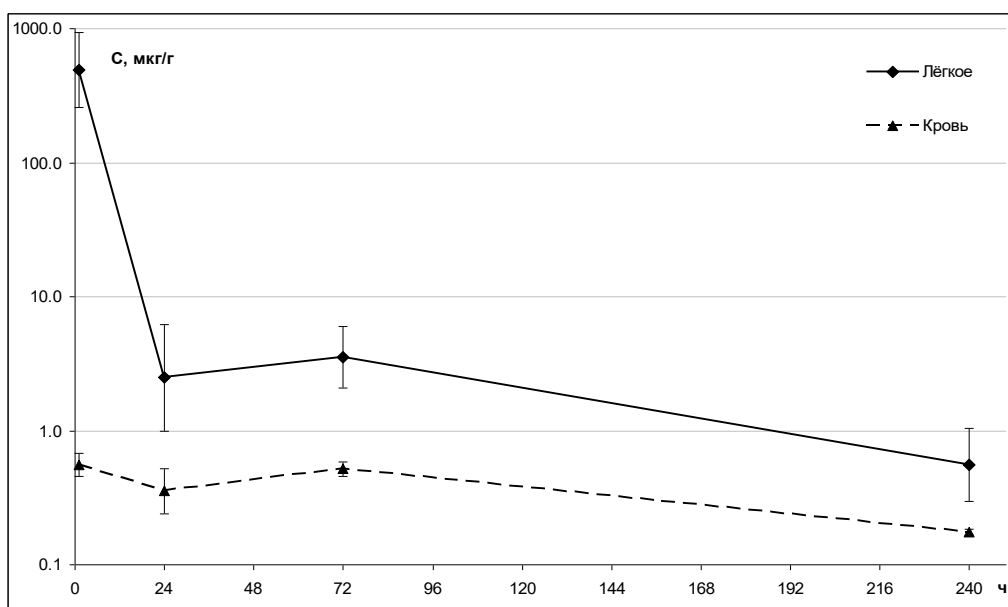


Рисунок 4. График усреднённой концентрации перфтордекалина в образцах крови и в тканях лёгких крыс при эндотрахеальном введении

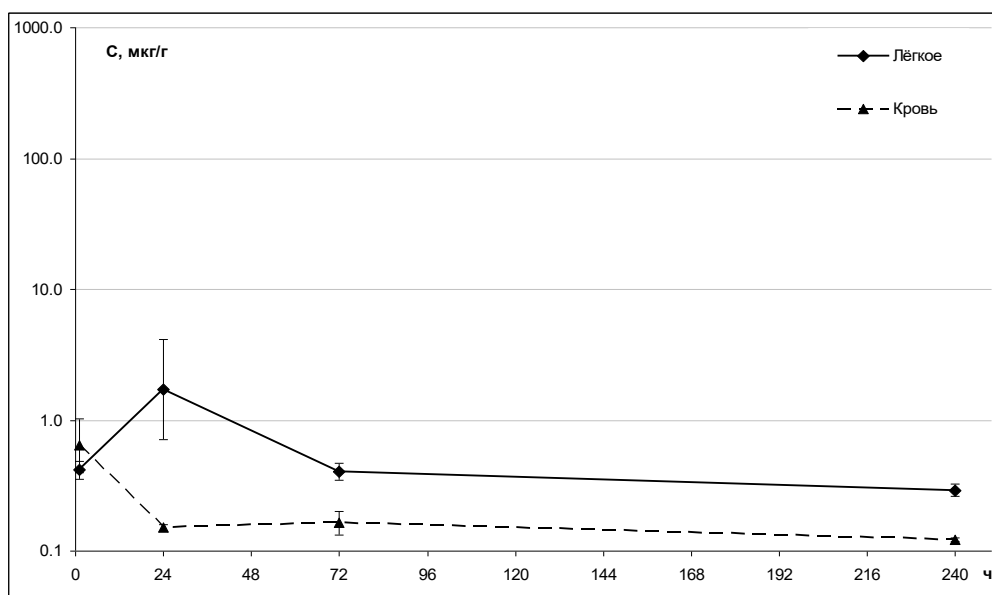


Рисунок 5. График усреднённой концентрации перфтордекалина в образцах крови и в тканях лёгких крыс при внутривенном введении

Таблица 3.

Фармакокинетические показатели перфтордекалина в крови крыс при эндотрахеальном и внутривенном путях его введения

$T_{\max}$, ч	$C_{\max}$, мкг/мл	AUC_t , мкг·ч/мл	AUC_{∞} , мкг·ч/мл	MRT, ч	Cl, л/кг/сут	V_{ss} , л/кг	β , 1/ч	$T_{1/2}$, ч
Эндотрахеальное введение								
1	0,56 ± 0,12	86,1 ± 9,2	124,6 ± 18,8	212,2 ± 48,7	16,4 ± 2,2	3593 ± 352	0,0046 ± 0,0009	152 ± 32
Внутривенное введение								
1	0,64 ± 0,39	40,8 ± 6,8	110,2 ± 18,5	262,7 ± 41,8	18,2 ± 2,7	3125 ± 376	0,0018 ± 0,0004	394 ± 82
Примечания: $T_{\max}$ – время максимума концентрации; $C_{\max}$ – максимальная концентрация; β – постоянная убывания; AUC_t – площадь под кривой за время наблюдения; AUC_{∞} – полная площадь под кривой; MRT – среднее время присутствия; $Cl = D / AUC$ – общий клиренс; $V_{ss} = Cl \cdot MRT$ – стационарный объем распределения; $T_{1/2} = 0.693 / \beta$ – период полувыведения								

Исходя из вида кривых на рисунке 4, можно заключить, что участок фармакокинетической кривой в интервале от 1 до 3 суток после эндотрахеального введения ПФД характеризуется нестандартным процессом распределения. В этой связи их анализ возможен только модельно-независимым методом [9, 10]. Показатели фармакокинетики, которые получены с использованием модельно-независимого метода, представлены в таблице 3.

Следует обратить внимание, что величина клиренса Cl и объёма стационарного распределения V_{ss} выражена в литрах, а не в миллилитрах, как это обычно, в связи с большим численным значением. Этот факт следует

интерпретировать с точки зрения крайне низкой биодоступности перфтордекалина при данных путях поступления, поскольку перфтордекалин в силу плохой растворимости проходит через ЖКТ, практически не всасываясь, а из лёгких значительная его часть быстро испаряется.

Заключение

Исследование фармакокинетических параметров ПФД у крыс при однократном внутрижелудочном и эндотрахеальном путях его введения позволяет сделать ряд основных выводов.

1. Перфтордекалин характеризуется очень низкой биодоступностью как при эндотрахеальном, так и при внутрижелудочном введении в организм.

2. Методом газожидкостной хромато-масс-спектрометрии в крови и тканях легких крыс не выявлено каких-либо метаболитов ПФД, что подтверждает его высокую химическую стабильность. Микросомальные монооксигеназные системы биотрансформации липофильных ксенобиотиков не способны обеспечить первую фазу метаболизма ПФД.

3. При обоих путях введения уровни ПФД в крови крыс через 1 час после введения практически одинаковы: порядка 0,55–0,65 мкг/мл. Это говорит о том, что темп всасывания из ЖКТ и из лёгких в начальный период после введения вещества примерно одинаков и, скорее всего, ограничен растворимостью ПФД в крови.

4. В интервале 72–240 ч графики содержания ПФД в лёгких и в крови, с учётом погрешности оценок, идут практически параллельно. Это говорит о том, что между лёгкими и кровью в этот период достигнуто и сохраняется динамическое равновесие.

5. Поскольку ПФД не метаболизируется в организме и обладает тропностью к богатым жирами тканям, он относится к медленно выводимым веществам, а в его распределении и элиминации из организма можно выделить 3 этапа. Первый этап связан с наличием свободного (не всосавшегося) ПФД в лёгких или в ЖКТ. Второй этап идёт на фоне значительного сокращения или даже прекращения поступления ПФД из места введения и сложных процессов его перераспределения между органами и тканями, преимущественно богатыми жирами. Третий этап связан с длительным выведением перфтордекалина из организма, в основном, через легкие. В данном исследовании 10-суточный период наблюдения не позволяет выявить длительность фазы полной элиминации ПФД.

Литература

1. Kaisers I.U., Kelly K.P., Busch T. Liquid ventilation. *Br. J. Anaesth.* 2003; 91(1): 143–151.
2. Баринов В.А., Бонитенко Е.Ю., Белякова Н.А., Родченкова П.В., Тоньшин А.А., Панфилов А.В., Бала А.М., Головкин А.И., Шилов В.В. Использование перфторуглеродных жидкостей в лечении респираторного дистресс-синдрома (обзор литературы). *Биомедицинский журнал Медлайн.* 2022; 23(30): 515–555.
3. Calderwood H., Ruiz B., Tham M. Residual levels and biochemical changes after ventilation with perfluorinated liquids. *J. Appl. Physiol.* 1975; 39(4): 603–607.
4. Kollpara S., Gandhi R. Pharmacokinetic aspects and in vitro-in vivo correlation potential for lipid-based formulations. *Acta Pharm. Sin. B.* 2014; 4(5): 333–349.
5. Попцов В.Н., Баландюк А.Е. Первый клинический опыт использования частичной жидкостной вентиляции на основе эндобронхиального введения перфторана в комплексной терапии респираторного дистресс-синдрома. *Биомедицинский журнал Medline.ru.* 2004; 5(52): 173–174.
6. Мороз В.В., Остапченко Д.А., Власенко А.В., Осипов П.Ю., Герасимов Л.В. Эндотрахеальное применение перфторана в условиях ИВЛ у больных с острым респираторным дистресс-синдромом. *Общая реаниматология.* 2005; 2(1): 5–11.
7. Kacmarek R.M., Wiedemann H.P., Lavin P.T., Wedel M.K., Tutuncu A.S., Slutsky A.S. Partial liquid ventilation in adult patients with acute respiratory distress syndrome. *Am. J. Respir Crit. Care Med.* 2006; 173(8): 882–889.
8. Журкович И.К., Утсаль В.А., Островидова Е.В., Баринов В.А., Луговкина Н.В., Бонитенко Е.Ю., Белякова Н.А., Баринов В.В. Определение перфторорганических соединений в цельной крови и ткани органов лабораторных животных методом газожидкостной хромато-масс-спектрометрии. *Журнал аналитической химии.* 2022; 77(9): 864–870.
9. Соловьев В.Н., Фирсов А.А., Филон В.А. *Фармакокинетика.* М.: Медицина; 1980.
10. Пиотровский В.К. Метод статистических моментов и интегральные модельно-независимые параметры фармакокинетики. *Фармак. и токсикол.* 1986; 49(5): 118–127.