

Исследование строения химических соединений, методы анализа и контроль производства

© Коллектив авторов, 2016

Е. И. Савельева, П. Н. Сорокоумов, О. И. Орлова, Н. Л. Корягина

МЕТОД КАССЕТНОГО ДОЗИРОВАНИЯ ПРИ ОПТИМИЗАЦИИ ТОКСИКО(ФАРМАКО)КИНЕТИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ

НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России, Россия, 188663, Ленинградская обл., Всеволожский р-н, г.п. Кузьмоловский, ст. Капитолово, корп. № 93, тел./факс +7(812)449 – 6168; e-mail: gpech@fmbamail.ru

Обоснована необходимость скрининговой оценки кинетических характеристик препаратов на ранних стадиях их разработки. Обсуждены преимущества и ограничения метода кассетного дозирования в фармакокинетических исследованиях. Показано, что критическими факторами, влияющими на достоверность фармакокинетических параметров, оцениваемых в условиях кассетного метода, являются их дозы и наличие либо отсутствие фармацевтического взаимодействия. При сравнительном анализе параметров экскреции люизита при введении лабораторным животным люизита и ипритно-люизитной смеси обоснована гипотеза о правомерности токсикокинетического кассетного скрининга способных к взаимодействию соединений при описании медленной фазы их элиминации.

Ключевые слова: кассетное дозирование; фармакогенетика; токсикогенетика; фармацевтические взаимодействия.

Исследования выведения препаратов, фармакокинетики, длительности действия, метаболизма, растворимости и состава в рамках ключевой стратегии фармацевтических компаний предшествуют принятию решения о выборе препарата из множества потенциальных кандидатов для дальнейшего продвижения [1]. Традиционные методы определения фармакокинетических (ФК) и иных параметров, необходимых при разработке лекарственных препаратов, подробно рассмотрены в соответствующих руководствах [2, 3].

Новые подходы сводятся к получению информации о ФК в опытах *in silico* [4 – 7], разработке высокопроизводительного скрининга *in vitro* [8 – 12] для получения информации об отдельных процессах распределения препаратов, а также предсказания характера влияния структуры соединения на его индивидуальные ФК параметры. В целях определения наилучшего ФК профиля широко применяется виртуальное (компьютерное) моделирование.

Тем не менее опыты *in vivo* все еще остаются краеугольным камнем ФК, поскольку живой организм представляет собой очень сложную систему, и распределение молекул может определяться множеством физиологических процессов, протекающих как последовательно, так и параллельно.

Для ускорения исследования ФК *in vivo* существуют различные подходы. В каждом конкретном случае имеются специфические проблемы и задачи, в соответствии с которыми строится ход исследования. Так, в работе [13] производительность ФК исследования предложено повышать путем объединения проб, полученных от нескольких животных, в каждой ФК точке

(рис. 1, а). Такой подход позволяет экономить время на стадии химического анализа, но приводит к усреднению результатов до, а не после проведения химико-аналитических измерений. При этом утрачивается возможность оценки степени вариабельности ФК параметров у различных особей. Более широкое распространение получили так называемые “кассетные” методы исследования ФК. В этом ряду различают методы кассетного анализа (рис. 1, б) [13 – 17] и кассетного дозирования (рис. 1, в) [18 – 21] препаратов.

Рис. 1 иллюстрирует протоколы традиционного или дискретного исследования ФК (а), а также исследования ФК в рамках кассетного анализа (б) и кассетного дозирования (в) препаратов, условно обозначенных № 1 – 5.

В кассетном анализе пробы, полученные после введения по схеме “one in one — один препарат одному животному”, объединяют перед химико-аналитическим исследованием. При такой организации экспериментов термин “кассетный анализ” может не употребляться, чаще говорят об анализе объединенных (пулированных) проб. Основными недостатками такого подхода являются разбавление проб и интерференции при проведении анализа. Наиболее привлекательным выглядит метод кассетного дозирования, заключающийся в одновременном введении группе животных нескольких соединений (обычно 2 – 10), ФК которых в этом случае исследуется параллельно (N in one). Благодаря этому методу значительно увеличивается производительность анализа. Впервые кассетный метод описан в 1995 г. Целями внедрения этого метода было уменьшение количества животных в эксперименте, а

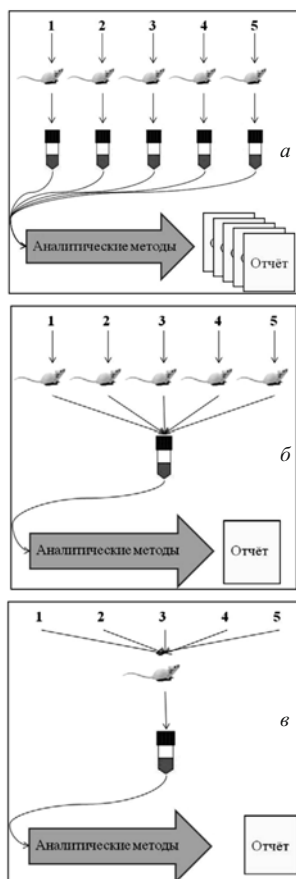


Рис. 1. Традиционный (дискретный) метод исследования ФК (а); метод кассетного анализа (б); метод кассетного дозирования (в).

также затрат труда и времени на его проведение [19, 22, 23].

При прохождении рабочего цикла (сходного с тем, который проходит при обычном дискретном ФК анализе), ФК свойства нескольких соединений могут быть изучены одновременно, что приводит к значительному увеличению пропускной способности анализа. С момента своего создания кассетный метод опробован в ряде исследований [24 – 30]. Следует отметить, что возможность применения такой техники дозирования зависит от чувствительности и селективности аналитического оборудования, поэтому для определения целевых веществ и их метаболитов используются высокоселективные аналитические методы. Кассеты могут различаться по размеру, но даже применение малых кассет значительно увеличивает количество исследуемых соединений, снижая при этом усилия и затраты, связанные с работой с животными, обработкой и анализом образцов [31]. В работе [32] наиболее подробно изложена стратегия применения кассетного метода с его достоинствами и ограничениями. Анализ проводится методом высокоэффективной жидкостной тандемной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС/МС), который модифицируется системой для on-line экстракции.

Сочетание кассетного дозирования препаратов животным с последующим прямым вводом полученной

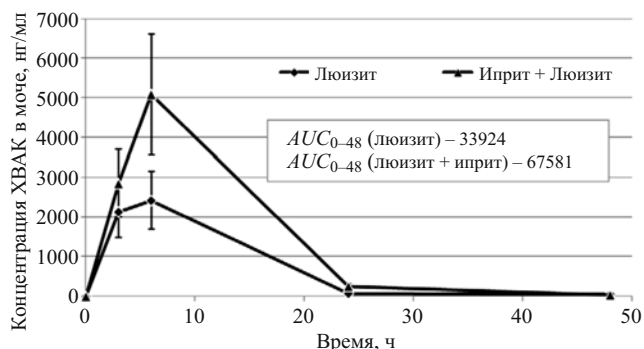


Рис. 2. Кривые экскреции люизита с мочой у крыс в первые 2 сут после экспозиции.

плазмы в хроматографическую систему со встроенным оборудованием для экстракции on-line позволяет существенно снизить время анализа и повысить его производительность, превратив ФК скрининг в рутинную процедуру [28, 33]. Использование кассетного метода в сочетании с автоматизированной пробоподготовкой позволяет определить больше компонентов за меньшее время, использовать меньшее количество животных и анализировать меньшее количество образцов в сравнении с классическим подходом. Несколько компонентов одновременно детектируются в одном цикле “экстракция — ВЭЖХ-МС/МС анализ” [34]. При замене обычных хроматографических колонок на монолитные также удается существенно сократить время анализа за счет значительного увеличения скорости потока [35, 36].

Следует отметить, что подобные системы модернизации, связанные с быстрым определением большого количества компонентов в сложной матрице, требуют соответственного инструментального обеспечения, в частности, применения для детектирования определяемых веществ тандемной масс-спектрометрии [37 – 41].

Существенное значение имеет метод обработки данных. Для большей уверенности потребителей разработчики программного обеспечения стремятся к прозрачности предлагаемых решений [42].

Необходимо понимать, что доверие к ФК параметрам, полученным в рамках кассетного метода, существенно ниже, чем к результатам, полученным в режиме дискретного дозирования препаратов. Кинетические свойства соединений, полученные кассетным методом, могут значительно отличаться от свойств, полученных в ходе дискретных исследований в случае, когда определенные биологические взаимодействия не урегулированы надлежащим образом [18, 43]. Среди таких взаимодействий наибольший вклад в возникающие ошибки вносит взаимодействие препарат — препарат за счет ингибирования ферментов P450 или транспортеров лекарственного средства [44].

Взаимодействие между препаратами особенно вероятно при пероральном пути введения, поскольку локальные концентрации вещества в тканях, содержащих метаболизирующие ферменты, выше, чем при

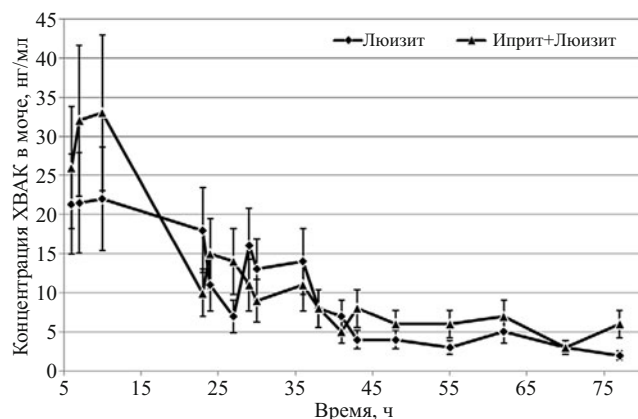


Рис. 3. Кривые экскреции ХВАК с мочой через 5 сут и более после экспозиции.

внутривеном введении. Проблема становится более выраженной при использовании высокой дозы. Контроль подобного рода взаимодействий можно осуществлять путем введения в кассету вещества сравнения, которое проходит цикл ADME параллельно с веществами, находящимися в кассете. Серьезные ошибки могут возникнуть, если специфичность, точность и чувствительность аналитического метода не подвергаются надлежащей проверке при его разработке и валидации. Даже в рамках наиболее селективных хроматоспектральных методов может происходить перекрывание масс и времен удерживания аналитов и метаболитов других соединений, находящихся в кассете. Такие явления не всегда удается предсказать, поскольку метаболические профили и времена удерживания метаболитов на начальных стадиях исследований могут быть неизвестны.

Последняя по времени концентрационная точка может быть потеряна, поскольку уровень дозы при использовании кассетного метода значительно снижается. Также нужно учитывать, что ФК параметры могут изменяться в зависимости от введенной дозы. Таким образом, полученные при кассетном дозировании значения ФК параметров соответствуют низкой дозе препарата, терапевтическая доза может быть значительно выше, и ФК параметры для терапевтической дозы могут отличаться от рассчитанных при кассетном дозировании.

Исключить попадание в 1 кассету соединений, способных к химическому взаимодействию друг с другом, легко еще на стадии планирования эксперимента. Предсказать степень фармакологического взаимодействия недостаточно изученных веществ не всегда удается однозначно. Оценки *in silico* зачастую дают очень приблизительный результат, основанный на аддитивных схемах. Более того, в отношении хорошо известных препаратов фармакологическое взаимодействие обычно описывается в контексте фармакодинамики и крайне редко в контексте ФК, при этом даже различные конечные мишени для известных препаратов не обещают отсутствия фармакологического взаимодействия или конкуренции на стадии абсорбции или

транспорта действующего вещества к мишеням. То же справедливо и в отношении токсикодинамики и токсикокинетики при описании сочетанного воздействия на организм даже хорошо известных ядов.

Результаты сравнительного исследования ФК при индивидуальном применении лекарственных средств и в составе комплексной терапии появились лишь в последнее время. Так, в работе [45] показано, что в рамках комплексной терапии ретровирусных инфекций нелфинавиром, саквинавиром и ритонавиром ФК профили нелфинавира и саквинавира существенно отличаются от профилей, характерных для индивидуального применения этих препаратов. В рамках комплексной терапии концентрация активного метаболита нелфинавира в крови существенно повышается в сравнении с индивидуальным применением препарата. Авторы связывают с этим явлением достигаемый эффект потенцирования, но не нашли ему однозначного объяснения и отмечают, что априори предсказать его было невозможно. Накопление опыта, связанного с экспериментальным обнаружением априори не предсказанного ФК взаимодействия, способствует тому, что метод кассетного дозирования не находит повсеместного применения и не рассматривается в качестве правомерного подхода в инструктивно-методических документах, регламентирующих ФК исследования. В то же время преимущества метода для высокопроизводительного скрининга ФК параметров малоизученных соединений на ранних стадиях их исследования очевидны, а полезность этого подхода продолжает находить экспериментальное подтверждение.

Если на ранних стадиях внедрения метода сообщения об удовлетворительном совпадении ФК данных, полученных в экспериментах на лабораторных животных в режиме дискретного и кассетного дозирования, носили преимущественно декларативный характер [46], то в последние годы появились систематические исследования в данной области. Так, в работе [47] в режимах кассетного и дискретного дозирования вводили крысам 116 соединений, относящихся к разным химическим классам и фармакологическим группам. Для 89, 91, 80 и 91 % соединений из 116 протестированных величины клиренса (Cl), объема распределения (V_{dss}), периода полувыведения из плазмы ($T_{1/2}$) и среднего времени удержания (MRT), соответственно, при кассетном внутривеном введении были оценены корректно. Оценку считали корректной, если отношение ФК параметров, полученных кассетным и дискретным методами, попадало в интервал от 0,5 до 2. Кроме того, при пероральном введении для 78 % препаратов биодоступность оценена корректно. Авторы [48] для исследования кинетики проникновения в мозг объединяли в рамках одной кассеты по 3 – 4 соединения в дозе 3 мг/кг для каждого. Сравнения констант скорости проникновения веществ в мозг при кассетном и дискретном дозировании не проводили, просто исходили из предположения, что при использовании доз, не превышающих 3 мг/кг, взаимным влиянием

препаратов на ФК (при его наличии) можно будет пренебречь.

Сравнительное исследование методов дискретного и кассетного дозирования веществ при оценке кинетики их проникновения в мозг проведено в работе [49]. Для тестирования сформирована группа из 11 соединений, являющихся либо ингибиторами, либо субстратами одних и тех же ферментных систем. Таким образом, воссоздан наиболее выраженный сценарий фармакологического взаимодействия. Тем не менее, в условиях дискретного и кассетного подкожного введения мышам препаратов в дозах 1–3 мг/кг получены совпадающие характеристики кинетики проникновения этих препаратов в головной мозг.

Несмотря на отсутствие однозначного ответа о возможности использования кассетного дозирования в исследованиях ФК, фармацевтические компании не исключают использования кассетного дозирования на ранних стадиях разработки новых лекарственных веществ. Так из 25 опрошенных крупных фармацевтических компаний 22 (88 %) из них применяли кассетное дозирование в ФК исследованиях, 12 (55 %) из этих компаний продолжают использовать его в своей работе [19].

На фоне неослабевающей дискуссии о правомерности применения кассетного дозирования при оценке ФК параметров ни в одной из публикаций нам не удалось встретить сочетания “токсикокинетика — кассетное дозирование”. По нашему мнению, это связано с тем, что теория и практика кассетного метода разрабатываются исключительно в фармацевтических науках, в рамках которых токсикокинетика традиционно рассматривается как ФК высоких доз [50]. При разработке новых лекарственных средств именно ограничение по дозам является важнейшим фактором, лимитирующим применение кассетного метода в токсикологических экспериментах.

Сведения о фармако(токсико)кинетике необходимы не только при разработке новых препаратов, но и в клинических, химико-токсикологических, антидопинговых и других исследованиях, связанных с определением в биопробах биомаркеров хорошо известных соединений. Для многих химических веществ сведения о фармако(токсико)кинетике получены с использованием устаревших на сегодняшний день методов и нуждаются в радикальном пересмотре. В химико-токсикологическом анализе фармако(токсико)кинетические данные необходимы для прогноза полученной дозы лекарственного средства (токсиканта), которая далее может оцениваться как терапевтическая или токсическая, а также для уточнения других обстоятельств экспозиции человека токсичным веществом.

Важным разделом современных биоаналитических исследований является разработка методик для определения токсичных веществ или их метаболитов в биопробах в целях доказательной диагностики факта экспозиции человека этими соединениями. Принцип кассетного дозирования с учетом уже установленных ограничений следует, по нашему мнению, рассматри-

вать в качестве перспективного подхода при изучении кинетических характеристик химических веществ в биоаналитических экспериментах вне зависимости от того, потребностями какой отрасли они инициированы.

В качестве показательного примера могут быть рассмотрены эксперименты по изучению профилей экскреции метаболитов сернистого иприта и люизита при экспонировании животных люизитом и ипритно-люизитной смесью [51, 52]. В цитируемых работах исследованы профили метаболита люизита — хлорвиниларсонистой кислоты (ХВАК) в моче, плазме крови и эритроцитах после подкожного введения люизита и ипритно-люизитной смеси крысам. В эксперименте использовали 4 группы белых беспородных крыс со средней массой тела (270 ± 24) г по 12 особей в каждой: 1 группа животных получила люизит однократно подкожно в дозе 1,6 мг/кг, 2 группа — через 30 мин после введения люизита получила однократно унитиол (70 мкл/100 г в/м), 3 группа — однократно подкожно раствор ипритно-люизитной смеси (1:2) в дозе 1,6 мг/кг по люизиту, 4 группу составили контрольные животные, которым вводили раствор, содержащий все вспомогательные реагенты, за исключением ОВ и унитиола. Для определения содержания ХВАК в биопробах авторами [51, 52] разработана методика, основанная на дериватизации ХВАК 1,2-пропандитиолом с последующим отбором образующегося летучего производного из равновесного пара на микроволокно и термодесорбцией в хроматографическую колонку в инжекторе газового хроматографа. При масс-спектрометрической идентификации целевого вещества в режиме избранных ионов достигается высокая чувствительность определения ХВАК в моче (нижняя граница линейного диапазона методики 1 нг/мл), что обеспечивает возможность установления факта экспозиции люизитом через 2 мес и более после подострого отравления. Важно отметить, что согласно этой методике, отслеживается суммарная экскреция люизита и всех его метаболитов, поскольку под действием 1,2-пропандитиола происходит восстановление As(V) до As(III) и их циклизация с образованием одного и того же летучего производного. В цитируемых работах сделан акцент на оценку чувствительности и ретроспективности различных методик при обнаружении биомаркеров иприта и люизита в биопробах. Нами рассмотрены группы 1 и 3 крыс. В настоящей работе мы использовали первичные данные, полученные при апробации методики определения ХВАК в моче и не приводившиеся в предыдущих публикациях, для расчета токсикокинетических параметров экскреции люизита после введения крысам только люизита и ипритно-люизитной смеси. Сернистый иприт и люизит реализуют различные механизмы воздействия на организм, но первичные мишени воздействия для них одни и те же. Это сульфгидрильные группы. Таким образом, взаимное токсикокинетическое влияние иприта и люизита явилось неизбежным. В течение первых 48 ч после экспозиции экскреция люизита была более активной в случае интоксикации ипритно-люизитной сме-

Токсикокинетические параметры медленной фазы экскреции люизита у крыс

Параметр	Люизит		Ипритно-люизитная смесь	
	значение	стандартная ошибка	значение	стандартная ошибка
AUC_{6-77} , нг · сутки/мл	592	-	803	-
C_0 , нг/мл	26,6	2,5	39,3	3,4
K_e , ч ⁻¹	0,00140	0,00018	0,00167	0,00019

сью. Так, площадь под кривой экскреции люизита “концентрация — время” (AUC_{0-48}) в случае смеси иприта и люизита в 2 раза больше, чем в случае введения только люизита (рис. 2).

При введении ипритно-люизитной смеси активные сайты воздействия частично блокированы ипритом, поэтому люизит и ХВАК в меньшей степени конъюгированы с биомолекулами, активно перераспределяются в кровотоке и выводятся с мочой. Об этом можно судить по рис. 2: в максимуме концентрации (точка 6 ч) разница концентраций ХВАК при введении смеси люизита и иприта и введении только люизита достигает практически 100 %. Более активному выведению может способствовать и образование комплексов люизита или ХВАК с продуктом гидролиза иприта — тиодигликолем. Таким образом, при введении люизита в смеси (кассете) с ипритом профиль его экскреции существенно отличался от профиля, характерного для экспозиции одним люизитом в той же дозе. Однако по истечении 6 сут после экспозиции профили экскреции люизита при экспонировании крыс люизитом и ипритно-люизитной смесью практически совпадают (рис. 3).

Возможности ретроспективного обнаружения следов люизита в организме одинаковы в обоих сценариях эксперимента и составляют более 2 мес с момента экспозиции. В порядке обобщения можно предположить, что для соединений, способных к взаимодействию, правомерно говорить о достоверном токсикокинетическом кассетном скрининге при описании медленной фазы элиминации. Данное предположение подтверждается совпадением токсикокинетических параметров экскреции, рассчитанных для случая экспозиции только люизитом и ипритно-люизитной смесью, начиная с 6 сут с момента их введения крысам (таблица).

Представляется, что по мере накопления опыта, полученного при проведении сравнительных токсикокинетических исследований в режимах дискретного и кассетного дозирования, более четко будут обозначены границы возможного применения кассетных экспериментов, что послужит основой для выработки рекомендаций по уменьшению нежелательных эффектов, и доверие к кассетному дозированию при скрининговой оценке фармако(токсико)кинетических параметров будет возрастать.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. А. Меньшикова, И. Г. Печенкина, Н. С. Береза, *Разработка и регистрация лек. средств*, **1**(2), 62 – 64 (2013).
2. Р. У. Хабриев (ред.), *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, ОАО “Издательство “Медицина”, Москва (2005).
3. А. И. Миронов (глав. ред.), *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Часть 1, Гриф и К, Москва (2012), сс. 843 – 854.
4. F. Darvas, G. Keseru, A. Papp, et al., *Cur. Top. Med. Chem.*, **2**, 1287 – 1304 (2002).
5. V. K. Gombar, S. Silver, Z. Zhao, *Cur. Top. Med. Chem.*, **3**, 1205 – 1225 (2003).
6. J. Wang and S. Skolnik, *Chem. Biodivers*, **6**, 1887 – 1899 (2009).
7. W. Huisinga, R. Telgmann, and M. Wulkow, *Drug Discov. Today*, **11**, 800 – 805 (2006).
8. T. N. Thompson, *Cur. Drug Metab.*, **1**, 215 – 241 (2000).
9. D. B. Kassel, *Cur. Opin. Chem. Biol.*, **8**, 339 – 345 (2004).
10. J. Wang, L. Urban, and D. Bojanic, *Expert Opin. Drug Metab. Toxicol.*, **3**, 641 – 665 (2007).
11. H. Wan and A. G. Holmen, *Comb. Chem. High Throughput Screen.*, **12**, 315 – 329 (2009).
12. J. Wang, *Cur. Pharm. Des.*, **15**, 2195 – 2219 (2009).
13. Ch. Li, Bo Liu, J. Chang, et al., *Abstrs of the 17th ISSX Conference* (Atlanta, GA), (2011) Abstr. 295.
14. T. V. Olah, D. A. McLoughlin, and J. D. Gilbert, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 17 – 23 (1997).
15. B. S. Kuo, T. Noord, M. R. Feng, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **16**, 837 – 846 (1998).
16. Y. Hsieh, M. S. Bryant, J. M. Brisson, et al., *J. Chromatogr. B*, **767**, 353 – 362 (2002).
17. T. Bueters, J. Dahlstrom, K. Kvalvagnaes, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **55**, 1120 – 1126 (2011).
18. R. E. White and P. Manitisitkul, *Drug Metab. Dispos.*, **29**, 957 – 966 (2001).
19. P. Manitisitkul and R. E. White, *Drug Develop. Ther.*, **9**(15), 652 – 658, August (2004).
20. N. F. Smith, et al., *Mol. Cancer Ther.*, **6**, 428 – 440 (2007).
21. D. D. Christ, *Drug Metab. Dispos.*, **29**, 935 (2001).
22. S. Ekins, B. J. Ring, J. Grace, et al., *J. Pharmacol. Toxicol. Methods*, **44**, 313 (2000).
23. B. Testa, H. Waterbeend, G. Folkers and R. Guy, *Pharmacokinetic optimization in drug research*, Wiley, Zurich (2001).
24. J. Berman, K. Halm, K. Adkison, and J. Shaffer, *J. Med. Chem.*, **40**, 827 (1997).
25. T. V. Olah, D. A. McLoughlin, and J. D. Gilbert, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**, 17 (1997).
26. M. C. Allen, T. S. Shah, and W. W. Day, *Pharm. Res.*, **15**, 93 (1998).
27. L. W. Frick, K. L. Adkison, K. J. Wells-Knecht, and P. Woodland, *Pharm. Sci. Technol. Today*, **1**, 12 (1998).
28. Wu Jing-Tao, Zeng Hang, Qian Mingxin, et al., *Anal. Chem.*, **72**(1), 61 – 67 (2000).
29. L. Liang, C. Chi, M. Wright, et al., *Am. Biotech. Lab.*, **17**, 8 (1999).
30. F. Beaudry, J. C. Y. Le Blanc, M. Coutu, and N. K. Brown, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **12**, 1216 (1998).
31. L. W. Frick, K. Adkison, K. J. Wells-Knecht, and P. Woollard, *Pharmac. Sci. Technol. Today*, **1**(1), 12 – 18 (1998).
32. R. Huang, M. Qian, S. Chen, and P. Lodenquai, *Int. J. Mass Spectrometry*, **238**, 131 – 137 (2004).
33. N. Sadagopan, B. Pabst, and L. Cohena, *J. Chromatogr. B*, **820**, 59 – 67 (2005).
34. M. Jemal, Yuan-Qing, and B. Daisy Whigan, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **12**, 23 (1998).
35. R. Plumb, G. Dear, D. Mallett, and J. Ayrton, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **15**(12), 986 (2001).
36. Wu Jing-Tao, Zeng Hang, Deng Yuzhong, and E. Steve, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **15**(13), 1113 (2001).

37. John P. Allanson, Robert A. Biddlecombe, Anne E. Jones, and Stephen Pleasance, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **10**(7), 811 – 816 (1996).
38. J. Janiszewski, R. P. Schneider, K. Hoffmaster, and M. Swyden, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**(9), 1033 (1997).
39. H. Simpson, A. Berthemy, D. Buhrman, and R. Burton, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **12**(2), 75 – 82 (1998).
40. W. Korfmacher, K. A. Cox, K. J. Ng, and J. Veals, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **15**(5), 335 (2001).
41. T. V. Olah, D. McLoughlin, and J. Gilbert, *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, **11**(1), 17 – 23 (1997).
42. A. Boobisa, U. Gundert-Remyb, P. Kremersc, et al., *Eur. J. Pharm. Sci.*, **17**, 183 – 193 (2002).
43. D. D. Christ, *Drug Metab. Dispos.*, **29**, 935 (2001).
44. C. Li, Liu Bo, J. Chang, et al., *Drug Discovery Today*, **18**(1 – 2), 71 – 78 (2013).
45. Hartmut Stocker, Christian Herzmann, Antje Breske, et al., *J. Antimicrob. Chemother.*, **59**, 560 – 564 (2007).
46. L. W. Frick, K. K. Adkison, K. J. Wells-Knecht, et al., *Pharm. Sci. Technol. Today*, **1**, 12 – 18 (1998).
47. R. Nagilla, M. Nord, J. J. McAtee, and L. J. Jolivet, *J. Pharm. Sci.*, **100**(9), 3862 – 3874 (2011).
48. M. Y. Zhang, E. Kerns, O. McConnell, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **34**, 359 – 368 (2004).
49. Liu Xingrong, Ding Xiao, Deshmukh Gauri, et al., *Drug Metabol. Dispos.*, **40**(5), 963 – 969 (2012).
50. P. G. Welling, *Toxicol. Pathol.*, **23**(2), 143 – 147 (1995).
51. Н. Л. Корягина, Е. И. Савельева, Е. С. Уколова и др., *Токсикол. вестник*, № 3, 21 – 29 (2013).
52. N. L. Koryagina, E. S. Ukolova, E. I. Savel'eva, et al., *Spectroscopy*, **26**, 1 – 10 (2011).

Поступила 26.02.14

CASSETTE DOSING FOR OPTIMIZATION OF TOXICO(PHARMACO)KINETIC INVESTIGATIONS

E. I. Savel'eva*, P. N. Sorokoumov, O. I. Orlova, and N. L. Koryagina

Research Institute of Hygiene, Occupational Pathology and Human Ecology, Federal Medico-Biological Agency, Kapitollovo, Vsevolozhsk District, Leningrad Region, 188663 Russia;

* e-mail: gpech@fmbamail.ru

The necessity in screening assessment of the kinetic characteristics of pharmaceuticals at early stages of their development is substantiated. Advantages and limitations of the cassette dosing technique in pharmacokinetic studies are discussed. It is shown that the critical factors responsible for the reliability of pharmacokinetic parameters assessed by cassette dosing include the dose of a substance and the absence or presence of pharmaceutical interactions. Comparative analysis of the excretion parameters of lewisite after injection of lewisite and a sulfur mustard-lewisite mixture in laboratory animals was used to verify the hypothesis that toxicokinetic cassette screening is an adequate technique to describe a slow excretion phase of compounds capable of interacting with each other.

Keywords: cassette dosing; pharmacokinetics; toxicokinetics; pharmaceutical interactions.