

Арыстан Л.И.

ИЗУЧЕНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ЛЕУКОМИЗИНА

L.I. Arystan

THE STUDYING OF LEUCOMIZINE PHARMACOKINETICS

УДК:618.001(616-617).1

В статье приводятся результаты сравнительного изучения фармакокинетики и относительной биодоступности лактона леукомизина и его таблетированной лекарственной формы. Установлена высокая относительная биодоступность таблеток в сравнении с субстанцией.

Ключевые слова: *"лактон леукомизина, фармакокинетика, биодоступность."*

In article the results of comparative studying of pharmacokinetics and relative bioavailability of leucomizine lactone and its tablet dosage form are described. High relative bioavailability of tablets is established in comparison with active substance.

Key words: *leucomizine lactone, pharmacokinetics, bioavailability.*

Для выпуска экспортоориентированных приоритетных оригинальных лекарственных препаратов следует провести их доклиническое исследование в соответствии с принципами GLP. Одним из важнейших принципов данной практики является изучение фармакокинетики и фармакодинамики потенциальных лекарственных средств.

Исследование фармакокинетики представляется в настоящее время совершенно необходимым, поскольку процессы всасывания, распределения и элиминации фармакологических средств, происходящие с лекарственным веществом в организме, определяют терапевтическую эффективность и безопасность лекарственного препарата [1,2,3].

Знание фармакокинетических свойств фармакологического средства позволяет обосновать выбор путей и методов его введения, выявить ткани, в которые оно проникает наиболее интенсивно или в которых удерживается наиболее длительно, установить основные пути элиминации фармакологического средства. Фармакокинетические данные необходимы для установления зависимости «концентрация – эффект», которая характеризуется меньшими видовыми различиями, чем зависимость «доза-эффект» и поэтому может быть использована для прогнозирования действия фармакологического средства у человека.

Цель исследования: сравнительное изучение скорости всасывания и относительной биодоступности таблетированной лекарственной формы леукомизина (агеролид) в сравнении с его субстанцией.

Материалы и методы исследования:

Исследование проведено на 8 кроликах-самцах массой тела 2,95 - 2,99 кг, которым были присвоены соответствующие номера (табл. 1). Животные содержались в условиях лабораторного режима, на стандартной диете. За 12 часов до эксперимента животных лишали корма. В случайном порядке животным с помощью зонда внутрь вводили таблетки агеролида или субстанцию леукомизина в виде суспензии в 1% крахмальном клейстере, а затем, спустя семь дней - наоборот. Отбор плазмы крови производили

из ушной краевой вены в следующие дискретные интервалы времени: 0,0; 0,25; 0,5; 0,75; 1,0; 1,5; 2,0; 4,0; 8,0 и 12,0 часов.

Методика экстракции леукомизина из плазмы

Перед твердофазной экстракцией проводили осаждение белков с помощью специальных картриджей ISOLUTE PPT. В картридж предварительно вносили метанол в объеме 1 мл. После активации картриджа метанолом, через него фильтровали образцы плазмы (белки преципитировались на фильтрующем элементе). Очищенная от белков плазма использовалась для анализа. Для твердофазной экстракции леукомизина использовали патроны OASISHLB (30 мг, 1 мл). Процедура твердофазной экстракции была выполнена на аппарате TecknokromaVacElut в виде следующих этапов:

Кондиционирование картриджа метанолом (1 мл)

Уравновешивание сорбента водой (1 мл)

Загрузка картриджа 800-ми мкл образца плазмы

Промывка картриджа 1 мл воды

Элюирование аналита смесью ацетонитрил/метанол объемом 1 мл (90/10, v/v).

Элюат осушали под вакуумом при 50°C в роторном концентраторе Eppendorf. Сухой остаток перерастворяли в 100 мкл мобильной фазы и после перемешивания на вортексе при 20 s, полученные образцы центрифугировали при 20 000 g в течение 3 минут при комнатной температуре. Чистый надосадочный слой отбирали, помещали в микровials и 50 мкл пробы вносили в хроматографическую систему.

Условия хроматографирования:

Хроматографическое оборудование – хроматограф «SystemGold» фирмы BeckmanCoulter, оборудованный градиентным насосом постоянного давления SystemGold® 127 и спектрофотометрическим детектором SystemGold® 166. аналитическая колонка - монолитная хроматографическая колонка ChromolithRP-18e (150 mm * 4.6 mm); детектирование проводили при X - 260 нм. подвижная фаза -ацетонитрил: тетрагидрофуран: 0.01 М триэтиламин в H₂O (45:5:50 v/v); скорость потока подвижной фазы - 1,0 мл/мин. Продолжительность хроматографирования - 7-10 минут.

Хроматографирование проводили при комнатной температуре (20-22°C). Перед хроматографированием подвижную фазу фильтровали и дегазировали на ультразвуковой бане.

Количественное определение леукомизина проводили по отношению к площади внутреннему стандарту арглабина (растворы рабочих стандартных образцов готовили на плазме крови последовательным разведением матричного раствора леукомизина, во все образцы плазмы добавляли 10 мкл раствора внутреннего стандарта (арглабина) в метаноле с

концентрацией 10 мкг/мл, для получения конечной концентрации в плазме 1 мкг/мл. В этих условиях время удерживания арглабина составило 3,97 мин., леукомизина - 5,50 мин. На рис. 1 представлены демонстрационные хроматограммы. Установлено, что в диапазоне концентраций 20 - 1000 нг/мл калибровочная кривая линейна. Минимальная обнаруживаемая концентрация составила 5 нг/мл. Процент извлечения леукомизина составляет $91,5 \pm 1,21\%$ (среднее из 3 определений; см. табл. 2). Относительная ошибка метода для концентрации 50 нг/мл не превышала 9,82% (табл. 3). Основные фармакокинетические параметры рассчитаны модельно-независимым методом (программа «M-IND») [1]:

AUC_{0-t} (нг/млхч) - площадь под фармако- кинетической кривой (площадь под кривой концентрация лекарственного вещества - время) после перорального введения животным от 0 до последней дискретной точки; $AiCo_{\infty}$ (нг/млхч) - площадь под фармако- кинетической кривой (площадь под кривой концентрация лекарственного вещества - время) после перорального введения животным от 0 до бесконечности;

T_{max} (ч) - время достижения максимальной концентрации препарата в плазме крови; $Stax$ (нг/мл) - максимальная концентрация лекарственного вещества (ЛВ) в плазме крови; $Stax/AUC$ (ч⁻¹) - параметр, характеризующий скорость всасывания препарата в системный кровоток;

Результаты и обсуждение

В табл. 1 представлены дозы и план рандомизации введения препаратов животным.

MRT (ч) - среднее время пребывания ЛВ в организме;

$t_{1/2e}$ (ч) - период, за который выводится половина введенной и всосавшейся дозы ЛВ. f_0 – относительная биодоступность, рассчитывалась по формуле:

$f_0 = \frac{AUC_{Табл} \cdot D_{субст}}{AUC_{субст} \cdot D_{Табл}} \cdot 100\%$,
где $AUC_{Табл}$ - площадь под фармакокинетической кривой леукомизина после введения таблеток атеролида; $AUC_{субст}$ - площадь под фармакокинетической кривой леукомизина после его введения в виде субстанции; $D_{Табл}$ - доза леукомизина в таблетках атеролида; $D_{субст}$ - Д°за леукомизина в виде субстанции.

Статистическая обработка полученных результатов

Полученные экспериментальные данные были подвергнуты математической статистической обработке с помощью программы «Excel 7.0». В таблицах представлены средние арифметические значения величин (X), стандартные отклонения (SD), стандартная ошибка среднего арифметического

(S_x), коэффициент вариации ($C.V.$) Достоверность различий для сравниваемых фармакокинетических параметров оценивали с помощью критерия Стьюдента (программа «Statistica 6.0»),

Рисунки были выполнены с использованием графического редактора «Origin 7.0».

Таблица 1

Доза леукомизина, введенная с учетом массы кроликов и рандомизации животных

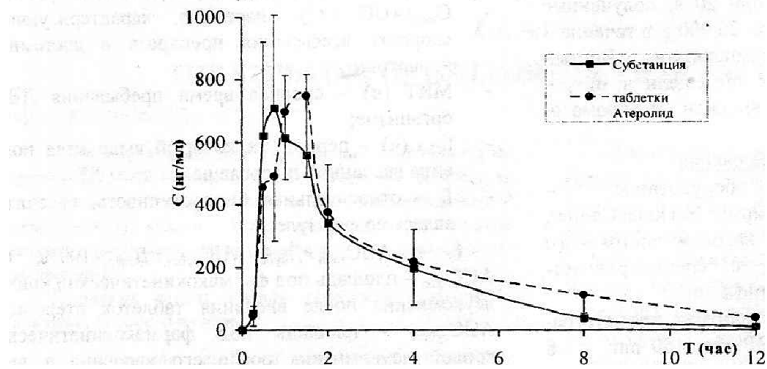
№№ п/п	Масса кроликов (кг)		Доза (мг/кг)		Рандомизация	
	Субстанция	Таблетки	Субстанция	Таблетки	Субстанция	Таблетки
1	2,9	3,1	10,34	9,68	1	2
2	3,0	3,1	10,00	9,68	1	2
3	2,9	2,8	10,34	10,71	2	1
4	3,2 -	3,2	9,38	9,38	2	1
5	3,1	3,3	9,68	9,09	1	2
6	2,7	2,8	11,11	10,71	1	2
7	3,0	2,9	10,00	10,34	2	1
8	2,8	2,7	10,71	11,11	2	1
X	2,95	2,99	10,20	10,09	-	-
SD	0,16	0,22	0,55	0,73	-	-
Sx	0,06	0,08	0,20	0,26	-	-
C.V.%	5,44	7,25	5,44	7,22	-	-

Рандомизация: 1 - введение препарата первым; 2 - введение препарата - вторым

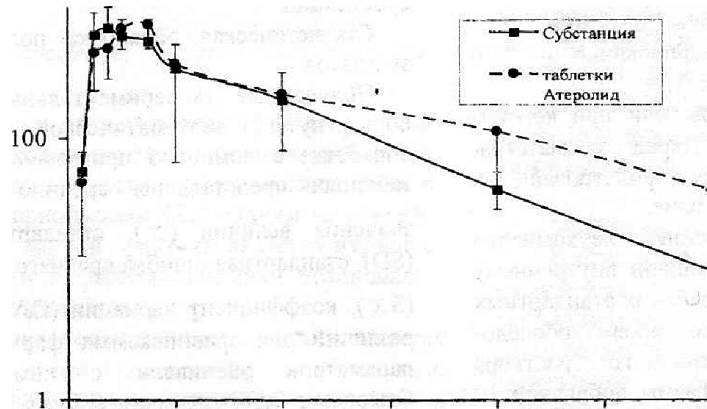
На рис. 1 представлены усредненные фармакокинетические кривые леукомизина, где исследуемое соединение определяется на протяжении 12 часов после его однократного перорального введения животным в виде субстанции и таблеток атеролида.

В табл. 4 и 5 представлены индивидуальные концентрации леукомизина в плазме крови животных после введения субстанции и таблеток препарата.

вотных после введения субстанции и таблеток препарата.



а)



б)

Рис.1 Кинетические кривые леукомизина в плазме крови кроликов после его перорального введения в виде субстанции в дозах $10,2 \pm 0,55$ мг/кг и таблеток атеролида в дозах $10,1 \pm 0,73$ мг/кг (а- натуральная шкала; б - полулогарифмическая шкала).

Таблица 4

Концентрации леукомизина (нг/мл) в плазме крови кроликов после перорального введения субстанции в дозе $534,6 \pm 40,2$ мг/кг

№№ п/п	Время, час									
	0,0	0,25	0,5	0,75	1,0	1,5	2,0	4,0	8,0	12,0
1	0,0	41,7	522,7	466,7	345,4	271,0	194,5	85,9	35,4	7,3
2	0,0	72,8	232,4	841,4	691,8	707,2	428,2	142,3	52,2	11,4
3	0,0	97,5	692,4	1071,3	907,7	841,6	471,0	227,4	48,1	14,5
4	0,0	22,1	405,8	317,7	345,4	231,3	105,7	50,5	15,9	2,8
5	0,0	63,2	1243,2	1073,5	731,8	831,0	507,9	407,6	60,7	18,2
6	0,0	49,4	517,7	907,4	717,8	784,5	617,7	342,1	38,6	9,3
7	0,0	58,6	735,6	531,2	673,2	428,9	219,9	212,8	44,9	8,8
8	0,0	34,0	616,9	448,1	495,2	377,4	208,0	111,5	28,2	4,7
X	0,0	54,9	620,8	707,2	613,5	559,1	344,1	197,5	40,5	9,6
SD	0,0	23,7	298,3	300,6	199,6	258,3	184,4	125,7	14,2	5,0
S X	0,0	8,4	105,4	106,2	70,5	91,3	65,2	44,4	5,0	1,8
C.V.%	0,0	43,2	48,1	42,5	32,5	46,2	53,6	63,7	35,0	52,3

Таблица 5

Концентрации леукомизина (нг/мл) в плазме крови кроликов после перорального введения таблеток атеролида в дозе $107,3 \pm 8,4$ мг/кг.

№№ п/п	Время, час									
	0,0	0,25	0,5	0,75	1,0	1,5	2,0	4,0	8,0	12,0
1	0,0	32,1	327,9	341,6	514,8	638,7	96,7	98,4	51,7	22,0
2	0,0	50,7	421,6	498,4	624,2	734,8	327,9	156,7	73,2	46,5
3	0,0	112,4	787,6	831,3	846,6	607,9	437,6	341,6	187,6	57,9
4	0,0	7,8	297,4	224,5	446,8	529,6	91,4	48,3	24,8	12,1
5	0,0	43,2	531,4	511,1	834,4	953,2	1048,7	396,8	275,2	72,1

6	0,0	71,4	773,5	721,7	989,6	1284,6	477,1	362,3	147,8	32,0
7	0,0	29,8	310,5	496,1	877,2	711,0	404,4	261,1	98,4	51,4
8	0,0	18,7	194,5	303,5	437,3	517,4	142,8	86,5	48,8	23,4
X	0,0	45,8	455,6	491,0	696,4	747,2	378,3	219,0	113,4	39,7
SD	0,0	33,3	223,2	206,3	216,4	257,5	312,4	138,4	85,0	20,6
S X	0,0	11,8	78,9	72,9	76,5	91,0	110,4	48,9	30,0	7,3
C.V.%	0,0	72,7	49,0	42,0	31,1	34,5	82,6	63,2	74,9	51,9

Таблица 6

Фармакокинетические параметры леукомизина у кроликов после его однократного перорального введения в виде субстанции

п/п	Фармакокинетические параметры						
	AUC _{0-∞} нг/млхч	AUC _{0-w} нг/млхч	t _{max} час	C _{max} нг/мл	C _{max} /AUC _{0-∞} ч ⁻¹	MRT час	Ti/2el час
1	1179,825	1187,886	0,50	522,700	0,44303	3,170	0,83
2	2093,425	2109,015	0,75	841,400	0,40193	3,114	1,17
3	2718,838	2741,141	0,75	1071,300	0,39403	3,004	1,05
4	784,400	790,233	0,50	405,800	0,51734	2,698	0,78
5	3421,775	3466,388	0,50	1243,200	0,36332	3,349	1,63
6	3001,475	3022,161	0,75	907,400	0,30232	3,267	1,50
7	1908,725	1925,453	0,50	735,600	0,38539	3,333	1,16
8	1365,850	1373,318	0,50	616,900	0,45166	2,957	0,89
X	2059,3	2076,9	0,59	793,0	0,407	3,112	1,13
SD	932,2	943,4	0,13	281,0	0,064	0,220	0,31
Sx	329,4	333,4	0,05	99,3	0,023	0,078	0,11
C.V.%	45,3	45,4	21,8	35,4	15,8	7,1	27,4

Таблица 7

Фармакокинетические параметры леукомизина у кроликов после его однократного перорального введения таблеток атеролида

№№ п/п	Фармакокинетические параметры						
	AUC _{0-M} нг/млхч	AUC _{Q-WJ} нг/млхч	t _{max} час	C _{max} нг/мл	C _{max} /AUC _{0-∞} ч ⁻¹	MRT час	Ti/2el час
1	1354,675	1390,485	1,50	638,700	0,47148	3,474	1,11
2	2109,925	2193,514	1,50	734,800	0,34826	3,656	1,21
3	3492,250	3682,268	1,00	846,600	0,24242	4,256	2,22
4	947,325	964,698	1,50	529,600	0,55905	2,892	1,03
5	4807,200	5026,437	2,00	1048,700	0,21815	4,376	2,12
6	3743,525	3808,945	1,50	1284,600	0,34315	3,756	1,41
7	2678,750	2796,400	1,00	877,200	0,32747	3,927	1,64
8	1231,863	1275,344	1,50	517,400	0,42001	3,631	1,26
X	2545,7	2642,3	1,44	809,7	0,366	3,746	1,50
SD	1381,1	1444,3	0,32	263,8	0,114	0,465	0,45
Sx	488,0	510,3	0,11	93,2	0,040	0,164	0,16
c.v.%	54,3	54,7	22,3	32,6	31,1	12,4	30,3

В табл. 6 и 7 и представлены фармакокинетические параметры леукомизина у кроликов после введения исследуемых лекарственных форм.

Сравнительный анализ основных фармакокинетических параметров (табл. 6 и 7) леукомизина показал, что изучаемое соединение всасывается из ЖКТ с различной скоростью. Так, субстанция леукомизина

всасывается из ЖКТ в 1,1 раза быстрее, чем при введении таблеток (C_{max}/AUC_{0-∞} - для субстанции 0,407 ± 0,064; для таблетки- 0,366 ± 0,114 ч⁻¹). При этом время достижения максимальной концентрации (t_{max}) составило в среднем для субстанции - 0,59 ± 0,13 и для таблеток - 1,44 ± 0,32 час. То есть, леукомизин из таблеток всасывается в 2,4 раза медленнее,

чем при введении препарата в виде субстанции. В случае введения леукомизина в виде таблеток препарат в 1,2 раза (T_{1/2}) и 1,3 раза (MRT) дольше

выводится из организма по сравнению с субстанцией препарата.

Таблица 8

Относительная биодоступность таблеток атеролида с учетом AUC_{0-∞}

№№ п/п	Таблетки атеролида		Субстанция		Биодоступность ^таблетки/ субст °п анция/о
	AUC _{0-∞}	Доза	AUC _{0-∞}	Доза	
1	1390,485	9,68	1187,886	10,34	125,0
2	2193,514	9,68	2109,015	10,00	107,4
3	3682,268	10,71	2741,141	10,34	129,7
4	964,698	9,38	790,233	9,38	122,1
5	5026,437	9,09	3466,388	9,68	154,4
6	3808,945	10,71	3022,161	11,11	130,7
7	2796,400	10,34	1925,453	10,00	140,5
8	1275,344	11,11	1373,318	10,71	89,5
X	2642,3	10,1	2076,9	10,2	124,9
SD	1444,3	0,7	943,4	0,6	19,8
Sx	510,3	0,3	333,4	0,2	7,0
C.V.%	54,7	7,2	45,4	5,4	15,8

Таблица 9

Относительная биодоступность таблеток атеролида с учетом AUC_{0-t}

№№ п/п	Таблетки атеролида		Субстанция		Биодоступность таблетки/ субстанция
	AUC _{0-t}	Доза	AUC _{0-t}	Доза	
1	1354,675	9,68	1179,825	10,34	122,6
2	2109,925	9,68	2093,425	10,00	104,1
3	3492,250	10,71	2718,838	10,34	124,0
4	947,325	9,38	784,400	9,38	120,8

5	4807,200	9,09	3421,775	9,68	149,6
6	3743,525	10,71	3001,475	11,11	129,4
7	2678,750	10,34	1908,725	10,00	135,7
8	1231,863	11,11	1365,850	10,71	86,9
X	2545,7	10,1	2059,3	10,2	121,6
SD	1381,1	0,7	932,2	0,6	19,1
Sx	488,0	0,3	329,4	0,2	6,8
C.V.%	54,3	7,2	45,3	5,4	15,7

Относительная биологическая доступность (f) леукомизина (табл. 8, 9), определяемая отношением индивидуальных значений AUC_h доз составляет для таблеток по отношению к субстанции в среднем 124,9 ± 19,8 % (экстраполяция до бесконечности - AUC_{0-∞}) и 121,6 ± 19,1 % (экстраполяция до 12 часов - AUC_{0-t}). Таким образом, выявлена высокая относительная биологическая доступность леукомизина из таблеток атеролида по сравнению с его субстанцией.

Выводы:

1. Разработана высокочувствительная методика количественного определения леукомизина в биологическом материале на основе ВЭЖХ.
2. Выявлена высокая относительная биодоступность леукомизина в сравнении с субстанцией (122-125 %).

Список использованных источников:

1. Головкин В.А. Влияние лекарственной формы и путей введения препаратов на их фармакокинетику и биодоступность / В.А. Головкин //Врачебное дело.-1987, №11.-С.85-90.
2. Кулес В.Г. Клиническая фармакология /В.Г. Кулес.-М: ГЭОТАР-МЕД, 2004.-2004.-936 с.-ISBN 5-9231-0401-6.
3. Соловьев В.Н. Фармакокинетика /В.Н. Соловьев, А.А. Фирсов. - М.: Медицина, 1980.-424 с.

Рецензент: д.м.н., профессор Мусаев А.И.