

А. А. Прокопов, А. С. Берлянд, О. Н. Казанцева

**ИССЛЕДОВАНИЕ БИОДОСТУПНОСТИ БИКАРЭТА
В ЭКСПЕРИМЕНТАХ “in vitro” и “in vivo”**

Московский государственный медико-стоматологический университет

Биодоступность является важной характеристикой лекарственных препаратов, так как позволяет выбирать оптимальные пути введения лекарственных средств и целенаправленно создавать для них наиболее эффективные лекарственные формы.

Целью настоящей работы является определение биодоступности транквилизатора бикарэт — (2,4,6,8-тетраэтил-2,4,6,8-тетраазабицикло[3.3.0]октандиона-3,7) [1] — в экспериментах “in vivo” и “in vitro”. В качестве теста биодоступности бикарэта в эксперименте “in vitro” использовали определение скорости и степени высвобождения действующего вещества из таблеток. Исследование абсолютной биодоступности бикарэта в эксперименте “in vivo” проводили путём изучения фармакокинетики субстанции и таблеток препарата при внутривенном и пероральных способах введения.

Определение скорости высвобождения бикарэта из таблеток в эксперименте “in vitro”.

Динамику и полноту высвобождения из таблеток по 0,15 г в воду и 0,1 н. НС1 определяли с помощью комплекса “Dissolutest” (фирма Prolabo, Франция) с автоматическим сканирующим спектрофотометром SE 599 Cecil (Англия), данные обрабатывали на РС Apple ПС (США).

Для предварительного изучения УФ-спектры бикарэта снимали на УФ-спектрометре Hewlett-Packard 8451 (США), $d = 10$ мм, в качестве раствора сравнения использовали среду растворения. УФ-спектр бикарэта в воде имеет максимум при 199 нм (концентрация 0,104 мг/мл, $\lg \epsilon_{\text{мол}} = 3,8567$), а в 0,1 н. НС1 максимум при 203 нм (концентрация 0,1 мг/мл, $\lg \epsilon_{\text{мол}} = 3,7821$).

В качестве рабочей выбрали длину волны 213 нм для обеих сред растворения, кюветы проточные (10 мм), измерение поглощения непрерывное с циклом 1 мин, латентное время $t_0 = 72$ с.

Как было показано [2], динамика концентрации бикарэта в плазме крови крыс описывается уравнением первого порядка. Выбранные условия эксперимента при изучении высвобождения действующего начала из таблеток бикарэта (объём среды растворения одной таблетки 900 мл, температура 37°C, скорость вращения мешалки 100 об/мин) обеспечивают протекание процессов высвобождения также по первому порядку, при этом условия существенно возрастает возможность установления корреляции между биодоступностью “in vitro” и “in vivo” [3]. На рис. 1 представлена динамика высвобождения бикарэта из таблеток (кривая описывает процесс для обеих сред растворения).

Практически совпадающие результаты, полученные при высвобождении в воду и в 0,1 н. НС1 (по 5 парал-

ельных опытов), вполне согласуются с хорошей растворимостью субстанции в этих растворителях и указывают на высокую скорость перехода активного вещества в раствор — практически во всех случаях в пределах 10 мин наблюдается 90 % высвобождение действующего вещества.

Для количественного анализа динамики высвобождения бикарэта из таблеток использовали “экспоненциальную” модель, согласно которой доля высвободившегося действующего вещества (f , в % от дозы) зависит от времени в соответствии с уравнением:

$$\ln\left(1 - \frac{f}{100}\right) = -K_s(t - t_0) + a,$$

где K_s — константа скорости высвобождения, мин^{-1} , t_0 — латентный период, мин.

Уравнение кинетики высвобождения бикарэта, рассчитанное с помощью метода наименьших квадратов, имеет вид:

$$\ln\left(1 - \frac{f}{100}\right) = -0,26(t - t_0) + 0,61.$$

Оценку степени высвобождения бикарэта из таблеток можно проводить как по уравнению, так и по соответствующему графику (рис. 2).

Довольно высокое значение константы скорости высвобождения бикарэта из таблеток $K_s = 0,26 \text{ мин}^{-1}$, тем не менее, несколько ниже, чем у структурно близких препаратов — альбикара ($K_s = 0,71 \text{ мин}^{-1}$) [4] и мебикара ($K_s = 0,48 \text{ мин}^{-1}$) [5], что связано, вероятно, с большей гидрофобностью молекулы бикарэта.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о высокой скорости высвобождения бикарэта из таблеток в эксперименте “in vitro”.

Изучение абсолютной биодоступности субстанции и таблеток бикарэта в эксперименте “in vivo” на кроликах.

Кроликам массой 2,5 – 3,0 кг вводили внутривенно и перорально через зонд водный раствор субстанции бикарэта и таблетки бикарэта 0,15 г в дозе 100 мг/кг. Через определённые промежутки времени после введения отбирали кровь из вены в гепаринизированные пробирки и определяли концентрацию бикарэта в плазме крови по описанной методике [2].

Динамика концентрации бикарэта в плазме крови кроликов в зависимости от времени после внутривенного введения препарата, представленная в табл. 1 и на рис. 3, удовлетворительно описывается в рамках двухчастевой модели биэкспоненциальным уравнением:

$$C_t = 96,4 \cdot e^{-3,29t} + 104,0 \cdot e^{-0,14t}.$$

Таблица 1
Динамика концентрации бикарэта в плазме крови кроликов после внутривенного введения в дозе 100 мг/кг

Время после введения, ч	Содержание бикарэта в 1 мл плазмы крови		Отклонение, %
	Определено в эксперименте	Рассчитано по уравнению	
0,083	173,5 ± 10,11	176,0	1,4
0,25	141,7 ± 3,02	142,6	0,6
0,5	117,8 ± 1,98	115,4	-2,0
0,75	95,5 ± 3,64	101,6	6,4
1,0	89,8 ± 2,89	93,9	4,5
2,0	80,5 ± 2,24	78,6	-2,4
4,0	62,8 ± 3,01	59,4	-6,6
6,0	49,0 ± 2,35	44,9	-6,4
8,0	32,9 ± 0,75	33,9	3,0
12,0	19,7 ± 0,62	19,4	-1,5

Значения фармакокинетических параметров после внутривенного введения бикарэта представлены в табл. 2.

В организме кроликов при внутривенном введении бикарэту свойственно такое же быстрое распределение по органам и тканям, как и в организме крыс (период полураспределения $t_{1/2,\alpha} = 0,21$ ч, т.е. 12,59 мин) и более медленная элиминация ($t_{1/2,\beta} = 4,96$ ч) по сравнению с крысами ($t_{1/2,\alpha} = 3,01$ ч) [2].

Поскольку элиминация бикарэта из организма кроликов замедлена, следовательно, уменьшилась и величина общего клиренса: $Cl_t = 2,16$ мл/мин · кг.

Высокие значения кажущегося объёма распределения в центральной камере ($V_1 = 0,499 \pm 0,028$ л/кг) и стационарного объёма распределения

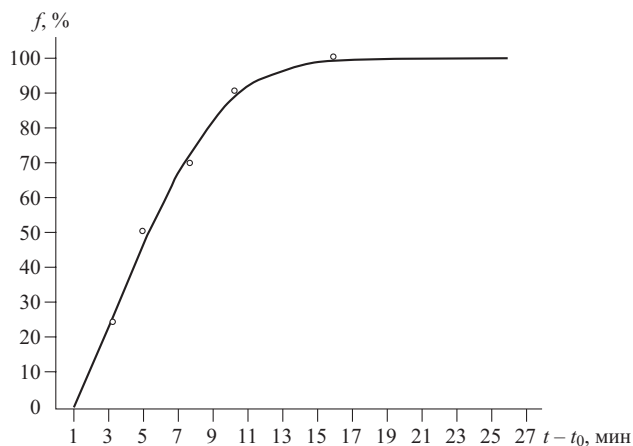


Рис. 1. Динамика высвобождения бикарэта из таблеток

($V_{SS} = 0,893 \pm 0,019$ л/кг) свидетельствует об интенсивном захвате бикарэта тканями и у этих животных.

Такой информативный параметр для оценки абсолютной биодоступности таблеток бикарэта, как площадь под фармакокинетической кривой “концентрация – время” составляет 772,0 мкг · ч/мл.

Динамика концентрации бикарэта в плазме крови кроликов после перорального введения субстанции и таблеток препарата в дозе 100 мг/кг в зависимости от времени представлена в табл. 3 и на рис. 4, а параметры фармакокинетики — в табл. 4.

Наблюдаемая динамика концентрации бикарэта в плазме крови кроликов после введения субстанции и таблеток удовлетворительно описывается уравнением одночастевой модели с учётом всасывания:

$$C_t = A \cdot e^{-k_{эл}[T-T(lag)]} - e^{-k_{01}[T-T(lag)]},$$

где $T(lag)$ — латентное время всасывания, ч.

Таблица 2
Параметры фармакокинетики бикарэта у кроликов при внутривенном введении препарата в дозе 100 мг/кг

Фармакокинетический параметр	Обозначение	Размерность	Величина	Относительная стандартная ошибка в % от средней величины
Предэкспоненциальный коэффициент	A	мкг/мл	96,4 ± 10,8	11,0
Константа скорости	α	ч ⁻¹	3,29 ± 0,44	13,0
Предэкспоненциальный коэффициент	B	мкг/мл	104,0 ± 3,0	2,7
Константа скорости	β	ч ⁻¹	0,140 ± 0,004	2,6
Период полубсорбции	$t_{1/2, \alpha}$	ч	0,210 ± 0,029	14,0
Период полуэлиминации	$t_{1/2, \beta}$	ч	4,96 ± 0,13	2,6
Начальная концентрация	C_0	мкг/мл	200,0 ± 11,0	5,6
Среднее время удержания	MRT	ч	6,89 ± 0,17	2,4
Константа скорости переноса из центральной камеры в периферическую	k_{12}	ч ⁻¹	1,40 ± 0,26	18,0
Константа скорости переноса из периферической камеры в центральную	k_{21}	ч ⁻¹	1,78 ± 0,20	11,0
Константа скорости элиминации	$k_{эл}$	ч ⁻¹	0,259 ± 0,015	5,6
Общий клиренс	Cl_t	мл/мин · кг	2,16 ± 0,03	1,3
Объём распределения в центральной камере	V_1	л/кг	0,499 ± 0,028	5,6
Стационарный объём распределения	V_{SS}	л/кг	0,893 ± 0,019	2,1
Площадь под кривой “концентрация – время”	$AUC_{0-\infty}$	мкг · ч/мл	772,0 ± 10,0	1,3

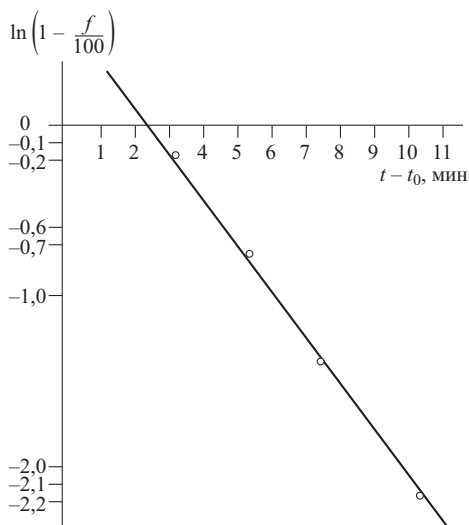


Рис. 2. Динамика высвобождения бикарэта из таблеток (в полулогарифмических координатах)

Для субстанции:

$$C_t = 55,9 \cdot (e^{-0,162(T-0,127)} - e^{-2,58(T-0,127)}),$$

$$\text{для таблеток: } C_t = 47,0 \cdot (e^{-0,158(T-0,04)} - e^{-1,68(T-0,04)}).$$

При пероральном введении субстанции и таблеток бикарэт быстро всасывается: максимальная концентрация в крови достигается через 1,27 ч в случае введения субстанции и через 1,59 ч в случае таблеток.

Стационарный объём распределения бикарэта у кроликов значительно превышает объём внеклеточной жидкости, что свидетельствует об интенсивном захвате его органами.

При внесосудистых способах введения бикарэт несколько медленнее элиминирует из организма кроликов, чем из организма крыс.

Полученные данные дают основание полагать, что имеет место межвидовая вариабельность фармакокинетических параметров бикарэта при переходе от мелких к крупным животным, а именно, отмечается более медленная элиминация бикарэта в организме кроликов

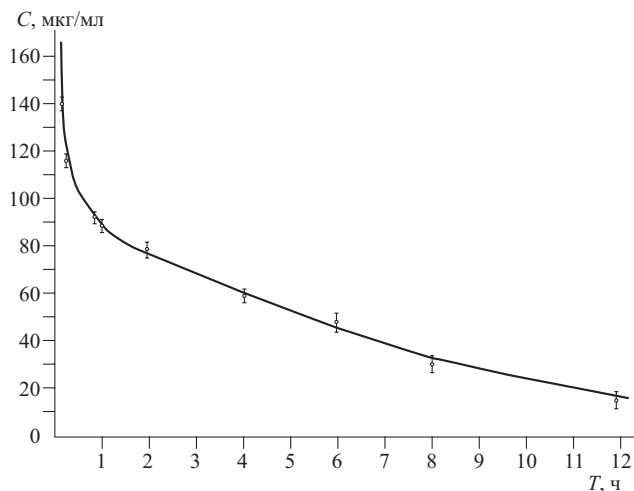


Рис. 3. Динамика концентрации бикарэта в плазме крови кроликов после внутривенного введения в дозе 100 мг/кг

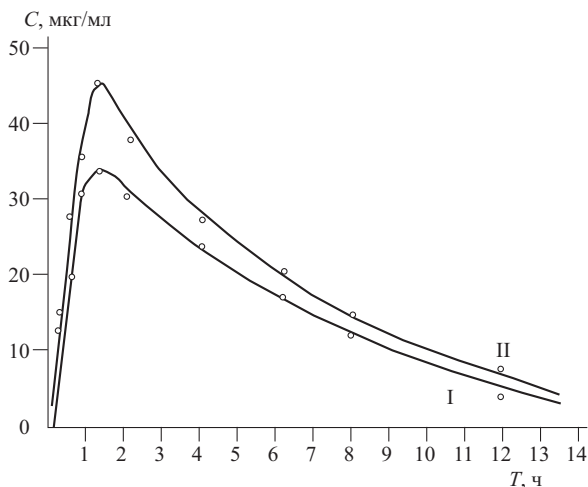


Рис. 4. Динамика концентрации бикарэта в плазме крови кроликов после перорального введения субстанции (I) и таблеток (II) в дозе 100 мг/кг

Таблица 3
Динамика концентрации бикарэта в плазме крови кроликов в зависимости от времени после перорального введения субстанции и таблеток в дозе 100 мг/кг

Время после введения, ч	Содержание бикарэта в 1 мл плазмы крови, мкг/мл					
	Субстанция			Таблетки		
	Практически	Теоретически	Отклонение, %	Практически	Теоретически	Отклонение, %
0,25	15,91 ± 2,59	14,14	-11,1	12,49 ± 0,20	12,48	-0,1
0,50	29,57 ± 1,50	31,28	5,8	20,19 ± 1,60	22,18	9,8
0,75	36,91 ± 5,40	39,32	6,5	30,19 ± 3,50	28,01	-7,2
1,0	45,92 ± 1,70	42,63	-7,2	34,82 ± 2,78	31,31	-10,1
2,0	39,31 ± 1,52	40,79	3,8	32,42 ± 3,24	33,07	2,0
4,0	27,74 ± 3,10	29,81	7,5	25,20 ± 0,90	25,35	0,6
6,0	22,56 ± 1,60	21,56	-4,4	18,10 ± 2,46	18,53	2,4
8,0	15,10 ± 2,20	15,59	3,3	14,80 ± 3,57	13,52	-8,7
12,00	8,20 ± 0,92	8,16	-0,5	7,20 ± 0,23	7,19	-0,1

Параметры фармакокинетики у кроликов при пероральном введении субстанции и таблеток бикарэта в дозе 100 мг/кг

Фармакокинетические параметры	Обозначение	Размерность	Величина		Относительная стандартная ошибка в % от средней величины	
			Субстанция	Таблетки	Субстанция	Таблетки
Предэкспоненциальный коэффициент	A	мкг/мл	55,9 ± 2,8	47,0 ± 2,7	5,1	5,6
Константа скорости элиминации	$K_{эл}$	ч ⁻¹	0,162 ± 0,010	0,158 ± 0,006	6,4	3,8
Константа скорости абсорбции	K_{01}	ч ⁻¹	2,58 ± 0,39	1,68 ± 0,27	15,0	16,0
Период ролуэлиминации	$t_{1/2,β}$	ч	4,28 ± 0,27	4,40 ± 0,17	6,4	3,8
Период полубабсорбции	$t_{1/2,α}$	ч	0,268 ± 0,040	0,410 ± 0,068	15,0	16,0
Время задержки всасывания	$T(lag)$	ч	0,127 ± 0,038	0,04 0 ± 0,032	30,0	76,0
Максимальная концентрация	C_{max}	мкг/мл	43,5 ± 1,1	33,6 ± 1,2	2,6	3,6
Время достижения максимальной концентрации	T_{max}	ч	1,27 ± 0,09	1,59 ± 0,13	6,9	8,2
Начальная концентрация	C_0	мкг/мл	52,3 ± 2,1	43,0 ± 1,80	4,0	4,3
Общий клиренс	$Cl_{1/F}$	мл/мин · кг	5,16 ± 0,20	6,12 ± 0,13	4,3	2,1
Объём распределения	$V_{1/F}$	л/кг	1,91 ± 0,08	2,33 ± 0,10	4,0	4,3
Стационарный объём распределения	$V_{SS/F}$	л/кг	2,07 ± 0,07	2,56 ± 0,09	3,2	3,6
Площадь под кривой	AUC	мкг · ч/мл	332,0 ± 14,0	273,0 ± 6,0	4,3	2,1

по сравнению с элиминацией у крыс. Рассчитанные площади под фармакокинетическими кривыми позволили оценить абсолютную степень биодоступности субстанции и таблеток бикарэта.

Абсолютная степень биодоступности для субстанции бикарэта при пероральном введении, рассчитанная как отношение площади под кривой концентрации препарата в плазме крови при пероральном введении к площади под кривой при внутривенном введении, составляет 43,01 %, а для таблеток бикарэта при пероральном введении 35,36 %.

Относительно низкая биодоступность субстанции и таблеток бикарэта у кроликов так же, как и у крыс, связана, на наш взгляд, с пресистемным метаболизмом лекарственного средства, причём у кроликов метаболизм бикарэта протекает интенсивнее.

Несмотря на то, что скорость всасывания бикарэта при пероральном введении таблеток высока, можно предположить, что для процесса всасывания препара-

та в желудочно-кишечном тракте лимитирующей стадией является прохождение вещества через липидные мембраны, а не скорость его высвобождения из таблеток, учитывая, что эта стадия протекает с очень большой скоростью. Вместе с тем, имеется определённая корреляция между высокой скоростью высвобождения бикарэта из таблеток и его быстрым всасыванием из желудочно-кишечного тракта.

ЛИТЕРАТУРА

1. И. Е. Зимакова, *Автореф. дис. д-ра мед. наук.*, Казань (1978).
2. А. А. Прокопов, А. С. Берлянд, О. Н. Казанцева, *Хим.-фарм. журн.*, **37**(3), 25 – 28 (2003).
3. А. А. Прокопов, А. С. Берлянд, С. С. Спектор и др., *“Биодоступность транквилизатора ТЭП в опытах “in vitro”*”, Деп. в ВНИИМИ МЗ СССР № Д-20538, Москва (1990).
4. А. А. Прокопов, Н. В. Костебелов, А. С. Берлянд, *Хим.-фарм. журн.*, **36**(3), 13 – 16 (2002).
5. А. А. Прокопов, А. С. Берлянд, С. С. Спектор, А. З. Книжник, *Фармация*, № 4, 57 – 58 (1989).

Поступила 03.10.02