

Молекулярно-биологические проблемы создания лекарственных средств и изучение механизма их действия

© Коллектив авторов, 2006

А. А. Прокопов, Л. В. Шукиль, А. С. Берлянд

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОДОСТУПНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ ФЕНОЗАН-КИСЛОТЫ

Московский государственный медико-стоматологический университет

Изучена биодоступность в опытах *in vitro* и *in vivo* (на кроликах) двух лекарственных форм — таблеток и свечей — препарата антиоксидантного действия фенозан-кислоты. Полное высвобождение фенозан-кислоты из таблеток в опытах *in vitro* происходит за 45 мин, а 75 % действующего начала высвобождается за 21 мин. Абсолютная биодоступность таблеток и свечей фенозан-кислоты в опытах *in vivo* составляет соответственно 46,8 и 51,4 %.

Фенозан-кислота (4-гидрокси-3,5-ди-*трет*-бутил-фенилпропионовая кислота) (ФК) обладает всеми свойствами классических биоантиоксидантов, в том числе и высокой мембранотропностью при весьма малой токсичности [1].

Целью настоящей работы является изучение биодоступности лекарственных форм ФК — таблеток и свечей. В работе использовали таблетки ФК по 0,1 г (вспомогательные вещества: крахмал и стеарат кальция) и свечи ФК по 0,2 г. Для исследования биодоступности таблеток и свечей ФК в эксперименте *in vivo* использовали кроликов-самцов массой $2,0 \pm 0,2$ кг ($n = 5$) при введении таблеток и свечей ФК в дозе 100 мг/кг. Количественное определение ФК в плазме крови кроликов проводили методом хромато-масс-спектрометрии [2]. Расчет фармакокинетических параметров ФК у кроликов выполняли с помощью автоматизированных программ моделирования фармакокинетических процессов (АСПИД) [3].

Исследование биодоступности таблеток ФК в эксперименте *in vitro* осуществляли с помощью комплекса “Dissolutest” (Prolabo, Франция) с автоматическим

сканирующим спектрофотометром CE 599 (Cecil, Англия). Оптическую плотность водно-спиртовых растворов измеряли при $\lambda_{\max} = 258 \pm 2$ нм в проточных кюветах с толщиной слоя 1 см. Измерения проводили каждые 3 мин.

Исследование биодоступности таблеток ФК в экспериментах *in vivo*

В табл. 1 и на рис. 1 представлена динамика концентраций ФК в плазме крови кроликов после введения таблеток.

Таблица 2
Фармакокинетические параметры ФК при введении таблеток кроликам

Параметр	Обозначение	Размерность	Величина	ϵ , %
Среднее время удерживания	MRT	ч	$13,6 \pm 2,4$	18
Время полураспределения	$T_{1/2,\alpha}$	ч	$0,543 \pm 0,133$	25
Время полувыведения	$T_{1/2,\beta}$	ч	$8,87 \pm 1,73$	20
Время достижения максимальной концентрации	T_{\max}	ч	$2,33 \pm 0,34$	14
Константа скорости абсорбции	$K_{\text{абс}}$	ч^{-1}	$1,28 \pm 0,29$	23
Константа скорости элиминации	$K_{\text{эл}}$	ч^{-1}	$0,078 \pm 0,015$	19
Предэкспоненциальный коэффициент	A	мкг/мл	$2,12 \pm 0,30$	14
Максимальная концентрация	C_{\max}	мкг/мл	$1,65 \pm 0,14$	8,2
Начальная концентрация	C_0	мкг/мл	$1,99 \pm 0,24$	12
Общий клиренс	$Cl_{T/f}$	мл/мин · кг	$65,6 \pm 9,5$	15
Объем распределения	$V_{1/f}$	л/кг	$50,4 \pm 6,2$	12
Площадь под кривой	AUC	мкг · ч/мл	$25,4 \pm 3,7$	15
Абсолютная биодоступность	F	%	46,8	

Таблица 1
Динамика концентрации ФК в плазме крови кроликов после введения таблеток

Время после введения, ч	Концентрация фенозан-кислоты, мкг/мл	
	Экспериментально	Расчет по модели
0,25	$0,550 \pm 0,300$	0,537
0,5	$0,890 \pm 0,120$	0,916
0,75	$1,110 \pm 0,200$	1,182
1,0	$1,410 \pm 0,120$	1,365
2,0	$1,708 \pm 0,400$	1,644
4,0	$1,490 \pm 0,200$	1,534
8,0	$1,130 \pm 0,310$	1,132
16,0	$0,540 \pm 0,210$	0,605
24,0	$0,350 \pm 0,110$	0,324

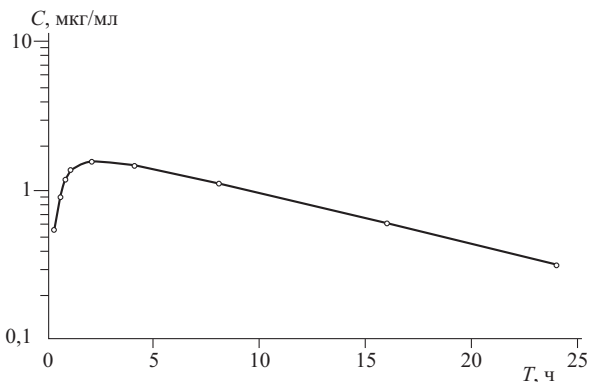


Рис. 1. Динамика концентрации ФК в плазме крови кроликов после приема таблеток в дозе 100 мг/кг

Динамика концентраций ФК в плазме крови кроликов удовлетворительно описывается уравнением одночастевой модели первого порядка со всасыванием (табл. 1):

$$C(t) = 2,12(e^{-0,078t} - e^{-1,28t}).$$

Значения фармакокинетических параметров ФК, рассчитанные в соответствии с этим уравнением, приведены в табл. 2.

Из данных, представленных в табл. 2, видно, что при введении таблеток кроликам ФК относительно быстро всасывается ($T_{1/2, \alpha} = 0,54$ ч) и через 2,3 ч в крови кроликов достигается максимальная концентрация ФК. Из организма кроликов ФК медленно выводится ($K_{эл} = 0,078$ ч⁻¹, $T_{1/2, \beta} = 8,87$ ч, $MRT = 13,6$ ч). Высокое значение объема распределения ($V_{1/f} = 50,4$ л/кг) свидетельствует об интенсивном внутриклеточном распределении препарата и его захвате органами и тканями. Общий клиренс ($Cl_{T/f} = 65,6$ мл/мин · кг) значительно превышает величину клубочковой фильтрации у кроликов, приближаясь к значению почечного кровотока, из чего можно заключить, что ФК элиминирует после введения таблеток кроликам, в основном, за счет биотрансформации.

Абсолютная биодоступность таблеток ФК, рассчитанная как отношение площадей под фармакокинетическими кривыми при введении таблеток и внутривенном введении препарата, составляет 46,8 %. Относительно невысокая биодоступность этой лекарственной формы предположительно связана с пресистемным метаболизмом.

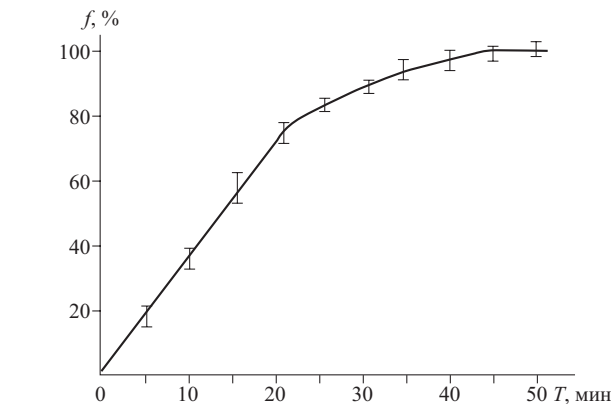


Рис. 2. Динамика высвобождения ФК из таблеток

Исследование биодоступности таблеток ФК в экспериментах *in vitro*

Условия растворения таблеток подбирали таким образом, чтобы кинетика растворения ФК соответствовала порядку кинетики всасывания препарата, так как в этом случае существенно возрастает возможность установления корреляции между биодоступностью таблеток в экспериментах *in vivo* и *in vitro*. Процесс всасывания ФК в желудочно-кишечном тракте кроликов после введения таблеток происходит в соответствии с уравнением кинетики первого порядка. Выбранные условия динамики и полноты высвобождения ФК из таблеток в эксперименте *in vitro* также обеспечивают протекание процесса растворения по первому порядку (объем среды растворения одной таблетки — 1000 мл*, температура 37 °С, скорость вращения мешалки 100 об/мин). На рис. 2 представлена динамика высвобождения ФК из таблеток в условиях опыта.

Для описания динамики высвобождения ФК из таблеток использовали экспоненциальную модель, согласно которой доля высвободившегося препарата (f в % от дозы) зависит от времени растворения в соответствии с уравнением:

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

где K_s — константа скорости высвобождения (мин⁻¹). Установленная с помощью метода наименьших квадратов зависимость процента высвобождения ФК из таблеток от времени растворения удовлетворительно аппроксимируется уравнением:

$$\ln\left(1 - \frac{f}{100}\right) = -0,065 \cdot t + 0,015.$$

* 700 мл спирта этилового 95 % и 300 мл 0,1 М раствора HCl.

Таблица 3
Динамика концентрации ФК в плазме крови кроликов после введения свечей

Время после введения, ч	Концентрация фенозан-кислоты, мг/мл	
	Экспериментально	Расчет по модели
0,25	0,420 ± 0,210	0,623
0,5	1,030 ± 0,100	1,046
0,75	1,390 ± 0,120	1,328
1,0	1,590 ± 0,500	1,514
2,0	1,780 ± 0,210	1,760
4,0	1,590 ± 0,120	1,614
8,0	1,190 ± 0,300	1,204
16,0	0,670 ± 0,100	0,665
24,0	0,370 ± 0,110	0,367

Фармакокинетические параметры ФК при введении свечей кроликам

Параметр	Обозначение	Размерность	Величина	ϵ , %
Среднее время удерживания	MRT	ч	$14,2 \pm 1,8$	13
Время полураспределения	$T_{1/2,\alpha}$	ч	$0,478 \pm 0,077$	16
Время полувыведения	$T_{1/2,\beta}$	ч	$9,34 \pm 1,29$	14
Время достижения максимальной концентрации	T_{max}	ч	$2,33 \pm 0,34$	14
Константа скорости абсорбции	K_{abs}	$ч^{-1}$	$1,45 \pm 0,33$	16
Константа скорости элиминации	$K_{эл}$	$ч^{-1}$	$0,074 \pm 0,010$	14
Предэкспоненциальный коэффициент	A	мкг/мл	$2,18 \pm 0,19$	8,8
Максимальная концентрация	C_{max}	мкг/мл	$1,76 \pm 0,10$	5,4
Начальная концентрация	C_0	мкг/мл	$2,07 \pm 0,16$	7,6
Общий клиренс	$Cl_{T/f}$	мл/мин · кг	$59,8 \pm 5,9$	9,9
Объем распределения	$V_{1/f}$	л/кг	$48,3 \pm 3,7$	7,7
Площадь под кривой	AUC	мкг · ч/мл	$27,9 \pm 2,8$	10
Абсолютная биодоступность	F	%	51,4	

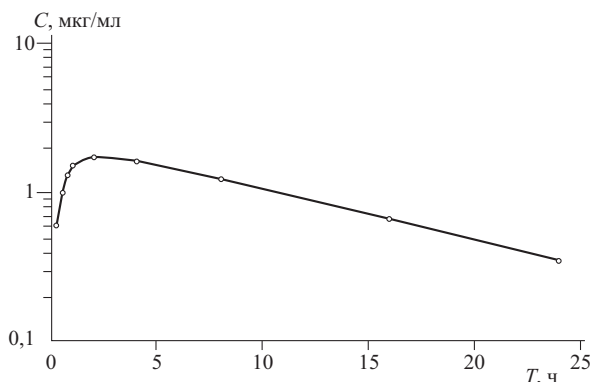


Рис. 3. Динамика концентрации ФК в плазме крови кроликов после введения свечей в дозе 100 мг/кг

Полученные данные свидетельствуют о весьма высокой скорости высвобождения ФК из таблеток ($K_s = 0,065 \text{ мин}^{-1}$) в эксперименте *in vitro*. Полное высвобождение ФК из таблеток происходит за 45 мин, а 75 % ФК высвобождается за 21 мин. Высокая скорость высвобождения ФК из таблеток находится в хорошем соответствии с высокой скоростью всасывания ФК после введения таблеток кроликам в эксперименте *in vivo*.

Исследование биодоступности свечей ФК

Динамика концентрации ФК в плазме крови кроликов после ректального введения свечей в дозе 100 мг/кг представлена на рис. 3 и в табл. 4.

Динамика концентрации ФК в плазме крови кроликов после введения свечей удовлетворительно аппроксимируется уравнением одночастевой модели первого порядка со всасыванием (табл. 3):

$$C(t) = 2,18(e^{-0,074t} - e^{-1,45t}).$$

Значения фармакокинетических параметров, рассчитанных в соответствии с этим уравнением, представлены в табл. 4.

Из данных, представленных в табл. 4, видно, что, как и в случае введения таблеток, ФК из свечей довольно быстро всасывается ($T_{1/2,\alpha} = 0,48 \text{ ч}$), и через такое же время ($T_{max} = 2,33 \text{ ч}$) в плазме крови кроликов достигается максимальная концентрация ФК. При этом способе введения препарат также медленно выводится из организма кроликов ($K_{эл} = 0,074 \text{ ч}^{-1}$, $T_{1/2,\beta} = 9,34 \text{ ч}$, $MRT = 14,2 \text{ ч}$).

Высокое значение объема распределения ($V_{1/f} = 48,3 \text{ л/кг}$) также свидетельствует об интенсивном внутриклеточном распределении препарата, значение общего клиренса ($Cl_{T/f} = 59,0 \text{ мл/мин} \cdot \text{кг}$) позволяет предполагать, что и при ректальном введении

препарата основной путь его элиминации из организма — это выведение продуктов метаболизма.

Абсолютная биодоступность свечей ФК незначительно выше, чем таблеток ФК ($f = 51,4 \%$).

Таким образом, изучена биодоступность лекарственных форм ФК в экспериментах *in vivo* и *in vitro*. Установлено, что ФК довольно быстро всасывается при введении кроликам таблеток и свечей и относительно медленно выводится из их организма. Абсолютная биодоступность таблеток и свечей ФК составляет соответственно 46,8 % и 51,4 %. Показано хорошее соответствие между скоростью высвобождения ФК из таблеток в эксперименте *in vitro* и скоростью всасывания ФК из таблеток.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. В. Ершов, Г. А. Никифоров, А. А. Володькин, *Пространственно-затрудненные фенолы*, Химия, Москва (1972).
2. А. А. Прокопов, А. С. Берлянд, Н. В. Веселовская и др., *Хим.-фарм. журн.*, **34**(5), 49 – 51 (2000).
3. Л. Е. Холодов, В. В. Дорохов, *Фармакология и токсикология*, **48**(4), 65 – 69(1985).

Поступила 20.01.05

STUDYING THE BIOAVAILABILITY OF FENOZAN ACID IN VARIOUS MEDICINAL FORMS

A. A. Prokopov, L. V. Shchukil', and A. S. Berlyand

Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

The bioavailability of fenzan acid (an antioxidant agent) from tablets and rectal suppositories was studied *in vitro* and *in vivo* (rabbits). The complete release of fenzan acid from tablets *in vitro* takes 45 min, while 75 % of the drug content are released within 21 min. The absolute bioavailability of fenzan acid from tablets and rectal suppositories *in vivo* amounts to 46.8 and 51.4 %, respectively.