

Методы синтеза и технология производства лекарственных средств

© Коллектив авторов, 2009

Е. И. Каленикова, Е. А. Городецкая, О. С. Медведев

БИОДОСТУПНОСТЬ КОЭНЗИМА Q₁₀ В РАЗЛИЧНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва, Россия

В экспериментах на крысах изучалась биодоступность коэнзима Q₁₀ в препаратах (раствор и таблетки), содержащих солюбилизованную субстанцию коэнзима Q₁₀, относительно порошка жирорастворимой субстанции. Показано, что при приеме внутрь солюбилизованная форма в составе таблеток и раствора обладает значительно большей биодоступностью, чем жирорастворимая субстанция коэнзима Q₁₀. Коэнзим Q₁₀ в растворе солюбилизированной формы обеспечивает наиболее быстрое достижение максимальной концентрации. Наличие в составе таблеток вспомогательных веществ, способных к набуханию, увеличивает длительность и полноту всасывания действующего вещества препарата.

Ключевые слова: коэнзим Q₁₀, фармакокинетика, солюбилизованная субстанция.

Коэнзим Q₁₀ (2,3-диметокси-5-метил-6-декапренил-1,4-бензохинон) является эндогенным веществом, существующим *in vivo* в окисленной (убихинон) и восстановленной (убихинол) формах (рис. 1). Способность к циклическому окислению-восстановлению обуславливает основные биохимические функции коэнзима Q₁₀ (CoQ₁₀): переносчика электронов в дыхательной цепи митохондрий и антиоксиданта во всех типах клеточных мембран.

Участие в поддержании энергетических запасов клетки и способность ограничивать деструктивные последствия окислительного стресса делает CoQ₁₀ идеальным агентом в лечении ишемических состояний. По результатам многих исследований он рекомендован в качестве дополнения к терапии сердечно-сосудистых заболеваний [1 – 4].

CoQ₁₀ синтезируется в каждой клетке, что однако обеспечивает потребность в нем лишь на 40 – 50 %. Остальные 50 – 60 % должны поступать в организм извне. Доказано, что с возрастом у человека и животных тканевые уровни CoQ₁₀ снижаются [5]; это способствует развитию дефицита и уменьшает выносливость к повышенным нагрузкам и окислительному стрессу.

Коэнзим Q₁₀ является липофильным соединением, но растворимость его мала и препараты часто характеризуются низкой биодоступностью [6, 7]. На степень всасывания вещества наибольшее влияние оказывают физико-химические свойства его субстанции и состав препарата. Следовательно, CoQ₁₀ в порошке, суспензии, масляном растворе, солюбилизированной форме и т.д., скорее всего, будет демонстрировать разную биодоступность. Однако количество исследований,

посвященных изучению фармакокинетики субстанции и препаратов CoQ₁₀, крайне ограничено [8 – 10].

Целью исследования была сравнительная оценка фармакокинетики и биодоступности CoQ₁₀ после введения внутрь в различных формах: порошке жирорастворимой субстанции, растворе и таблетках солюбилизированной субстанции.

Экспериментальная часть

Исследование выполнено на самцах крыс Wistar массой 300 – 400 г.

Животным в стерильных условиях под наркозом (пентобарбитал, 50 мг/кг внутривенно) имплантировали катетер в бедренную артерию для последующего отбора образцов крови. Через сутки после операции бодрствующим животным натошак через зонд вводили в желудок CoQ₁₀ в дозе 10 мг/кг. Первая группа крыс ($n = 7$) получала порошок жирорастворимой субстанции CoQ₁₀, вторая ($n = 7$) — раствор солюбилизованного CoQ₁₀ (“Кудесан”, ЗАО “Аквион”, Москва, Россия); третья ($n = 7$) — аликвоту измельченных таблеток, содержащих CoQ₁₀ в солюбилизированной форме (“Кудесан Форте”, ЗАО “Аквион”, Москва, Россия). Порошок и измельченные таблетки вводили в виде взвеси в 0,2 % метилцеллюлозе (в/о) в пропорции 1 мг CoQ₁₀/100 мкл; раствор солюбилизованного CoQ₁₀ разводили дистиллированной водой в соотношении 1:2 до той же концентрации: 1 мг CoQ₁₀/100 мкл.

В составе препаратов серии “Кудесан” CoQ₁₀ находится в водорастворимой (солюбилизированной) фор-

ме, разработанной и запатентованной отечественными специалистами.

Отбор проб крови (по 0,3 мл) проводили через катетер, промытый раствором гепарина, до введения препарата и спустя 2, 3, 4, 5, 7, 9, 24, 32 и 48 ч после введения. Образцы крови центрифугировали, плазму крови отбирали, замораживали и хранили при температуре -20°C до проведения количественного анализа коэнзимов Q. На протяжении 2 сут после введения CoQ₁₀ животных не кормили, не ограничивая доступ к воде.

Количественный анализ CoQ₁₀

Количественный анализ CoQ₁₀ в плазме крови проводили по методике [11] с некоторыми модификациями. К 100 мкл плазмы крови добавляли 220 мкл этанола и 550 мкл *n*-гексана, тщательно встряхивали в течение 10 мин, центрифугировали при 3000 об/мин в течение 3 мин и верхний слой *n*-гексана отбирали в объеме 500 мкл. К остатку добавляли еще 550 мкл *n*-гексана и повторяли процедуру экстракции и отбора экстракта. Объединенный экстракт упаривали досуха, растворяли в 100 мкл этанола и восстанавливали окисленную форму коэнзимов Q₉ и Q₁₀ добавлением 10 мкл 5 % раствора натрия тетрагидробората в этаноле. 10 мкл восстановленного экстракта анализировали с помощью ВЭЖХ с электрохимическим детектированием на оборудовании фирмы “Environmental Sciences Associate, Inc.”, (США): насос модели 580 и электрохимический детектор “Coulchem II”. Условия проведения хроматографического анализа обеспечивали разделение коэнзимов Q₉ и Q₁₀, необходимое в виду того, что доминирующей формой коэнзима Q у крыс является коэнзим Q₉ (рис. 2). Разделение проводили в изократическом режиме на колонке 150 × 4,6 мм с сорбентом C18 (5 мкм) при скорости потока элюэнта 1,3 мл/мин. Подвижная фаза содержала 0,3 % NaCl в смеси этанол — метанол — 7 % HClO₄ (970:20:10). Электрохимическое детектирование осуществляли с помощью аналитической ячейки (model 5011) при напряжении на первой паре электродов – 50 мВ и + 350 мВ — на второй. Время удерживания составило для коэнзимов Q₉ и Q₁₀ – 6,5 и 8,5 мин соответственно. Регистрацию и обработку хроматографических дан-

ных проводили с помощью компьютерной программы фирмы “Environmental Sciences Associate, Inc.”, (США). Чувствительность методики — 10 нг CoQ₁₀ в мл плазмы.

Определение фармакокинетических характеристик коэнзима Q₁₀

Для порошка субстанции и таблеток солибилизированной формы CoQ₁₀ были определены и рассчитаны следующие параметры фармакокинетики: T_{\max} — время достижения максимальной концентрации, C_{\max} — величина максимальной концентрации, AUC_{0-t} — площадь под фармакокинетической кривой “концентрация-время”, C_{\max}/AUC_{0-t} — относительная скорость всасывания. Для раствора солибилизированной формы и таблеток относительно порошка субстанции рассчитывали: f — относительную биодоступность, определяемую отношением AUC_{0-t} , T/AUC_{0-t} , R , f — относительную степень всасывания, определяемую отношением C_{\max} , T/C_{\max} , R .

Значения параметров фармакокинетики были рассчитаны модельно-независимыми методами. Величину C_{\max} и время ее достижения определяли из фактических значений концентраций. Площадь под фармакокинетической кривой (AUC_{0-t}) рассчитывали методом трапеций.

Расчет биодоступности CoQ₁₀ производился методом сравнения площадей под кривыми зависимости концентрации CoQ₁₀ в плазме крови от времени, построенными для всех групп крыс.

Результаты представлены в табл. 1 и 2 и на рис. 1 – 4 как среднее значение ± стандартная ошибка. Межгрупповые различия оценивали, используя *t*-критерий Стьюдента. Различия считали значимыми при вероятности ошибки менее 5 % ($p < 0,05$).

Результаты и их обсуждение

Средние значения концентраций CoQ₁₀ для каждой экспериментальной группы животных представлены в табл. 1 и на рис. 3.

Из приведенных данных следует, что наиболее низкие уровни в плазме крови определялись после введения CoQ₁₀ в виде взвеси порошка субстанции, наиболее высокие — после введения таблеток. Наивысшая

Таблица 1
Среднегрупповые значения прироста концентраций коэнзима Q₁₀ в плазме крыс (нг/мл) после его приема в различных формах

Коэнзим Q ₁₀	Время после приема, ч								
	2	3	4	5	7	9	24	32	48
Раствор водорастворимой субстанции	363 ± 29 [#]	562 ± 71 [#]	514 ± 103 [#]	317 ± 60 [#]	265 ± 52 [#]	164 ± 29 [#]	120 ± 15 [#]	83 ± 25	66 ± 25
Порошок жирорастворимой субстанции	81 ± 13	159 ± 32	163 ± 38	117 ± 16	95 ± 11	74 ± 6	59 ± 9	28 ± 7	23 ± 5
Таблетки водорастворимой субстанции	164 ± 10 [#] *	241 ± 24 *	300 ± 30 [#]	366 ± 42 [#]	496 ± 76 [#] *	529 ± 82 [#] *	499 ± 128 [#] *	441 ± 128 [#] *	188 ± 47 [#] *

Примечание: # — достоверные отличия от порошка субстанции; * — достоверные отличия от раствора.

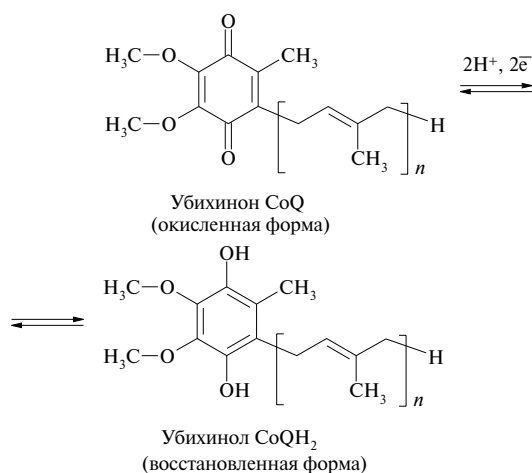


Рис. 1. Окисленная (убихинон) и восстановленная (убихинол) формы коэнзима Q₁₀.

максимальная концентрация в плазме крови (C_{\max}) наблюдалась после введения раствора солибутилизированной формы и таблеток, минимальная — после введения порошка субстанции. Время достижения максимальной концентрации было наименьшим для раствора солибутилизированного CoQ₁₀, наибольшим — для таблеток.

Кинетические кривые коэнзима Q₁₀ (после введения порошка субстанции или таблеток) у нескольких животных имели дополнительные пики концентраций, наблюдавшиеся в интервале от 7 до 24 ч после введения вещества (рис. 4). Известно, что жирорастворимый коэнзим Q₁₀ после всасывания в кишечнике захватывается из циркуляции тканями печени [6, 12]. По-видимому, наличие дополнительных пиков концентраций коэнзима Q₁₀, наблюдавшееся также в исследованиях на людях [9] и на морских свинках [10], является отражением феномена энтерогепатической

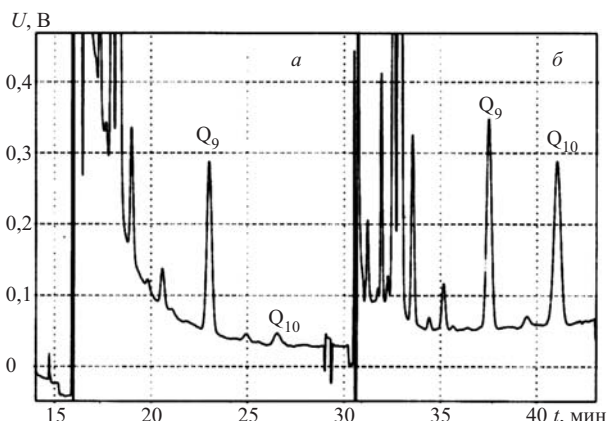


Рис. 2. Хроматограмма экстрактов плазмы крови крысы до (а) и через 2 ч после (б) введения внутрь CoQ₁₀ (10 мг/кг).

циркуляции и/или повторного выброса из печени в кровотоки [12]. Связанный с этим ломаный характер кинетических кривых исключил возможность корректного расчета константы элиминации.

Раствор солибутилизированной формы CoQ₁₀ продемонстрировал явные фармакокинетические преимущества перед порошком субстанции: после его введения концентрации в плазме были выше на протяжении как минимум 32 ч, в 3 раза выше была и максимальная концентрация; площадь под кинетической кривой в 2,6 раза превосходила этот параметр для порошка субстанции.

Введение таблеток создавало в плазме более высокие уровни CoQ₁₀, чем введение порошка субстанции на протяжении всего исследуемого периода. Максимальная концентрация в плазме для таблеток была значительно больше, чем у порошка субстанции. Время достижения максимальной концентрации для таблеток достоверно превышало таковое для порошка субстанции и раствора солибутилизированной формы, не различавшихся между собой.

Относительная скорость всасывания CoQ₁₀ из раствора была достоверно выше, чем из таблеток, что обеспечивало более раннее достижение максимума концентрации в плазме крови.

Площадь под кинетической кривой для раствора солибутилизированной формы в 2,6 раза превышала этот параметр для порошка субстанции, а для таблеток была многократно и значительно выше, чем для порошка субстанции (в 7,4 раза) и раствора солибутилизированной формы (в 2,7 раза). Соответственно биодоступность солибутилизированного CoQ₁₀ как в растворе, так и в твердом состоянии значительно выше, чем для жирорастворимой субстанции.

По-видимому, вспомогательные вещества способствуют более продолжительному пребыванию CoQ₁₀ в зоне всасывания, что дает возможность ограниченно растворимому веществу абсорбироваться более полно. Наличие в составе таблеток вспомогательных веществ, способных к набуханию (микрористаллической целлюлозы), может обуславливать пролонгиро-

Таблица 2

Параметры фармакокинетики коэнзима Q₁₀

Параметр	Раствор водорастворимой субстанции	Порошок жирорастворимой субстанции	Таблетки водорастворимой субстанции
AUC_{0-48} , нг · ч/мл	6922 ± 821 # $p = 0,01$	2627 ± 324	19361 ± 4085 # $p = 0,006$ * $p = 0,022$
C_{\max} , нг/мл	654 ± 48 # $p = 0,00001$	199 ± 27	615 ± 99 # $p = 0,05$
T_{\max} , ч	3,3 ± 0,3	4,3 ± 0,5	14,6 ± 3,4 # $p = 0,022$ * $p = 0,015$
C_{\max}/AUC_{0-48} , ч ⁻¹	0,103 ± 0,014	0,081 ± 0,014	0,035 ± 0,004 # $p = 0,016$ * $p = 0,003$
f , % отн. порошка субстанции	264		734
f' , % отн. порошка субстанции	329		309

Примечание: # — достоверные отличия от порошка; * — достоверные отличия от раствора.

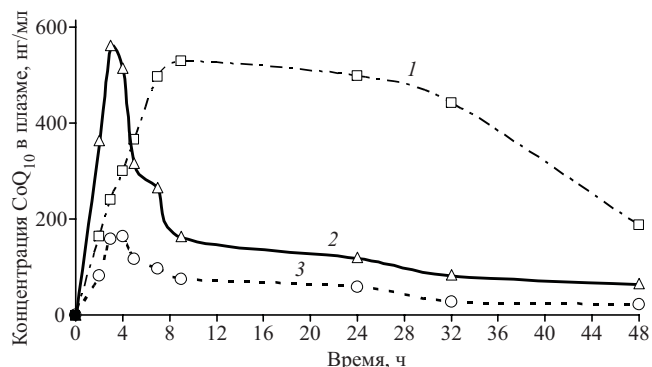


Рис. 3. Кинетические кривые зависимости концентрации — время при введении внутрь различных лекарственных форм CoQ₁₀ (10 мг CoQ₁₀/кг): 1 – таблетки, 2 – раствор, 3 – порошок субстанции.

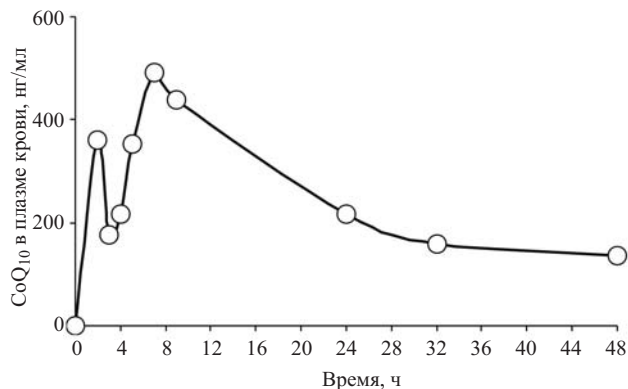


Рис. 4. Индивидуальная кинетическая кривая коэнзима Q₁₀ после введения внутрь (10 мг/кг, раствор солюбилизированной формы) с дополнительным пиком.

ванное всасывание CoQ₁₀ и наибольшую площадь под кинетической кривой. Максимальные концентрации CoQ₁₀ в плазме для таблеток и раствора не различались.

Таким образом, при приеме внутрь солюбилизированная форма в составе таблеток и раствора обладает значительно большей биодоступностью, чем жирорастворимая субстанция CoQ₁₀. Коэнзим Q₁₀ в растворе солюбилизированной формы обеспечивает наиболее быстрое достижение максимальной концентрации. Наличие в составе таблеток вспомогательных веществ, способных к набуханию, увеличивает длительность и полноту всасывания действующего вещества препарата.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (гранты 08-04-01138-а, 08-04-00992-а).

ЛИТЕРАТУРА

1. Д. М. Аронов, *Рус. мед. журн.*, **12**(15), 905 – 909 (2004).

2. B. Sarter, *J. Cardiovasc. Nurs.*, **16**, 9 – 20 (2002).
3. K. A. Weant, and K. M. Smith, *Ann. Pharmacother.*, **39**, 1522 – 1526 (2005).
4. S. A. Mortensen, *BioFactors.*, **18**, 79 – 89 (2003).
5. M. Turunen, J. Olsson, and G. Dallner, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1661**, 171 – 199 (2004).
6. Y. Zhang., F. Aberg, E-L. Appelkvist, et al., *J. Nutr.*, **125**, 446 – 453 (1995).
7. M. Bentinger, G. Dallner, T. Chojnacki and E. Swiesewska, *Free Radic. Biol. Med.*, **34**(5), 563 – 575 (2003).
8. U. Ullman, J. Metzner, C. Schulz, et al., *J. Medic. Food*, **8**(3), 397 – 399 (2005).
9. M. Weiss, S. A. Mortensen, M. R. Rassing, et al., *Mol. Aspects Med.*, **15**, 273 – 280 (1994).
10. T. Yuzuriha, M. Takada, K. Katayama, *Biochim. Biophys. Acta.*, **759**, 286 – 291 (1983).
11. A. Lass and R. Sohal, *Free Radic. Biol. Med.*, **27**, 220 – 226 (1998).
12. H. N. Bhagavan, R. K. Chopra, *Free Radical Res.*, **40**, 445 – 453 (2006).

Поступила 01.12.08

BIOAVAILABILITY OF COENZYME Q10 IN VARIOUS PHARMACEUTICAL FORMULATIONS

E. I. Kalenikova, E. A. Gorodetskaya, and O. S. Medvedev

Department of Basic Medicine, Moscow State University, Moscow, Russia

The bioavailability of coenzyme Q₁₀ (CoQ₁₀) in various pharmaceutical formulations (solutions and tablets) containing solubilized CoQ₁₀ in comparison to the lipophilic powder of CoQ₁₀ has been studied in rats. It is established that the bioavailability of solubilised CoQ₁₀ in tablets and solution after peroral administration is higher than that of lipophilic CoQ₁₀ powder. The solution of a solubilised form ensured a shorter time of reaching the peak CoQ₁₀ concentrations in plasma. Auxiliary swelling substances in tablets prolong and increase the absorption of CoQ₁₀.

Key words: Coenzyme Q₁₀, pharmacokinetics, solubilized substance.