



УДК 547.419.5:577.164.15:616.36

В. В. Годован, О. В. Жук\*, В. Г. Зіньковський\*, В. Й. Кресюн

## АПРОБУВАННЯ НОВИХ МЕТОДІВ ПОЗАМОДЕЛЬНОГО АНАЛІЗУ ФАРМАКОКІНЕТИЧНОГО ПРОФІЛЮ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

Одеський державний медичний університет, Одеса, Україна,

\*Опольський університет, Ополь, Польща

Поряд із фармакодинамічним аналізом при створенні та впровадженні в медичну практику нових (інноваційних) лікарських засобів (ЛЗ) необхідним елементом є вивчення їхніх фармакокінетичних властивостей (всмоктування, розподіл, метаболізм, виведення) [1]. Вони дають можливість виявити деякі сторони механізму дії біологічно активних речовин (БАР) та їх можливу небажану дію, наприклад, кумулятивні ефекти. Вивчення фармакокінетичних властивостей БАР — процес трудомісткий і дорогий у виконанні, який потребує великої кількості експериментів на тваринах [2]. Тому, з позицій біоетики, пріоритетним стає розробка нових підходів, що ґрунтуються на позамодельному аналізі процесів фармакокінетики і дозволяють мінімізувати кількість експериментальних тварин. Крім того, відомі методи визначення фармакокінетичних параметрів ЛЗ не позбавлені недоліків. Зокрема, загальноприйнятий у фармакокінетиці розподіл організму на компартменти дещо умовний, а вірогідність математичного аналізу в рамках класичних камерних моделей залежить від багатьох факторів (часу, кількості та властивостей компартментів, «чистоти» експерименту тощо) і не завжди може дати справжню

інформацію про фармакокінетичний профіль речовини [3].

Крім цього, традиційні існуючі методи не дозволяють отримати повну характеристику фармакокінетики БАР, зокрема, кількісно оцінити тропність сполуки до певної тканини, здатність її незворотного або зворотного зв'язування тканинами, провести узагальнену оцінку «поведінки» сполуки у біосистемі [4]. Для вирішення всіх цих питань нами були розроблені нові підходи до визначення фармакокінетичних параметрів розподілу та виведення ЛЗ з організму на підставі їх позамодельного (non compartmental) аналізу. Таким чином, в основу даної роботи покладено аналіз фармакокінетичного профілю похідних оксіетилідендифосфонатогерманатів із метою апробування цих методів та оцінки їх ефективності.

### Матеріали та методи дослідження

Вміст синтезованих БАР класу оксіетилідендифосфонатогерманатів із різними біолігандами (з ніотиновою кислотою — нікогерм, нікотинамідом — гермамід, з магнієм — гермакорд) в органах і тканинах щурів був визначений раніше за описаною у нашій лабораторії методикою при їх одноразовому внутрішньоочеревинному вве-

денні з розрахунку 37,5 мг германію на 1 кг маси [5]. Параметри розподілу БАР обчислювали з використанням методів позамодельного аналізу [6; 7]. Площі під фармакокінетичними концентраційними кривими розраховували за методами трапецій і статистичних моментів [3; 8]. Для визначення констант елімінації термінальної ділянки концентраційної кривої та констант рівноваги використовували лінійний регресійний аналіз зважених величин [9]. Особливості процесів розподілу та виведення БАР вивчалися за допомогою розроблених нами методів позамодельного аналізу, обґрунтування та розробка яких наведені у раніше опублікованих роботах.

### Результати дослідження та їх обговорення

На підставі проведеного дослідження було продемонстровано ефективність запропонованих нами нових регресійних методів позамодельного аналізу параметрів розподілу та виведення нових БАР з організму. Для визначення параметрів розподілу БАР в організмі розроблено новий метод кількісної оцінки тропності БАР до тканини (константу рівноваги, показник швидкості обміну сполуки між кров'ю й органом) [10], який виявив вірогідні відмінності роз-



поділу оксіетилідендифосфонатогерманатів між органами і тканинами. Так, для нікогерму характерна пропорційність вмісту в системі «кров ↔ тканина» і лише для екскреторних органів (печінка, нирки) спостерігаються швидкі, порівняно з іншими тканинами, процеси елімінації (середній час утримання — MRT — становить 7 год); для решти досліджуваних органів цей показник коливається від 13 до 17 год. Для гермамиду виявлена більш висока «тропність» до всіх органів і тканин порівняно з нікогермом, причому для деяких тканин (нирки, жирова тканина, головний мозок) спостерігалася непропорційна щодо плазми зміна його вмісту в досліджуваному інтервалі часу. Для гермакорду виявлена більш виразна нелінійність процесів. Для деяких органів (серцева тканина, печінка, селезінка) MRT даної речовини становить 25–60 год, що значно перевищує показники в інших органах.

Для якісної та кількісної оцінки процесів зв'язування ЛЗ у досліджуваних органах і тканинах розроблено новий формальний апарат позакамерного моделювання, що дозволяє провести точний аналіз ефективності процесів зв'язування [11]. За цим методом кінетика нікогерму характеризувалася високою швидкістю елімінації сполуки, відсутністю його накопичення і зв'язування у вивчених біосубстратах. Незважаючи на виявлені особливості розподілу гермамиду і гермакорду в організмі тварин, проведений аналіз дозволив встановити також відсутність незворотного зв'язування цих сполук тканинами: 99,2–99,9 % речовин, які надходили в досліджувані тканини і органи, елімінували з них назад у плазму крові.

Розроблено новий фармакокінетичний метод, який ґрунтується на оцінці статистичних моментів і є подальшим розвитком уже існуючого математичного апарату позамоделних методів аналізу розподілу ліків. Ґрунтуючись на припущенні про існування нескінченно складної

біосистеми (досліджувана тканина є її частиною), ми проаналізували загальні закономірності зміни моментів розподілу ліків у кінетичних моделях різних типів. У результаті розроблено універсальний критерій оцінки складності кінетичної кривої, який дозволяє кількісно оцінити вплив усієї кінетичної схеми розподілу речовини в біосистемі, з урахуванням співвідношення основних параметрів його розподілу (MRT і дисперсії концентрації ЛЗ у часі — VAR) у тест-об'єкті й, таким чином, точно описати вплив усіх кінетичних відсіків на загальну кінетичну схему розподілу БАР в організмі тварин [12]. За допомогою цього методу встановлено, що, незважаючи на різну хімічну структуру оксіетилідендифосфонатогерманатів, складність їхньої кінетичної схеми розподілу в організмі практично ідентична, що свідчить про наявність загальних закономірностей їхнього масопереміщення в біосистемі.

На підставі розробки формального апарату аналітично-дискримінаційного аналізу оцінки складності кінетичних схем розподілу БАР в організмі запропоновано новий критерій (дискримінаційний критерій — ДК) визначення типу кінетичних моделей розподілу БАР і ЛЗ в організмі [13]. Це дозволило встановити, що кінетика похідних оксіетилідендифосфонатогерманатів оптимально описується простими моделями — одно- або двочастинними. Причому кінетична схема розподілу синтезованих сполук між кров'ю (центральною відсіком) і тканинами (периферичними відсіками) для більшості органів була аналогічною. Використання цього аналізу тканинної фармакокінетики виявило істотний вплив гістогематичного бар'єру на процеси надходження гермамиду в головний мозок, а також можливість накопичення гермакорду в жировій тканині.

Вперше запропоновано критерій доступності ЛЗ до тканин організму ( $W_{aj}$ ), а також розроблено формальний апарат для визначення цієї величини у ком-

плексі з основними параметрами тканинної фармакокінетики: рівноважною константою розподілу ( $K_{pi}$ ), швидкістю процесу масопереміщення ( $k_{ij}$ ), величинами інтегралів концентрації ЛЗ в інтервалі часу досліду від 0 до  $+\infty$  в «*i*-тому» компартменті ( $iAUC_{0-\infty}$ ) [14]. Це дозволило визначити особливості фармакокінетики похідних оксіетилідендифосфонатогерманатів [15], які корелюють із даними вищевикладених досліджень. Найвищою абсолютна біологічна доступність гермамиду виявилася до екскреторних органів (нирки та печінка). Причому величина  $iAUC_{0-\infty}$  для жирової, м'язової та легеневої тканин більша, ніж для печінки, однак високе значення  $W_{aj}$  для печінки свідчить про більш інтенсивний обмін гермамиду між цим органом і кров'ю. Істотні відмінності в швидкостях дифузійних потоків гермамиду з крові в тканини значно вищі, ніж відмінності в часі утримання речовини різними тканинами організму, що передбачає перший тип фармакокінетичної гетерогенності в організмі. Показники тканинної фармакокінетики гермамиду і нікогерму практично аналогічні, що може бути пов'язане зі структурною схожістю (біоліганд у нікогермі — нікотина кислота, у гермаміді — її метаболіт нікотинамід). Для гермакорду виявлені інші закономірності: для процесів його розподілу між плазмою крові й серцевим м'язом характерним був значний вплив часу його утримання у цьому органі, на відміну від процесів розподілу між кров'ю і головним мозком, де швидкість його надходження з крові й швидкість зворотного процесу істотно не відрізнялися, що й зумовлювало незначний рівень БАР у головному мозку.

Для визначення параметрів виведення ліків з організму розроблено новий спосіб регресійного аналізу параметрів екскреції БАР (констант швидкості екскреції ( $k_e$ ), кількості виділеного продукту при нескінченній експозиції ( $B_{0-\infty}$ )), який дозволяє оцінити MRT всієї біосистеми і не залежить від величини інтер-



валу збирання екскретів [16]. На підставі цього встановлено вірогідний вплив відмінностей хімічної структури похідних оксіетилідендифосфонатогерманатів на превалювання того або іншого шляху екскреції (ренального або гепатопортального): для нікогерму характерна рівнозначність виділення з сечею і калом, для гермамиду — переважання екскреції з калом, а для гермакорду — із сечею [17]. Таким чином, у процесі метаболізму нікогерму утворюється приблизно однакова кількість водорозчинних і ліпофільних продуктів біотрансформації, гермамиду — переважання ліпофільних метаболітів, а гермакорду — водорозчинних.

Розробка нових підходів для визначення фундаментального показника фармакокінетики — MRT всієї біосистеми — продемонструвала, що, незважаючи на відмінності у хімічній структурі цих сполук, середній час їх вмісту становив близько 30 год, а практично повне виведення комплексних сполук та їх метаболітів відбувалося протягом 5 діб (89–92 % введеної дози). Необхідно наголосити, що визначення періоду напівелімінації сполук класичними методами дає досить занижені показники (у межах 20,4–22,1 год) [18]. У цілому, зіставлення отриманих даних за допомогою запропонованих нами методів позамоделного аналізу з результатами раніше проведеного дослідження фармакокінетики похідних оксіетилідендифосфонатогерманатів традиційними методами свідчить про те, що розроблені підходи не тільки відкривають нові сторони фармакокінетичного профілю цих сполук, але й дають можливість більш точно і детально встановити основні їх фармакокінетичні параметри.

Таким чином, запропоновані нами нові методи позакамерного аналізу розподілу та виведення БАР і ліків, базуючись на нині існуючих традиційних методах, їх удосконалюють і розширюють можливості дослідницької діяльності. Перевагою нових методів є те, що вони не

залежать від факторів часу, визначення тих чи інших параметрів, а також властивостей і кількості компартментів. Мабуть, найголовнішим є те, що вони дозволяють визначити ті фармакокінетичні параметри, які неможливо розрахувати існуючими методами, наприклад, доступність до певної тканини тощо. Крім цього, за допомогою розроблених методів можна розрахувати параметри розподілу і виведення БАР тоді, коли відсутні дані деяких дослідів (не витримано інтервал часу взяття матеріалу, невдалий дослід). Таким чином, запропоновані методи підвищують точність і вірогідність фармакокінетичних досліджень, здешевлюють їх собівартість і розширюють можливості вивчення фармакокінетики як нових, так і відомих лікарських речовин.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Головенко Н. Я. Физико-химическая фармакология / Н. Я. Головенко. — О. : Астропринт, 2004. — 720 с.
2. Белоусов Ю. Б. Клиническая фармакокинетика : практика дозирования лекарств / Ю. Б. Белоусов, К. Г. Гуревич. — М. : Литтерра, 2005. — 286 с.
3. Boroujerdi M. Pharmacokinetics : Principles and Applications / M. Boroujerdi. — McGraw-Hill Professional Publishing, 2002. — 327 p.
4. Gabrielsson J. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Data Analysis, Concepts and Applications / J. Gabrielsson, D. Weiner. — 2nd ed. — Stockholm : Swedish Pharmaceutical Press, 1998. — 269 p.
5. Пат. на корисну модель 38285А Україна, МПК (2001) А61 13 5/00. Спосіб визначення мікрокількостей германію в тканинах тварин / В. Й. Кресюн, Е. Ф. Шемонаєва, А. Г. Видавська, С. В. Щербаков. — № 2000063521 ; заявл. 13.06.2000 ; опубл. 15.05.01, Бюл. № 4. — 8 с.
6. *Pharmacokinetics and Metabolism in Drug Design* / Smith D. A., van de Waterbeemd H., Walker D. K. et al. — John Wiley & Sons, 2000. — 288 p.
7. *Development of a whole body physiologically based model to characterise the pharmacokinetics of benzodiazepines. 1 : Estimation of rat tissue-plasma partition ratios* / Gueorguieva I., Nestorov I. A., Murby S. et al. // *J. Pharmacokinetic Pharmacodyn.* — 2004. — N 31 (4). — P. 269-298.
8. Соловьев В. Н. Фармакокинетика : руководство / В. Н. Соловьев, А. А. Фирсов, В. А. Филов. — М. : Медицина, 1980. — 223 с.

9. *Cornish-Bowden A. Fundamental of enzyme kinetics* / A. Cornish-Bowden. — Portland Press, 2004. — 523 p.
10. Пат. 19966 Україна, МПК (2006) А61В 10/00. Спосіб визначення параметрів розподілу лікарських засобів у крові, органах і тканинах організму / Годован В. В., Зінковський В. Г., Жук О. В. та ін. ; заявник і патентовласник Одес. держ. мед. ун-т. — № u200605324 ; заявл. 15.05.2006 ; опубл. 15.01.07, Бюл. № 1. — 8 с.
11. Годован В. В. Оцінка процесів зв'язування нових похідних дифосфонатогерманатів в організмі тварин / В. В. Годован // *Вісник психіатрії та психофармакотерапії.* — 2007. — № 1. — С. 54-58.
12. Годован В. В. Аналіз фармакокінетики нових похідних дифосфонатогерманатів, заснований на оцінці статистичних моментів їх розподілу в організмі тварин / В. В. Годован, О. В. Жук, В. Г. Зінковський, С. І. Щукін // *Одес. мед. журнал.* — 2006. — № 4. — С. 36-42.
13. Годован В. В. Оцінка складності кінетичних моделей процесів розподілу похідних дифосфонатогерманатів на основі нового комбінованого підходу / В. В. Годован, В. Г. Зінковський, О. В. Жук // *Мед. перспективи.* — 2007. — Т. XII, № 2. — С. 14-22.
14. Пат. 29084 Україна, МПК (2006) А61В 10/02. Спосіб оцінки абсолютної доступності лікарських засобів до тканин організму / В. В. Годован, В. Г. Зінковський, О. В. Жук, В. Й. Кресюн ; заявники та патентовласники Одес. держ. мед. ун-т і Опольськ. ун-т. — № u200703780 ; заявл. 05.04.2007 ; опубл. 10.01.2008, Бюл. № 1. — 6 с.
15. Годован В. В. Критерії оцінки абсолютної біодоступності нових похідних дифосфонатогерманатів до тканин тварин / В. В. Годован, В. Г. Зінковський, О. В. Жук // *Укр. мед. альманах.* — 2007. — Т. 10, № 2. — С. 46-50.
16. Пат. 25717 Україна, МПК (2006) А61В 10/02. Спосіб визначення параметрів процесів екскреції лікарських засобів з організму / В. В. Годован, В. Г. Зінковський, О. В. Жук, В. Й. Кресюн ; заявники та патентовласники Одес. держ. мед. ун-т і Опольськ. ун-т. — № u2006/11546 ; заявл. 02.11.2006 ; опубл. 27.08.2007, Бюл. № 13. — 8 с.
17. Годован В. В. Вивчення процесів виведення похідних дифосфонатогерманатів з організму тварин за допомогою нових методів позакамерного аналізу / В. В. Годован // *Клін. фармація.* — 2008. — Т. 12, № 1. — С. 11-16.
18. Видавська Г. Г. Фармакокінетика нових біологічно активних речовин на основі оксіетилідендифосфонату германію з нікотиною кислотою, нікотинамідом і магнієм : автореф. дис. ... канд. мед. наук. — О., 2003. — 19 с.

