

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені І. І. МЕЧНИКОВА
ФАКУЛЬТЕТ ХІМІЇ ТА ФАРМАЦІЇ
КАФЕДРА ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ЛІКІВ



ФАРМАКОТЕРАПІЯ З ФАРМАКОКІНЕТИКОЮ

Частина I ФАРМАКОКІНЕТИКА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

ЕЛЕКТРОННІ МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
до лабораторних робіт
для здобувачів вищої освіти
спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація»

ОДЕСА
ОНУ
2023

**УДК 615.033:378.016(072)
Ф247**

Укладачі:

О. І. Александрова, кандидат біологічних наук, доцент кафедри фармакології та технології ліків;

О. І. Грицук, доктор медичних наук, професор кафедри фармакології та технології ліків.

Рецензенти:

Т. М. Щербакова, кандидат хімічних наук, завідувач кафедри аналітичної та токсикологічної хімії Одеського національного університету імені І. І. Мечникова;

І. М. Радаєва, кандидат біологічних наук, доцент кафедри фармакології та технології ліків Одеського національного університету імені І. І. Мечникова.

*Рекомендовано вченою радою
факультету хімії та фармації ОНУ імені І. І. Мечникова.
Протокол № 8 від 12 травня 2023 р.*

Фармакотерапія з фармакокінетикою. Частина І. Фармакокінетика лікарських засобів [Електронний ресурс] : електрон. метод. вказівки до лаб. робіт для здобувачів вищої освіти спец. 226 «Фармація, промислова фармація». /уклад.: О. І. Александрова, О. І. Грицук – Одеса: Одес. нац. ун-т ім. І. І. Мечникова, 2023. – 62 с. – 1,5 МБ.

В методичних вказівках представлено структурований матеріал з дисципліни «Фармакотерапія з фармакокінетикою». Видання призначено для виконання лабораторних занять, включає мету, інформативний матеріал, контрольні питання, практичні та розрахункові завдання з фармакокінетики.

УДК 615.033:378.016(072)

ЗМІСТ

ПЕРЕДМОВА	4
ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ ПРИ ВИКОНАННІ ЛАБОРАТОРНОЇ РОБОТИ	6
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 1. МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСУ ПРОНИКНЕННЯ РЕЧОВИНИ КРІЗЬ НАПІВПРОНИКНУ МЕМБРАНУ ЗА МЕХАНІЗМОМ ПРОСТОЇ ДИФУЗІЇ	8
ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ ПРОВЕДЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТІВ З ФАРМАКОКІНЕТИКИ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ	18
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 2. РОЗРАХУНОК ФАРМАКОКІНЕТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ. ПОЗАМОДЕЛЬНА ОЦІНКА ПАРАМЕТРІВ ФАРМАКОКІНЕТИКИ	28
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 3. РОЗРАХУНОК ФАРМАКОКІНЕТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ОДНОЧАСТИННОЇ ФАРМАКОКІНЕТИЧНОЇ МОДЕЛІ	44
ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 4. РОЗРАХУНОК ФАРМАКОКІНЕТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ДВОЧАСТИННОЇ ФАРМАКОКІНЕТИЧНОЇ МОДЕЛІ	52
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ ...	61

ПЕРЕДМОВА

«Фармакотерапія з фармакокінетикою» – дисципліна, яка вивчає основні положення фармакокінетики лікарських засобів, загальні відомості про етіологію, патогенез, клінічні прояви та сучасну раціональну фармакотерапію різних захворювань згідно з вимогами сьогодення.

Фармакотерапія являє собою інтегроване поняття, яке визначає сукупність методів лікування, що базується на комплексному застосуванні лікарських засобів. Фармакотерапія вивчає етіологію захворювання, патогенез хвороби та механізми його формування, клінічну картину хвороби і відповідну терапію захворювання, з урахуванням індивідуальних особливостей організму.

Фармакокінетика лікарських засобів – це розділ загальної фармакології, який вивчає на рівні концентрацій основні процеси перетворення лікарського засобу у внутрішньому середовищі організму в процесі всмоктування, розподілу по органах і тканинах, біотрансформації та елімінації. Саме фармакокінетика лікарських засобів та їх фармакокінетичні характеристики допомагають підібрати оптимальну фармакотерапію відповідного захворювання з урахуванням фізіологічних особливостей хворого та супутніх хвороб.

Завдяки фармакокінетики можна здійснювати терапевтичний моніторинг лікування шляхом визначення лікарського засобу на рівні концентрацій в певних біологічних рідинах тканинах та органах. Фармакокінетичний моніторинг дозволяє проводити корекцію лікування шляхом зміни дози, інтервалу прийому або лікарської форми.

Студент при вивченні даної дисципліни повинен вміти розробляти оптимальну схему лікування захворювання конкретного хворого, а також вміти здійснювати оптимізацію лікування відповідно до даних динамічного контролю ефективності та безпеки фармакотерапії.

В методичних вказівках представлені лабораторні роботи, які пов'язані з моделюванням деяких фармакокінетичних процесів та деяких механізмів проникнення речовин крізь гістогематичні бар'єри, з розрахунком деяких фармакокінетичних параметрів за допомогою позамодельних та модельних дослідів. Також значна увага приділя-

ється розрахунку концентрацій лікарського засобу в відповідних біо-об'єктах експериментальних тварин з метою визначення фармакокінетичних параметрів даного лікарського засобу.

Вивчення фармакокінетичних властивостей лікарського засобу в умовах його доклінічного випробування дає можливість не тільки встановити перспективні шляхи його введення, але й спрогнозувати спектр його потенційних органотропних ефектів, що, у свою чергу, визначає цілеспрямованість фармакологічних та токсикологічних досліджень. За експериментальними результатами фармакокінетичних досліджень встановлюється залежність «концентрація - ефект» лікарського засобу, завдяки чому можна дослідити як швидко препарат досягає системного кровообігу, з якою швидкістю цей процес відбувається; за який час досягається максимальна концентрація речовини, з якою швидкістю відбувається зниження цієї концентрації; який відбувається метаболізм даної речовини і з якою швидкістю і т. д.

Отже фармакокінетичні дослідження допомагають, з одного боку, більш детальному вивченню механізму дії лікарського засобу, з іншого, – допомагають провести більш оптимальну фармакотерапію.

ТЕХНІКА БЕЗПЕКИ ПРИ ВИКОНАННІ ЛАБОРАТОРНОЇ РОБОТИ

Правила роботи в лабораторії

Перед початком виконання лабораторних завдань студенти повинні ознайомитися з правилами роботи для працюючих у лабораторії, інструкціями з техніки безпеки та охорони праці, планом протипожежних заходів.

- Студенти повинні обов'язково підтримувати чистоту та порядок у лабораторії. Працювати дозволяється тільки у халаті.
- На робочому столі мають знаходитися лише предмети, які необхідні для проведення досліджень.
- Виконання лабораторних завдань дозволяється після попередньої підготовки. Викладач контролює готовність студентів до виконання лабораторних робіт.
- Не дозволяється виносити з лабораторії будь-які реактиви та проводити додаткові дослідження без погодження з викладачем.
- Після закінчення роботи ретельно вимити використаний посуд, привести в порядок робоче місце, вимкнути газ, воду та електричні прилади.

Заходи безпеки під час роботи в лабораторії

1. Під час роботи у лабораторії необхідно точно дотримуватися всіх заходів безпеки згідно з правилами та інструкціями.
2. Роботу з концентрованими кислотами та іншими речовинами, які виділяють їдкі або отруйні випари, а також із речовинами та розчинами, що мають сильний неприємний запах, проводять під тягою.
3. Під час роботи із шкідливими та отруйними речовинами (солями барію, меркурію, плюмбуму, арсену, купруму, металевою ртуттю, ціаністими сполуками, сірководнем та ін.) треба працювати обережно, щоб вони не потрапили в організм людини. Забороняється вживання їжі в хімічній лабораторії.
4. При порізах пересвідчитися, що в рані не залишилося уламків скла, обробити її розчином йоду і перев'язати.

5. При опіках зробити тривалі примочки розчином калію перманганату або компрес із спиртового розчину таніну.
6. При попаданні на шкіру концентрованої сірчаної кислоти необхідно спочатку витерти уражене місце сухим ватним тампоном або серветкою. Потім промити великою кількістю води. При опіках шкіри, слизових оболонок або очей кислотами спочатку добре промити уражене місце водою, а потім – 2 % розчином натрію гідрокарбонату.
7. При опіках їдкими лугами добре промити уражене місце водою, а потім – 1 % розчином оцтової або цитринової кислоти.
8. При опіках шкіри фенолом, бромом та подібними речовинами змити уражене місце великою кількістю спирту та змастити маззю від опіків.

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 1

МОДЕЛЮВАННЯ ПРОЦЕСУ ПРОНИКНЕННЯ РЕЧОВИНИ КРІЗЬ НАПІВПРОНИКНУ МЕМБРАНУ ЗА МЕХАНІЗМОМ ПРОСТОЇ ДИФУЗІЇ

Мета роботи: дослідити процес проникнення речовини крізь напівпроникну мембрану до акцепторної рідини за механізмом простої дифузії шляхом вимірювання кількості речовини, яка потрапила до розчину по іншу сторону мембрани залежно від часу експозиції.

Інформативний ресурс

Фармакокінетика дозволяє дослідити процеси надходження, розподілу, біотрансформації та елімінації лікарської речовини в організмі людини та встановити зв'язки між концентрацією даної речовини (і/або її метаболітів) у біорідинах, органах і тканинах та фармакотерапевтичною активністю з метою з'ясування оптимальної концентрації речовини в організмі для створення найкращого лікувального ефекту.

Лікарський препарат оформлено в певну лікарську форма, яка передбачає відповідний шлях введення, який певною мірою формує фармакокінетичні показники даного лікарського засобу.

Якщо конкретній хворій людині призначається відповідна фармакотерапія, дуже велике значення має знання основних принципів фармакокінетики, уміння ними користуватися для обрання лікарської форми, дозування та інтервалів прийому ліків. Дослідження фармакокінетичних параметрів лікарського засобу вкрай важливе, якщо людина має супутні патологічні захворювання печінки, нирок, серця і т. д., що може потребувати корекції в призначенні доз та певних лікарських засобів.

Отже, основна задача фармакокінетики – оцінити фармакокінетичні параметри лікарського засобу, на основі яких побудувати ефективну та безпечну медикаментозну терапію.

Завдяки фармакокінетиці ми маємо можливість вивчати діючу речовину в організмі на рівні її концентрацій у будь-який момент у

будь-якій ділянці організму. На рівень концентрації речовини в організмі впливають два основні процеси:

1. Переміщення молекул лікарської речовини;
2. Хімічна трансформація молекули.

Переміщення молекул діючої речовини в організмі пов'язане з подоланням бар'єрів з клітинних мембран, що залежить від фізико-хімічних характеристик самої молекули та її розміру.

Для забезпечення фармакологічного ефекту лікарська речовина повинна проникнути з місця введення до системного кровообігу, а звідти потрапити до відповідного органа – мішені. Спосіб введення обумовлює фармакокінетику лікарського засобу: якщо лікарський препарат ентерального призначення, він повинен подолати клітини слизової оболонки шлунково-кишкового тракту та ендотеліальні клітини судинної стінки. При внутрішньовенному введенні діюча речовина долає також шар клітин ендотелію.

У своїй більшості біологічні мембрани клітин складаються з подвійного шару молекул фосфоліпідів та білкових молекул, які формують пори мембрани.

Незважаючи на різноманітність біологічних структур, які виконують роль гістогематичних бар'єрів, принцип проникнення крізь них речовин є подібним. В основі його лежать наступні механізми подолання:

- пасивна дифузія;
- полегшена дифузія;
- осмос;
- активний транспорт;
- цитози.

Перелічені механізми здійснюються за двома видами мембранного транспорту: пасивного та активного.

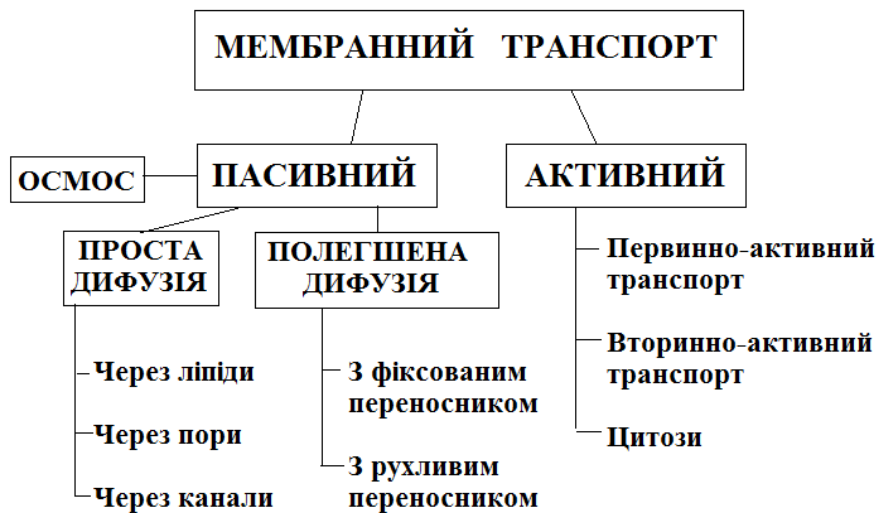


Рис. 1. Схема основних видів транспорту речовин крізь мембрану клітини

Пасивний транспорт здійснюється за градієнтом концентрації, таким механізмом користуються дрібні молекули (кисень, вода, вуглекислий газ) та ліпофільні молекули, які проходять крізь ліпідний бішар мембрани.

Активний транспорт відбувається проти градієнта концентрації, таким чином переносяться молекули глюкози, жирних кислот. До цього виду транспорту належать калієво-натрієвий канал та натрій-калієва помпа. Перенесення відбувається з витратою енергії за рахунок Na^+ - K^+ -АТФ-ази.

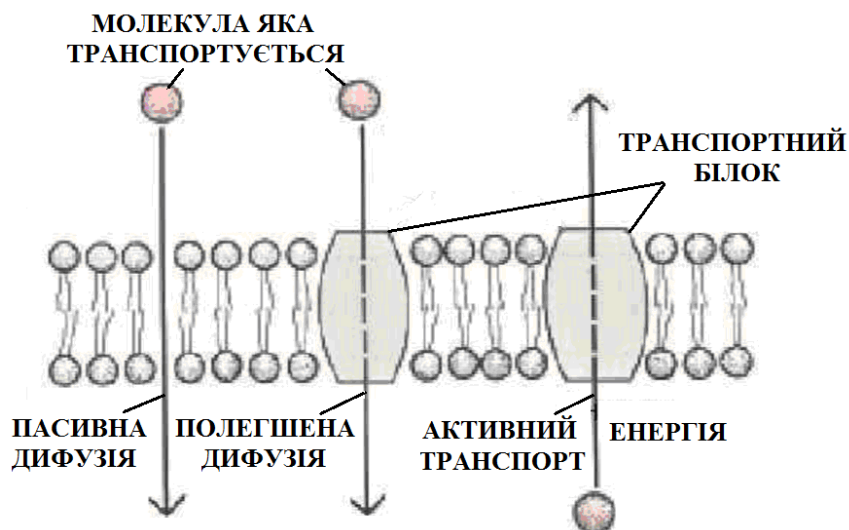


Рис. 2. Схема активного та пасивного транспорту речовин крізь мембрану клітини

Фільтрація являє собою перенесення молекул розчинника під дією градієнта тиску. Таким чином, причиною і рушійною силою в процесі фільтрації є різниця тисків.

Осмо́с – це дифузія води через напівпроникну мембрану з області меншої концентрації розчиненої речовини в область більшої її концентрації.

У той час як дифузія транспортує молекули крізь мембрани клітини, осмос транспортує лише воду, а сама мембрана обмежує дифузію розчинених речовин у воді. Таким чином, осмос є окремим випадком дифузії. Сила, яка викликає рух молекул розчинника (води) називається осмотичним тиском.

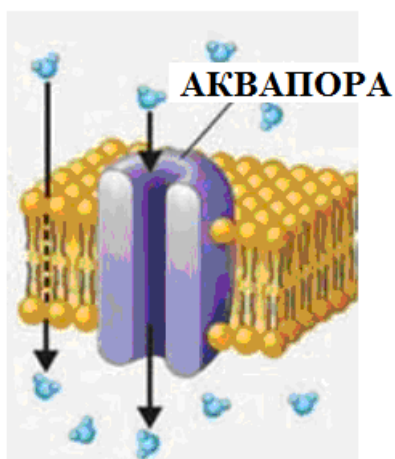


Рис. 3. Схема проникнення молекул води за допомогою осмосу

Відповідно до осмотичного тиску, розчин буває трьох типів: ізотонічний, гіпотонічний і гіпертонічний.

Ізотонічний розчин – концентрація позаклітинної розчиненої речовини збалансована концентрацією всередині клітини. В ізотонічному розчині молекули води все ще рухаються між розчинами, але швидкість однакова в обох напрямках, таким чином рух води збалансовано між внутрішньою та зовнішньою частинами клітини.

Гіпотонічний розчин – концентрація розчиненої речовини поза клітиною нижча, ніж концентрація всередині клітини. У гіпотонічних розчинах вода рухається всередину клітини за градієнтом її концентрації (від вищої до меншої концентрації води). Це може призвести до набряку клітини.

Гіпертонічний розчин – концентрація розчиненої речовини вища за концентрацію всередині клітини. У гіпертонічному розчині вода буде виходити, спричиняючи скорочення клітини.

Цитози – це транспортування речовин крізь клітинну мембрану за везикулярним механізмом, тобто транспортування методом ендоцитозу або екзоцитозу.

Екзоцитоз – це транспортування речовини, що знаходиться у везикулі, з клітини назовні (а). Прикладом такого транспорту є виділення нейромедіаторів крізь пресинаптичну мембрану при її деполяризації. Везикула зливається з пресинаптичною мембраною, а потім її вміст потрапляє назовні у синаптичну щілину.

Ендоцитоз – це транспортування речовини всередину клітини шляхом інвагінації мембрани, яка утворює везикулу і переносить речовину у цій везикулі в клітину (б). На цьому принципі ґрунтується фагоцитоз – транспортування речовин для внутрішньоклітинного травлення.

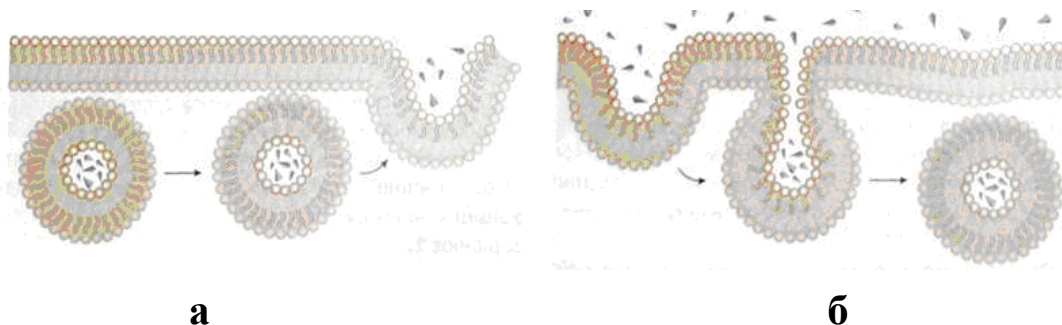


Рис. 4. Схема транспорту речовин за допомогою цитозів

Також розрізняють ендоцитози залежно від фізичного стану речовини, яка поглинається:

- Піноцитоз – це процес поглинання клітиною рідини та розчинених речовин.
- Фагоцитоз – це процес поглинання клітиною твердих об'єктів мікроскопічного розміру.

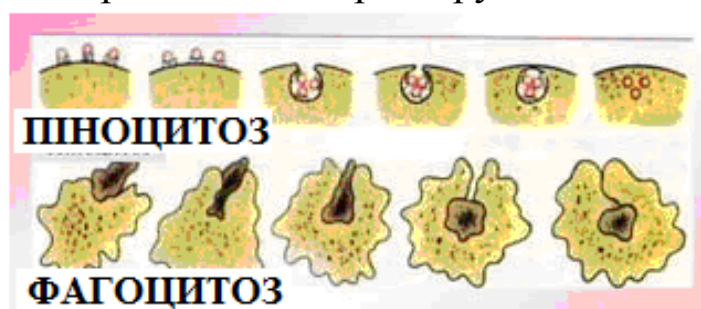


Рис. 5. Схема ендоцитозу

Пасивна дифузія

Це процес, якій відбувається без витрат енергії та можливий у двох протилежних напрямках: всередину клітин і назовні. Напрямок пасивної дифузії і її швидкість визначаються різницею концентрацій речовини по обидва боки мембрани. Пасивна дифузія відбувається у напрямі від більш високої концентрації лікарської речовини до більш низької (за градієнтом концентрації) і триває до повного вирівнювання концентрації по обидва боки мембрани, тобто досягнення термодинамічної рівноваги. Отже рушійною силою пасивної дифузії є градієнт концентрації лікарської речовини.

Пасивна дифузія – це вид пасивного транспорту речовини крізь мембрану за концентраційним градієнтом, який підпорядковується закону Фіка.

За законом дифузії Фіка, дифузійний потік речовин, що рухаються в напрямку меншої концентрації за одиницю часу (J), пропорційний дифузійному коефіцієнту (D), площі дифузії (S), градієнту концентрації (C_i – в клітині – C_e – поза клітиною), і обернено пропорційний шляху дифузії (X), знак «-» означає, що речовина рухається за концентраційним градієнтом – від більшої концентрації до меншої:

$$J = - \frac{D \cdot S}{X} (C_i - C_e)$$

Шляхом пасивної дифузії всмоктуються ліпофільні (головним чином неполярні) речовини. Чим вищий показник ліпофільності речовини, тим легше вона проникає крізь мембрану клітини.

Також значна кількість лікарських речовин є або слабкими кислотами або слабкими основами, які схильні до іонізації. Шляхом пасивної дифузії проникають електроліти (калій, натрій), слабкі органічні кислоти (бензойна), органічні неелектроліти (спирт етиловий).

Дуже погано всмоктуються полярні та іонізовані форми лікарських засобів. За механізмом пасивної дифузії транспортуються лікарські речовини, які є стабільними органічними кислотами (наприклад, ацетилсаліцилова кислота, бензойна кислота, діакарб, тіопентал, барбітурати) і стабільними органічними основами (наприклад, амідопі-

рин, резерпін, аміназін, хінін), а також органічні неелектроліти (етиловий спирт, сечовина).

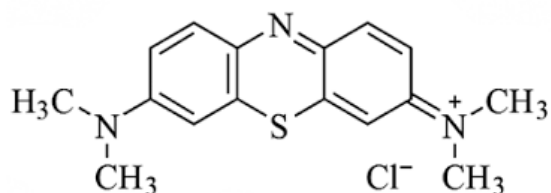
Нейтральні молекули внаслідок більшої ліпофільності легше дифундують крізь мембрану, ніж іони і полярні молекули.

Схема експерименту

Для дослідження процесу пасивної дифузії необхідна комірка Франца вертикального типу, напівпроникна мембрана, спектрофотометр, дистильована вода, метиленовий синій, піпетки, штатив, гумові груші.

	
Комірка Франца	Напівпроникна мембрана – полікарбонатна мембрана, з розміром пор 1 мкм, діаметр мембрани 47 мм

В якості модельної речовини використовується метиленовий синій, який потрапляє крізь напівпроникну мембрану з розчина-донора до рідини-акцептора (води) залежно від часу, за який здійснюється дифузія. Кількість метиленового синього, який потрапив до рідини-акцептора вимірюється за допомогою спектрофотометричного аналізу.



Метиленовий синій

В якості вихідного розчину використовується 0,05 % водний розчин метиленового синього. Для кількісного визначення речовини, яка

проникла до акцепторної рідини необхідно побудувати калібрувальний графік залежності оптичної густини водного розчину метиленового синього від його концентрації. Для цього необхідно зробити відповідне розведення вихідного розчину за таблицею 1.

На спектрофотометрі вимірюють оптичну густину отриманих розчинів при довжині хвилі 750 нм з довжиною поглинаючого шару 10 мм; в якості розчину порівняння використовується дистильована вода. Отримані дані оптичної густини заносяться до таблиці 1. На основі отриманих даних будують калібрувальний графік залежності оптичної густини розчину метиленового синього від його концентрації. За графіком визначають рівняння прямої та вірогідність її апроксимації.

Таблиця 1

Отримання концентрації розчинів метиленового синього шляхом розведення вихідного розчину

№	Концентрація метиленового синього, мг/100 мл	Кількість вихідного розчину, мл	Кількість дистильованої води, мл	Оптична густина А
1.	0,78	0,05	3,95	
2.	1,56	0,12	3,88	
3.	3,13	0,25	3,75	
4.	6,25	0,5	3,5	
5.	12,5	1	3	
6.	25	2	2	
7.	30	3	1	
8.	50	4	0	

Для моделювання процесу дифузії внутрішній флакон комірки Франца заповнюють повністю дистильованою водою, обережно накривають мембраною, закріплюють та зверху поміщають 3 мл 0,05 % розчину метиленового синього. Через певний проміжок часу вимірюють оптичну густину рідини акцептора в тих самих умовах, в яких будувалась калібрувальна залежність. Отримані дані зносять до таблиці 2.

**Залежність оптичної густини акцепторного розчину
від часу дифузії**

№	Час дифузії	Оптична густина	Концентрація метиленового синього, мг/100 мл
1.	20 хв.	0,05	
2.	40 хв.	0,08	
3.	1 год.	0,11	
4.	1,5 год.	0,15	
5.	2 год.	0,19	
6.	2,5 год.	0,23	
7.	3 год.	0,27	

Зі збільшенням часу експозиції збільшується кількість метиленового синього, який потрапив крізь напівпроникну мембрану.

Кількісною характеристикою швидкості дифузії речовини є щільність її потоку J . В нашому експерименті J уявляє собою кількість метиленового синього dn (мг/100 мл), яка проникає за одиницю часу dt (год.) крізь одиницю поверхні мембрани S (см), яка розташована перпендикулярно до направлення потоку:

$$J = \frac{dn}{dt} \cdot \frac{1}{S}$$

Для розрахунку щільності потоку метиленового синього крізь мембрану необхідно розрахувати, скільки в середньому проходить цієї речовини за 0,5 год експозиції, починаючи через 1 годину з початку експерименту, коли процес стає рівноважним. Діаметр робочої поверхні мембрани, крізь яку здійснюється дифузія, дорівнює 1 см. Відповідно, робоча поверхня мембрани уявляє собою площу круга з радіусом R (см):

$$S = \pi R^2$$

Висновки

На основі отриманих даних лабораторної роботи формулюють висновки щодо залежності кількості проникної речовини крізь мембрану від часу пасивної дифузії та стосовно отриманої величини щільності потоку дифузії за даними умовами експерименту.

Контрольні питання

1. Що собою уявляє фармакотерапія як наука?
2. Що вивчає фармакокінетика лікарських засобів?
3. У якому вигляді нам дозволяє вивчати фармакокінетика лікарські засоби в організмі?
4. В чому основна задача фармакокінетики?
5. Які основні процеси в організмі впливають на фармакокінетику лікарських засобів?
6. Що обумовлює фармакокінетику лікарських засобів з точки зору їх лікарської форми?
7. Які є основні механізми подолання речовиною гістогематичних бар'єрів?
8. Які механізми подолання мембран належать до пасивного транспорту?
9. Які механізми подолання мембран належать до активного транспорту?
10. Що собою уявляє пасивна дифузія як шлях проникнення лікарських засобів в організм? Основне рівняння.
11. Що собою уявляє полегшена дифузія як шлях проникнення лікарських засобів в організм? З чим пов'язане насичення процесу?
12. Що собою уявляє активний транспорт як шлях проникнення лікарських засобів в організм.
13. Що собою уявляє осмос як шлях проникнення лікарських засобів в організм? Чим він відрізняється від фільтрації?
14. Які є три типи осмосу? В чому їх сутність?
15. Що собою уявляє цитоз як шлях проникнення лікарських засобів в організм?
16. Які є види ендоцитозу залежно від фізичного стану речовини, яка поглинається?
17. Що собою уявляє калібрувальний графік залежності оптичної густини розчину речовини від її концентрації у розчині? Який загальний вид має рівняння калібрувальної залежності?

ЗАГАЛЬНІ ПОЛОЖЕННЯ ПРОВЕДЕННЯ ЕКСПЕРИМЕНТІВ З ФАРМАКОКІНЕТИКИ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

1. Лабораторні тварини

Дослідження фармакокінетики лікарських засобів або лікарської речовини рекомендується проводити на здорових спеціально виведених лабораторних тваринах з чітко встановленим віком та масою тіла. Відхилення показнику маси тіла тварин не повинне перевищувати 10 % від середнього показника. Всі експерименти на тваринах проводяться відповідно до принципів Українського національного конгресу з біоетики.

2. Шляхи, методи та інтервали введення лікарських засобів

Фармакокінетику лікарського засобу необхідно вивчати при таких шляхах введення, які використовуються для його фармакологічного, хіміотерапевтичного та токсикологічного вивчення. Навіть у тому випадку, якщо лікарський засіб передбачається використовувати тільки поза судинним шляхом, рекомендується вивчати фармакокінетику також цього засобу при внутрішньовенному введенні, якщо дозволяє розчинність даного лікарського засобу. Це є необхідним з метою оцінювання певних фармакокінетичних параметрів, а також абсолютної біодоступності лікарського засобу.

Внутрішньовенно лікарські засоби можна вводити у хвостові вени мишей та щурів, вушні вени морських свинок та кролів. При тривалому введенні лікарських засобів допускається заміна внутрішньовенного введення на внутрішньочеревне.

До шлунку лікарські засоби вводяться зазвичай натщесерце, тобто тварини не отримують їжі протягом ночі, але мають вільний доступ до води. Введення проводиться за допомогою глоткового або дуоденального зонду. Додавання лікарського засобу до їжі або води не рекомендовано, що може спричинити неконтрольоване дозування ліків.

Внутрішньом'язове введення лікарських засобів здійснюється в гомілковий м'яз; підшкірне введення здійснюється в задню кінцівку

мишей, щурів; нашкірне введення – на попередньо дигельйовану ділянку спини або живота щурів, морських свинок та кролів.

Залежно від лікарської форми також можливе заковування розчину або аплікація мазей на слизову оболонку ока, інстиляція в передню камеру ока, введення супозиторіїв, інгаляція парів, внесення лікарського засобу у шкіряні та м'язові кишені, імплантація під шкіру, порожнини тощо.

Обов'язковим є вивчення фармакокінетики лікарського засобу при його однократному введенні.

Фармакокінетику лікарського засобу вивчають при його введенні в декількох дозах, які відображають діапазон дозування лікарського засобу, в якому реалізується терапевтичний ефект без прояву побічної дії. Це є необхідним для оцінювання взаємозв'язку між концентрацією (C) та дозою (D) лікарського засобу (перевірка гіпотези щодо лінійності). Висновок про лінійність може бути зроблений за умови поєднання фармакокінетичних кривих, нормованих щодо дози (криві зміни C/D від часу), або якщо значення параметрів фармакокінетики не залежать від дози. У тих випадках, коли лінійність фармакокінетики зберігається лише в обмеженому діапазоні використаних доз, слід зазначити його межі.

Вивчення фармакокінетики при тривалому введенні лікарської речовини може мати більш обмежений характер, спрямоване головним чином на виявлення особливостей фармакокінетики (уповільнення або прискорення процесів розподілу та/або елімінації), які не виявляються при одноразовому введенні лікарського препарату. Одне з досліджуваних дозувань має бути більш високим, яке є граничне з дозою, що спричиняє побічну дію. Це дозволить встановити, чи пов'язаний розвиток токсичних ефектів лікарської речовини зі зміною в її фармакокінетиці, наприклад, внаслідок насичення певних процесів перенесення лікарської речовини. З іншого боку, це також дозволяє оцінити потенційно токсичні рівні препарату в крові та органах. Тривалість повторюваного введення та інтервал дозування може відповідати використовуваним у фармакологічних та токсикологічних дослідженнях (як правило 24 години).

3. Біологічний матеріал, в якому визначається концентрація лікарської речовини

Дуже важливим елементом фармакокінетичного вивчення лікарської речовини є дослідження динаміки зміни її концентрації у крові (плазмі, сироватці). Така інформація дозволяє отримати загальні уявлення про фармакокінетичні властивості лікарської речовини на всіх фармакокінетичних етапах (лінійність або нелінійність фармакокінетики, особливості всмоктування при позасудинному введенні, особливості розподілу та елімінації). Складовою частиною цих досліджень є оцінка показників зв'язування лікарської речовини з білками плазми або розподілу між плазмою та еритроцитами.

Поряд із вивченням зміни динаміки концентрації речовини в крові (плазмі, сироватці) необхідно досліджувати розподіл цієї речовини у тканинах організму.

При виконанні досліджень такого типу можна обмежитись одним видом тварин. Вибір тканин здійснюється з урахуванням ступеня їх васкуляризації та фізико-хімічних властивостей лікарської речовини. В якості сильно васкуляризованих тканин можна використовувати, наприклад, серце або селезінку; помірно васкуляризованих – м'язи; слабо васкуляризованих – сальник, шкіру або кістки (у всіх випадках по одному виду матеріалу). Крім того, необхідні дані розподілу лікарської речовини в органах, які забезпечують елімінацію (печінка, нирки) і в зоні потенційної дії (наприклад тканина легені, якщо лікарський засіб передбачається застосовувати при пневмонії; або тканина головного мозку при застосуванні лікарського засобу при менінгітах і т. д.).

Підсумком вивчення розподілу лікарської речовини по органах і тканинах є виявлення тих з них, в які речовина інтенсивно проникає та/або довго утримується, що може мати істотне значення для фармакодинамічних досліджень.

Важливим етапом є вивчення екскреції лікарської речовини з сечею, жовчю та фекаліями. Важливою особливістю такого дослідження є характеристика швидкості екскреції (відношення кількості лікарської речовини, яка виділяється за певний проміжок часу, до тривало-

сті інтервалу взяття проб у різні періоди після введення препарату) та/або кумулятивної екскреції (сумарна кількість лікарської речовини, яка виділилася з даним видом екскрету за весь період спостереження).

Детальна інформація може бути отримана при дослідженні кінетики виділення із сечею та калом експериментальних тварин. Незалежно від особливостей аналізу даних збирання екскрету, що містить лікарську речовину, має проводитися порційно, інтервал досліду 3-5 $T_{0,5}$ виділення.

У тих випадках, коли максимальна кількість речовини, що виділилася з вивченими екскретами, значно нижча за дозу (нижче 50 % від введеної дози препарату), необхідно з'ясувати, чи не містяться в екскретах продукти метаболізму лікарської речовини. Детальне вивчення кінетики утворення та елімінації метаболітів проводиться лише за умови, що внесок процесу перетворення лікарського засобу у зазначений метаболіт, в елімінацію препарату перевищує 20 %, а метаболіт володіє самостійною фармакологічною активністю.

4. Тривалість фармакокінетичного експерименту

Тривалість виявлення лікарської речовини у досліджуваному виді біоматеріалу має бути не менше 3-5 величин періоду напіввиведення. При вивченні фармакокінетики речовини, яка дуже повільно елімінується з організму, спостереження за її концентрацією в біоматеріалах може бути скорочено до 3-х періодів напіввиведення.

При фармакокінетичному вивченні лікарських речовин у складі лікарських форм, які забезпечують пролонговане вивільнення активного компонента, спостереження за концентрацією слід проводити хоча б до початку моноекспоненційної (кінцевої) ділянки фармакокінетичної кривої.

5. Методика відбору проб біоматеріалу

Регламент визначається формою фармакокінетичної кривої "концентрація лікарської речовини – час", причому, чим складніше форма кривої, тим частіше потрібно відбирати проби для отримання більш

точної картини профілю кривої та надійнішої оцінки фармакокінетичних параметрів.

Для попередньої оцінки регламенту взяття проби доцільно провести попередні дослідження з використанням завищених доз щодо планованих. При цьому слід здійснювати вимірювання в часові інтервали, які зростають у геометричній прогресії з періодом, рівним 2 (наприклад, через 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8 і т. д. з моменту введення лікарської речовини).

У будь-якому випадку вибір моменту часу для взяття проб повинен забезпечити отримання кількох (не менше 2-х) точок для кожного фрагмента кривої фармакокінетичної. Особливу увагу треба звернути на кінцеву ділянку, нахил якої визначає величину основних фармакокінетичних параметрів. Таким чином, бажано відібрати 3–4 проби біоматеріалу у період найбільш повільного зниження концентрації лікарської речовини.

Кінетична інформація, що отримується в результаті попереднього експерименту, дозволяє оцінити період напіввиведення лікарської речовини і, тим самим дозволяє встановити необхідну тривалість спостереження за концентрацією (або швидкістю екскреції) лікарської речовини для наступного основного експерименту.

6. Методи кількісного визначення концентрації лікарської речовини в біологічному матеріалі

Для визначення концентрації лікарських речовин у біоматеріалі можуть бути використані різні методи: фізико-хімічні, імунологічні, мікробіологічні та ін. Вони забезпечують можливість достовірного стеження за концентрацією препарату згідно з вибраними умовами фармакокінетичного експерименту, зокрема, його тривалості, яка становить 3–5 періодів напіввиведення та інтервалу відбору проб.

Для визначення концентрацій нових лікарських речовин краще використовувати радіометричні методи визначення вмісту мічених сполук з радіоактивним ізотопом у хімічній структурі (початкові сполуки, метаболіти, загальна радіоактивність), які засновані на рідинній сцинтиляційній фотометрії. Даний метод має високу чутливість, що

дозволяє отримати статистично коректні значення одиничних та групових вимірювань. Для інших методів визначення концентрацій лікарських речовин необхідне приведення відповідних метрологічних характеристик.

7. Вивчення метаболізму лікарських засобів

Для нових лікарських засобів при проведенні фармакокінетичних досліджень поряд з визначенням параметрів розподілу в органах і тканинах, виведення з організму важливим є дослідження метаболізму лікарського препарату.

Основними характеристиками ступеня трансформації лікарських речовин в організмі в метаболіти є величини відносної ефективності екскреції сполуки з організму в незмінному вигляді (ω_1):

$$\omega_1 = \frac{[\sum S]_t}{D}$$

де:

$[\sum S]_t$ – сумарна кількість виведеної з організму в незмінному вигляді сполуки за час експерименту;

t – час експерименту, $t \geq 5T_{0,5}$;

D – доза введеної сполуки.

Дослідження цього показника доцільно за можливості кількісного визначення вихідної сполуки в сечі та калі.

Другий показник – величина відносної ефективності біотрансформації (ω_2), яка визначається на підставі даних про сумарну екскрецію незмінної вихідної сполуки, наприклад, міченого радіонуклідом, та кількості загального радіоактивного матеріалу $[S_{\text{сум}}]$, за тих самих умов – $t \geq 5T_{0,5}$.

Якщо величина має недостовірну різницю, лікарська речовина в організмі підлягає біотрансформації в незначній мірі.

Лікарські речовини, за показниками метаболізму, можна поділити на кілька груп:

1. Сполуки, які переважно виділяються з організму в незмінному вигляді, $\omega_1 \approx 1$, $\omega_2 \approx 0$ (наприклад: закис азоту, діетиловий ефір тощо).

2. Сполуки, що інтенсивно перетворюються на неактивні метаболіти, $\omega_1 \approx 0$, $\omega_2 \approx 1$ (наприклад: лоразепам, тазепам, 90 % введеної дози яких виділяються у вигляді глюкуронових кон'югатів).

3. Сполуки, які трансформуються в метаболіти, що мають певну фізіологічну активність. В даному випадку, динаміка їх фармакологічного ефекту обумовлена присутністю в організмі вихідної сполуки та її активних метаболітів (наприклад: діазепам та його некон'юговані метаболіти – диметилдіазепам та оксазепам).

Також є окрема група лікарських сполук – проліки, так звані метаболічні попередники лікарських речовин.

Фармакологічний ефект проліків обумовлений їхньою біотрансформацією в організмі у фармакологічно активні сполуки, які і надають фармакологічну дію. Вихідна сполука, яка відноситься до проліків, фармакологічної активності не виявляє (наприклад: пронтозил, пептидамідобензофенони – проліки, а їх відповідні активні форми – стрептоцид і 1,4-бенздіазепіни).

Для перших двох груп лікарських речовин детальне вивчення метаболізму не є доцільним. Для третьої групи та проліків дослідження вмісту вихідної сполуки та метаболітів у крові, тканинах та органах є обов'язковим.

На підставі хімічної структури сполуки можна спрогнозувати основні напрямки метаболізму, детермінованих генетично.

Вивчення процесів метаболізму лікарської сполуки в організмі проводиться за такою схемою:

1. Дослідження показників розподілу та екскреції вихідної сполуки, визначення величини ω_1 .

2. Дослідження показників розподілу та екскреції загальної радіоактивності з організму експериментальних тварин після введення їм мічених радіонуклідом ліків, визначення ω_2 .

3. Дослідження показників розподілу та екскреції основних груп метаболітів з різними фізико-хімічними властивостями: вільних,

кон'югованих, пов'язаних з білками біопроб, залишкових, водорозчинних тощо.

4. Дослідження показників розподілу та екскреції окремих метаболітів. Цей етап пов'язаний з попереднім встановленням хімічної структури сполуки та фізико-хімічних властивостей.

5. Дослідження показників накопичення ліків в організмі за умови нелінійності процесів їх біотрансформації, індукції ферментних систем та інших факторів, що впливають на відносну ефективність кінетики, їхнього масопереносу та метаболізму в організмі.

6. Порівняльне дослідження показників екскреції та розподілу фізіологічно активного метаболіту (продукту біотрансформації проліки), при його безпосередньому введенні в організм відповідно до аналогічних показників, що визначаються за умовами введення тваринам проліки (біохімічного попередника метаболіту).

Вивчення метаболізму ґрунтуються на кількісних фізико-хімічних методах визначення вихідної сполуки та продуктів їх біотрансформації (радіометричних, спектрофотометричних, спектрофлуориметричних, полярографічних тощо), яким передують процеси виділення вихідної сполуки та її метаболітів із відповідних біологічних проб. Виділення речовин реалізується шляхом використання екстракційних методів, після чого проводять очищення від коекстрактивних речовин та розподіл з використанням хроматографічних методів.

Встановлення структури метаболітів зазвичай здійснюється методами мас-спектрометрії, хромато-мас-спектрометрії, ямс-спектрометрії тощо. Оптимальним є зустрічний синтез структурних аналогів метаболітів та порівняння їх фізико-хімічних властивостей із сполуками, виділеними з біологічного матеріалу.

8. Обробка фармакокінетичних даних

Аналіз експериментальних даних може бути здійснений на підставі математичного аналізу формальних або фізіологічних (перфузійних моделей), лінійних або нелінійних моделей; або на основі поза-модельної оцінки кінетичних параметрів.

Критерієм достатності проведеного аналізу є:

- статистична коректність розрахункових значень фармакокінетичних параметрів; сопоставимість розрахункових значень кінетики вмісту ліків у внутрішньому середовищі організму та кінетики його екскреції експериментальним величинам;
- сукупність фармакокінетичних параметрів повинна загалом описувати основні процеси взаємодії "ліки - організм" для всієї дози сполуки, що вводиться до організму.

Контрольні питання

1. При яких шляхах введення необхідно вивчати фармакокінетику лікарських засобів?
2. Які шляхи введення лікарської речовини тваринам використовують для вивчення її фармакокінетики?
3. Який діапазон доз використовують для вивчення фармакокінетики?
4. Що означає лінійність фармакокінетики?
5. Який біологічний матеріал використовується для вивчення фармакокінетики?
6. За якими характеристиками тканин здійснюється їх вибір для вивчення фармакокінетики?
7. Для чого вивчають екскрецію лікарської речовини з екскретамми?
8. Які є особливості вивчення кінетики екскреції стосовно інтервалу дослідду?
9. Які є особливості вивчення фармакокінетики залежно від фізико-хімічних властивостей лікарської речовини?
10. Як визначається регламент взяття проб для вивчення фармакокінетики лікарської речовини?
11. Які фізико-хімічні методи застосовуються для визначення концентрації лікарської речовини у біоматеріалі?
12. Які основні характеристики ступеню трансформації лікарських речовин в організмі?
13. Які є групи лікарських речовин відповідно до показників метаболізму?
14. Що собою уявляють «проліки»?

15. За якою схемою здійснюється вивчення процесів метаболізму лікарської сполуки?
16. Які фізико-хімічні методи використовуються для визначення метаболітів у біологічних тканинах?
17. Які є критерії достатності що до фармакокінетичного аналізу?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 2

РОЗРАХУНОК ФАРМАКОКІНЕТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ. ПОЗАМОДЕЛЬНА ОЦІНКА ПАРАМЕТРІВ ФАРМАКОКІНЕТИКИ

Мета роботи: навчитися розраховувати основні фармакокінетичні параметри лікарських засобів шляхом використання позамоделльної оцінки фармакокінетики, яка ґрунтується на прямому методі аналізу експериментальних даних.

Інформативний ресурс

Головне завдання фармакокінетики – вивчення трансформації лікарських засобів в організмі тварин у нормі та за умов моделювання різних захворювань.

Для визначення фармакокінетичних параметрів лікарського засобу організм людини чи експериментальної тварини розглядають як особливе біологічне середовище, де відбувається розподіл лікарських засобів в органах, тканинах, клітинах, субклітинних структурах, біотрансформація, а також взаємодія лікарських речовин з тканинними рецепторами.

Один із основних показників, що визначають ефективність лікарських засобів, є концентрація лікарської речовини в ділянці рецептора або тканини, де відбувається їх взаємодія. Визначити концентрацію лікарських речовин в організмі людини, в окремому органі чи тканині практично неможливо. Для з'ясування фармакокінетичних параметрів реєструють кількість лікарської речовини в крові, оскільки здебільшого існує залежність між концентрацією речовини в крові та ділянці рецептора. На основі отриманих даних будують графік – фармакокінетичну криву. На осі ординат зазначають концентрацію речовини у плазмі крові, а на осі абсцис – термін дослідження.

Камера – умовне поняття в фармакокінетиці, під яким розуміють простір певного об'єму з концентрацією лікарської речовини в цьому просторі. Це не є анатомічний простір.

Розрізняють центральну камеру (так звана біофаза дії лікарського засобу) – кров і органи, що мають інтенсивне кровопостачання (серце, нирки, легені, ендокринні залози, печінка, кишки), і периферичну – органи з менш інтенсивним кровопостачанням (шкіра, підшкірна клітковина, м'язи, жирова тканина та ін.).

У міру виведення речовини з організму її концентрація знижується. Цей період позначають як фазу перерозподілу (α -фаза). У подальшому виведення лікарської речовини прискорюється, відбувається міграція її з периферичної камери до центральної, що позначають як фазу виведення (β -фаза) (рис. 6). Між α - і β -фазами у певному часовому інтервалі настає стан рівноваги.

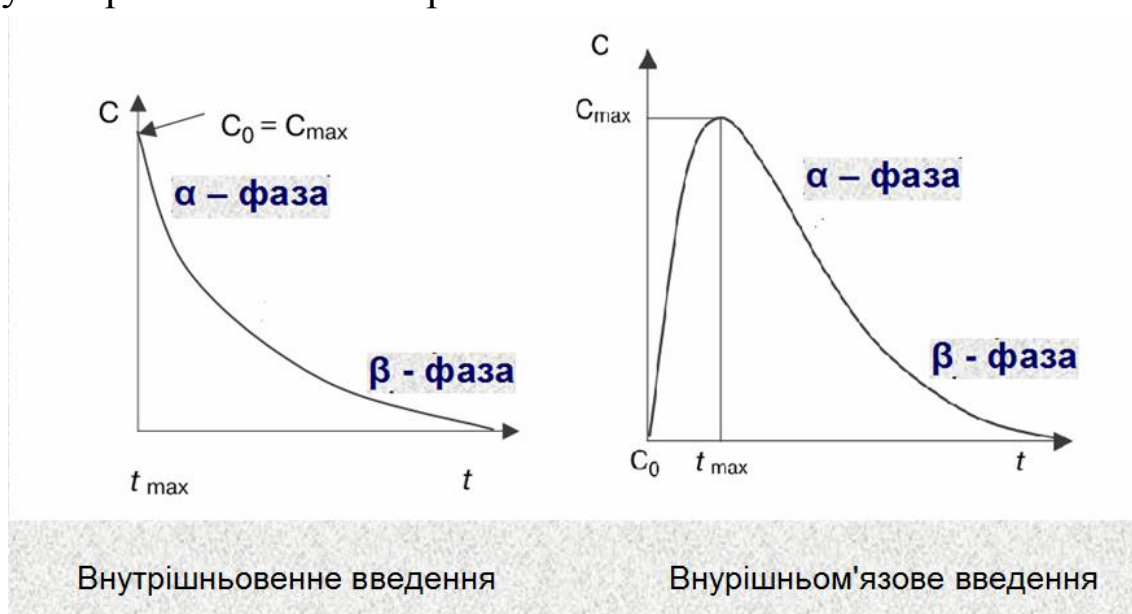


Рис. 6. Зміна концентрації лікарського засобу в крові залежно від часу

Умовно взаємодія лікарської речовини з організмом відбувається за однокамерною або багатокамерною моделлю і характеризується концентрацією лікарської речовини та об'ємом розподілу.

Основні фармакокінетичні параметри

Константа швидкості елімінації (позначення k_{el} , розмірність год^{-1} , хв^{-1}) – параметр, який характеризує швидкість елімінації препарату з організму шляхом екскреції та біотрансформації. У багаточастинних моделях величина k_{el} зазвичай характеризує елімінацію препарату з центральної камери, що включає кров і тканини, які швидко

обмінюються препаратом з кров'ю. Елімінацію препарату з організму в даному випадку характеризує **уявна константа елімінації** – комплексний параметр (позначення β , розмірність год^{-1} , хв^{-1}), пов'язаний з іншими константами моделей.

Константа швидкості абсорбції (всмоктування) (позначення k_{abs} , розмірність год^{-1} , хв^{-1}) – параметр, який характеризує швидкість надходження препарату з місця введення до системного кровотоку при позасудинному способі введення.

Константа швидкості переходу препарату між камерами в багатоканалерних (багаточастинних) моделях (позначення k_{ij} , розмірність год^{-1} , хв^{-1}) – параметр, який характеризує швидкість виходу препарату з камери. Наприклад, у двочастинній моделі існують дві константи швидкості переходу – одна характеризує швидкість переходу з центральної камери в периферичну і позначається k_{12} ; інша характеризує зворотний процес та позначається k_{21} . Відношення цих констант визначає рівноважний розподіл препарату. Сумарно кінетика процесу розподілу між двома камерами характеризується комплексним параметром, який залежить від констант швидкостей усіх фармакокінетичних процесів, які враховує модель. У рамках двочастинної моделі цей параметр позначають α його розмірність год^{-1} , хв^{-1} .

Константа швидкості екскреції (позначення k_{ex} , розмірність год^{-1} , хв^{-1}) – параметр, який характеризує швидкість виділення препарату з будь-яким екскретом: із сечею, калом, слиною, молоком тощо. У рамках лінійної моделі ця константа повинна збігатися за величиною з константою швидкості елімінації в тому випадку, якщо препарат виводиться з організму тільки в незмінному вигляді з одним екскретом. В інших випадках k_{ex} дорівнює частці від k_{el} .

Період напівелімінації або напіввиведення препарату (позначення $T_{1/2}$ або $T_{0,5}$, розмірність год , хв) – час елімінації з організму половини від введеної дози препарату, що надійшла. Відповідає часу зменшення вдвічі концентрації препарату в плазмі крові на ділянці моноекспоненціального зниження плазматичного рівня препарату, тобто у β -фазі.

За один період напіввиведення виводиться 50 % введеної дози лікарської речовини, за два – 75 %, за три – 87,5 % тощо. Вважається, що для повного виведення лікарської речовини з організму необхідно 4–5 періодів напіввиведення.

Величина визначається сумарно екскрецією та біотрансформацією речовини тобто її елімінацією. Період напівелімінації залежить від константи швидкості елімінації: для одночастинної моделі $T_{1/2}=0,693/k_{el}$; для багаточастинної моделі $T_{1/2}=0,693/\beta$.

Період напівабсорбції (напіввсмоктування) препарату (позначення $T_{1/2a}$, розмірність год, хв) – час, який необхідний для абсорбції (всмоктування) з місця введення в системний кровообіг половини введеної дози. Параметр використовується для опису кінетики препарату у разі позасудинного введення і залежить від константи швидкості всмоктування препарату.

Період напіврозподілу препарату (позначення $T_{1/2\alpha}$, розмірність год, хв) – умовний параметр, який характеризує в рамках двочастинної моделі розподіл між центральною та периферичною камерами. Величина відповідає часу досягнення рівня препарату, що дорівнює 50 % від рівноважної концентрації, яка встановилася в крові.

Уявна початкова концентрація препарату (позначення C_0 , розмірність ммоль/л, мкг/л, нг/мл і т. д.) – умовний параметр, рівний тій концентрації, яка опинилась би у плазмі крові за умови введення препарату в кров та його миттєвого розподілу по органах і тканинах (при аналізі одночастинної моделі) або в об'ємі центральної камери (при аналізі дво- та багаточастинної моделі). Цей параметр при лінійній кінетиці препарату в організмі прямопропорційний дозі препарату.

Стаціонарна концентрація препарату в плазмі крові (позначення C_{ss} , C , розмірність ммоль/л, мкг/л, нг/мл і т. д.) – та концентрація, яка встановлюється в плазмі (сироватці) крові при надходженні препарату в організм з постійною швидкістю. У разі інтермітуючого введення препарату через однакові проміжки часу в однакових дозах використовують поняття **максимальна стаціонарна концентрація** C_{ssmax} та **мінімальна стаціонарна концентрація** C_{ssmin} .

Концентрація лікарської речовини (позначення C_p , розмірність ммоль/л, мкг/л, нг/мл і т. д.) – це кількість препарату в певному об'ємі крові в конкретний момент після введення в організм.

Динаміка концентрації лікарської речовини в організмі залежить від шляхів введення, дози, фізико-хімічних властивостей, тривалості дії тощо.

Об'єм розподілу (уявний об'єм розподілу) препарату (позначення V_d або V , розмірність л, мл) – умовний параметр, який характеризує ступінь захоплення препарату тканинами з плазми (сироватки) крові. Тобто, це умовний об'єм рідини, потрібний для рівномірного розподілу введеної дози лікарської речовини до концентрації, що визначається в крові в момент дослідження (літр на 1 кг маси тіла – л/кг).

$$V_d = \frac{Q}{C_p}$$

де:

Q – кількість речовини в організмі за її концентрації в плазмі крові C_p .

Об'єм розподілу залежить від шляху введення, дози, фізико-хімічних властивостей лікарської речовини (розчинність у ліпідах і воді, ступінь іонізації й полярності, молекулярна маса), а також віку, статі хворого, кількості рідини в організмі, патологічного стану (захворювання печінки, нирок, серцево-судинної системи).

Об'єм розподілу в рамках одночастинної моделі дорівнює такому умовному об'єму рідини, в якому розподіляється вся доза препарату, що потрапила до організму, щоб вийшла концентрація, яка дорівнює уявній початковій концентрації C_0 . Часто обсяг розподілу відносять до одиниці маси тіла і отримують **питомий об'єм розподілу** (позначення Δ_d , розмірність л/кг, мл/г). У багаточастинних моделях вводять поняття **об'єм розподілу в i -ій камері** (позначення V_i , розмірність л, мл). Наприклад, під час аналізу двочастинної моделі розраховують об'єм центральної камери (V_i). **Загальний та кінетичний об'єм розподілу** у багаточастинних моделях (позначення V_β , розмірність л, мл)

характеризує розподіл препарату після досягнення стану рівноваги між концентрацією препарату у плазмі крові (або центральній камері) та інших тканинах (периферичних камерах). Для двочастинної моделі виконується рівняння $V_{\beta} = (k_{el}/\beta)V_i$; для цієї моделі також використовують параметр **стаціонарний об'єм розподілу** (позначення V_{ss} , розмірність л, мл), який пропорційний величині обсягу розподілу в центральній камері.

Загальний кліренс препарату (позначення Cl_t або Cl , розмірність мл/хв, л/год) – параметр, який відповідає обсягу тест-тканини (тест-рідини), яка звільняється від препарату за одиницю часу. У найпростішому випадку кліренс препарату – це відношення концентрації препарату в біологічній тканині до швидкості елімінації всіма можливими шляхами.

Більш розповсюджено використовувати в якості тест-рідини – кров або плазму. Тоді загальний кліренс – це умовний об'єм крові чи її плазми, що звільняється (очищається) від лікарської речовини за одиницю часу.

$$Cl = V_d \cdot K_{el}$$

Для встановлення кліренсу застосовують лікарську речовину, яка не метаболізується і повністю виводиться з організму в незміненому вигляді. Значення кліренсу відбиває функціональну активність органів виділення. За нормальної функції органів виділення рівень кліренсу лікарської речовини свідчить про ступінь її метаболічних перетворень в організмі.

Нирковий (ренальний) кліренс препарату (позначення $Cl_{поч}$ або Cl_R , розмірність мл/хв, л/год) – параметр, який визначає швидкість елімінації лікарського препарату з організму шляхом його екскреції нирками. Дана величина умовно відповідає частині обсягу розподілу, з якої препарат елімінує з сечею в одиницю часу.

Позанирковий (екстраренальний) кліренс препарату (позначення Cl_{NR} , розмірність мл/хв, л/год) – параметр, який характеризує швидкість елімінації препарату з організму іншими шляхами, переважно за рахунок біотрансформації препарату та його екскреції з жо-

вчу. Ця величина умовно відповідає частині обсягу розподілу, з якої препарат елімінує в одиницю часу сумарно всіма шляхами елімінації, крім екскреції нирками.

Площа під фармакокінетичною кривою "концентрація-час" (позначення AUC – area under curve, розмірність $\text{ммоль}\cdot\text{год}\cdot\text{л}^{-1}$, $\text{ммоль}\cdot\text{хв}\cdot\text{л}^{-1}$, $\text{мкг}\cdot\text{хв}\cdot\text{мл}^{-1}$, $\text{нг}\cdot\text{хв}\cdot\text{мл}^{-1}$). (AUC) – на графіку в координатах "концентрація препарату в плазмі (сироватці) крові. (C або C_p) – час після введення препарату. (t)" – площа фігури, яка обмежена фармакокінетичною кривою та осями координат (рис. 7). Дана величина при лінійності кінетики препарату в організмі прямо пропорційна загальній кількості (дозі) препарату, який потрапив в організм.

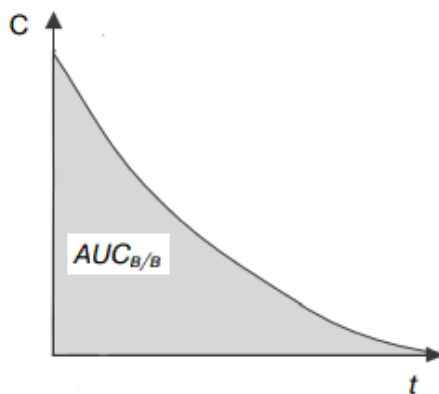


Рис. 7. AUC – площа під фармакокінетичною кривою при внутрішньовенному введенні препарату

Час досягнення максимальної концентрації (позначення t_{\max} або T_{\max} , розмірність год, хв) – час, за який до крові потрапляє максимальна концентрація препарату.

Біодоступність (позначення F або f, розмірність % або безрозмірна величина) визначають відносною кількістю лікарської речовини, що надходить до загального кола кровообігу і взаємодіє з тканинними рецепторами.

Біодоступність залежить від хімічної будови речовини, технології виготовлення лікарської форми, ступеня абсорбції її у кров з травного каналу за ентерального введення, біотрансформації під час першого проходження крізь печінку, швидкості транспортування за парентерального введення. Біодоступність лікарської речовини виражають у

відсотках та в разі введення безпосередньо в кров вважають за 100 % або за 1.

Загальна біодоступність – частина прийнятої усередину дози препарату, що досягла системного кровотоку в незміненому вигляді та у вигляді метаболітів, що утворилися в процесі всмоктування у результаті так названого пресистемного метаболізму, чи «ефекту першого проходження».

Біоеквівалентність (порівняльна біодоступність) – це співвідношення кількості лікарської речовини, що надходить у кров, при введенні її в різних лікарських формах (або лікарських препаратів різних фірм). Якщо лікарські препарати мають подібну біодоступність, вони розцінюються як біоеквівалентні.

Позамодельна оцінка параметрів фармакокінетики

Незалежно від способу аналізу експериментальних даних, його результати обов'язково повинні включати ряд розрахункових величин, описаних нижче.

Наведений приклад ґрунтується на позамодельній оцінці фармакокінетики лікарського засобу, яка може бути легко здійснена завдяки основному методу аналізу або паралельно іншому (модельному) підходу в аналізі дослідних даних.

За умови лінійності характеристики фармакокінетичних властивостей лікарської речовини, можна використовувати параметри, значення яких не залежать від структури відповідної математичної моделі (позамодельні параметри).

При внутрішньовенному введенні лікарської речовини оцінюється загальний кліренс (Cl_t), який відображає швидкість звільнення від препарату одиниці об'єму біорідини. Величина Cl_t визначається відношенням дози (D) препарату до площі кривої "концентрація – час" (AUC в межах від 0 до ∞):

$$Cl_t = \frac{D}{AUC} \quad (1)$$

Ще один параметр – стаціонарний об'єм розподілу (V_{ss}), який відображає ступінь розподілу лікарської речовини по організму – визначається добутком величини кліренсу (Cl_t) на середній час утримання (MRT – середній час перебування молекули препарату в організмі):

$$V_{ss} = Cl_t \cdot MRT \quad (2)$$

У свою чергу величина MRT може бути розрахована за формулою:

$$MRT = \frac{AUMC}{AUC} \quad (3)$$

де:

AUMC – площа під кривою «добуток часу на концентрацію лікарської речовини - час», тобто залежність $C \cdot t$ від t (рис. 8).

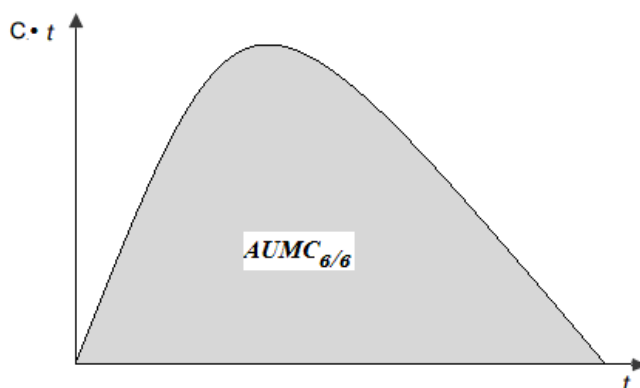


Рис. 8. Перший момент під фармакокінетичною кривою

Також повинна бути наведена тривалість періоду напіввиведення $T_{0,5}$, яка відображає час, протягом якого концентрація лікарської речовини знижується вдвічі. Величина $T_{0,5}$ може бути розрахована за наступною формулою:

$$T_{0,5} = \frac{0,693}{k_{el}} \quad (4)$$

Оцінка інтенсивності проникнення препарату в тканини може бути отримана шляхом вирахування тканинної доступності (F_t або ft),

яка визначається відношенням величини AUC (бажано в межах від 0 до ∞) в тканині до відповідної величини AUC в крові:

$$f_t = \frac{AUC_{\text{тканина}}}{AUC_{\text{кров}}} \quad (5)$$

Крім того, з тією ж метою можна оцінювати уявний коефіцієнт розподілення K_d лікарської речовини між кров'ю і тканиною. Величина K_d визначається відношенням відповідних концентрацій в той самий момент часу на кінцевих (моноекспоненціальних) ділянках фармакокінетичних кривих за умови, що їх нахили (і для крові, і для тканини) характеризуються близькими значеннями k :

$$K_d = \frac{C_{\text{тканина}}}{C_{\text{кров}}} \quad (6)$$

Інтенсивність виведення лікарської речовини з відповідним екскретом характеризується екскреторним кліренсом, який відображає швидкість звільнення одиниці об'єму крові від препарату внаслідок екскреції. При дослідженні екскреції лікарської речовини з сечею оцінюється нирковий кліренс Cl_R , який визначається відношенням швидкості екскреції до середньої концентрації препарату у відповідний період часу або відношенням кумулятивної екскреції (M_e) до AUC препарату в крові:

$$Cl_R = \frac{M_e}{AUC} \quad (7)$$

Позанирковий кліренс лікарської речовини оцінюється за різницею між загальним (Cl_t) та нирковим (Cl_R) кліренсом:

$$Cl_{NR} = Cl_t - Cl_R \quad (8)$$

При позасудинному введенні лікарської речовини характеристика її фармакокінетичних властивостей включає оцінку параметрів MRT, $T_{0.5}$, уявного кліренсу Cl_{ev} (відношення дози до AUC), а також параметром біодоступності F (абсолютна ступінь всмоктування) і MAT

(середній час всмоктування) при наявності даних про фармакокінетику препарату при його внутрішньовенному введенні.

Величина біодоступності (F) препарату може бути оцінена з відношення AUC при його позасудинному (ev) та внутрішньовенному (iv) введенні:

$$F = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \quad (9)$$

Якщо дози препарату при позасудинному та внутрішньовенному введенні були різні, треба перераховувати на відповідні дози препарату, тоді:

$$F = \frac{AUC_{ev}}{AUC_{iv}} \cdot \frac{D_{iv}}{D_{ev}} \quad (10)$$

MAT (середній час всмоктування молекул лікарської речовини) для позасудинного введення вираховується як різниця між значеннями MRT (середнього часу перебування молекули лікарської речовини в організмі) при позасудинному та внутрішньовенному введенні даної лікарської речовини:

$$MAT = MRT_{ev} - MRT_{iv} \quad (11)$$

Окрім перелічених параметрів можуть бути наведені також показники максимальної концентрації лікарського препарату (C_{max}) в крові та час (T_{max}) її досягнення, а також будь-які інші величини, які використовуються авторами досліджень щодо вивчення фармакокінетики лікарського препарату.

У тих випадках, коли фармакокінетика лікарської речовини нелінійна, характеристика її фармакокінетичних властивостей може бути обмежена приведенням значень AUC, $T_{0,5}$, а також C_{max} , T_{max} – у разі позасудинного введення.

Схема експерименту

В якості дослідної речовини використовували неофлазид. Неофлазид є композицією флавоноїдних глікозидів, виділених з диких злаків *Deschampsia caespitosa* і *Calamagrostis epigeios*.

Флавоноїдні глікозиди здатні пригнічувати вірус-специфічні ферменти ДНК-полімерази, тимідинкінази та зворотну транскриптазу в інфікованих вірусами клітинах. Це призводить до порушення або припинення реплікації вірусної ДНК та перешкоджає розмноженню вірусів. Крім того флавоноїдні глікозиди викликають продукцію ендогенного інтерферону альфа- та гамма-, чим підтримують високу стадію імунітету організму та створюють умови для неспецифічної резистентності організму до вірусних та бактеріальних інфекцій.

Вміст флавоноїдних глікозидів визначають методами спектрофотометрії або рідинної хроматографії у перерахунку на рутин. Виділення домінуючих сполук із багатокомпонентних сумішей дозволяє проводити стандартизацію з використанням внутрішніх стандартів, а також напрацьовувати окремі сполуки та визначати їхню специфічну активність.

Неофлазид вводився до експериментальних тварин (білих щурів) внутрішньовенно в дозі 0,5 мг/тварину. Через визначені проміжки часу (0,17; 0,33; 0,67; 1; 1,5; 2 та 4 години) реєстрували концентрацію флавоноїдів в плазмі крові тварин. Експериментальні дані оформлюють у вигляді таблиці (табл. 3).

Таблиця 3

Залежність концентрації неофлазиду в плазмі крові щурів залежно від часу

Час, год.	0,17	0,33	0,67	1	1,5	2	4
Концентрація, мкг/мл							

За даними будується фармакокінетична крива в координатах «концентрація речовини в плазмі крові – час», яка має експоненціальну залежність, та формалізується графіком експоненціальної функції (рис. 12. а).

Для розрахунку позамоделних фармакокінетичних параметрів необхідно побудувати фармакокінетичну криву в координатах «концентрація препарату * час – час» (рис. 12. б) з метою обчислювання показнику AUMC (табл. 4).

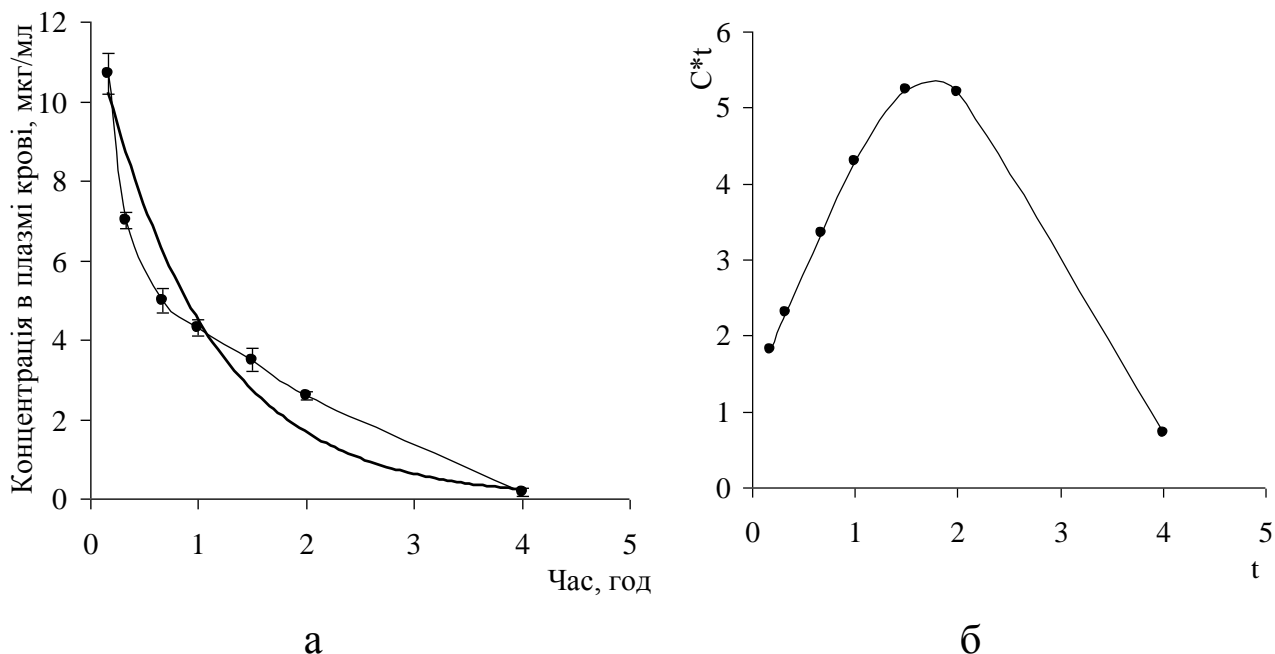


Рис. 12. Фармакокінетичний профіль залежності концентрації неофлазиду в плазмі крові від часу введення в координатах «концентрація препарату – час» (а) та в координатах «концентрація препарату * час – час» (б).

Відповідні фармакокінетичні параметри розраховуються з використанням формул, які були наведені вище та за допомогою комп'ютерних програм (табл. 4).

Таблиця 4

Фармакокінетичні параметри неофлазиду при його внутрішньовенному введенні в межах одночастинної фармакокінетичної моделі без всмоктування

№	Фармакокінетичний параметр	Позначення	$M \pm m$
1	2	3	
1	Загальний кліренс	Cl_{0-4}	
1	2	3	
2	Об'єм розподілення	$V_{d(0-4)}$	
3	Площа під фармакокінетичною кривою	AUC_{0-4}	

4	Площа під фармакокінетичною кривою (перший момент)	$AUMC_{0-4}$	
5	Максимальна концентрація препарату	C_{max}	
6	Час досягнення максимальної концентрації	T_{max}	
7	Середній час перебування препарату в організмі	MRT_{0-4}	

де:

M – розраховані дані;

m – стандартна похибка.

Висновки

На основі отриманих експериментальних та розрахункових даних сформулювати висновки щодо зміни концентрації неофлазиду в плазмі крові залежно від часу після його введення та отриманих величин відповідних фармакокінетичних параметрів.

Контрольні питання

1. В чому полягає головне завдання фармакокінетики лікарської речовини?
2. Чому одним з основних фармакокінетичних параметрів є концентрація лікарської речовини у крові (плазмі крові)?
3. Що уявляє собою фармакокінетична крива?
4. Що уявляє собою «камера, відсік» з точки зору фармакокінетиці?
5. Які камери використовуються для вивчення фармакокінетиці лікарської сполуки?
6. Що собою уявляє α -фаза та β -фаза?
7. Які є фармакокінетичні моделі для вивчення фармакокінетичних параметрів лікарських засобів?
8. Що собою уявляє константа швидкості елімінації препарату?
9. Що означає собою уявна константа елімінації?
10. Що собою уявляє константа швидкості абсорбції?
11. Що собою уявляє константи швидкості переходу препарату між камерами?
12. Що собою уявляє константа швидкості екскреції?

13. Що собою уявляє період напівелімінації?
14. Що собою уявляє період напівабсорбції?
15. Що означає собою уявна початкова концентрація?
16. Коли застосовують терміни стаціонарна концентрація, максимальна та мінімальна стаціонарна концентрація?
17. Що називають концентрацією лікарської речовини при дослідженні її фармакокінетиці?
18. Що собою уявляє об'єм розподілу? Чому його називають уявним?
19. Що собою уявляє питомий обсяг розподілу?
20. Коли використовують терміни «об'єм розподілу в i -ій камері» та «кінетичний об'єм розподілу»?
21. Що собою уявляє загальний кліренс? Які величини кліренсів застосовуються у фармакокінетиці?
22. Що уявляє собою величина AUC?
23. Що уявляє собою біодоступність лікарської речовини?
24. Які лікарські речовини називаються біоеквівалентними?
25. В чому суть використання позамоделльної оцінки фармакокінетики лікарського засобу?
26. Як можна розрахувати кліренс речовини при її внутрішньовенному введенні, спираючись на дозу та величину AUC?
27. Як можна розрахувати стаціонарний об'єм розподілу лікарської речовини, спираючись на величину кліренсу та MRT?
28. Як розраховується і що собою уявляє величина MRT?
29. Що собою уявляє величина AUMC?
30. Як можна розрахувати період напіввиведення речовини в умовах її внутрішньовенного введення?
31. Що собою уявляє тканинна біодоступність? Як вона розраховується?
32. Що собою уявляє уявний коефіцієнт розподілення лікарської речовини між кров'ю та тканиною?
33. Як можна розрахувати нирковий кліренс, спираючись на величину кумулятивної екскреції речовини та AUC?
34. Як можна розрахувати позанирковий кліренс?

35. Як можна розрахувати величину біодоступності речовини, знаючи величини АUC при її внутрішньовенному та позасудинному введенні? Як зробити перерахунок на дози, якщо вони різні при використаних шляхах введення?
36. Що собою уявляє величина MAT?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 3

РОЗРАХУНОК ФАРМАКОКІНЕТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ З

ВИКОРИСТАННЯМ ОДНОЧАСТИННОЇ

ФАРМАКОКІНЕТИЧНОЇ МОДЕЛІ

Мета роботи: навчитися розраховувати основні фармакокінетичні параметри лікарських засобів шляхом використання одночастинної лінійної фармакокінетичної моделі.

Інформативний ресурс

Частинні лінійні фармакокінетичні моделі

Фармакокінетичні параметри можна розраховувати в межах одночастинної (однокамерної) моделі, одночастинної моделі зі всмоктуванням, двочастинної моделі, а також двочастинної моделі зі всмоктуванням.

Одночастинна (однокамерна) фармакокінетична модель

В одночастинній моделі весь організм представлений єдиною камерою (відсіком). Таке уявлення рівносильне передумові фармакокінетичної однорідності всіх тканин, в які здатний проникати препарат. На перший погляд, подібне уявлення про розподіл препарату в організмі суперечить фактам. Насправді, концентрація будь-якого препарату в крові та тканинах, як правило, неоднакова, проте знехтувати цим фактом невідповідності між теоретичними уявленнями та фактичними даними дозволяє наступне: однокамерність моделі передбачає як не однакові значення концентрацій у тест-тканинах та інших біоматеріалах, які об'єднані в один камеру, так і постійне співвідношення між рівнями препарату в них у період спостереження за фармакокінетикою.

Існує два варіанти одночастинної моделі. Перший з них, найпростіший, передбачає миттєве надходження всього препарату безпосередньо в камеру (**одночастинна модель без всмоктування**), другий – надходження препарату в камеру з деякого депо (**одночастинна модель зі всмоктуванням**) (рис. 13).

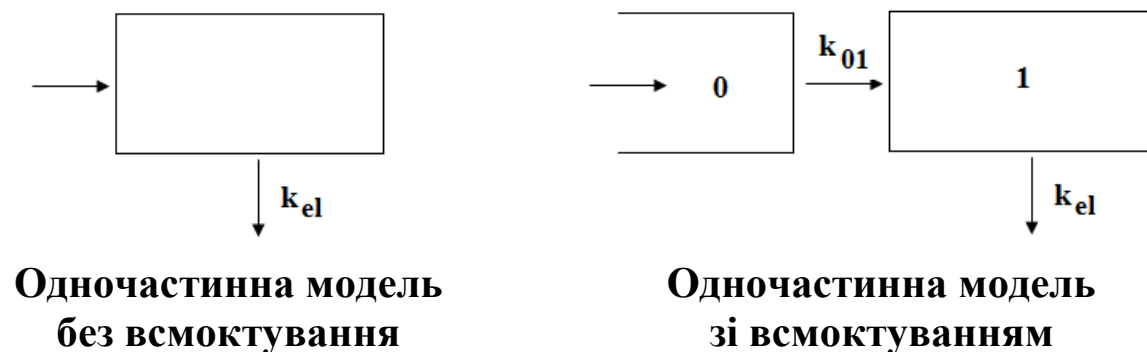


Рис. 14. Схема одночастинної фармакокінетичної моделі

Розрахунок фармакокінетичних параметрів одночастинної моделі без всмоктування

Одночастинна модель без всмоктування описується наступним рівнянням:

$$C(t) = C_0 \cdot e^{-k_{el} \cdot t} \quad (12)$$

Цю модель характеризують наступні фармакокінетичні параметри: k_{el} , $T_{0,5}$, C_{max} , Cl_t , C_0 , V_d та AUC .

Величина уявної початкової концентрації дорівнює C_0 .

Константу елімінації обчислюють як кут нахилу прямої «концентрації від часу введення препарату» у напівлогарифмічних координатах за формулою:

$$k_{el} = \left| \frac{C_2 - C_1}{t_2 - t_1} \right| \quad (13)$$

де:

(C_1, t_1) та (C_2, t_2) координати довільних двох точок, взятих на прямій даної залежності.

Період напівелімінації обчислюють за формулою:

$$T_{0,5} = \frac{0,693}{k_{el}} \quad (14)$$

Максимальна концентрація препарату C_{max} – це найбільше значення концентрації, яке отримане в ході експерименту.

Загальний кліренс є добутком константи елімінації та обсягу розподілу препарату.

$$Cl_t = k_{el} \cdot V_d \quad (15)$$

Об'єм розподілу обчислюють за такою формулою:

$$V_d = \frac{D}{C_0} \quad (16)$$

де:

D – доза введеної до організму сполуки (препарату).

Площу під фармакокінетичною кривою можна визначити як:

$$\int_0^{\infty} C(t) dt = \int_0^{\infty} C_0 \cdot e^{-k_{el} \cdot t} dt \quad (17)$$

Розрахунок фармакокінетичних параметрів одночастинної моделі зі всмоктуванням

Одночастинну модель зі всмоктуванням характеризують наступні фармакокінетичні параметри: k_{el} , k_{01} , $t_{0,5}$, $t_{0,5a}$, C_{max} , Cl_t , C_0 , V_d та AUC.

Математично ця модель описується наступною формулою:

$$C(t) = B \left(e^{-k_{el} \cdot t} - e^{-k_{01} \cdot t} \right) \quad (18)$$

де:

$$B = \frac{D \cdot k_{01}}{V_d (k_{01} - k_{el})} \quad (19)$$

Як видно з наведених формул, одночастинну модель зі всмоктуванням характеризують практично ці ж самі параметри, які наведені для моделі без всмоктування, за виключенням константи швидкості абсорбції та періоду напівабсорбції.

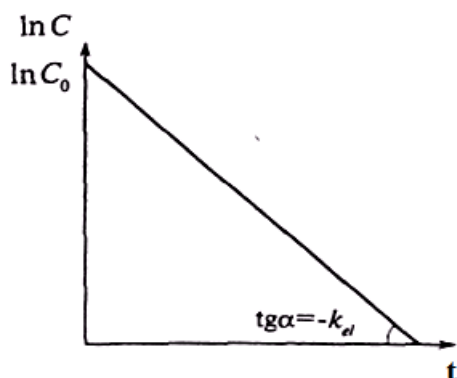
Константа швидкості абсорбції обчислюється методом послідовного логарифмування.

Період напівабсорбції визначається за формулою:

$$T_{0,5} = \frac{0,693}{k_{01}} \quad (20)$$

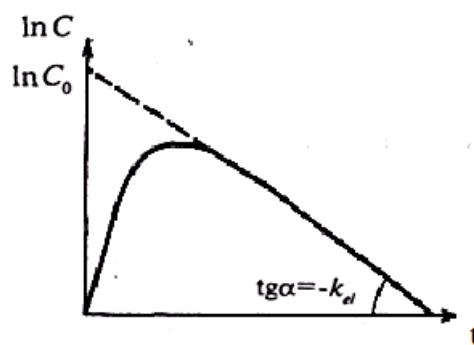
Таким чином, графічна залежність у напівлогарифмічних координатах «концентрація - час введення» та основні рівняння за одночасинною фармакокінетичною моделлю мають наступний вигляд (рис. 15):

Одночасинна модель без всмоктування



$$C(t) = C_0 \cdot e^{-k_{el} \cdot t}$$

Одночасинна модель зі всмоктуванням

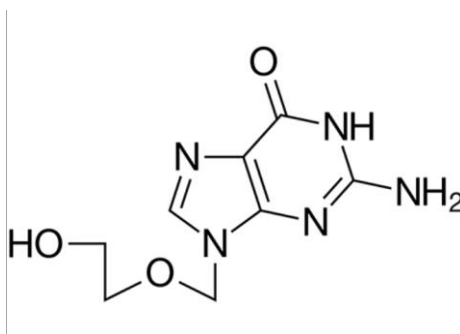


$$C(t) = B \left(e^{-k_{el} \cdot t} - e^{-k_{01} \cdot t} \right)$$

Рис. 15. Основні рівняння та схематична залежність концентрації препарату у крові залежно від часу для одночасинної фармакокінетичної моделі

Схема експерименту

В якості дослідної речовини використовували ацикловір. Ацикловір є ациклічним аналогом природного нуклеозиду 2'-дезоксигуанозину. Протягом багатьох років ацикловір займає провідне місце в лікуванні інфекцій, викликаних вірусом простого герпесу. Механізм його протигерпетичної дії ґрунтується на інгібуванні синтезу вірусної ДНК.



Ацикловір

В експерименті використовують в якості піддослідних тварин білих лабораторних щурів (8 гол.), яким вводиться внутрішньовенно розчин ацикловіру (у вигляді натрієвої солі) в дозі 10 мг/кг. Після введення відбирається кров для аналізу на вміст ацикловіру через певні проміжки часу (0,167; 0,3; 0,5; 0,75; 1; 1,5; та 2 години). Проби віддаються для проведення ВЕРХ з метою кількісного визначення ацикловіру в крові експериментальних тварин. Межа виявлення ацикловіру при УФ-детекції становить 10-20 нг/мл.

Пік ацикловіру реєструється на хроматограмі через 4,104 хвилини (рис. 16).

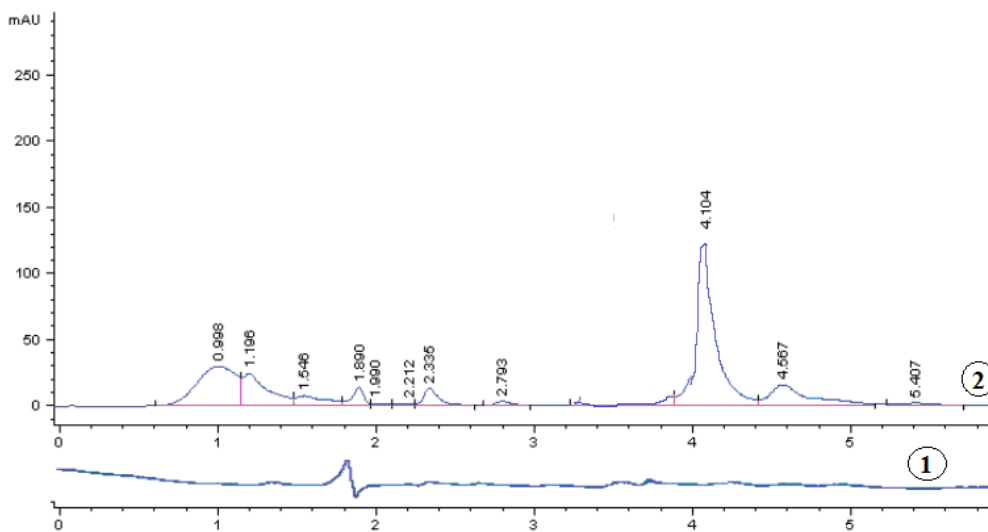


Рис. 16. Хроматограмма плазми крові без ацикловіру (1) та з ацикловіром (2)

За отриманими даними концентрація ацикловіру в плазмі крові залежно від часу після введення препарату становить (табл. 5):

Таблиця 5

Залежність концентрації ацикловіру в плазмі крові щурів залежно від часу

Час, год.	0,17	0,3	0,5	0,75	1	1,5	2
Концентрація, мкг*10 ⁻¹ /мл							

Графічна залежність в координатах «концентрація препарату - час» має вигляд експоненти (рис. 16 а); в напівлогарифмічних координатах – вигляд прямої (рис. 16 б).

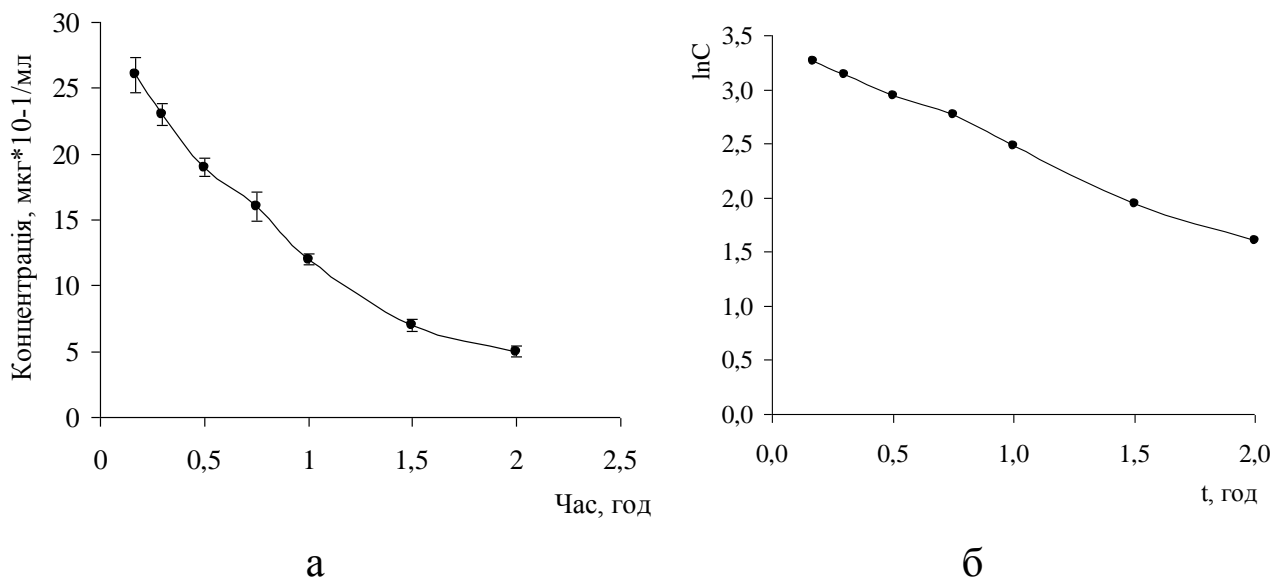


Рис. 16. Фармакокінетичний профіль залежності концентрації ацикловіру в плазмі крові від часу введення в координатах «концентрація препарату – час» (а) та в напівлогарифмічних координатах (б)

Отже фармакокінетичні параметри обчислюються за допомогою одночастинної моделі без всмоктування, відповідно до розглянутих формул. Отримані дані вносяться до таблиці 6.

Таблиця 6

Фармакокінетичні параметри ацикловіру при його внутрішньовенному введенні в межах одночастинної фармакокінетичної моделі без всмоктування

№	Фармакокінетичний параметр	Позначення	M ± m
1	Константа елімінації	k_{el}	
2	Період напівелімінації	$T_{0,5}$	
3	Загальний кліренс	Cl	
4	Об'єм розподілення	V_d	
5	Площа під фармакокінетичною кривою	AUC	

6	Максимальна концентрація препарату	C_{\max}	
7	Час досягнення максимальної концентрації	T_{\max}	
8	Середній час перебування препарату в організмі	MRT	

де:

M – розраховані дані;

m – стандартна похибка.

Висновки

На основі отриманих експериментальних та розрахункових даних сформулювати висновки щодо зміни концентрації ацикловіру в плазмі крові залежно від часу після його введення та отриманих величин відповідних фармакокінетичних параметрів.

Контрольні питання

1. Які моделі використовуються для вивчення фармакокінетики лікарської речовини?
2. Що собою уявляє одночастинна фармакокінетична модель?
3. Які є варіанти одночастинної моделі?
4. Яким основним рівнянням описується одночастинна модель без всмоктування?
5. Для чого використовують напівлогарифмічні координати в фармакокінетичних досліджах?
6. Як обчислюють константу елімінації та період напівелімінації?
7. Як розраховується загальний кліренс лікарської речовини?
8. Чому дорівнює об'єм розподілу?
9. Як вираховують площу під фармакокінетичною кривою?
10. Яким основним рівнянням описується одночастинна модель зі всмоктуванням?
11. Які додаткові величини використовуються для фармакокінетичної оцінки лікарської речовини при застосуванні одночастинної моделі зі всмоктуванням?

12. Як виглядає графічна залежність у напівлогарифмічних координатах «концентрація в біотканині – час введення» для одночасної фармакокінетичної моделі без всмоктування?
13. Як виглядає графічна залежність у напівлогарифмічних координатах «концентрація в біотканині – час введення» для одночасної фармакокінетичної моделі зі всмоктуванням?

ЛАБОРАТОРНА РОБОТА 4

РОЗРАХУНОК ФАРМАКОКІНЕТИЧНИХ ПАРАМЕТРІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ДВУЧАСТИННОЇ ФАРМАКОКІНЕТИЧНОЇ МОДЕЛІ

Мета роботи: навчитися розраховувати основні фармакокінетичні параметри лікарських засобів шляхом використання двочастинної лінійної фармакокінетичної моделі.

Інформативний ресурс

Двочастинна (двокамерна) фармакокінетична модель

Аналіз кривих фармакокінетики багатьох препаратів показує, що навіть за умови їхнього безпосереднього надходження до тест-тканини, кінетичні дані не вдається привести до лінійної залежності (лінеаризації) у напівлогарифмічних координатах. Не завжди піддаються лінеаризації і дані фармакокінетики препарату після досягнення його максимального рівня в тест-тканині за умови миттєвого надходження до неї препарату. Це означає, що засноване на одночастинній моделі спрощене уявлення організму однорідним простором, в якому розподіляється препарат, не відповідає кінетичним даним.

У подібних випадках вважають, що в сукупності тканин та біологічних рідин організму з фармакокінетичної точки зору можна виділити дві камери (тобто організм розглядається в рамках двочастинної моделі), які відрізняються ступенем доступності для проникнення препарату. Оскільки проникнення препарату в ту чи іншу тканину залежить від її кровопостачання, відносно доступними для препарату зазвичай вважають кров, інтерстиціальну рідину та сильно васкуляризовані тканини серця, мозку, легень, печінки, нирок та ендокринних залоз; менш доступними для препарату є всі інші тканини та органи. Класифікація тканин за цим принципом умовна, оскільки характер розподілу препарату в організмі залежить від багатьох інших факторів (розчинність у ліпідах, зв'язування в крові і тканинах і т. д.).

Однак така класифікація допомагає ув'язати фізіологічне уявлення з апроксимацією фармакокінетики препарату двочастинною мо-

деллю: 1-а – центральна камера (відсік), якою формалізують першу групу тканин і 2-а – периферична камера (відсік), якою формалізують другу групу тканин, які мають меншу доступність для проникнення препарату.

За аналогією з одночастинною фармакокінетичною моделлю препарату існують двочастинні моделі без всмоктування та зі всмоктуванням (рис. 17).

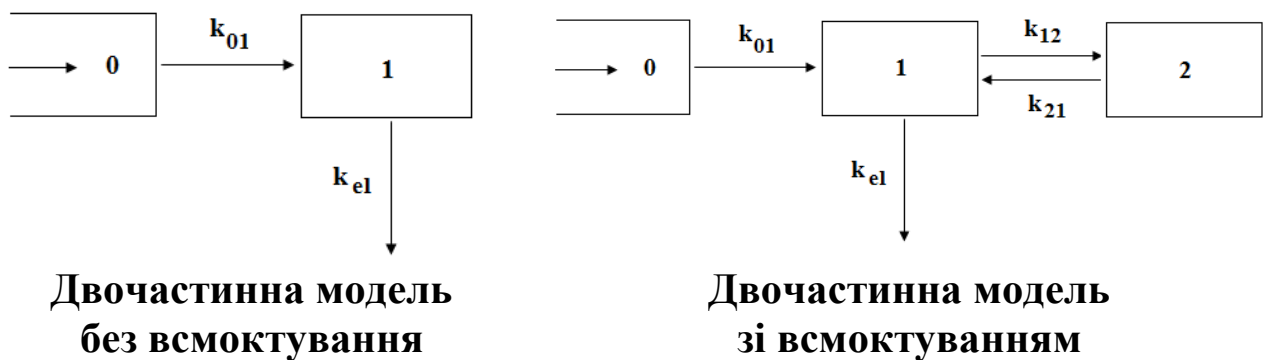


Рис. 17. Схема двочастинної фармакокінетичної моделі

Слід зауважити, що застосування надмірно великої кількості камер для опису фармакокінетики лікарської речовини часто не є виправданим, оскільки при цьому не вдається визначити зміну концентрації речовини в кожній камері. Тому на практиці рідко використовують більш ніж двокамерні моделі.

У випадку двочастинної моделі без всмоктування передбачається, що лікарська речовина надходить в камеру 1 внаслідок масопереносу з камери 0, яка може уявляти собою периферичні тканини або так зване депо. Крім того, лікарська речовина елімінується з першої камери, швидкість елімінації менше, ніж швидкість масоперенесення.

У випадку двочастинної моделі зі всмоктуванням додається процес масопереносу лікарської речовини з першої (центральної) камери до другої (периферичної камери) і навпаки з відповідними швидкостями.

Розрахунок фармакокінетичних параметрів двочастинної моделі без всмоктування

Двочастинна модель без всмоктування описується наступним рівнянням:

$$C(t) = A_1 e^{-\alpha t} + A_2 e^{-\beta t} \quad (21)$$

де:

$$A_1 = \frac{D (\alpha - k_{01})}{V_1 (\alpha - \beta)} \quad (22)$$

$$A_2 = \frac{D (k_{01} - \beta)}{V_1 (\alpha - \beta)} \quad (23)$$

де:

α та β – константи швидкості переходу лікарської речовини;

A_1 та A_2 – відповідні константи;

K_{01} – константа швидкості переходу речовини з депо до центральної камери;

V_1 – об'єм центральної камери.

Параметри, які характеризують цю модель і можуть бути розраховані, – максимальна концентрація препарату, час її досягнення, константа елімінації, уявна константа елімінації, константа швидкостей переходу, період напівелімінації, період напіврозподілу, уявна початкова концентрація, питомий об'єм розподілу, об'єм розподілу, загальний об'єм, стаціонарний об'єм розподілу, загальний кліренс та площа під фармакокінетичною кривою.

Розрахунок фармакокінетичних параметрів двочастинної моделі зі всмоктуванням

Двочастинна фармакокінетична модель зі всмоктуванням має ці ж самі фармакокінетичні параметри, які ми розглядали для моделі без всмоктування, тільки додаються параметри, які описують процес надходження речовини з певного депо: константа швидкості абсорбції та період напівабсорбції.

Дана модель описується наступною функцією:

$$C(t) = C_0 k_{01} \cdot (A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t} + C \cdot e^{-k_{01}t}) \quad (24)$$

У свою чергу константи А, В та С розраховуються наступним чином:

$$A = \frac{k_{01} (\alpha - k_{21})}{V_1 (k_{01} - \alpha) (\alpha - \beta)} \quad (25)$$

$$B = \frac{k_{01} (k_{21} - \beta)}{V_1 (k_{01} - \alpha) (\alpha - \beta)} \quad (26)$$

$$C = \frac{k_{01} k_{12}}{V_1 (k_{01} - \alpha) (\alpha - \beta)} \quad (27)$$

Основні фармакокінетичні параметри розраховуються на основі функції залежності концентрації препарату від часу в логарифмічних координатах.

Так, логарифм уявної початкової концентрації препарату в крові ($\ln C_0$) визначається як точка перетину продовження прямої β – фази з віссю ординат, параметр C_0 визначається як експонента від вищезазначеної величини. Константа елімінації – тангенс куту нахилу прямої β – фази. Величина періоду напівелімінації розраховується, виходячи з співвідношення:

$$T_{0,5} = \frac{0,693}{\beta} \quad (28)$$

Для визначення параметрів k_{01} , α використовується метод послідовного логарифмування.

Максимальна концентрація препарату та час її досягнення визначається безпосередньо з отриманих дослідних даних з використанням певного програмного забезпечення.

Константа елімінації визначається як приватний добуток величин α та β , розділений на величину k_{01} :

$$k_{el} = \frac{\alpha \cdot \beta}{k_{01}} \quad (29)$$

Період напівбсорбції визначається за наступною формулою:

$$T_{0,5a} = \frac{0,693}{k_{01}} \quad (30)$$

Питомий об'єм розподілу є відношенням введеної дози препарату до уявної початкової концентрації.

Константи швидкості переходу визначаються як система рівнянь:

$$\begin{cases} \alpha + \beta = k_{21} + k_{12} + k_{el} \\ \alpha\beta = k_{21}k_{el} \end{cases} \quad (31)$$

Загальний об'єм розподілення обчислюється за формулою:

$$V_{\beta} = \frac{k_{el}}{\beta} V_1 \quad (32)$$

Стаціонарний об'єм розподілення розраховується за наступним рівнянням:

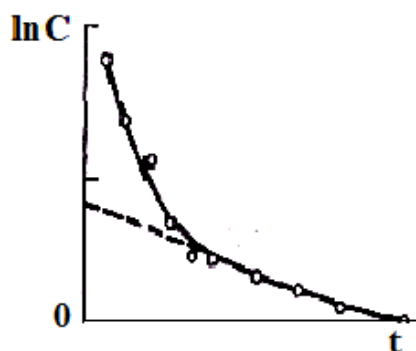
$$V_{ss} = \frac{V_1 (k_{21} + k_{12})}{k_{21}} \quad (33)$$

Загальний кліренс уявляє собою добуток V_{β} та β . Площа під фармакокінетичною кривою розраховується як:

$$AUC = C_0 k_{01} \left(\frac{A}{\alpha} + \frac{B}{\beta} + \frac{C}{k_{01}} \right) \quad (34)$$

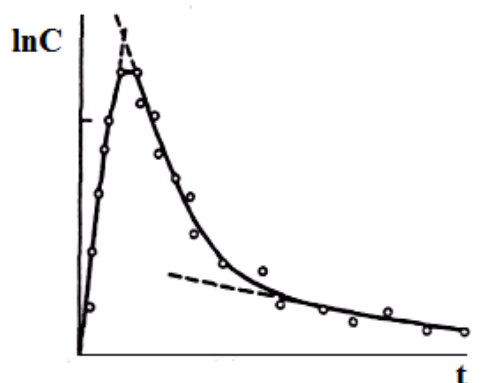
Графічна залежність у напівлогарифмічних координатах «концентрація – час введення» та основні рівняння за двочастинною фармакокінетичною моделлю мають наступний вигляд (рис. 18):

**Двочастинна модель
без всмоктування**



$$C(t) = A_1 e^{-\alpha t} + A_2 e^{-\beta t}$$

**Двочастинна модель
зі всмоктуванням**

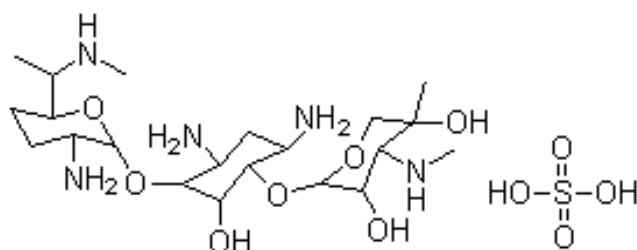


$$C(t) = C_0 k_{01} \cdot (A \cdot e^{-\alpha t} + B \cdot e^{-\beta t} + C \cdot e^{-k_{01}t})$$

Рис. 18. Основні рівняння та схематична залежність концентрації препарату у крові залежно від часу для двочастинної фармакокінетичної моделі

Схема експерименту

В якості експериментальної сполуки використовують гентаміцину сульфат для ін'єкцій. Піддослідним тваринам – білим щурам, масою 150 ± 10 г, внутрішньовенно у хвостову вену вводиться розчин гентаміцину в дозі 12 мг/кг.

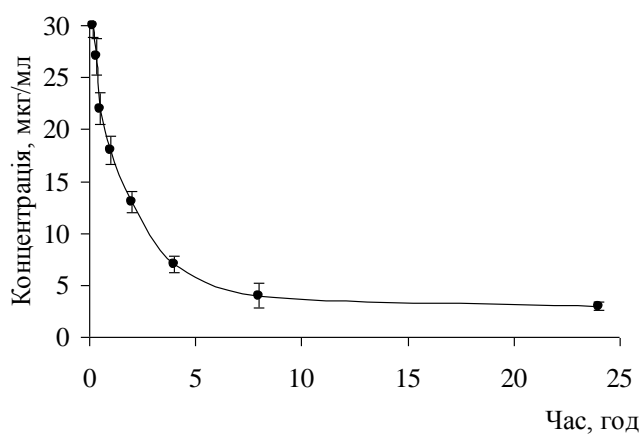


Гентаміцину сульфат

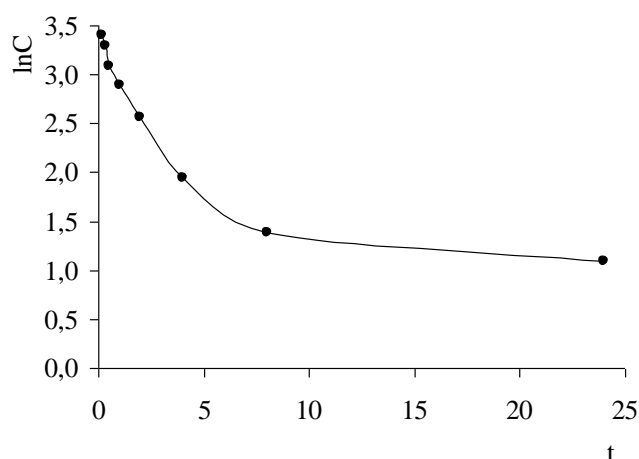
Через певний проміжок часу (0,17; 0,33; 0,6; 1; 2; 4; 8 та 24 години) відбираються відповідні проби крові на вміст гентаміцину. Отримані дані розміщують в таблиці (табл. 7) та будують відповідну фармакокінетичну криву гентаміцину в координатах «концентрація препарату – час» та в напівлогарифмічних координатах (рис. 19).

**Залежність концентрації гентаміцину в плазмі крові
залежно від часу**

Час, год.	0,17	0,33	0,5	1	2	4	8	24
Концентрація, мкг/мл								



а



б

Рис. 19. Фармакокінетичний профіль залежності концентрації гентаміцину в плазмі крові від часу введення в координатах «концентрація препарату – час» (а) та в напівлогарифмічних координатах (б).

Отже фармакокінетичні параметри обчислюються за допомогою двочастинної моделі без всмоктування відповідно до розглянутих формул. Отримані дані вносяться до таблиці 8.

Фармакокінетичні параметри гентаміцину при його внутрішньовенному введенні в межах двочастинної фармакокінетичної моделі без всмоктування

№	Фармакокінетичний параметр	Позначення	$M \pm m$
1	Константа елімінації	k_{el}	
2	Максимальна концентрація препарату	C_{max}	
3	Уявна константа елімінації	β	
4	Константи швидкості переходу	k_{21}	
5	Константи швидкості переходу	K_{12}	

6	Період напівелімінації	$T_{0,5}$	
7	Період напіврозподілення	$T_{0,5\alpha}$	
8	Уявна початкова концентрація	C_0	
9	Об'єм розподілення	V_d	
10	Загальний об'єм розподілення	V_β	
11	Стаціонарний об'єм розподілення	V_{ss}	
12	Загальний кліренс	Cl_t	
13	Площа під фармакокінетичною кривою	AUC	
14	Середній час перебування препарату в організмі	MRT	

де:

M – розраховані дані;

m – стандартна похибка.

Висновки

На основі отриманих розрахункових даних сформулювати висновки щодо зміни концентрації гентаміцину в плазмі крові залежно від часу після його введення та отриманих величин відповідних фармакокінетичних параметрів.

Контрольні питання

1. Що собою уявляє двочастинна фармакокінетична модель?
2. Для чого використовуються двочастинні моделі?
3. Чому майже не використовують більш ніж двочастинні моделі?
4. Які є варіанти двочастинної моделі?
5. Які тканини належать до центральної камери, а які до периферичної?
6. Яким основним рівнянням описується двочастинна модель без всмоктування? Що собою уявляють константи рівняння?
7. Які фармакокінетичні параметри можуть бути обчислені за допомогою двочастинної моделі без всмоктування?
8. Яким основним рівнянням описується двочастинна модель зі всмоктуванням?
9. Які додаткові величини використовуються для фармакокінетичної оцінки лікарської речовини при застосуванні двочастинної моделі зі всмоктуванням?

10. Як обчислюється початкова концентрація речовини в крові при застосуванні двочастинної моделі зі всмоктуванням?
11. Як обчислюється константа елімінації речовини при застосуванні двочастинної моделі зі всмоктуванням?
12. Як обчислюється період напівабсорбції при застосуванні двочастинної моделі зі всмоктуванням?
13. Як виглядає графічна залежність у напівлогарифмічних координатах «концентрація в біотканині - час введення» для двочастинної фармакокінетичної моделі без всмоктування?
14. Як виглядає графічна залежність у напівлогарифмічних координатах «концентрація в біотканині - час введення» для двочастинної фармакокінетичної моделі зі всмоктуванням?

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Зиньковський В. Г., Станкевич О. О., Жук М. С. Методичні рекомендації для вивчання та аналізу фармакокінетики лікарських засобів. / В. Г. Зиньковський, О. О. Станкевич, М. С. Жук. //Одеса: Астропрінт, 2005. 34 с.
2. Крайдашенко О. В. та інші. Фармакотерапія: навч.-метод. посіб. для студентів вищ. навч. закладів. / О. В. Крайдашенко, О. О. Свинтозельський, М. О. Долінна, А. В. Саржевська, М. П. Красько, Т. О. Самура. //Запоріжжя: ЗДМУ, 2018. 159 с.
3. Чекман І. С. та інші. Загальна фармакологія: Підручник / І. С. Чекман, І. Ф. Беленічев, Н. О. Горчакова, В. Д. Лук'янчук, Н. В. Бухтіярова, Моргунцова С. А. // Запоріжжя, Київ, 2016. 210 с.
4. Білай І. М. та інші. Основи фармакодинаміки та фармакокінетики у клінічній фармації: Навчальний посібник для провізорів-інтернів зі спеціальності «Загальна фармація». / І. М. Білай., О. В. Крайдашенко. //Запоріжжя: ЗДМУ, 2019. 86 с.
5. Кіреєв І. В. Фармакотерапія з фармакокінетикою : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл./ за ред. І. В. Кіреєва. // Нац. фармац. університет. – Харків: Золоті сторінки, 2019. 383 с.
6. Бондаренко Я. С. Посібник до вивчення курсу «Фармакологія і фармакокінетика». / Бондаренко Я. С. // Дніпропетровськ: РВВ ДНУ, – 2014. 36 с.
7. Остапченко Л. І. та інші. Біологічні мембрани та основи внутрішньоклітинної сигналізації: методи дослідження: навчальний посібник. /Л. І. Остапченко, І. В. Компанець, Т. Б. Синельник. // Київ: ВПЦ "Київський університет", 2017. 447 с.
8. Півовар М. Л., Жебентяєв А. І. Визначення ацікловіру та аллопуринолу в плазмі крові методом ВЕРХ. /М. Л. Півовар, А. І. Жебентяєв. // *Вісник фармації*. 2011. № 1, Т. 51. С. 34–40.
9. Яковлева О. О. та інші. Фармакокінетика. / О. О. Яковлева, А. І. Косован, І. Ф. Семененко, Р. П. Барало, Н. В. Коновалова. //Вінниця: ВНМУ, 2014. 36 с.
10. Задорожна В. І. Доклінічні дослідження фармакокінетики субстанції неофлазида. Звіт науково-дослідницької роботи. / Задорожна В. І. // Київ, 2012. 14 с.

Навчальне видання

**ФАРМАКОТЕРАПІЯ
З ФАРМАКОКІНЕТИКОЮ
Частина I
ФАРМАКОКІНЕТИКА ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

**ЕЛЕКТРОННІ МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
до лабораторних робіт
для здобувачів вищої освіти
спеціальності 226 «Фармація, промислова фармація»**

Електронне практичне видання

Укладачі:

**Александрова Олександра Ігорівна
Грицук Олександр Іванович**

В авторській редакції

Затвердж. авт. 07.11.2023. Шрифт Times New Roman.
Системні вимоги: операційна система сумісна з програмним
забезпеченням для читання файлів формату PDF.
Обсяг 1,5 МБ. Зам. № 2691.

Видавець і виготовлювач
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Свідоцтво суб'єкта видавничої справи ДК № 4215 від 22.11.2011 р.
65082, м. Одеса, вул. Єлісаветинська, 12, Україна
Тел.: (048) 723 28 39, e-mail: druk@onu.edu.ua