

ФГБОУ ВО ВолгГМУ Минздрава России  
Кафедра фармакологии и биоинформатики

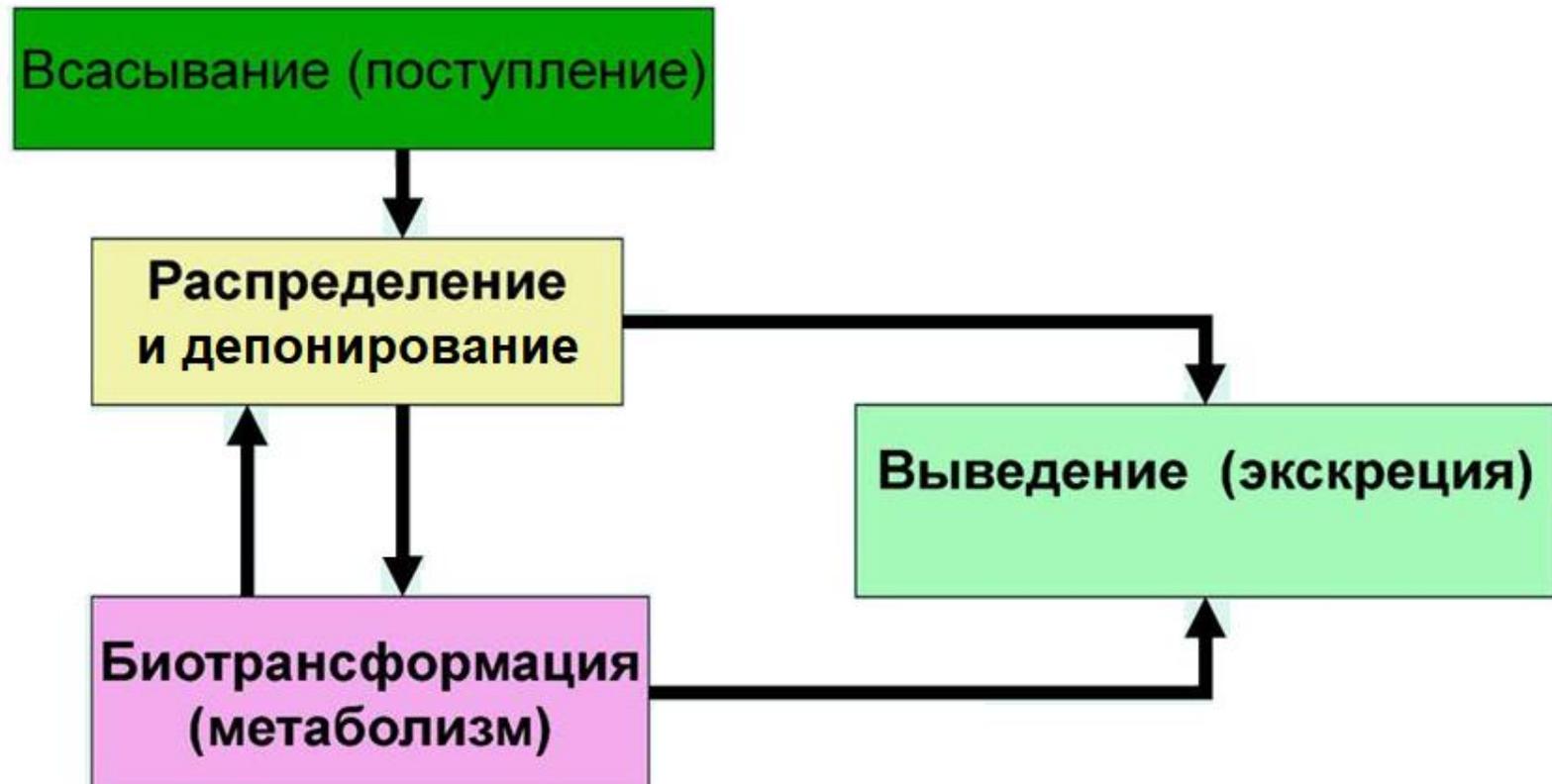


# **Общие принципы проведения исследований фармакокинетики лекарственных средств**

**Фармацевтический факультет**

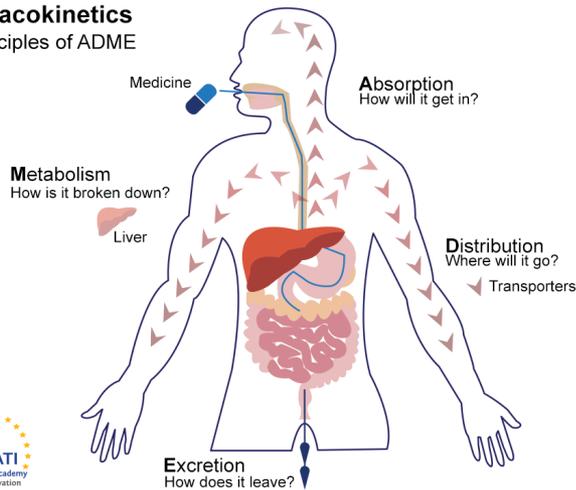
# Путь препарата в организме

**Фармакокинетика** - раздел фармакологии, изучающий кинетические закономерности химических и биологических процессов, происходящих с лекарственным средством в организме животного или человека



# Фармакокинетические исследования в эксперименте

## Pharmacokinetics The principles of ADME



A

- Absorption (всасывание)

D

- Distribution (распределение)

M

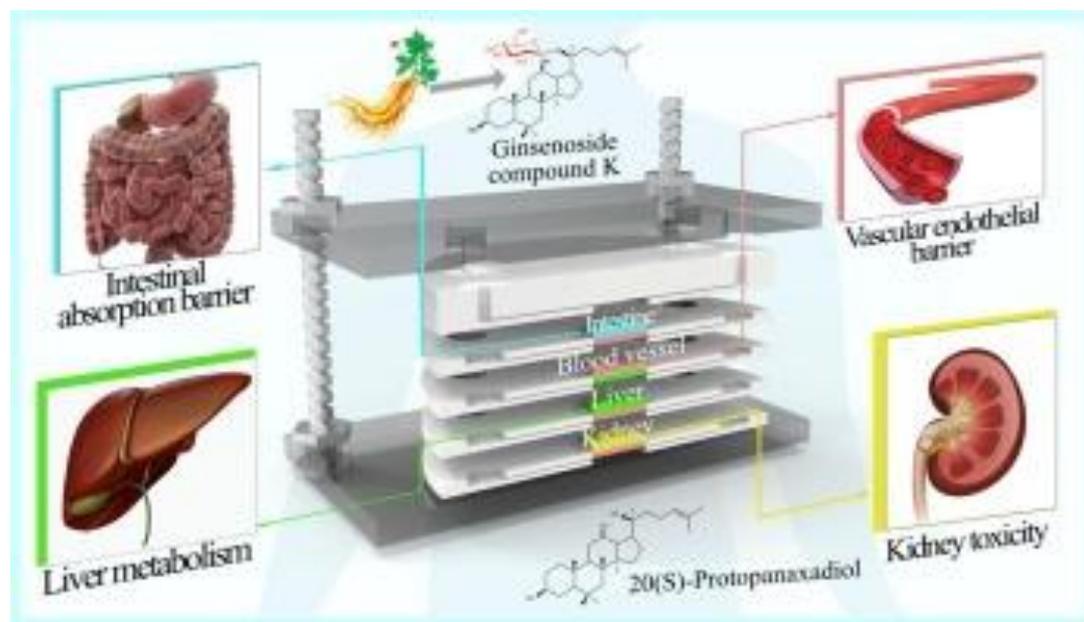
- Metabolisation (метаболизация)

E

- Excretion (выведение)

# Иерархия фармакокинетических методов исследования

- Молекулярно-биологические модели (липидные мембраны, активность изолированных ферментов);
- Клеточные/тканевые модели (органные чипы, клеточные барьеры);
- Модели на целых животных (традиционные подходы к анализу с хроматографией/масспектрометрией)

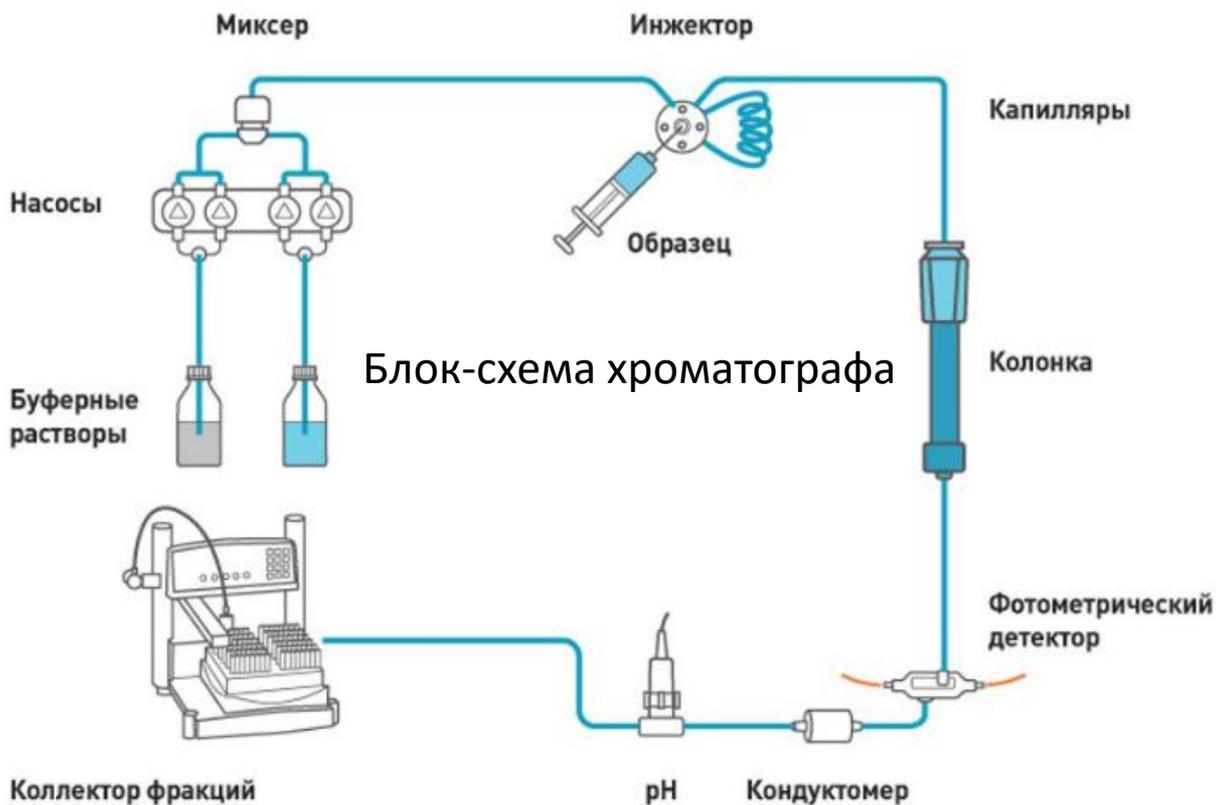


# Фармакокинетические исследования в эксперименте

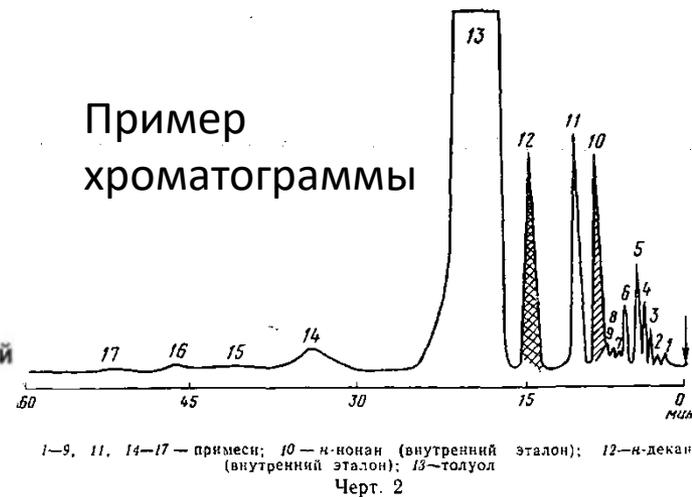
Основные методы в фармакокинетическом исследовании:

- Хроматография
- Масс-спектрометрия
- Хроматомасс-спектрометрия
- Иные методы (редко)

# Фармакокинетические исследования в эксперименте



Пример хроматограммы



**Хроматография** - метод разделения смесей веществ или частиц, основанный на различиях в скоростях их перемещения в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз

# Фармакокинетические исследования в эксперименте

- **Виды хроматографических исследований**

- Жидкостная
- Газовая

Деление по природе фаз

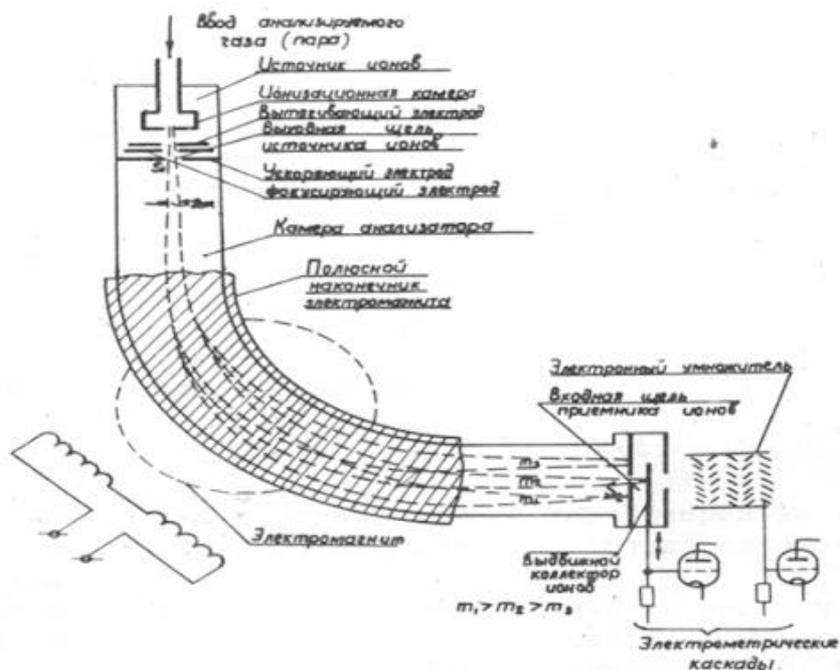
- Элюентная
- Вытеснительная
- Электрохроматография и др.

Деление по способу перемещения сорбатов

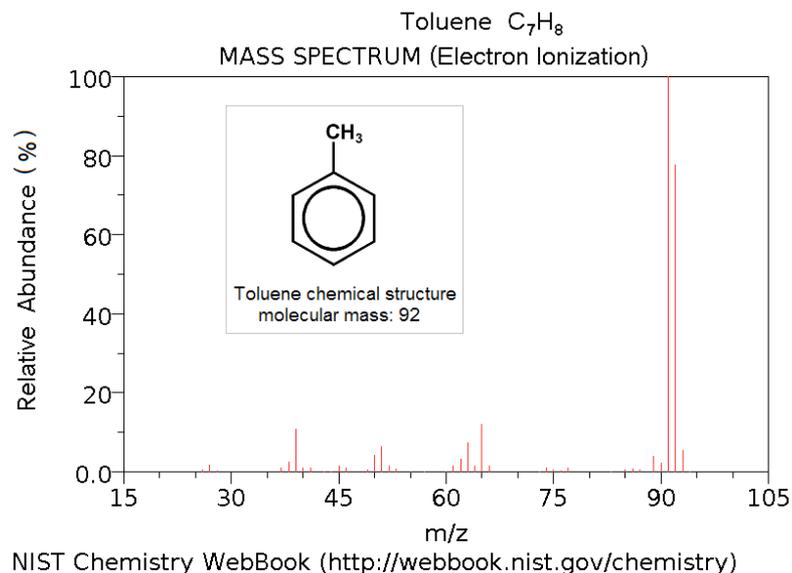
- Адсорбционная
- Афинная
- Ионообменная и др.

Деление по ключевому физическому принципу

# Фармакокинетические исследования в эксперименте



Принцип работы масс-спектрометра



Пример масс-спектрограммы

**Масс-спектрометрия** - метод идентификации соединений, позволяющий определять концентрацию различных компонентов в нем по изотопному, элементному или химическому составу

# Фармакокинетические исследования в эксперименте

## Виды масс-спектрометрических исследований

Электронная ионизация (EI)  
Химическая ионизация (CI)  
Ионизация захватом электрона (EC)  
Ионизация в электрическом поле (FI)

Газофазная

Термоспрей  
Ионизация при атмосферном давлении (AP)

Жидкофазная

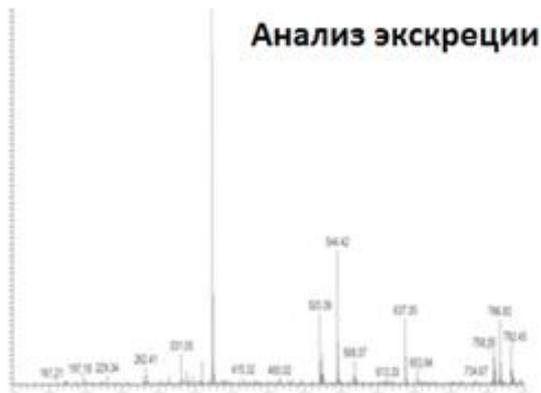
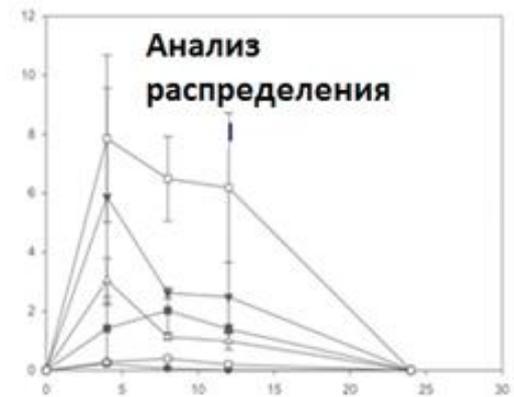
Прямая лазерная десорбция - масс-спектрометрия (LDMS)  
Матрично-активированная лазерная десорбция/ионизация (MALDI)  
Масс-спектрометрия вторичных ионов (SIMS)  
Бомбардировка быстрыми атомами (FAB)  
Десорбция в электрическом поле (FD)  
Плазменная десорбция (PD)

Твердофазная

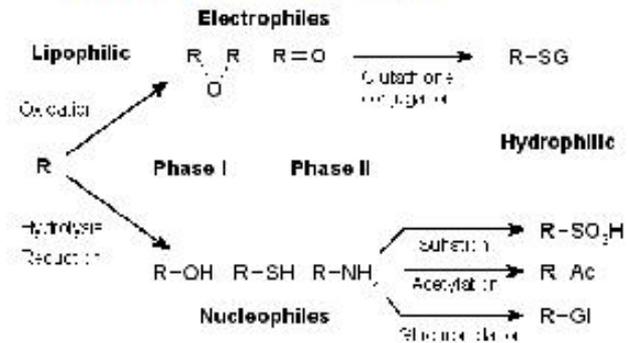
# Фармакокинетические исследования в классическом эксперименте

Активная субстанция  
(или лекарственный препарат)

Введение



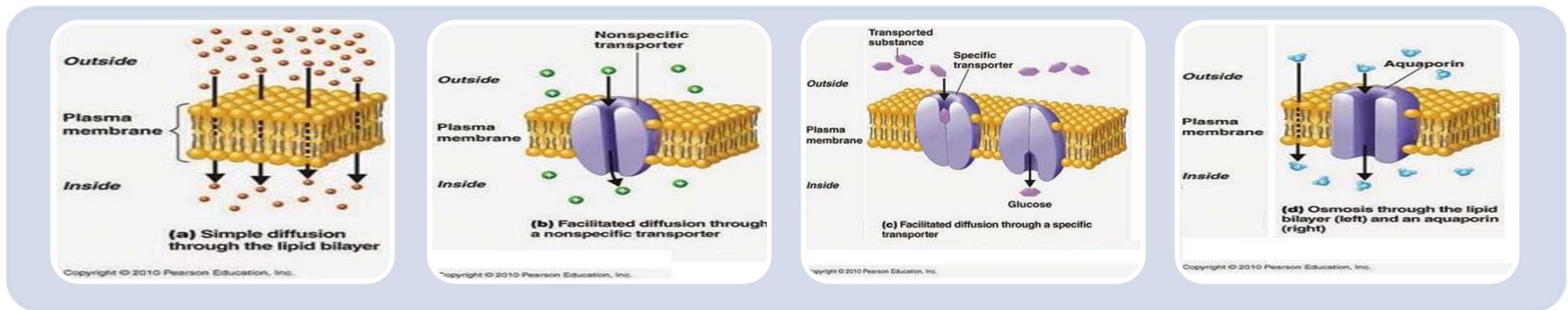
## Анализ метаболизма



# Понятие и виды всасывания. Пассивный транспорт

**Всасывание** — преодоление липопротеиновой плазматической мембраны клеток (в кишечнике — 1 слой эпителия, в коже — несколько клеточных слоев)

**Пассивный транспорт вещества в клетку** — перенос веществ из области высокой концентрации в область низкой без затрат энергии



## Пассивная диффузия

пассивное перемещение вещества из участка большей концентрации к участку меньшей концентрации

## Облегченная диффузия с неспецифическими транспортерами

диффузия вещества по градиенту концентрации с помощью неспецифических белков-переносчиков

## Облегченная диффузия со специфическими транспортерами

диффузия вещества по градиенту концентрации с помощью специфических белков-переносчиков

## Осмоз

осмотическое проникание растворителя через билипидный слой или водяные поры (аквапорины)

**Период полуабсорбции ( $T_{1/2a}$ )** — время, необходимое для всасывания половины дозы препарата из места введения в кровь, пропорциональна константе скорости абсорбции ( $T_{1/2a} = 0,693/K_a$ ).

# Понятие и виды всасывания. Пассивный транспорт

Простая диффузия – вид пассивного транспорта **веществ-неэлектролитов, липофильных соединений** (алкалоиды, средства для наркоза, этанол и др.)

Диффузия пропорциональна **градиенту концентраций**

$$I = -D \frac{dC}{dx},$$

где **I** – поток вещества по направлению оси **X**, **D** – коэффициент диффузии ( $\text{см}^2/\text{с}^{-1}$ ), **X** – ось направления диффузии.

В случае тонкой мембраны градиент концентраций постоянен и определен разницей концентраций, уравнение принимает вид:

$$I = P(C_1 - C_2),$$

где **P** – коэффициент проницаемости мембраны.

# Понятие и виды всасывания. Пассивный транспорт

Облегченная диффузия – вид пассивного транспорта, характерный для **аминокислот, моносахаридов** и сходных с ними структур

От простой диффузии отличается:

- Специфичностью к транспортируемому агенту
- Насыщаемостью скорости переноса (скорость транспорта ограничена пропускной силой транспортера)
- Чувствительностью к действию ингибиторов

Скорость облегченной диффузии определяется уравнением Михаэлиса Ментен

$$v = \frac{v_{\max} \cdot S_0}{K_M + S_0}$$

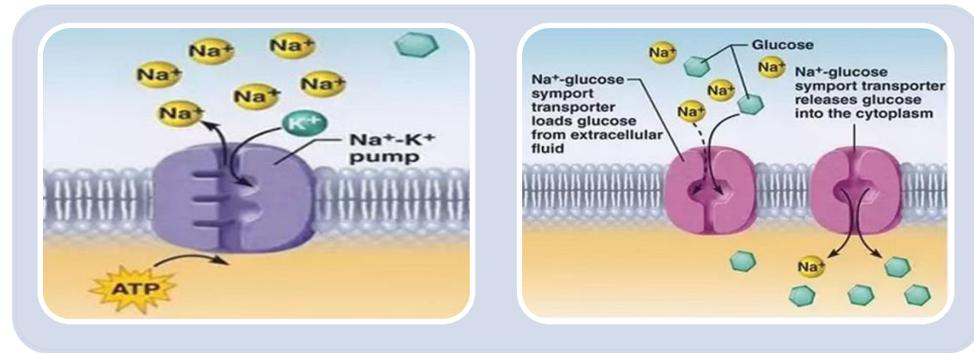
где  $v$  – скорость реакции,  $v_{\max}$  – предельная скорость реакции,  $S_0$  – концентрация во внешнем растворе,  $K_M$  – константа Михаэлиса.

# Понятие и виды всасывания. Активный транспорт

**Активный транспорт** – энергетически затратный процесс транспорта молекул мембранными белками

**Первичный активный транспорт** – механизм, с помощью которого энергодонорная химическая реакция (гидролиз АТФ), обеспечивает прямой транспорт молекул для установления градиентов концентрации (натрий / калий-АТФазы и водородные-АТФазы)

**Вторичный активный транспорт** – использует установленные градиенты концентраций для переноса других молекул



## Первичный

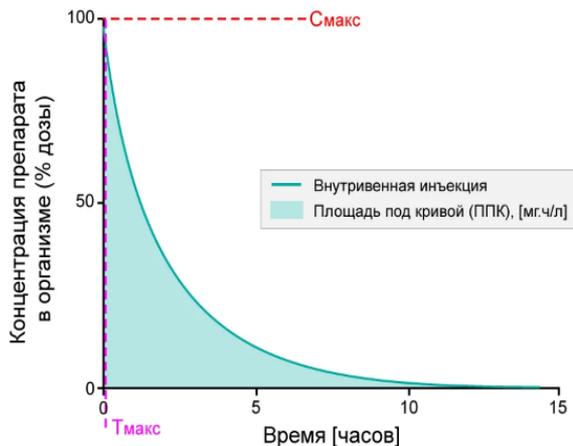
пассивное перемещение вещества из участка большей концентрации к участку меньшей концентрации

## Вторичный

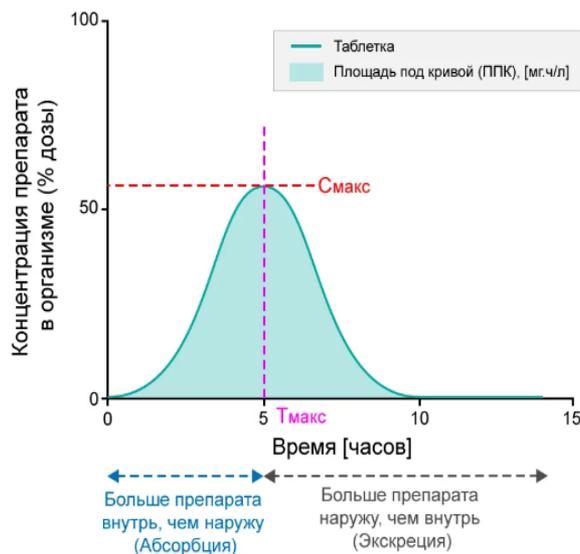
диффузия вещества по градиенту концентрации с помощью неспецифических белков-переносчиков

**Биодоступность** количество лекарственного вещества, доходящее до места его действия в организме человека (способность препарата усваиваться). **Биодоступность** это главный показатель, характеризующий количество потерь

### Инъекционная лекарственная форма



### Пероральная лекарственная форма



### Энтеральные

1. per os
2. Сублингвально
3. Ректально

### Парентеральные

1. Под кожу
2. В мышцу
3. В вену
4. В артерию
5. Внутрисердечно
6. Внутрикостно
7. Субарахноидально
8. Ингаляционно

# Оценка биодоступности в эксперименте

$$F = \frac{[\text{ППК}]_{\text{по}} * \text{ДОЗА}_{\text{в/в}}}{[\text{ППК}]_{\text{вв}} * \text{ДОЗА}_{\text{п/о}}}$$

ППК – площадь под кривой «концентрация-время»  
ВВ – внутривенное введение препарата  
ПО – пероральное введение препарата

$$\text{AUC} = \frac{C_1}{2} \Delta t_1 + \frac{C_1 + C_2}{2} \Delta t_2 + \frac{C_2 + C_3}{2} \Delta t_3 \dots + \text{AUC}_{\text{ост}}$$

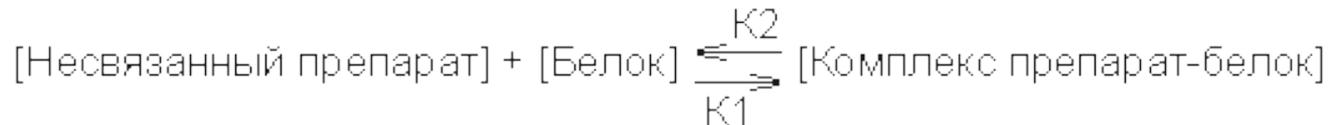
Где  $\text{AUC}_{\text{ост}} = \frac{C_{\text{посл}}}{K_{el}}$

**Абсолютная биодоступность** — отношение площади под кривой «концентрация-время» в системном кровотоке после введения любым путем, кроме внутрисосудистого, к аналогичному показателю для внутривенного введения

**Относительная биодоступность** – ППК определенного лекарства, сравнивая с другой рецептурной формой этого же лекарства, принятой за стандарт, или введенной в организм другим путем. Когда стандарт представляет внутривенно введенный препарат, мы имеем дело с абсолютной биодоступностью.

# Понятие и виды распределения

**Распределение** зависит от его относительного связывания с белками плазмы крови и тканями

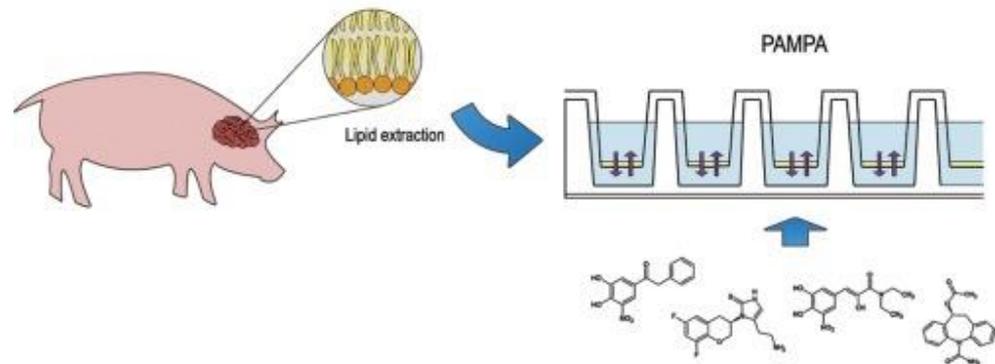


**Факторы, влияющие на распределение:** связь с белками (альбумин, альфа-1 кислый гликопротеин, липопротеины), интенсивность кровотока, липо/гидрофильность, биологические барьеры

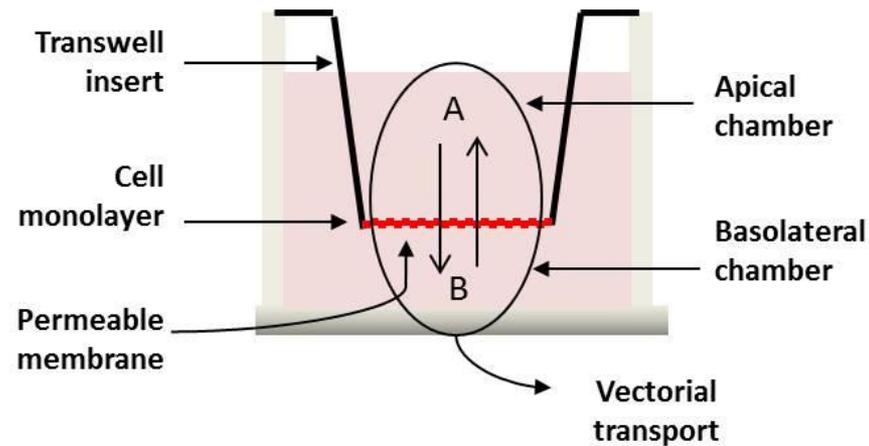
# Понятие и виды распределения

- Исследование способности соединений проникать через барьеры

A) PAMPA-BBB тест



Б) MDR1-MDCK

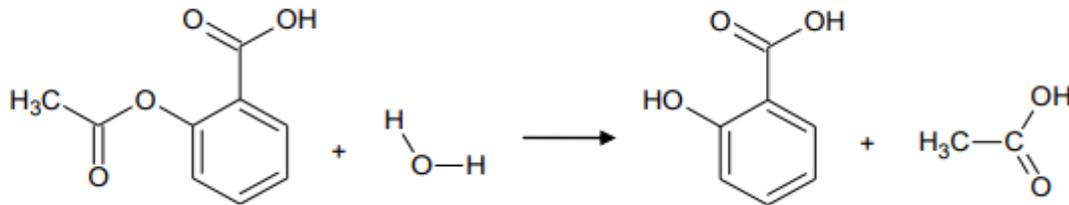


## Понятие и виды распределения

- **Период полураспределения ( $T_{1/2a}$ )** — время, необходимое для достижения концентрации препарата в крови, равной 50 % от равновесной, т.е. при наличии равновесия между кровью и тканями
- **Кажущаяся начальная концентрация ( $C_0$ )** — концентрация препарата, достигаемая в плазме при внутривенном введении, если бы распределение протекало мгновенно
- **Объем распределения ( $V_d$ ) =  $D/C_0$**  — условный объем жидкости, в котором нужно растворить всю попавшую в органы дозу препарата ( $D$ ), чтобы получилась концентрация, равная  $C_0$ . Отражает захват препарата тканями
- А) Доза нагр. =  $V_d * C$  Б) Доза под. =  $Cl * C_{ss}$  В)  $C_{ss} = 1,44 * F * \text{Доза} * T_{1/2} / V_d * t$
- **Кажущийся объем распределения** – объем жидкости, в котором могло бы распределиться общее количество введенного средства для создания концентрации, соответствующей таковой в плазме крови. Если вводится 1 000 мг лекарственного средства, а концентрация в плазме крови составляет 10 мг/л, то 1 000 мг распределяется в 100 л (доза/объем = концентрация; 1 000 мг/х л = 10 мг/л; отсюда: х = 1 000 мг/10мг/л = 100 л).

# Понятие и виды метаболизации

- **Метаболизация** описывает химические реакции, которые изменяют лекарственные средства (ксенобиотики) в соединения, которые легче устранить
- Органы и ткани протекания метаболизации: печень, стенка кишечника, легкие, плазма крови. Неполярные молекулы превращаются в более полярные молекулы.
- ФАЗЫ:  
**ФАЗА 1.** Включает окисление (наиболее часто), восстановление и гидролиз. В результате возможно: А) Препарат теряет неактивность; Б) Один или несколько метаболитов фармакологически активны, но в меньшей степени; В) Исходное вещество фармакологически неактивно, но активен один из его метаболитов (пролекарство)

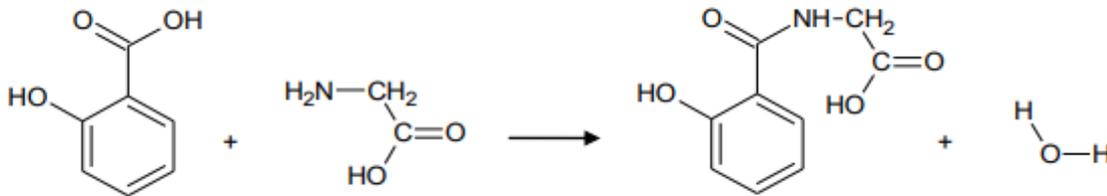


*Метаболизация аспирина (1 фаза)*

# Понятие и виды метаболизации

- ФАЗЫ:

**ФАЗА 2.** Включает реакции превращения лекарства или метаболита фазы 1 в растворимое соединение, удобное к выведению с мочой. В этих реакциях молекула (лекарство или метаболит) сопрягается с ионизируемой группой. Метаболиты фазы 2 обычно не имеют активности



Ключевые процессы:

- - **ацетилирование** (сульфаниламиды, холин),
- - **метирирование** (гистамин, катехоламины),
- - **взаимодействие с глюкуроновой кислотой** (морфин, оксазепам, норадреналин, левомецетин),
- - **образование эфирных сульфатов** (стероиды, этанол).

# Понятие и виды метаболизма

Изучение метаболизма нацелено на исследование химических изменений лекарственных молекул в ходе процессинга в организме



Изофермент цитохрома P450	Сильные ингибиторы	Умеренные ингибиторы	Слабые ингибиторы
1A2	Ципрофлоксацин, энноксаин, флувоксамин	Зилеутон, мексилетин, метоксален, оральные контрацептивы, тиабендазол, фенилпропаноламин	Аллопуринол, ацикловир, верапамил, дисульфирам, кофеин, норфлоксацин, пропафенон, пропранолол, тиклопидин, фамотидин, циметидин, экстракт эхинацеи
2C9		Амиодарон, миконазол, оксандролон, флуконазол	Вориконазол, зафирлукаст, капецитабин, ко-тримоксазол (сульфаметоксазол + триметоприм), метронидазол, сульфинпиразон, тигециклин, флувастатин, флувоксамин, этравирин
2C19	Флуконазол, флувоксамин, тиклопидин	Флуоксетин, моклобемид, омепразол, эзомепразол, вориконазол	Армодафинил, карбамазепин, циметидин, этинилэстрадиол, этравирин, соматотропин, фелбрамат, кетоконазол
2D6	Бупропион, пароксетин, флуоксетин, хинидин	Дулоксетин, тербинафин, цинакалцет	Амиодарон, вемурафениб, верапамил, gefитиниб, гидралазин, гидроксихлорохин, десвенлафаксин, дилтиазем, дифенгидрамин, иматиниб, метадон, оральные контрацептивы, пропафенон, ранитидин, ритонавир, сертралин, телитромицин, фебуксостат, целекоксиб, циметидин, экстракт эхинацеи, эсциталопрам
3A4	Вориконазол, грейпфрутовый сок (высокой концентрации), итраконазол, кетоконазол, кларитромицин, лопинавир, нефазодон, позаконазол, ритонавир, ритонавир, саквинавир, теллапревир, телитромицин	Апрепитант, верапамил, грейпфрутовый сок (обычной концентрации), дарунавир, дилтиазем, иматиниб, ритонавир, флуконазол, фосампренавир, ципрофлоксацин, эритромицин	Алпразолам, амиодарон, амлодипин, аторвастатин, бикалутамид, зилеутон, изониазид, нилотиниб, оральные контрацептивы, ранитидин, ранолазин, тикагрелор, типранавир, флувоксамин, флуоксетин, циклоспорин, цилостазол, циметидин, экстракт желтого корня канадского, экстракт лисьев гинкго билоба

# Экскреция и виды экскреции

**Период полувыведения ( $T_{1/2}$ )** — время, необходимое для уменьшения вдвое концентрации препарата в крови, зависит от константы скорости элиминации ( $T_{1/2} = 0,693 / K_{e1}$ ).

**Общий клиренс** — скорость очищения организма от лекарственного препарата. Общий клиренс определяется суммой почечного и внепочечного клиренса. •  $Cl_r = \text{Доза} / AUC$

**Виды клиренса:**

- Почечный
- Внепочечный (включает печеночный, а также минорные клиренсы)

**Исследование экскреции** состоит в поиске высокочувствительными методами (хроматография, хроматомасс-спектрометрия) следов лекарственного вещества и его метаболитов