

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

© Коллектив авторов, 2015

Е. И. Каленикова\*, Е. А. Городецкая, О. Г. Токарева, М. А. Белоусова,  
О. Ю. Куляк, М. М. Артемьева, О. С. Медведев

## МНОГОДНЕВНЫЙ МОНИТОРИНГ УРОВНЕЙ УБИДЕКАРЕНОНА В ПЛАЗМЕ И ОРГАНАХ КРЫСЫ ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, факультет фундаментальной медицины, Россия, Москва, 119192, Ломоносовский пр-кт 31/5; \* e-mail: eikaleni@fbm.msu.ru

Впервые проведено изучение фармакокинетики убидекаренона в плазме и динамики его уровней в органах на протяжении 8 – 16 сут после его однократного внутривенного введения крысам в дозе 30 мг/кг. Выявлен истинный двухфазный характер фармакокинетической кривой и рассчитаны основные фармакокинетические параметры для плазмы ( $C_0$ ,  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ,  $K_{\alpha}$ ,  $K_{el}$ ,  $t_{1/2\alpha}$ ,  $t_{1/2el}$ ,  $Cl_T$ ,  $V_d$ ) и ряда органов ( $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $AUC_{0 \rightarrow t}$ ,  $f_{tiss}$ ). Представленные данные доказывают, что введенный внутривенно  $CoQ_{10}$  обеспечивает быстрое повышение и длительное поддержание его высоких уровней в плазме, миокарде, головном мозге, печени и почках, что потенциально важно для лечения острых ишемических состояний.

**Ключевые слова:** убидекаренон; фармакокинетика; острые ишемические состояния.

Коэнзим  $Q_{10}$  ( $CoQ_{10}$ ), также известный как убихинон или убидекаренон, является липофильной молекулой, присутствующей в мембранах почти всех тканей и органов.  $CoQ_{10}$  играет фундаментальную роль в обеспечении работы митохондрий и биоэнергетике клетки [1]. Многие заболевания сердечно-сосудистой системы сопровождаются снижением уровня  $CoQ_{10}$  [2]. Восполнение дефицита  $CoQ_{10}$  обеспечивает кардио- и нейропротекцию, что показали экспериментальные и клинические исследования [3 – 6].

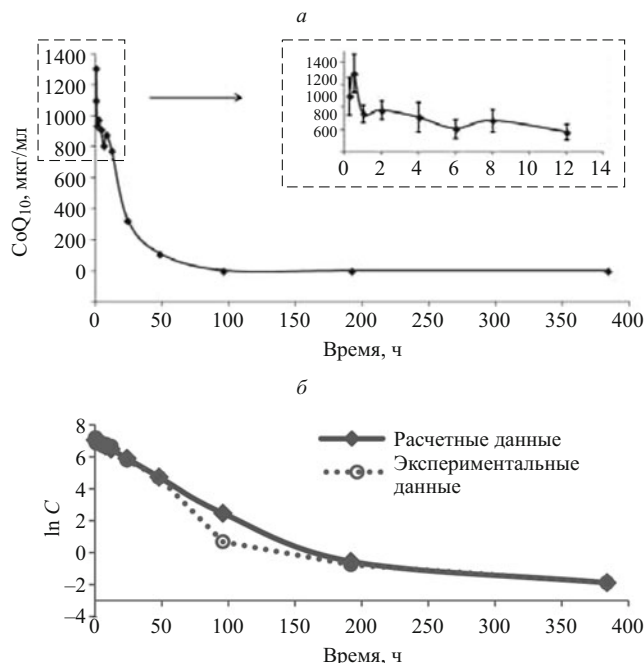
Большинство лекарственных форм  $CoQ_{10}$  представляют собой препараты для приема внутрь. Известно, что биодоступность при таком способе введения крайне мала из-за ограниченной абсорбции вследствие низкой растворимости и большой молекулярной массы [7 – 9]. Парентеральные пути введения способны обеспечить быстрое повышение уровней  $CoQ_{10}$  в плазме и тканях, что может быть особенно важно в ургентной терапии ишемического инсульта и инфаркта миокарда. Ранее показано, что размер инфаркта миокарда, развивающийся после экспериментальной коронарной окклюзии, существенно снижается в результате внутривенного введения  $CoQ_{10}$  в дозе 30 мг/кг [10]. На модели ишемического инсульта у крыс внутривенное введение  $CoQ_{10}$  в той же дозе приводит к уменьшению зоны поражения головного мозга и улучшению неврологического статуса [3]. Таким образом, разработка и доклинические исследования парентеральной лекарственной формы  $CoQ_{10}$  для применения в терапии острых сердечно-сосудистых состояний представляются весьма актуальными. Важнейшим этапом доклинических исследований является изучение фармакокинети-

ки препарата. Известно, что  $CoQ_{10}$  — медленно элиминирующееся соединение [9, 11]. Однако приводимые в литературе характеристики процессов, приводящих к снижению его концентрации в организме после введения извне, противоречивы вследствие различных и недостаточных по продолжительности протоколов исследования. Данные длительного мониторинга уровней  $CoQ_{10}$  в плазме и важнейших органах после его внутривенного введения в настоящее время отсутствуют.

Цель работы — изучение фармакокинетики  $CoQ_{10}$  в течение нескольких суток после его внутривенного введения.

### Экспериментальная часть

Исследование выполнено на 72 крысах-самцах Вистар массой 300 – 350 г. в соответствии с требованиями надлежащей лабораторной практики и предварительным одобрением локального биоэтического комитета. Животным под наркозом (пентобарбитал натрия, 45 мг/кг внутривенно) имплантировали катетер в бедренную вену и, в зависимости от группы, однократно внутривенно вводили физиологический раствор в объеме 1 мл/кг массы (7 контрольных животных) или раствор солюбилизованного  $CoQ_{10}$  (“Кудесан<sup>®</sup>” капли для приема внутрь 3 %, ООО “Внешторг Фарма”) в дозе 30 мг/кг массы (5 животных на каждую временную точку). Забор образцов крови, ткани левого желудочка (ЛЖ), головного мозга, печени и почек осуществляли через 48 ч после введения физиологического раствора и спустя 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 6; 8; 12; 24;



**Рис. 1.** Кинетические профили CoQ<sub>10</sub> в плазме крови крыс в течение 16 сут после внутривенного введения солюбилизованного CoQ<sub>10</sub> в дозе 30 мг/кг: а) кинетическая кривая зависимости концентрации — время; в пунктирной рамке — кинетический профиль в первые 12 ч; б) кинетическая кривая в полулогарифмической шкале (пунктирной линией обозначены концентрации в образцах плазмы, сплошной линией — их расчетные значения).

48; 96 и 192 ч после инъекции CoQ<sub>10</sub>. Через 384 ч (16 сут) после инъекции в дополнительной группе животных проводили только отбор крови. Плазму и образцы тканей замораживали и хранили при -20 °C до

**Таблица 1**  
**Среднегрупповые значения прироста CoQ<sub>10</sub> в плазме крыс после однократного внутривенного введения солюбилизованного раствора CoQ<sub>10</sub> в дозе 30 мг/кг**

Время после введения, ч	Прирост CoQ <sub>10</sub> , мкг/мл	
	экспериментальные значения	расчетные значения
0,25	1102 ± 170*#	1144
0,5	1306 ± 175*	1130
1	941 ± 78*#	1103
2	976 ± 81*	1051
4	910 ± 135*	954
6	807 ± 87*	865
8	882 ± 103*	785
12	778 ± 67*#	647
24	328 ± 38*#	361
48	110 ± 61*#	113
96	2,0 ± 1,0*#	12
192	0,48 ± 0,26*#	0,58
384	0,16 ± 0,05*#	0,15

\* Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой, не получавшей CoQ<sub>10</sub>, (0,13 ± 0,06) мкг/мл,  $p < 0,05$ ;

# статистически значимые различия по сравнению с предыдущей временной точкой,  $p < 0,05$ .

проведения количественного анализа CoQ<sub>10</sub> методом ВЭЖХ с электрохимическим детектированием [12].

На основе полученных экспериментальных данных рассчитывали основные фармакокинетические параметры. На конечном (моноэкспоненциальном) участке фармакокинетической кривой с использованием метода наименьших квадратов выводили уравнение регрессии фазы элиминации:

$$\ln C_t = \ln C_0 - K_{el}t, \quad (1)$$

где  $K_{el}$  — константа скорости элиминации — рассчитана по формуле:

$$K_{el} = \frac{n \sum_{i=1}^n (xy) - \sum_{i=1}^n (x) \sum_{i=1}^n (y)}{n \sum_{i=2}^n (x^2) - (\sum_{i=1}^n (x))^2}, \quad (2)$$

где  $n$  — количество экспериментальных временных точек;  $x$  — временная точка;  $y$  — концентрация (мкг/мл), представленная в полулогарифмических значениях.

Площадь под фармакокинетической кривой зависимости концентрации в плазме от времени ( $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ) рассчитывали методом трапеций с учетом конечного участка площади после последней точки отбора крови. Общий клиренс ( $Cl_T$ ) рассчитывали по формуле:

$$Cl_T = \frac{D}{AUC_{0 \rightarrow \infty}}, \quad (3)$$

где  $D$  (мкг/кг) — введенная в организм однократная доза исследуемого вещества,  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  (мкг · ч/мл) — площадь под фармакокинетической кривой.

Продолжительность периода полуэлиминации ( $t_{1/2el}$ ) рассчитывали как отношение  $t_{1/2el} = 0,693/K_{el}$ . Кажущаяся начальная концентрация ( $C_0$ ) была определена из выведенного биэкспоненциального уравнения функции концентрация — время при  $t = 0$ . Общий объем распределения ( $V_d$ ) вычисляли по формуле:

$$V_d = D/C_{0el},$$

где  $D$  (мг/кг) — введенная в организм однократная доза исследуемого вещества,  $C_{0el}$  — кажущаяся концентрация для фазы элиминации в нулевой момент времени, рассчитанная из уравнения (1). Для оценки интенсивности проникновения препарата в ткани рассчитывали тканевую биодоступность ( $f_{tiss}$ ), определяемую как отношение  $AUC_{0 \rightarrow t}$  в ткани к соответствующей величине  $AUC_{0 \rightarrow t}$  в плазме.

Статистическую обработку проводили с помощью программного пакета STATISTICA 6.0. Данные представлены в виде средних значений со стандартным отклонением. Для сравнения групп использовали непараметрический  $U$ -критерий Манна – Уитни, различия при  $p < 0,05$  считались статистически значимыми.

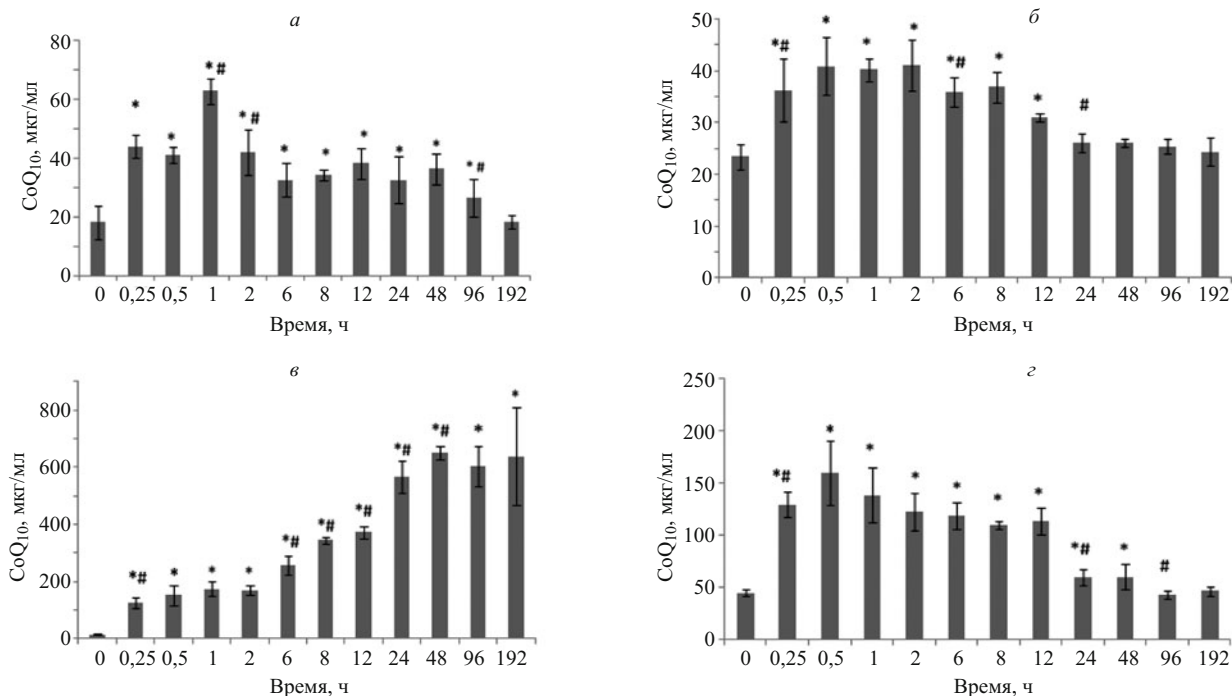


Рис. 2. Содержание  $\text{CoQ}_{10}$  в миокарде (а), головном мозге (б), печени (в) и почках (г) на каждую временную точку в течение 8 сут после внутривенного введения раствора солюбилизованного  $\text{CoQ}_{10}$  в дозе 30 мг/кг: \*  $p < 0,05$  по сравнению с контрольной группой (точка "0"); #  $p < 0,05$  по сравнению с предыдущей временной точкой.

### Результаты и их обсуждение

Среднегрупповые значения прироста концентраций  $\text{CoQ}_{10}$  в плазме крови крыс после внутривенного введения представлены в табл. 1.

На протяжении всего исследуемого периода после внутривенного введения наблюдали повышенные уровни  $\text{CoQ}_{10}$  в плазме, которые, постепенно снижаясь, к 16 сут все еще в 2,2 раза превышали фоновые.

На основании полученных данных построены фармакокинетические кривые в абсолютной и полулогарифмической шкалах (рис. 1, а, б). Полученная кинетическая кривая зависимости концентрации  $\text{CoQ}_{10}$  в плазме крови от времени после введения удовлетворительно описывается биекспоненциальным уравнением:

$$C_t = 1157,25e^{-0,0486t} + 1,468e^{-0,0059t},$$

что соответствует двухкамерной модели распределения. Рассчитанные по данному уравнению концентрации  $\text{CoQ}_{10}$  в плазме крови находятся в хорошем соответствии с экспериментальными данными (табл. 1).

Первая фаза кинетической кривой  $\text{CoQ}_{10}$  соответствует распределению препарата во внутренних органах и тканях и продолжается около 96 ч, после чего скорость снижения концентрации в крови существенно уменьшается, указывая на начало следующей фазы — фазы элиминации.

На основе полученных данных были рассчитаны основные фармакокинетические параметры (табл. 2).

Как видно из представленных данных, препарат медленно распределяется ( $t_{1/2\alpha} = 14,14$  ч) и очень медленно выводится из организма ( $t_{1/2\text{el}} = 117,5$  ч). Низкий показатель общего клиренса (1,18 мл/ч/кг) также ука-

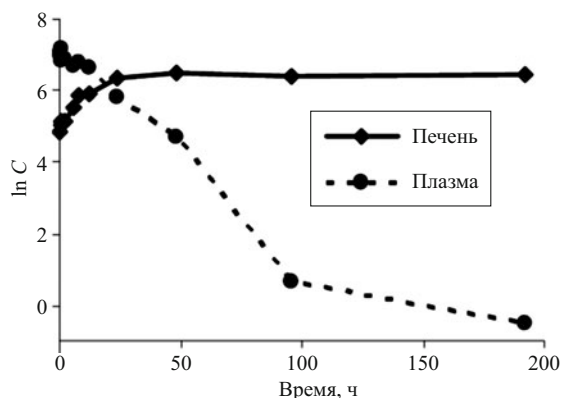


Рис. 3. Кинетические кривые зависимости "концентрация — время" в плазме и печени крыс в течение 8 сут после внутривенного введения солюбилизованного  $\text{CoQ}_{10}$  в дозе 30 мг/кг.

Таблица 2  
Фармакокинетические характеристики  $\text{CoQ}_{10}$  после внутривенного введения крысам в дозе 30 мг/кг

Параметр	Значение
Площадь под кривой $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ , мкг·ч/мл	25403,07
Кажущаяся начальная концентрация $C_0$ , мкг/мл	1158,72
Константа распределения $K_{\alpha}$ , ч <sup>-1</sup>	0,0486
Период полураспределения $t_{1/2\alpha}$ , ч	14,14
Константа элиминации $K_{\text{el}}$ , ч <sup>-1</sup>	0,0059
Период полуэлиминации $t_{1/2\text{el}}$ , ч	117,5
Общий клиренс $Cl$ , мл/ч/кг	1,18
Объем распределения $V_d$ , л/кг	20,4

Таблица 3  
**Фармакокинетические параметры распределения СоQ<sub>10</sub> в тканях на протяжении 8 сут после внутривенного введения крысам в дозе 30 мг/кг**

Орган	$T_{\max}$ , ч	$C_{\max}$ , мкг/г	$AUC_{0 \rightarrow 1}$ , мкг·ч/г	$f_{\text{tiss}}$
Сердце (левый желудочек)	1	62,7	1896	0,075
Головной мозг	2	41,1	542	0,02
Печень	48	649,1	110425	4,36
Почки	0,5	160,2	2087	0,082

зывает на длительную элиминацию СоQ<sub>10</sub> из организма. Объем распределения (20,4 л/кг) отражает способность препарата интенсивно проникать в органы и ткани. Тканевое накопление СоQ<sub>10</sub> в организме крыс в потенциальных органах-мишенях — в сердце и головном мозге, а также в органах, обеспечивающих элиминацию, — печени и почках, представлено на рис. 2.

В сердце однократное внутривенное введение СоQ<sub>10</sub> уже в первые минуты обеспечивало повышение концентрации СоQ<sub>10</sub> в 2,5 раза, а через 1 ч достигались максимальные значения (прирост 242 %). В последующем интервале от 2 до 48 ч прирост сохранялся на уровне 80 – 111 %, через 4 сут — на уровне 50 %, и лишь к концу 8 сут — не отличался от фоновых значений. Тканевая доступность СоQ<sub>10</sub> в ЛЖ составила 0,075.

В головном мозге после внутривенной инъекции СоQ<sub>10</sub> определялось достоверное повышение его тканевого уровня на 55, 75, 76, 53, 32 % через 15 мин, 30 мин, 2 ч, 6 ч и 12 ч соответственно. В более поздние сроки уровни СоQ<sub>10</sub> в головном мозге не отличались от фоновых показателей. Тканевая доступность СоQ<sub>10</sub> в головном мозге составила 0,02.

Содержание СоQ<sub>10</sub> в печени нарастало в первые 48 ч и достигало максимальной концентрации 649,05 мкг/г, которая превышала содержание СоQ<sub>10</sub> в группе “Контроль” в 6 раз. Достигнутый уровень СоQ<sub>10</sub> поддерживался в печени на протяжении следующих 6 сут. Таким образом, при внутривенном введении СоQ<sub>10</sub> продолжительность распределения в печени составляет не менее 48 ч, что согласуется с кинетическими данными для плазмы крови. Тканевая доступность СоQ<sub>10</sub> в печени составила 4,36, что свидетельствует о накоплении препарата в органе.

В почках прирост содержания СоQ<sub>10</sub> (189 %) зарегистрирован уже на первой временной точке — 15 мин после введения. Время достижения максимального прироста концентрации СоQ<sub>10</sub> (256 %) составило 0,5 ч. Содержание СоQ<sub>10</sub> в почках сохранялось повышенным на протяжении 48 ч и возвращалось к фоновым значениям через 96 ч после введения препарата. Тканевая биодоступность СоQ<sub>10</sub> в почках составила 0,082.

Фармакокинетические характеристики накопления СоQ<sub>10</sub> в органах при его внутривенном введении крысам представлены в табл. 3.

Известные из литературы данные о фармакокинетики СоQ<sub>10</sub> получены преимущественно при его введении внутрь [7 – 9]. В единичных работах по внутрисосудистому введению продолжительность исследования составляла не более 2 сут [9, 13]. Изучение фармакокинетики препарата в плазме и динамики его уровней в органах на протяжении 8 – 16 сут проведено впервые. Полученные результаты позволили выявить истинный двухфазный характер фармакокинетической кривой и рассчитать основные фармакокинетические параметры для плазмы и ряда органов. Представленные данные доказывают, что введенный внутривенно СоQ<sub>10</sub> проникает в головной мозг и миокард, обеспечивая длительное сохранение повышенных тканевых уровней, что потенциально важно для лечения острых ишемических состояний.

Данные о тканевой биодоступности и сравнение кинетических профилей СоQ<sub>10</sub> в плазме и печени (рис. 3) показывают, что печень является для СоQ<sub>10</sub> органом-депо. Одной из физиологических функций печени является синтез СоQ<sub>10</sub> с последующей секрецией его в кровоток, поэтому накопление СоQ<sub>10</sub> в печени может обуславливать долговременное поддержание его повышенных плазменных уровней. Это предположение согласуется с полученными ранее данными о сохранении повышенных уровней СоQ<sub>10</sub> в плазме, миокарде и печени даже через 3 недели после однократного внутривенного введения [10]. Накопление СоQ<sub>10</sub> в печени с последующим периодическим высвобождением в кровь может формировать характерный волнообразный профиль фармакокинетической кривой в первые 12 ч (рис. 1, а).

Таким образом, однократное внутривенное введение обеспечивает быстрое повышение и длительное сохранение высоких уровней СоQ<sub>10</sub> в плазме, миокарде, головном мозге, печени и почках. Результаты представленного исследования, а также полученные ранее доказательства кардио- и нейропротекторной эффективности СоQ<sub>10</sub> [3 – 6] подтверждают перспективность разработки парентеральной лекарственной формы СоQ<sub>10</sub> для применения в терапии острых сердечно-сосудистых состояний.

Исследование выполнено за счет гранта Российского научного фонда (проект № 14-15-00126).

## ЛИТЕРАТУРА

1. G. P. Littarru and L. Tiano, *Mol. Biotechnol.*, **37**(1), 31 – 37 (2007).
2. S. L. Molyneux, C. M. Florkowski, P. M. George, et al., *J. Am. Coll. Cardiol.*, **52**(18), 1435 – 1441 (2008).
3. M. Belousova, O. Povarova, E. Gorodetskaya, et al., *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **24** (Suppl 2), S202 – S202 (2014).
4. M. Mancuso, D. Orsucci, L. Volpi, et al., *Cur. Drug Targets*, **11**(1), 111 – 121 (2010).
5. M. Zamani, M. Katebi, M. Mehdizadeh, et al., *Basic Clin. Neurosci.*, **3**(5), 5 – 10 (2012).
6. J. Garrido-Maraver, M. D. Cordero, M. Oropesa-Avila, et al., *Front Biosci (Landmark Ed.)*, **19**, 619 – 633 (2014).
7. H. N. Bhagavan and R. K. Chopra, *Free Radical Res.*, **40**(5), 445 – 453 (2006).
8. M. V. Miles, *Mitochondrion*, **7** Suppl, S72 – S77 (2007).

9. A. Nishimura, H. Yanagawa, N. Fujikawa, et al., *J. Health Science*, **55**(4), 540 – 548 (2009).
10. A. Ivanov, O. Tokareva, E. Gorodetskaya, et al., *J. Clin. Exp. Cardiol.*, **5**(4), 1 – 6 (2014).
11. N. K. Swarnakar, A. K. Jain, R. P. Singh, et al., *Biomaterials*, **32**(28), 6860 – 6874 (2011).
12. Г. К. Будников, С. Ю. Гармонов (ред.), *Фармацевтический анализ*, Т. 16, Аргмак-Медиа, Москва (2013), сс. 616 – 653.
13. Е. И. Каленикова, Е. В. Харитоновна, Е. А. Городецкая и др., *Биомед. химия*, **61**(1), 125 – 131 (2015).

Поступила 28.05.15

## MULTI-DAY MONITORING OF UBIDECARENONE LEVEL IN RAT PLASMA AND TISSUES AFTER SINGLE INTRAVENOUS ADMINISTRATION

E. I. Kalenikova, E. A. Gorodetskaya, O. G. Tokareva, M. A. Belousova, O. Yu. Kulyak, M. M. Artem'eva, and O. S. Medvedev

Department of Fundamental Medicine, Moscow State University, Moscow, 119192 Russia

\* e-mail: cikaleni@fbm.msu.ru

For the first time, the pharmacokinetics of ubidecarenone in blood plasma and some tissues (myocardium, brain, liver and kidneys) and the drug dynamics in organs were investigated for 8 – 16 days after a single intravenous administration of solubilized ubidecarenone (CoQ<sub>10</sub>) in a dose of 30 mg/kg in rats. The CoQ<sub>10</sub> plasma concentration vs. time profile is best described by a two-compartment distribution model. The main pharmacokinetic parameters for plasma ( $C_0$ ,  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ,  $K_a$ ,  $K_{el}$ ,  $t_{1/2\alpha}$ ,  $t_{1/2\beta}$ ,  $Cl_T$ ,  $V_d$ ) and some tissues ( $C_{max}$ ,  $T_{max}$ ,  $AUC_{0 \rightarrow t}$ ,  $f_{tiss}$ ) were calculated. It is established that single intravenous administration of CoQ<sub>10</sub> ensures its rapid increase and long-term maintenance in plasma, myocardium, brain, liver and kidneys. These results on the pharmacokinetics and tissue distribution of CoQ<sub>10</sub> may be useful for the treatment of the acute ischemic states.

**Keywords:** ubidecarenone; pharmacokinetics; acute ischemic states.