

УДК 619:616.995.121

DOI:

Поступила в редакцию 12.03.2015

Принята в печать 07.09.2015

Ястреб В. Б.¹, Новик Т. С.^{1,2}, Дриняев В. А.^{1,2}, Чукина С. И.^{1,2}, Авчук С. В.², Тер–Симонян В. Г.², Литвин А. А.³ Фармакокинетика аверсектина С₁ и празиквантела в плазме крови собак после однократного подкожного введения препарата авертель // Российский паразитологический журнал. - М.-2015. - Вып.3. - С. .

ФАРМАКОКИНЕТИКА АВЕРСЕКТИНА С₁ И ПРАЗИКВАНТЕЛА В ПЛАЗМЕ КРОВИ СОБАК ПОСЛЕ ОДНОКРАТНОГО ПОДКОЖНОГО ВВЕДЕНИЯ ПРЕПАРАТА АВЕРТЕЛЬ

Ястреб В. Б.¹, Новик Т. С.^{1,2}, Дриняев В. А.^{1,2}, Чукина С. И.^{1,2}, Авчук С. В.², Тер–Симонян В. Г.², Литвин А. А.³

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений им. К. И. Скрябина, 117218, Москва, ул. Б. Черемушкинская, 28, e-mail: yastreb@vniigis.ru

² ООО НБЦ «Фармбиомед»

³ Научно-исследовательский институт фармакологии им. В. В. Закусова

Реферат

Цель исследования – изучение фармакокинетики аверсектина С₁ и празиквантела в плазме крови собак после однократного применения авертеля.

Материалы и методы. Опыт проводили на 3 собаках, которым подкожно в области шеи вводили авертель в терапевтической дозе 0,5 мг/кг по аверсектину С₁ и 5 мг/кг по празиквантелу. Через 0; 0,5; 1; 2; 3; 6; 9; 12; 24; 36; 48 и 72 ч из вены предплечья отбирали кровь в пробирки с гепарином. Анализ проб плазмы крови собак на содержание аверсектина С₁ по сумме авермектинов В_{1а} и В_{2а} проводили методом жидкостной хроматографии высокого давления с флуоресцентным детектированием; чувствительность метода составляет 0,001 мг/л. Празиквантел определяли этим методом с ультрафиолетовым детектированием. Для расчетов фармакокинетических параметров применяли модельно-независимый метод с использованием программы «M-IND», позволяющей проводить первичную обработку данных «концентрация лекарственного вещества – время» и рассчитывать системные параметры лекарственного вещества методом статистических моментов.

Результаты и обсуждение. Аверсектин С₁ обнаруживали в плазме крови через 0,5 ч после введения авертеля. В последующее время концентрация его возрастала и на 24-й час отмечали максимальный уровень препарата, а затем его содержание снижалось. Аверсектин С₁ находили в крови собак и через 72 ч после введения авертеля. Празиквантел обнаружен через 0,5 ч после введения, а через 1 ч отмечали максимальную его концентрацию. Через 72 ч препарат не находили в крови собак. Максимальная концентрация аверсектина С₁ в плазме крови составила 13,4 нг/мл и выделяется он в 12 раз медленнее, чем празиквантел. Период полувыведения аверсектина С₁ составил 100,1 ч, а среднее пребывание в организме – 153,08 ч.

Ключевые слова: авертель; фармакокинетика, аверсектин С₁, празиквантел, собаки, жидкостная хроматография высокого давления.

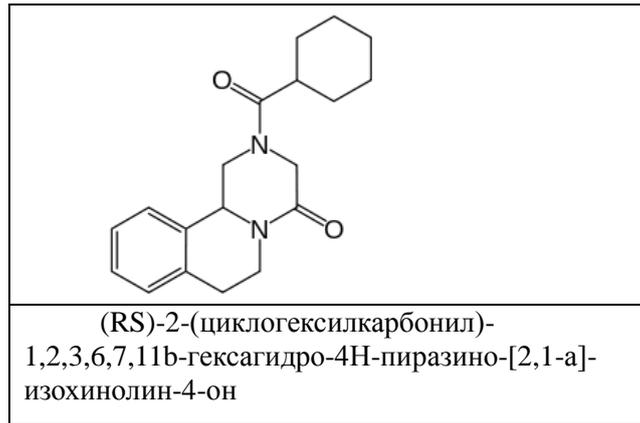
Введение

В предыдущие годы нами разработан комплексный противопаразитарный препарат авертель на основе аверсектина С₁ и празиквантела. Препарат испытан при паразитозах собак и кошек и проявил высокую эффективность и хорошую переносимость в терапевтической и трехкратно повышенной дозах [1–4].

Авертель представляет собой инъекционный раствор широкого спектра действия для лечения паразитозов у собак и кошек. В качестве действующих веществ содержит аверсектин С₁ (в 1 мл 5 мг) и празиквантел (в 1 мл 50 мг).

Аверсектин С₁ представляет смесь авермектинов В₁, В₂, А₁ и А₂ в определенном соотношении.

Структурная формула празиквантела приведена ниже.



Целью настоящих исследований было определение фармакокинетических параметров аверсектина C_1 (фракций V_{1a} и V_{2a}) и празиквантела после подкожного введения авертеля в плазме крови собак.

Материалы и методы

Исследования проводили на трех беспородных собаках массой 22–30 кг из приюта «Эко» (Москва). Содержание собак было групповым. Температура в помещении равнялась 20 ± 2 °С; влажность воздуха составляла 65 ± 5 %; животных содержали при 9-часовом освещении. Собак кормили сухим кормом. Потребление воды не ограничивали. Собак не подвергали обработке другими лекарственными препаратами.

Собакам подкожно в области шеи однократно вводили авертель в терапевтической дозе из расчета 0,1 мл/кг массы тела (0,5 мг/кг по аверсектину C_1 и 5 мг/кг по празиквантелу).

Через 0; 0,5; 1; 2; 3; 6; 9; 12; 24; 36; 48 и 72 ч из вены предплечья отбирали кровь в пробирки с гепарином. Образцы крови центрифугировали при 3000 об/мин в течение 15 мин. Отделяли плазму крови и переносили в пластиковые пробирки; до анализа пробы плазму крови хранили при -20 °С.

Анализ проб плазмы крови собак на содержание аверсектина C_1 по сумме авермектинов V_{1a} и V_{2a} проводили ранее разработанным методом жидкостной хроматографии высокого давления с флуоресцентным детектированием; чувствительность метода составляет 0,001 мг/л. Празиквантел определяли методом на основе ВЭЖХ с УФ-детектированием.

Для расчетов фармакокинетических параметров применяли модельно-независимый метод с использованием программы «M-IND», позволяющей проводить первичную обработку данных «концентрация лекарственного вещества – время» в биожидкостях при различных способах введения и рассчитывать системные параметры лекарственного вещества методом статистических моментов.

В основе модельно-независимого метода статистических моментов лежит оценка площади под концентрационной кривой лекарственного вещества в плазме крови – AUC (Area Under Curve), площади под кривой «произведение времени на концентрацию – время» – AUMC (Area Under Multiplication Curve).

Расчет фармакокинетических параметров начинается с определения наклона терминального (линейного в полулогарифмической системе координат) участка концентрационной кривой и программа вычисляет константу скорости элиминации (k_{el}) и отвечающий ей период полувыведения лекарственного вещества ($t_{1/2el}$).

Среднее время удержания препарата в плазме крови (MRT; mean residence time) вычисляют по формуле:

$$MRT = AUMC/AUC$$

Общий клиренс (CL), определяющий способность организма к элиминации ЛВ, вычисляют следующим образом:

$$CL = \frac{D}{AUC}$$

где D – доза лекарственного вещества.

Кажущийся объем распределения (V_d), характеризующий в обобщенном виде способность лекарственных веществ к распределению в организме, вычисляют для внесосудистого (подкожного) введения по формуле:

$CL=V_d \times k_{el}$; $V_d = CL/k_{el}$,
где k_{el} – константа скорости элиминации.

Полученные экспериментальные данные предварительно были подвергнуты математической статистической обработке с помощью программы «Origin v.7.0» в соответствии с требованиями. В таблицах, где приведены концентрации аверсектина C_1 и празиквантела в плазме крови, приведены средние арифметические значения (\bar{x}), соответствующие им стандартные отклонения (SD), коэффициент вариации (C.V.%). В таблицах, где приведены фармакокинетические параметры, представлены те же статистические характеристики выборки.

Результаты и обсуждение

В таблице 1 приведены концентрации аверсектина C_1 в плазме крови собак после однократного подкожного введения авертеля в дозе 0,5 мг/кг, а на рисунке 1 – усредненный фармакокинетический профиль аверсектина C_1 . Аверсектин C_1 обнаруживали уже через 0,5 ч после введения авертеля; в последующие периоды концентрация аверсектина C_1 постепенно возрастала. Через 24 ч отмечали максимальный уровень препарата; затем содержание аверсектина C_1 в плазме крови снижалось. Аверсектин C_1 находили в крови собак и через 72 ч после введения (рис. 1, 3).

Препарат авертель – комбинированный. Вторым его активным компонентом является празиквантел. Празиквантел также был обнаружен через 0,5 ч после введения, причем в последующий срок исследований, т. е. спустя 1 ч отмечали максимальную концентрацию в плазме крови (табл. 2). Празиквантел выявляли в плазме крови экспериментальных животных на протяжении 48 ч наблюдений и через 72 ч препарат не был обнаружен в плазме крови собак (рис. 2, 4).

Однако для более точного представления о фармакокинетике аверсектина C_1 и празиквантела были рассчитаны фармакокинетические параметры обоих активных веществ в плазме крови собак после подкожного введения авертеля.

В таблицах 3 и 4 приведены результаты фармакокинетического анализа аверсектина C_1 и празиквантела. Концентрации препарата определялись на протяжении 72 ч эксперимента. Максимальная концентрация аверсектина C_1 в плазме крови собак, в среднем, составила $13,42 \pm 0,62$ нг/мл. При этом время ее наступления равнялось 24,0 ч (у всех собак в опыте). По сравнению с празиквантелом аверсектин C_1 в 12 раз медленнее выводится из организма животных. Так, период полувыведения аверсектина C_1 колебался от 69,25 до 156,99 ч (в среднем, $100,16 \pm 49,28$ ч), а среднее время пребывания в организме составило $153,08 \pm 70,49$ ч ($109,13 - 234,38$ ч). Аверсектин C_1 в значительно меньшей степени связывается с белками крови по сравнению с празиквантелом. Среднее значение кажущегося объема распределения составило $101,37 \pm 51,82$ л/кг. Кажущийся объем распределения обычно не эквивалентен анатомическому объему, а отражает распределение препарата и степень его связывания в организме. Так, если препарат связывается преимущественно белками крови, то V_d будет меньше, чем действительный. С другой стороны, преимущественное связывание препарата во внесосудистом пространстве (как в нашем случае) приводит к превышению значения кажущегося объема распределения над реальным объемом. Исходя из того, что расчет V_d предполагает одинаковую концентрацию препарата по всему объему его распределения, величины V_d , превышающие общий объем жидкости, могут получаться в результате накопления в каком-либо участке тканей.

Из результатов таблицы 4 следует, что экстраполированная часть фармакокинетической кривой ($AUC_{t-\infty}$), т. е. часть кривой от последнего определения концентрации до бесконечности в суммарную величину площади под фармакокинетической кривой ($AUC_{0-\infty}$) значительного вклада не вносит. Эта величина, в среднем, составила $3,88 \pm 3,24$ %. Поэтому все последующие расчеты проведены с учетом экстраполированной части.

Установлено, что празиквантел быстрее всасывается из места введения в системный кровоток животных по сравнению с аверсекином C_1 , поскольку время наступления максимальной концентрации празиквантела ($4,91 \pm 1,41$ мкг/мл) для данной выборки животных при таком способе введения составило более 8 ч (в среднем, $8,33 \pm 6,35$). Следует отметить, что у собаки № 2 наступление C_{max} зафиксировано через 1 ч после введения препарата.

Для празиквантела характерна медленная элиминация, т. к. период полувыведения, в среднем, составляет $7,99 \pm 2,08$ ч. Параметр, характеризующий длительность пребывания лекарственного вещества в организме – MRT составил, в среднем, $14,96 \pm 2,17$ ч. Учитывая подкожный путь введения авертеля, полученные данные позволяют отнести празиквантел к длительно живущим лекарственным ветеринарным средствам. Об этом косвенно свидетельствует средняя величина клиренса, равная

0,141±0,077 л/ч/кг. При этом средняя величина кажущегося объема распределения (V_d) – 1,78±1,44 л/кг говорит о том, что препарат распределяется во всех жидких средах организма и к его дозированию следует относиться с осторожностью, чтобы не вызвать его передозировки, обусловленной депонированием данного лекарственного вещества.

Таким образом, по величинам периода полувыведения и среднего времени удерживания в организме животных авертель относится к «долгоживущим» ветеринарным лекарственным средствам.

Литература

1. Новик Т. С., Ястреб В. Б., Чукина С. И. Переносимость препарата авертель в условиях субхронического опыта // Рос. паразитол. журнал. – 2015, № 2. - С. 104–112
2. Ястреб В. Б., Новик Т. С., Валиева Ж. М. Эффективность аверсекта плюс при цестодозах и нематодозах собак и кошек // Рос. паразитол. журнал. – 2012, № 3. – С. 121–124.
3. Ястреб В. Б. Эффективность аверсекта плюс против эктопаразитов у собак и кошек // Матер. докл. науч. конф. Всерос. о-ва гельминтол. РАН «Теория и практика борьбы с паразитарными болезнями». – М., 2013. – С. 447–449.
4. Ястреб В. Б., Новик Т. С. Оценка противопаразитарной эффективности авертеля против эндо- и эктопаразитов у собак и кошек // Рос. паразитол. журнал. – 2014, № 4. – С. 105–113.

References

1. Novik T. S., Yastreba V. B., Chukina S. I. Avertel tolerance in dogs tested under subchronic conditions. *Ros. parazitol. zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2015, no. 2, pp. 104-112.
2. Yastreba V. B., Novik T. S., Valieva Zh. M. Efficacy of preparation Aversekt Plus for cestodosis and nematodosis in dogs and cats. *Ros. parazitol. zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2012, no. 3, pp. 121–124.
3. Yastreba V. B. Efficacy of Aversekt Plus applied against ectoparasites in dogs and cats. *Mater. dokl. nauch. konf. Vseros. o-va gel'mintol. RAN «Teoriya i praktika bor'by s parazitarnymi boleznyami»* [Proceedings of scientific conference of All Russian Society of Helminthologists RAS «Theory and practice of struggle against parasitic diseases»]. Moscow, 2013, pp. 447–449.
4. Yastreba V. B., Novik T. S. Evaluation of antiparasitic efficacy of Avertel applied against endo –and ectoparasites in dogs and cats. *Ros. parazitol. zhurnal* [Russian Journal of Parasitology], 2014, no. 4, pp. 105–113.

Russian Journal of Parasitology

DOI:

Article history:

Received 12.03.2015

Accepted 07.09.2015

Yastreba V. B.¹, Novik T. S.^{1,2}, Drinyaev V. A.^{1,2}, Chukina S. I.^{1,2}, Avchuk S. V.², Ter-Simonyan V. G.², Litvin A. A.³ *Pharmacokinetics of Aversectin C1 and Praziquantel in dog blood after a single subcutaneous injection of Avertel. Russian Journal of Parasitology, 2015, V.3, P. .*

PHARMACOKINETICS OF AVERSECTIN C1 AND PRAZIQUANTEL IN DOG BLOOD AFTER A SINGLE SUBCUTANEOUS INJECTION OF AVERTEL

Yastreba V. B.¹, Novik T. S.^{1,2}, Drinyaev V. A.^{1,2}, Chukina S. I.^{1,2}, Avchuk S. V.², Ter-Simonyan V. G.², Litvin A. A.³

¹ All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin, 117218 Russia, 28 B. Cheremushkinskaya St, e-mail: yastreba@vniigis.ru

² Biological Science Center «Pharmbiomed Ltd.»

³ Scientific Research Institute of Pharmacology named after V. V. Zakusov

Abstract

Objective of research: study of pharmacokinetics of Aversectin C1 and Praziquantel in blood plasma of dogs after a single subcutaneous injection of Avertel.

Materials and methods: experiments were conducted on 3 dogs which received Avertel shots in the neck area at a therapeutic dose 0,5 mg/kg of Aversectin C1 and 5 mg/kg of Praziquantel.

Blood was collected from the forearm vein into heparin test-tubes at 0; 0,5; 1; 2; 3; 6; 9; 12; 24; 36; 48 and 72 hr.

Analysis of dog blood for Aversectin C1 (according to the total Avermectins B1 and B2a) was performed by the method of high-performance liquid chromatography with fluorescence detection; the sensitivity of the method was 0,001 mg/l. Praziquantel was identified by the same method using the ultraviolet detection. For evaluation of the pharmacokinetic properties, the model-independent analysis «M-IND» was applied which enables to perform the primary processing of data «drug concentration – time» and calculate the system parameters of drugs by the method of moments.

Results and discussion: Aversectin C1 was detected in blood 0,5hr after Avertel injection.

Further, the drug concentration in blood has increased; at 24th hour, the highest level of drug was determined; then the drug concentration went down. Aversectine C1 was also found in dog blood 72 hours after the Avertel injection. Praziquantel was identified 0,5hr after its injection, and 1hr later its highest concentration has been registered. 72 hours later the drug wasn't found in dog blood. The highest concentration of Aversectin C1 in blood was 13,4 ng/ml, and it was being eliminated 12 times slower than Praziquantel. The elimination half-life of Aversectin C1 was 100,1 hrs. and the average residence time of the drug in the body -153,08 hrs.

Keywords: Avertel, pharmacokinetics, Aversectin C1, Praziquantel, dogs, high-performance liquid chromatography.

© 2015 The Author(s). Published by All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants named after K.I. Skryabin. This is an open access article under the Agreement of 02.07.2014 (Russian Science Citation Index (RSCI) http://elibrary.ru/projects/citation/cit_index.asp) and the Agreement of 12.06.2014 (CABI.org / Human Sciences section: <http://www.cabi.org/Uploads/CABI/publishing/fulltext-products/cabi-fulltext-material-from-journals-by-subject-area.pdf>)

Таблица 1.

Таблица 1. Концентрации аверсектина С₁ в плазме крови собак после однократного подкожного введения авертеля (доза аверсектина С₁ 0,5 мг/кг)

Показатель	Время после введения авертеля, ч											
	0	0,5	1	2	3	6	9	12	24	36	48	72
Концентрация аверсектина С ₁ , нг/мл	0	1,64	5,24	6,66	5,64	4,64	7,31	10,63	12,92	12,36	11,55	10,49
	0	2,18	4,29	8,25	5,85	4,06	8,1	12,54	14,12	12,88	10,65	9,14
	0	1,61	3,94	4,53	6	4,16	5,75	9,56	13,22	11,14	10,38	8,04
	0,00	1,81	4,49	6,48	5,83	4,29	7,05	10,91	13,42	12,13	10,86	9,22
SD	0,00	0,32	0,67	1,87	0,18	0,31	1,20	1,51	0,62	0,89	0,61	1,23
CV%	0,00	17,72	14,98	28,80	3,10	7,23	16,95	13,84	4,65	7,37	5,64	13,30

Таблица 2.

Таблица 2. Концентрации празиквантела в плазме крови собак после однократного подкожного введения авертеля (доза празиквантела 5,0 мг/кг)

Показатель	Время после введения авертеля, ч											
	0	0,5	1	2	3	6	9	12	24	36	48	72
Концентрация празиквантела, мкг/мл	0	0,08	0,58	0,54	0,56	0,51	0,27	6,26	0,12	0,10	0,09	0
	0	0,32	3,44	0,27	0,35	0,23	0,16	1,52	0,14	0,12	0,11	0
	0	1,65	0,93	0,61	0,69	0,28	0,18	5,02	0,19	0,13	0,12	0
	0,000	0,683	1,650	0,473	0,533	0,340	0,203	4,267	0,150	0,117	0,107	0,000
SD	0,000	0,846	1,560	0,180	0,172	0,149	0,059	2,458	0,036	0,015	0,015	0,000
CV%	0,00	123,76	94,55	37,93	32,17	43,92	28,82	57,61	24,04	13,09	14,32	0,00

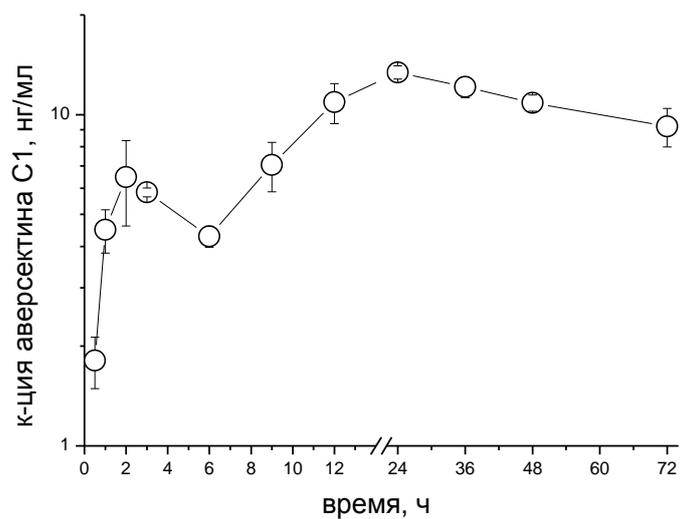


Рис. 1. Усредненный фармакокинетический профиль аверсектина С₁ в плазме крови собак после однократного подкожного введения раствора авертеля в дозе 0,5 мг/кг (n = 3; $\bar{x} \pm SD$)

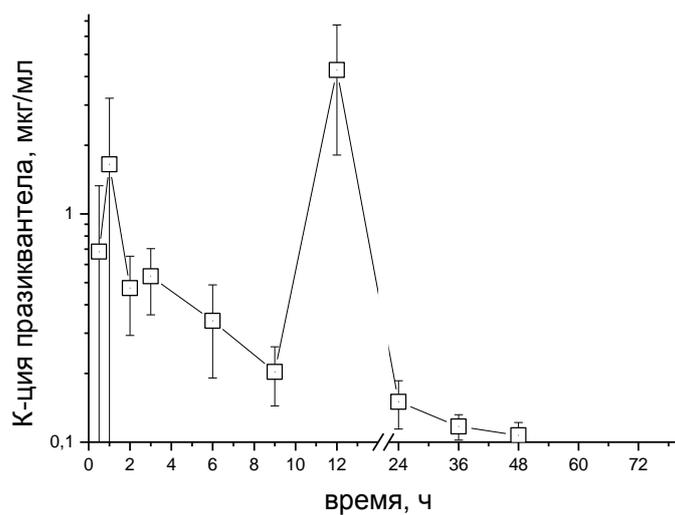


Рис. 2. Усредненный фармакокинетический профиль празиквантела в плазме крови собак после однократного подкожного введения раствора авертеля в дозе 5,0 мг/кг (n = 3; $\bar{x} \pm SD$)

Таблица 3.

Таблица 3. Фармакокинетические параметры аверсектина C_1 в плазме крови собак после однократного подкожного введения раствора авертеля (доза аверсектина C_1 0,5 мг/кг)

№ животного	Параметры									
	AUC_{0-t} (нг/мл×ч)	$AUC_{0-\infty}$ (нг/мл×ч)	Вклад экстра-полированной части (%)	T_{max} (ч)	C_{max} (нг/мл)	Cl_{po} (л/ч/кг)	k_{el} (ч ⁻¹)	$t_{1/2el}$ (ч)	MRT (ч)	V_d (л/кг)
1	775,41	3151,34	75,39	24	12,92	0,645	0,004	156,99	234,38	161,206
2	780,17	1759,29	55,65	24	14,12	0,641	0,009	74,253	115,72	71,210
3	697,36	1500,60	53,53	24	13,22	0,717	0,01	69,249	109,13	71,699
	750,98	2137,07	61,53	24,0	13,42	0,668	0,008	100,16	153,08	101,372
SD	46,50	887,85	12,06	0,0	0,62	0,043	0,003	49,276	70,49	51,819
CV%	6,19	41,55	19,60	0,00	4,65	6,42	41,93	49,20	46,05	51,12

Таблица 4.

Таблица 4. Фармакокинетические параметры празиквантела в плазме крови собак после однократного подкожного введения раствора авертеля (доза празиквантела 5,0 мг/кг)

№ животного	Параметры									
	AUC_{0-t} (нг/мл×ч)	$AUC_{0-\infty}$ (нг/мл×ч)	Вклад экстра-полированной части (%)	T_{max} (ч)	C_{max} (нг/мл)	Cl_{po} (л/ч/кг)	k_{el} (ч ⁻¹)	$t_{1/2el}$ (ч)	MRT (ч)	V_d (л/кг)
1	54,61	55,44	1,51	12,0	6,26	0,090	0,108	6,44	13,28	0,835
2	20,06	21,70	7,57	1,0	3,44	0,230	0,067	10,36	17,41	3,439
3	47,10	48,35	2,57	12,0	5,02	0,103	0,097	7,18	14,19	1,066
	40,59	41,83	3,88	8,33	4,91	0,141	0,091	7,99	14,96	1,780
SD	18,17	17,79	3,24	6,35	1,41	0,077	0,021	2,08	2,17	1,441
CV%	44,77	42,52	83,34	76,21	28,81	54,77	23,41	26,00	14,49	80,96