

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
КРЕМЕНЧУЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ МИХАЙЛА ОСТРОГРАДСЬКОГО



МЕТОДИЧНІ ВКАЗІВКИ
ЩОДО ПРАКТИЧНИХ РОБІТ
З НАВЧАЛЬНОЇ ДИСЦИПЛІНИ
«НАНОБІОТЕХНОЛОГІЯ ТА БІОФАРМАЦІЯ»
ДЛЯ СТУДЕНТІВ ДЕННОЇ ФОРМИ НАВЧАННЯ
ЗІ СПЕЦІАЛЬНОСТІ 101 – «ЕКОЛОГІЯ»
ОСВІТНЬО-ПРОФЕСІЙНОЇ ПРОГРАМИ ПІДГОТОВКИ
«ЕКОЛОГІЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ ТА БІОЕНЕРГЕТИКА»

КРЕМЕНЧУК 2018

Методичні вказівки щодо практичних робіт з навчальної дисципліни «Нанобіотехнологія та біофармація» для студентів денної форми навчання зі спеціальності 101 – «Екологія» освітньо-професійної програми підготовки «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Укладачі: д.б.н., проф. В. В. Никифоров,
к.т.н., доц. О. В. Мазницька

Рецензент: к.х.н., доц. О. В. Новохатько

Кафедра біотехнологій та біоінженерії

Затверджено методичною радою Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського

Протокол № _____ від _____

Голова методичної ради _____ проф. В.В. Костін

ЗМІСТ

Вступ.....	4
Перелік практичних робіт.....	6
Практична робота № 1 Біологічна доступність та еквівалентність ліків	6
Практична робота № 2 Вплив шляху введення на біодоступність лікарських засобів	17
Практична робота № 3 Біоеквівалентність лікарських засобів	24
Практична робота № 4 Біофармацевтична оцінка лікарських препаратів методами <i>in vitro</i>	28
Критерії оцінювання.....	34
Список літератури.....	35

ВСТУП

Методичні вказівки укладені викладачами кафедри біотехнологій та біоінженерії Кременчуцького національного університету імені Михайла Остроградського для оптимізації підготовки студентів, які навчаються за спеціальністю 101 – «Екологія» освітньо-професійної програми підготовки «Екологічна біотехнологія та біоенергетика» та глибшого засвоєння ними програмного матеріалу.

Мета вивчення дисципліни «Нанобіотехнологія та біофармація» – це оволодіння студентами теоретичними та практичними основами біофармації для наукового обґрунтування складу та технології нових лікарських засобів та удосконалення існуючих з використанням сучасних допоміжних речовин, нових технологій, шляхом підвищення їх ефективності та зменшення побічної дії на організм, та нанотехнологій.

У результаті вивчення навчальної дисципліни студент повинен

знати:

- основні задачі біофармацевтичних досліджень на сучасному етапі і роль нанотехнологій у створенні ліків нового покоління (терапевтичних систем);
- значення біофармації при розробці складу і технології лікарських засобів;
- біофармацевтичні чинники і та їх вплив на терапевтичну ефективність ліків;
- біофармацевтичну класифікацію лікарських засобів;
- методи дослідження фармацевтичної і біологічної доступності з різних лікарських форм;
- механізми вивільнення лікарських речовин із твердих лікарських форм швидкого вивільнення і з модифікованим вивільненням;
- критерії оцінки якості лікарських форм (хімічні, фізико-хімічні, біологічні, а також додаткові для кожної лікарської форми);
- значення дослідження фармацевтичної і біологічної доступності.

вміти:

- володіти і користуватися необхідної нормативною документацією і довідковою літературою;
- визначати і обґрунтовувати спосіб приготування, шлях введення і особливості застосування лікарських препаратів;
- стандартизувати лікарську форму за фармацевтичними (технологічними та аналітичними) параметрами і знати вимоги щодо безпечності і ефективності лікарських препаратів;
- прогнозувати можливу взаємодію лікарських препаратів при їх одночасному призначенні;
- вміти визначати фармацевтичну і біологічну доступність лікарських засобів різними методами;
- будувати криві динаміки вивільнення досліджуваних препаратів в залежності від різних біофармацевтичних чинників;
- проводити розрахунки біодоступності, константи елімінації і періоду напіввивільнення речовин із різних лікарських форм.

Метою практичних занять є детальний розгляд студентами окремих теоретичних положень навчальної дисципліни та формування умінь і навичок їх практичного застосування шляхом розв'язання відповідно поставлених завдань.

Методичні вказівки містять методичні розробки до чотирьох практичних занять: стислий виклад основних теоретичних положень курсу, методики виконання практичних робіт, приклади розв'язання задач, контрольні завдання для самоконтролю, довідкові матеріали, список рекомендованої літератури.

Основну увагу приділено темам, які виносяться на самостійне вивчення.

ПЕРЕЛІК ПРАКТИЧНИХ РОБІТ

Практична робота № 1

Тема. Біологічна доступність та еквівалентність ліків

Мета: навчитися визначати біодоступність ліків, закріпити теоретичні знання щодо еквівалентності ліків.

Короткі теоретичні відомості

Біодоступність (БД) – частина введеної лікарської речовини, яка потрапляє в системний кровотік під час перорального, внутрішньом'язового, інгаляційного і інших шляхах введення. Очевидно, що під час внутрішньосудинного введення БД речовини дорівнюватиме 100 %, а під час інших шляхів введення (перорального, ректального, внутрішньом'язового і т. д.) БД буде значно нижчою.

Відповідно до рекомендацій ВОЗ, мірою біологічної доступності є відношення (у відсотках) кількості лікарської речовини, що всмокталася, призначеної в досліджуваній лікарській формі (А), до кількості тієї ж лікарської речовини, що всмоктався, призначеної в тій же дозі, але у вигляді стандартної лікарської форми (Б), тобто $БД = (А/Б) \cdot 100$. Найчастіше БД ліків визначають шляхом порівняльного вивчення змін концентрації лікарської речовини в плазмі крові при призначенні досліджуваної і стандартної лікарських форм. Якщо як стандартна лікарська форма використовується розчин для внутрішньовенного введення (внутрішньовенні ін'єкції, інфузії), який забезпечує 100 % БД, можна визначити абсолютну БД (АБД).

Вона визначається шляхом вимірювання площі під кривою зміни концентрації речовини в плазмі або сироватці крові в часі. Площа під кривою «концентрація – час» (AUC – аббревіатура від англ. *area under curve* – площа під кривою) – це площа фігури, обмеженої фармакокінетичною кривою і осями координат ($AUC = C_0/K_{el}$, де C_0 – початкова концентрація речовини в сироватці крові; K_{el} – константа швидкості елімінації). При лінійності кінетики препарату

в організмі величина AUC пропорційна загальній кількості (дозі) препарату, що потрапив у системний кровотік. Часто визначають площу під частиною кривої (від нуля до деякого часу t). Цей параметр позначають як AUC , наприклад від 0 до 8 годин – AUC_8 . АБД дорівнює відношенню AUC після введення досліджуванним методом (перорально, внутрішньом'язово або іншим) до AUC після внутрішньовенного введення.

Важливим показником є також відносна БД (ВБД), яка характеризує відносну міру всмоктування лікарської речовини з випробовуваного лікарського препарату і препарату порівняння. ВБД визначається для різних серій лікарських препаратів при зміні технології виробництва і для препаратів, вироблених різними фірмами. Зазвичай ВБД встановлюють для лікарських препаратів при одній і тій же дорозі введення, але можна визначати ВБД і під час інших шляхів уведення.

Для визначення ВБД використовуються дані про рівень вмісту лікарської речовини у крові або його екскреції з сечею після одноразового або багатократного введення. Достовірність отриманих результатів значно збільшується під час використання перехресного методу дослідження, що дозволяє усунути відмінності, пов'язані з впливом фізіологічного та патологічного стану організму на БД лікарської речовини.

ВБД також визначається, щоб порівняти БД двох різних лікарських форм для позасудинного введення однієї і тієї ж лікарської речовини.

Для препаратів, що значною мірою піддаються метаболізму в печінці під час перорального прийому, використовується поняття загальна біодоступність. Загальна БД – частина вжитої дози препарату, яка досягла системного кровотоку в незміненому вигляді та у вигляді метаболітів, що утворилися в процесі всмоктування в результаті пресистемного метаболізму (ефекту першого проходження).

З поняттям біодоступності тісно пов'язано поняття біоеквівалентності. Два лікарські засоби вважаються біоеквівалентними, якщо вони забезпечують однакову БД лікарської речовини після призначення в однаковій дозі і

однаковій лікарській формі. За регламентом ВОЗ (1994, 1996) і ЄС (1992), відмінності у фармакокінетичних показниках для біоеквівалентних препаратів не повинні перевищувати 20 %.

Переведення відтвореного препарату до категорії дженериків ґрунтується на відповідності таких показників, як еквівалентність, стабільність, дотримання виробником вимог GMP, відповідність сучасним фармакопейним вимогам початкових субстанцій, готового продукту та упаковки. Доказ взаємозамінюваності відтвореного та оригінального лікарських препаратів у першу чергу повинно бути ґрунтовано на визначенні еквівалентності. Розрізняють хімічну, фармацевтичну, біологічну та терапевтичну еквівалентність.

Хімічні еквіваленти – лікарські препарати, що містять одні й ті ж лікарські речовини (субстанції) у рівних дозуваннях, що випускаються в однакових лікарських формах, повністю відповідають за фізико-хімічними показниками вимогам нормативної документації, але виготовлені різними способами.

Мірою хімічної еквівалентності лікарських препаратів є товарознавські показники (достовірність, кількісний вміст лікарської речовини і т. д.). Хімічна еквівалентність не обов'язково має на увазі біоеквівалентність лікарських препаратів, оскільки відмінності в допоміжних речовинах і процесах виробництва можуть привести до швидшого або повільнішого надходженню лікарської речовини в кров.

Фармацевтичні еквіваленти – хімічні еквіваленти, які забезпечують однаковий ступінь і швидкість вивільнення лікарських речовин з лікарської форми. Мірою фармацевтичної еквівалентності є показники фармацевтичної доступності (здатність розпадатися, розчинення).

Біологічні еквіваленти – хімічні еквіваленти, застосування яких забезпечує однаковий ступінь абсорбції (всмоктування) лікарської речовини залежно від вмісту препарату у біологічних рідинах організму. Мірою біологічної еквівалентності є біологічна доступність.

Терапевтичні еквіваленти - хімічні еквіваленти, які при застосуванні проявляють ідентичну ефективність відносно одного і того ж захворювання і порівнянну безпеку для організму.

Міра терапевтичної еквівалентності – рівноцінна зміна симптоматики захворювань у результаті лікарського втручання.

Ідеальною мірою виміру еквівалентності лікарських препаратів є терапевтична еквівалентність. Проте терапевтична еквівалентність оцінюється досить рідко, оскільки необхідно враховувати й оцінювати численні чинники, включаючи індивідуальні особливості окремого організму, стадію розвитку патологічного процесу, ступінь тяжкості та наявність супутніх захворювань. Крім того, для визначення терапевтичної еквівалентності потрібне залучення ряду фахівців, досить великої кількості апаратури і т. і.

На практиці найбільш відповідним методом доказу еквівалентності терапевтичної дії лікарських препаратів, що є хімічними еквівалентами, є поетапне визначення фармацевтичної і біологічної еквівалентності, встановлення яких є менш складним і трудомістким завданням. В основі цієї заміни полягає експериментально встановлений тісний кореляційний зв'язок між біологічною та терапевтичною еквівалентністю, оскільки існує прямо пропорційний зв'язок між кількістю лікарської речовини, що вивільнилася з лікарської форми і всмокталася в кров, і вираженістю фармакотерапевтичної дії.

Основні показники біологічної доступності ліків

До основних показників біодоступності ЛЗ (рис. 1) відносяться: максимум (пік) концентрації лікарської речовини в крові; час досягнення максимальної концентрації; площа під кривою зміни концентрації лікарської речовини в плазмі або сироватці крові в часі.

Кінетику концентрації у крові однієї і тієї ж речовини, що міститься в різних лікарських формах (А і Б) наведено на рис. 2.

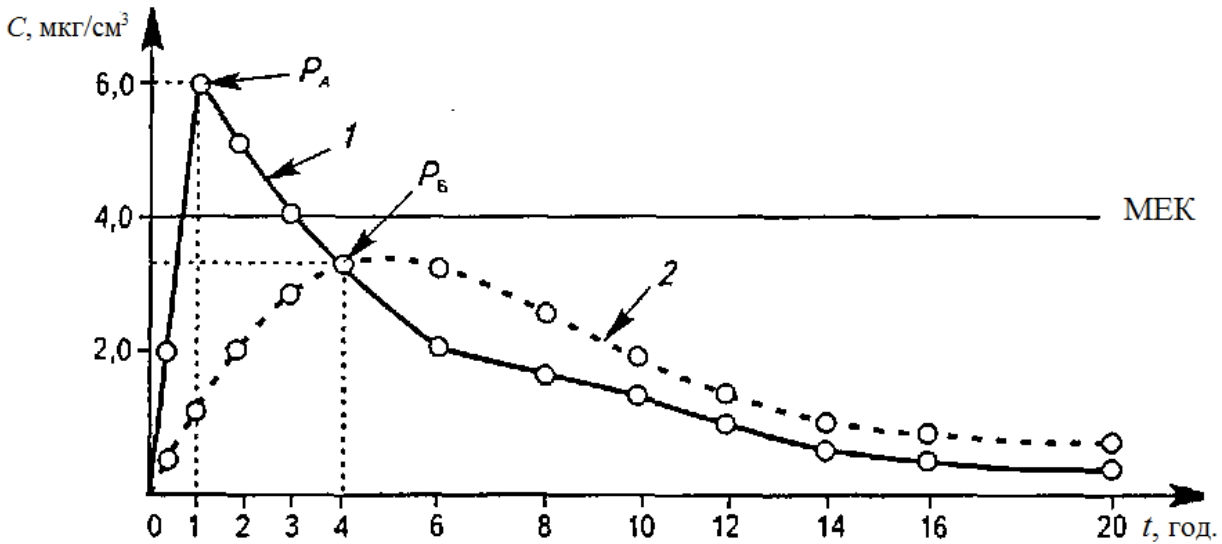


Рис. 1. Динаміка концентрації (C) лікарської речовини після застосування її в двох лікарських формах: 1 – лікарська форма А; 2 – лікарська форма Б; P – пік концентрації лікарської речовини; МЕК – мінімальна ефективна концентрація

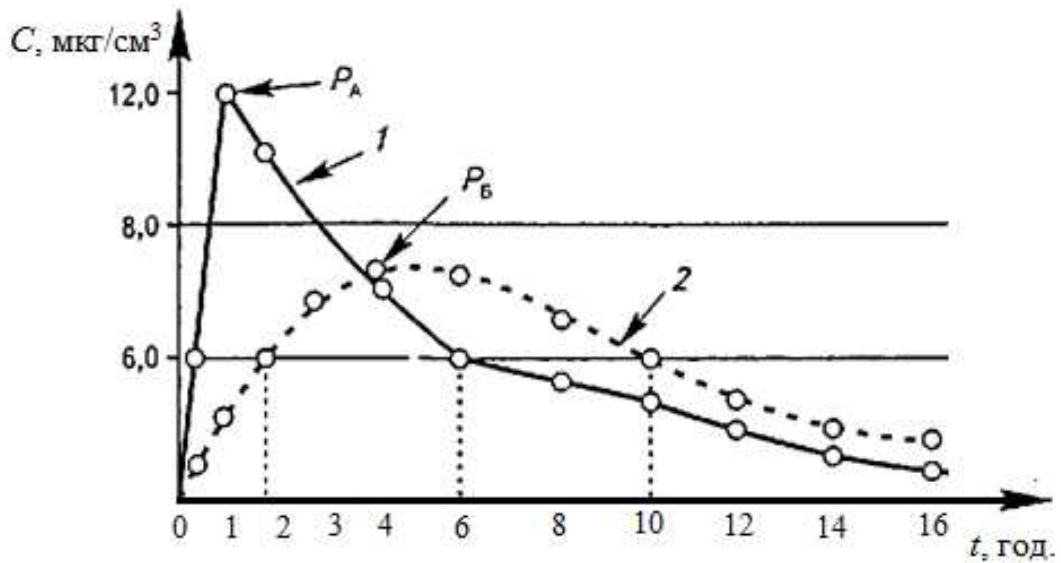


Рис. 2. Визначення мінімальної токсичної концентрації (МТК) і мінімальної ефективної концентрації (МЕК) лікарської речовини за динамікою його концентрації у крові при застосуванні у двох лікарських формах (А і Б): 1 – лікарська форма А; 2 – лікарська форма Б; P – пік концентрації лікарської речовини; $AUC_A = 34,4$ (мкг/см³)-год., $AUC_B = 34,2$ (мкг/см³)-год.

На рис. 2 горизонтальною лінією відзначена мінімальна ефективна концентрація (МЕК), за якої дана речовина чинить терапевтичну дію (4 мкг/см^3). При цьому видно, що в лікарській формі Б лікарська речовина хоча і повністю всмоктується, але терапевтичної дії не робить, тому що не досягає МЕК.

Другим важливим параметром є час досягнення максимальної концентрації речовини в біологічній рідині P , оскільки відображає швидкість всмоктування речовини і швидкість настання терапевтичного ефекту (рис.2).

Третім найважливішим параметром біодоступності є площа під кривою «концентрація-час» (AUC), яка відображає кількість лікарської речовини, що надійшла в кров після одноразового введення препарату.

У той же час площі під цими кривими однакові: AUC для лікарської форми А дорівнює $34,4 \text{ (мкг/см}^3\text{)-год.}$; для Б – $34,2 \text{ (мкг/см}^3\text{)-год.}$, отже, обидві лікарські форми забезпечують надходження в кров однакової кількості лікарської речовини. Однак вони відрізняються за ступенем абсорбції і швидкості досягнення МЕК лікарської речовини, що має великий вплив як на кількісні, так і на якісні параметри їх терапевтичної дії, а це означає, що їх не можна віднести до біоеквівалентних лікарських препаратів.

Пропорційний зв'язок між кількістю лікарської речовини, яка досягла великого кола кровообігу, й інтегралом функції, яка описує часову залежність концентрації лікарської речовини в крові, є основою закону Доста.

Наслідок цього закону говорить, що в тих випадках, коли повний аналіз фармакокінетичних параметрів провести важко, ступінь БД лікарського засобу може бути встановлена за величиною відношення площ (AUC) під фармакокінетичними кривими, отриманими при введенні лікарського засобу в досліджуваній – R і стандартній – S лікарських формах. В даному випадку визначення ступеня БД проводять за наступною формулою:

$$БД = \frac{AUC_R \cdot \text{доза}}{AUC_S \cdot \text{доза}} \cdot 100\%,$$

де БД – ступінь біологічної доступності;

AUC_R – площа під фармакокінетичною кривою досліджуваної лікарської форми;

AUC_S – площа під фармакокінетичною кривою стандартної лікарської форми;

доза R – доза лікарського засобу в досліджуваній лікарській формі;

доза S – доза лікарського засобу в стандартній лікарській формі.

Перший доданок цієї суми може бути знайдено планіметрично, наприклад, методом трапеції, яка передбачає апроксимацію окремих ділянок фармакокінетичної кривої відрізками прямих. Для розрахунку площі під фармакокінетичною кривою методом трапеції будують в прямокутній системі координат графік залежності зміни концентрації препарату в біологічній рідині від часу введення лікарського засобу. Площу, утворену осями ординат, абсцис і отриманої кривої фармакокінетики, розбиває на число n прямолінійних трапецій, замінивши кожен дугу кривої хордою, яка з'єднає кінцеві точки ділянок прямою лінією (рис. 3).

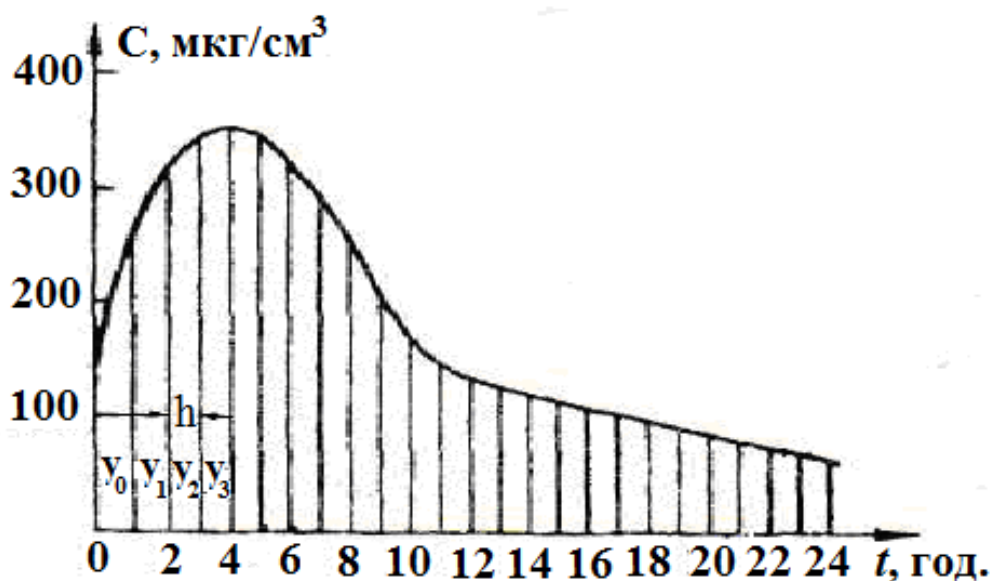


Рис. 3. Розбивка фармакокінетичної кривої на трапеції

Розрахунок проводить ся за формулою:

$$AUC = h \cdot \left(\frac{Y_0 + Y_n}{2} \right) + Y_1 + Y_2 + \dots + Y_{n-1},$$

де AUC – площа під фармакокінетичною кривою для часу від 0 до t , год.;

h – відстань на осі абсцис між сторонами окремих трапецій;

Y_0, Y_n, Y_{n-1} , – висота (по осі ординат) відповідно початкової, кінцевої і передостанньої сторін трапеції;

Y_1, Y_2 – висота сторін окремої трапеції.

$$AUC^{t \rightarrow \infty} = \frac{Ct_n}{Ka} \text{ або } AUC^{t \rightarrow \infty} = \frac{Ct_n}{Kel},$$

де Ct_n – концентрація ЛР в останній пробі;

Kel – константа швидкості елімінації;

Ka – константа швидкості всмоктування.

Визначення площі під фармакокінетичною кривою

Площа під фармакокінетичною кривою (AUC) визначається за сумою площ ($AUC_1 + AUC_2 + \dots + AUC_n$), на які її можна розбити (рис. 4).

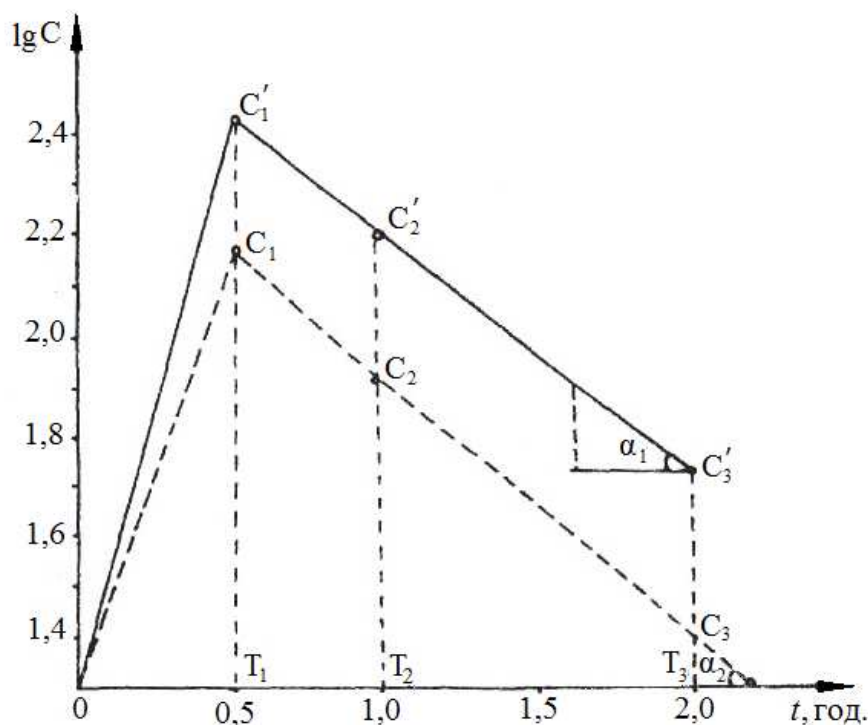


Рис. 4. Залежність концентрації стрептоциду (C), що надійшов у кров з різних лікарських форм, від часу (t, год.) у напівлогарифмічних координатах

Площа буде складатися із площ прямокутного трикутника і трапеції. Площа прямокутного трикутника (AUC_1) дорівнює половині добутку катетів $\frac{OT_1 \cdot T_1 C_1}{2}$.

Площа трапеції AUC_2 дорівнює півсумі основ трапецій, помноженій на висоту $\frac{C_1 T_1 + C_2 T_2}{2} \cdot T_2 T_1$.

Підставляючи отримані дані у наведені формули, отримуємо площу під фармакокінетичною кривою.

Визначення константи елімінації

Константа елімінації Kel ($tg\alpha$) визначається графічно як тангенс tg кута, який утворюється при перетинанні осі абсцис і фармакокінетичної кривої концентрації стрептоциду у напівлогарифмічних координатах, або кутової Kel .

Мазь на ПЕГ-гелі:

$$Kel = tg\alpha_1 = 21 \text{ мм} / 20 \text{ мм} = 1,05 \text{ (год.}^{-1}\text{)}.$$

Супозиторії на основі ПЕГ:

$$Kel = tg\alpha_2 = 16 \text{ мм} / 20 \text{ мм} = 0,8 \text{ (год.}^{-1}\text{)}.$$

Визначення константи всмоктування. Константа всмоктування Ka визначається як добуток ϵ на константу Kel елімінації: $Ka = \epsilon \cdot Kel$.

ϵ знаходять за таблицею Доста (табл. 1) за значенням добутку константи елімінації і часу досягнення максимальної концентрації ЛР у крові.

Мазь на ПЕГ-гелі:

$$Kel \cdot t_{\max} = 1,05 \cdot 0,5 = 0,525 \text{ (год.}^{-1}\text{)},$$

$$Ka = 1,05 \cdot 3,25 = 3,4125 \text{ (год.}^{-1}\text{)}, \epsilon = 3,25.$$

Супозиторії на основі ПЕГ:

$$Kel \cdot t_{\max} = 0,8 \cdot 0,5 = 0,4 \text{ (год.}^{-1}\text{)},$$

$$Ka = 0,8 \cdot 5,0 = 4,0 \text{ (год.}^{-1}\text{)}, \epsilon = 5,0.$$

Таблиця 1 – Визначення константи всмоктування за Dost F. H.

ϵ	$Kel \cdot t_{\max}$	ϵ	$Kel \cdot t_{\max}$	ϵ	$Kel \cdot t_{\max}$
0,01	4,652	4,1	0,455	9,0	0,275
0,02	3,992	4,2	0,448	9,1	0,273
0,03	3,615	4,3	0,442	9,2	0,271
0,04	3,353	4,4	0,436	9,3	0,269
0,05	3,153	4,5	0,430	9,4	0,267
0,06	2,980	4,6	0,424	9,5	0,265
0,07	2,859	4,7	0,418	9,6	0,263
0,08	2,745	4,8	0,412	9,7	0,261
0,09	2,646	4,9	0,407	9,8	0,259
0,1	2,558	5,0	0,402	9,9	0,257
0,2	2,012	5,1	0,397	10	0,256
0,3	1,720	5,2	0,392	11	0,240
0,4	1,526	5,3	0,388	12	0,226
0,5	1,386	5,4	0,383	13	0,126
0,6	1,276	5,5	0,379	14	0,203
0,7	1,188	5,6	0,374	15	0,193
0,8	1,115	5,7	0,370	16	0,184
0,9	1,054	5,8	0,366	17	0,176
1,0	1,000	5,9	0,362	18	0,169
1,1	0,953	6,0	0,358	19	0,163
1,2	0,912	6,1	0,354	20	0,157
1,3	0,872	6,2	0,351	21	0,152
1,4	0,841	6,3	0,347	22	0,147
1,5	0,811	6,4	0,344	23	0,143
1,6	0,784	6,5	0,340	24	0,138
1,7	0,759	6,6	0,337	25	0,134
1,8	0,736	6,7	0,334	26	0,130
1,9	0,715	6,8	0,330	27	0,127
2,0	0,695	6,9	0,327	28	0,123
2,1	0,676	7,0	0,324	29	0,120
2,2	0,658	7,1	0,321	30	0,117
2,3	0,641	7,2	0,318	40	0,095
2,4	0,625	7,3	0,315	50	0,079
2,5	0,610	7,4	0,313	60	0,069
2,6	0,596	7,5	0,310	70	0,062
2,7	0,583	7,6	0,307	80	0,055
2,8	0,571	7,7	0,305	90	0,050
2,9	0,560	7,8	0,302	100	0,047
3,0	0,549	7,9	0,299	200	0,027
3,1	0,539	8,0	0,297	300	0,019
3,2	0,529	8,1	0,294	400	0,015
3,3	0,519	8,2	0,292	500	0,013
3,4	0,510	8,3	0,289	600	0,011
3,5	0,501	8,4	0,287	700	0,009
3,6	0,493	8,5	0,285	800	0,008
3,7	0,487	8,6	0,283	900	0,007
3,8	0,477	8,7	0,281	1000	0,006
3,9	0,469	8,8	0,279		0,000
4,0	0,462	8,9	0,277		

Проведені дослідження методом *in vivo* показали, що всмоктування лікарської речовини з супозиторіїв майже в два рази вище, ніж з мазі. Цей висновок підтверджується розрахунком фармакокінетичних параметрів: площа під фармакокінетичною кривою для супозиторіїв майже у 1,5 рази вища, ніж для мазі; константа всмоктування також вища для супозиторіїв, а константа елімінації, навпаки, менше для супозиторіїв, ніж для мазі.

Експериментальними дослідженнями підтверджено, що за один і той же час концентрація стрептоциду, що надійшов у кров із супозиторіїв, була більшою, ніж з мазі, а, отже, і терапевтичний ефект супозиторіїв буде проявлятися більш активно.

Контрольні завдання

1. Що розуміють під біологічною доступністю ліків і мірою БД?
2. Охарактеризуйте види біологічної доступності.
3. Що розуміють під біоеквівалентністю? В якому випадку ЛЗ вважають біоеквівалентними?
4. Види еквівалентності лікарських засобів.
5. Охарактеризуйте основні показники біологічної доступності лікарських засобів.
6. Як визначається ступінь біологічної доступності у випадку ускладнення проведення повного аналізу фармакокінетичних параметрів ?
7. Порівняйте терапевтичний ефект таблетованої лікарської форми та супозиторіїв досліджуваної лікарської речовини, якщо для таблеток $Kel_1 = 1,5$ (год.⁻¹); для супозиторіїв $Kel_2 = 0,7$ (год.⁻¹); $t_{max} = 1$ год.

Література: [3–5, 8].

Практична робота № 2

Тема. Вплив шляху введення на біодоступність лікарських засобів

Мета: закріпити теоретичні знання щодо біодоступності лікарських речовин в залежності від шляхів її введення.

Короткі теоретичні відомості

Шлях введення значно впливає на БД ЛР. Кожен шлях введення має свої переваги, але не кожний з них є ефективним. У силу тих чи інших причин іноді навіть внутрішньовенне введення не забезпечує біодоступності. Наприклад, при терапії хоріогоніном у вигляді ін'єкцій спостерігалися зміни емоційного стану хворого, алергійні реакції, а введення препарату у вигляді супозиторіїв не викликало побічних явищ. При явищах серцевої декомпенсації раціональними лікарськими формами препаратів серцевих глікозидів варто вважати ін'єкції і ректальні форми, тому що пероральний прийом викликає подразнення кишечника (виразка, кровотеча, біль), що пов'язано з порушенням усмоктувальної здатності слизових оболонок у таких хворих. Тривала терапія метиндолом у супозиторіях протікає без ускладнень, при доброму лікувальному ефекті, у той час як застосування препаратів у таблетках супроводжується диспепсичними явищами, розладами центральної нервової системи та іншими ускладненнями.

Таким чином, лікарська форма повинна бути вигідною та раціональною не тільки з економічної, естетичної, зручної для застосування точки зору, але насамперед з погляду фармакодинаміки препаратів і забезпечення сучасних вимог фармакотерапії.

Пероральний спосіб введення

Лікарські препарати впливають на організм неоднаково, залежно від того, коли вони приймаються: до їжі, під час або після їди, що пояснюється зміною рН середовища ШКТ, наявністю в ньому різних ферментів і активних речовин, що виділяються з жовчю для забезпечення процесу травлення.

В період прийому їжі і після нього кисле середовище шлунка досягає рН = 2,9-3,0, а тонкого кишечника – 8,0-8,4, що значно впливає на іонізацію, стабільність ліків, швидкість їх проходження по травному тракту і всмоктування в кров. Так, кислота ацетилсаліцилова при рН від 1 до 3 шлунка, що секретується, знаходиться практично повністю в неіонізованій формі і внаслідок цього (за рахунок високої розчинності в ліпідах) практично повністю всмоктується. Прийом аспірину разом з їжею збільшує кількість препарату, що перетворюється в форму солі, швидкість його всмоктування в шлунку знижується до значень, які приблизно збігаються зі швидкістю всмоктування аспірину в тонкому кишечнику, а БД в цілому знижується.

Під впливом кислого середовища і ферментів шлунка інактивуються еритроміцин, бензилпеніцилін, панкреатин, пітуїтрин, інсулін і цілий ряд інших препаратів. Гексаметілететрамін повністю розпадається на амоніак і формальдегід. Препарати серцевих глікозидів (конвалії, строфанта, морської цибулі) повністю руйнуються, а у найбільш стійких з них – препаратів наперстянки – істотно знижується активність під дією ферментів шлунково-кишкового тракту. Однак за наявності протеолітичних ферментів швидше всмоктуються тетрациклін і ізоніазид.

Більшість прийнятих перорально лікарських речовин зазнають значного впливу ферментів і різних високоактивних речовин шлунково-кишкового тракту, які виділяються під час і після прийому їжі, що може істотно вплинути на їх БД.

Склад і температура їжі також впливають на процес всмоктування лікарської речовини. Звичайна змішана їжа містить речовини рослинного, тваринного і мінерального походження: білки, жири, вуглеводи, амінокислоти, жирні кислоти, гліцерин, дубильні речовини (у чаї, хурмі); кофеїн (в чаї, кава); серотонін (у кропиві, арахісі, бананах, ананасах); тирамін (у сирі, бананах, квасолі, оселедці, каві, пиві, вині, печінці курчат); оксалати (у ревені, селері, щавлі, шпинаті); стерини; фітостерини; йони важких металів та інші хімічно і фармакологічно активні речовини. Крім того, в їжу вводяться різні харчові

добавки, які можуть активно взаємодіяти з лікарськими речовинами і впливати на їх біологічну доступність – в одних випадках підвищувати розчинність і всмоктування ліків, в інших, утворюючи нерозчинні або важкорозчинні комплекси (наприклад, з білками, дубильними речовинами, дипептидами) зі складовими частинами їжі, зменшувати їх всмоктування.

Білкова їжа (яйця, сир, молоко, горох, квасоля) знижує фармакологічний ефект дигитоксину, хінідину, циметидину, кофеїну, теофіліну, тетрацикліну і пеніциліну, антикоагулянтів, серцевих глікозидів і сульфаніламідів.

Жири (особливо ті, які містять вищі жирні кислоти) зменшують виділення шлункового соку, уповільнюють перистальтику шлунка, що призводить до затримки травних процесів і транспортування харчової маси. Під впливом їжі, багатой жирами, значно збільшується всмоктування багатьох лікарських речовин, особливо жиророзчинних, наприклад протиглистових, антикоагулянтів, сульфаніламідів, гризеофульвіну, анаприлину, дифеніну, жиророзчинних вітамінів А, D, Е, К, карбамазепіну та ін.

Наявність в їжі великої кількості вуглеводів (цукор, цукерки, варення) уповільнює моторику шлунку, затримує всмоктування в кишечнику ізоніазиду, кальцій хлориду. Їжа уповільнює всмоктування феноксиметилпеніциліну, натрієвої солі оксациліну, ампіциліну, рифампіцину, лінкоміцину гідрохлориду, кислоти ацетилсаліцилової, глібенкламіду, ізоніазиту й т. ін.

Багата вітамінами та мінеральними речовинами їжа має виражений вплив на метаболізм ліків. Їжа, що містить кислоту аскорбінову, стимулює функцію оксидаз, прискорюючи метаболізм лікарських речовин, а іноді знижує їх токсичність; їжа, що містить кислоту фолієву, прискорює метаболізм піридоксину гідрохлориду, знижує ефективність леводопи. У хворих, які споживають продукти, багаті на вітамін К (шпинат, білокачанна капуста), помітно змінюється протромбіновий час, а також метаболізм антикоагулянтів, барбітуратів, нозепаму, фенацетину.

Рідина, яка використовується для запивання, також може впливати на процес всмоктування ЛР. Часто, щоб замаскувати неприємний смак і запах

лікарських речовин, використовують різні фруктово-ягідні або овочеві соки, тонізуючі напої, сиропи, молоко. Більшість фруктово-ягідних і овочевих соків кислі і можуть руйнувати кіслотонестійкі сполуки, наприклад, ампіциліну натрієву сіль, циклосерин, еритроміцин (основа), бензилпеніциліну калієву сіль. Соки можуть уповільнити всмоктування ібупрофену, фуросеміду, підсилити фармакологічний ефект адебіту, барбітуратів, диакарбу, невіграмону, нітрофуранів, саліцилатів. Фруктові соки і напої містять дубильні речовини, які осаджують дигитоксин, кофеїн-бензоат натрію.

Деякі ліки, що мають подразнюючу дію на слизову шлунково-кишкового тракту, запивають молоком. З молоком і молочними продуктами змішують ліки для прийому їх грудними дітьми. Молоко може змінювати лікарську субстанцію і зменшувати БД, наприклад, пеніциліну, цефалексину.

Деякі хворі, приймаючи ліки, не запивають його зовсім, що не рекомендується робити, оскільки капсули, таблетки, драже, прилипаючи до окремих частин внутрішньої поверхні стравоходу і шлунково-кишкового тракту, руйнуються, не досягаючи місця всмоктування.

Правильний підбір лікувального харчування при призначенні ліків дозволяє істотно підвищити їх БД, а отже, зменшити їх дозування, уникнути небажаних побічних явищ при збереженні належної ефективності. Крім того, ряд захворювань прямої кишки (геморой, тріщини аноректальної області, проктит) погіршують БД лікарських препаратів, що вводяться ректально.

Інгаляційний шлях введення

При цьому шляху введення на БД препаратів можуть вплинути супутні захворювання бронхолегеневої системи, куріння (як фактор, що сприяє розвитку хронічного бронхіту з відповідною перебудовою структури стінки бронхів), а також стан кровообігу в бронхопульмональній системі.

Вплив на біодоступність лікарських речовин інших факторів

Стан центральної нервової системи, загального тонусу організму регулюють інтенсивність кровообігу в різних органах і тканинах і в певній мірі інтенсивність біотрансформації лікарських речовин у метаболіти. Це знаходить відображення в зміні абсолютної і загальної біодоступності ліків.

Вік людини також впливає на БД ліків. Для молодих хворих характерні більш високі показники всмоктування, виведення, найменший час досягнення максимальної концентрації ліків; для старих – більш високе значення періодів напіввиведення ліків.

У дітей до півтора років БД ліків, прийнятих всередину, лише ненабагато чим відрізняється від такої у дорослих. Однак їх всмоктування (і активне, і пасивне) відбувається дуже повільно.

*Значний вплив на БД ЛР можуть надавати *біоритми*. В основі біологічної ритміки організму лежить ритміка обміну речовин. У людини обмінні (переважно катаболічні) процеси, що забезпечують біохімічну основу активності, вночі досягають мінімуму, тоді як біохімічні процеси, що забезпечують накопичення субстратних і енергетичних ресурсів, досягають максимуму. Головним чинником, що визначає біологічну ритміку, є умови існування організму. Сезонні і особливо добові ритми виступають у ролі «диригентів» усіх коливальних процесів організму, і тому увага вчених найбільше зосереджено на вивченні цих ритмів.*

Урахування фізіологічних ритмів є обов'язковою умовою для обґрунтування оптимального часу прийому ліків. Протягом доби спостерігається неоднакова чутливість організму до оптимальних і токсичних доз ліків. В експерименті встановлено 10-кратна різниця летальності щурів від еленіуму та інших препаратів цієї групи в 3 години ночі у порівнянні з 8 годинами ранку. Транквілізатори проявляють максимальну токсичність в активну фазу доби, яка збігається з високою руховою активністю. Їх найменша токсичність відзначена під час нормального сну.

Гостра токсичність адреналін гідрохлориду, ефедрин гідрохлориду, мезатону та інших адреноміметиків збільшується вдень і значно зменшується вночі. А гостра токсичність атропін сульфату, платифілін гідротартрату, метацину та інших холінолітиків набагато вища вночі, в неактивну фазу доби. Велика чутливість до снодійних та наркозних засобів спостерігається у вечірні години, а до анестетиків у стоматології – в 14-15 годин дня (в цей час і рекомендується видаляти зуби).

Значним коливанням протягом доби піддається інтенсивність всмоктування, транспорту і розпаду різних лікарських речовин. Наприклад, час напіврозпаду преднізолону при введенні його хворим в ранкові години приблизно в 3 рази більший, ніж при введенні в другій половині дня. Зміна активності і токсичності препарату може бути пов'язана з періодичністю ферментних систем печінки і ниркової функції.

Наступним чинником, що робить значний вплив на БД ЛР, є *патологічні процеси та індивідуальні особливості організму*. Більшість патологічних процесів призводить до порушення бар'єрної функції біологічних мембран, зміни проникності біологічних бар'єрів. У першу чергу це патологічні процеси, що сприяють вільно радикальному (пероксидному) окисленню ліпідів, запальні процеси, що призводять до активації фосфоліпаз і гідролізу ними мембранних фосфоліпідів, зміни електролітного гомеостазу тканин, що викликає механічне (осмотичне) розтягнення мембран, обумовлює змінену реактивність клітин і тканин по відношенню до лікарських речовин (часто в комбінації з впливом і на фармакокінетику). Наприклад, стрес може посилити процес збудження і послабити гальмування в корі головного мозку.

Алкоголь також впливає на фармакодинаміку та фармакокінетику лікарських препаратів. Пояснюється це наступним механізмом:

- зміною проникності гістогематичні бар'єрів внаслідок порушення плинності ліпідних мембран при їх взаємодії з етанолом;
- зміною структури і функції клітинних мембран, порушення проникнення лікарських речовин через біомембрани;

- зміною структури і функції ферментів (Na^+ - K^+ - АТФази, Ca^{2+} -АТФази, 5-нуклеотидази, ацетилхолін-естерази, аденілатциклази, ферментів мітохондріальної електронно-транспортного ланцюга);

- підвищенням секреції шлункового слизу і зниженням всмоктування ліків у шлунку;

- перемиканням системи мікосомальної неспецифічної ферментативної оксидазної окисляючої системи печінки на окислення етанолу, в результаті чого відбувається зниження рівня окислення інших ендогенних і екзогенних лігандів;

- індукцією печінкових ферментів і як наслідок зміною швидкості та рівня біотрансформації лікарських речовин.

Ректальний шлях уведення

Ректальний шлях уведення ліків (через пряму кишку) забезпечує їх швидке всмоктування (7-10 хв.). Значний вплив на БД при даному способі введення надають індивідуальні особливості кровопостачання прямої кишки, стан її слизової (з віком при систематичному вживанні проносних і нестачі рослинної клітковини в їжі функціональний стан слизової кишки погіршується). Залози слизової оболонки товстої кишки виділяють рідкий лужний секрет (рН іноді перевищує 9). Зміни рН кишечника, так само, як зміни рН шлунка, суттєво впливають на ступінь іонізації і всмоктування лікарських речовин.

На процес кишкової абсорбції впливають вегетативна нервова система, ендокринна система, біологічно активні пептиди.

Контрольні завдання

1. Які чинники впливають на біологічну доступність ліків?
2. Як впливають стан нервової системи, вік людини на БД ЛР?
3. Яким чином впливають біоритми на біологічну доступність ліків?
4. Охарактеризуйте вплив патологічних процесів та індивідуальних особливостей організму на БД?

5. Як впливає алкоголь на фармакодинаміку та фармакокінетику лікарських препаратів?

Література: [1–3, 7].

Практична робота № 3

Тема. Біоеквівалентність лікарських засобів

Мета: закріпити теоретичні знання щодо дослідження біоеквівалентності лікарських засобів, ознайомитися з методикою вивчення біоеквівалентності.

Короткі теоретичні відомості

Об'єктами дослідження на біоеквівалентність є генеричні препарати, призначені для позасудинного введення (прийом всередину, під язик і інші) за умови, що дія цих препаратів опосередковано появою лікарської речовини в системному кровотоці. Як препарат порівняння слід використовувати відповідний оригінальний препарат або його аналог, який знайшов широке медичне застосування (бажано той, який виробляється за ліцензією авторів оригінального препарату).

Контингент досліджуваних при вивченні біоеквівалентності повинен бути максимально однорідним. Щоб знизити розкид одержуваних даних, випробування препаратів проводяться на здорових добровольцях. Можуть залучатися особи обох статей у віці від 18 до 55 років. Маса тіла випробовуваних не повинна виходити за 20% межі вікової фізіологічної норми для даної статі. Переважно, щоб випробовувані були некурящими. Перед початком досліджень необхідно провести ретельний збір анамнезу, а також обстежити випробовуваних за допомогою стандартних лабораторних тестів для виключення осіб з порушеннями функції елімінувальних органів (печінка, нирки) і серцево-судинної системи. До і в процесі випробувань можна проводити спеціальні медичні обстеження, необхідність яких обумовлена особливостями фармакологічних властивостей досліджуваного препарату.

У деяких випадках замість здорових добровольців у досліджувану групу включаються пацієнти з певними захворюваннями.

Мінімальна кількість випробовуваних, необхідна для дослідження біоеквівалентності, становить 12 осіб. Усі добровольці повинні бути поінформовані про цілі та процедуру проведення випробувань, що документується в спеціальній «Інформованій згоді».

За 2 тижні до початку випробувань добровольці запрошуються для повторного збору анамнезу. У тому випадку, якщо в період, що передує бесіді, доброволець переніс будь-які захворювання, які можуть вплинути на результати дослідження, його не включають до групи випробовуваних.

Для усіх учасників експерименту повинні бути створені стандартні умови: харчовий і водний режим (стандартна дієта протягом однієї доби до дослідження і протягом усього його проведення); повне виключення прийому будь-яких інших лікарських засобів протягом 2-х діб до прийому препаратів, що вивчаються, і в період проведення фармакокінетичного дослідження; виключене вживання алкоголю, кофеїну, наркотичних засобів, концентрованих соків; стандартний руховий режим і режим дня.

Стан здоров'я добровольців, дотримання ними режиму, організація харчування, правильність відбору зразків крові та їх обробка контролюються дослідниками-клініцистами.

Дослідження біоеквівалентності проводяться з одним дозуванням (бажано найбільшим) даного генеричного препарату в даній лікарській формі, навіть якщо для реєстрації вона заявлена в декількох дозуваннях. У разі лікарських форм пролонгованої типу дії біоеквівалентність слід перевіряти для кожної дози окремо.

Особливістю даних досліджень біоеквівалентності є те, що кожен з випробовуваних отримує як досліджуваний препарат, так і препарат порівняння.

Інтервал часу між прийомом досліджуваного препарату і препарату порівняння залежить від тривалості циркуляції лікарського засобу в організмі і повинен становити не менше 6 періодів напіввиведення ($T_{1/2}$). Час після

закінчення першого періоду дослідження до початку другого добровольці проводять удома, але слід дотримуватися встановленого режиму.

Відбір проб крові при вивченні біоеквівалентності

Біоматеріалом, в якому слід визначати концентрацію лікарського засобу при дослідженнях біоеквівалентності, є плазма, сироватка або цільна кров. Схема відбору проб, як в будь-якому фармакокінетичну дослідженні, визначається формою кривої «концентрація C – час t ». Чим складніша форма, тим частіше слід відбирати проби. Час відбору проб має забезпечувати отримання для кожного фрагмента фармакокінетичної кривої декількох точок: не менше двох для фази початкового зростання концентрації і не менше п'яти - для фази її зниження. Загальна тривалість спостереження за концентрацією лікарського засобу повинна бути не менше ніж в 4 рази більшою за період напіввиведення.

Для визначення концентрації лікарських засобів у плазмі, сироватці або цільній крові можуть бути використані різні методи (фізико-хімічні, імунологічні, мікробіологічні та ін.), що забезпечують можливість впевненого спостереження за концентрацією препарату за вибраних умов фармакокінетичного дослідження, зокрема його тривалості, і відповідають загальним вимогам вибіркової, точності, відтворюваності.

Оцінка біодоступності лікарського засобу або його основного біологічно активного метаболіту (якщо вивчені препарати представляють собою проліки) ґрунтується на порівнянні значень фармакокінетичних параметрів, отриманих в результаті аналізу кривих «концентрація C – час t » для досліджуваного препарату і препарату порівняння.

Індивідуальні значення площі під кривими «концентрація C – час t » – AUC (як в межах тривалості спостереження за концентрацією лікарського засобу – AUC_{0-t} , так і в межах від 0 до ∞ – $AUC_{0-\infty}$), максимальної концентрації C_{\max} і часу її досягнення t_{\max} слід розрахувати даними «концентрація C – час t », встановленими у кожного добровольця для кожного з вивчених препаратів.

Значення параметрів AUC_t , C_{\max} і t_{\max} можуть бути оцінені як модельними методами (шляхом опису даних «концентрація лікарського засобу C_u – час t » математичною моделлю), так і немодельними методами (найбільше з вимірних значень концентрації – C_{\max} і відповідний час, коли спостерігається максимум – t_{\max}). Величину AUC_t розраховують за допомогою методу звичайних або логарифмічних трапецій. Значення $AUC_{0-\infty}$ обчислюють за формулою:

$$AUC = AUC_t + C_t / Kel,$$

де C_t і Kel – розрахункові значення концентрації лікарського засобу в останній пробі і константи елімінації відповідно.

Для обчислення C_t і Kel кінцеву (моноекспоненціальну) ділянку фармакокінетичної кривої описують за допомогою нелінійного регресійного аналізу або рівнянням прямої лінії в координатах $\ln C - t$, використовуючи метод лінійної регресії.

За достатньої тривалості спостереження, коли $AUC_{0-t} \gg 80\% AUC_{0-\infty}$, для оцінки повноти всмоктування досліджуваного препарату слід використовувати значення AUC_t , а за умови, що $AUC_{0-t} < 80\% AUC_{0-\infty}$ – значення AUC_f .

Подальший аналіз фармакокінетичних даних передбачає обчислення індивідуальних відношень AUC_t або AUC_f (відповідно t і f – оцінки відносного ступеня всмоктування) і C_{\max} для будь-яких лікарських форм; відношень C_{\max}/AUC_{0-t} або $C_{\max}/AUC_{0-\infty}$ як характеристик швидкості всмоктування – для звичайних форм, а для форм пролонгованої дії – різниць між значеннями C_{\max} і мінімальної концентрації C_{\min} , віднесених до інтегральної середньої концентрації $C_{ss} = AUC/t$, де t – тривалість дії концентрації лікарської речовини.

Оцінка біоеквівалентності проводиться за параметрами AUC_{0-t} або $AUC_{0-\infty}$, а також C_{\max} – для будь-яких лікарських форм; за параметрами C_{\max}/AUC_{0-t} або $C_{\max}/AUC_{0-\infty}$ – для звичайних форм і по параметру $(C_{\max} - C_{\min})/C_{ss}$ – для форм пролонгованої дії.

Препарати вважаються біоеквівалентними, якщо 90% довірчий інтервал для геометричного середнього, обчисленого для індивідуальних відношень

логарифмічно перетворених значень кожного з перерахованих фармакокінетичних параметрів (за винятком C_{\max}) для досліджуваного препарату до таких же параметрів для препарату порівняння, знаходиться в межах 0,80 – 1,25. Для C_{\max} відповідні межі становлять 0,70 – 1,43. Межі вищезгаданого довірчого інтервалу розраховують за допомогою двох односторонніх тестів (переважно за методом Schuirmann) після логарифмічного перетворення значень фармакокінетичних параметрів.

Якщо названий довірчий інтервал в разі параметрів AUC_{0-t} або $AUC_{0-\infty}$ виходить за встановлені межі, препарати вважаються небіоеквівалентними.

Контрольні завдання

1. Що є об'єктами досліджень на біоеквівалентність ліків?
2. Які вимоги висуваються до контингенту піддослідних?
3. Який біоматеріал використовується при дослідженнях біоеквівалентності?
4. Як здійснюється оцінка біодоступності лікарського засобу або його основного біологічно активного метаболіту?
5. За якої умови препарати вважають біоеквівалентними?

Література: [1–4, 6].

Практична робота № 4

Тема. Біофармацевтична оцінка лікарських препаратів методами *in vitro*

Мета: закріпити теоретичні знання щодо фармацевтичної доступності, кінетики розчинення лікарських речовин.

Короткі теоретичні відомості

Систематичний контроль біологічної доступності кожної серії готових лікарських засобів, що промислово випускаються, в досліджах *in vivo* не представляється можливим, тому в даний час широко розвиваються спеціальні методи *in vitro*, що відображають певною мірою БД лікарських препаратів. Для цих методів характерна точність, відтворюваність і економія в часі.

У методах *in vitro* проводиться оцінка розпадання лікарської форми, а також розчинення або вивільнення лікарських речовин з лікарської форми.

Під здатністю до розпаду таблеток, препаратів у вигляді драже, желатинових капсул розуміється їх властивість при зіткненні з водою (або травними соками) перетворюватися в частки лікарських і допоміжних речовин.

Під умовною назвою «розчинення» (Dissolution) мають на увазі швидкість розчинення і переходу в розчинювальне середовище фармакологічно активних речовин з лікарської форми.

Доступність, яка визначається в досліджах *in vitro* і описує кінетику розчинення лікарських речовин, називають *фармацевтичною*.

Визначення фармацевтичної доступності є першим етапом визначення біологічної доступності препаратів, оскільки в даний час загальновизнано, що майже для всіх груп лікарських речовин швидкість розчинення (виходу, вивільнення) взаємопов'язана з біологічною доступністю, тому що всмоктування йде тільки в тому випадку, якщо на місці абсорбції присутній розчин лікарської речовини. Без розпаду ж багатьох лікарських форм неможливий або уповільнений процес вивільнення лікарських речовин.

Параметри фармацевтичної доступності

Для контролю швидкості і ступеня розчинення (вивільнення) лікарських речовин і кореляції з даними визначення БД на живих об'єктах при визначенні фармацевтичної доступності розраховують наступні параметри:

- кількість лікарської речовини, яка розчинилася (вивільнилася) за певний час або її концентрація в розчині на певний момент часу від початку експерименту;

- час, необхідний для розчинення певної кількості лікарської речовини (25; 50; 76%). Найчастіше використовується параметр час напіврозчинення $T_{1/2}$ – час, за який вивільняється 50% лікарської речовини, що міститься в лікарській формі;

- кількість сумарно вивільненої лікарської речовини в % від вмісту її в

лікарській формі;

- константа швидкості розчинення є ідеальним параметром для опису процесу розчинення і розраховується з урахуванням законів розчинення;

- ефективність розчинення, яка ґрунтується на інтегруванні площі під кривою розчинення від її початку до моменту часу, до якого в розчин перейде 100% лікарської речовини;

- середній час розчинення – це середнє арифметичне окремих періодів часу розчинення лікарських речовин в лікарських формах. Він оцінюється площею під кривою розчинення, поділеною на кількість лікарської речовини, що міститься в лікарській формі, і розраховується методом статистичних моментів.

У процесі розчинення розрізняють дві стадії:

1) вивільнення молекул з кристалічної решітки;

2) дифузія вивільнених молекул в розчинник аж до утворення кінцевої концентрації в загальному об'ємі розчинника.

Процес розчинення описується рівнянням:

$$\frac{dC}{dt} = K_v \cdot S \cdot (C_0 - C_t)^n,$$

де $\frac{dC}{dt}$ – кількість речовини, що розчиняється за одиницю часу (швидкість розчинення), кг/с;

K_v – константа швидкості розчинення;

S – площа поверхні розчинюючої речовини, м²;

C_0 – концентрація препарату в насиченому розчині (розчинність), кг/м³;

C_t – концентрація препарату в розчиннику в даний момент часу, кг/м³.

Рівняння розчинення дозволяє виводити і, тим самим, регулювати певні параметри, від яких залежить швидкість розчинення.

1. Товщина дифузійного шару (δ).

Константа швидкості розчинення K при постійному об'ємі рідкої фази визначається рівнянням:

$$K_v = \frac{\gamma \cdot D}{D + \delta \cdot \gamma},$$

де δ – коефіцієнт швидкості між фазного переносу;

D – коефіцієнт дифузії.

В більшості випадків під час розчинення переважає дифузійний тип

$$\gamma \gg D/\delta \text{ і } K_v \rightarrow \frac{D}{\delta}.$$

З метою зменшення товщини дифузійного шару на поверхні лікарської форми використовують різні способи, що забезпечують штучну циркуляцію розчинюючої середовища.

2. В'язкість дифузійного шару.

$$D = k \cdot \frac{1}{\eta},$$

де k – коефіцієнт розподілу;

η – в'язкість дифузійного шару.

Оскільки мова йде про обернено пропорційній залежності, то розчинення буде тим швидше, чим менше в'язкість дифузійного шару.

Після перетворень з уведенням вказаних позначень рівняння розчинення набуде вигляду:

$$\frac{dC}{dt} = \frac{D \cdot S}{\delta} \cdot (C_0 - C_t)^n = \frac{k \cdot S}{\delta \cdot \eta} \cdot (C_0 - C_t)^n.$$

Умови, необхідні для дослідження кінетики розчинення лікарських речовин з лікарських форм

Для оцінки розчинення необхідна сукупність умов (прилад, склад і обсяг, температура середовища розчинення, режим перемішування, час відбору проб, аналітичний спосіб визначення вмісту речовини в розчинюючій середовищі), що дозволяють з достатньою точністю оцінити кінетику переходу діючої речовини в розчин. Правильно розроблена методика повинна забезпечувати відтворюваність або незначну дисперсію результатів окремих

досліджень. Наявність правильно підібраних методик надзвичайно важливо насамперед для фармацевтичної технології, оскільки дозволяє провести порівняльну оцінку лікарських форм, отриманих за різними технологічними схемами і регламентам. Тільки в разі встановлення кількісної кореляції між розчиненням *in vitro* і всмоктуванням *in vivo* на основі розробленої методики може бути сформульований тест «Розчинення».

Склад середовища розчинення повинен бути підібраний для кожного окремого випадку з урахуванням природи ЛР, їх мінімальної іонізації в травному тракті, де має проходити розчинення.

Як середовище розчинення найбільш часто використовуються вода, водні розчини кислот або буферні розчини. Бажано використання деаерованої води, оскільки розчинене повітря може погіршувати відтворюваність результатів через сорбцію його лікарською формою, що в свою чергу зменшує змочування останньої.

Доведено, що присутність ферментів практично не впливає на швидкість розчинення ЛР і в той же час іноді ускладнює їх кількісну оцінку. Виняток ферментів рекомендовано ВООЗ. Якщо ЛР дуже мало або практично не розчиняється у воді (<0,2%), частина водного розчину може бути заміщена неводним розчинником, що змішується з водою, наприклад, етанолом, метанолом або ізопропанолом. Важливим питанням є правильний вибір об'єму середовища розчинення, який повинен бути в 20 разів більшим, ніж той, що іде для отримання насиченого розчину речовини, яка міститься в готовій лікарській формі. Для більшості випадків об'єм середовища коливається в межах 500-1000 см³. У процесі розчинення об'єм середовища повинен залишатися постійним: у міру відбору проб він доповнюється чистим розчинником. Визначення розчинення повинно проводитися за температури тіла людини, тобто при 37 ± 1 °C.

Умови перемішування середовища повинні забезпечити рівномірну концентрацію ЛР і відтворюваність результатів. Перемішування збільшує

дифузію, вирівнює температуру, може змінити не тільки швидкість розчинення, але і тип кінетики.

Умови перемішування визначаються конструктивними особливостями використовуваних приладів або пристроїв – мішалок. Інтенсивність перемішування підбирається таким чином, щоб швидкість розчинення випробуваної ЛР корелювала з БД, яка визначається в досліді *in vivo*.

Визначення активного інгредієнта в середовищі розчинення, іноді в низьких концентраціях, може викликати певні труднощі. У цьому випадку, за рекомендаціями ВООЗ, необхідно використовувати інший метод, що відрізняється від того, який застосовувався для кількісного визначення активної речовини в препараті. Обраний для цієї мети метод не обов'язково повинен бути порівнянний з методом кількісного визначення ЛР в лікарській формі. Найчастіше з цією метою застосовується метод спектрофотометрії.

Для отримання достовірних показників необхідно зіставляти дані, одержувані на різних типах приладів і різними методами.

Контрольні завдання

1. У чому полягають переваги методу *in vitro* при визначенні біологічної доступності лікарської речовини?
2. Що означає фармацевтична доступність?
3. Охарактеризуйте параметри фармацевтичної доступності.
4. Які стадії розрізняють у процесі розчинення лікарської речовини?
5. Охарактеризуйте умови, необхідні для дослідження кінетики розчинення лікарських речовин з лікарських форм.

Література: [1–4, 7,8].

КРИТЕРІЇ ОЦІНЮВАННЯ ЗНАНЬ СТУДЕНТІВ

Основними методами контролю підготовки студентів до практичних занять є самостійні та контрольні роботи, усне опитування під час заняття.

Нижче наведені критерії оцінювання участі студентів у практичному занятті. У підсумку за модуль виставляють середні оцінки, до яких додають бали за інші види навчальної діяльності (написання контрольних тестів – модульних контрольних робіт, бали за самостійну роботу, опрацювання конспекту лекцій).

Максимальна кількість балів за виконання усіх практичних робіт навчальної дисципліни «Нанобіотехнологія та біофармація» – 20.

Критерії оцінювання практичних робіт:

- виконання самостійної або контрольної роботи – 2 бали;
- робота на практичному занятті – 2 бали.

Кожна практична робота оцінюється максимум у 4 бали.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-1.0:2005 «Фармацевтична продукція. Система стандартизації», що затверджена наказом МОЗ України від 14 вересня 2005 року № 471 «Про затвердження документів з питань стандартизації фармацевтичної продукції».
2. Настанова СТ-Н МОЗУ 42-7.1:2016 «Лікарські засоби. Дослідження біоеквівалентності», що затверджена наказом МОЗ України від 12 січня 2017 № 22.
3. Карабинцева Н. О. Биофармация : учеб.-метод. пособие / Н. О. Карабинцева, С. Ю. Клепикова. – Новосибирск: Сибмедиздат НГМУ, 2011. – 164 с.
4. Биофармация: Учебник для студентов высших учебных заведений и фармацевтов / А.И. Тихонов, Т.Г. Ярных, И.А.Зупанец и др.; Под ред. А. И. Тихонова. – Харьков: Изд-во НфаУ: Золотые страницы, 2003. – 240 с.
5. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / За редакцією: член-кор. АМН України О.В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
6. Фармакологія. Підручник для студентів медичних факультетів / І. С. Чекман., Н. О. Горчакова, Л. І. Казак та ін. – Видання 2-ге. – Вінниця: Нова Книга, 2011. – 784 с.
7. Скакун М. П. Фармакологія: Підручник / М. П. Скакун, К. А.Посохова . – Тернопіль: Укрмедкнига, 2003. – 740 с.
8. Janicki S. Dostepnosc farmaceutyczna I dostepnosc biologiczna lekow / S.Janicki, M.Sznitowska, Zielinski W. – Warshawa, 2001.–256 s.

Методичні вказівки щодо практичних робіт з навчальної дисципліни «Нанобіотехнологія та біофармація» для студентів денної форми навчання зі спеціальності 101 – «Екологія» освітньо-професійної програми підготовки «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

Укладачі: д.б.н., проф. В. В. Никифоров,

к.т.н., доц. О. В. Мазницька

Відповідальний за випуск А. В. Пасенко

Підп. до др. _____. Формат 60Ч84 1/16. Папір тип. Друк ризографія.

Ум. друк. арк. _____. Наклад _____ прим. Зам. № _____. Безкоштовно.

Видавничий відділ
Кременчуцького національного університету
імені Михайла Остроградського
вул. Першотравнева, 20, м. Кременчук, 39600