

В. Д. Лук'янчук¹, К. О. Шебалдова¹, Д. С. Кравець¹, Л. С. Бобкова²

Дослідження фармакометричних показників режиму дозування антигіпоксанта ВІТАГЕРМ-3

¹ДЗ «Луганський державний медичний університет»²ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», м. Київ

Ключові слова: фармакометричні показники, антигіпоксанти ВІТАГЕРМ-3, режим дозування

Розробка режиму дозування потенційного лікарського засобу на стадії його доклінічного дослідження є ключовим, трудомістким та відповідальним етапом роботи, який гарантує проведення науково-обгрунтованої ефективної та безпечної фармакотерапії. На сучасному етапі розвитку фармакологічної науки для рішення даної проблеми найраціональнішим вважають використання математичного моделювання залежності виживання тварин від часу введення та дози потенційного лікарського засобу [1–4]. Це, насамперед, дозволяє на основі аналізу математичної моделі суттєво скоротити час дослідження. Статистичний аналіз кривої «доза–ефект» зазвичай виконують методами математичної статистики, такими як пробіт-аналіз, логіт-аналіз, метод Спірмена-Кербера [5]. Як правило, віддають перевагу моделям, у яких використовують нелінійну апроксимацію порівняно з лінійними або лінеаризованими, навіть якщо емпірична залежність виглядає лінійною в досліджуваному інтервалі доз. Таке дослідження виконують, виходячи з того, що в переважній більшості випадків залежності «доза–ефект» механізми розвитку ефекту є нелінійними, але розподіл експериментальних даних може виглядати лінійним при деяких специфічних обставинах та/або в деяких інтервалах доз [5].

Відомо, що п'ятикоординовані органічні сполуки германію характеризуються широким спектром біологічної дії. Здатність сполук германію переносити кисень на тканинному рівні особ-

ливо важлива для попередження гіпоксії [6]. Передбачають, що в крові органічний германій проявляє дію аналогічно гемоглобіну, якому також притаманний негативний заряд, та як і гемоглобін бере участь у процесі переносу кисню в тканинах організму.

Попередньо проведений нами скринінговий аналіз синтезованих координаційних сполук германію на моделі гіпоксії замкнутого простору дозволив виділити оригінальну сполуку ВІТАГЕРМ-3.

Для розробки оптимального режиму дозування ВІТАГЕРМ-3 вважали доцільним використовувати методичний підхід, в основі якого лежить знаходження математичної моделі залежності «доза–ефект», яка базується на припущенні, що існує деяка границя X (доза препарату), перевищення якої реалізується позитивним ефектом тест-об'єкта. У випадках, коли доза препарату, що вводиться, нижча границі X , то ефект відсутній, а у випадку, якщо випробовувана доза більша за гіпотетичну (X), то спостерігається позитивний ефект. Таким чином, розглядається випадок, коли величина дози є невідомою функцією розподілу та густиною розподілу, а величина ефективності може бути як випадковою, так і не випадковою.

Мета дослідження – побудова математичної моделі фармакотерапевтичного ефекту та розрахунків на її основі величин середньої ефективної дози (D_{50}) та оптимального часу введення потенційного лікарського засобу ВІТАГЕРМ-3.

Матеріали та методи. Експериментальною моделлю даної форми гіпоксичного синдрому був патологічний процес, який розвивається у тварин у замкнутому просторі за зростаючого

вмісту двоокису вуглецю та зниження вмісту кисню повітря, що вдихається. Тварин поміщали в герметично закриті скляні ємності об'ємом 1000 мл, які перевертали дном до верху та опускали в піднос з водою для запобігання попадання повітря до гермооб'єма. У запропонованій моделі розглядали фіксований план експерименту, який передбачав, що дози є наперед відомі, тобто не є випадковими. Вибір доз здійснювали із розрахунку рекомендованих добових доз германію в органічній формі (8–10 мг) [7]. Використання методу сплайн-інтерполяції дозволяє проводити аналіз довільної дозозалежної кривої за будь-якого інтервалу між дозами. Вибір числа експериментальних точок, необхідних для визначення параметрів дозозалежної кривої, залежить від вимог до точності цих параметрів, від похибки вимірювання та від ступеня складності кривої «доза–ефект». Довірчим інтервалом для D_{50} слугує інтервал $D_{16} - D_{84}$ [8]. Спонуку вводили внутрішньочеревинно білим безпородним щурам обох статей у дозах 25, 100, 200 мг/кг ($n = 8$, $p \leq 0,05$). У вибраному діапазоні доз задавали похибку вимірювання ефекту за формулою [8]:

$$Y (\%) = Y \pm \zeta Y_c / 100,$$

де Y – «вимірюване» з похибкою значення ефекту, ζ – рівномірно розподілена випадкова величина на відрізку $D_0 - D_1$, c – похибка вимірювання, %.

Як критерій ефективності використовували час життя тварин у гермооб'ємі.

Результати та їх обговорення. У таблиці 1 наведено експериментальні дані впливу на подовження часу життя тварин різних доз ВІТАГЕРМ-3, уведених тваринам за 60 хв до поміщення їх у гермооб'єм.

Побудова математичної моделі на основі досліджених доз передбачає порівняння лінійної та поліноміальної залежностей (рис. 1). Апроксимація поліноміальної функції має переваги порівняно з лінійною функцією ($R^2 = 0,9955$ та $0,59$ відповідно) (рис. 1. Б). У результаті отримано залежність:

$$T(d) = 0,0006d^2 + 0,1536d - 0,2572 \quad (R^2 = 0,9955). \quad (1)$$

Аналіз отриманої функції показує, що її максимум досягається при величині дози ВІТАГЕРМ-3 135 мг/кг, що відповідає ефекту 10 хв. Визначена графічно (рис. 1. С) та за функцією (1) доза D_{50} становить 40 мг/кг та 36,67 мг/кг (ефект 5 хв). Розбіжність величин D_{50} між графічним та розрахунковим методом складає до 10%.

Наступний етап фармакометричного дослідження присвячений визначенню оптимального часу введення ВІТАГЕРМ-3 в дозі D_{50} . З цієї метою ВІТАГЕРМ-3 вводили за 2 год, 1 год та безпосередньо перед поміщенням тварин у гермооб'єм. Отримані результати залежності ефекту від тривалості дії ВІТАГЕРМ-3 до поміщення тварин у гермооб'єм наведено в таблиці 2.

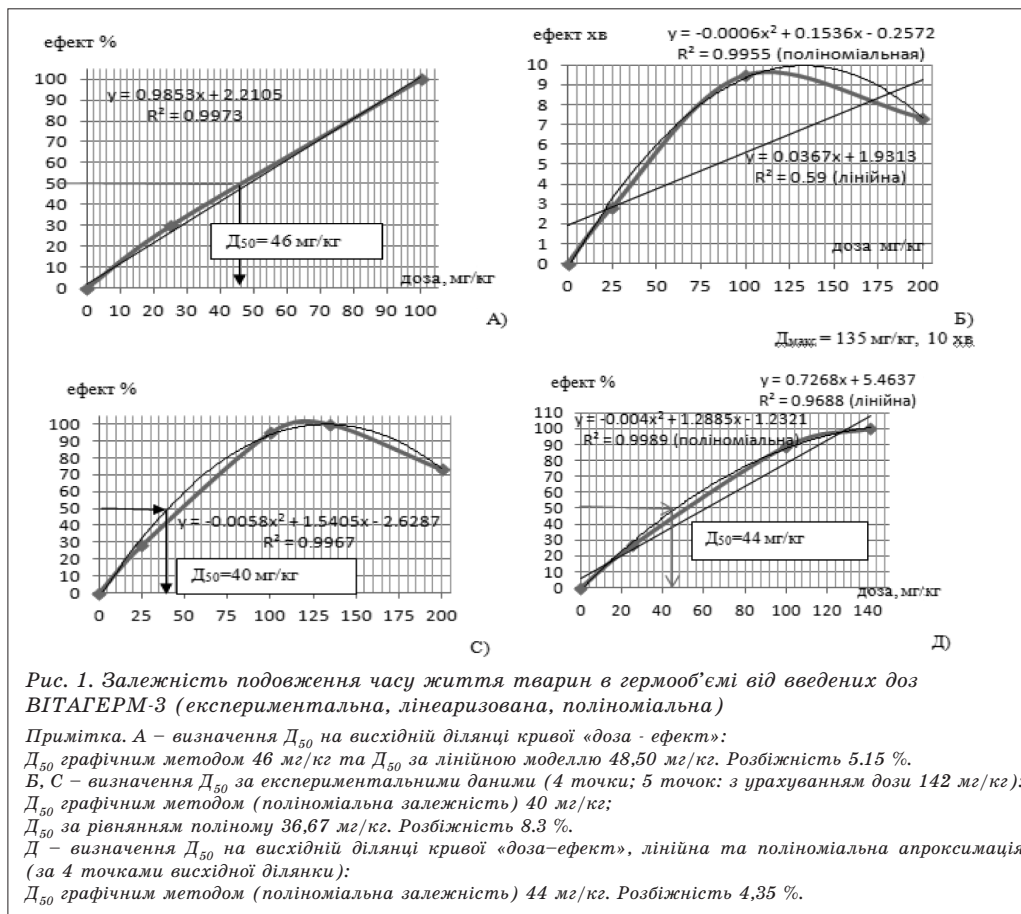
Як показано на рисунку 2, отримані дані були екстрапольовані на поліном другого порядку: $y = -0,0011x^2 + 0,075x + 4,5$,

Таблиця 1

Час життя тварин у гермооб'ємі за умов введення різних доз ВІТАГЕРМ-3, $M \pm m$

Експериментальна група	Доза ВІТАГЕРМ-3, мг/кг	Час життя тварин у гермооб'ємі, хв (Т)	Ефект = $T_{\text{дослід}} - T_{\text{контроль}}$, хв
Контроль (гіпоксія) ($n = 8$)	0	$35,50 \pm 1,98$	0,00
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 ($n = 8$)	25	$38,33 \pm 0,67$	2,83
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 ($n = 8$)	100	$45,00 \pm 2,43^*$	9,50
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 ($n = 8$)	200	$42,83 \pm 2,12^*$	7,33

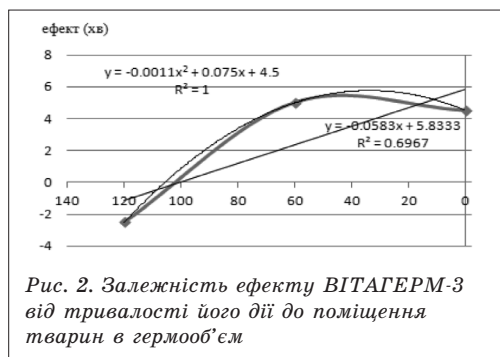
Примітка. Тут і в табл. 2: * $p \leq 0,05$ порівняно з контролем.



Таблиця 2

Час життя тварин у гермооб'ємі залежно від тривалості дії ВІТАГЕРМ-3 у дозі D_{50}

Експериментальна група	Доза ВІТАГЕРМ-3, мг/кг	Час життя тварин у гермооб'ємі, хв (Т)	Ефект = $T_{\text{дослід}} - T_{\text{контроль}}$, хв
Контроль (гіпоксія) (n = 8)	-	35,50 ± 2,29	-
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 (n = 8)	120	33,00 ± 1,12	0,00
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 (n = 8)	60	40,50 ± 0,93*	5,00
Дослід: гіпоксія + ВІТАГЕРМ-3 (n = 8)	0	45,00 ± 1,98*	9,50



за яким знаходили точку екстремуму. Була знайдена його похідна ($2 \cdot 0,0011x - 0,075$), у результаті прирівнювання якої до нуля знайшли, що оптимальний час введення ВІТАГЕРМ-3 у дозі D_{50} складає $0,075/0,0022 = 34,09$ хв.

Таким чином, запропонований підхід дозволяє виконати розрахунок величин дози (D_{50}) та оптимального часу введення потенційного лікарського засобу ВІТАГЕРМ-3.

1. Криштопенко Д. С. Непараметрический статистический анализ в зависимости доза-эффект / Д. С. Криштопенко, М. С. Тихов // Сборник тезисов: XIV Международной конференции «Математика. Компьютер. Образование». – Пушино, М. – Иж.: НИЦ «Регулярная и хаотическая динамика». – в. 14–2007. – С. 142.
2. U. S. EPA Benchmark Dose Software (BMDS) Version 2.1 User's Manual Version 2.0, DRAFT. Doc No.: 53-BMDS-RPT-0028. — Washington, DC: Office of Environmental Information., 2009.
3. Altshuler B. Modeling of Dose-Response Relationships / B. Altshuler // Environ Health Perspect. – 1981. – V. 42. – P. 23–27.
4. Антомонов М. Ю. Построение зависимости «доза (уровень фактора) – время – эффект» с использованием экспоненциальных функций / Антомонов М. Ю., Русакова Л. Т. // Гигиена и санитария. – 1988. – № 6. – С. 42–44.
5. Martin A. Hamilton. Trimmed Spearman-Kärber method for estimating median lethal concentrations in toxicity bioassays / Martin A. Hamilton; Rosemarie C. Russo, Robert V. Thurston // Environ. Sci. Technol. – 1977. V. 11 (7). – P. 714–719.
6. Bates D. and D. Watts. Nonlinear regression analysis. – New York: John Wiley and Sons, 1988. – P. 365.
7. Супоненко А. Н. Органический германий и его применение в медицине [Электронный ресурс] / А. Н. Супоненко // Медицинская энциклопедия «Мединфа». – Режим доступа: <http://medinf.ru/article/107/118542/>
8. Величко О. М. Основи метрології та метрологічна діяльність. Навчальний посібник / О. М. Величко, А. М. Коцюба, В. М. Новіков. – К.: Вид. – во НАУКМА, 2000. – 228 с.

В. Д. Лукьянчук, Е. А. Шебалдова, Д. С. Кравец, Л. С. Бобкова
Исследование фармакометрических показателей режима дозирования антигипоксанта ВИТАГЕРМ-3

На модели гипоксического синдрома, развивающегося у крыс в замкнутом пространстве, с привлечением математического моделирования эффективности нового антигипоксанта ВИТАГЕРМ-3, который представляет собой оригинальное координационное соединение германия, впервые разработан режим его дозирования. Предложенный подход позволяет вычислить величины среднеэффективной дозы и оптимального времени введения потенциального лекарственного средства ВИТАГЕРМ-3.

Ключевые слова: антигипоксанта ВИТАГЕРМ-3, фармакометрические показатели, режим дозирования

V. D. Lukyanchuk, K. O. Shebaldova, D. S. Kravets, L. S. Bobkova
Dose regime pharmacometric researches of the new antihypoxant VITAGERM-3

The studies were focused on the one of the key problems of modern pharmacometry – the development of the optimal dose regimen of the new antihypoxant at the stage of its pre-clinical study in conditions of closed space with progressive hypercapnia and the low pO_2 in the inspired air. Earlier screening studies have been shown that the most perspective compound in pharmacometric aspect is a complex germanium compound based on donor-acceptor bonds – VITAGERM-3. The comprehensive methodological approach based on the mathematical model describing the dependence of the «dose-effect» was adopted to develop a dose regimen of VITAGERM-3. The animals' lifetime in the hermetic space was used as the criterion for the efficiency. The potential antihypoxant was administered to the rats singly at different doses (25, 100 and 200 mg/kg) at different terms (120 min, 60 min, and immediately before placing the animals in hermetic space). Further mathematical analysis of cubic polynomial in terms of determining the middle dose efficiency allowed to found out that its value in VITAGERM-3 administration in hypoxia in closed space. The optimal time of VITAGERM-3 administration was correctly modeled by a quadratic function with maximum at 36.04 min, and corresponded to the optimal time of VITAGERM-3 administration. Thus, the pharmacometric studies revealed that the average therapeutic effect of VITAGERM-3 in closed space hypoxia achieved by intraperitoneal injection in dose, which have found.

Key words: antihypoxants, VITAGERM-3, pharmacometric study, dose regimen

Надійшла: 22.04.2013 р.

Контактна особа: Лук'яничук Віктор Дмитрович, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, ДЗ «Луганський державний медичний університет», буд. 1, кв. 50-річчя Оборони Луганська, м. Луганськ, 91045. Тел.: +38 0 642 63 02 77.