

На правах рукописи

Куляк Олеся Юрьевна

**ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ
ИННОВАЦИОННОГО ПРЕПАРАТА КОЭНЗИМА Q₁₀**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

14.04.02 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

кандидата фармацевтических наук

Волгоград, 2019

Работа выполнена на кафедре фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела и кафедре фармакологии факультета фундаментальной медицины ФГБОУ ВО «Московский государственный университет имени М.В.Ломоносова».

Научные руководители:

Каленикова Елена Игоревна - доктор фармацевтических наук, профессор, заведующая кафедрой фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела ФФМ МГУ имени М.В.Ломоносова

Медведев Олег Стефанович - доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой фармакологии ФФМ МГУ имени М.В.Ломоносова

Официальные оппоненты:

Батищева Галина Александровна - д.м.н., профессор, заведующая кафедрой клинической фармакологии ФГБОУ ВО «Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко» Минздрава России

Гунар Ольга Викторовна - д.фарм.н., начальник лаборатории микробиологии испытательного центра экспертизы качества лекарственных средств ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России

Ведущая организация:

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»

Защита диссертации состоится «25» апреля 2019 года в _____ часов на заседании диссертационного совета Д. 208.008.02 при ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов,1.

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГБОУ ВО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России по адресу: 400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов, 1 и на сайте www.volgmed.ru

Автореферат разослан « » _____ 2019 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор биологических наук, профессор

Любовь Ивановна Бугаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

С внедрением федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» важнейшей задачей фармацевтической науки становятся разработка и внедрение новых, и прежде всего инновационных отечественных препаратов на фармацевтический рынок (от 1 октября 2010 г. №1660-р).

Инфаркт миокарда (ИМ) по данным Всемирной организации здравоохранения занимает первое место в структуре причин смертности, опережая онкологические и инфекционные болезни (World Health Organization, 2017). Многочисленные исследования демонстрируют перспективность использования антиоксидантов для лечения сердечно-сосудистых заболеваний, включая ИМ, в том числе препаратов на основе коэнзима Q₁₀ [Каленикова Е.И. и др., 2015, Иванов А.В. и др., 2013, Lei L. et al., 2017]. Его исследования ведутся уже более 60 лет. Коэнзим Q₁₀ играет важную роль в обеспечении клеток необходимой энергией, так как является кофактором в дыхательной цепи переноса электронов (ДЦПЭ) [Ernster L. 1995]. В живых системах коэнзим Q₁₀ содержится в окисленной (CoQ₁₀) и восстановленной (CoQ₁₀H₂) формах [Jafati M. et al., 2018] и функционирует как окислительно-восстановительный агент, перенося электроны и протоны в ДЦПЭ.

Препараты, содержащие коэнзим Q₁₀, представлены только пероральными лекарственными формами с крайне низкой биодоступностью [Zhang Y., 1995], что связано с низкой растворимостью, полярностью и большой молекулярной массой вещества. Данный способ введения не обеспечивает быстрого повышения уровней коэнзима Q₁₀ в плазме и органах, что возможно только при использовании парентеральных лекарственных форм. Внутривенное введение препарата коэнзима Q₁₀ мгновенно повышает его концентрацию в плазме и позволяет использовать парентеральную лекарственную форму в urgentных ситуациях [Каленикова Е.И. и др., 2015, Ivanov A.V. et al., 2013].

Так как антиоксидантным эффектом обладает восстановленная форма коэнзима Q₁₀ (убихинол), в ЗАО НПО «ДОМ ФАРМАЦИИ» была разработана инъекционная форма восстановленного коэнзима Q₁₀ (1% водный солюбилизированный раствор убихинола, патент RU 2635993-C1) для внутривенного введения с целью использования его в терапии острых сердечно-сосудистых состояний.

Разработка и валидация биоаналитической методики количественного определения убихинола, изучение его фармакокинетики и эффективности использования препарата на

его основе являются важнейшими этапами в доклиническом изучении нового лекарственного препарата. Работа проведена в рамках доклинических исследований первого препарата убихинола (государственный контракт Минпромторга № 14411.2049999.19.068) при частичном финансировании гранта Российского научного фонда «Изучение потенциала и механизмов нейро- и кардиопротективного действия коэнзима Q10 в острых ишемических состояниях» (проект № 14-15-00126).

Степень разработанности темы

К настоящему времени имеются экспериментальные данные, подтверждающие противоишемическую эффективность внутривенного введения 3% водного раствора солюбилизованного коэнзима Q₁₀ в окисленной форме [Каленикова Е.И. и др. 2015, Ivanov A.V. et al., 2013].

Разработанная инновационная лекарственная форма – 1 % водный раствор солюбилизованной восстановленной формы коэнзима Q₁₀ – убихинола нуждалась в разработке и валидации биоаналитической методики количественного определения в биологических жидкостях и тканях, детального фармакокинетического исследования, изучении механизмов экскреции и оценке эффективности препарата на модели острого инфаркта миокарда у крыс.

Цель работы:

Разработка и валидация методики определения убихинола в растворе, препарате и биоматериале и доклиническое фармакокинетическое исследование инновационной лекарственной формы препарата на основе коэнзима Q₁₀ для внутривенного введения.

Задачи исследования:

1. Рассчитать и сравнить физико-химические характеристики молекул окисленной и восстановленной форм коэнзима Q₁₀ *in silico*;
2. Разработать и валидировать методику количественного определения убихинола в плазме крови крысы с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимическим детектированием;
3. Изучить фармакокинетику препарата убихинола в плазме при однократном и многократном внутривенном введении в диапазоне доз 5–20 мг/кг;
4. Изучить распределение препарата убихинола после однократного внутривенного введения по органам крысы в дозе 10 мг/кг;
5. На основе результатов количественного анализа коэнзима Q₁₀ в образцах мочи и кала после однократного внутривенного введения препарата убихинола в дозе 10 мг/кг выявить основные пути его экскреции;

6. Оценить кардиопротекторную эффективность препарата убихинола на 21 сутки после однократного внутривенного введения в дозе 10 мг/кг в первые минуты после начала ишемии миокарда у крыс.

Научная новизна работы

С помощью программных интернет-ресурсов Millisian 2.1, ALOGPS 2.1 и PubChemSearch рассчитаны основные физико-химические характеристики молекулы убихинола. Разработана и валидирована биоаналитическая методика определения убихинола в плазме крови и тканях. Впервые изучена фармакокинетика препарата убихинола в инновационной лекарственной форме для внутривенного введения. Произведена оценка фармакокинетических параметров, проверена гипотеза линейности, выявлены основные пути экскреции препарата в изучаемом диапазоне доз 5–20 мг/кг. Прослежена динамика редокс-статуса коэнзима Q₁₀ в плазме крови крыс после внутривенного введения препарата убихинола.

Показана способность препарата убихинола, введенного однократно внутривенно после начала ишемии, повышать выживаемость животных, ограничивать размер зоны повреждения и постинфарктную гипертрофию миокарда.

Научно-практическое значение и внедрение результатов исследования

Разработаны внутрилабораторные методики экспресс-анализа для контроля качества внутривенной лекарственной формы препарата убихинола.

Валидирована методика количественного определения коэнзима Q₁₀ в восстановленной форме (убихинола) в плазме крови крысы с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимическим детектированием.

Результаты изучения фармакокинетики являются составной частью отчета по государственному контракту от 20 августа 2014 года № 14411.2049999. 19.068 с Минпромторгом России в рамках федеральной целевой программы «Развитие фармацевтической и медицинской промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и дальнейшую перспективу» по теме: «Доклинические исследования кардиопротекторного лекарственного средства на основе коэнзима Q₁₀ для внутривенного введения с целью коррекции острых ишемических состояний миокарда», Шифр «2.1 Острая ишемия 2014».

Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела и кафедры фармакологии факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова.

Методология исследования

План проведения доклинического исследования фармакокинетики соответствует рекомендациям Руководства по проведению доклинических испытаний лекарственных средств [Миронов А.Н. и др., 2012]. Основным аналитическим методом послужила высокоэффективная жидкостная хроматография с электрохимическим детектированием – наиболее селективный и чувствительный метод для определения коэнзима Q_{10} в биоматериале. Дизайн исследования согласуется с принципами проведения валидации биоаналитической методики, а также с принципами проведения экспериментов на лабораторных животных. Теоретические заключения и выводы сделаны на основе анализа имеющихся данных литературы и собственных исследований.

Положения, выносимые на защиту

1. Разработанная методика количественного определения убихинола и общего пула коэнзима Q_{10} в образцах плазмы крови и биоматериале соответствует требованиям FDA и EMA по валидационным характеристикам селективности, линейности, правильности, прецизионности и пределу количественного определения.
2. Фармакокинетика препарата убихинола в плазме при внутривенном введении в диапазоне доз 5–20 мг/кг описывается двухчастевой моделью распределения, нелинейна, общий клиренс снижается в диапазоне доз. Однократное внутривенное введение препарата убихинола в дозе 10 мг/кг через 15 минут повышает тканевые уровни коэнзима Q_{10} в миокарде, головном мозге, печени, почках и селезенке, которые остаются повышенными как минимум на протяжении 32 часов. Экскреция препарата в неизменном виде осуществляется печенью.
3. Препарат убихинола в дозе 10 мг/кг оказывает кардиопротекторное действие при внутривенном введении в первые минуты ишемии миокарда крысы, на 21 сутки уменьшая длину аневризмы левого желудочка и предотвращая развитие гипертрофии межжелудочковой перегородки миокарда, улучшая показатели насосной функции сердца.

Личный вклад автора

Автору принадлежит ведущая роль в анализе данных литературы по теме диссертационной работы, проведении экспериментальных фармакокинетических исследований и оценке кардиопротективной эффективности, анализе, обработке и обобщении полученных результатов. Автором лично проведены валидация методики количественного определения убихинола в плазме крови крысы методом ВЭЖХ-ЭХ, изучение фармакокинетики и оценка кардиопротективной эффективности изучаемого препарата. В экспериментальных исследованиях, выполненных коллективным трудом,

автором проведена пробоподготовка биологического материала и произведена оценка количественного содержания убихинола и общего содержания коэнзима Q₁₀. Вклад автора является определяющим на всех этапах доклинического исследования: от экспериментально-теоретической реализации до обсуждения результатов в научных публикациях и на конференциях.

Степень достоверности и апробации результатов исследования

Первичные результаты в ходе данного исследования получены с помощью современных методов анализа и валидированных методик, которые являются точными и достоверными. Оборудование, использованное в эксперименте, имело действующие свидетельства о поверке и зарегистрировано в реестре средств измерений, что обеспечило правильность результатов. Все выводы основаны на результатах статистической обработки первичных данных с использованием различных статистических критериев, соответствующих характеру данных. Высокая степень достоверности результатов подтверждается достаточным объемом проведенных исследований в рамках данного проекта; полученные данные согласуются с опубликованными ранее.

Апробация диссертационной работы проведена на совместном заседании кафедры фармакологии и кафедры фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова.

Основные результаты работы представлены на XXIII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов-2016» МГУ имени М.В. Ломоносова, Россия, 11-15 апреля 2016; IX Научно-практической конференции «Современные технологии и методы лабораторного анализа в доклинических и клинических исследованиях эффективности и безопасности лекарственных средств и медицинских изделий», Москва, Россия, 12 мая 2016; на 4th World Congress on Acute Heart Failure «Heart Failure 2017» Paris, Франция, 29 апреля - 2 мая 2017; на 5th World Congress on Acute Heart Failure «Heart Failure 2018», г. Вена, Австрия, 26-29 мая 2018.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 131 странице машинописного текста, состоит из введения, обзора имеющихся литературных данных, раздела с описанием используемых материалов и методов, включающего 6 протоколов исследований, раздела, посвященного результатам собственных исследований и их обсуждению, заключения, выводов и списка литературы, включающего 143 источника, из них 8 отечественных и 135 зарубежных публикаций. Диссертационная работа включает 36 рисунков и 34 таблицы.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе (обзор литературы) рассмотрены основные этапы биосинтеза и промышленного производства коэнзима Q_{10} , характеристики его окисленной и восстановленной форм. Проанализированы биологические функции и основные механизмы фармакологического действия коэнзима Q_{10} . Представлены имеющиеся литературные данные по фармакокинетике убихинона и убихинола при различных способах введения.

Во второй главе приведены материалы и методы исследования.

Основные физико-химические характеристики молекул убихинола и убихинона рассчитаны *in silico* с помощью интернет ресурсов Millisian 2.1 (<http://www.millsian.com>), ALOGPS 2.1 (<http://www.vcclab.org/lab/alogps>) и PubChemSearch (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/>).

Экспериментальные исследования

Исследование выполнено на взрослых крысах-самцах Wistar массой 280-330 г. Животные содержались в стандартных условиях при температуре 18-22°C, 12:12-часовом периоде освещения, со свободным доступом к воде и пище. Все процедуры с животными проведены в соответствии с требованиями руководства по содержанию и использованию лабораторных животных и одобрены биоэтической комиссией ФФМ МГУ.

Приготовление стандартных растворов

Точную навеску субстанции убихинола (Kaneka, Япония) 0,010 г помещали в пробирку и добавляли 1 мл 95% этанола шприцом Hamilton. Дальнейшим разбавлением растворов была получена линейка стандартных спиртовых разведений с концентрацией убихинола 10 мг/мл, 5 мг/мл, 1 мг/мл, 500 мкг/мл, 250 мкг/мл, 100 мкг/мл, 50 мкг/мл, 10 мкг/мл, 5 мкг/мл, 1 мкг/мл, 500 нг/мл, 250 нг/мл.

Приготовление модельных растворов убихинола в плазме крови и гомогенате печени крыс для валидации биоаналитической методики

Модельные растворы готовили методом добавок спиртовых разведений субстанции убихинола к аликвотам плазмы крови крыс. К 100 мкл плазмы крови крыс микрошприцом Hamilton проводили добавку 10 мкл стандартного спиртового разведения для получения концентраций убихинола в плазме 0,25; 1; 2,5; 5; 10; 25; 50 мкг/мл. Контрольный образец (без добавления убихинола) использовали для оценки фонового содержания убихинола и общего пула коэнзима Q_{10} в плазме крови крысы. Экстракцию коэнзима Q_{10} из плазмы и гомогената печени проводили согласно методике Lass A. (Lass A., 1998) с модификацией для последующего ВЭЖХ анализа с электрохимическим детектированием.

Методика ВЭЖХ-ЭХ анализа CoQ₁₀H₂

Анализ проводили методом обращенно-фазовой ВЭЖХ на оборудовании «Environmental Sciences Associate, Inc.» (США).

Регистрацию и обработку хроматографических данных проводили с помощью компьютерной программы фирмы «Environmental Sciences Associate, Inc.» (США).

Колонка	Luna (Phenomex) C18 150x4,6 мм с сорбентом (5 мкм)
Температура колонки	25 ⁰ С
Подвижная фаза	0,3% NaCl в смеси этанол: метанол: 7% HClO ₄ (970:20:10)
Скорость потока	1,4 мл/мин
Объем вводимой пробы	10 мкл
Детектирование	электрохимическое в окислительном режиме, ячейка (ESA 5010) с напряжением –50 мВ; +350 мВ на первом и втором электродах, соответственно
Восстановитель	NaBH ₄ спиртовой раствор
Время анализа	16 минут
Время удерживания убихинола	7,8 минут

Валидация методики ВЭЖХ-ЭХ анализа убихинола в растворах и биоматериале

Протокол валидации разработан с учетом требований и рекомендаций Guideline on validation of bioanalytical methods (EMA), Guidance for Industry: Bioanalytical method validation (FDA), Руководства по доклиническому исследованию лекарственных средств (I том) А.Н.Миронов, 2012. Процесс валидации биоаналитической методики проведен по основным валидационным характеристикам: селективность, линейность, правильность, прецизионность и предел количественного определения (ПКО).

Забор образцов биоматериала

Животных наркотизировали (хлоралгидрат, 400 мг/кг) и проводили катетеризацию бедренной артерии. Кровь собирали в пробирку типа «Eppendorf» с гепарином, центрифугировали (3000 об/мин, 5 минут). Плазму отбирали, замораживали и хранили при температуре –20°С до последующего ВЭЖХ-анализа.

После забора образцов крови животных подвергали эвтаназии (3М KCl, в/в) и производили забор образцов биоматериала: ЛЖ, печень, почка, селезенка, мозг. Органы помещали в пробирки, маркировали, замораживали и хранили при температуре –20°С до последующего ВЭЖХ-анализа.

Пробоподготовка тканей органов крыс

Перед проведением ВЭЖХ-анализа все образцы биоматериала размораживали, измельчали ножницами, помещали в пробирку и гомогенизировали с помощью механического гомогенизатора КА Ultra-Turrax в дистиллированной воде (1:4), за исключением головного мозга, который гомогенизировали в 95% этаноле (1:4). Критерием

готовности гомогената была возможность его дозирования с помощью дозаторов LABMATE Soft.

Расчет фармакокинетических параметров

С помощью программы «Kinetic 5.0» были получены индивидуальные фармакокинетические кривые зависимости «концентрация – время» для каждой из доз препарата, а также фармакокинетические кривые по средним значениям для каждой из экспериментальных групп. Рассчитывали основные фармакокинетические параметры: AUC_{0-48h} (мкг*ч/мл) – площадь под фармакокинетической кривой «концентрация-время», $T_{1/2}$ (ч) – время, необходимое для снижения концентрации коэнзима Q_{10} в плазме крови на 50%, Cl_t (мл/мин) – скорость очищения плазмы крови от лекарственного вещества.

Моделирование острого инфаркта миокарда

Наркотизированных животных помещали на термостатируемый стол ($t=37^{\circ}C$), проводили катетеризацию левой бедренной вены (P10/P50). Регистрацию ЭКГ в I отведении осуществляли с помощью установки «Macintosh – MacLab» непрерывно в течение всего эксперимента. Животное интубировали, и к интубационной трубке подключали аппарат искусственной вентиляции легких Inspira Advanced Safety Ventilator.

Доступ к сердцу осуществляли путем левосторонней торакотомии с удалением 4-го ребра. Тупым способом рассекали перикард, с помощью атравматической иглы (Proline 6/0, Ethicon, США) проводили окклюзию передней нисходящей ветви левой коронарной артерии. Ишемию верифицировали визуально и при помощи ЭКГ. Ложнооперированным животным («ЛО») проводили аналогичные манипуляции за исключением окклюзии коронарной артерии.

В течение 3-х дней после операции животным ежедневно проводили внутримышечную инъекцию гентамицина в дозе 2мг/кг веса животного (0,2% водный раствор).

Оценка кардиопротекторной эффективности убихинола

На 21 сутки после операции животное подвергали эвтаназии, сердце извлекали, промывали в физиологическом растворе. Отделяли правый желудочек от левого.

ЛЖ замораживали ($-20^{\circ}C$) и разделяли на 6 срезов по оси от верхушки сердца до основания. Срезы толщиной 1,5-2 мм окрашивали 2%-ным раствором 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида (ТТХ) в фосфатном буфере (pH7,4) для визуализации участков некроза. Подсчет зоны повреждения проводили на снимках поперечных срезов сердец при помощи программы ImageJ 1.45s. Оценку степени развития гипертрофии проводили по толщине межжелудочковой перегородки.

Оценка показателей гемодинамики

На 21 сутки после моделирования инфаркта миокарда проводили измерение показателей гемодинамики левого желудочка. Для этого животным через правую общую сонную артерию ретроградно в ЛЖ проводили катетер MillarSPR-838 (Millar Instruments, США) для записи объема и давления в ЛЖ. Регистрацию и обработку данных проводили с помощью программы Chart5 for Windows и PVAN 3.5.

Регистрация давления (P) в левом желудочке и его объема (V) была выполнена в виде PV-диаграмм сердечного цикла, исходя из которых были рассчитаны следующие показатели: конечно-систолический объем (КДО, мкл), конечно-диастолический объем (КДО, мкл), ударный объем (УО, мкл), фракция выброса (ФВ, %), частота сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин), сердечный выброс (СВ, мкл/мин), конечно-систолическое давление (КСД, мм рт.ст./сек), конечно-диастолическое давление (КДД, мм рт.ст./сек), сократимость ЛЖ (dP/dt_{max} , мм рт.ст./сек), релаксация ЛЖ (dP/dt_{min} , мм рт.ст./сек). По каждому параметру для каждого животного был рассчитан средний показатель.

Статистический анализ и представление данных исследований

Статистическую обработку данных, полученных в ходе экспериментов, проводили с помощью программного пакета STATISTICA 8.0.

В третьей главе представлены полученные результаты физико-химических свойств молекул коэнзима Q_{10} , валидации методики количественного определения убихинола в биообразцах, изучения фармакокинетики препарата для внутривенного введения, а также оценка кардиопротекторной эффективности однократного введения препарата.

Изучение физико-химических свойств убихинола

С помощью интернет-ресурсов Millisian 2.1 (<http://www.millsian.com>), ALOGPS 2.1 (<http://www.vcclab.org/lab/alogps>) и PubChemSearch (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/search/>) рассчитаны основные физико-химические характеристики молекул убихинола и убихинона. Для убихинола и убихинона значения $\log P$ (коэффициент липофильности), полученные с помощью ALOGPS 2.1, составляют 9,68 и 9,94 соответственно, что свидетельствует о большей липофильности молекулы убихинона. Рассчитанный показатель логарифма растворимости субстанций в воде в той же программе имеет отрицательные значения -6,57 и -6,65 для убихинола и убихинона, соответственно. Анализ полученных результатов демонстрирует, что 1 г субстанции убихинона растворяется в 10042,68 мл воды (практически нерастворим), в то время как 1 г субстанции убихинола имеет лучшую растворимость и растворяется в 9500,95мл воды (очень мало растворим). С помощью программы Millsian 2.1 был проведен расчет

дипольного момента молекул убихинона и убихинола. Дипольный момент характеризуется смещением электронного облака к одному из атомов. Полученные значения составляют для убихинола 0,936828 Д и для убихинона – 1,34945 Д. Энергия связи в молекуле убихинола выше чем в молекуле убихинона (662,991 vs 661,799 кДж/моль). Легкость перехода в энергетически более стабильную окисленную форму – убихинон обуславливает антиоксидантную активность молекулы убихинола как восстановителя. Полученные данные позволили в дальнейшем интерпретировать особенности фармакокинетики убихинола в сравнении с убихиноном во взаимосвязи с различиями молекулярной структуры.

Серийные образцы 1% раствора убихинола для внутривенного введения по спецификации производителя соответствовали показателям качества: описание, прозрачность, подлинность, наличие механических включений, рН, посторонние примеси, номинальный объем, пирогенность, бактериальные эндотоксины, стерильность, количественное содержание, упаковка, маркировка, хранение (ГФ XIII). Тем не менее, перед началом эксперимента каждый серийный образец контролировали по показателям: прозрачность, цветность, наличие механических включений, рН, подлинность и количественное содержание.

Валидация биоаналитической методики

Для калибровки прибора строили график зависимости площади пика от концентрации убихинола в спирте в диапазоне концентраций 10 нг/мл–100 мкг/мл (рис. 1).

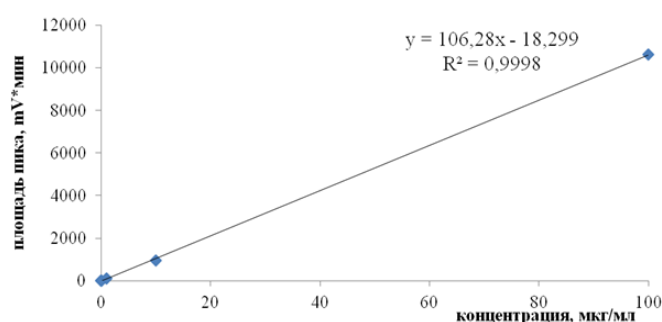


Рисунок 1. Калибровочный график зависимости площади пика от концентрации убихинола, построенный для стандартных спиртовых разведений убихинола.

Время выхода убихинола составляло 7,8 мин. В изучаемом диапазоне концентраций (10–100 мг/мл) наблюдается линейная зависимость, уравнение имеет вид $y = 106,28x - 18,299$ с коэффициентом корреляции $r = 0,9999$. Для оценки пригодности системы рассчитано количество теоретических тарелок – 8434 ($N \geq 2000$), фактор асимметрии пика убихинола – 0,805 ($T \leq 2$). Для оценки селективности использовали 6 образцов холостой плазмы без и с добавлением убихинола в диапазоне концентраций 0,25–50 мкг/мл. На образцах холостой плазмы при добавлении восстановителя – NaBH_4

присутствовал пик, соответствующий эндогенному общему содержанию коэнзима Q₁₀, при добавлении стандартных разведений площадь пика увеличивалась пропорционально содержанию убихинола в образце (рис. 2 аб).

Оценку линейности проводили на 6 образцах холостой плазмы с добавлением стандартных разведений субстанции до получения концентрации убихинола в образцах 0,25; 1; 2,5; 5; 10; 25; 50 мкг/мл.

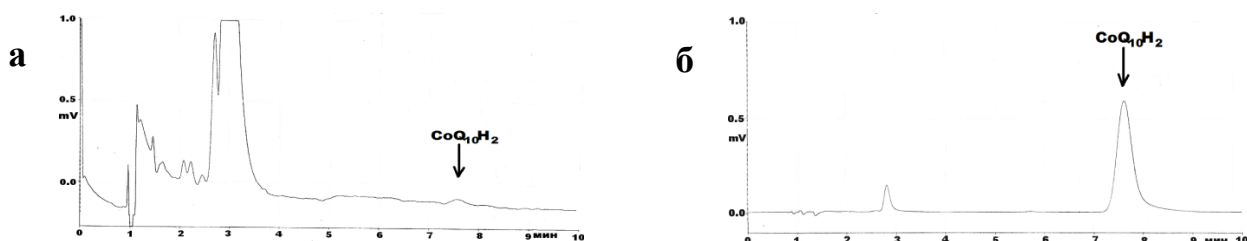


Рисунок 2. Хроматограмма образца холостой плазмы без (а; диапазон 100 нАм) и с добавкой (б; диапазон 1 мкАм) стандартного раствора убихинола (10 мкг в мл плазмы).

По полученным значениям был построен калибровочный график зависимости площади пика от концентрации (рис. 3). Уравнение регрессии $y = 60,537x - 9,843$ имеет коэффициент корреляции $r = 0,9998$. Значение коэффициента корреляции более 0,995 свидетельствует о том, что диапазон от 0,25–50 мкг/мл является аналитическим диапазоном данной методики.

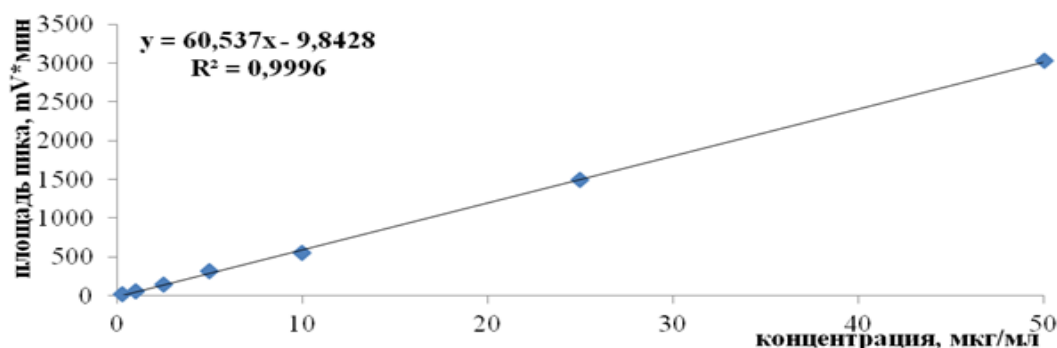


Рисунок 3. Калибровочный график зависимости площади пика убихинола от его концентрации в плазме крови крыс.

Отклонения концентраций калибровочных растворов, рассчитанных по уравнению линейной зависимости, от фактических значений приведены в таблице 1.

Таблица 1. Отклонения рассчитанных концентраций калибровочных растворов ($C_{рас}$) от фактических значений ($C_{фак.}$)

$C_{фак.}$, МКГ/МЛ	0,25	1	2,5	5	10	25	50
$C_{рас}$, МКГ/МЛ	0,24	0,93	2,30	5,29	9,18	24,66	50,01
% отклонения	2,87	7,16	7,82	5,96	8,24	1,35	0,02
Норма	$\leq 20\%$		$\leq 15\%$				

Правильность и прецизионность оценена на 3-х образцах чистой плазмы с добавлением стандартных растворов убихинола до получения концентрации в плазме

0,25; 1; 2,5; 5; 10; 25; 50 мкг/мл. Каждый полученный раствор анализировали трижды; исследование было проведено в течение одного дня (intra-day). Для полученных площадей пиков были рассчитаны величины стандартного отклонения (SD) и относительного стандартного отклонения (RSD), приведенные в таблице 2.

Таблица 2. Значения правильности и прецизионности методики (intra-day)

№ образца	Площадь пика, мV*мин			Среднее значение	SD	RSD, %
0,25	14,85	14,10	15,15	14,7	0,54	3,68
1	55,35	57,15	56,1	56,20	0,90	1,61
2,5	138,60	138,6	141,3	139,5	1,56	1,12
5	321,00	327,75	311,25	320,00	8,30	2,59
10	582,00	535,5	549,0	555,50	23,92	4,31
25	1557	1392	1530	1493	88,5	5,92
50	3090	2977,5	3015	3028	57,3	1,89

За ПКО была принята минимальная концентрация убихинола в плазме, для которой возможно определение препарата со значением относительного стандартного отклонения не более 20% (табл. 1) в диапазоне линейной зависимости. ПКО данной методики составил 0,25 мкг/мл.

Полученные валидационные характеристики соответствуют требованиям FDA и ЕМА, предъявляемым к биоаналитической методике, и свидетельствуют о ее пригодности для количественного анализа убихинола в образцах плазмы крови.

Для подтверждения пригодности использования данной биоаналитической методики для определения коэнзима Q₁₀ в органах использовали валидацию по следующим показателям: селективность, линейность и ПКО. Для оценки селективности и линейности использовали 6 образцов бланк-матрицы печени крыс без и с добавлением стандартных растворов убихинола в диапазоне концентрации 2,5–250 мкг/г.

В образцах с добавлением стандартных растворов площадь пика убихинола увеличивалась пропорционально концентрации стандартного разведения, дополнительных пиков на хроматограммах не наблюдалось (рис.4 аб).

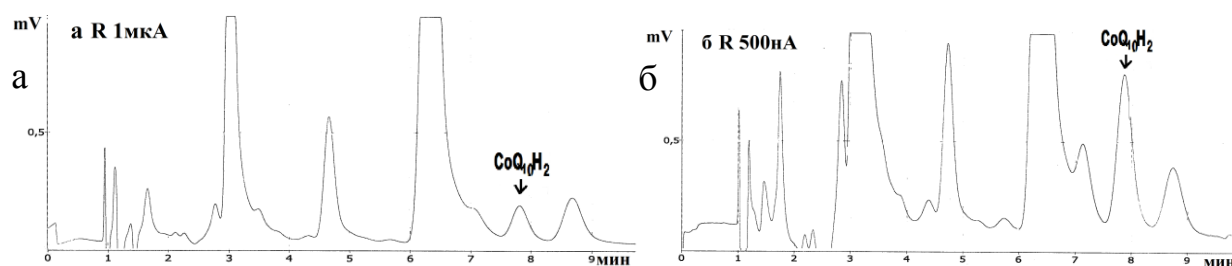


Рисунок 4. Хроматограмма образца холостой бланк-матрицы гомогената печени без (рис. 4а) и после восстановления NaBH₄ (рис. 4б).

По полученным результатам построен график зависимости площади пика от концентрации убихинола в образце плазмы (рис. 5).

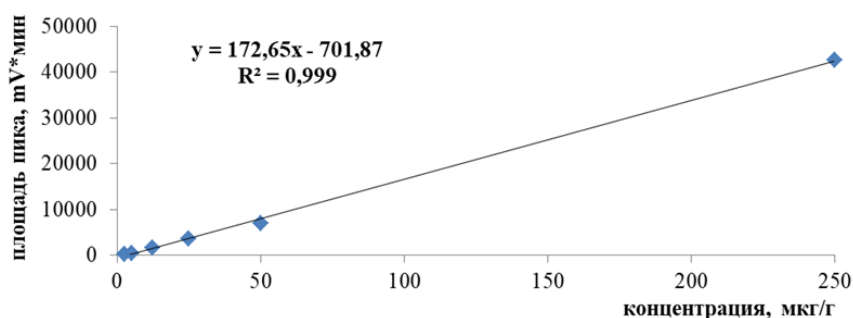


Рисунок 5. Калибровочный график зависимости площади пика убихинола от его концентрации в образцах бланк-матрицы печени.

Уравнение регрессии $y = 172,65x - 701,87$ имеет коэффициент корреляции $r = 0,9995 (>0,995)$, что позволяет использовать разработанную методику для анализа образцов внутренних органов на содержание коэнзима Q_{10} . За ПКО принята минимальная концентрация убихинола, которая использовалась в ходе данного эксперимента – 2,5 мкг/г печени. Разработанная и валидированная методика оценки содержания коэнзима Q_{10} была использована для определения содержания аналита в образцах тканей и органов в дальнейших экспериментах.

Фармакокинетика препарата убихинола при однократном внутривенном введении в 3-х различных дозах (5, 10 и 20 мг/кг)

С помощью ВЭЖХ-анализа проводили оценку содержания убихинола и общего пула коэнзима Q_{10} в образцах плазмы животного по 10 временным точкам (до и через 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 24; 32; 48 часов). На основании полученных результатов построены кинетические кривые зависимости «концентрация $TCoQ_{10}$ – время» и « \ln концентрации $TCoQ_{10}$ – время» (рис. 6).

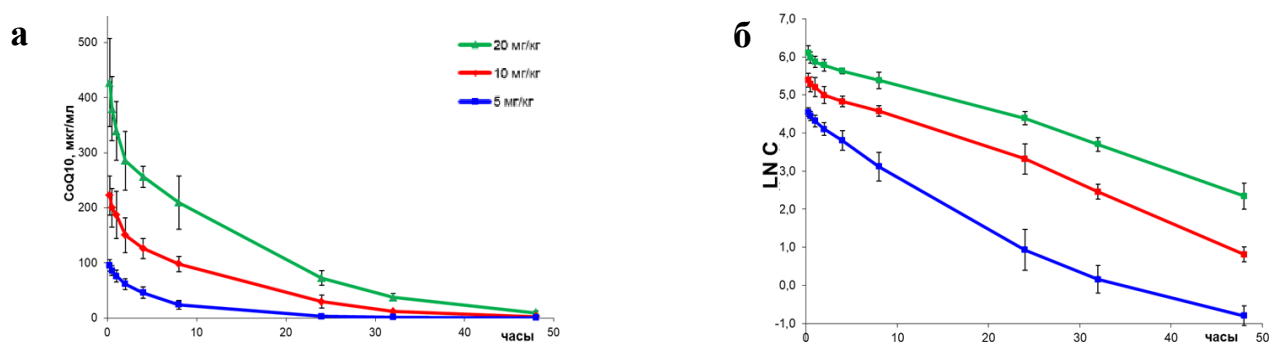


Рисунок 6. Фармакокинетические кривые общего пула CoQ_{10} в плазме крови крыс после внутривенного введения препарата $CoQ_{10}H_2$ в трех дозах (5 мг/кг, 10 мг/кг, 20 мг/кг): а – в координатах «концентрация $TCoQ_{10}$ – время», б – в координатах « \ln концентрации $TCoQ_{10}$ – время».

Результаты, представленные в полулогарифмической шкале, и расчеты программы «Kinetics 5.0» свидетельствуют о биэкспоненциальном характере кривых (табл. 3).

Короткая фаза соответствует распределению препарата в сильно васкуляризированные органы, вторая фаза, продолжительная, связана с дальнейшим распределением препарата по органам и тканям.

Таблица 3. Уравнения, описывающие фармакокинетические кривые убихинола в дозах 5, 10 и 20 мг/кг

Доза	Уравнение
5 мг/кг	$C_t = 41,81e^{-0,3185t} + 54,58e^{-0,1564t}$
10 мг/кг	$C_t = 120,15e^{-0,2263t} + 102,57e^{-1,8269t}$
20 мг/кг	$C_t = 338,74e^{-0,9690t} + 1134,99e^{-5,4195t}$

По полученным результатам с помощью программы «Kinetics 5.0» рассчитаны основные фармакокинетические параметры: AUC, C_t , $T_{1/2}$ (табл. 4).

Таблица 4. Фармакокинетические параметры убихинола после внутривенного введения в 3-х различных дозах

Параметры Доза	AUC _{0→48ч.} (мг*ч/мл)	C_t (мл/ч)	$T_{1/2}$ (ч)
5 мг/кг	0,642±0,061	2,91±0,32	8,60±1,45
10 мг/кг	2,498±0,115[#]	1,54±0,09[#]	7,81±0,15
20 мг/кг	5,835±0,287[#]	1,29±0,05^{#&}	9,05±0,80^{&}

– $p < 0.01$, отличие от дозы 5 мг/кг;

* – $p < 0.01$, & - $p < 0.05$, отличие от дозы 10 мг/кг.

Показатели $T_{1/2}$ для каждой дозы находятся в диапазоне 7,81–9,05 ч, что соответствует литературным данным [Bhagavan H.N. и др., 2011]. С увеличением дозы препарата уменьшается значение клиренса и увеличивается $T_{1/2}$, что может свидетельствовать о насыщаемом механизме экскреции вещества. Различия в фармакокинетических параметрах (C_t и $T_{1/2}$) для разных доз свидетельствуют о нелинейной фармакокинетике препарата. Также изучали зависимость площади под кинетической кривой (AUC) от дозы препарата (рис. 7).

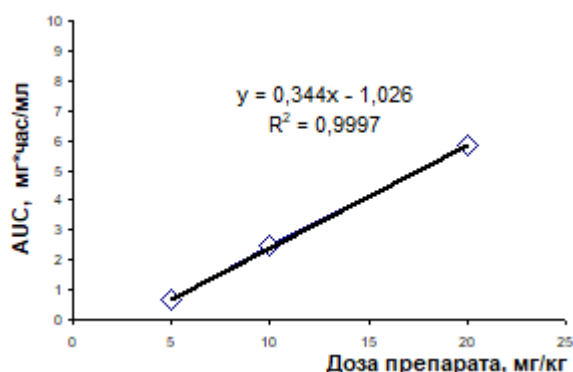


Рисунок 7. Зависимости между площадью под кинетической кривой (AUC) и дозой препарата.

Уравнение регрессии вида $y = 0,344x - 1,026$ и коэффициент корреляции $r = 0,9998$ позволяют предположить линейность фармакокинетики убихинола ($p \leq 0,01$). Для

дополнительной проверки гипотезы линейности фармакокинетики проводили нормирование кривых зависимости «концентрация TCoQ₁₀ – время» относительно дозы препарата. Нормирование проводили делением концентрации вещества в каждой временной точке в дозе 20 г на 2 и 4; по полученным результатам были построены нормированные кривые для доз 10 и 5 мг/кг соответственно (рис. 8).

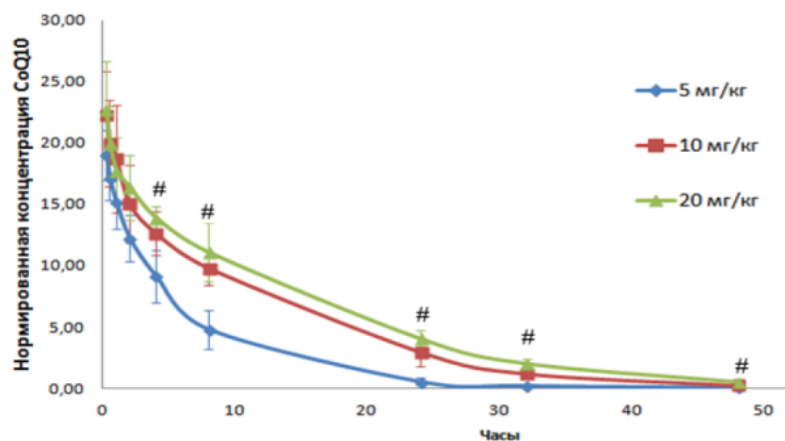


Рисунок 8. Нормированные фармакокинетические кривые препарата убихинола для доз 5, 10 и 20 мг/кг.

– достоверность различий между тремя группами ($p \leq 0,01$), (критерий Краскела-Уоллиса)

Сравнение фактической и нормированной кривых для дозы 5 мг/кг показывает, что кривые, совпадая на начальных участках, через час после внутривенного введения препарата значительно расходятся. Для дозы 10 мг/кг расхождение фактической и нормированной кривой имеет значимые различия ($p < 0,001$) в двух временных точках: 32 и 48 часов. Таким образом, можно сделать вывод о нелинейной фармакокинетике препарата в изучаемом диапазоне доз.

Распределение CoQ₁₀ по органам крысы после внутривенного введения препарата убихинола в дозе 10 мг/кг

Распределение препарата убихинола по органам крысы представлено на рисунке 9.

Полученные результаты демонстрируют, что внутривенное введение препарата повышает тканевые уровни коэнзима Q₁₀ в органах-мишенях: ЛЖ и мозге, а также в печени, почках и селезенке; повышенное содержание TCoQ₁₀ сохраняется на протяжении не менее 32 часов.

Проведено изучение соотношения окисленной и восстановленной формы коэнзима Q₁₀ в органах и плазме (рис. 10) в различные временные интервалы после введения препарата, что является биомаркером выраженности окислительного стресса, с одной стороны, и показателем сохранности препарата, с другой. Препарат на основе восстановленной формы коэнзима Q₁₀ после внутривенного введения частично окисляется в плазме и тканях органов.

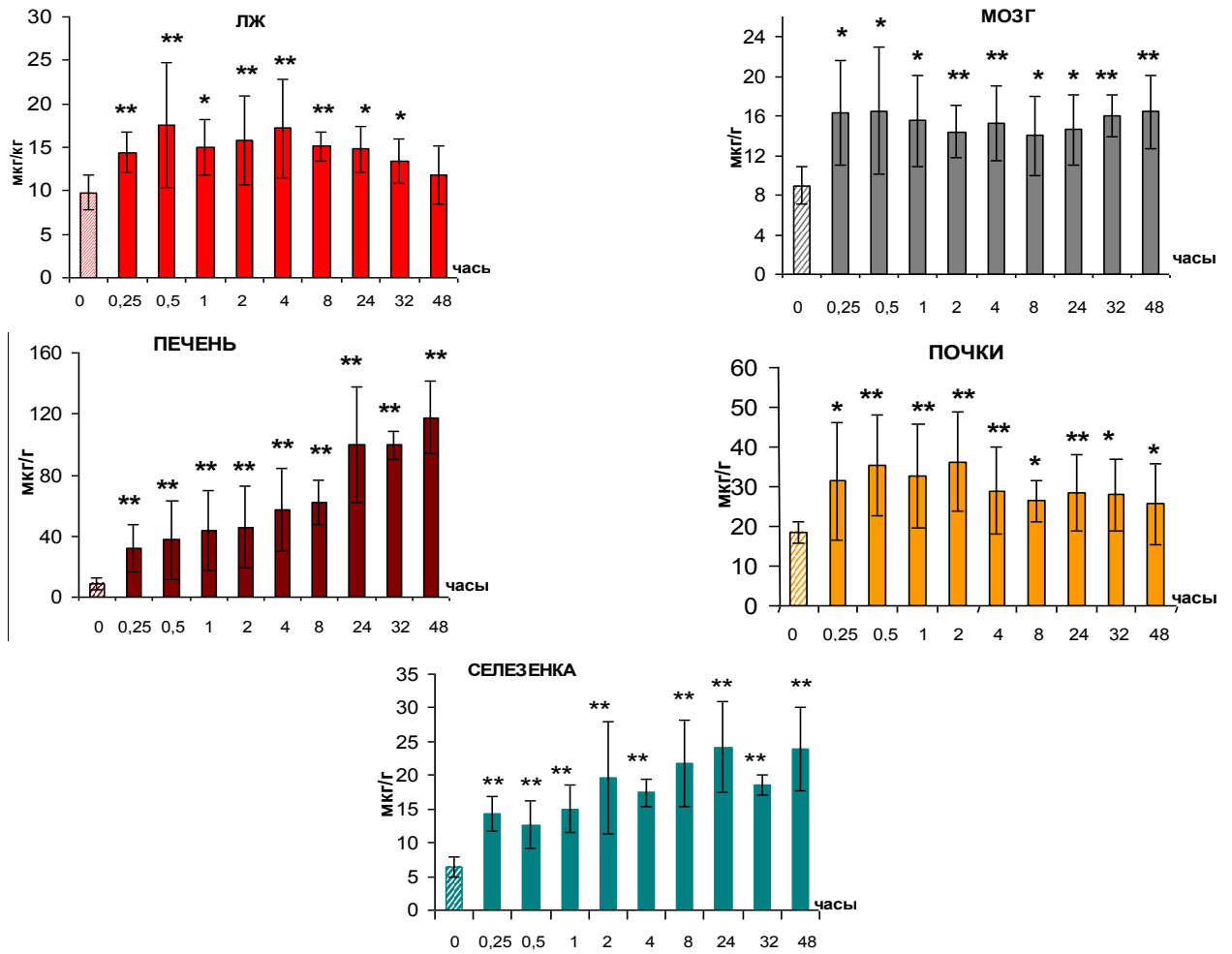


Рисунок 9. Распределение убихинола по органам крысы.

* – $p < 0,05$ vs точки 0; ** – $p < 0,01$ vs точки 0

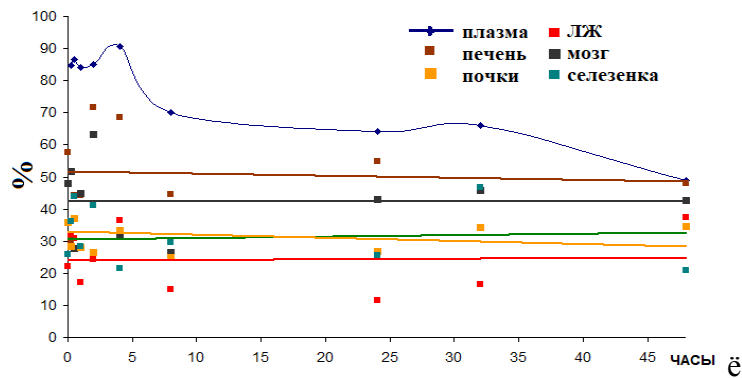


Рисунок 10. Доля убихинола в содержании TCoQ₁₀ (%) в плазме и различных органах после внутривенного введения препарата убихинола в дозе 10 мг/кг (для органов приведены линии тренда).

В отличие от плазмы, для каждого органа доля восстановленной формы поддерживалась относительно неизменной на протяжении всего периода наблюдения. В плазме крови препарат наиболее сохранен, т.к. доля убихинола в TCoQ₁₀ максимальна среди изученных тканей: среднее значение за период наблюдения составило 79%.

Полученные данные соответствуют литературным: по содержанию восстановленной формы в общем пуле коэнзима Q₁₀ лидирует плазма крови; соотношение убихинол/убихинон индивидуально для каждой ткани организма.

Представленные результаты позволяют заключить, что препарат на основе убихинола, являющегося аналогом эндогенного коэнзима Q₁₀, в каждом органе и ткани включается в характерное для них окислительно-восстановительное равновесие.

Количественное определение убихинола в моче и фекалиях крыс после однократного внутривенного введения препарата в дозе 10 мг/кг

Проведен количественный анализ коэнзима Q₁₀ после однократного внутривенного введения препарата в образцах мочи и фекалий, собранных через 0-2 ч, 2-4 ч, 4-8 ч, 8-10 ч, 8-24 ч, 24-32 ч, 32-48 ч. Результаты анализа приведены в таблицах 5-6.

Таблица 5. Данные количественного определения CoQ₁₀H₂ в образцах мочи, собранных через различные временные интервалы после в/в введения препарата в дозе 10 мг/кг

Время Ч	Масса образца мкг/мл	CoQ₁₀H₂ по данным детектора*, мВ
0-2	0,43 ± 0,25	57,0 ± 35,51
2-4	0,87 ± 0,98	150,3 ± 61,21
4-8	1,47 ± 2,91	57,0 ± 43,97
8-24	1,43 ± 1,06	19,0 ± 26,87
24-32	2,87 ± 0,64	32,5 ± 14,85
32-48	2,43 ± 3,14	10,0 ± 17,32

* – Среднее значение для каждого животного

Представленные в таблице 5 показания детектора для всех образцов мочи оказались меньше соответствующих нижнему ПКО препарата, что позволило сделать заключение о незначительной роли почек в экскреции препарата в неизменном виде.

Таблица 6. Уровни CoQ₁₀ в фекалиях, собранных через различные временные интервалы после в/в введения препарата в дозе 10 мг/кг

Время, (ч)	CoQ₁₀H₂ (мкг/г)	CoQ₁₀ (общее содержание, мкг/г)	Масса образца (г)	TCoQ₁₀ (выведено за временной интервал, мкг)
0-2	42,52 ± 39,12	85,5 ± 13,53	1,55 ± 1,22	142,8 ± 131,53
2-4	18,76 ± 4,73	75,16 ± 34,27	0,87 ± 0,26	65,46 ± 41,25
4-8	37,11 ± 27,15	95,12 ± 48,96	1,25 ± 0,56	124,64 ± 99,41
8-24	44,01 ± 40,81	183,8 ± 47,19	1,49 ± 0,31	280,95 ± 127,71
24-32	43,11 ± 10,46	80,27 ± 14,03	2,36 ± 1,65	177,68 ± 99,32
32-48	18,22 ± 6,38	139,07 ± 56,37	1,47 ± 1,1	174,06 ± 69,56

Как следует из результатов таблицы, выведенные количества препарата в различные временные интервалы не различаются, а продолжительность интервалов возрастает. Следовательно, наиболее интенсивное выведение препарата происходит в первые 8 часов (333 мкг). Общее количество выведенного с фекалиями CoQ₁₀ за 48 часов

(966 мкг) составило около четверти (24%) от введенной дозы (4 мг убихинола при средней массе крыс 400 г).

Фармакокинетика препарата убихинола при трехкратном внутривенном введении в 2 - х дозах (5 и 10 мг/кг)

Забор образцов крови проводили до и через 0,25; 0,5; 1; 2; 4; 8; 24; 32 и 48 часов после третьего введения препарата. На основании полученных данных в программе «Kinetica5.0» были построены индивидуальные кинетические кривые зависимости «концентрация ТСоQ₁₀-время» и «ln концентрации ТСоQ₁₀-время» для каждой дозы (рис. 11).

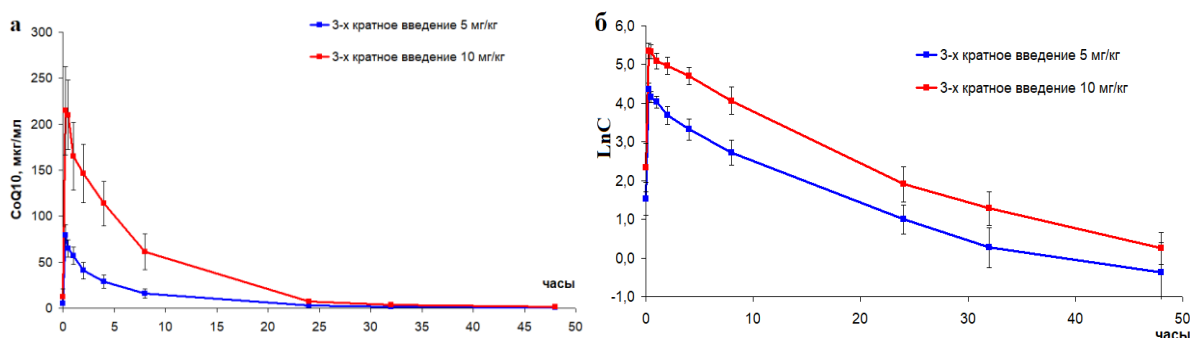


Рисунок 11. Кинетические кривые ТСоQ₁₀ в плазме крови крыс после 3-х кратного внутривенного введения препарата убихинола в дозе 5 мг/кг и 10 мг/кг в абсолютных (а) и полулогарифмических (б) координатах.

Для каждой дозы препарата произведен расчет фармакокинетических показателей (табл. 7).

Таблица 7. Фармакокинетические параметры препарата убихинола после его 3-х кратного введения в дозах 5 мг/кг и 10 мг/кг

Параметры Доза	AUC _{0→48ч.} (мг*ч/мл)	C _{1T} (мл/ч)	T _{1/2} (ч)
5 мг/кг	0,483± 0,08	4,09±0,76	16,00±8,40
10 мг/кг	1,618±0,412 [#]	2,45±0,79 [#]	10,33±1,55

[#] – p<0.01, отличие от дозы 5 мг/кг

Данные таблицы 7 демонстрируют значимые различия параметров общего клиренса, рассчитанных для двух доз. Это еще раз подтверждает нелинейность фармакокинетики препарата убихинола, выявленную в предыдущем исследовании. Многократное введение относительно однократного (табл. 4) приводит к увеличению клиренса и T_{1/2} (табл. 7), что при ограниченной скорости экскреции может быть обусловлено более интенсивным распределением препарата в ткани.

Кардиопротекторная эффективность препарата убихинола в инновационной лекарственной форме для внутривенного введения

В ходе данного исследования была оценена кардиопротекторная эффективность препарата убихинола для внутривенного введения. Эксперимент проведен на 30 крысах-самцах Wistar. В первые часы после операции погибло 7 животных («ИМ», n=4 и «ИМ+CoQ₁₀H₂», n=3). Данные по смертности в течение первых суток не учитывали, так как причиной может являться острый инфаркт миокарда и процессы раннего ремоделирования.

Внутривенное введение препарата убихинола после окклюзии значительно ограничило размер зоны повреждения ЛЖ. Через 21 сутки после окклюзии в бассейне передней нисходящей ветви левой коронарной артерии наблюдалось формирование аневризмы, замещающей часть передней стенки ЛЖ, и формирование постинфарктных рубцов, расположенных в толще стенки ЛЖ (рис. 12).

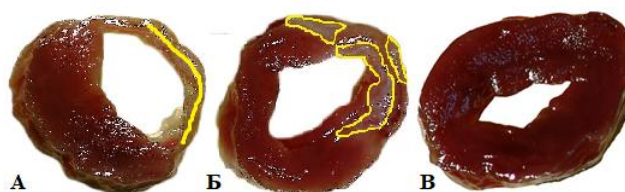


Рисунок 12. Поперечные срезы ЛЖ после окраски ТТХ на 21 сутки после окклюзии коронарной артерии. а - сформированная соединительнотканная аневризма ЛЖ; б – инфарктный рубец в толще миокарда; в – срез ЛЖ ложнооперированного животного.

В группе «ИМ» размер некроза и аневризмы составлял 14,26% и 31,55%, в группе животных «ИМ+CoQ₁₀H₂» – 12,8% и 13,19%, соответственно (p<0,05, табл. 8).

Таблица 8. Средние значения размера зоны повреждения ЛЖ в каждой из групп животных

Группа	«ИМ»,n=6	«ИМ+CoQ ₁₀ H ₂ »,n=8	«ЛО»,n=9
аневризма, %	31,55 ± 17,9	13,19 ± 7,13 #	-
некроз, %	14,26 ± 9,5	12,80 ± 6,9	-

– p<0,05 vs «ИМ»

Окклюзия коронарных артерий приводила к развитию левожелудочковой сердечной недостаточности: снижались фракция выброса на 38%, ударный объем на 27%, сердечный выброс на 30%, конечно-систолическое давление на 20% и повышались конечно-систолический объем на 44% и конечно-диастолический объем на 23% относительно группы животных «ЛО» (с достоверностью p<0,05 для всех показателей).

Внутривенное введение препарата убихинола в дозе 10 мг/кг ограничивало размер постинфарктной гипертрофии миокарда. Толщина межжелудочковой перегородки в группе «ИМ+CoQ₁₀H₂» была существенно ниже (2,61 ± 0,03 мм, p<0,05), чем в группе «ИМ» (2,83 ± 0,27 мм) и статистически не отличалась от группы «ЛО» (2,51 ± 0,29 мм).

Только в группе «ИМ+CoQ₁₀H₂» наблюдается зависимость между концентрацией CoQ₁₀ в ЛЖ и степенью гипертрофии миокарда ЛЖ, $r = -0,8398$ (рис.13), что отражает способность CoQ₁₀ влиять на степень постинфарктного ремоделирования сердечной мышцы.

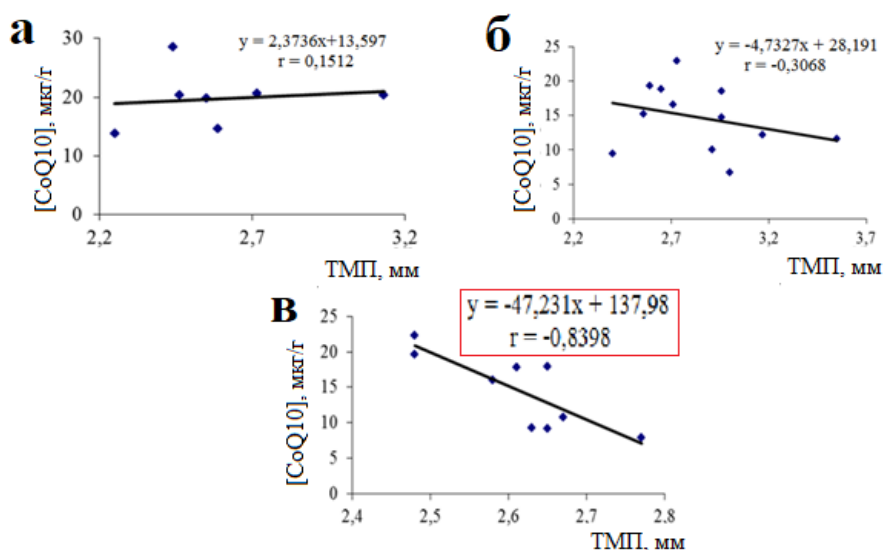


Рисунок 13. Соотношение уровня CoQ₁₀ в миокарде ЛЖ и толщины межжелудочковой перегородки (ТМП) на 21 сутки. Корреляционная зависимость выявлена только в группе «ИМ+CoQ₁₀H₂».

Внутривенное введение препарата привело к предотвращению снижения сердечного выброса и ударного объема, ограничению снижения фракция выброса (лишь на 11%), конечно-систолического давления (лишь на 17%), а также меньшему повышению конечно-систолического (на 20%) и конечно-диастолического (на 16%) объема (рис. 14).

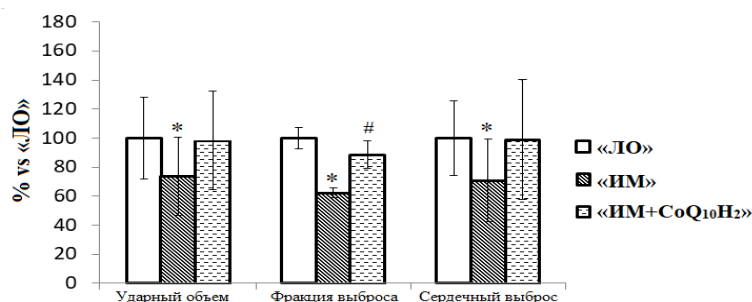


Рисунок 14. Функциональные показатели левожелудочковой гемодинамики в каждой группе животных относительно группы «ЛО» – 100%.

* – $p < 0.05$ vs «ЛО», # – $p < 0.05$ vs «ИМ».

Таким образом, однократное внутривенное введение препарата убихинола в дозе 10 мг/кг в первые минуты после возникновения ишемии миокарда у крыс ограничивает зону повреждения миокарда, предотвращает развитие гипертрофии ЛЖ, ограничивает развитие систолической и диастолической дисфункции миокарда, что свидетельствует о кардиопротекторной эффективности препарата.

ВЫВОДЫ

1. Проведен сравнительный анализ *in silico* (Millisian 2.1, ALOGPS 2.1 и PubChemSearch) физико-химических характеристик окисленной и восстановленной формы коэнзима Q₁₀. Показаны различия в коэффициентах распределения, растворимости и дипольном моменте молекул. Более низкие значения logP и K_s обосновывают отличия фармакокинетических параметров убихинола от убихинона.
2. Разработанная биоаналитическая методика количественного определения убихинола в плазме крови и печени крысы соответствует требованиям FDA и EMA по линейности, селективности, правильности, прецизионности и пределу количественного определения.
3. Фармакокинетика препарата убихинола при однократном внутривенном введении в дозах 5, 10 и 20 мг/кг описывается двухчастевой моделью распределения и носит нелинейный характер. При увеличении дозы препарата непропорционально увеличивается AUC_{0-48h} и снижается Cl_t, что может являться результатом насыщения механизмов экскреции препарата.
4. Препарат убихинола уже через 15 минут после внутривенного введения повышает тканевые уровни коэнзима Q₁₀ в миокарде ЛЖ, головном мозге, печени, почках и селезенке, которые сохраняются не менее 32 часов.
5. Преобладающим путем экскреции препарата убихинола в неизменном виде является его экскреция в желчь; роль почек незначительна.
6. Многократное внутривенное введение препарата убихинола в дозах 5 и 10 мг/кг относительно однократного приводит к возрастанию клиренса, увеличению времени полувыведения и уменьшению площади под фармакокинетической кривой, что может быть обусловлено более интенсивным поступлением убихинола в ткани органов.
7. Препарат убихинола обладает кардиопротекторным действием: при внутривенном введении в дозе 10 мг/кг в первые минуты после начала необратимой ишемии миокарда у крыс приводит на 21 сутки к ограничению зоны постинфарктных повреждений (13,19±7,13% vs 31,55±17,9%, p<0,05), предотвращению развития гипертрофии ЛЖ (ТМП 2,61±0,03мм vs 2,83±0,27мм, p<0,05) и сохранению насосной функции сердца (EF 11% vs 38%, p<0,05).

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Полученные результаты необходимы для формирования экспертного досье по оценке доклинических испытаний для перехода к изучению препарата на стадии клинических испытаний.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**Статьи в изданиях, рекомендуемых ВАК и Министерством образования и науки РФ**

1. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Оболенская О.Н., Куляк О.Ю., Артемьева М.М., Медведев О.С. Убихинол как терапевтическое средство: результаты экспериментальных и клинических исследований // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2017 – Т. 80 – № 11 – С. 39–42
2. Каленикова Е.И., Городецкая Е.А., Куляк О.Ю., Козаева Л.П., Макаров В.Г., Пожарицкая О.Н., Шиков Н.А., Медведев О.С. Доклиническое изучение фармакокинетики инновационной лекарственной формы убихинола для внутривенного введения // Химико-фармацевтический журнал. – 2017 – Т. 51 – № 11 – С. 3–7
Kalenikova E.I., Gorodetskaya E.A., Kulyak O.Yu, Kozayeva L.P., Makarov V.G., Pozharitskaya O.N., Shikov A.N., Medvedev O.S. Preclinical study of the pharmacokinetics of a new intravenous dosage form of ubiquinol // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2018 – Т. 51 – № 11 – С. 949–953
3. Куляк О.Ю., Городецкая Е.А., Макаров В.Г., Каленикова Е.И., Медведев О.С. Валидация методики количественного определения убихинола в плазме крови крыс с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с электрохимическим детектированием // Технологии живых систем. – 2017 – № 5 – С. 51–56
4. Куляк О.Ю., Городецкая Е.А., Каленикова Е.И., Макарова М.Н., Пожарицкая О.Н., Медведев О.С. Оценка кардиопротекторной эффективности инновационной лекарственной формы убихинола для внутривенного введения // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2018 – Т. 81 – № 4 – С. 8–11
5. Куляк О.Ю., Городецкая Е.А., Артемьева М.М., Каленикова Е.И., Медведев О.С. Ограничение развития систолической и диастолической дисфункции в результате однократного внутривенного введения нового препарата «убихинол» у крыс с инфарктом миокарда // Технологии живых систем. – 2018 – № 4 – С. 50–56

Работы, опубликованные в других изданиях

1. Куляк О.Ю., Процун Г.В. Фармакокинетика убихинола в инновационной лекарственной форме // Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов–2016». – Фундаментальная медицина. – МГУ Москва, 2016
2. Medvedev O., Kulyak O., Gorodetskaya E., Makarov V., Kalenikova E. Pharmacokinetics of ubiquinol, administered intravenously // European Journal of Heart Failure Supplements. – 2017 – Vol. 19 – № 5 – P. 340
3. Medvedev O., Kulyak O., Gorodetskaya E., Makarov V., Kalenikova E. Ubiquinol intravenous injection protects the miocardium from ischemic damage // European Journal of Heart Failure Supplements. – 2018 – Vol. 20 – № Suppl. S1 – P. 515–516
4. Kuliak O., Gorodetskaya E.A., Kalenikova E.I., Medvedev O.S. Ubiquinol innovative form provides cardioprotection by a single intravenous injection / O. Kuliak, E. A. Gorodetskaya, E. I. Kalenikova, O. S. Medvedev // Journal of Hypertension. — 2018. — Vol. 36. — P. e254.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

TCoQ ₁₀	Общее содержание коэнзима Q ₁₀
CoQ ₁₀	Убихинон
CoQ ₁₀ H ₂	Убихинол
ВЭЖХ-ЭХ	Высокоэффективная жидкостная хроматография с электрохимическим детектированием
ЛЖ	Левый желудочек
LV _{ind}	Индекс массы левого желудочка
RV _{ind}	Индекс массы правого желудочка
ТЦПЭ	Транспортная цепь переноса электронов
AUC	Площадь под кинетической кривой
T _{1/2}	Время полувыведения
Cl _T	Общий клиренс

Куляк Олеся Юрьевна

**ДОКЛИНИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ
ИННОВАЦИОННОГО ПРЕПАРАТА КОЭНЗИМА Q₁₀**

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

14.04.02 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат

диссертации на соискание учёной степени

кандидата фармацевтических наук