

На правах рукописи

Харитоновна Екатерина Викторовна

БИОФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ И ФАРМАКОКИНЕТИКА УБИДЕКАРЕНОНА

14.03.06 Фармакология, клиническая фармакология

14.04.02 Фармацевтическая химия, фармакогнозия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата фармацевтических наук

Волгоград – 2015

Работа выполнена на факультете фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова

Научные руководители:

Доктор медицинских наук, профессор
Доктор фармацевтических наук, доцент

Медведев Олег Стефанович
Каленикова Елена Игоревна

Официальные оппоненты:

Доктор фармацевтических наук, профессор,
заведующая кафедрой фармацевтической
и токсикологической химии ГБОУ ВПО
«Первый МГМУ им. И.М. Сеченова» МЗ РФ

Раменская Галина Владиславовна

Доктор медицинских наук, профессор кафедры
клинической фармакологии и интенсивной терапии
с курсами клинической фармакологии ФУВ,
клинической аллергологии ФУВ
ГБОУ ВПО «ВолгГМУ» МЗ РФ

Магницкая Ольга Валерьевна

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО «Российский университет дружбы народов»

Защита состоится «___» марта 2015 г. в _____ часов на заседании Диссертационного Совета Д 208.008.02 при ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Минздрава России (400131, Россия, г. Волгоград, пл. Павших борцов 1).

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

Автореферат разослан «___» февраля 2015 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета,
Доктор биологических наук

Любовь Ивановна Бугаева

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

В последние годы в лечении различных патологических состояний большое значение придается вопросам коррекции метаболической дисфункции как основного патогенетического звена многих заболеваний. В связи с этим важен поиск лекарственных средств, влияющих на обмен веществ с минимальными побочными эффектами. К таким лекарственным веществам можно отнести убидекаренон.

В середине 1960-х в Японии отмечен первый удачный опыт применения убидекаренона в лечении хронической сердечной недостаточности. С тех пор, и особенно в последнее десятилетие, с каждым годом возрастает количество разделов медицины, в которых убидекаренон в дополнение к стандартной терапии улучшает как клинические, так и субъективные показатели самочувствия больных. Убидекаренон применяется при хронической сердечной недостаточности [Ланкин В.З., 2013, Kuimov A.D., 2013], артериальной гипертензии [Сизова Ж.М., 2010], нейродегенеративных [Li H., Klein G., Sun P. et al, 2000], онкологических заболеваниях [Hertz N., Lister R.E., 2009], синдроме приобретенного иммунодефицита [Folkers K., Langsjoen P., Nara Y. et al, 1988], мышечной дистрофии [Horvath R., Schneiderat P., Schoser B.G. et al, 2006], исследуется его влияние на репродуктивную функцию [Staicu M.L., Muresan A., Tache S. et al, 2011], пародонтоз [Prakash S., Sunitha J., Hans M., 2010] и др.

Коэнзим Q₁₀ синтезируется самим организмом, а также, подобно витаминам, поступает с пищей. В продуктах содержится в небольших количествах, а собственный синтез начинает снижаться после 25 лет и нарушается при заболеваниях. Убидекаренон как фармацевтический продукт выпускается в основном в виде биологически активных добавок к пище (БАД). Содержащие убидекаренон БАД и единичные лекарственные препараты предназначены для приема внутрь, биодоступность при котором крайне мала (2-4%) [Zhang Y., Aberg F., Appelkvist E.L. et al, 1995].

В последнее время множатся доказательства высокой эффективности убидекаренона в ургентной терапии сердечно-сосудистых заболеваний [Иванов А.В., 2014, Ivanov A., Tokareva O., Gorodetskaya E. et al, 2014, Okamoto F., Allen B.S., Buckberg G.D. et al, 1986, Verma D.D., Hartner W.C., Thakkar V. et al, 2007]. Очевидно, что в острых патологических ситуациях необходимо применять лекарственные формы, гарантирующие его экстренную доставку в ткани. Быстрое повышение и длительное поддержание высоких уровней убидекаренона в плазме крови и органах могут обеспечить только парентеральные пути введения. Солюбилизованная форма убидекаренона в препарате Кудесан[®] капли для приема внутрь 3% (далее по тексту Кудесан) позволяет в эксперименте вводить его не только внутрь, но и

внутримышечно и внутривенно. В то же время, его фармакокинетика и распределение по органам при парентеральном введении практически не изучены.

Расширение спектра показаний к применению убидекаренона как терапевтического агента, неуклонный рост количества фармацевтических продуктов в различных лекарственных формах на основе его субстанций определяют актуальность совершенствования аналитических подходов как к оценке их качества, так и к определению в биоматериале для изучения фармакокинетики новых препаратов.

Степень разработанности

С каждым годом увеличивается количество фармацевтических композиций, содержащих различные формы убидекаренона – окисленную, восстановленную. В связи с этим повышается актуальность аналитического обеспечения контроля качества БАД и лекарственных средств на его основе, изучения их фармакокинетики и процесса разработки новых фармацевтических композиций.

Все существующие на сегодня лекарственные формы убидекаренона предназначены для приема внутрь, который характеризуется низкой биодоступностью, что ограничивает показания к применению целями профилактики либо использованием в составе комплексной терапии. Расширения показаний к применению убидекаренона можно добиться с увеличением его биодоступности, используя при этом парентеральные пути введения.

Все вышесказанное определило цели и задачи данного исследования.

Цель исследования – разработать новые аналитические и методические подходы для совершенствования фармацевтического и биофармацевтического анализа убидекаренона, а также изучить его фармакокинетику в различных лекарственных формах и при различных путях введения.

Задачи исследования:

1. Разработать методики определения CoQ_{10} в окисленной и восстановленной формах, в субстанции и биоматериале методом ВЭЖХ-СФ.
2. Сравнить анализ убидекаренона в субстанции, плазме крови крысы и человека методами ВЭЖХ-СФ и ВЭЖХ-ЭХ.
3. Определить оптимальные режимы гомогенизации биоматериала с помощью ультразвукового гомогенизатора SONOPLUS mini20 «BANDELIN electronic» для стандартизации процессов пробоподготовки.
4. Провести фармакокинетические исследования с помощью разработанных методик ВЭЖХ (Фармакокинетические исследования лекарственных форм, содержащих убидекаренон, при приеме внутрь, внутримышечно и внутривенно с использованием методики ВЭЖХ).
5. Определить CoQ_{10} методом ВЭЖХ в клинических исследованиях:

- определить содержания CoQ₁₀ в плазме крови и соскобах эндометрия пациенток с бесплодием различного генеза;
- определить содержания CoQ₁₀ в плазме крови пациентов с хронической сердечной недостаточностью II-III классов до и после 6-ти месяцев ежедневного приема препарата Кудесан и сопоставить со значениями фракции выброса левого желудочка, толерантностью к физической нагрузке.

Научная новизна

Разработаны методики определения убидекаренона в окисленной и восстановленной формах на основе ВЭЖХ-СФ и в сочетании с ВЭЖХ-ЭХ для его анализа в фармацевтических субстанциях, фармацевтических продуктах и биологических образцах. Впервые определено содержание CoQ₁₀ в эндометрии матки.

Впервые изучена фармакокинетика убидекаренона после внутривенного и внутримышечного введения раствора солюбилизированной субстанции. Прослежена динамика редокс-статуса убидекаренона в крови после внутривенного введения: доказано интенсивное и быстрое образование его восстановленной формы, повышающей антиоксидантный резерв организма. Определена абсолютная и относительная биодоступность убидекаренона при внутримышечном и пероральном путях введения, изучено распределение в потенциальные органы-мишени – миокард, головной мозг и печень на протяжении 2-х суток. Показана возможность преодоления гематоэнцефалического барьера и повышения уровней в мозге в результате внутривенного введения раствора солюбилизированного убидекаренона.

Практическая значимость результатов исследования

Методики определения CoQ₁₀ на основе ВЭЖХ-СФ и в сочетании с ВЭЖХ-ЭХ применимы для его количественного анализа в субстанции, лекарственных препаратах и БАД на основе убихинона и убихинола, а также в биологическом материале.

Результаты фармакокинетических исследований обосновывают перспективность разработки парентеральных лекарственных форм убидекаренона для использования в неотложной терапии острых патологических состояний миокарда и головного мозга.

Методика ВЭЖХ-определения CoQ₁₀ в биоматериале использована:

- в Центре планирования семьи и репродукции для изучения состояния системы антиоксидантной защиты (CoQ₁₀, α-токоферол) у женщин с бесплодием различного генеза;
- в многоцентровом клиническом исследовании эффективности шестимесячного приема убидекаренона (препарат Кудесан) пациентами с диагнозом ХСН II-III функциональных классов, организованном ЗАО «Аквион», для определения содержания его в плазме крови пациентов.

Внедрение результатов

Результаты исследования внедрены в учебный процесс кафедры фармацевтической химии, фармакогнозии и организации фармацевтического дела, кафедры фармакологии Факультета фундаментальной медицины МГУ имени М.В.Ломоносова и используются в материалах лекций, семинаров и практических занятий по теме «Фармакокинетика».

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 23 работы, из них 6 – в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Основные положения диссертационной работы нашли отражение в 5-и статьях, опубликованных в рекомендованных ВАК РФ журналах, 1 тезисе статьи в журнале ВАК «Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии», 1 статье в журнале научных статей «Здоровье и образование в XXI веке», 1 статье в сборнике научных трудов Всероссийской конференции, посвященной 95-летию со дня рождения Алексея Ивановича Шретера «От растения к препарату: традиции и современность», и 15 тезисах докладов, опубликованных в материалах российских и международных конференций, зарубежных периодических изданиях.

Методология исследования

Дизайн исследования согласуется с принципами проведения экспериментов на лабораторных животных, а так же разработки и валидации аналитических методов. Работа проводилась с соблюдением правил научных исследований и основывалась на принципах биоэтики.

Теоретической и методологической основой исследования послужили фундаментальные и прикладные исследования отечественных и зарубежных ученых по данной проблеме, публикации в периодических изданиях, методические рекомендации. Теоретический анализ обзора литературы подкреплялся экспериментальными лабораторными данными.

Положения, выносимые на защиту

1. Рекомендации по использованию спектрофотометрического и электрохимического детекторов при определении CoQ_{10} в субстанции и биоматериале методом ВЭЖХ.
2. Стандартизованные режимы гомогенизации образцов миокарда, печени и головного мозга с помощью УЗ-гомогенизатора.
3. Результаты изучения редокс-статуса убидекаренона в плазме крови крысы после его внутривенного введения.
4. Результаты изучения фармакокинетики убидекаренона при внутримышечном и внутривенном введении крысам: динамика плазменных уровней и содержания в миокарде, печени, головном мозге.

5. Фармакокинетические доказательства перспективности разработки парентеральных лекарственных форм убидекаренона для использования в ургентной терапии ишемических состояний (инфаркт, инсульт).

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов гарантирована однородностью выборки объектов эксперимента, использованием валидизированных методов количественного анализа, согласованностью с результатами опубликованных ранее исследований, теоретическим обоснованием полученных экспериментальных данных.

Апробация 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 доложены и обсуждены на 21-й Европейской конференции по гипертензии и профилактике сердечно-сосудистых заболеваний (Милан, Италия, 17-20 июня, 2011 г.); 2-ом Всемирном конгрессе по биодоступности и биоэквивалентности (Лас-Вегас, США, 7-8 июня, 2011 г.); XIX Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Москва, 9-13 апреля, 2012 г.); Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 23-27 апреля, 2012 г.); Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию профессора А.А. Чумакова «Актуальные вопросы медицинской науки» (Ярославль, 18-20 апреля, 2012 г.); XX Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» (Москва, 8-12 апреля, 2013 г.); V ежегодной научной конференции молодых ученых и специалистов «Репродуктивная медицина: взгляд молодых-2014» (Санкт-Петербург, 18 апреля 2014 г.); Международной научно-практической конференции: «От растения к препарату: традиции и современность» к 95-летию со дня рождения проф. А. И. Шретера (Москва, 23-24 апреля 2014 г.).

Результаты исследований отмечены Дипломами III и II степени на XIX и XX Международных конференциях студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов» в 2012 и 2013 гг.

Личный вклад автора

Автору принадлежит ведущая роль в анализе данных литературы по теме диссертационной работы, проведении экспериментальных исследований, анализе и обобщении полученных результатов. В работах, выполненных коллективным трудом, автором проведен анализ биологического материала. Вклад автора является определяющим и заключается в непосредственном участии на всех этапах исследования: от экспериментально-теоретической реализации поставленных задач до обсуждения результатов в научных публикациях.

Структура и объем диссертации

Диссертационная работа изложена на 163 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы и экспериментальной части, включающей 5 глав: глава 1 – описание материалов и методов, главы 2-5 с результатами исследований и их обсуждением, а так же заключения, выводов и списка литературы. Диссертация включает 35 таблиц и 45 рисунков. Библиографический список содержит 254 источников, из них 229 на иностранном языке.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования представлены в главе 1.

Вторая глава экспериментальной части посвящена разработке методик качественного и количественного определения убидекаренона в субстанции (Капека, Япония) и плазме крови в окисленной и восстановленной формах с помощью ВЭЖХ со спектрофотометрическим и электрохимическим детектированием.

Исследования выполнены на самцах крыс Wistar массой 230-250 г. Животных содержали в стандартных условиях согласно требованиям Council Directive 86/609/EEC (Guide for use the laboratory animals, 1996).

Все эксперименты, проводимые на животных, одобрены Комиссией по Биоэтике Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова.

Методика ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием

Хроматографический анализ проводили на жидкостном хроматографе «Стайер» (Аквилон, Россия) методом обращеннофазовой ВЭЖХ в изократическом режиме, используя колонку Phenomenex, Luna C18, 150x4,6 мм, 5μм. При скорости подачи элюента (96% этанол) 1,4 мл/мин время удерживания CoQ₁₀ составляло 11,85 мин. Хроматографические параметры рассчитывали с использованием программы МультиХром, версия 3.X.

Методика ВЭЖХ с электрохимическим детектированием

В исследовании использовали жидкостной хроматограф «Стайер» (Аквилон, Россия) с кулонометрическим детектором «Coullochেম II» и ячейкой модели 5011 (ESA, USA); колонка C18, 150x4,6 мм, 5 мкм; подвижная фаза – 0,3% NaCl (в/о) в смеси этанол:метанол: 7% HClO₄ (970:15:15). Электрохимическое детектирование осуществляли при напряжениях -50 мВ/+350 мВ на первом/втором электродах после предколоночного восстановления убихинона до убихинола с помощью NaBH₄. Регистрацию и обработку хроматографических данных проводили с помощью компьютерной программы фирмы «Environmental Sciences Associate, Inc.» (США).

Методика экстракции CoQ₁₀ из биоматериала

Экстракцию убидекаренона из плазмы крови и органов проводили по известной методике [Kalenikova E.I., Gorodetskaya E.A., Kolokolchikova E.G. et al, 2007]. Для экстракции к плазме добавляли этанол и n-гексан (1:2:5), тщательно встряхивали в течение 10 мин, центрифугировали при 3000 об/мин в течение 3 мин и отбирали верхний слой n-гексана. Процедуру экстракции повторяли, добавив n-гексан. Порции экстракта объединяли, упаривали досуха и растворяли в аликвоте этанола.

В нормативных документах приводят различные длины волн для детектирования убидекаренона: $\lambda=275$ нм в Европейской фармакопее 6.0, ч. 2, стр. 3163, и $\lambda=290$ нм в Руководстве по методам контроля качества и безопасности БАД Р. 4.1.1672-03, стр. 122. Полученные УФ-спектры спиртового разведения убидекаренона до и после восстановления до убихинола уточнили длины волн максимумов поглощения: убихинона – 275 нм, убихинола 290 нм (рис. 1).

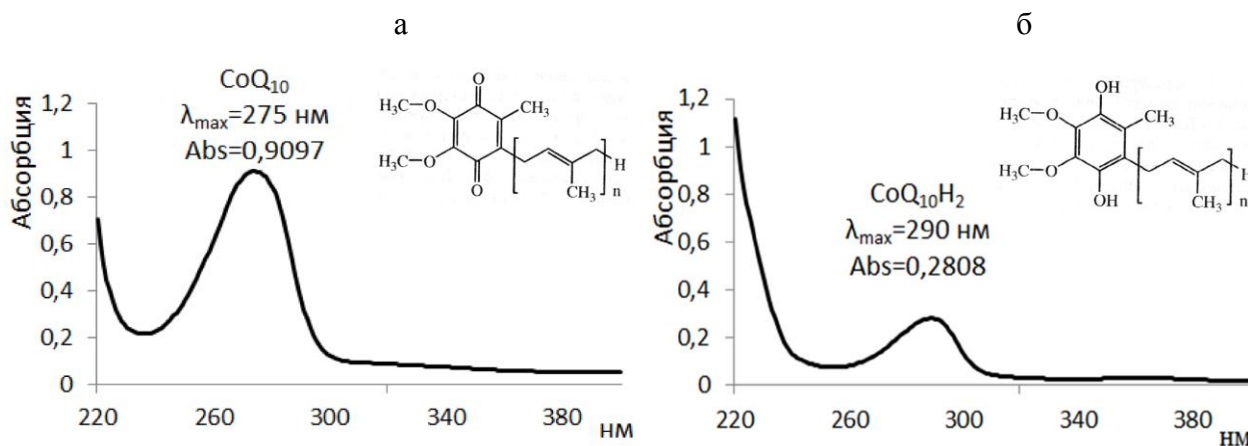


Рис. 1. УФ-спектры убидекаренона до (а) и после восстановления до убихинола (б). Спектрофотометр Shimadzu UV-2700.

Спектрофотометрическое детектирование убидекаренона при 275 нм оказалось в 5 раз чувствительнее, чем при 290 нм (4 нг и 20 нг). Переключая длину волны СФ-детектора с 290 нм ($\lambda_{\max}$ для CoQ₁₀H₂) на 275 нм ($\lambda_{\max}$ для CoQ₁₀) на одной хроматограмме можно последовательно обнаруживать восстановленную и окисленную формы убидекаренона, что применимо к анализу лекарственных форм на основе убихинола для его количественного определения и оценки стабильности при хранении (рис. 2).

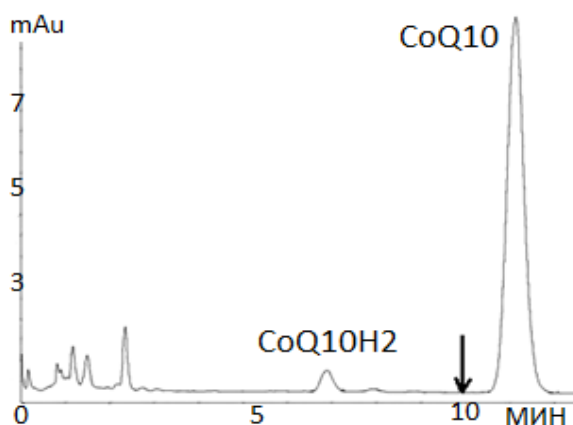


Рис. 2. Хроматограмма частично восстановленного убидекаренона (стандартное разведение в этаноле). Спектрофотометрическое детектирование с переключением длины волны детектора с 290 нм на 275 нм (отмечено стрелкой).

Спектрофотометрия для большинства лабораторий является более доступным методом детектирования относительно ЭХ, поэтому следующей задачей стало сравнение этих двух методик на чувствительность и предел обнаружения.

Отклик СФ-детектора линеен в интервале концентраций 1-500 мкг/мл для убихинола, 0,2-500 мкг/мл для убихинона, ЭХ-детектора – в пределах 0,01-100 мкг/мл CoQ₁₀. Предел обнаружения убихинона и убихинола при СФ-детектировании составил 4 нг и 10 нг, при ЭХ-детектировании – 0,01 нг убихинона и убихинола.

Удовлетворительная сходимость результатов ВЭЖХ-СФ и ВЭЖХ-ЭХ анализа как субстанции окисленного убидекаренона, так и модельных смесей с плазмой крови (рис.3) дает основание для комбинирования этих двух методик в анализе одного и того же образца для определения его редокс-статуса.

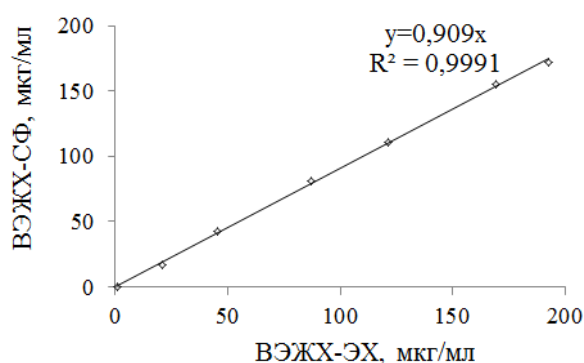


Рис. 3. Сходимость результатов определения убидекаренона в искусственных смесях с плазмой крови методом ВЭЖХ с ЭХ- и СФ-детектированием при $\lambda_{\text{max}}=275$.

Показано, что СФ-детектор не определяет фоновый уровень CoQ₁₀ в плазме крови крысы и завышает физиологические уровни в плазме человека относительно ЭХ-детектирования. Анализ окисленной формы в биологических образцах с высоким ее содержанием (например, при фармакокинетических исследованиях) возможен с использованием СФ-детектора.

Важнейшей областью применения биофармацевтического анализа являются фармакокинетические исследования лекарственных веществ, проводимые на животных.

Точность получаемых аналитических данных зависит от применяемого метода количественного определения, а также от сохранности аналита в биоматериале до анализа и от качества пробоподготовки.

Третья глава посвящена валидации методик ВЭЖХ-ЭХ и ВЭЖХ-СФ ($\lambda=275$ нм) количественного определения убидекаренона, оптимизации процедуры пробоподготовки, изучению стабильности и определению убихинона и убихинола в биоматериале.

Линейность хроматографической системы наблюдалась в интервале концентраций убидекаренона 0,01-500 мкг/мл для ВЭЖХ-ЭХ и 0,5-500 мкг/мл для ВЭЖХ-СФ ($R^2<0,9990$). Предел обнаружения убихинона составил: ВЭЖХ-ЭХ – 0,005 мкг/мл, для ВЭЖХ-СФ – 0,1 мкг/мл.

Правильность изучалась в пределах применения аналитических методик и составила для ВЭЖХ-ЭХ – 101,3%; ВЭЖХ-СФ – 101,6%, прецизионность была равна – 9,4% и 5,1% соответственно.

В результате проведенной валидации подтверждено соответствие аналитических характеристик метода ВЭЖХ-ЭХ, ВЭЖХ-СФ (275 нм) количественного определения убидекаренона нормативным значениям.

Стабильность $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ в плазме крови крысы при хранении в морозильной камере (-20°C) изучалась на протяжении 14 суток. Образцы плазмы крови, как фоновой, так и отобранной в первые минуты после внутривенного введения крысе препарата Кудесан (10 мг/кг), анализировали на содержание $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ и TCoQ_{10} с использованием ВЭЖХ-ЭХ.

На протяжении 4-х дней хранения при -20°C содержание убихинола (фоновый уровень) в плазме крови крыс постепенно снижается и перестает определяться к 4-м суткам, в то время как общий пул остается стабильным на протяжении 2-х недель. Общее содержание CoQ_{10} и доля $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ в плазме крови крыс, отобранной после внутривенного введения солюбилизированного убидекаренона, в течение двух недель хранения остаются неизменными. Этот результат гарантирует объективность определения TCoQ_{10} и $\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$ в образцах плазмы, отобранных в последующих фармакокинетических экспериментах и хранившихся до анализа в морозильной камере не более 14 суток.

Разработка режимов гомогенизации биоматериала с помощью ультразвукового гомогенизатора

На образцах миокарда (ЛЖ), печени и мозга крысы проведены исследования разных режимов работы УЗ-гомогенизатора SONOPLUSmini20 «BANDELIN electronic», GmbH Co. KG, Германия. Всего опробовано 36 режимов гомогенизации и для каждой ткани выбрано 3 по следующим физическим параметрам: максимальное измельчение при минимальных временных воздействиях. Эти гомогенаты оценивали на полноту

экстракции CoQ₁₀ и по результатам выявили оптимальные режимы гомогенизации миокарда, головного мозга и печени, использованные в дальнейших фармакокинетических исследованиях (табл. 1).

Таблица 1. Оптимальные режимы гомогенизации миокарда, печени, головного мозга крысы

Анализируемый биоматериал	Мощность P _w (Вт)	Длительность интервалов воздействия/ количество интервалов	Ср. зн ± ст.откл (мкг/г)
Миокард	8,0	10 сек/25 (4,20 мин)	16,8±0,3
Печень	8,0	10 сек/12 (2 мин)	16,5±0,15
Головной мозг	8,0	10 сек/12 (2 мин)	20,9±0,6

Хроматограммы, полученные при ВЭЖХ-СФ анализе экстрактов ЛЖ, мозга и печени крыс с помощью ВЭЖХ-СФ, не отображали пиков, соответствующих по времени выхода как окисленной, так и восстановленной формам CoQ₁₀. Возможными причинами могут быть низкая селективность и/или неподходящий для этого метод экстракции. В дальнейшем мы проводили определение CoQ₁₀ в образцах тканей с использованием ЭХ-детектора.

Четвертая глава посвящена изучению фармакокинетики убидекаренона в различных лекарственных формах.

Фармакокинетика убидекаренона в таблетках

Объектом исследования для изучения фармакокинетики и биодоступности убидекаренона после введения внутрь стали 5 таблетированных форм, предоставленных компанией ЗАО «Аквион» и приготовленных для выявления оптимального состава (табл. 2). Животным с имплантированным катетером для последующего отбора проб крови вводили в желудок через зонд растертые таблетки в виде взвеси в 0,2% геле метилцеллюлозы.

Кинетические кривые всех представленных пяти образцов таблеток имели от одного до трех пиков концентраций во временном интервале от 2-х до 9-и часов после введения, при этом величина максимальной концентрации убидекаренона, время ее достижения, а также значения площади под кинетическими кривыми достоверно не различались между собой (рис. 4).

Таблица 2. Состав исследуемых таблетированных форм, содержащих убидекаренон (30 мг)

Таблетки	Состав
№1	Активный компонент убидекаренон 100% (Канека, Япония) Вспомогательные вещества: МКЦ 102, коллоидная двуокись кремния 380, кроскармеллоза натрия, тальк фармакопейный, стеарат магния
№2	Активный компонент убидекаренон 100% (Кайова, Япония) Вспомогательные вещества: МКЦ 102, коллоидная двуокись кремния 380, кроскармеллоза натрия, тальк фармакопейный, стеарат магния
№3	Активный компонент убидекаренон 10% (DSM Nutritional Products)* Вспомогательные вещества: кальция цитрат 4-гидрат, коллоидная двуокись кремния, коллидон VA 64, тальк фармакопейный, стеарат магния, кроскармеллоза натрия тип А
№4	Активный компонент убидекаренон 100% (Канека, Япония) Вспомогательные вещества: МКЦ 102, крахмал, кремофор, стеарат магния, аэросил, тальк
№5	Активный компонент убидекаренон 100% (Кайова, Япония) Вспомогательные вещества: МКЦ 102, крахмал, кремофор, стеарат магния, аэросил, тальк

* субстанция представляет собой убидекаренон, включенный в полисахаридную матрицу.

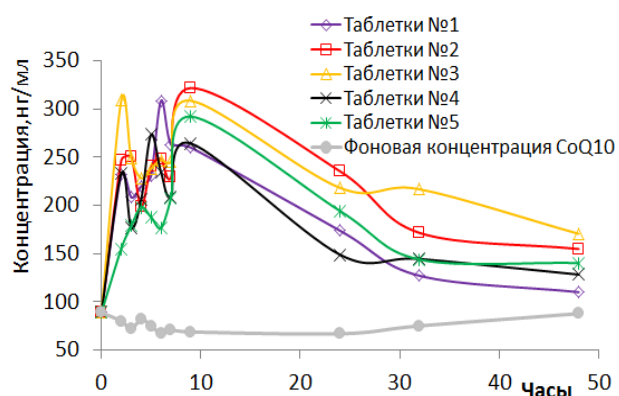


Рис. 4. Динамика фоновых концентраций CoQ₁₀ в плазме крови крыс контрольной группы и кинетические кривые концентрация-время для таблеток убидекаренона пяти составов.

Следовательно, межиндивидуальная вариабельность фармакокинетики убидекаренона при приеме внутрь, достигающая кратных величин по параметрам C_{max} и AUC_{0-t} , может маскировать незначительные преимущества одних составов над другими. Существенного увеличения биодоступности убидекаренона, способного качественно сказаться на его эффективности и расширить область клинического применения, можно добиться только с использованием парентеральных форм.

Фармакокинетика убидекаренона, распределение по органам и окислительно-восстановительный статус при внутривенном введении препарата Кудесан

Животным под наркозом имплантировали катетеры: в бедренную вену – для введения препарата и в бедренную артерию – для последующего отбора образцов крови.

Отбор проб крови проводили до и спустя 0,1; 0,25; 1; 3; 5; 7; 9; 24; 32; 48 ч после инъекции препарата. Образцы левого желудочка сердца (ЛЖ), печени и головного мозга отбирали спустя 0,25; 0,5; 2; 6; 12; 24; 32; 48 ч после в/в введения, используя по 5 животных на каждую временную точку. Общее содержание CoQ_{10} (TCoQ_{10}) в плазме определяли с помощью ЭХ-детектора, содержание окисленной формы – с использованием СФ-детектора, концентрацию убихинола – по разнице данных ЭХ- и СФ-определений. Кинетические кривые, построенные для общего содержания CoQ_{10} , его окисленной и восстановленной форм, представлены на рис. 5. Выявлено, что сразу после внутривенного введения значительная часть убихинона в плазме восстанавливается до убихинола и уже через семь часов его доля становится преобладающей (рис. 6). Таким образом, внутривенное введение CoQ_{10} в окисленной форме позволяет в десятки раз увеличить эндогенный плазменный пул восстановленной формы CoQ_{10} – мощного эндогенного антиоксиданта.

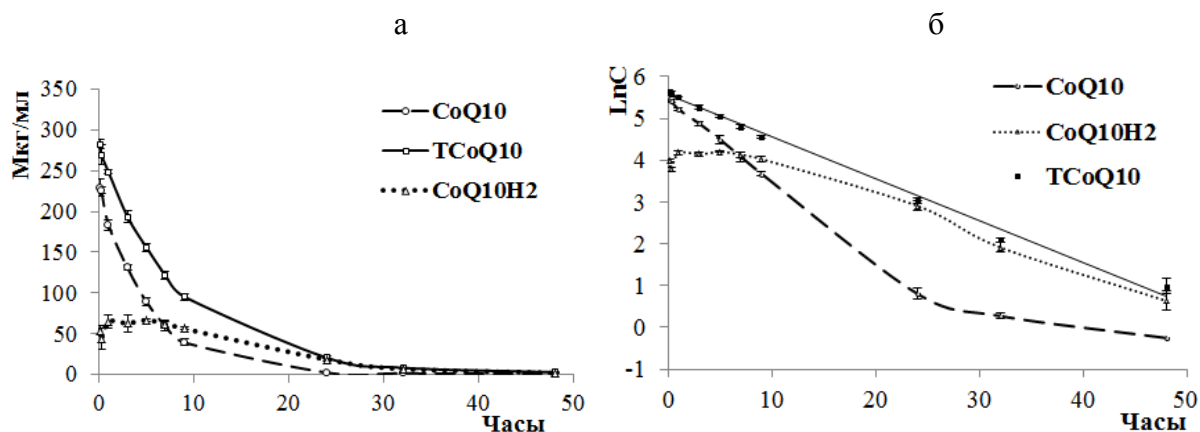


Рис. 5. Кинетические кривые плазменных концентраций убихинона (CoQ_{10}), убихинола ($\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$) и общего пула (TCoQ_{10}) убидекаренона при внутривенном введении препарата Кудесан в дозе 10 мг/кг (а). Кинетические кривые общего содержания убидекаренона, его восстановленной и окисленной форм в полулогарифмических координатах (б).

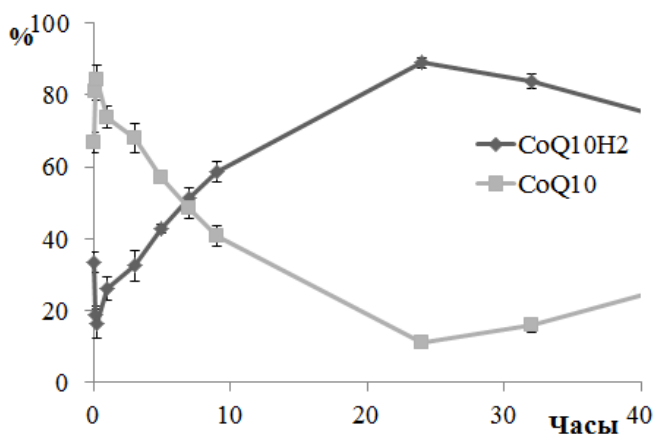


Рис. 6. Изменения соотношения окисленной (CoQ_{10}) и восстановленной ($\text{CoQ}_{10}\text{H}_2$) форм убидекаренона в плазме крыс на протяжении 48 ч после внутривенного введения препарата Кудесан. По оси ординат: процент от общей концентрации убидекаренона в плазме (среднее значение $\pm$ стандартная ошибка).

В миокарде после в/в введения в течение первых 2-х часов наблюдался прирост содержания убидекаренона на 37-44%. Через 6 ч после в/в введения концентрация убидекаренона достигала своего максимума и составляла 173% относительно фоновых значений. **В печени** динамика концентраций убидекаренона носила накопительный характер.

Важным результатом в/в введения убидекаренона явился прирост его содержания **в головном мозге** уже через 15 мин (12%) и сохранение повышенных уровней на протяжении как минимум 6 ч (рис. 7).

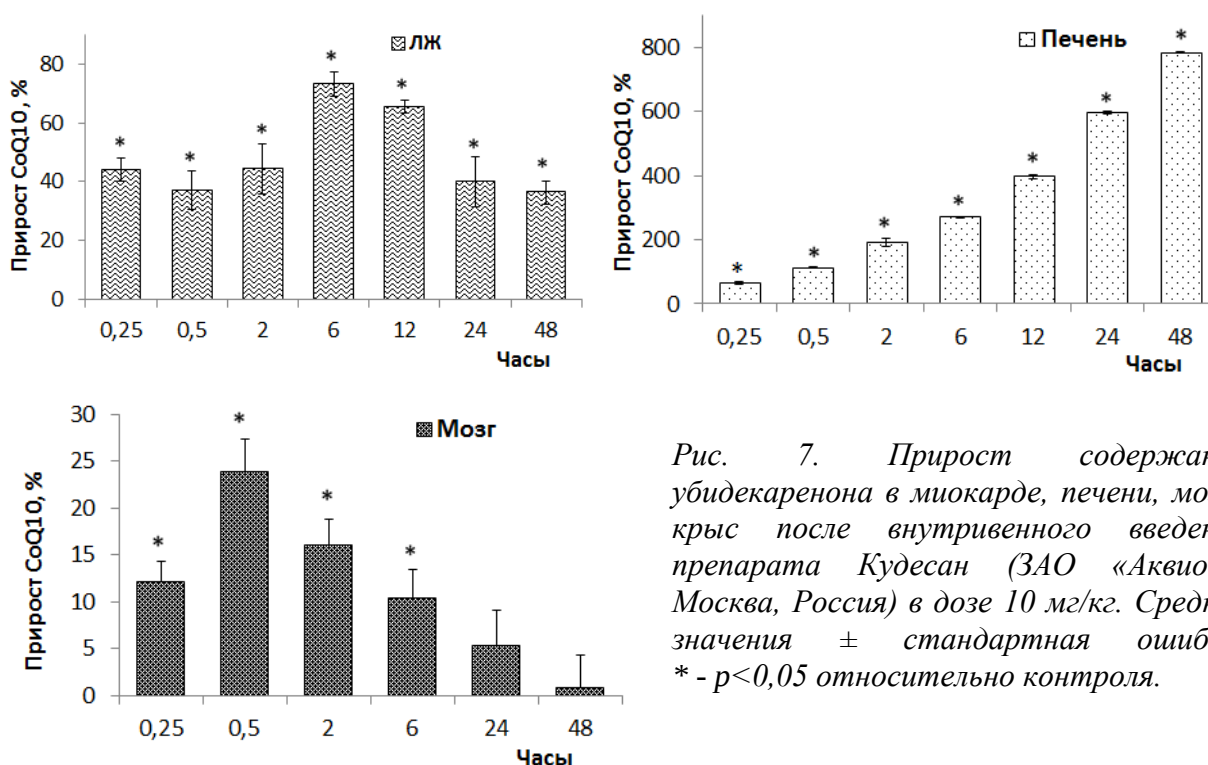


Рис. 7. Прирост содержания убидекаренона в миокарде, печени, мозге крыс после внутривенного введения препарата Кудесан (ЗАО «Аквион», Москва, Россия) в дозе 10 мг/кг. Средние значения $\pm$ стандартная ошибка, * - $p < 0,05$ относительно контроля.

Таким образом, при в/в введении раствора солюбилизованного убидекаренона изучена фармакокинетика общего пула убидекаренона, его окисленной и восстановленной форм на протяжении 2-х суток в плазме крови крыс, а так же динамика содержания в органах-мишенях (сердце, головном мозге) и в органе-депо (печени).

Фармакокинетика убидекаренона и распределение по органам при внутримышечном введении препарата Кудесан

Самцам крыс Wistar (n=5) в бедренную мышцу производили инъекцию солюбилизованного убидекаренона (препарат Кудесан, 10 мг/кг). Отбор проб крови проводили до и спустя 1, 1,5, 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24, 32, 48 ч после инъекции препарата с использованием имплантированного катетера. Концентрации CoQ₁₀ в плазме крови и тканях крыс определяли методом ВЭЖХ-ЭХ.

Максимальная концентрация в плазме крови после в/м введения ($C_{\max}=17\pm2,14$ мкг/мл) достигалась через 10-12 ч после инъекции, и повышенный уровень убидекаренона в плазме крови сохранялся на протяжении 2-х суток (рис. 8).

В ЛЖ сердца содержание CoQ_{10} на протяжении всего периода наблюдения было повышено на 35-60%, в печени к концу первых суток после инъекции достигало максимума (486% относительно контроля) и не менялось в течении следующих суток. Вариации содержания CoQ_{10} в мозге были статистически недостоверны (рис.9).

Таким образом, препарат Кудесан при внутримышечном введении обеспечивает повышенный уровень убидекаренона в плазме крови на протяжении 2-х суток, а также повышение и длительное поддержание высоких уровней убидекаренона в сердечной мышце и печени.

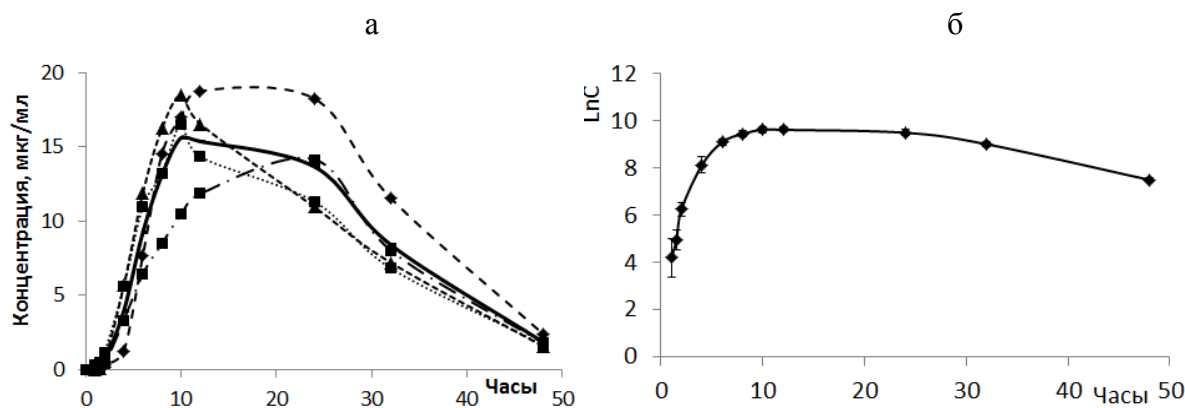


Рис. 8. Индивидуальные кинетические кривые убидекаренона после внутримышечного введения препарата Кудесан в дозе 10 мг/кг (а); усредненная кинетическая кривая CoQ_{10} в полулогарифмических координатах (б).

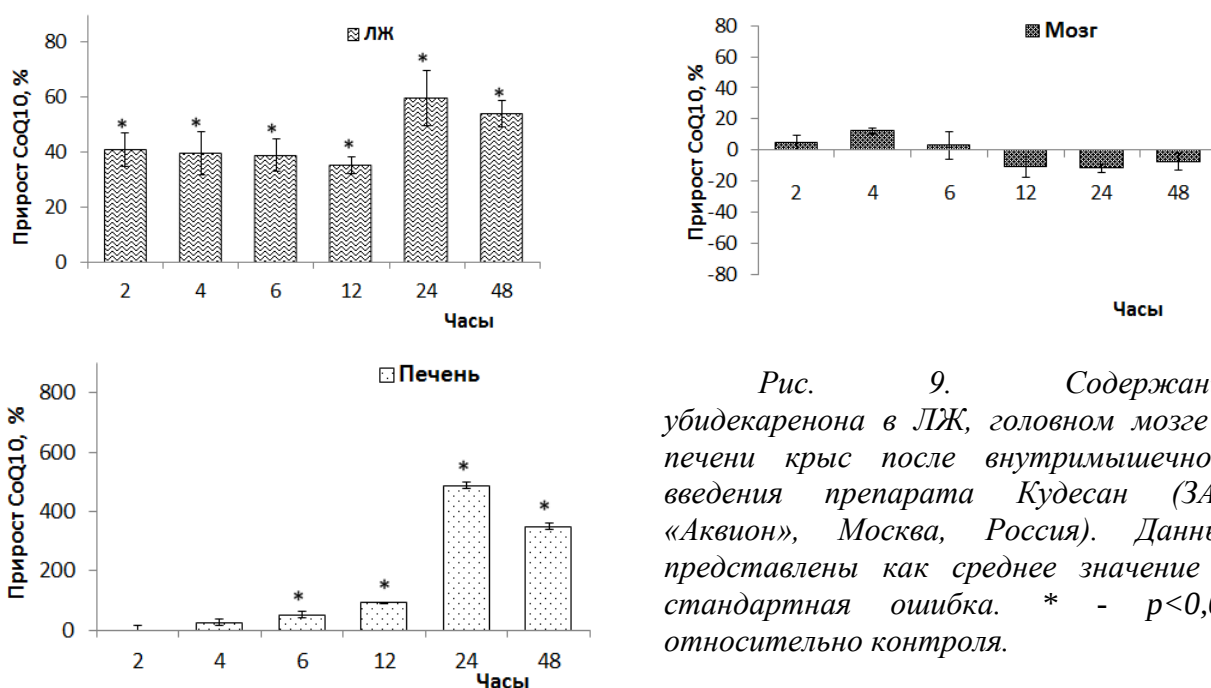


Рис. 9. Содержание убидекаренона в ЛЖ, головном мозге и печени крыс после внутримышечного введения препарата Кудесан (ЗАО «Аквион», Москва, Россия). Данные представлены как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка. * - $p<0,05$ относительно контроля.

Расчет фармакокинетических параметров, абсолютной и относительной биодоступности

Для внутримышечного, внутривенного и перорального путей введения убидекаренона были определены и рассчитаны фармакокинетические параметры (табл. 3). Площадь под фармакокинетической кривой (AUC_{0-t}) рассчитывали методом трапеций. Оценку биодоступности солюбилизированного CoQ₁₀ при введении внутрь проводили с привлечением данных, полученных ранее для того же препарата [Е.И. Kalenikova, Е.А. Gorodetskaya, O.S. Medvedev. 2008].

Расчет биодоступности (F) производился по формуле (1):

$$F = (AUC_{0-48} / AUC_{0-48 iv}) * 100\% \quad (1)$$

где AUC_{0-48} – площадь под кинетической кривой для внутримышечного/перорального путей введения;

$AUC_{0-48 iv}$ – площадь под кинетической кривой при внутривенном введении той же дозы.

Константу скорости снижения концентрации (k) на конечном участке полученных кинетических кривых (24-48 ч) получали из уравнения регрессии (2), рассчитанного с использованием метода наименьших квадратов отклонений (3).

$$\ln C = \ln C_0 + k * t \quad (2)$$

$$k = n * \Sigma(x * y) - \Sigma x * \Sigma y / n * \Sigma x^2 - (\Sigma x)^2 \quad (3)$$

где n – количество экспериментальных временных точек;

x – временная точка;

y – концентрация (нг/мл), представленная в натуральных логарифмах.

Время полувыведения определяли с учетом рассчитанного значения k по формуле:

$$t_{1/2} = 0,693/k.$$

Биодоступность при внутривенном введении равна 100%. Абсолютная биодоступность убидекаренона при пероральном введении препарата Кудесан составила 0,3%, при внутримышечном – 17% (табл. 3). На рис. 10 приведены кинетические кривые при различных путях введения. Введение внутрь обеспечивает повышенный уровень убидекаренона в плазме крови на протяжении 2-х суток, и через 48 часов концентрации все еще превышают фоновые в 2 раза. При этом в/в и в/м пути введения обеспечивают многократно большие концентрации в плазме крови, и к исходу вторых суток они превышают фоновые в 10 раз.

Таким образом, парентеральные пути введения солюбилизированного убидекаренона уже в первые минуты создают в крови высокие концентрации убихинона и

убихинола, повышая антиоксидантный статус плазмы и организма в целом. Быстрое пополнение тканевых уровней CoQ₁₀ за счет убихинона, введенного внутривенно и внутримышечно, обосновывает перспективность разработки парентеральных лекарственных форм убидекаренона для применения в терапии острых патологических состояний.

Таблица 3. Фармакокинетические характеристики солюбилизованного убидекаренона в составе препарата Кудесан при различных путях введения

Путь введения	T _{max} (часы)	C _{max} (мкг/мл)	k (ч ⁻¹)	T _{1/2} (ч)	AUC _{0→48 ч} (мкг·ч/мл)	Абсолютная биодоступность (%)
Введение внутрь	3,3 ± 0,3	0,7 ± 0,5			7 ± 0,9	0,3
Внутримышечное введение	13,2 ± 2,7	16* ± 3,5	0,093 ± 0,02	7,6 ± 1,1	445* ± 73,8	17
Внутривенное введение			0,085 ± 0,01	8,3 ± 1,5	2606* ± 133	100

± стандартное отклонение от средних значений;

* - достоверное отличие относительно введения внутрь. Статистическая обработка по методу Манн-Уитни.

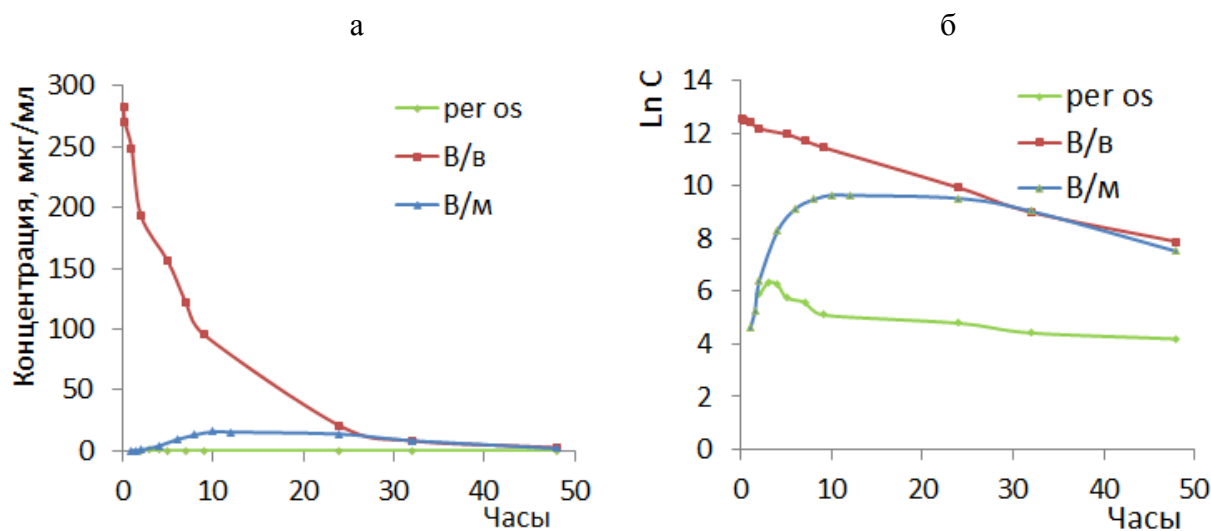


Рис. 10. Фармакокинетические кривые убидекаренона (общий пул) при различных путях введения – шкала абсолютных значений (а); логарифмическая шкала (б).

Применение методики ВЭЖХ-определения CoQ₁₀ в клинических исследованиях

Важнейшим приложением биофармацевтического анализа является аналитическое сопровождение клинических исследований лекарственных препаратов. Кроме того, выявление дефицита эндогенных уровней CoQ₁₀ при той или иной патологии может служить основанием для изучения эффективности препаратов убидекаренона.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием непараметрических критериев Манна-Уитни (#) и парного критерия Вилкоксона (*).

Определение содержания CoQ₁₀ в плазме крови и соскобах эндометрия женщин с бесплодием различного генеза

В исследование были включены 24 бесплодных женщины с различными патологиями (миома матки, эндометриоз, трубно-перитонеальное бесплодие) и 10 фертильных женщин детородного возраста (контрольная группа) в возрасте от 23 до 41 года, регулярно наблюдающихся в Центре планирования семьи и репродукции.

Результаты исследования продемонстрировали значительную вариабельность содержания CoQ₁₀ *в эндометрии* пациенток ($11,1 \pm 4,5$ мкг/г), что свидетельствует о возможной его роли в патологическом процессе, для доказательства которой требуется увеличение количества наблюдений.

В плазме крови у всех женщин с бесплодием концентрация CoQ₁₀ оказалась ниже относительно контрольной группы ($1,18 \pm 0,5$ мкг/мл против $1,57 \pm 0,7$ мкг/мл, $p \leq 0,01^{\#}$).

Таким образом, в плазме крови пациенток с бесплодием различного генеза выявлен дефицит жирорастворимого антиоксиданта, что позволяет рассматривать этот параметр как возможный объект для терапевтической коррекции с помощью препаратов убидекаренона.

Оценка эффективности трехмесячного приема убидекаренона в составе препарата Кудесан при хронической сердечной недостаточности II-III классов

ВЭЖХ-анализ содержания CoQ₁₀ проводился в образцах плазмы пациентов, получавших либо стандартную терапию, либо стандартную терапию с включением препарата Кудесан (90 мг/день). Результаты продемонстрировали повышение содержания CoQ₁₀ в плазме пациентов, принимавших убидекаренон: $1,4 \pm 0,8$ мкг/мл на первом визите и $2,3 \pm 1,3$ мкг/мл после 6 месяцев его приема ($p < 0,001^*$), и его неизменность в группе контроля ($1,3 \pm 0,6$ мкг/мл и $1,5 \pm 0,5$ мкг/мл на 1-ом визите и спустя 6 мес, соответственно).

У больных ХСН повышение содержания CoQ₁₀ в плазме сопровождалось достоверно большим приростом фракции выброса ЛЖ и повышением переносимости

физической нагрузки. На этом основании можно предположить, что дополнение основной терапии ХСН препаратом Кудесан способно повысить эффективность лечения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

CoQ₁₀ - эндогенное вещество, при биофармацевтическом анализе которого необходимо уделять внимание фоновому содержанию в биоматериале и, исходя из целей исследования, выбирать соответствующие физико-химические методы анализа. Для изучения фармакокинетики убидекаренона и содержания CoQ₁₀ в биоматериале успешно применяют высокоэффективную жидкостную хроматографию. Сочетание СФ- и ЭХ-детектирования расширяет аналитические возможности исследователя в отношении убидекаренона, давая возможность оценивать его редокс-статус. Проведена валидация ВЭЖХ-СФ и ВЭЖХ-ЭХ методов количественного определения CoQ₁₀ в биологических образцах и фармацевтических композициях, что позволяет использовать их и их комбинации для изучения фармакокинетики препаратов, содержащих убидекаренон. Предложенные методики пробоподготовки биоматериала с помощью УЗ-гомогенизатора характеризуются высокой воспроизводимостью и способствуют максимальному извлечению коэнзима Q₁₀.

Результаты экспериментальных фармакокинетических исследований показали, что парентеральные пути введения убидекаренона позволяют быстро и надолго обеспечить его прирост в плазме крови и органах, в то время как уточненная биодоступность при пероральном введении ничтожно мала (~0,3%).

Впервые была изучена динамика редокс-статуса убидекаренона в плазме животных после его внутривенной инъекции на протяжении 48 ч. Показано, что уже в первые минуты происходит восстановление введенной окисленной формы, и уровень убихинола достигает своего максимума к 24 ч. Впервые выявлено, что именно внутривенный путь введения позволяет увеличивать концентрации убидекаренона в головном мозге крыс, что не характерно для внутримышечного и перорального введений.

Полученные нами данные демонстрируют возможность быстрого пополнения содержания коэнзима Q₁₀ в органах и тканях, который может обеспечить защиту от ишемии в urgentных ситуациях, что обосновывает перспективность разработки парентеральных лекарственных форм на основе убидекаренона.

ВЫВОДЫ:

1. Разработаны методики количественного определения убидекаренона в окисленной и восстановленной формах с помощью ВЭЖХ-СФ. Методика с переключением длины волны детектора с 290 нм на 275 нм позволяет одновременно определять окисленную и восстановленную формы убидекаренона; применима в фармацевтическом анализе лекарственных форм убихинола и фармакокинетических исследованиях для анализа убихинона и убихинола в одной пробе.

2. Спектрофотометрическое детектирование убидекаренона в 40 раз уступает по чувствительности электрохимическому. Использование СФ-детектора в биофармацевтическом ВЭЖХ-анализе убидекаренона требует на этапе разработки аналитической методики сопоставления результатов с более селективным методом детекции, например, электрохимическим. Удовлетворительная сходимость результатов СФ- и ЭХ-определения убидекаренона в плазме крови в концентрациях более 2 мкг/мл предоставляет возможность комбинирования этих двух методик в анализе одного и того же образца для изучения его редокс-статуса.

3. Разработаны оптимальные режимы гомогенизации миокарда, печени и мозга с помощью ультразвукового гомогенизатора SONOPLUS mini20 «BANDELIN electronic», что стандартизует этот этап пробоподготовки и способствует лучшей воспроизводимости результатов анализа.

4. Фармакокинетические исследования убидекаренона показали, что при введении внутрь преимущества его модифицированных субстанций, присутствия солюбилизаторов не очевидны из-за крайне низкой биодоступности (~0,3%) и высокой межиндивидуальной вариабельности. Абсолютная биодоступность убидекаренона в растворе солюбилизированной формы, введенном внутримышечно, составляет 17%.

5. Общее содержание и редокс-статус убидекаренона в плазме крови, отобранной в фармакокинетическом эксперименте, сохраняются неизменными на протяжении как минимум 2-х недель хранения при -20°C. Фоновые уровни убихинола полностью окисляются за 3 суток хранения в морозильной камере при сохранности общего пула убихинона.

6. Внутривенное введение убидекаренона в окисленной форме уже в первые минуты создает высокие плазменные уровни убихинола, обеспечивая повышенный антиоксидантный статус организма на протяжении нескольких часов.

7. Повышенное содержание убидекаренона в сердечной мышце (>40%) вскоре и на протяжении 48 ч после в/в и в/м введения, в головном мозге (>10%) через 15 мин и в

течение 6 часов после в/в введения может быстро обеспечить защиту тканей от ишемии в urgentных ситуациях (инфаркт, инсульт).

8. Определение фоновых концентраций CoQ_{10} в плазме крови пациенток с бесплодием различного генеза выявило сниженные его уровни в группе с патологиями относительно группы фертильных женщин, что позволяет рассматривать этот параметр как возможный объект для терапевтической коррекции.

9. Прием внутрь препарата Кудесан в дозе 90 мг/день увеличивает содержание убидекаренона в плазме крови пациентов с диагнозом ХСН II-III функциональных классов. Комбинирование основной терапии с приемом убидекаренона повышает эффективность лечения больных: в большей степени (относительно группы плацебо) увеличивает показатель фракции выброса левого желудочка и повышает толерантность к физическим нагрузкам по данным теста 6-минутной ходьбы.

Научно-практические рекомендации

1. Методики ВЭЖХ-ЭХ, ВЭЖХ-СФ, а также их сочетание рекомендуются к использованию для биофармацевтического анализа убидекаренона.

2. Фармакокинетические параметры, полученные в ходе исследования могут быть применены при дальнейших доклинических, клинических и биофармацевтических исследованиях и использованы для разработки парентеральных форм убидекаренона.

Перспективы дальнейшей разработки темы

Полученные в ходе исследования результаты обосновывают перспективность разработки парентеральных лекарственных форм убидекаренона и дальнейшего изучения их эффективности на различных моделях патологических состояний.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Публикации в журналах, рекомендованных ВАК Минобразования РФ

1. Каленикова Е.И. Оценка линейности фармакокинетики убидекаренона при внутривенном введении / Е.И. Каленикова, Е.А. Городецкая, М.А. Белоусова, Е.В. Харитоновна, О.В. Токарева, О.Ю. Куляк, О.С. Медведев // Химико-фармацевтический журнал. – 2014. – Т. 48, № 12. – С. 71-72

2. Каленикова Е.И. Внутривенное введение коэнзима Q_{10} повышает его содержание в головном мозге крыс / Е.И. Каленикова, Е.А. Городецкая, М.А. Белоусова, Е.В. Харитоновна, О.В. Токарева, М.М. Артемьева, О.С. Медведев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77, № 10. – С. 36-37.

3. Токарева О.Г. Влияние коэнзима Q_{10} в составе стандартной терапии больных хронической сердечной недостаточностью на плазменные уровни мозгового

натрийуретического пептида / О.Г. Токарева, Е.В. Харитонов, В.Ю. Мареев, Е.И. Каленикова, О.С. Медведев // Сердечная недостаточность. – 2014. – Т. 15, № 4 (85). – С. 232–237.

4. Kalenikova E.I. HPLC estimation of coenzyme Q10 redox status in plasma after intravenous coenzyme Q10 administration / E.I. Kalenikova, E.V. Kharitonova, E.A. Gorodetskaya, O.G. Tokareva, O.S. Medvedev // Biochemistry (Moscow) Supplement Series B Biomedical Chemistry. – 2014. – V. 8, № 3. – P. 267-272.

5. Харитонов Е.В. Определение убидекаренона в окисленной и восстановленной формах методом ВЭЖХ с электрохимическим и спектрофотометрическим детектированием / Е.В. Харитонов, Е.И. Каленикова, О.С. Медведев // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии, Москва. – 2014. – №4. С. 68.

6. Харитонов Е.В. Фармакокинетика солюбилизированного CoQ₁₀ в составе препарата кудесан при парентеральных путях введения / Е.В. Харитонов, Е.И. Каленикова, Е.А. Городецкая, О.С. Медведев // Сибирское медицинское обозрение. – 2013. – №6 (84). – С. 26-29.

Публикации материалов докладов на российских и международных конференциях, съездах

7. Харитонов Е.В. Определение убидекаренона в окисленной и восстановленной формах методом ВЭЖХ с электрохимическим и спектрофотометрическим детектированием / Е.В. Харитонов, Е.И. Каленикова, О.С. Медведев // От растения к препарату: традиции и современность. (Сборник научных трудов Всероссийской конференции посвященной 95-летию со дня рождения Алексея Ивановича Шретера), Москва. – 2014. – С. 295-298.

8. Харитонов Е.В. Прирост CoQ₁₀ в органах крыс при внутримышечном введении солюбилизированного CoQ₁₀ в составе препарата Кудесан / Е.В. Харитонов, Е.А. Городецкая, Е.И. Каленикова // Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». – 2012. – Т. 14, №1, – С. 248-249.

9. Хатламаджиян М.Г. Убихинон как маркер антиоксидантной защиты у пациенток репродуктивного возраста с миомой матки / М.Г. Хатламаджиян, Е.В. Харитонов, У.С. Анисимова, Л.Н. Щербакова // Репродуктивная медицина: взгляд молодых-2014 (Материалы V ежегодной научной конференции молодых ученых и специалистов), Санкт-Петербург. – 2014. – С. 73-75.

10. Kalenikova E. Absolute bioavailability and tissue distribution of coenzyme Q10 after its intramuscular administration / E. Kalenikova, E. Kharitonova // Journal of Hypertension, e-

Supplement A. (The 23rd European Meeting on Hypertension and cardiovascular Protection) Milan, Italy. – 2013. – V. 31. – e400.

11. Харитонов Е.В. Редокс-статус коэнзима Q10 после его однократного внутривенного введения / Е.В. Харитонов, О.Ю. Куляк // Материалы Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов», Москва. – 2013. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).

12. Kalenikova E.I. Tissue distribution of coenzyme Q10 after its intramuscular administration / E.I Kalenikova, E.V. Kharitonova, E.A. Gorodetskaya, O.S. Medvedev // Abstracts of the Seventh Conference of the International Coenzyme Q10 association. Spain, Seville. – 2012. – P. 100.

13. Gorodetskaya E.A. Absolute bioavailability of solubilized coenzyme Q10 after enteral intramuscular administration / E.A. Gorodetskaya, E.V. Kharitonova, E.I. Kalenikova, O.S. Medvedev // Abstracts of the Seventh Conference of the International Coenzyme Q10 association. Spain, Seville. – 2012. – P. 88.

14. Kalenikova E. Plasma redox status of coenzyme Q10 after intravenous administration / E. Kalenikova, E. Gorodetskaya, E. Kharitonova, O. Tokareva, O. Medvedev // Abstracts of the Seventh Conference of the International Coenzyme Q10 association. Spain, Seville. – 2012. – P. 101-102.

15. Харитонов Е.В. Биодоступность солюбилизованного коэнзима Q₁₀ при различных путях введения / Е.В. Харитонов, О.Г. Токарева // Материалы XIX Международной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов». Москва. – 2012. – 1 электрон. опт. диск (DVD-ROM).

16. Харитонов Е.В. Оптимизация режимов гомогенизации для биоматериалов / Е.В. Харитонов, Е.И. Каленикова // Человек и лекарство (Сборник материалов конгресса, тезисы докладов XIX Российского национального конгресса) Москва. – 2012. – С. 592.

17. Харитонов Е.В. Фармакокинетика коэнзима Q₁₀ при внутримышечном введении / Е.В. Харитонов, Е.О. Городецкая, Е.И. Каленикова // Человек и лекарство (Сборник материалов конгресса, тезисы докладов XIX Российского национального конгресса) Москва. – 2012. – С. 592.

18. Иванов А.В. Отсроченные кардиопротекторные эффекты препарата коэнзима Q10, введенного однократно внутривенно через 1 час после окклюзии коронарной артерии у крыс / А.В. Иванов, О.Г. Токарева, Е.В. Харитонов, Е.А. Городецкая, Е.И. Каленикова, О.С. Медведев // Человек и лекарство (Тезисы XIX Российского национального конгресса) Москва. – 2012. – С. 508.

19. Токарева О.Г. Сравнительный анализ коэнзима Q10 методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим и электрохимическим детектированием / О.Г. Токарева, Е.В. Харитонов, Е.И. Каленикова // Человек и лекарство (Сборник материалов конгресса, тезисы докладов XIX Российского национального конгресса) Москва. – 2012. – С. 581.

20. Харитонов Е.В. ВЭЖХ-анализ плазменных уровней окисленной и восстановленной форм коэнзима Q₁₀ после внутривенного введения / Е.В. Харитонов, О.Г. Токарева // Актуальные вопросы медицинской науки (Сборник тезисов научных работ студентов и молодых ученых Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию профессора А.А. Чумакова) Ярославль. – 2012 – С. 348 – 349.

21. Токарева О.Г. Анализ коэнзима Q10 в биологическом материале методом ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием / О.Г. Токарева, Е.В. Харитонов // Актуальные вопросы медицинской науки (Сборник тезисов научных работ студентов и молодых ученых Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 70-летию профессора А.А. Чумакова) Ярославль. – 2012 – С. 350.

22. Kalenikova E. The pharmacokinetics and myocardial levels of coenzyme Q₁₀ after intramuscular injections of its solubilized form / E. Kalenikova, E. Gorodetskaya, E. Kharitonova, O. Medvedev // Journal of Hypertension e-Supplement A. (21th European Meeting on Hypertension and cardiovascular prevention) Italy, Milan. – 2011. V.29. – e319.

23. Medvedev O. The role of pharmacokinetic studies in development of drugs, containing endogenous compounds / O. Medvedev, E. Kalenikova, E. Gorodetskaya, A. Ivanov, E. Charitonova / Abstract book 2nd World Congress on Bioavailability & Bioequivalence: Pharmaceutical R & D Summit USA, Las Vegas. – 2011. –P. e98-98.

Список сокращений:

Коэнзим Q₁₀ (CoQ₁₀) – 2-[-(all-E)-3,7,11,15,19,23,27,31,35,39-Decamethyltetraconta-2,6,10,14,18,22,26,30,34,38-decaenyl]-5,6,-dimethoxy-3-methylbenzene-1,4-dion.

Убидекаренон – фармацевтическая субстанция коэнзима Q₁₀, действующее вещество фармацевтических композиций

Убихинон – окисленная форма CoQ₁₀, убидекаренон

Убихинол (CoQ₁₀H₂) –восстановленная форма CoQ₁₀, убидекаренона

TCoQ₁₀ – общий пул в биологическом материале (убихинон + убихинол)

БАД – биологически активная добавка

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография

ВЭЖХ-ЭХ – высокоэффективная жидкостная хроматография с электрохимическим детектированием

ВЭЖХ-СФ – высокоэффективная жидкостная хроматография со спектрофотометрическим детектированием

УФ-спектр – ультрафиолетовый спектр

Кудесан – препарат Кудесан[®] капли для приема внутрь 3%