

ИССЛЕДОВАНИЕ СОРБЦИИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ПЕРФТОРАНОМ

Н. Н. Пшенкина, О. М. Веселова, Е. В. Мурзина, Г. А. Софронов

Военно-медицинская академия имени С. М. Кирова, Санкт-Петербург

Investigation of Drugs' Adsorption by the Perfluorane

N. N. Pshenkina, O. M. Veselova, E. V. Murzina, G. A. Sofronov

S. M. Kirov Military Medical Academy, Saint Petersburg

Цель исследования – оценка сорбционной способности перфторана в отношении лекарственных веществ, принадлежащих к различным фармакологическим группам. **Материалы и методы.** В экспериментах *in vitro* с помощью метода равновесного диализа исследована степень связывания с перфтораном 50 лекарственных веществ, взятых в концентрациях от 12,5 до 100 мкМ. **Результаты.** Выявлены три типа взаимодействия лигандов с частицами эмульсии перфторана. Вещества первого типа характеризовались негативной тропностью к перфторану; лиганды второго типа вели себя индифферентно по отношению к эмульсии; соединения третьего типа обратимо сорбировались частицами кровезаменителя с константами взаимодействия K_{aff} порядка 10^4 M^{-1} . **Заключение.** Сорбционная активность перфторана в отношении лекарственных веществ проявляется неоднозначно и, по-видимому, зависит от свойств лигандов. Наиболее значимыми представляются взаимодействия третьего типа, результатом которых может стать увеличение сорбционной емкости крови и изменение фармакокинетики лекарств, используемых совместно с перфтораном. **Ключевые слова:** перфторан, связывание, лекарственные вещества, лекарственные взаимодействия.

Objective: to estimate the perfluorane adsorption capacity of the drugs belonging to different pharmacological groups. **Materials and methods.** The binding of perfluorane to 50 drugs at concentrations of 12.5 to 100 μM was studied *in vitro* using equilibrium dialysis. **Results.** Interactions of ligands with the particles of perfluorane emulsion were found to be of three types. Type 1 substances were characterized by negative affinity to perfluorane; type 2 ligands acted indifferently with the emulsion; type 3 compounds were reversibly adsorbed with the particles of the blood substitute by the affinity constants (K_{aff}) of 10^4 M^{-1} . **Conclusion.** The perfluorane adsorption capacity is ambiguous and seems to depend on the properties of ligands. Type 3 interactions, which may lead to an increase in blood adsorption capacity and change in the pharmacokinetics of drugs used in combination with perfluorane, appear to be the most important. **Key words:** perfluorane, binding, drugs, drug interactions.

Отечественный кровезаменитель с газотранспортной функцией перфторан зарекомендовал себя как эффективное средство лечения кровопотери, гипоксии и ишемии различной этиологии [1–4]. Антигипоксическая активность перфторана в значительной мере обусловлена его способностью транспортировать газы крови, что в сочетании с вазодилаторным NO-зависимым действием [5] обеспечивает эффективный газообмен на уровне микроциркуляции даже в тканях, находящихся в состоянии ишемии.

Современные схемы инфузионно-трансфузионной терапии предполагают использование кровезаменителя в комплексе с фармакотерапевтическими средствами. В этой связи проблема фармакокинетического взаимодействия перфторана и лекарственных веществ при их сочетанном использовании приобретает важное практическое значение. Возможность модификации

фармакокинетики некоторых лекарств на фоне инфузии перфторана продемонстрирована в экспериментальных исследованиях, ранее проведенных авторами [6, 7].

Представляется, что одним из механизмов, лежащих в основе модифицирующего эффекта перфторана на фармакокинетику лекарств в условиях их сочетанного использования, является сорбция лекарственных соединений частицами эмульсии перфторуглеродов. Высокая сорбционная способность перфторана в отношении эндогенных соединений, таких как белки, холестерин, фосфолипиды продемонстрирована работами А. Н. Склифас и соавт. [8], Е. В. Терешинной и соавт. [9, 10]. Возможность сорбции некоторых лекарств частицами перфторуглеродного кровезаменителя Fluosol была также показана в работах D. L. Parsons et al. [11, 12]. Вместе с тем, детальный анализ взаимодействия перфторуглеродных кровезаменителей и лекарственных веществ не проводился.

В связи с этим, целью настоящей работы стало исследование сорбционной способности перфторана в отношении лекарственных веществ, принадлежащих к различным фармакологическим группам, и используя

Адрес для корреспонденции (Correspondence to):

Пшенкина Надежда Николаевна
E-mail: pshenkina@mail.ru

щихся при нозологиях, имеющих показания к назначению перфторана.

Материал и методы

Сорбционную способность перфторана исследовали в отношении 50 лекарственных веществ, которые используются при лечении заболеваний и состояний, относящихся к нозологическим классам МКБ-10: некоторые инфекционные и паразитарные болезни, новообразования, болезни нервной системы, системы кровообращения, органов дыхания, пищеварения, костно-мышечной системы и соединительной ткани, мочеполовой системы; травмы, отравления некоторые другие последствия воздействия внешних причин, хирургическая практика.

Сорбционную активность перфторана оценивали с помощью метода равновесного диализа, используя полупроницаемые мембраны с размером пор 12–14 кДа, производства «Orange Scientific» (Бельгия). При проведении диализа внутрь диализной камеры вносили 5 мл перфторана и 0,5 мл раствора лекарственного вещества в диапазоне концентраций от 12,5 до 200 мкМ в расчете на конечную концентрацию в диализной системе. После преинкубации перфторана с лекарственным веществом пробы диализировали против 20 мл 0,1 М Na-фосфатного буфера pH 7,4 при комнатной температуре в течение 18 часов. В контрольных пробах вместо перфторана использовали фосфатный буфер. После окончания диализа концентрации лекарств определяли в диализатах контрольных и опытных проб по поглощению в области максимума, специфичного для исследуемого препарата. Количество связанного лекарства C_i рассчитывали как разность между полной концентрацией, внесенной в диализную систему, и концентрацией свободного препарата, определяемого в диализате:

$$C_i = L_0 - L_i (V_1 + V_2) / L_0 \quad (1),$$

где L_0 — полная концентрация лекарства, внесенного в систему; L_i — концентрация свободного лекарства, V_1 и V_2 — объемы внутренней и внешней камер, соответственно.

Расчет результатов и статистическую обработку данных проводили с использованием Microsoft Excel 2007 и статистического пакета SPSS v.17. Сопоставление данных, полученных для контрольных и опытных групп, проводили с применением t-критерия Стьюдента, статистически значимыми принимали межгрупповые различия при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

При исследовании сорбционной способности перфторана в отношении лекарственных соединений было выявлено три характерных типа взаимодействия, примеры которых приведены на рис. 1. Графики отражают изменение концентрации свободного лиганда после инкубации лекарственных веществ с перфтораном *in vitro*.

Графики изменения концентраций свободного диклофенака и верапамила являют собой пример взаимодействия субстанций, активно сорбирующихся частицами перфторана. Как видно на графике, концентрации свободных лигандов после инкубации с перфтораном снижаются приблизительно на 60–70%, что свидетельствует о значительном связывании верапамила и диклофенака частицами эмульсии. В случае пенициллина продемонстрировано взаимодействие перфторана с лекарственным веществом, слабо адсорбируемым частицами кровезаменителя. На примере пиретама показан случай, когда при инкубации препарата с перфтораном наблюдается кажущееся увеличение концентрации сво-

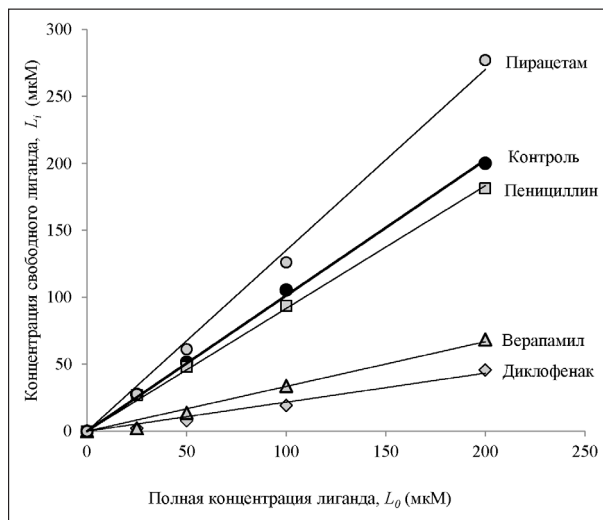


Рис. 1. Изменения концентраций свободных лекарственных веществ после их инкубации с перфтораном.

По оси абсцисс — полные концентрации лигандов в диализной системе, мкМ; по оси ординат — свободные концентрации лигандов, определяемые в диализате, мкМ.

бодного лиганда после инкубации с перфтораном. По-видимому, этот эффект обусловлен вытеснением гидрофильного лиганда из внутренней диализной камеры, содержащей перфторан, в результате чего концентрация лекарственного вещества в диализате увеличивается.

Важнейшими характеристиками обратимых реакций лиганд-рецепторного взаимодействия являются равновесная константа взаимодействия K_{aff} и число центров связывания лиганда n . Следует отметить, что под термином «рецептор» подразумевают не только макромоллекулы, но и другие структуры, способные связывать малые молекулы. Для расчета параметров лиганд-рецепторных взаимодействий широко применяется уравнение Скотчарда [13]:

$$C_i / L_i = K_{aff} (nR_0 - C_i) \quad (2),$$

где C_i — концентрация образовавшегося комплекса, L_i — концентрация свободного лиганда, R_0 — концентрация перфторана, n — число мест связывания. Решение уравнения получают путем построения графика в координатах C_i / L_i от C_i . Прямая, отражающая эту зависимость, имеет угол наклона, соответствующий — K_{aff} , пересекает ось ординат в точке $n \cdot K_{aff} \cdot R_0$, а ось абсцисс — в точке $n \cdot R_0$.

Характерные графики Скотчарда, полученные при исследовании связывания лекарств с перфтораном, показаны на рис. 2 на примере верапамила, диклофенака, кетопрофена, пенициллина и пиретама. Полученные результаты свидетельствуют о различной способности исследованных лекарственных веществ сорбироваться на поверхности частиц эмульсии. Для пиретама график Скотчарда имел положительный наклон и располагался в отрицательной области координат. В результате значения K_{aff} для препаратов, взаимодействующих с перфтораном по типу пиретама, приобретают отрицательные значения. Графики Скотчарда для кетопрофена и пенициллина имеют неболь-

шой отрицательный наклон и лежат в положительной области вблизи начала координат. Представители этой группы веществ, обнаруживающих связывание на уровне 10%, дают константу взаимодействия с перфтораном порядка 10^2 – 10^3 M^{-1} . Наконец, вещества третьей группы, активно взаимодействующие с перфтораном, на графике Скотчарда дают прямые с большим отрицательным углом наклона, пересекающие ось ординат в области высоких значений. На рис. 2 они представлены верапамилом и диклофенаком. Константы взаимодействия, рассчитанные для этих соединений составили $4,0 \cdot 10^4$ и $4,9 \cdot 10^4$ M^{-1} , соответственно.

Значения параметров взаимодействия с перфтораном, полученные при исследовании 50 лекарственных веществ, были подвергнуты дискриминантному анализу, в результате которого лекарственные вещества распределились на 3 группы (табл. 1). Первую группу составили вещества, обладающие негативной тропностью к перфторану, во вторую группу вошли соединения, слабо взаимодействующие с эмульсией, наконец, третья группа представлена соединениями, активно сорбирующимися частицами кровезаменителя.

Среднегрупповые значения параметров взаимодействия для сформированных групп приведены в табл. 2. Статистический анализ выявил различия с высоким уровнем значимости между группами препаратов по константам взаимодействия и степени связывания с перфтораном. Менее выраженные межгрупповые различия отмечены по числу мест связывания лигандов в расчете на частицу эмульсии. Различия по этому показателю между 2-й и 3-й группами не были статистически значимыми. Это объясняется тем, что препараты с низкой константой взаимодействия могут иметь высокий показатель числа мест связывания, и, напро-

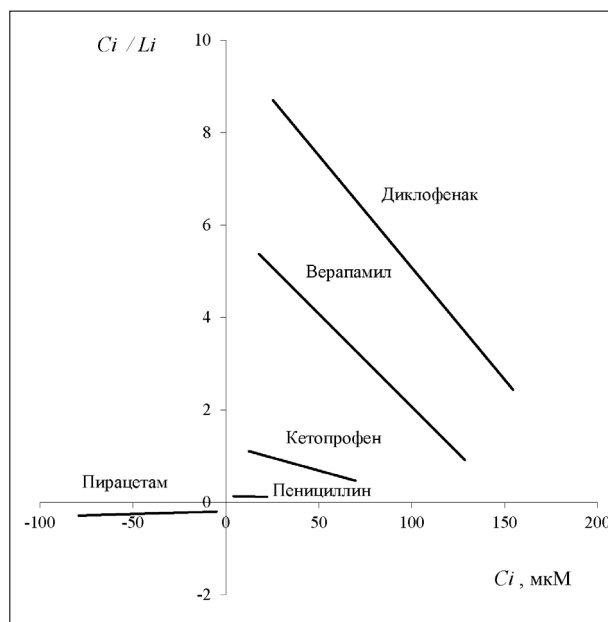


Рис. 2. Графики Скотчарда для взаимодействий с перфтораном верапамила, диклофенака, кетопрофена, пенициллина и пирацетама.

По оси абсцисс — концентрация связанного лиганда (мкМ); по оси ординат — отношение концентрации связанного лиганда к концентрации свободного.

тив, препараты, интенсивно сорбируемые эмульсией, могут иметь небольшое число мест связывания, но с высоким средством.

Пытаясь интерпретировать значение результатов, полученных *in vitro*, для взаимодействий в условиях организма, можно предположить, что параметры циркуляции и распределения препаратов 2-й группы не будут претерпевать существенных изменений при их совмест-

Таблица 1

Распределение лекарственных веществ по группам в зависимости от параметров их взаимодействия с перфтораном

1-я группа (отрицательное взаимодействие), <i>n</i> =13	2-я группа (слабое связывание), <i>n</i> =20	3-я группа (эффективное связывание), <i>n</i> =17
Амикацин	Ампициллин	Амитриптилин
Гентамицин	Атенолол	Бендазол
Кофеин	Бензилпенициллин	Варфарин
Метронидазол	Галантамин	Верапамил
Пентоксифиллин	Диоксидин	Винпоцетин
Пирацетам	Дифенгидрамин	Дексаметазон
Пирензепин	Ибупрофен	Диазепам
Ранитидин	Кеторолак	Диклофенак
Теофиллин	Лидокаин	Дротаверин
Фторурацил	Метамизол Na	Имипрамин
Цефазолин	Метоклопрамид	Кетопрофен
Цефотаксим	Метопролол	Клемастин
Этамзилат	Нимодипин	Папаверин
	Офлоксацин	Пирлиндол
	Прокаин	Прометазин
	Пропранолол	Фуросемид
	Хлорамфеникол	Хлоропирамин
	Ципрофлоксацин	
	Эмоксипин	
	Эналаприл	

Примечание. В таблице приведены международные непатентованные (генерические) названия лекарственных веществ.

Усредненные внутригрупповые значения параметров взаимодействия лекарственных веществ с перфтораном и статистика межгрупповых различий

Группа препаратов	Число веществ в группе	Константа взаимодействия, $K_{aff} (M^{-1})$	Число центров связывания, n	Степень связывания, %
1-я группа	13	$-1,3 \cdot 10^4 \pm 3,8 \cdot 10^3$	$27,1 \pm 15,6$	$-7,5 \pm 3,3$
2-я группа	20	$3,8 \cdot 10^3 \pm 8,4 \cdot 10^2$	$124,8 \pm 28,8$	$13,0 \pm 1,8$
3-я группа	17	$2,9 \cdot 10^4 \pm 4,7 \cdot 10^3$	$172,7 \pm 15,8$	$53,5 \pm 3,8$
t_{2-1}^*		4,20	2,98	5,34
t_{3-1}		6,82	6,56	11,98
t_{3-2}		5,20	1,46	9,59

Примечание. * — t -критерий Стьюдента оценки значимости различий между 2-й и 1-й группами, 3-й и 1-й, 3-й и 2-й, соответственно.

ном использовании с перфтораном. Для препаратов 1-й группы можно ожидать, что при их внутривенном введении может увеличиваться скорость перехода лекарства из крови в ткани, тогда как при внесистемном введении возможно замедление поступления лекарственного вещества в кровотоки. Препараты 3-й группы, напротив, будут ускоренными темпами поступать в кровотоки при внесистемном введении и дольше циркулировать в составе комплекса с перфтораном при их внутривенном введении. Можно ожидать, что скорость элиминации из крови при внутривенном введении лекарственных веществ 3-й группы будет снижена. В результате фармакологический эффект для препаратов этой группы может оказаться более продолжительным, но мягким, как при использовании пролонгированных лекарственных форм.

Чтобы в сравнительном аспекте оценить значимость сорбции лекарственных препаратов частицами эмульсии, обратимся к характеристикам препарата перфторан. По данным разработчиков, средний размер частиц эмульсии равен 50–70 нм, а площадь поверхности, образуемая частицами эмульсии составляет около 10–14 м² на 1 мл препарата [14]. Для сравнения площадь поверхности эритроцитов равна примерно 0,7 м² на 1 мл крови. Даже при инфузии кровезаменителя в дозе 5 мл/кг, когда разбавление перфторана кровью происходит примерно в 10 раз, площадь поверхности эмульсии все равно будет превышать площадь поверхности эритроцитов.

Результаты проведенных исследований показывают, что 1 л перфторана способен адсорбировать, в среднем, $2 \cdot 10^4$ М лекарственного вещества из числа представителей 3 группы, обладающих высоким средством. Для срав-

нения, в составе 1 л крови альбумин, концентрация которого составляет примерно 0,6 мМ, при расчете на один центр связывания лиганда в молекуле белка и при его 100% насыщении (чего в реальных условиях не бывает), может связать около $6 \cdot 10^4$ М лекарственного вещества. Как видим, сорбционная емкость перфторана представляет собой фактор, способный оказывать значимое влияние на фармакокинетические процессы распределения лекарств в организме. Это следует учитывать при комплексном применении кровезаменителя и фармакотерапевтических препаратов, особенно сильнодействующих.

Заключение

В результате исследования сорбционной активности перфторана в отношении 50 лекарственных веществ, принадлежащих к различным фармакологическим группам, выявлено три принципиальных типа взаимодействия лигандов с кровезаменителем. Вещества, отнесенные к первому типу, обнаруживают отрицательную тропность к эмульсии; второй тип взаимодействия можно определить как индифферентный; наконец, третий тип характеризуется выраженным средством к частицам перфторана.

В практическом отношении наибольшую значимость представляют взаимодействия третьего типа, результатом которых может стать изменение сорбционной емкости крови и изменение фармакокинетических параметров транспорта и распределения лекарственных веществ, используемых совместно с перфтораном в составе комплексной терапии.

Литература

1. Мороз В.В., Крылов Н.Л., Иванецкий Г.Р. и соавт. Применение перфторана в клинической медицине. Анестезиология и реаниматология 1995; 6: 12–17.
2. Голубев А.М. Перфторан — плазмозаменитель с функцией транспорта кислорода. Бюлл. эксперим. биологии и медицины 1998; 125 (5): 484–492.
3. Усенко Л.В., Царев А.В. Перфторан — современные реалии и перспективы. Общая реаниматология 2007; III (3/1): 5–7.
4. Maevsky E., Ivanitsky G., Bogdanova L. et al. Clinical results of perfloran application: Present and future. Artif. Cells Blood Subst. Immobil. Biotechnol. 2005; 33 (1): 37–46.
5. Rafikova O., Sokolova E., Rafikov R., Nudler E. Control of plasma nitric oxide bioactivity by perfluorocarbons. Physiological mechanisms and clinical implications. Circulation 2004; 110 (23): 3573–3580.
6. Пшенкина Н.Н., Андреева Н.Б., Мурзина Е.В. и соавт. Фармакокинетика ампициллина и амитриптилина в условиях предварительного введения перфторана. Вестн. Росс. Воен.-мед. академии 2005; 13 (1): 54–57.
7. Пшенкина Н.Н., Андреева Н.Б., Мурзина Е.В. и соавт. Сравнительный анализ влияния перфторана на фармакокинетику некоторых лекарственных средств. Общая реаниматология 2007; III (3/1): 25–30.
8. Скифас А.Н., Шехтман Д.Т., Евдокимов В.А. и соавт. Сорбция компонентов плазмы крови на поверхности частиц фторуглеродных эмульсий, стабилизированных проксанолом 268. Биофизика 2002; 47 (5): 926–932.
9. Терещина Е.В., Дорошина Н.Н., Озерова И.Н. и соавт. Некоторые аспекты взаимодействия эмульсий перфторорганических соединений с кровью. Хим.-фарм. журнал 1992; 26 (7–8): 14–17.

10. Терешина Е. В., Афонин Н. И. Особенности взаимодействия частиц эмульсии перфторсоединений с липидами в процессе циркуляции в кровеносном русле. Хим.-фарм. журнал 1994; 28 (8): 12–15.
11. Parsons D. L., Ravis W. R., Clark C. R. Binding of warfarin by human albumin in the presence of a perfluorochemical blood substitute. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1985; 277 (1): 4–14.
12. Parsons D. L. Perfluorochemical emulsion effect on warfarin binding by fraction V human albumin. Arch. Int. Pharmacodyn. Ther. 1987; 286 (1): 23–30.
13. Scatchard G. The attraction of proteins for small molecules and ions. Ann. NY. Acad. Sci. 1949; 51: 660–672.
14. Иваицкий Г. Р. Биофизические основы создания перфторуглеродных сред и газотранспортных кровезаменителей (обзор). В кн.: Перфторуглеродные соединения в биологии и медицине. Иваицкий Г. Р., Мороз В. В. (ред.). Пушино; 2001. 4–48.

Поступила 02.03.11

Календарь научных мероприятий на 2011 год

10–13 мая
Fifth World Congress
on the Abdominal Compartment Syndrome (WCACS)
Orlando, Florida www.wsacs.org

12–13 мая
IV Научно-практическая конференция
«Современные технологии и методы диагностики
различных групп заболеваний, лабораторный анализ»
Москва, Россия www.infomedfarmdialog.ru

13–18 мая
American Thoracic Society International Conference
Denver, Colorado www.thoracic.org

18–20 мая
XIII Международный конгресс по антимикробной
терапии МАКМАХ/ESCMID
Москва, Россия www.antibiotic.ru

19–20 мая
IV Конгресс московских хирургов
«Неотложная и специализированная
хирургическая помощь»
Москва, Россия www.infomedfarmdialog.ru

20–21 мая
VIII Всероссийская научно-методическая
конференция с международным участием
«Стандарты и индивидуальные подходы
в анестезиологии и реаниматологии»
Геленджик, Россия www.kubanesth.narod.ru

20–22 мая
60th International Congress of European Society
for Cardiovascular Surgery (ESCVS)
Moscow, Russia www.escvs2011.org

23–26 мая
11th Asian & Oceanic Society of Regional Anesthesia
and Pain Medicine Congress
Bali, Indonesia www.aosra2011.org

25–27 мая
III ежегодная конференция «Актуальные проблемы
анестезиологии и реаниматологии»
Великий Новгород, Россия www.anesth.ru

26–27 мая
Obstetric Anaesthesia 2011
Edinburgh, UK www.oaa-anaes.ac.uk

июнь
Международный (ежегодный) симпозиум
«Патогенез, диагностика
и лечение критических состояний»
Москва, Россия www.niiorramn.ru

11–14 июня
Euroanaesthesia 2011
Amsterdam, Netherlands
www.euroanaesthesia.org

15–17 июня
31st Congress on Anaesthesiology
and Intensive Care Medicine Scandinavian Society
of Anaesthesiology and Intensive Care
Bergen, Norway www.ssa2011.com

23–24 июня
IV Беломорский симпозиум
Архангельск, Россия www.anesth.ru

29–30 июня
IX Научно-практическая конференция
«Безопасность больного
в анестезиологии-реаниматологии»
Москва, Россия www.infomedfarmdialog.ru

23–29 июля
XXIIIrd Congress of the International Society
on Thrombosis and Haemostasis 57th Annual SSC Meeting
Kyoto, Japan www.isth2011.com

10–13 августа
Fifth World Congress on the Abdominal
Compartment Syndrome (WCACS)
Orlando, Florida, USA www.wcacs.org

3–6 сентября
33 Congress of Clinical Nutrition
and Metabolism (ESPEN Congres)
Goteborg, Sweden www.espen.org

7–10 сентября
XXX Annual ESRA Congress 2011
Dresden, Germany
www2.kenes.com/esra2011

12–14 сентября
VI съезд Межрегиональной Ассоциации общественных
объединений анестезиологов и реаниматологов
Северо-Запада совместно с медицинскими
сестрами-анестезистами
Санкт-Петербург, Россия www.anesth.ru

12–15 сентября
Шестой Российский конгресс
«Педиатрическая анестезиология и интенсивная терапия»
(Михельсоновские чтения)
Москва, Россия www.narkoz.ru