



Оригинальная статья/Research article

Исследование высвобождения лерканидипина из двухкомпонентного лекарственного препарата в комбинации с рамиприлом *in vitro* и *in vivo*

А. А. Шадрин^{1*}, Д. Ю. Ивкин¹, Е. В. Флисюк¹, И. Е. Смехова¹, Г. А. Плиско¹, А. А. Карпов²,
Е. Д. Семивеличенко¹

1 – ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный химико-фармацевтический университет» Минздрава России, 197376, Россия, Санкт-Петербург, ул. проф. Попова, д. 14, лит. А
2 – ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» Минздрава России, 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8

*Контактное лицо: Шадрин Алексей А. E-mail: aleksey.shadrin@pharminnotech.com

Статья получена: 19.03.2019. Статья принята к печати: 07.06.2019

Резюме

Введение. Артериальная гипертензия является наиболее распространенным неинфекционным заболеванием в мире. Новые клинические рекомендации по диагностике и ведению пациентов с артериальной гипертензией рассматривают вопрос назначения комбинированной терапии и отдают предпочтение фиксированным комбинациям препаратов в одной таблетке. Изучение фармакокинетики лекарственных веществ и учет их фармакокинетических параметров на сегодняшний день является необходимым этапом в комплексе работ, как при создании новых оригинальных лекарственных средств, так и при применении известных дженерических препаратов, и связано это прежде всего с получением объективных характеристик всех процессов, которые происходят в организме животного (человека) с препаратом. Фармакокинетику оценивают в отдельных исследованиях или как часть исследований эффективности, безопасности и переносимости.

Цель. Исследование высвобождения лерканидипина из двухслойных таблеток, содержащих две фармацевтические субстанции (рамиприл и лерканидипин), в среде растворения, используемой для контроля качества *in vitro* и высвобождения *in vivo*, при пероральном введении препарата кроликам.

Материалы и методы. Проведены исследования по высвобождению лерканидипина из комбинированного лекарственного препарата *in vitro* и *in vivo*. В качестве тест-системы были использованы лабораторные кролики породы советская шиншилла. Определены фармакокинетические параметры.

Результаты и обсуждение. Построен график высвобождения лерканидипина из комбинированного лекарственного препарата и выявлена зависимость концентрации данного вещества в плазме крови кроликов от времени. Рассчитаны фармакокинетические параметры. Исследование высвобождения *in vivo* показывает, что фармакокинетика лерканидипина соответствует данным литературы.

Заключение. Испытуемый препарат обладает всеми достоинствами рациональной фиксированной комбинации антигипертензивных средств и упрощает терапию, соответствует требованиям новейших клинических рекомендаций.

Ключевые слова: лерканидипин, рамиприл, артериальная гипертензия, двухслойные таблетки, высвобождение *in vitro*, фармакокинетика.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Вклад авторов. Автор А. А. Шадрин наработал и предоставил образцы лекарственного препарата для экспериментов; провел исследование по высвобождению лерканидипина из лекарственного препарата *in vitro*. Авторы А. А. Шадрин и Е. В. Флисюк разработали дизайн эксперимента. Авторы А. А. Шадрин, Е. В. Флисюк, И. Е. Смехова, Д. Ю. Ивкин и Е. Д. Семивеличенко обрабатывали полученные в ходе эксперимента данные и принимали участие в написании текста статьи. Авторы Д. Ю. Ивкин и Е. Д. Семивеличенко провели биологическую часть эксперимента. Автор Г. А. Плиско провел анализ биологических проб. Автор А. А. Карпов провел рентгенографию кроликов.

Для цитирования: Шадрин А. А., Ивкин Д. Ю., Флисюк Е. В., Смехова И. Е., Плиско Г. А., Карпов А. А., Семивеличенко Е. Д. Исследование высвобождения лерканидипина из двухкомпонентного лекарственного препарата в комбинации с рамиприлом *in vitro* и *in vivo*. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2019; 8(3): 14–20.

Study of Lercanidipine Drug Release from Medicine in Combination with Ramipril *in vitro* and *in vivo*

Aleksey A. Shadrin^{1*}, Dmitriy Y. Ivkin¹, Elena V. Flisyuk¹, Irina E. Smekhova¹, Grigoriy A. Plisko¹,
Andrey A. Karpov², Evgeniy D. Semivelichenko¹

1 – St. Petersburg State Chemical-Pharmaceutical University, 14A, Prof. Popov str., Saint-Petersbourg, 197376, Russia
2 – Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, 6-8, L'va Tolstogo str., Saint-Petersbourg, 197022, Russia

*Corresponding author: Aleksey A. Shadrin. E-mail: aleksey.shadrin@pharminnotech.com

Received: 19.03.2019. Accepted: 07.06.2019

Abstract

Introduction. Hypertension is the most common non-infectious disease in the world. New clinical recommendations for the diagnosis and management of patients with arterial hypertension are considering the issue of prescribing combination therapy and prefer fixed combinations of drugs in a single pill. The study of the pharmacokinetics of medicinal substances and the consideration of their pharmacokinetic parameters today is a necessary step in the complex of work, both in the creation of new original medicines and in the application of known generic drugs, and this is primarily due to obtaining objective characteristics of all processes occur in the body of the animal (human) with the drug. Pharmacokinetics is assessed in individual studies or as part of efficacy, safety, and tolerability studies.

Aim. The study of the release of lercanidipine from bilayer tablets containing two API (ramipril and lercanidipine) in the dissolution medium used for quality control *in vitro* and release *in vivo*, after oral administration of the drug to rabbits.

Materials and methods. Studies have been conducted on the release of lercanidipine from the combined drug *in vitro* and *in vivo*. As a test system were used laboratory rabbits Soviet chinchilla breed. Pharmacokinetic parameters were determined.

Results and discussion. A graph of the release of lercanidipine from the combined drug was constructed and the dependence of the concentration of this substance in the blood plasma of rabbits on time was revealed. Calculated pharmacokinetic parameters. An *in vivo* release study shows that the pharmacokinetics of lercanidipine are consistent with literature data.

Conclusion. The test drug has all the advantages of a rational fixed combination of antihypertensive drugs and simplifies therapy, meets the requirements of the latest clinical guidelines.

© Шадрин А. А., Ивкин Д. Ю., Флисюк Е. В., Смехова И. Е., Плиско Г. А., Карпов А. А., Семивеличенко Е. Д., 2019

© Shadrin A. A., Ivkin D. Y., Flisyuk E. V., Smekhova I. E., Plisko G. A., Karpov A. A., Semivelichenko E. D., 2019

Keywords: lercanidipine, ramipril, arterial hypertension, bi-layer tablets, dissolution *in vitro*, pharmacokinetics.

Conflict of interest: no conflict of interest.

Contribution of the authors. The author Aleksey A. Shadrin produced and provided drug samples for experiments; did the study of the release of lercanidipine from the drug *in vitro*. The authors Aleksey A. Shadrin and Elena V. Flisyuk developed the design of the experiment. The authors Aleksey A. Shadrin, Elena V. Flisyuk, Irina E. Smekhova, Dmitriy Y. Ivkin and Evgeniy D. Semivelichenko did experimental data processing and participated in the writing of the text of the article. The authors Dmitriy Y. Ivkin and Evgeniy D. Semivelichenko did the biological part of the experiment. The author Grigoriy A. Plisko did the analysis of the biological samples. The author Andrey A. Karpov made a radiography of rabbits.

For citation: Shadrin A. A., Ivkin D. Y., Flisyuk E. V., Smekhova I. E., Plisko G. A., Karpov A. A., Semivelichenko E. D. Study of lercanidipine drug release from medicine in combination with ramipril *in vitro* and *in vivo*. *Drug development & registration*. 2019; 8(3): 14–20.

ВВЕДЕНИЕ

Артериальная гипертензия (АГ) является наиболее распространенным неинфекционным заболеванием в мире и основной причиной для критических поражений сердечно-сосудистой системы, почек и головного мозга, в связи с чем, ВОЗ определяет борьбу с этим состоянием одним из приоритетных направлений, имеющих целью снижение глобальной заболеваемости и смертности [1]. Новые клинические рекомендации ESH/ESC (European Society of Hypertension/European Society of Cardiology) по диагностике и ведению пациентов с АГ рассматривают вопрос назначения комбинированной терапии и отдают предпочтение фиксированным комбинациям препаратов в 1 таблетке (single-pill therapy), за исключением пациентов низкого риска и пожилых астенизированных лиц («хрупкие» пациенты), которым рекомендована монотерапия. В этом свете задача создания эффективных и безопасных комбинаций, удобных для применения, становится чрезвычайно актуальной.

Абсорбция фармацевтической субстанции (ФС) из твердой дозированной формы при пероральном введении зависит от ее высвобождения из лекарственного препарата (ЛП), растворения или солиubilизации в физиологических условиях и проницаемости в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ). Вследствие критического характера первых двух из этих ступеней, растворение *in vitro* может быть использовано для предсказания поведения ФС *in vivo* [2].

Изучение фармакокинетики лекарственных веществ и учет их фармакокинетических параметров на сегодняшний день является необходимым этапом в комплексе работ, как при создании новых оригинальных лекарственных средств, так и при применении известных дженерических препаратов, и связано это прежде всего с получением объективных характеристик всех процессов, которые происходят в организме животного (человека) с препаратом, начиная с всасывания из места введения и заканчивая его выведением из организма. Изучение абсорбции, распределения, метаболизма и выведения лекарственного средства продолжается на протяжении всего процесса разработки. Фармакокинетику оценивают в отдельных исследованиях или как часть исследований эффективности, безопасности и переносимости [3].

Целью работы являлось исследование высвобождения лерканидипина из двухслойных таблеток, содержащих две ФС (рамиприл и лерканидипин), в среде

растворения, используемой для контроля качества *in vitro* и высвобождения *in vivo*, при пероральном введении препарата кроликам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Для исследования были использованы:

- **Реактивы**
Полисорбат 80 (Твин 80), Merck, кат. № 8.17061.
Натрия перхлорат (Натрия перхлорат 1-водный), для анализа, Panreac, Испания, кат. № 134387.
Спирт 96% (Этиловый спирт раствор для наружного применения и приготовления лекарственных форм 96%), ЗАО «БРЫНЦАЛОВ-А».
Хлористоводородная кислота (Кислота соляная), ХЧ, ОАО «Каустик», Россия.
Хлорная кислота, для анализа, Panreac, Испания, кат. № A0539.
Гепарин лития, GBO, Австрия.
- **Оборудование**
Тестер растворения «Agilent 708-DS», Agilent Technologies, США.
Хроматограф жидкостный «Waters 2695», Waters, США.
рН-метр лабораторный «Seven Easy pH S20-K» в комплекте с электродами, Mettler Toledo, Китай.
Хроматограф жидкостный с масс-спектрометрическим детектором «Flexar FX15», «SQ300» PerkinElmer, США.
Центрифуга настольная Z206A, HERMLE Labor-technik, Германия.
Интродюсер Jorgen KRUUSE, Дания.
- **Стандартный образец (СО)**
Лерканидипина гидрохлорид, Molcan, кат. № LCN00H, Канада, с. 150407. Количественное содержание – 99,4%.
- **Программное обеспечение**
Empower 2 Software, Waters Corporation, базовая лицензия: em7en01652.
Microsoft Excel – PKSolver, Zhang Y1, Huo M, Zhou J, Xie S, 2010 г.
- **Испытуемый препарат**, который представлял собой двухкомпонентный ЛП на основе 5 мг рамиприла и 10 мг лерканидипина для лечения АГ в виде двухслойной таблетки, покрытой пленочной оболочкой [4], где каждая ФС находится в отдельном слое с собственными вспомогательными веществами. Таким образом, готовый продукт представляет собой две спрессованные вместе таблетки (рисунок 1), покрытые сверху пленочной оболочкой.

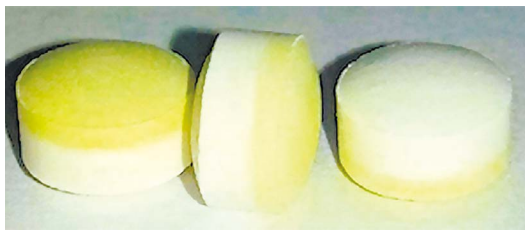


Рисунок 1. Двухслойные таблетки-ядра. Желтый цвет – слой с лерканидипином

Figure 1. Bi-layer tablet cores. The yellow color is the layer with lercanidipine

Слой с лерканидипином представляет собой полноценную двояковыпуклую таблетку диаметром 7 мм (рисунок 2).



Рисунок 2. Двухслойная таблетка в разрезе (4-х кратное увеличение)

Figure 2. Bi-layer tablet sectional (4-fold increase)

Образцы испытуемого препарата имеют эквивалентные референтным препаратам профили высвобождения действующих веществ [5].

Фармакокинетические исследования *in vivo* проводились по лерканидипину, так как рамиприл является пролекарством, что связано с определенными сложностями его ВЭЖХ-определения.

Лерканидипин – лекарственное средство для лечения АГ. Его субстанция (лерканидипина гидрохлорид) представляет собой желтый порошок, практически нерастворимый в воде и растворимый в метаноле. Относится к II классу биофармацевтической классификационной системы (БКС) [6].

- **Тест-система** по изучению фармакокинетических параметров

В качестве тест-системы были выбраны лабораторные кролики породы советская шиншилла (3 самца), массой тела около 3 кг, полученные из питомника ФГУП «ПЛЖ «Рапполово». Количество животных, использованных в исследовании, было достаточно для получения статистически достоверных результатов, и при этом было минимальным по биоэтическим принципам. Лабораторные кролики являются стандартной тест-системой в опытах по изучению фармакокинетических параметров как крупные животные, негрызуны [7]. Исследования на полноценном живом организме наиболее правильно и полно отражают всю полноту взаимодействий различных типов клеток, тканей и органов в организме человека [8].

Методика проведения теста растворения

Исследование кинетики растворения проводили в соответствии с требованиями ГФ XIII (ОФС.1.4.2.0014.15 Растворение для твердых дозированных лекарственных форм) и Руководству по экспертизе лекарственных средств [3].

Выбор условий для проведения теста «Растворение», которые способствуют постепенному и полному высвобождению действующих веществ из лекарственной формы, был основан на рекомендациях FDA (500 мл 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной (HCl) – для рамиприла) и экспериментальных данных: лерканидипин обладает низкой растворимостью и плохой смачиваемостью, поэтому в среду растворения добавляли поверхностно-активное вещество (ПАВ) и увеличивали ее объем до 900 мл. Таким образом, для растворения двухкомпонентных таблеток были выбраны следующие условия: аппарат II «Лопастная мешалка» со скоростью вращения мешалки 50 об/мин; среда растворения – 0,3% раствор полисорбата 80 в 0,1 М растворе HCl, объемом 900 мл и с температурой ($37 \pm 0,5$) °C; точки отбора проб: 5 мин, 10 мин, 15 мин, 30 мин, 45 мин.

Приготовление растворов

Среда растворения: 3,0 г полисорбата 80 растворяли в 1000 мл 0,1 М раствора HCl.

Буферный раствор pH 3,0: 21,1 г натрия перхлората помещали в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяли в 950 мл воды, доводили pH раствора хлорной кислотой разведенной до $3,00 \pm 0,05$, доводили объем раствора водой до метки, перемешивали и фильтровали через мембранный фильтр с диаметром пор не более 0,45 мкм.

Подвижная фаза (ПФ): смешивали буферный раствор с pH 3,0 и ацетонитрил в объемном соотношении 42 : 58.

Исходный раствор СО лерканидипина гидрохлорида: около 16 мг (точная навеска) СО лерканидипина гидрохлорида помещали в мерную колбу вместимостью 20 мл, прибавляли 15 мл спирта 96%, обрабатывали на ультразвуковой бане до полного растворения, не допуская нагревания выше 25 °C, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали.

Раствор СО лерканидипина гидрохлорида: 1,0 мл исходного раствора СО лерканидипина гидрохлорида помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем раствора средой растворения до метки, перемешивали и фильтровали через мембранный фильтр (RC) с диаметром пор 0,45 мкм.

Испытуемый раствор: в каждый сосуд для растворения помещали по 1 таблетке. Через указанные промежутки времени отбирали 10 мл раствора и фильтровали через мембранный фильтр (RC) с диаметром пор 0,45 мкм. Объем раствора восполняли средой растворения.

Количество действующего вещества, перешедшего в среду растворения, определяли методом ВЭЖХ. Колонку уравнивали подвижной фазой до достижения стабильной базовой линии. Хроматографировали раствор СО. Затем хроматографировали испытуемый раствор. Условия хроматографирования двухкомпонентных таблеток: колонка 250×4,6 мм, сорбент L1, 5 мкм; ПФ –буферный раствор рН 3,0 – ацетонитрил (42 : 58); скорость потока 0,7 мл/мин; температура колонки 40 °С; температура образцов 25 °С; детектор – УФ, 210 нм; объем вводимой пробы 50 мкл; изократический режим элюирования.

Количество лерканидипина, перешедшего в среду растворения из таблетки (X, %), вычисляли по общей формуле (1):

$$X = \frac{S \cdot a_0 \cdot P}{S_0 \cdot L}, \quad (1)$$

где S – площадь пика ФС на хроматограмме испытуемого раствора; S₀ – площадь пика ФС на хроматограмме раствора СО ФС; a₀ – навеска СО ФС, в миллиграммах; P – содержание ФС в СО ФС, в процентах; L – заявленное содержание ФС в таблетке, в миллиграммах.

При построении профиля высвобождения выполнялся ряд условий: учитывалось количество принимаемых в расчет точек и значение коэффициента вариации для первой и последующих временных точек [5].

Содержание животных, введение препарата, отбор и подготовка проб для биологического этапа исследования

Животные содержались в стандартных условиях в соответствии с санитарно-эпидемиологическими требованиями к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев) (утв. Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 29 августа 2014 г. № 51), Методическими указаниями по содержанию и использованию лабораторных животных (Guide for the care and use of laboratory animals. National Academy press. – Washington, D.C., 1996) и Директивой 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях, а также правилами, утвержденными Приказом Минздрава России от 01 апреля 2016 г. № 199н «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики».

Животные в период карантина и эксперимента содержались по 1 особи в металлических клетках для кроликов типа Eurora BIOSCAPE с пластиковым поддоном (ZOONLAB, Германия) (размер пола клетки 73×73 см, высота отсека 52 см). Данные условия содержания соответствуют требованиям Директивы 2010/63/EU европейского парламента и совета европейского союза от 22 сентября 2010 года по охране животных (площадь пола клетки не менее 4200 см² и высота не менее 45 см для кроликов массой от 3 до 5 кг).

Клетки оборудованы кормушками из нержавеющей стали, пластиковыми поилками и держателями этикеток. Подстил не использовался.

Кролики содержались в контролируемых условиях окружающей среды при температуре 17–23 °С и относительной влажности 30–70%. В комнатах содержания животных поддерживался 12 часовая цикл освещения и, по крайней мере, 10-ти кратная смена объема воздуха комнаты в час. Температура и влажность постоянно контролировались с помощью термогигрометров Testo 608-1Н.

Животные получали стандартный гранулированный корм «Полнораационный комбикорм для лабораторных кроликов и морских свинок» К-122, производства ООО «ЛАБОРАТОРКОРМ», Россия ad libitum в кормушку клетки (с лишением накануне введения препарата). Животным давалась вода, соответствующая СанПиН 2.1.4.1074-01 «Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Гигиенические требования к обеспечению безопасности систем горячего водоснабжения», приготовленная методом фильтрации водопроводной воды через систему фильтров Аквафор. Питьевая вода давалась ad libitum в стандартных питьевых бутылочках с полной заменой воды 3 раза в неделю. Образцы воды были проанализированы на микробиологическое загрязнение и химические элементы. Анализ проводился в ФБУЗ «Центр гигиены и эпидемиологии по железнодорожному транспорту» с периодичностью 1 раз в квартал.

Период адаптации животных составил 5 дней до начала введения. Во время этого периода осуществлялся ежедневный ветеринарный осмотр и визуальный контроль потребления корма и воды. Животных с отклонениями в период карантина зарегистрировано не было. Перед началом исследования все животные, прошедшие адаптацию, были включены в эксперимент, отклонение массы тела животных от среднего значения допускалось не более чем на 10%. Идентификационный номер был нанесен специальным нетоксичным маркером на внутреннюю поверхность уха животного. Каждая клетка была идентифицирована карточкой, содержащей следующую информацию: название исследования, номер исследуемой группы, пол и количество животных в клетке, а также индивидуальный номер животного.

Процедуры с животными были рассмотрены и утверждены биоэтической комиссией ФГБОУ ВО СПХФУ Минздрава России.

Пероральное введение двухслойной таблетки проводили при помощи интродьюсера. Диаметр таблетки составляет 7 мм, поэтому она вводилась целиком, без предварительного измельчения. Таблетку фиксировали в резиновом наконечнике, открывали рот кролика и помещали туда наконечник таблеткодавателя с ЛП на корень языка, надавливали на поршень и выталкивали таблетку, вынимали инструмент и закрывали рот животному, стимулируя сглатывание (рисунки 3).



Рисунок 3. Введение таблетки кролику: А – помещение таблетки в интродьюсер; В – введение таблетки; С – конечный результат

Figure 3. Introduction of the tablet to the rabbit: А – placing the tablet into the introducer; В – the introduction of the tablet; С – final result

Отбор образцов крови у кроликов проводили из краевой вены уха с помощью катетеров-бабочек с иглой размера 23G и вакуумных пробирок Vacuette с лития гепарином (GBO, Австрия), в объеме 1 мл в соответствии с графиком пробоотбора, представленным в таблице 1. Немедленно после отбора образцы крови центрифугировались. Для увеличения объема плазмы и более полного удаления форменных элементов крови центрифугирование проводилось в два этапа: на первом этапе: скорость – 1000 об/мин, время – 5 минут, $T = 15^\circ\text{C}$; на втором этапе: скорость – 3000 об/мин, время – 10 минут, $T = 15^\circ\text{C}$.

После центрифугирования плазму отбирали механическим дозатором в пробирки типа эппендорф объемом 2 мл и замораживали при температуре -40°C . Срок хранения образцов плазмы в замороженном состоянии не превышал 14 суток.

Таблица 1. График отбора проб

Table 1. Sampling schedule

Временная точка, ч	Доза 10 мг
0	•
0,083	•
0,25	•
0,5	•
0,75	•
1	•
1,5	•
2	•
3	•
4	•
5	•
6	•
7	•
8	•
10	•
12	•
24	•
36	•

Образцы плазмы крови размораживали в термостате при температуре $+37^\circ\text{C}$. После размораживания каждый образец в объеме 0,5 мл переносили в пробирку из боросиликатного стекла, для извлече-

ния вещества добавляли 0,2% раствор HCl и ацетонитрил для осаждения белков (по 100–200 мкл) до конечного объема в 3 мл при постоянном встряхивании. Затем пробирки центрифугировали 15 мин со скоростью 8000 об/мин при температуре $+15^\circ\text{C}$. Надосадочную жидкость из каждой пробы количественно переносили в мерную колбу объемом 5 мл и доводили до метки ацетонитрилом, после чего экстракт переливали в пластиковую пробирку с плотно закручивающейся крышкой. Полученные экстракты фильтровали, отфильтрованную фракцию помещали в хроматографическую вилу и анализировали на жидкостном хроматографе (Flexar FX15 (Perkin Elmer) с масс-спектрометрическим детектором SQ 300, США). Для оценки содержания лерканидипина HCl использовали колонку Kromasil 60-5 CN (150x4,0 мм, 5,0 мкм). Подвижная фаза состояла из ацетонитрила и 25 мм буфера дигидрофосфата калия (KH_2PO_4) ($\text{pH } 3,5 \pm 0,2$) с объемным соотношением 65 : 35 при скорости потока 1,0 мл/мин. Детектор был установлен на 242 нм и объем впрыска составлял 20 мкл. Калибровочная кривая была построена для концентраций в диапазоне от 0,5 до 25,0 мкг/мл.

Разведение ацетонитрильного экстракта учитывали при конечном расчете концентрации вещества в плазме.

Для описания фармакокинетики лерканидипина в плазме крови определяли следующие показатели:

- AUC_{0-36} – площадь под фармакокинетической кривой «концентрация–время» в интервале от 0–36 часов ($\text{нг} \cdot \text{ч}/\text{мл}$);
- $AUC_{0-\infty}$ – полная площадь под кривой ($\text{нг} \cdot \text{ч}/\text{мл}$);
- MRT – среднее время пребывания препарата в организме (ч);
- $T_{1/2}$ – период полувыведения препарата (ч);
- T_{max} – время установления максимальной концентрации (ч);
- C_{max} – величина максимальной концентрации ($\text{нг}/\text{мл}$).

Фармакокинетические параметры рассчитывали с помощью пользовательского приложения-макроса к программе Microsoft Excel – PKSolver (ver. 2.0, Zhang Yong, China) [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исследование *in vitro*

В таблице 2 и на рисунке 4 приведены результаты высвобождения лерканидипина из двухслойной таблетки.

Таблица 2. Количество лерканидипина перешедшего в раствор с течением времени из двухслойных таблеток

Table 2. The quantity of lercanidipine transferred into the solution from the bi-layer tablets in process of time

Время, мин	5	10	15	30	45
Количество лерканидипина перешедшего в раствор, %	29,22	62,40	83,66	95,04	96,37
RSD, %	3,15	2,83	1,90	2,48	2,66

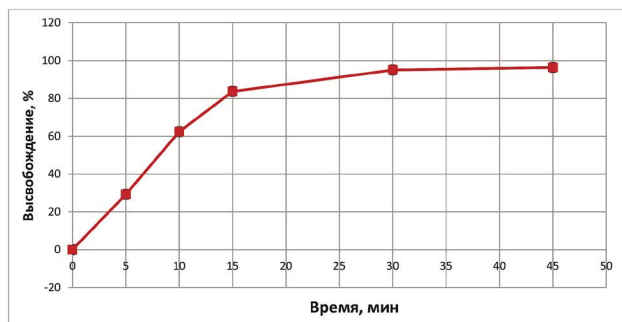


Рисунок 4. Профиль высвобождения лерканидипина из двухслойных таблеток

Figure 4. Profile release of lercanidipine from bi-layer tablets

Биологическая часть

После введения таблеток животным была проведена рентгенография для определения момента разрушения (распадаемости) исследуемого образца. Однако в связи с отсутствием в составе контрастных веществ, добавление которых изменило бы параметры всасывания ЛП, на рентгене таблетка не была обнаружена (рисунок 5).

Согласно данным литературы [10] при приеме лерканидипина человеком максимальная концентрация достигается через 1,5–3 ч, а выведение из организма



Рисунок 5. Рентгеновские снимки кроликов после перорального введения исследуемых таблеток

Figure 5. X-ray images of rabbits after oral administration of the test tablets

происходит за две фазы: через 2–5 ч (ранняя) и 8–10 ч (конечная). В данном исследовании аналогично прослеживается две фазы выделения: на графике (рисунок 6) это отражено резкими спадами концентрации в плазме во временных точках 2–3,5 ч и 5–6 ч, а также в точке 11 ч достижения половинной концентрации (т. е. полувыведения препарата из организма).

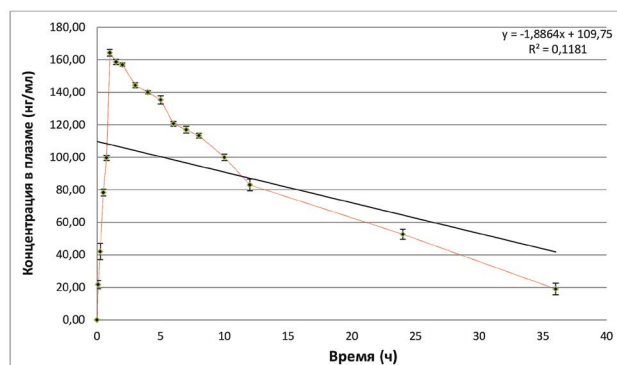


Рисунок 6. Зависимость концентрации вещества в плазме от времени

Figure 6. Dependence of substance concentration in plasma on time

Абсолютные расчетные значения фармакокинетических параметров приведены в таблице 3.

Согласно графику высвобождения лерканидипина из двухслойной таблетки *in vitro* и графику его высвобождения *in vivo*, концентрация в модельной среде растворения сопоставима с концентрацией в плазме крови животного. Однако несмотря на это, оба метода являются взаимодополняющими, а не взаимозаменяемыми.

Таблица 3. Фармакокинетические параметры

Table 3. Pharmacokinetic parameters

Параметр, ед. измерения	Значения
AUC_{0-4} , нг · ч/мл	2669,01
$AUC_{0-\infty}$, нг · ч/мл	2992,92
MRT, ч	16,86
$T_{1/2}$, ч	11,82
T_{max} , ч	1,00
C_{max} , нг/мл	164,33

Исследование высвобождения *in vivo* показывает, что фармакокинетика лерканидипина соответствует данным литературы.

К негативным эффектам лерканидипина, как представителя группы блокаторов кальциевых каналов дигидропиридинового ряда (БККдгп), можно отнести развитие отеков, компенсаторное увеличение частоты сердечных сокращений (ЧСС), усиление симпатических влияний. Эти побочные эффекты нивелируются рамиприлом, который, как ингибитор ангиотензинпревращающего фермента (иАПФ), снижает отечность, стабилизирует ЧСС и ослабляет симпатическое влияние. Таким образом, комбинация леркани-

дипина и рамиприла проявляет полную аддитивность эффектов, для комбинации БККдгп + иАПФ доказано снижение риска осложнений сердечно-сосудистых заболеваний. Кроме снижения выраженности побочных класс-эффектов, входящих в состав комбинации лекарственных веществ, для комбинаций характерны также следующие достоинства:

1. Простота назначения для врача и удобство для пациента, а также простота титрования доз, что повышает комплаентность больного. Предпочтение отдается препаратам, принимаемым 1 раз в сутки (лерканидипин + рамиприл), при увеличении числа приемов комплаентность уменьшается.
2. Возможность составляющих комбинации влиять на различные звенья патогенеза, потенцирование антигипертензивных эффектов за счет сочетания препаратов с разными механизмами антигипертензивного действия (аддитивный или синергический эффект), что позволяет лучше контролировать АД у больных с недостаточным ответом на один из компонентов.
3. Исключение возможности использования нерациональных комбинаций.
4. Уменьшение стоимости лечения, учитывая тот факт, что цена комбинированных препаратов обычно меньше, чем компонентов, прописываемых по отдельности [11].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведено исследование по высвобождению лерканидипина из двухслойной двухкомпонентной таблетки в комбинации с рамиприлом двумя способами – аналитическим (*in vitro*) и на животных, кроликах (*in vivo*). Были рассчитаны фармакокинетические параметры лерканидипина, выявлено соответствие результатов данным литературы. Испытуемый препарат обладает всеми достоинствами рациональной фиксированной комбинации антигипертензивных средств и упрощает терапию, соответствует требованиям новейших клинических рекомендаций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ионов М. В., Звартау Н. Э., Конради А. О. Совместные клинические рекомендации ESH/ESC 2018 по диагностике и ведению пациентов с артериальной гипертензией: первый взгляд. *Артериальная гипертензия*. 2018; 24(3): 351–358.
2. Смахова И. Е., Перова Ю. М., Кондратьева И. А. и др. Тест «растворение» и современные подходы к оценке эквивалентности лекарственных препаратов (обзор). *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2013; 1(2): 50–61.
3. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Т. I. – М.: Гриф и К. 2013: 328.
4. Шадрин А. А. Разработка технологии двухслойных таблеток, покрытых оболочкой, на основе фармацевтических субстанций – карбоновой кислоты и эфира карбоновой кислоты // Сборник материалов V Всероссийской научной конференции студентов и аспирантов с международным участием «Молодая фармация – потенциал будущего». Санкт-Петербург, 20–21 апреля 2015 г. – СПб.: Изд-во СПбХФА. 2015: 367–370.
5. Шадрин А. А., Флисюк Е. В., Смахова И. Е. Исследование кинетики растворения рамиприла и лерканидипина из комбинированного лекарственного препарата. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2016; 3(16): 30–34.
6. Электронная база данных BCS. Available at: <http://www.tsrlinc.net/search.cfm> (дата обращения 20.01.2019).
7. Руководство по лабораторным животным и альтернативным моделям в биомедицинских технологиях. Под ред.: Н. Н. Каркищенко и С. В. Грачева. М.: Профиль-2С. 2010: 358.
8. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая. М.: Гриф и К. 2012: 944.
9. Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comp Meth Prog Biomed*. 2010; 99(3): 306.
10. Инструкция по применению лекарственного препарата Занидип®-Рекордати. Рекордати Ирландия Лтд. Ирландия. *Государственный реестр лекарственных средств Российской Федерации*. Available at: <http://grls.rosminzdrav.ru> (дата обращения 20.01.2019).
11. Преображенский Д. В., Стеценко Т. М., Вышинская И. Д. Фиксированные и произвольные комбинации антигипертензивных препаратов: какие более предпочтительны для длительной терапии? *Consilium Medicum*. 2009; 5: 33–37.

REFERENCES

1. Ionov M. V., Zvartau N. E., Konradi A. O. First look at new 2018 joint ESH/ESC Guidelines on diagnosis and management of hypertension. *Arterial Hypertension*. 2018; 24(3): 351–358 (In Russ.).
2. Smekhova I. E., Perova Ju. M., Kondrat'eva I. A. et al. The «dissolution» test and modern approaches to the evaluation of drug equivalence (review). *Drug development & registration*. 2013; 1(2): 50–61 (In Russ.).
3. Guidelines for the examination of medicines. V. I. – M.: Grifi K. 2013: 328 (In Russ.).
4. Shadrin A. A. Development of the technology of two-layer coated tablets, based on pharmaceutical substances – carboxylic acid and carboxylic acid ester // Book of Abstracts of the V All-Russian Scientific Conference of Students and Postgraduates with International Participation «Young Pharmacy – Potential of the Future», St. Petersburg, April 20–21, 2015 – St. Petersburg: Publishing House of SPCPA. 2015: 367–370 (In Russ.).
5. Shadrin A. A., Flisyuk E. V., Smekhova I. E. Dissolution profile studies for ramipril and lercanidipine fixed-dose combination. *Drug Development & Registration*. 2016; 3(16): 30–34 (In Russ.).
6. BCS electronic database. Available at: <http://www.tsrlinc.net/search.cfm> (accessed 20.01.2019) (In Russ.).
7. Guidelines for the laboratory animals and alternative models in biomedical technologies. Edited by N. N. Karkishchenko and S. V. Grachev. M.: Profil-2S. 2010: 358 (In Russ.).
8. Guidelines for preclinical studies of drugs. Part one. M.: Grif and K., 2012: 944 (In Russ.).
9. Zhang Y., Huo M., Zhou J., Xie S. PKSolver: An add-in program for pharmacokinetic and pharmacodynamic data analysis in Microsoft Excel. *Comp Meth Prog Biomed*. 2010; 99(3): 306.
10. Medication package insert of the drug Zanidip®-Recordati, Recordati Ireland Ltd., Ireland. *State Register of Medicinal Products of the Russian Federation*. Available at: <http://grls.rosminzdrav.ru> (accessed 20.01.2019) (In Russ.).
11. Preobrazhenskij D. V., Stecenko T. M., Vyshinskaja I. D. Fixed and random combinations of antihypertensive drugs: which are more preferable for long-term therapy? *Consilium Medicum*. 2009; 5: 33–37 (In Russ.).