



## ИССЛЕДОВАНИЕ НЕКОТОРЫХ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ ЛЕКАРСТВЕННОГО СРЕДСТВА РАДЕВИТ® АКТИВ

**К.С. Гузев**  
**С.А. Жучков**  
**В.Г. Никитин**

*ЗАО «Ретиноиды», г. Москва*

*e-mail: guzevz@yandex.ru*

В статье изложены экспериментальные данные по количественному определению жирорастворимых витаминов в крови крыс после однократной аппликации на кожу мази Радевит® актив и в/б введении масляного раствора эквивалентных количеств витаминов. Установлено, что при анализе экстрактов сыворотки крови на хроматограммах испытуемого раствора пиков, соответствующих 1 $\alpha$ ,25-дигидроксивитамина D<sub>3</sub>, не обнаружено. По результатам анализа ретинола пальмитата и  $\alpha$ -токоферола ацетата рассчитаны их основные фармакокинетические показатели, которые свидетельствуют, что при использовании препарата Радевит® актив относительная биодоступность этих субстанций выше, чем при в/б введении масляного раствора.

Ключевые слова: ретинола пальмитат,  $\alpha$ -токоферола ацетат, колекальциферол, препарат Радевит® актив, масляный раствор, кровь, фармакокинетика, всасывание, выделение.

Под товарным знаком Радевит®, владельцем которого является ЗАО «Ретиноиды», планируется выпуск крема для наружного применения, в состав которого входят жирорастворимые витамины: ретинола пальмитат (1%),  $\alpha$ -токоферола ацетат (0,5%) и колекальциферол (0,005%). Препарат Радевит® актив предназначен для ухода за здоровой кожей и для лечения кожных заболеваний. Он обладает репаративным, противовоспалительным и противозудным действием, нормализует процессы ороговения, усиливает защитную функцию кожи. Рекомендуются для комплексной терапии у больных ихтиозом и ихтиозиформными дерматозами, при лечении себорейного дерматита, трещин, эрозий и ожогов кожи, неинфицированных ран и язв, экзем, атопического дерматита, нейродермита, аллергического контактного дерматита (вне стадии обострения), псориаза, сухости кожи, а также для применения в качестве профилактики рецидивов хронических воспалительных и аллергических заболеваний кожи, после прекращения лечения глюкокортикостероидами (в подострый период), при легко раздражимой коже, в том числе с повышенной чувствительностью к косметическим средствам.

Целью данной работы является изучение фармакокинетики фармацевтических субстанций, входящих в лекарственное средство Радевит® актив.

**Материалы и методы исследования.** Исследование проводили на половозрелых аутбредных крысах-самцах в возрасте 1,5–2 месяца, полученных из филиала ГУ НЦ биомедицинских технологий РАМН «Столбовая» и выдержанных в карантине в течение двух недель до начала экспериментов. опыты проводились в условиях вивария ЗАО «Ретиноиды». Все параметры содержания животных (температура, влажность, освещённость, корм, вода и др.) стандартизированы и соответствовали «Санитарным правилам по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» (1973). Уход за животными и выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями «Правила проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР от 12.08.1977 г. № 755).

Изучали изменения концентраций ретинола пальмитата (РП),  $\alpha$ -токоферола ацетата (ТА) и 1 $\alpha$ ,25-дигидроксивитамина (2ОНD<sub>3</sub>) метаболита колекальциферола (D<sub>3</sub>) в крови крыс-самцов после однократного накожного нанесения в межлопаточной области спины 0,5 г/жив. препарата Радевит® актив и однократного внутрибрюшинного введения 0,5 г/жив. масляного раствора, содержащего 1% РП, 0,5% ТФ и 0,005% D<sub>3</sub>. В качестве контроля наблюдались интактные животные и крысы, получавшие внутрибрюшинно растительное масло. За 18 часов до забора крови у животных изымали корм. Эксперимент начинали в 8 часов утра. В течение этого времени животные полу-



чали только воду. Забор крови осуществляли из подъязычной вены в объеме 5-6 мл через 0,5, 1, 2, 4, 6, 24 и 48 ч в центрифужные пробирки. На каждую точку по 6 особей. Пробирки выдерживали при комнатной температуре в течение 20-30 минут и затем центрифугировали в течение 10 минут при 3000 об/мин. Полученную сыворотку замораживали и хранили в холодильнике при  $-20^{\circ}\text{C}$  до проведения анализа. О динамике всасывания компонентов препарата Радевит® актив судили по изменению концентрации в сыворотке крови экспериментальных животных РП, ТА и 2ОНД<sub>3</sub>.

Количественное определение РП, ТА и 2ОНД<sub>3</sub> в сыворотке крови проводили с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Определение ретинола пальмитата и  $\alpha$ -токоферола ацетата. 0,1 мл сыворотки крови смешивали с 0,3 мл этилового спирта и обрабатывали ультразвуком в течение 1 мин. Затем добавляли 0,7 мл н-гексана, обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин, периодически встряхивая, и центрифугировали в течение 5 мин при 1000 об/мин. Органическую фазу отбирали, переносили в конические пробирки и упаривали досуха в токе азота при комнатной температуре. Сухой остаток растворяли в 100 мкл метилового спирта и 50 мкл полученного раствора вводили в хроматограф. Использовали колонку Luna C18(2), 5 мкм (4,6x150 мм). Элюирующая система – метанол (100%), скорость потока – 1 мл/мин. Детектирование  $\alpha$ -токоферола ацетата осуществляли при 280 нм, ретинола пальмитата – при 325 нм.

Расчет содержания витаминов в сыворотке крови осуществляли методом внешнего стандарта. Растворы ретинола пальмитата и  $\alpha$ -токоферола ацетата с известной концентрацией обрабатывали аналогично пробам сыворотки крови.

Определение 2ОНД<sub>3</sub>. 1 мл сыворотки крови смешивали с 3 мл этилового спирта и обрабатывали ультразвуком в течение 1 мин. Затем добавляли 7 мл н-гексана, обрабатывали ультразвуком в течение 5 мин, периодически встряхивая, и центрифугировали 5 мин при 1000 об/мин. Органическую фазу отбирали, а водную фазу повторно экстрагировали 5 мл н-гексана. Органические фазы объединяли и упаривали досуха в токе азота при комнатной температуре, остаток растворяли в 100 мкл смеси н-гексан – изопропиловый спирт (80:20). Предварительную хроматографическую очистку экстракта осуществляли на колонке (4,6x250 мм). Элюирующая система н-гексан – изопропиловый спирт (80:20). Фракцию, содержащую 1 $\alpha$ ,25-дигидроксивитамин D<sub>3</sub> (по времени выхода стандарта), собирали в конические пробирки, упаривали досуха в токе азота, остаток растворяли в 100 мкл метилового спирта, и 50 мкл раствора вводили в хроматограф. Использовали колонку Luna C18(2), 5 мкм (4,6x150 мм), элюирующая система – метанол (100%), скорость потока – 1 мл/мин. Детектирование осуществляли при 265 нм.

Расчет фармакокинетических параметров препарата Радевит® актив проводили с помощью компьютерной программы Askid (Дорохов В.В. и Холодов Л.Е. 1996 г.). При расчётах использовали одночастевую модель с всасыванием.

Статистическую обработку полученных данных осуществляли в программе Microsoft Excel®. Правильность выбранной математической модели подтверждали максимальным совпадением фактического и расчетного содержания РП, ТА и 2ОНД<sub>3</sub> в сыворотке крови животных.

**Результаты и их обсуждение. Колекальциферол.** При анализе экстрактов сыворотки крови на хроматограммах испытуемого раствора пиков, соответствующих 2ОНД<sub>3</sub>, не обнаружено. При этом на хроматограмме стандартного раствора пик отчетливо виден, из чего следует, что содержание 2ОНД<sub>3</sub> находится ниже предела обнаружения. Колекальциферол является естественным компонентом кожи. Количество образования активных метаболитов колекальциферола в организме обратно пропорционально накоплению его в гепатоцитах и др. тканях. Т.е., чем больше его накопления в организме, тем меньше происходит образование его активных метаболитов. Поэтому его одноразовая доза не должна более чем в 10 раз превышать физиологическую дозу, то есть 5000 МЕ [1–3]. По-видимому, это и объясняет полученный результат.

**Ретинола пальмитат.** Из результатов анализа, представленных в табл. 1, видно, что начальное содержание РП в крови экспериментальных животных находится на уровне 0,7 мкг/100 мл. При однократном внутрибрюшинном введении масляного рас-



твора его концентрация в кровяном русле уже через 0,5 часа увеличивается практически в 10 раз ( $7,58 \pm 1,04$  мкг/100 мл). В дальнейшем её рост отмечается на протяжении 2 часов. В продолжение следующих 2 часов она сохраняется на постоянном уровне. Через 6 часов отмечается достоверное снижение уровня РП в крови крыс, которое продолжается в течение следующих 48 часов. При этом концентрация РП снижается практически до первоначального уровня.

Таблица 1

**Концентрация ретинола пальмитата (мкг/100 мл) в сыворотке крови крыс после однократного внутрибрюшинного введения масляного раствора и однократной аппликации на кожу мази Радевит®актив (n=6)**

Время взятия крови, ч	Концентрация ретинола пальмитата (мкг/100 мл)	
	Масляный раствор	Препарат Радевит®актив
Интактные животные	$0,74 \pm 0,06$	$0,78 \pm 0,19$
0,5	$7,58 \pm 1,04$	$1,00 \pm 0,39$
1	$37,8 \pm 0,90$	$54,70 \pm 3,13$
2	$63,3 \pm 25,1$	$110,4 \pm 28,0$
4	$61,3 \pm 22,1$	$78,07 \pm 8,23$
6	$28,6 \pm 2,6$	$13,84 \pm 1,08$
24	$8,00 \pm 1,41$	$3,33 \pm 0,61$
48	$1,37 \pm 0,22$	$0,73 \pm 0,41$

Всасывание РП при однократной аппликации на кожу препарата Радевит®актив происходит с некоторым замедлением. Увеличение его содержания в крови животных отмечается лишь через 1 час ( $54,70 \pm 3,13$  мкг/100 мл). Через 2 часа обнаруживается его максимальная концентрация в кровотоке крыс –  $110,4 \pm 28,0$  мкг/100 мл. Через 4 часа после нанесения мази его концентрация начинает снижаться, и это снижение продолжается на протяжении последующих 48 часов.

Таким образом, полученные экспериментальные данные свидетельствуют, что при однократном внутрибрюшинном введении масляного раствора РП поступает в кровь довольно быстро. Его максимальное содержание в крови наступает через 2 часа после введения и через «плато», продолжающееся до 4 часов, начинает снижаться, достигая к 48 часам первоначального значения. Всасывание РП из препарата идёт с некоторым замедлением. Кроме того, отмечено, что его максимальная концентрация в крови практически в 2 раза выше, чем при внутрибрюшинном введении, но снижение его высокого уровня начинается уже через 4 часа после нанесения препарата.

**α-Токоферола ацетат.** Содержание ТА в крови в группе интактных животных находится в пределах от 170 до 200 мкг/100 мл (табл. 2). После однократного внутрибрюшинного введения масляного раствора его концентрация в крови через 0,5 часа достигает 265 мкг/100 мл. Максимальная концентрация ТА в крови обнаружена через 2 ч ( $603,6 \pm 141,7$  мкг/100 мл) и сохраняется в течение 6 часов после введения. Через 24 часа обнаружено снижение уровня витамина Е до  $229,4 \pm 16,9$  мкг/100 мл. Через 48 часов концентрация ТА снижается до первоначального уровня.

Таблица 2

**Концентрация α-токоферола ацетата (мкг/100 мл) в сыворотке крови крыс после однократного внутрибрюшинного введения масляного раствора и однократного нанесения на кожу препарата Радевит®актив (n = 6)**

Время взятия крови, ч	Концентрация α-токоферола ацетата (мкг/100 мл)	
	Масляный раствор	препарат Радевит®актив
Интактные животные	$170,5 \pm 8,8$	$200,3 \pm 14,3$
0,5	$265,5 \pm 41,2$	$211,4 \pm 18,8$
1	$587,9 \pm 75,6$	$211,2 \pm 7,6$
2	$603,6 \pm 141,7$	$265,5 \pm 15,2$
4	$512,9 \pm 150,0$	$346,2 \pm 27,2$
6	$560,2 \pm 110,1$	$250,1 \pm 53,4$
24	$229,4 \pm 16,9$	$240,5 \pm 29,7$
48	$178,3 \pm 16,0$	$229,5 \pm 58,0$



При однократной аппликации на кожу препарата всасывание ТА идёт более медленно. Рост концентрации витамина Е обнаруживается лишь ко второму часу ( $265,5 \pm 15,2$  мкг/100 мл). Максимальное содержание ТА в крови, равное  $346,2 \pm 27,2$  мкг/100 мл, отмечено через 4 часа после аппликации препарата. Затем оно медленно снижается, достигая практически первоначального уровня к 48 часам.

Таким образом, поступление в кровь ТА при однократном внутривенном введении в виде масляного раствора идёт довольно активно уже в первые часы после введения препарата. Его максимальное содержание наблюдается через 2 часа и сохраняется на этом уровне в течение 6 часов. Через 48 часов количество ТА в крови снижается до первоначального уровня. При однократном нанесении препарата на кожу рост концентрации в крови ТА отмечается лишь к 2 часам, что свидетельствует о замедленном его всасывании из препарата. Максимальное содержание обнаружено через 4 часа. Уже через 6 часов после аппликации препарата концентрация витамина Е в крови крыс снижается до базового уровня.

Результаты расчетов основных фармакокинетических параметров представлены в табл. 3 и 4.

Таблица 3

**Основные параметры фармакокинетики ретинола пальмитата после однократного в/б введения масляного раствора, содержащего ретинола пальмитат,  $\alpha$ -токоферола ацетат и холекальциферол, и аппликации препарата Радевит® актив**

Параметр	Единица измерения	Величина	
		Масляный раствор	Препарат Радевит® актив
Константа всасывания (резорбции)	1/ч	0,0056	0,0077
Константа выделения (элиминации)	1/ч	0,0056	0,0072
Максимальная концентрация	мкг/мл	0,49	0,81
Время наступления максимальной концентрации	ч	2,66	2,1
Период полувыведения	час	2,30	1,6
Клиренс	мл/мин	397	336
Объем распределения	мл	78978	46690
Площадь под кривой	мкг/ч/мл	251	297
Относительная биодоступность	%	100	118

Таблица 4

**Основные параметры фармакокинетики  $\alpha$ -токоферола ацетата после однократного в/б введения масляного раствора, содержащего ретинола пальмитат,  $\alpha$ -токоферола ацетат и холекальциферол, и аппликации препарата Радевит® актив**

Параметр	Единица измерения	Величина	
		Масляный раствор	Препарат Радевит® актив
Константа всасывания (резорбции)	1/ч	0,0251	0,0199
Константа выделения (элиминации)	1/ч	0,0008	0,0002
Максимальная концентрация	мкг/мл	5,89	2,95
Время наступления максимальной концентрации	ч	2,08	6,02
Период полувыведения	час	14,5	59,0
Клиренс	мл/мин	11,94	6,25
Объем распределения	мл	15003	32212
Площадь под кривой	мкг/ч/мл	8373	16001
Относительная биодоступность	%	100	191%

Анализ рассчитанных параметров фармакокинетики РП показывает, что как при в/б введении масляного раствора, так и при аппликации на кожу препарата РП быстро поступает в кровь и выводится из неё. Об этом свидетельствуют низкие значения констант всасывания и выделения. Максимальная концентрация РП в крови животных при в/б введении масляного раствора равняется  $0,49$  мкг/мл, против



0,81 мкг/мл при аппликации препарата. Т.е. при использовании препарата максимальная концентрация субстанции в крови на 40 % выше, чем при введении масляного раствора.

Следует отметить и тот факт, что время достижения максимальной концентрации при аппликации препарата составляет 2,1 ч, в то время как при введении масляного раствора – 2,66 ч, несмотря на отмеченное нами ранее некоторое замедление поступления РП в кровь животных при аппликации препарата. При в/б введении масляного раствора освобождение крови от лекарственного вещества идёт с большей скоростью. Об этом свидетельствуют значения клиренса, которые при аппликации препарата на 15 % ниже в сравнении с введением раствора. В итоге, площадь под фармакокинетической кривой при аппликации препарата составляет 297 мкг/ч/мл, а при введении масляного раствора – 251 мкг/ч/мл. Анализ этого показателя свидетельствует, что относительная биологическая доступность РП из препарата на 18 % выше, чем при в/б введении масляного раствора.

Анализ рассчитанных параметров фармакокинетики ТА свидетельствует, что исследуемая субстанция при в/б введении поступает в кровь с большей скоростью, чем при аппликации препарата. Согласно расчётам максимальная концентрация ТА наступает через 2,08 часа и составляет 5,89 мкг/мл, при аппликации препарата – через 6,02 часов и составляет – 2,95 мкг/мл, что в два раза меньше. Фаза выделения вещества при в/б введении смеси характеризуется константой элиминации, равной 0,0008 1/ч, периодом полувыведения в 14,5 часов и общим клиренсом в 11,94 мл/мин. При аппликации препарата Радевит®актив выделение ТА идёт медленнее. Константа элиминации, описывающая скорость снижения концентрации, составляет 0,0002 1/ч, что в 4 раза меньше, чем при в/б введении масляного раствора. Период полувыведения увеличивается в 4 раза и составляет 59 часов. При этом в 2 раза снижается клиренс – показатель скорости очищения биологических жидкостей и тканей организма от препарата. Все эти параметры свидетельствуют, что несмотря на быстрое поступление ТА в кровь и высокое его содержание в крови при в/б введении различная кинетика его элиминации в значительной степени влияет на его биологическую доступность. Расчёт площади под «фармакокинетической кривой» при различных путях введения ТА свидетельствует, что при использовании препарата Радевит®актив она в 2 раза выше, чем при введении масляного раствора. Это в свою очередь увеличивает относительную биодоступность ТА из препарата на 91 % по сравнению с в/б введением масляного раствора.

Таким образом, поступление в кровь ТА при в/б введении масляного раствора идёт с большей скоростью. При этом время наступления максимальной концентрации в 3 раза меньше, а абсолютное значение максимальной концентрации в 2 раза больше. Однако кожный путь нанесения препарата Радевит®актив изменяет фазу его выделения, в результате чего в 2 раза увеличивается площадь под фармакокинетической кривой и на 91 % повышается его относительная биодоступность.

**Выводы. 1.** При анализе экстрактов сыворотки крови на хроматограммах испытуемого раствора пиков, соответствующих 1 $\alpha$ ,25-дигидроксивитамину D<sub>3</sub>, не обнаружено.

2. После однократной аппликации препарата Радевит®актив в кровотоки наиболее быстро и полно поступает ретинола пальмитат, незначительно повышается концентрация в крови  $\alpha$ -токоферола ацетата.

3. Относительная биодоступность витамина А при использовании препарата Радевит®актив выше на 18 %, чем при внутрибрюшинном введении масляного раствора.

4. Поступление  $\alpha$ -токоферола ацетата через кожу сопровождается изменением его фармакокинетики в сторону удлинения фазы выведения.

5. Относительная биологическая доступность ретинола пальмитата и  $\alpha$ -токоферола ацетата полностью согласуется с экспериментальными данными, полученными ранее при исследовании препарата Радевит® (рег. номер РN000330/01).

6. Применение препарата Радевит®актив, содержащего ретинола пальмитат,  $\alpha$ -токоферола ацетат и холекальциферол, целесообразно осуществлять вечером, перед сном.



### Литература

1. Шварц, Г.Я. Витамин D и D-гормон./ Г.Я. Шварц. – М.: Из-во «Анахарсис», 2005. – 150 с.
2. Saarem, K. 25-Hydroxylation of 1- $\alpha$ -hydroxyvitamin D-3 in rat and human liver / K. Saarem, Jan I. Pedersen // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*. – General Subjects. 1985. – V. 840. – № 1. – P. 117–126.
3. Transport of Vitamin D, from Rat Intestine. / S. Dueland [et al.] // *J. Biological Chemistry*. 1982. – V. 257, №. 1. – P. 146–150.

## STUDY OF SOME PHARMACOKINETIC PARAMETERS OF DRUG RADEVIT® ACTIVE

**K.S. Guzev**  
**S.A. Zhuchkov**  
**V.G. Nikitin**

*“Retinoids”, Moscow*

*e-mail: guzev3@yandex.ru*

The article presents experimental data for quantification of fat-soluble vitamins in the blood of rats after a single application to the skin ointments Radevit®active and intraperitoneal injection of an oil solution of equivalent amounts of vitamins. Established that the analysis of extracts of blood serum in the chromatograms of the test solution peaks corresponding to 1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> wasn't found. According to the analysis of retinol palmitate and  $\alpha$ -tocopherol acetate were calculated their main pharmacokinetic parameters, which indicate that when using the drug Radevit®active relative bioavailability of these substances is higher than after intraperitoneal injection of oil solution.

Key words: retinol palmitate,  $\alpha$ -tocopherol acetate, colecalciferol, Radevit®active, oil solution, blood, pharmacokinetics, absorption, selection.