

Для цитирования: Наровлянский, А.Н. Изучение параметров всасывания в кровотоки и выведения препарата Гамавит после однократного введения лабораторным мини-свиньям / А.Н. Наровлянский, А.В. Санин, В.В. Смирнов, А.Ю. Савченко, Г.В. Раменская, В.Ю. Санина, Т.Н. Кожевникова, В.С. Козлов, И.К. Зубашев, Е.В. Герасимова, А.В. Пронин // Российский ветеринарный журнал. — 2021. — № 3 — С. 34–42. DOI: 10.32416/2500-4379-2021-3-34-42
 For citation: Narovljanskij A.N., Sanin A.V., Smirnov V.V., Savchenko A.Yu., Ramenskaya G.V., Sanina V.Yu., Kozhevnikova T.N., Kozlov V.S., Zubashev I.K., Gerasimova E.V., Pronin A.V., Study of the parameters of absorption into the bloodstream and excretion of the drug Gamavit after a single administration to laboratory mini-pigs, Rossijskij veterinarnyj zhurnal (Russian veterinary journal), 2021, No. 3, pp. 34–42. DOI: 10.32416/2500-4379-2021-3-34-42

УДК 619:615
 DOI 10.32416/2500-4379-2021-3-34-42
 RAR

Изучение параметров всасывания в кровотоки и выведения препарата Гамавит после однократного введения лабораторным мини-свиньям

А.Н. Наровлянский¹, доктор биологических наук, профессор, зав. лаб. цитокинов ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России, (narovl@yandex.ru),

А.В. Санин¹, доктор биологических наук, профессор, зав. лаб. клеточного иммунитета ФГБУ «ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (saninalex@inbox.ru),

В.В. Смирнов², доктор фармацевтических наук, заведующий лабораторией клинической фармакологии, ФГБУ «ГНЦ институт иммунологии» ФМБА России (vall@mail.mipt.ru),

А.Ю. Савченко³, ведущий научный сотрудник лаборатории фармакомоделирования ФГБУН НЦБМТ ФМБА России (alursav@mail.ru),

Г.В. Раменская⁴, доктор фармацевтических наук, профессор, директор Института фармации ФГАОУ ВО Первого МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (ramenskaia@mail.ru),

В.Ю. Санина¹, кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаб. клеточного иммунитета ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи (valentina.sanina1846@gmail.com),

Т.Н. Кожевникова¹, кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаб. клеточного иммунитета ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи (tatiana140663@gmail.com),

В.С. Козлов¹, кандидат химических наук, научный сотрудник лаб. цитокинов ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи,

И.К. Зубашев¹, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник лаб. цитокинов ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи (izubashev@yandex.ru),

Е.В. Герасимова¹, научный сотрудник лаб. цитокинов ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи

А.В. Пронин¹, доктор биологических наук, профессор, зам. директора по научной работе ФГБУ НИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России (proninalexander@yandex.ru),

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный национальный исследовательский центр эпидемиологии и микробиологии имени Н.Ф. Гамалеи» Минздрава России (123098, РФ, г. Москва, ул. Гамалеи, 18).

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «ГНЦ институт иммунологии» Федерального медико-биологического агентства (ФМБА России) (115522, РФ, Москва, Каширское шоссе, д. 24).

³ Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Научный центр биомедицинских технологий (НЦБМТ) Федерального медико-биологического агентства (ФМБА России)» (143442, РФ, Московская область, п. Светлые горы, д. 1).

⁴ Институт фармации ФГАОУ ВО Первого Московского государственного медицинского университета (МГМУ им. И.М. Сеченова) Минздрава России (Сеченовский Университет) (119991, РФ, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2).

Проведено фармакокинетическое исследование всасывания в кровотоки, биодоступности и выведения из организма Гамавита после внутримышечного введения лабораторным мини-свиньям. Количественное определение проводили методом ВЭЖХ с использованием флуориметрического детектора, для чего Гамавит метили красителем Су5, который потом и использовали для введения животным. Разработанные методики определения Гамавита в крови и кале животных были валидированы по следующим валидационным параметрам: селективность, калибровочная кривая, точность, прецизионность, предел количественного определения, перенос пробы, стабильность образцов. Подтвержденный аналитический диапазон методики составил 1,00...50,0 мкг/мл для Гамавита в плазме крови и кале. Установлено, что максимальная концентрация Гамавита в крови животных после однократного внутримышечного введения составляет 30,97 мкг/мл и достигается в среднем через 15 минут после введения. Через 24 ч после введения Гамавит все еще определяется в крови в незначительных количествах. Средний период полувыведения Гамавита по крови составляет 8,64±3,50 ч. При введении Гамавита в дозе 0,1 мл/кг клиренс препарата равен 1,27 л/кг*ч, скорость выведения при эффективной концентрации 30 мг/л равна 38 мг/кг*ч, а поддерживающая доза при применении препарата 1 раз в сутки составляет 0,9...1,0 мл.

Обнаружение метки в фекалиях исследуемых животных свидетельствует о том, что одним из способов выведения препарата Гамавит является выведение с помощью желчных кислот и частично он выводится с калом.

Ключевые слова: Гамавит, всасывание в кровотоки, мини-свиньи, плазма крови, кал, ветеринарный препарат.

Study of the parameters of absorption into the bloodstream and excretion of the drug Gamavit after a single administration to laboratory mini-pigs

A.N. Narovlyanskiy¹, Grand PhD in Biology Sc., professor, head of the Cytokines lab. (narovl@yandex.ru),
A.V. Sanin¹, Grand PhD in Biology Sc., professor, head of the Cellular immunity lab. (saninalex@inbox.ru),
V.V. Smirnov², Grand PhD in Pharmaceutical Sc., head of Clinical pharmacology lab. (vall@mail.mipt.ru),
A.Yu. Savchenko³, head scientist of Pharmacomodelling lab. (alursav@mail.ru),
G.V. Ramenskaya⁴, Grand PhD in Pharmaceutical Sc., professor, director of the Institute (ramenskaia@mail.ru),
V.Yu. Sanina¹, Ph.D. in Chemical Sc., senior researcher of the Cellular immunity lab., (valentina.sanina1846@gmail.com),
T.N. Kozhevnikova¹, Ph.D. in Medical Sc., researcher of the Cellular immunity lab. (tatiana140663@gmail.com),
V.S. Kozlov¹, Ph.D. in Chemical Sc., researcher of the Cytokines lab., (vasss2@yandex.ru),
.K., Zubashev¹, Ph.D. in Medical Sc., senior researcher of the Cytokines lab (izubashev@yandex.ru),
E.V. Gerasimova¹, researcher of the Cytokines lab, (gerasim21071982@mail.ru),
A.V. Pronin¹, Grand PhD in Biology Sc., professor, deputy director for science (proninalexander@yandex.ru).

¹ The Gamaleya Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology (18, Gamaleya str., Moscow, RF, 123098).

² Institute of Immunology of the Federal Medical and Biological Agency (FMBA) of Russia (24, Kashirskoe highway, Moscow, RF, 115522).

³ Scientific Center of Biomedical Technology of the Federal Medical and Biological Agency (1, Svetlye gory, Moscow area, RF, 143442).

⁴ Pharmacy Institute of I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of Russia (Sechenov University), (8/2, Trubetskaya St., Moscow, RF, 119991).

A pharmacokinetic study of the absorption into the bloodstream, bioavailability and excretion of Gamavit from the body after intramuscular administration to laboratory mini-pigs was conducted. Quantitative determination was carried out by HPLC using a fluorimetric detector, for which Gamavit was labeled with Cy5 dye, which was then used for mini-pigs inoculation. The developed methods for determining Gamavit in the blood and feces were validated according to the following validation parameters: selectivity, calibration curve, accuracy, precision, limit of quantitative determination, sample transfer, and sample stability. The confirmed analytical range of the method for Gamavit detection in blood plasma and feces was 1.00...50.0 mcg/ml. Maximum concentration of Gamavit in the blood of mini-pigs after a single intramuscular injection was 30.97 mcg/ml and was reached on average 15 minutes after administration. 24 hours following administration, Gamavit was still detected in the blood in insignificant amounts. The average half-life of Gamavit in the blood is 8.64±3.50 hours. After administration at a dose of 0.1 ml/kg, the clearance of the drug is 1.27 l/kg * h, the excretion rate at an effective concentration of 30 mg/l is 38 mg/kg*h, and the maintenance dose when using the drug 1 time a day is 0.9...1.0 ml.

The detection of the label in the feces of the studied animals indicates that one of the ways Gamavit removal is excretion with the help of bile acids, as well as partial excretion with feces.

Keywords: Gamavit, absorption into the bloodstream, mini-pigs, blood plasma, feces, veterinary drug.

Сокращения: ВЭЖХ-ФЛУОР — высокоэффективная жидкостная хроматография с флуориметрическим детектором, ДМСО — диметилсульфоксид, С — концентрация, НQC — high quality control (образец контроля качества с высокой концентрацией), LLOQ — lower limit of quantification (нижний предел количественного определения), LQC — lower quality control (образец контроля качества с низкой концентрацией), MQC — medium quality control (образец контроля качества со средней концентрацией), ULOQ — upper limit of quantification (верхний предел количественного определения)

Введение

Гамавит применяют в ветеринарии для повышения резистентности организма [2, 5], коррекции анемии [4, 9, 17, 21], детоксикации при отравлениях [7, 11, 13, 14, 19], восстановления биохимических параметров крови при паразитарных инвазиях [1, 6, 8, 10, 12, 16, 18] и при иной патологии [2, 3, 20]. Для лучшего понимания особенностей эффективного применения гамавита ветеринарному врачу необходима информация о фармакокинетических характеристиках препарата. Последние дают понимание процессов

всасывания, распределения, метаболизма и выведения лекарственного средства, то есть способствует более обоснованному выбору доз и схем применения препарата. Гамавит разрешен для применения в ветеринарии с 2000 года, однако тогда еще не были разработаны адекватные сохраняющие методы (за исключением использования радиоактивно-меченых субстанций) для определения биологически активных субстанций в органах и тканях живого организма.

Цель исследования

Изучить всасывание в кровотоки, биодоступность и выведение из организма Гамавита после внутримышечного введения лабораторным мини-свиньям.

Материалы и методы

Исследование проводили на базе Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Научный центр биомедицинских технологий» Федерального медико-биологического агентства (ФГБУН НЦБМТ ФМБА России); www.scbmt.ru.

Характеристика препарата. Гамавит содержит комплекс действующих веществ в виде нуклеината

натрия 0,02 мг/мл и кислотного гидролизата плаценты денатурированной эмульгированной 0,5 мг/мл. По сути, препарат является натриевой солью низкомолекулярных рибонуклеиновых кислот, содержит также пептиды и гексуроновые кислоты.

Дизайн эксперимента. Эксперименты выполнены на 6 лабораторных мини-свиньях — самках массой 18,8...20,4 кг, полученных из питомника — филиала ФГБУН НЦБМТ ФМБА России «Андреевка», пос. Андреевка, Московской обл.

Животные содержались в условиях вивария на стандартной диете (комбикорм гранулированный полнорационный для свиней ПК 58, вода ad libitum. Микробиологический статус воды соответствовал СанПиН 2.1.4.1074-01 «Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения») с соблюдением правовых и этических норм обращения с животными в соответствии с правилами, принятыми Европейской Конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (European Convention for the Protection of Vertebrate Animals Used for Experimental and other Scientific Purposes — ETS 123). Strasbourg, 1986.

Протокол исследования был рассмотрен и одобрен биоэтической комиссией Центра.

Все процедуры выполнялись согласно утвержденному техническому заданию, в соответствии со Стандартными операционными процедурами

ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», а также с учетом санитарных правил по устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев). Каждому животному присваивали индивидуальный номер (ушные бирки).

В ходе исследования животные находились в идентичных условиях и подвергались абсолютно одинаковым воздействиям.

Исследуемый препарат Гамавит, раствор для инъекций, вводили лабораторным животным в утренние часы, внутримышечно, в бедренную мышцу, с помощью шприца, в дозе 0,1 мг/кг. Объем вещества для каждого животного рассчитывали индивидуально, с учетом массы.

Отбор проб крови из яремной вены для изучения фармакокинетических параметров исследуемого препарата осуществляли в строго фиксированное время (табл. 1).

После центрифугирования (15 минут при 3000g, 4°С) плазму крови отбирали в пластиковые пробирки с завинчивающейся крышкой и замораживали при температуре -20 °С. Каждую пробирку с отобранным образцом маркировали для дальнейшей идентификации в соответствии с СОП «Маркировка биологических образцов», что дополнительно позволяет исключить влияние человеческого фактора на результат эксперимента.

1. Схема отбора проб крови для исследования фармакокинетических параметров				
1. Blood sampling protocol for the study of pharmacokinetic parameters				
Фармакокинетическая точка	Теоретическое время отбора проб крови	Образец №	Число отобранных образцов	День эксперимента
1	-15 мин (до введения исследуемого образца)	0	6	1-й
Введение исследуемого образца				
2	5 мин	01	6	1-й день
3	10 мин	02	6	1-й день
4	20 мин	03	6	1-й день
5	40 мин	04	6	1-й день
6	1 ч	05	6	1-й день
7	2 ч	06	6	1-й день
8	4 ч	07	6	1-й день
9	6 ч	08	6	1-й день
10	8 ч	09	6	1-й день
11	12 ч	10	6	2-й день
12	24 ч	11	6	2-й день

Все образцы плазмы крови регистрировали в компьютерной базе данных в формате MS Excel с сохранением индивидуального 7-значного номера и рабочей маркировки, содержащей указание на время и прочие обстоятельства взятия пробы. Отобранную и промаркированную плазму крови замораживали и хранили при температуре -20°C для дальнейшего изучения фармакокинетических параметров исследуемого объекта в соответствии с СОП «Транспортировка замороженной сыворотки крови для ФК».

Образцы кала животных получали при естественном акте дефекации животных. Кал отбирали в пластиковые пробирки в объеме 5 мл. Образцы маркировали, регистрировали и хранили аналогично процессам, описанным для плазмы крови.

Статистическая обработка. Значения результатов измерений, относящихся к интервальным (количественным) данным, представлены в виде среднего арифметического, стандартного отклонения, медианы, минимума и максимума. Сравнительный анализ данных в биологическом этапе проводился после проверки на соответствие нормальному закону распределения (критерий Шапиро-Уилка) с помощью t-критерия Стьюдента для связанных совокупностей (в случае нормального распределения данных) или с помощью непараметрического t-критерия Вилкоксона для зависимых выборок (при распределении данных, отличном от нормального). Уровень значимости был выбран равным 0,05.

Приготовление меченого Гамавита. Навеску Гамавита (10 мг) смешивали с навеской красителя Cy5 [<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/777323?lang=en®ion=RU>] в мольном соотношении 1:1 (2,865 мг) и растворяли в 1 мл ДМСО. Полученный раствор оставляли в темном прохладном месте не менее чем на 4 ч. Структура красителя Cy5 представлена на рисунке (рис. 1).

К полученной смеси, находящейся в виде застывшего геля, добавляли 10 мл серного эфира и смесь энергично встряхивали на Vortex (5 мин). После расслоения раствора, верхний эфирный слой аккуратно декантировали, к нижнему опять добавляли серный эфир в том же объеме. Операцию экстракции непрореагировавшего Cy5 повторяли несколько раз до тех пор, пока эфирный слой не стал бесцветным. Остаток высушивали в высоком вакууме, растворяли в 1 мл дистиллированной воды и добавляли сухие компоненты препарата. Для полного растворения смесь энергично встряхивали на Vortex (5 мин). Полученный раствор лиофильно высушивали на сублиматоре VaCo 5-II-D (Zirbus).

Приготовление стандартного раствора Гамавита. На аналитических весах с точностью до 0,0001 г брали навеску, содержащую 22,03 мг Cy5-Гамавита. Несмотря на то, что препарат представляет из себя жидкость, его все равно отвешивали на аналитических весах с целью точного расчета молярного соотношения препарат/метка. Навеску количественно переносили в мерную колбу на 100 мл и разбавляли водой, доводя объем раствора до метки 100 мл.

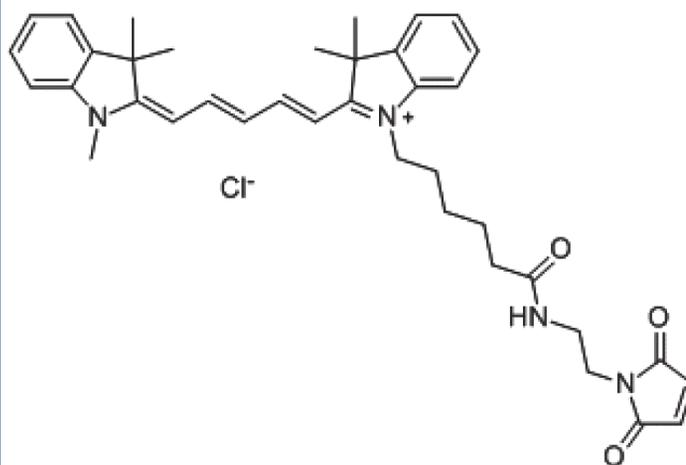


Рис. 1. Структурная формула Cy5 (молекулярная масса 641)
Fig. 1. The structural formula of Cy5 (molecular weight 641)

Полученный раствор фильтровали. Условная концентрация меченого гамавита в полученном растворе составляет 220,3 мкг/мл. Из данного раствора путем разведения готовили растворы с концентрациями Гамавита 22,03 мкг/мл и 2,203 мкг/мл, которые в дальнейшем использовали для приготовления калибровочных образцов и образцов контроля качества. Для приготовления калибровочных образцов, содержащих Гамавит, использовали плазму крови и растворы Гамавита, приготовленные в соответствии с описанным выше. Калибровочные образцы готовили путем смешивания плазмы крови со стандартными растворами в соответствии с таблицей 1 (общий объем каждого калибровочного образца — 500 мкл).

Образцы контроля качества. Образцы контроля качества готовили в четырех концентрациях: LLOQ (нижний предел количественного определения), LQC (образец контроля качества с низкой концентрацией), MQC (образец контроля качества со средней концентрацией), HQC (образец контроля качества с высокой концентрацией).

Для расчета концентраций Гамавита использовали метод абсолютной калибровки. Площади пиков оценивали с помощью программы ChemStation (ver. B.01), Agilent Technologies, США, в режиме автоматического интегрирования.

Для выполнения исследований использовали высокоэффективный жидкостной хроматограф Agilent 1260 (Agilent Technologies, США), оснащенный градиентным насосом, дегазатором, автосамплером, флуориметрическим детектором.

На хроматограммах образцов чистой плазмы крови не наблюдалось пиков с временами удерживания, соответствующими Гамавиту, что свидетельствует о селективности метода.

Построение калибровочного графика осуществляли с помощью программы Microsoft Excel 2010. Оценивали зависимость концентрации целевого анализа в калибровочных образцах, приготовленных путем введения известных концентраций гамавита (ось Y)

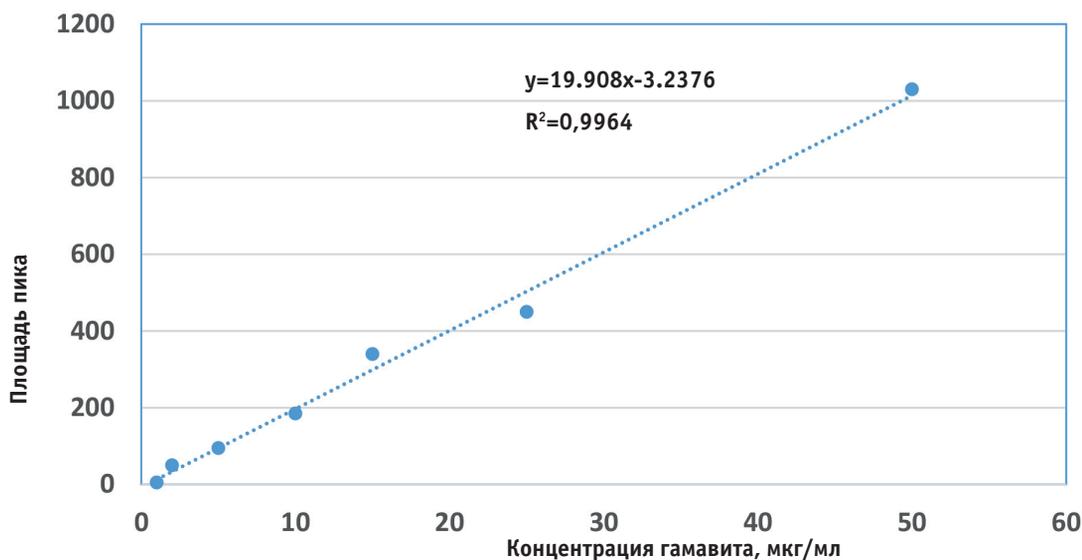


Рис. 2. Калибровочный график зависимости концентрации Гамавита от суммы площадей пиков, соответствующих компонентам гамавита

Fig. 2. Calibration graph of the dependence of Gamavit concentration upon the sum of the peak areas corresponding to the Gamavit components

от суммы площадей пиков, соответствующих компонентам гамавита (ось X) на хроматограмме (метод абсолютной калибровки). Также оценивали зависимость суммы площадей пиков, соответствующих компонентам Гамавита (ось X) от его фактической концентрации (ось Y). При этом определяли характер зависимости, тип аппроксимации, достоверность аппроксимации и коэффициенты соответствующего уравнения регрессии (рис. 2).

Представленные на рисунке 2 данные свидетельствуют о том, что для определяемого вещества калибровочные графики описываются линейной функцией с высоким показателем достоверности аппроксимации. Коэффициент корреляции составил 0,9964 для Гамавита, что соответствует требованиям (не менее 0,99 %).

LLOQ — минимальная концентрация анализируемого вещества в образце, которая может быть определена с требуемой правильностью и прецизионностью; критерием предела количественного определения служило соотношение «сигнал : уровень флуктуационных шумов нулевой линии» не менее 5 : 1. Фактически в рамках представленного исследования предел количественного определения гамавита составил 1,0 мкг/мл.

Таким образом, представленная методика отвечает основным требованиям, предъявляемым к аналитическим методикам, используемым для определения концентрации веществ в биожидкостях.

Показано, что по параметрам специфичности, предела количественного определения, линейности, правильности, прецизионности и стабильности анализируемого вещества методика применима для определения Гамавита в плазме крови.

Все пробы, собранные в ходе исследования, были проанализированы в составе двух аналитических циклов.

Аналогичным образом были проведены исследования и доказано, что представленная методика отвечает основным требованиям — по параметрам специфичности, пределам количественного определения, линейности, правильности, прецизионности и стабильности анализируемого вещества методика применима для определения гамавита в кале.

Результаты

Результаты значений концентрации Гамавита, определенные в плазме крови и кале животных, представлены в таблицах 2 и 4, значения фармакокинетических параметров, рассчитанных по данным концентраций крови — в таблице 3.

Как видно из представленных данных, максимальная концентрация Гамавита в крови животных после однократного внутримышечного введения составляет $30,97 \pm 8,59$ мкг/мл и достигается в среднем через 15 минут после введения. Через 24 ч после введения Гамавит все еще определяется в крови в незначительных количествах. Разброс значений концентраций можно назвать умеренным (CV до 80 % для разных временных точек). Средний период полувыведения Гамавита по крови составляет $8,64 \pm 3,50$ ч.

При дозе введения Гамавита 0,1 мл/кг клиренс препарата в соответствии с полученными данными равен $1,27$ л/кг*ч, скорость выведения при эффективной концентрации 30 мг/л равна 38 мг/кг*ч, а поддерживающая доза при применении препарата 1 раз в сутки — 0,9...1,0 мл.

Обсуждение

Мини-свиньи как вид лабораторных животных являются полезным видом не-грызунов в исследовании безопасности лекарств. Они используются при доклинических исследованиях фармацевтических и других химических веществ в Японии, ЕС и США

2. Концентрация гамавита в плазме крови животных после внутримышечного введения, мкг/мл 2. Gamavit concentration in the blood plasma of mini-pigs following intramuscular administration, mcg/ml												
№ животного	Время, ч											
	0	0,08	0,17	0,33	0,67	1	2	4	6	8	12	24
1	НПО	16,74	26,34	21,80	12,14	12,07	10,85	1,71	2,07	1,57	1,32	НПО
2	»	34,87	29,60	15,71	14,45	13,78	4,36	1,06	1,19	1,12	1,00	»
3	»	40,68	31,02	16,25	10,68	9,14	3,52	3,53	1,78	3,50	2,74	1,12
4	»	15,54	17,16	13,84	19,97	11,54	6,32	3,61	3,67	1,58	1,23	НПО
5	»	17,31	16,11	24,41	8,54	9,31	11,53	8,92	5,78	1,95	1,02	»
6	»	39,55	25,33	12,18	14,94	10,29	9,47	2,32	3,37	2,30	2,04	1,10
Среднее значение		27,45	24,26	17,37	13,45	11,02	7,68	3,53	2,98	2,00	1,56	1,11
Медиана		26,09	25,84	15,98	13,30	10,92	7,90	2,93	2,72	1,77	1,28	1,11
Степень отклонения		12,13	6,27	4,75	3,98	1,79	3,41	2,83	1,67	0,83	0,69	0,01
CV		0,44	0,26	0,27	0,30	0,16	0,44	0,80	0,56	0,42	0,44	0,01

Примечание. НПО — ниже порогового определения

3. Фармакокинетические параметры гамавита в крови мини-свиней после внутримышечного введения 3. Gamavit pharmacokinetic parameters in the blood of mini-pigs after intramuscular administration							
№ животного	Фармакокинетический параметр						
	Сmax, мкг/мл	tmax, ч	Lz	AUC _{0-t} , мкг*ч/мл	AUC _{0-∞} , мкг*ч/мл	t1/2, ч	MRT, ч
1	26,34	0,17	0,10	64,36	69,20	6,71	7,51
2	34,87	0,08	0,07	50,00	57,21	10,00	10,45
3	40,68	0,08	0,05	76,09	99,48	14,47	21,40
4	19,97	0,67	0,11	62,91	67,45	6,30	7,69
5	24,41	0,33	0,15	82,34	85,76	4,74	7,08
6	39,55	0,08	0,07	76,83	92,11	9,63	14,16
Среднее значение	30,97	0,24	0,09	68,76	78,54	8,64	11,38
Медиана	30,61	0,13	0,09	70,23	77,48	8,17	9,07
Степень отклонения	8,59	0,23	0,04	11,91	16,37	3,50	5,59
CV	0,28	1,00	0,39	0,17	0,21	0,41	0,49

Примечание. Сmax — максимальная концентрация препарата, tmax — время достижения максимальной концентрации, AUC — площадь под фармакокинетической кривой, t1/2 — период полувыведения, MRT — среднее время удержания, Lz — наклон финального участка фармакокинетической кривой

4. Концентрация Гамавита в кале мини-свиней после внутримышечного введения, мкг/мл 4. Gamavit concentration in the feces of mini-pigs after intramuscular administration, mcg/ml													
№ животного	Время, ч												
	0	5»	20»	40»	1	4	5	6	7	9	10	11	24
1	НПО	НПО	НПО	НПО	15,84	НПО	9,13	НПО	10,33	5,34	НПО	НПО	17,62
2	»	»	»	»	17,26	8,90	НПО	»	12,42	НПО	3,70	»	6,07
3	»	»	»	»	НПО	НПО	9,43	»	17,6	»	7,11	»	9,98
4	»	»	»	»	»	»	20,85	23,72	11,47	»	НПО	»	21,14
5	»	»	»	»	5,68	24,35	18,68	НПО	21,33	»	»	14,97	15,46
6	»	»	»	»	19,27	НПО	НПО	»	3,25	»	»	НПО	10,84
Среднее значение	-	-	-	-	14,5	16,625	14,52	23,72	12,73	5,34	5,41	14,97	13,52

Примечание. НПО — ниже порогового определения

и Канады. Мини-свиньи внесены в руководство OECD 409. На мини-свиньях легко проводятся фармакокинетические исследования с повторяющимся взятием образцов крови или образцов других видов жидкостей из тела или тканей [15].

Гамавит представляет собой смесь различных биологических продуктов пептидной и белковой природы. При аналитическом методе определения компонентов препарата в биологической матрице с использованием флуоресцентной метки происходит мечение всех компонентов препарата, способных прореагировать с флуоресцентной меткой. В результате в меченом препарате образуется множество биомолекул нуклеиновой и пептидной природы, а также белков [22, 23], несущих флуоресцентную метку. При анализе плазмы крови определяется общая флуоресценция, которая коррелирует с общим содержанием препарата в конкретный момент времени. Тем не менее, очевидно, что пептидные и белковые препараты неустойчивы в среде живого организма и все время подвергаются биотрансформации, в частности, гидролизу. В результате образуется большое количество разнообразных продуктов разной молекулярной массы и разного химического строения, которые также имеют в своем составе флуоресцентную метку. В связи с различиями в их строении и постоянно протекающими процессами биотрансформации, выведение компонентов препарата и их метаболитов является нелинейным процессом, в результате чего скорость выведения меченых компонентов и их метаболитов нельзя описать используемой фармакокинетической моделью. Тем не менее, из полученных результатов, а именно обнаружения метки в фекалиях исследуемых животных, можно сделать вывод, что одним из способов выведения препарата Гамавит является выведение с помощью желчных кислот и частично он выводится с калом.

Выводы

1. Максимальная концентрация Гамавита в крови животных после однократного внутримышечного введения составляет $30,97 \pm 8,59$ мкг/мл и достигается в среднем через 15 минут после введения. Средний период полувыведения гамавита по крови составляет $8,64 \pm 3,50$ ч.

2. При введении Гамавита в дозе 0,1 мл/кг клиренс препарата равен $1,27$ л/кг*ч, скорость выведения при эффективной концентрации 30 мг/л равна 38 мг/кг*ч, а поддерживающая доза при применении препарата 1 раз в сутки составляет 0,9...1,0 мл.

Конфликт интересов

Авторы заявляют о существовании конфликта интересов: А.В. Санин, А.Н. Наровлянский и А.В. Пронин являются разработчиками лекарственного препарата Гамавит®.

Библиография

1. Анников, В.В. Эффективность Гамавита при проведении дегельминтизации котят и щенков / В.В. Анников, А.В. Красников, А.В. Санин // Ветеринарная клиника. — 2018. — № 5. — С. 24-25.

2. Анников, В.В. Эффективность гамавита при терапии боррелиоза у собак / В.В. Анников, Л.В. Анникова, А.В. Санин, А.Н. Наровлянский, А.В. Пронин, В.Ю. Санина, Т.Н. Кожевникова // Ветеринария Кубани. — 2018. — № 4 — С. 15-18.
3. Вишневецкая, Т.Я. Сравнительный анализ гематологических показателей крови при стрессе и его иммунокоррекция препаратом гамавит / Т.Я. Вишневецкая, Л.Л. Абрамова // В сб.: «Актуальные вопросы ветеринарной медицины», Материалы одиннадцатой Сибирской ветеринарной конференции, 2012 — С. 59-60.
4. Глаголева, Т.И. Ферроглюкин и гамавит в коррекции антиагрегационных свойств сосудов у новорожденных телят с дефицитом железа / Т.И. Глаголева, С.Ю. Завалишина, И.Н. Медведев // Успехи современного естествознания. — 2013. — № 5. — С. 17.
5. Григорьева, Е.А. Воздействие препарата Гамавит на активность естественных киллерных клеток / Е.А. Григорьева, А.В. Пронин, А.В. Санин, А.Н. Наровлянский, Т.Ю. Тимофеева, В.Ю. Санина, Т.Н. Степанова, Е.В. Герасимова, А.М. Иванова, Т.Н. Кожевникова // Ветеринария Кубани. — 2016. — №4. — С. 27-28.
6. Гришина, Е.А. Биохимическое обоснование применения комплексной терапии в острой фазе экспериментальных гельминтозов животных / Е.А. Гришина, А.А. Еровиченков // Журнал инфектологии. — 2017. — Т.9. — №3. — С. 32-39.
7. Зарипова, Т.Е. Острое отравление у собаки: клинический случай / Т.Е. Зарипова, Е.А. Бакулина, С.Э. Жавнис // Ветеринарная клиника. — 2017. — № 8. — С. 10-12.
8. Леонард, Р.А. Влияние гамавита, фосфенила и максидина на ряд биохимических показателей крови собак, больных пироплазмозом / Р.А. Леонард // Ветеринарная клиника. — 2006. — № 3. С. 2-5.
9. Леонард, Р.А. Оценка эффективности препарата Гамавит при коррекции ренальной анемии у кошек с ХБП: контролируемое рандомизированное исследование / Р.А. Леонард, Т.Е. Зарипова, А.Н. Балахонов, Н.Ю. Вдовина, А.Н. Наровлянский, А.В. Пронин, А.В. Санин // Российский ветеринарный журнал. — 2020. — № 5. — С. 8-20. DOI: 10.32416/2500-4379-2020-5-8-20
10. Либерман, Е.Л. Опыт применения гамавита при лечении кровепаразитарных болезней северных оленей / Е.Л. Либерман, Х. Георгиу, В.В. Белименко // Российский ветеринарный журнал. СХЖ. — 2014. — № 4. — С. 31-33.
11. Обрывин, В.Н. Влияние препаратов гамавит и гала-вет на токсический иммунодефицит у белых крыс / В.Н. Обрывин, Г.А. Жоров, П.Н. Рубченков // Ветеринарная патология. — 2008. — № 3. — С. 119-125.
12. Перслегина, И.О. Эффективность применения гамавита при токсокарозе у кошек / И.О. Перслегина, Т.Н. Кожевникова // Известия Оренбургского аграрного университета. — 2018. — № 6(74). — С. 162-163.
13. Перслегина, И.О. Клинические случаи хронического отравления кошек: опыт применения препарата Гамавит / И.О. Перслегина, Т.С. Дубровина, Т.Ю. Клинцева, С.Н. Зотова, Т.Н. Кожевникова, А.В. Санин // Ветеринария Кубани. — 2017. — № 5. — С. 23-26.
14. Перслегина, И.О. Эффективность гамавита при отравлении кошки ивермектином / И.О. Перслегина // Школа науки. — 2018. — № 6. — С.14-15.
15. Рыбакова, А.В. Карликовые свиньи как объект доклинических исследований / А.В. Рыбакова, М.А. Ковалева, А.В. Калатанова, Г.В. Ванатиев, М.Н. Макарова // Международный вестник ветеринарии. — СПб. — 2016. — № 3. — С. 168-176.
16. Самойлова, Е.С. Из опыта применения антиоксидантов в комплексной схеме лечения бабезиоза собак. / Е.С. Самойлова, М.А. Дерхо // Ветеринарный врач. — 2009. — № 1. — С. 13-16.
17. Санин, А.В. Гамавит — эффективное средство при экстракорпускулярных анемиях / А.В. Санин // Ветеринарная клиника. — 2009. — № 4. — С. 16-19.
18. Санин, А.В. Особенности применения иммуномодуляторов при паразитарных инвазиях / А.В. Санин, О.Ю. Сосновская, В.Ю. Санина, Т.Н. Кожевникова, И.К. Васильев, А.Н. Наровлянский, А.В. Пронин // Ветеринария Кубани. — 2010. — № 2. — С.15-18.

19. Санин, А.В. Протективный эффект Гамавита при острой интоксикации, вызванной четыреххлористым углеродом в эксперименте / А.В. Санин, С.В. Ожерелков, О.Ю. Сосновская, А.Н. Наровлянский, А.В. Пронин // Российский ветеринарный журнал. СХЖ. — 2015. — № 2. — С. 40-42.
20. Санин, А.В. Гамавит повышает эффективность терапии гемобартонеллеза (гемоплазмоза) у кошек: контролируемое исследование / А.В. Санин, А.Н. Наровлянский, А.В. Пронин, Т.Н. Кожевникова, А.Д. Агафонова, Л.В. Анникова, В.В. Анников // Российский Ветеринарный Журнал. — 2017. — № 3. — С. 28-32.
21. Санин, А.В. Гамавит для коррекции токсической гемолитической анемии и стимуляции эритропоэза / А.В. Санин, А.Н. Наровлянский, А.В. Пронин, Т.Н., Кожевникова О.Ю. Сосновская, С.Э. Жавнис, С.В. Ожерелков, Д.А. Климова // Ветеринария. — 2018. — № 10. — С. 54-59.
22. Klöcker, N. Covalent labeling of nucleic acids DOI: 10.1039/D0CS00600A (Review Article) / N. Klöcker, F.P. Weissenboeck, A. Rentmeister // Chem. Soc. Rev. — 2020. — No. 49. — pp. 8749-8773.
23. Nikić, I. Labeling proteins on live mammalian cells using click chemistry / I Nikić., J. Kang, G. Girona, Aramburu I.V., Lemke E.A. // Nat Protoc. — 2015. — No. 10. — pp. 780-791. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.045>

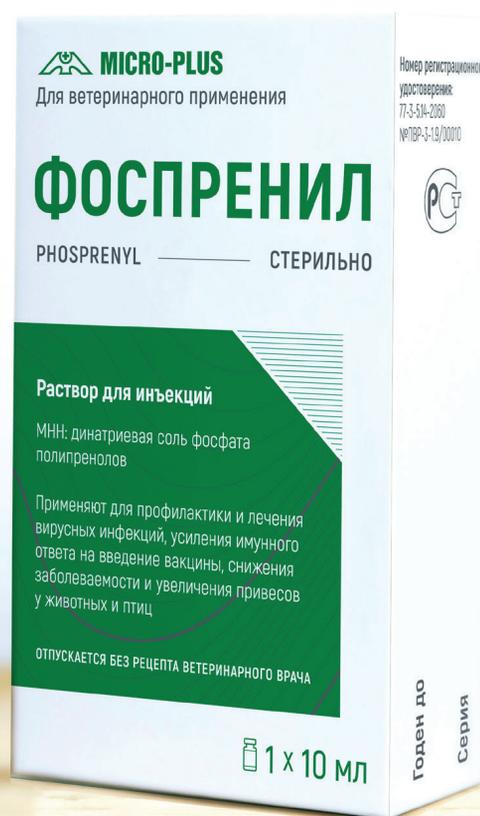
References

1. Annikov V.V., Krasnikov A.V., Sanin A.V., E`ffektivnost` Gamavita pri provedenii degel`mintizacii kotyat i shhenkov [The effectiveness of Gamavit during the deworming of kittens and puppies], *Veterinary clinic*, 2018, No. 5, pp. 24-25.
2. Annikov V.V., Annikova L.V., Sanin A.V., Narovlyansky A.N., Pronin A.V., Sanina V.Yu., Kozhevnikova T.N., E`ffektivnost` gamavita pri terapii borreliozia u sobak [The effectiveness of gamavit in the treatment of borreliosis in dogs], *Veterinary Medicine of Kuban*, 2018, No. 4, pp. 15-18.
3. Vishnevskaya T.Ya., Abramova L.L. Sravnitel`ny`j analiz gematologicheskix pokazatelej krovi pri stresse i ego immunokorrekcija preparatom gamavit [Comparative analysis of hematological blood parameters under stress and its immunocorrection with gamavit], In: Topical issues of veterinary medicine. Proceeding of the 11th Siberian Veterinary Conference, 2012, pp. 59-60.
4. Glagoleva T.I., Zavalishina S.Yu., Medvedev I.N., Ferroglyukin i gamavit v korrekcii antiagregacionny`x svojstv sosudov u novorozhdenny`x telyat s deficitom zheleza [Ferroglyukin and gamavit act in the correction of antiaggregational properties of blood vessels in newborn calves with iron deficiency], *The successes of modern natural science*, 2013, No. 5, pp. 17.
5. Grigorieva E.A., Pronin A.V., Sanin A.V., Narovlyansky A.N., Timofeeva T.Yu., Sanina V.Yu., Stepanova T.N., Gerasimova E.V., Ivanova A.M., Kozhevnikova T.N., Vozdeystvie preparata Gamavit na aktivnost` estestvenny`x killerny`x kletok [The effect of Gamavit on the activity of natural killer cells], *Veterinary Medicine of Kuban*, 2016, No. 4, pp. 27-28.
6. Grishina E.A., Erovtchenkov A.A., Bioximicheskoe obosnovanie primeneniya kompleksnoj terapii v ostroj faze e`ksperimental`ny`x gel`mintozov zhivotny`x [Biochemical justification of the use of complex therapy in the acute phase of experimental helminthiasis in animals], *Journal of Infectology*, 2017, Vol. 9, No. 3, pp. 32-39.
7. Zaripova T.E., Bakulina E.A., Zhavnis S.E., Ostroe otravlenie u sobaki: klinicheskij sluchaj [Acute poisoning in a dog: a clinical case], *Veterinary Clinic*, 2017, No. 8, pp. 10-12.
8. Leonard R.A., Vliyanie gamavita, fosprenila i maksidina na ryad bioximicheskix pokazatelej krovi sobak, bol`ny`x piroplazmozom [The effect of gamavit, phosprenyl and maxidin on biochemical parameters of the blood of dogs with pyroplasmiasis], *Veterinary clinic*, 2006, No. 3, pp. 2-5.
9. Leonard R.A., Zaripova T.E., Balakhonov A.N., Vdovina N.Yu., Narovlyansky A.N., Pronin A.V., Sanin A.V., Ocenka e`ffektivnosti preparata Gamavit pri korrekcii renal`noj anemii u koshek s XBP:

- kontroliruemoe randomizirovannoe issledovanie [Evaluation of the effectiveness of the drug Gamavit in the correction of renal anemia in cats with CKD: a controlled randomized study], *Russian Veterinary Journal*, 2020, No. 5, pp. 8-20, DOI: 10.32416/2500-4379-2020-5-8-20.
10. Lieberman E.L., Georgiu H., Belimenko V.V., Opy`t primeneniya gamavita pri lechenii kroveparazitarny`x boleznej severny`x oleney [Experience of using gamavit in the treatment of blood-parasitic diseases of reindeer], *Russian Veterinary Journal*, 2014, No. 4, pp. 31-33.
11. Obryvin, V.N., Zhorov G.A., Rubchenkov P.N., Vliyanie preparatov gamavit i gala-vet na toksicheskij immunodeficit u bely`x kry`s [The effect of gamavit and galavet on toxic immunodeficiency in white rats], *Veterinary pathology*, 2008, No. 3, pp. 119-125.
12. Pereslegina I.O., Kozhevnikova T.N., E`ffektivnost` primeneniya gamavita pri toksokarozе u koshek [The effectiveness of the use of gamavit in cats with toxocarosis], *Proceedings of the Orenburg Agrarian University*, 2018, No. 6(74), pp. 162-163.
13. Pereslegina I.O., Dubrovina T.S., Klintsova T.Yu., Zotova S.N., Kozhevnikova T.N., Sanin A.V., Klinicheskie sluchai xronicheskogo otravleniya koshek: opy`t primeneniya preparata Gamavit [Clinical cases of chronic poisoning of cats: experience of using the drug Gamavit], *Veterinary medicine of Kuban*, 2017, No. 5, pp. 23-26.
14. Pereslegina I.O., E`ffektivnost` gamavita pri otravlenii koshki ivermektinom [The effectiveness of gamavit in a cat poisoned with ivermectin], *School of Science*, 2018, No. 6, pp. 14-15.
15. Rybakova A.V., Kovaleva M.A., Kalatanova A.V., Vanatiev G.V., Makarova M.N., Karlikovy`e svin`i kak ob`ekt doklinicheskix issledovanij [Mini-pigs as an object of preclinical research], *International Bulletin of Veterinary Medicine. — St. Petersburg*, 2016, No. 3, pp. 168-176.
16. Samoilova E.S., Derkho M.A., Iz opy`ta primeneniya antioksidantov v kompleksnoj sxeme lecheniya babezioza sobak [Experience of using antioxidants in the complex treatment regimen of babesiosis in dogs], *Veterinary doctor*, 2009, No. 1, pp. 13-16.
17. Sanin A.V., Gamavit — e`ffektivnoe sredstvo pri e`kstrakorpuskulyarny`x anemiyax [Gamavit is an effective remedy for extracorporeal anemia], *Veterinary clinic*, 2009, No. 4, pp. 16-19.
18. Sanin A.V., Sosnovskaya O.Yu., Sanina V.Yu., Kozhevnikova T.N., Vasiliev I.K., Narovlyansky A.N., Pronin A.V., Osobennosti primeneniya immunomodulyatorov pri parazitarny`x invazyax [Use of immunomodulators in parasitic infestations], *Veterinary Medicine of Kuban*, 2010, No. 2, pp. 15-18.
19. Sanin A.V., Ozherelkov S.V., Sosnovskaya O.Yu., Narovlyansky A.N., Pronin A.V., Protektivny`j e`ffekt Gamavita pri ostroj intoksikacii, vy`zvannoj chety`rexloristy`m uglerodom v e`ksperimente [The protective effect of Gamavit in acute intoxication caused by carbon tetrachloride in the experiment], *Russian Veterinary Journal. Productive anomalies*, 2015, No. 2, pp. 40-42.
20. Sanin A.V., Narovlyansky A. N., Pronin A.V., Kozhevnikova T. N., Agafonova A.D., Annikova L.V., Annikov V.V., Gamavit povy`shaet e`ffektivnost` terapii gemobartonelleza (gemoplazmoza) u koshek: kontroliruemoe issledovanie [Gamavit increases the effectiveness of therapy for hemobartonellosis (hemoplasmosis) in cats: a controlled study], *Russian Veterinary Journal*, 2017, No. 3, pp. 28-32.
21. Sanin A.V., Narovlyansky A.N., Pronin A.V., Kozhevnikova T.N., Sosnovskaya O.Yu., Zhavnis S.E., Ozherelkov S.V., Klimova D.A., Gamavit dlya korrekcii toksicheskoj gemoliticheskoj anemii i stimulyacii e`ritropoe`za [Gamavit for the correction of toxic hemolytic anemia and stimulation of erythropoiesis], *Veterinary medicine*, 2018, No. 10, pp. 54-59.
22. Klöcker N., Weissenboeck F.P., Rentmeister A., Covalent labeling of nucleic acids DOI: 10.1039/D0CS00600A (Review Article), *Chem. Soc. Rev.*, 2020, No. 49, pp. 8749-8773.
22. Nikić, I., Kang, J., Girona, G., Aramburu I.V., Lemke E.A., Labeling proteins on live mammalian cells using click chemistry, *Nat Protoc*, 2015, No. 10, pp. 780-791. <https://doi.org/10.1038/nprot.2015.045>

НОВАЯ УПАКОВКА – ГАМАВИТ И ФОСПРЕНИЛ

УДОБНО ДЛЯ ВСЕХ



- ◆ Гамавит и Фоспренил в индивидуальной упаковке по 1 флакону 10 мл.
- ◆ Удобно для аптек и зоомагазинов, на каждой упаковке нанесен индивидуальный штрих-код
- ◆ Подходит, в первую очередь, для владельцев кошек, мелких собак, грызунов, а также всех, кому необходим малый объем препаратов
- ◆ Упаковки Гамавит и Фоспренил по 5 флаконов по-прежнему остаются в продаже!

Разработчик:
ЗАО "Микро-Плюс"
+7(495)234-59-31
info@micro-plus.ru
www.micro-plus.ru

Генеральный дистрибьютор:
ТД "Гама-Маркет"
8-800-700-12-10
info@gama-market.ru
www.gama-market.ru

№ 3/2021