

На правах рукописи



ГУРТО РОМАН ВЛАДИМИРОВИЧ

ВЗАИМОСВЯЗЬ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ЛОРТАДИНА И ГЛИКЛАЗИДА С  
СОСТОЯНИЕМ СИСТЕМЫ ЭНЕРГОПРОДУКЦИИ

14.00.25 – фармакология, клиническая фармакология

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Томск – 2005

Работа выполнена в ГУ НИИ фармакологии Томского Научного Центра СО РАМН

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук,  
профессор

Хазанов Вениамин Абрамович

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук,  
профессор, заслуженный деятель науки РФ

Удут Владимир Васильевич

кандидат медицинских наук

Ваизова Ольга Евгеньевна

Ведущее учреждение: ГОУ ВПО Московская медицинская академия имени И.М. Сеченова Росздрава

Защита состоится «\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2005 года в \_\_\_\_\_ часов на заседании диссертационного совета Д 001.031.01 при ГУ НИИ фармакологии Томского Научного Центра СО РАМН по адресу: 634028, г. Томск, пр. Ленина, 3.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ГУ НИИ фармакологии Томского Научного Центра СО РАМН.

Автореферат разослан «5» августа 2005 года

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
кандидат биологических наук



Амосова Е.Н.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. Полученные в последние годы данные свидетельствуют о зависимости метаболизма лекарственных веществ в организме от воздействий различных факторов как внешней, так и внутренней среды [Кукес В.Г., 2002; Сергеева С.А. и др., 2001]. В настоящее время широко обсуждается вариабельность фармакокинетики в зависимости от возраста, пола, принимаемой пищи, генетического полиморфизма ферментов метаболизма, от состояния печени, почек, значения суточных ритмов [Холодов Л.Е., 1985; Srivastava P., 2003]. Однако до сих пор практически не изученным остается вопрос о влиянии состояния системы энергопродукции на фармакокинетику лекарственных средств. Вместе с тем энергетический обмен является основой обеспечения оптимальной деятельности органов и систем организма, а его нарушение – пусковым механизмом развития патологических процессов и старения [Кондрашова М.Н., 1991, 1989, 1987; Саакян И.Р., 2001; Хазанов В.А., 2003, 2004]. В настоящее время установлена фазность формирования адаптивной реакции системы энергопродукции на нагрузку, которая предполагает смещение доминирующих потоков восстановительных эквивалентов в дыхательной цепи на разных стадиях адаптации [Хазанов В.А., 2003, 2004]. Каждая стадия характеризуется определенным уровнем энергизации и функционального состояния митохондрий (МХ), что, предположительно, влияет на процессы всасывания, распределения, метаболизма и выведения лекарственных средств, многие из которых энергозависимы. С этих позиций оценка фармакокинетики лекарственного препарата при формировании ответной реакции системы энергопродукции на нагрузку является новой.

Несомненный интерес также представляет изучение возможности фармакологической коррекции фармакокинетической вариабельности путем воздействия на систему энергопродукции интермедиатами цикла трикарбоновых кислот [Хазанов В.А., 2002, 2004]. Выяснение данного вопроса создаст предпосылки для рационального использования лекарственных средств и индивидуализации фармакотерапии.

Известно, что фармакокинетика ряда лекарственных средств является энергозависимым процессом [Харкевич Д.А., 1999, Кукес В.Г., 1998]. С этой точки зрения для исследования вариабельности фармакокинетики необходимо использовать активно метаболизирующиеся в организме вещества. Препараты с коротким временем достижения максимальной концентрации в плазме и быстрым метаболизмом позволяют изучать взаимосвязь фармакокинетики с состоянием системы энергопродукции в точно обозначенные моменты времени, в то время как средства с длительной фармакокинетикой позволяют оценить влияние продолжительных по действию факторов и оценить суммарное воздействие на систему. В связи с этим в качестве тестовых препаратов выбраны: распространенный препарат из класса  $H_1$ -антигистаминных средств II поколения – лоратадин (короткая фармакокинетика) и препарат, относящийся к классу гипогликемических средств II поколения – гликлазид (длительная фармакокинетика).

Оба препарата активно метаболизируются в печени с образованием активных и неактивных метаболитов [Регистр лекарственных средств России, 2004].

Одной из наиболее изученных моделей, позволяющей изменять функциональное состояние системы энергопродукции, является модель нормобарической гиперкапнической гипоксии. Известно, что значительное влияние на функциональное состояние системы энергопродукции способны оказывать метаболиты серотонина в результате их ингибирующего действия на сукцинатдегидрогеназу [Кондрашова М.Н., 1986, 1987].

В связи с вышеизложенным представляется весьма актуальным исследование фармакокинетики лоратадина и гликлазида в постгипоксическом периоде и при действии серотонина, а также изучить возможность влияния интермедиатов цикла трикарбоновых кислот на фармакокинетику лоратадина в постгипоксический период.

Цель работы. Изучить зависимость фармакокинетики лоратадина и гликлазида от функционального состояния системы энергопродукции печени в разные периоды после гипоксического воздействия, действия серотонина и терапевтического действия янтарной и глутаминовой кислот в постгипоксическом периоде.

Задачи исследования.

1. Разработать методику хроматографического определения лоратадина и гликлазида в плазме крови.
2. Оценить функциональное состояние митохондрий печени мышей после нормобарической гиперкапнической гипоксии различной степени тяжести и в период восстановления после гипоксического повреждения.
3. Оценить фармакокинетику лоратадина и гликлазида у мышей в норме и после гипоксического воздействия.
4. Оценить фармакокинетику лоратадина у мышей на фоне действия серотонина.
5. Оценить влияние янтарной и глутаминовой кислот на фармакокинетику лоратадина у мышей после гипоксического воздействия.

Научная новизна.

- Впервые изучена фармакокинетика лоратадина и гликлазида при различном функциональном состоянии системы энергопродукции, вызванном нормобарической гиперкапнической гипоксией и действием серотонина.
- Впервые выявлена взаимосвязь фармакокинетики лоратадина и гликлазида и функционального состояния митохондрий печени.
- Показана возможность нормализации фармакокинетики лоратадина в постгипоксическом периоде с помощью метаболитов цикла Кребса – янтарной и глутаминовой кислот.

Практическая значимость.

1. Разработан хроматографический метод определения лоратадина и гликлазида в плазме крови, приемлемый для изучения биоэквивалентности препаратов.
2. Показана целесообразность оценки энергетического статуса пациентов для подбора адекватной дозы лекарственного препарата.
3. Показана возможность коррекции фармакокинетического профиля лоратадина в постгипоксическом периоде с помощью метаболитов цикла Кребса – янтарной и глутаминовой кислот.

Апробация работы. Основные положения диссертационной работы доложены на итоговых научных конференциях НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (Томск, 2001, 2002), на Всероссийской научно-практической конференции «Настоящее и будущее технологичной медицины» (Ленинск-Кузнецкий, 2002), на Всероссийской конференции «Компенсаторно-приспособительные процессы: фундаментальные экологические и клинические аспекты» (Новосибирск, 2004), на Всероссийской конференции «Теория и практика хроматографии» (Самара, 2005).

Публикации. Материалы диссертации опубликованы в 10 научных статьях и материалах конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 135 странице машинописного текста и состоит из введения, четырех глав, выводов и списка литературы. Работа иллюстрирована 38 рисунками и 13 таблицами. Библиографический указатель включает 164 источника, из них 49 иностранных.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Работа выполнена на 400 белых беспородных мышах-самцах массой 30 – 40 г. Животные получены из научно-исследовательской лаборатории экспериментально-биомедицинского моделирования НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН (сертификат имеется). До эксперимента животных содержали в стандартных условиях в пластиковых клетках по 20 мышей, при  $(22\pm 2)$  °С и 12-часовом цикле день/ночь, без ограничения в приеме пищи. Животных, не подвергаемых никаким воздействиям, обозначили как «интактные». Животных умерщвляли декапитацией в отдельном помещении, избегая стрессирования остальных мышей. Все эксперименты проводили в осенне-зимний период, когда наблюдаются умеренные скорости дыхания МХ, а их функциональное состояние характеризуется стабильностью [Хазанов В.А., 1993].

Лоратадин – антигистаминное, противоаллергическое, антиэкссудативное, противозудное средство (рис. 1). Препарат избирательно блокирует  $H_1$ -гистаминовые рецепторы и предотвращает действие гистамина на гладкую мускулатуру и сосуды, уменьшает проницаемость капилляров, тормозит экссудацию, уменьшает зуд и эритему; предупреждает развитие и облегчает течение аллергических реакций, обладает слабой бронхорасширяющей активностью [Регистр лекарственных средств России, 2004].

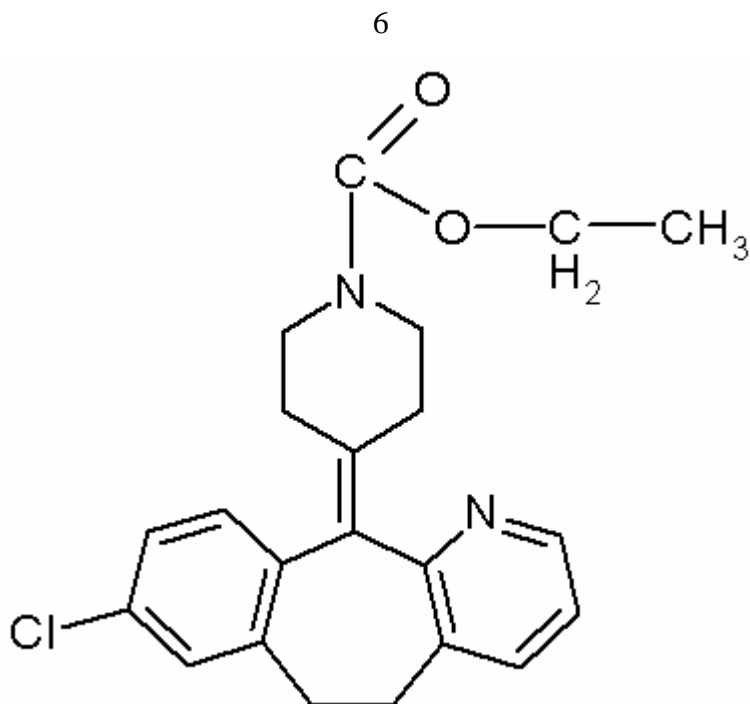


Рис. 1. Химическая формула молекулы лоратадина

Для оценки фармакокинетики лоратадин вводили животным однократно внутривенно в виде суспензии с 1% слизью крахмала в дозе 30 мг/кг контрольной группе, животным после гипоксического воздействия, а также через 0,5 ч после инъекции серотонина. Концентрацию лоратадина в плазме крови определяли через 5, 10, 15, 30, 60 и 120 мин после введения. Контролем служили животные, не получавшие лоратадин.

Измерение концентрации лоратадина в плазме крови мышей проводили по разработанной нами ВЭЖХ методике. У наркотизированных и декапитированных животных кровь забирали в пластмассовые пробирки, центрифугировали при 1000 g 10 мин, отделяли плазму и хранили ее до анализа в холодильнике при  $-26^{\circ}\text{C}$ .

В пробирку с герметичной крышкой помещали 0,5 мл плазмы, добавляли 100 мкл 5% раствора NaCl и 1,5 мл гексана, тщательно перемешивали и экстрагировали в течение 5 мин на шейкере при 500 – 600 качаниях в минуту; затем центрифугировали 5 мин при 3000 g. Органический слой переносили в чистую пробирку и упаривали досуха при  $50^{\circ}\text{C}$ . Сухой остаток растворяли в 100 мкл 70% ацетонитрила. Аликвоту (10 мкл) использовали для введения в хроматограф.

Характеристики анализа: хроматограф «Милихром А-02» (фотометрический детектор), колонка  $2 \times 75$  мм, сорбент ProntoSIL 120-5-C18 AQ, скорость потока 100 мкл/мин, длины волн детекции – 210, 220, 230, 240, 250, 260, 280 и 300 нм. Элюент А – 0,2 М LiClO<sub>4</sub> – 0,005 М HClO<sub>4</sub> – H<sub>2</sub>O pH 2,18, элюент В – ацетонитрил. Режим элюирования градиентный: 21 – 60% В – 1600 мкл, 60 – 100% В – 200 мкл, 100% В – 700 мкл; температура  $35^{\circ}\text{C}$ , давление 3,5 МПа. Многоволновая детекция позволяет уверенно идентифицировать исследуемое соединение (рис. 2).

Хроматографическая характеристика приведенной методики количественного определения лоратадина в плазме крови представлена в табл. 1.

Таблица 1  
Хроматографическая характеристика метода анализа

Параметр	Значение
Время удерживания, мин	16,1 – 16,5
Асимметрия пика	1,16
Разрешение	4,35
Коэффициент емкости	8,6
Чувствительность метода, нг/мл	15
Линейность, мкг/мл	0 – 100

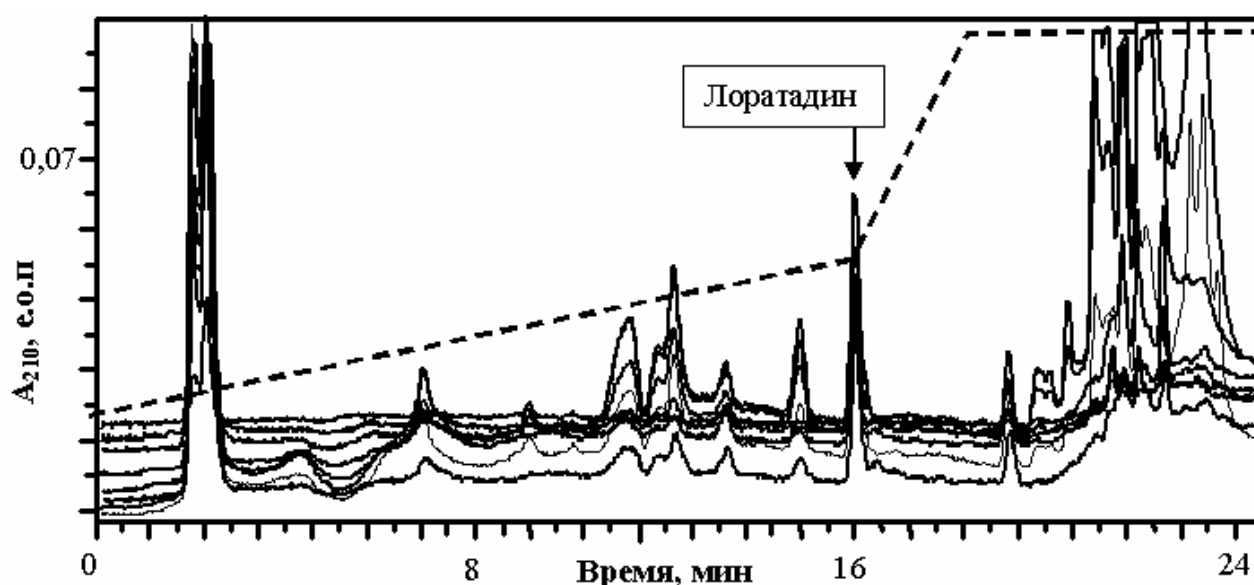


Рис. 2. Хроматограмма пробы плазмы крови, взятой через 5 мин после однократного введения лоратадина (30 мг/кг). Содержание лоратадина в пробе 14,3 нг. Пунктиром на рисунке обозначена линия градиента

Гликлазид – гипогликемическое средство (рис. 3). Повышает секрецию инсулина  $\beta$ -клетками поджелудочной железы и улучшает утилизацию глюкозы. Препарат стимулирует активность мышечной гликоген-синтетазы, улучшает гематологические показатели, реологические свойства крови, систему гемостаза и микроциркуляции. Он проявляет антиоксидантные свойства, улучшает васкуляризацию конъюнктивы, обеспечивает непрерывный кровоток в микрососудах, нивелирует признаки микрозастоя [Регистр лекарственных средств России, 2004].

Для оценки фармакокинетики гликлазид вводили однократно внутривенно в виде суспензии с 1% слизью крахмала в дозе 50 мг/кг. Концентрацию гликлазида в плазме крови определяли через 1, 2, 3, 4, 6, 8 и 12 ч после введения. Контролем служили животные, не получавшие гликлазид.

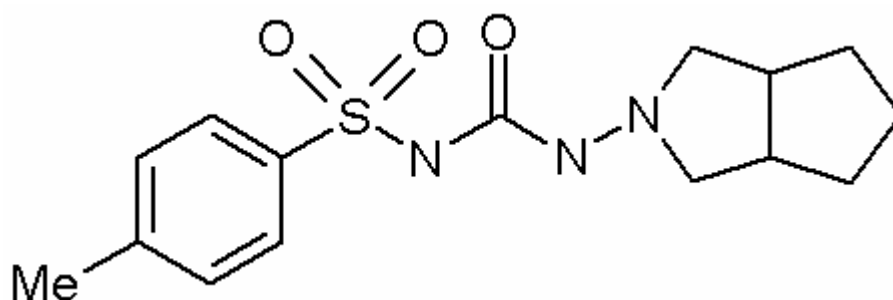


Рис. 3. Химическая формула гликлазида

Измерение концентрации гликлазида в плазме крови мышей проводили по разработанной нами методике.

У наркотизированных и декапитированных животных кровь забирали в пластмассовые пробирки, центрифугировали при 1000 g 10 мин, отделяли плазму и хранили ее до анализа в холодильнике при  $-26\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

В пробирку с герметичной крышкой помещали 0,5 мл плазмы, добавляли 100 мкл 5% раствора NaCl и 2 мл хлороформа, тщательно перемешивали и экстрагировали в течение 10 мин на шейкере при 500 – 600 качаниях в минуту; затем центрифугировали 5 мин при 3000 g. Органический слой переносили в чистую пробирку и упаривали досуха при  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Сухой остаток растворяли в 100 мкл 50% ацетонитрила. Аликвоту (10 мкл) использовали для введения в хроматограф.

Характеристики анализа: хроматограф «Миличром А-02» (фотометрический детектор), колонка  $2\times 75\text{ мм}$ , сорбент Silasorb SPH 5-C18, скорость потока 100 мкл/мин, длины волн детекции – 200, 210, 220, 230, 240 и 250 нм. Элюент А – 0,2 М  $\text{LiClO}_4$  – 0,005 М  $\text{HClO}_4$  –  $\text{H}_2\text{O}$  pH 2,18, элюент В – ацетонитрил. Режим элюирования – градиентный: 33 – 56% В – 900 мкл, 56 – 100% В – 100 мкл, 100% В – 300 мкл; температура  $35\text{ }^{\circ}\text{C}$ , давление 3,2 МПа. Многоволновая детекция, используемая при выполнении анализа, значительно повышает правильность идентификации и позволяет уверенно регистрировать исследуемое соединение (рис. 4)

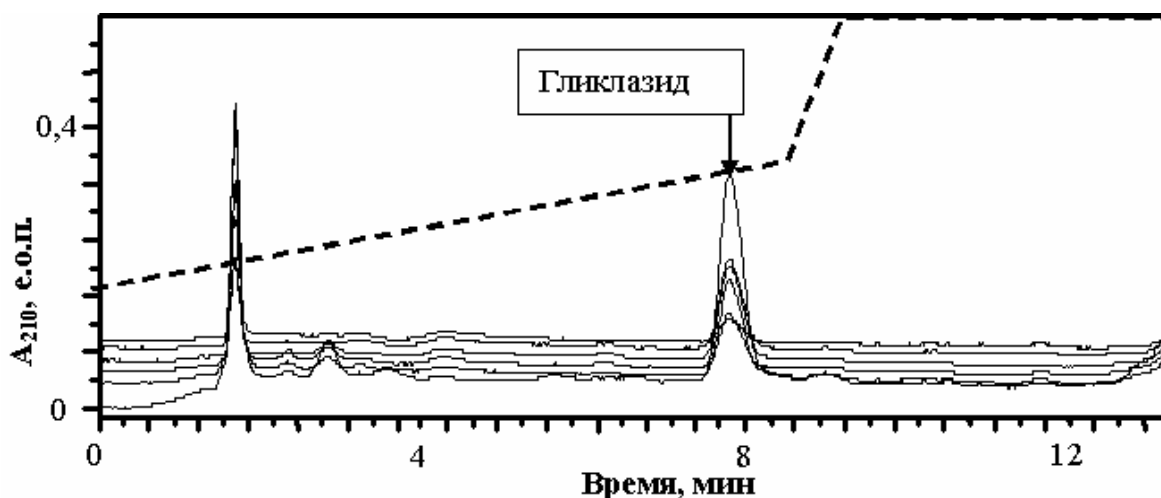


Рис. 4. Хроматограмма пробы плазмы крови, взятой через 12 ч после однократного введения гликлазида ( $57\text{ мг/кг}$ ) животным, перенесшим НГГ. Содержание гликлазида в пробе  $63,8\text{ нг}$ . Пунктиром на рисунке обозначена линия градиента



Хроматографическая характеристика приведенной методики количественного определения гликлазида в плазме крови представлена в табл. 2.

Таблица 2

## Хроматографическая характеристика метода анализа

Параметр	Значение
Время удерживания, мин	7,6 – 7,9
Асимметрия пика	1,34
Разрешение	1,17
Коэффициент емкости	3,64
Чувствительность метода, нг/мл	20
Линейность, мкг/мл	0 – 100

Фармакокинетические показатели изучаемых препаратов рассчитывали модельно-независимым методом статистических моментов [Агафонов А.А., Пиотровский В.К., 1991; Сергиенко В.И. и др., 2003]. Определяли следующие фармакокинетические показатели:  $C_{max}$  – максимальная концентрация препарата в плазме крови,  $T_{max}$  – время достижения максимальной концентрации,  $AUC_t$  – площадь под фармакокинетической кривой,  $Cl$  – общий клиренс препарата,  $V_d$  – кажущийся объем распределения, отношение  $C_{max}$  к  $AUC_t$  как параметр всасывания препарата,  $K_{el}$  – константа элиминации и  $T_{1/2}$  – период полувыведения.

С целью моделирования фазных состояний системы энергопродукции применяли нормобарическую гиперкапническую гипоксию (НГГ) разной степени тяжести: 10 мин – НГГа (активирующее воздействие на систему энергопродукции) и до наступления агональных явлений – НГГу (угнетающее воздействие на систему энергопродукции). Объем гермокамеры 0,2 л. Состояние системы энергопродукции оценивали через 10 мин после гипоксического воздействия и после наступления агональных явлений, а также через 1 – 4, 7 – 11, 14 – 21 сут после гипоксического воздействия.

В качестве другого вида воздействия на систему энергопродукции использовали введение серотонина путем внутрибрюшинной инъекции соли серотонин-креатининсульфата (СКС). СКС вводили однократно в дозе 5 мг/кг, сопоставимой с радиопротекторной и влияющей на митохондриальные процессы [Кондрашова М.Н., 1981, 1985; Хазанов В.А., 1993].

Функциональное состояние системы энергопродукции митохондрий печени оценивали полярографическим методом по поглощению кислорода в различных метаболических состояниях по Чансу [Chance B., Williams G.R., 1955]. Субстратами окисления служили сукцинат (ЯК) 5 мМ, смесь малата и глутамата (МГ) по 3 мМ и их комбинация с ингибитором СДГ – малонатом (МГ+МН) 2 мМ либо с ингибитором аминотрансфераз – аминоксиацетатом (МГ+АОА) 0,5 мМ. Рассчитывали скорости потребления кислорода митохондриями до ( $V_{4п}$ ), во время ( $V_3$ ) и после ( $V_{4о}$ ) цикла фосфорилирования добавленной АДФ (0,1 мМ) и время фосфорилирования АДФ (Tr). Для оценки энергетического статуса рассчитывали коэффициент стимуляции дыхания ( $CD=V_3/V_{4п}$ ), дыхательного кон-

троля ( $ДК=V_3/V_{40}$ ) и сопряженности окислительного фосфорилирования (АДФ/О).

Параллельно полярографическому исследованию оценку функционального состояния митохондрий проводили методом флуоресцентной спектроскопии на спектрофлуориметре НІТАСНІ М-850. При длине волны света возбуждения 350 нм и длине волны света испускания 450 нм измеряли уровень восстановленности пиридиннуклеотидов (УВПН). Субстраты и ингибиторы использовали те же, что при полярографическом исследовании. Регистрировали УВПН в гомогенате до ( $F_{4п}$ ), во время ( $F_3$ ) и после ( $F_{40}$ ) фосфорилирования добавленной АДФ в условиях окисления эндогенных и экзогенных субстратов, а также скорость восстановления окисленных пиридиннуклеотидов (ПН) –  $V_{3а}$ .

В качестве препаратов, влияющих на энергетический обмен, использовали интермедиаты ЦТК – янтарную кислоту (ЯК) (Sigma) в антитоксической, антигипоксической дозе 50 мг/кг и глутаминовую кислоту (Глу) (Sigma) в эквимоллярной ЯК дозе – 78 мг/кг. Их роль в коррекции состояния системы энергопродукции при гипоксии, стрессе, интоксикации показана в нашей лаборатории ранее [Хазанов В.А., 1996, 2002, 2003, 2004]. Интермедиаты ЦТК вводили внутривенно вместе с введением лоратадина, после НГТу и в течение  $n$  дней после НГТу, где  $n$  = количество дней до очередного этапа фармакокинетического исследования.

Экспериментальный материал подвергли статистическому анализу [Лакин Г.Ф., 1990]. Использовали метод парных сравнений по критерию Вилкосона – Манна – Уитни. Вероятность случайного вывода составляла 5% ( $p<0,05$ ).

### **Влияние нормобарической гиперкапнической гипоксии на функциональное состояние митохондрий печени**

В группе животных, перенесших НГТа, при окислении эндогенных субстратов отмечены увеличение скорости дыхания МХ в активном фосфорилирующем состоянии ( $V_3$ ) на 23% и коэффициентов СД и ДК на 12 и 13% соответственно, а также уменьшение Тг на 21% и увеличение дыхательного диапазона на 56% по сравнению с данными показателями в группе контроля. Субстратная нагрузка в виде добавки ЯК (5мМ) в среду инкубации способствовала контрастированию изменений, вызванных гипоксией. Выявлены увеличение  $V_3$  на 16% и уменьшение скоростей дыхания  $V_{4п}$  и  $V_{40}$  на 20 и 32% соответственно относительно группы контроля. Возросли параметры СД,  $V_3 - V_{4п}$  и ДК на 35; 51 и 62% соответственно на фоне уменьшения Тг на 42%, что свидетельствует о повышении функциональной активности МХ и эффективности окислительного фосфорилирования. Кроме того, при оценке показателей флуоресценции отмечено увеличение  $F_{4п}$  и  $F_{40}$  на 21 и 26%, а  $V_{3а}$  на 36% соответственно. Как было показано в ранних исследованиях [Chance В. 1969], УВПН в МХ в значительной мере определяется активностью СДГ. Внесение экзогенного сукцината активизирует работу СДГ, увеличивая поток восстановительных эквивалентов по дыхательной цепи, в том числе и обратный перенос электронов на НАДН.

При добавлении в среду инкубации МХ НАД-зависимых субстратов наблюдали уменьшение  $V_{4п}$  и  $V_{40}$  на 21 и 35%, а также увеличение СД и ДК на 39

и 75% соответственно. Учитывая, что экзогенный глутамат преимущественно переаминируется [Кондрашова М.Н., 1991], для сопоставления вклада окисления эндогенной ЯК, образующейся в процессах переаминирования, использовали ингибитор СДГ малонат. Добавление малоната при окислении малата и глутамата привело к снижению скоростей дыхания  $V_{4п}$ ,  $V_3$  и  $V_{4о}$  на 28; 13 и 38% соответственно с одновременным снижением АДФ/О с 2,9 в контроле до 2,3 в опытной группе. Увеличение доли малонат-чувствительного дыхания МХ при окислении НАД-зависимых субстратов на 177% по сравнению с таковым в группе контрольных животных указывает на активацию сукцинат-зависимого звена системы энергопродукции. Использование АОА позволило выявить увеличение вклада реакций переаминирования при окислении малата и глутамата, что выражается в снижении  $V_3$  и  $V_{4о}$  на 13 и 18% соответственно по сравнению с контролем. Выявленные изменения указывают на выраженную зависимость функционального состояния МХ от окисления эндогенного сукцината, образующегося в реакциях переаминирования, и активацию быстрого метаболического кластера по сравнению с контролем. Такое функциональное состояние МХ можно охарактеризовать как стадию активации системы энергопродукции.

В группе животных, перенесших НГГу, при окислении эндогенных субстратов выявили уменьшение  $V_{4п}$  и  $V_3$  на 24 и 15% соответственно. Снижение на 12% АДФ/О и одновременное уменьшение ДК на 17%, в сравнении с этим показателем у интактных животных выявляет в этой группе нарушение метаболического контроля дыхания и разобщение окислительного фосфорилирования. По сравнению с группой контроля выявлено снижение  $F_{4п}$ ,  $F_3$  и  $F_{4о}$  на 33,5; 38 и 37% соответственно, а  $V_{3а}$  уменьшилась на 39%, что указывает на возможное торможение транспорта электронов в дыхательной цепи.

При окислении ЯК отмечено снижение  $V_3$  и  $V_{4о}$  на 14 и 21% соответственно по сравнению с таковыми в группе контроля, что указывает на снижение сукциноксидазной активности МХ. Уменьшение СД на 12%, а также  $V_3 - V_{4о}$  на 20% свидетельствует об угнетении активности ключевого фермента цикла трикарбоновых кислот – СДГ и о срыве компенсаторно-адаптационных механизмов. УВПН при окислении ЯК также указывают на возможные нарушения в функциональной активности СДГ. Выявленное снижение  $F_{4п}$ ,  $F_3$  и  $F_{4о}$  на 27; 29 и 25% соответственно и  $V_{3а}$  – на 42% указывает на уменьшение вклада обратного переноса электронов на ПН при окислении ЯК.

При утилизации смеси малата и глутамата МХ животных, перенесших НГГу, отмечали снижение  $V_3$  на 21% с соответствующим снижением СД и ДК на 20 и 24% и увеличение Tr на 18% по сравнению с данными параметрами в группе контрольных животных, что указывает на наличие кинетического энергодефицита в митохондриях, формируемого под действием гипоксии [Хазанов В.А., 2003]. Снижение  $F_{4п}$ ,  $F_3$  и  $F_{4о}$  составило 35; 35 и 37% соответственно, а  $V_{3а}$  – 37%. Выявленные изменения свидетельствуют о значительном угнетении НАД-зависимого звена системы энергопродукции, что соответствует представлению об адаптационных процессах, протекающих при гипоксии [Кондрашова М.Н., 1989; Поборский А.Н., 1991; Хазанов В.А., 1993]. Для оценки роли сукцинат- и «чистого» НАД-зависимого окисления использовали ингибиторный

анализ. Внесение в среду инкубации, содержащую НАД-зависимые субстраты, малоната не выявляло увеличения малонат-чувствительного дыхания по сравнению с контрольными животными, что при данной патологии указывает на ингибирование активности СДГ. Применение ингибитора аминотрансфераз АОА также не выявило увеличения вклада окисления ЯК, образуемой в ходе реакций переаминирования, в МХ печени группы животных, перенесших НГГу.

Таким образом, НГГу приводит к существенным изменениям в функционировании системы энергопродукции МХ печени; наблюдается угнетение активности СДГ и реакций быстрого метаболического кластера, происходит угнетение как НАД- так и сукцинатоксидазной активности. Следовательно, в МХ печени мышей, подвергнутых гипоксии до агональных явлений, формируется истощение энергетических ресурсов.

На наш взгляд, выявленные изменения в системе энергопродукции после гипоксического воздействия в 1 – 21-е сут удобнее рассматривать с позиции трех условно выделенных нами функциональных состояний МХ. Стереотипные изменения функционального состояния МХ печени мышей, перенесших НГГу, наблюдали в 1 – 4, 7 – 11 и 14 – 21-е сут. Группы животных со стереотипными изменениями функционального состояния МХ в 1 – 4, 7 – 11 и 14 – 21-е сут после гипоксического воздействия обозначили как НГГу<sub>1</sub>, НГГу<sub>2</sub> и НГГу<sub>3</sub> соответственно.

Анализ функционального состояния МХ печени мышей группы НГГу<sub>1</sub> показал снижение  $V_{40}$  на 29% и увеличение АДФ/О на 30% в сравнении с этими показателями в группе животных, перенесших НГГу. У них отмечено восстановление УВПН МХ печени до значений в контрольной группе, при этом  $V_{3a}$  увеличился более чем в 3 раза по сравнению с контрольными и в 5 раз в сравнении с животными перенесшими НГГу. Выявленные изменения отражают восстановление метаболического контроля дыхания и окислительного фосфорилирования, а также нормализацию электрон-транспортной функции дыхательной цепи в МХ печени мышей на 1 – 4-е сут после гипоксического воздействия до агональных явлений.

При окислении ЯК отмечено восстановление (по сравнению с этим показателем у животных, перенесших НГГу) величины показателя СД. В то же время выявленное увеличение АДФ/О на 21% и  $V_{3a}$  в 3 и 5 раз по сравнению с таковыми в контроле и группе животных, перенесших НГГу, соответственно указывает на увеличение сукцинатоксидазной активности в этой группе.

Утилизация НАД-зависимых субстратов МХ печени сопровождалось повышением АДФ/О на 16% относительно показателей группы животных, перенесших НГГу. Кроме того, выявленная нормализация коэффициентов СД и ДК, восстановление УВПН и увеличение  $V_{3a}$  в 3 раза позволяют утверждать, что сдвиги НАД-зависимого окисления носили компенсаторный характер, направленный на увеличение КПД окислительного фосфорилирования в условиях восстановления после глубокого гипоксического воздействия.

Проведенный ингибиторный анализ с использованием малоната и АОА выявил увеличение вклада ЭЯК в НАД-зависимое окисление субстратов в группе животных НГГу<sub>1</sub>.

Таким образом, в группе животных НГГу<sub>1</sub> по сравнению с группой животных, перенесших НГГу, выявлено частичное восстановление функциональной активности МХ, в основном за счет повышения активности СДГ, с повышением сопряженности окислительного фосфорилирования.

В группе животных НГГу<sub>2</sub> констатировали повышение сукцинат- и НАД-зависимой энергопродукции МХ по сравнению с группой НГГу<sub>1</sub> и группой животных, перенесших НГГу. Высокие скорости восстановления ПН,  $V_{3a}$  в 3 раза выше по сравнению с аналогичным показателем в группе животных, перенесших НГГу, и группе контроля. Высокие скорости дыхания МХ, наряду со сниженным значением АДФ/О, указывают на разобщение процесса окислительного фосфорилирования и возможное нарушение электрон-транспортной функции дыхательной цепи в группе животных НГГу<sub>2</sub>

Анализ функционального состояния МХ в группе животных НГГу<sub>3</sub> выявляет прогресс изменений, выявленных в группе животных НГГу<sub>2</sub> (дальнейшее повышение скоростей дыхания МХ и снижение АДФ/О), что указывает на прогрессирующее разобщение процесса окислительного фосфорилирования и нарушений электрон-транспортной функции дыхательной цепи.

Таким образом, изменения функционального состояния МХ печени мышей, перенесших НГГу, в период 1 – 4-е сут носят адаптивно-компенсаторный характер и сопровождаются повышением сопряженности окислительного фосфорилирования с частичным восстановлением активности дегидрогеназного звена МХ. В период 4 – 11-х и 14 – 21-х сут изменения функционального состояния МХ носят дезадаптивный характер и сопровождаются активацией дегидрогеназного звена МХ с прогрессирующим (от группы животных НГГу<sub>2</sub> к группе животных НГГу<sub>3</sub>) разобщением процесса окислительного фосфорилирования.

### **Оценка фармакокинетики гликлазида в норме и при измененном функциональном состоянии системы энергопродукции МХ печени**

Фармакокинетический профиль гликлазида у контрольных животных представлен на рис. 5, а. Основная часть препарата выводится из крови через 12 ч после введения. Максимальная концентрация гликлазида в плазме крови наблюдалась через 3 ч после введения препарата и составляла 1,25 мкг/мл. Остальные фармакокинетические параметры представлены в табл. 3.

НГГу существенно влияла на фармакокинетические параметры гликлазида (см. табл. 3). На рис. 5, б представлен фармакокинетический профиль гликлазида у животных, перенесших гипоксию. По отношению к контрольным животным отмечено увеличение более чем в 3 раза площади под фармакокинетической кривой ( $AUC_t$ ), общий клиренс препарата ( $Cl$ ) уменьшился на 77%, а константа элиминации ( $K_{el}$ ) на 34% соответственно, также уменьшился кажущийся объем распределения ( $V_d$ ) на 65%, что указывает на снижение распределения препарата в тканях. Максимально зарегистрированный уровень препарата в плазме крови животных ( $C_{max}$ ) возрос в 2,6 раза, вместе с этим произошло и увеличение параметра  $T_{1/2}$  на 52%. Показатель скорости всасывания препарата –

$C_{\max}/AUC_t$  статистически достоверно не отличался от такового в контрольной группе.

Таблица 3  
Фармакокинетические параметры гликлазида в норме и после НГГу ( $X \pm S_{\bar{X}}$ ), n = 6

Параметр	Контроль	НГГу
$T_{\max}$ , ч	3,0	3,0
$AUC_t$	$5,83 \pm 0,48$	$21,92 \pm 2,13^*$
$K_{el}$ , 1/ч	$0,20 \pm 0,016$	$0,13 \pm 0,012^*$
$CL$ , л/ч	$0,26 \pm 0,019$	$0,06 \pm 0,004^*$
$V_d$ , л	$1,29 \pm 0,11$	$0,44 \pm 0,038^*$
$C_{\max}$ , мкг/мл	$1,25 \pm 0,10$	$3,19 \pm 0,29^*$
$T_{1/2}$ , ч	$3,48 \pm 0,32$	$5,31 \pm 0,51^*$
$C_{\max}/AUC_t$	$0,21 \pm 0,018$	$0,17 \pm 0,014$

(\*) – Различия статистически достоверны по сравнению с данными контрольной группы при  $p < 0,05$ .

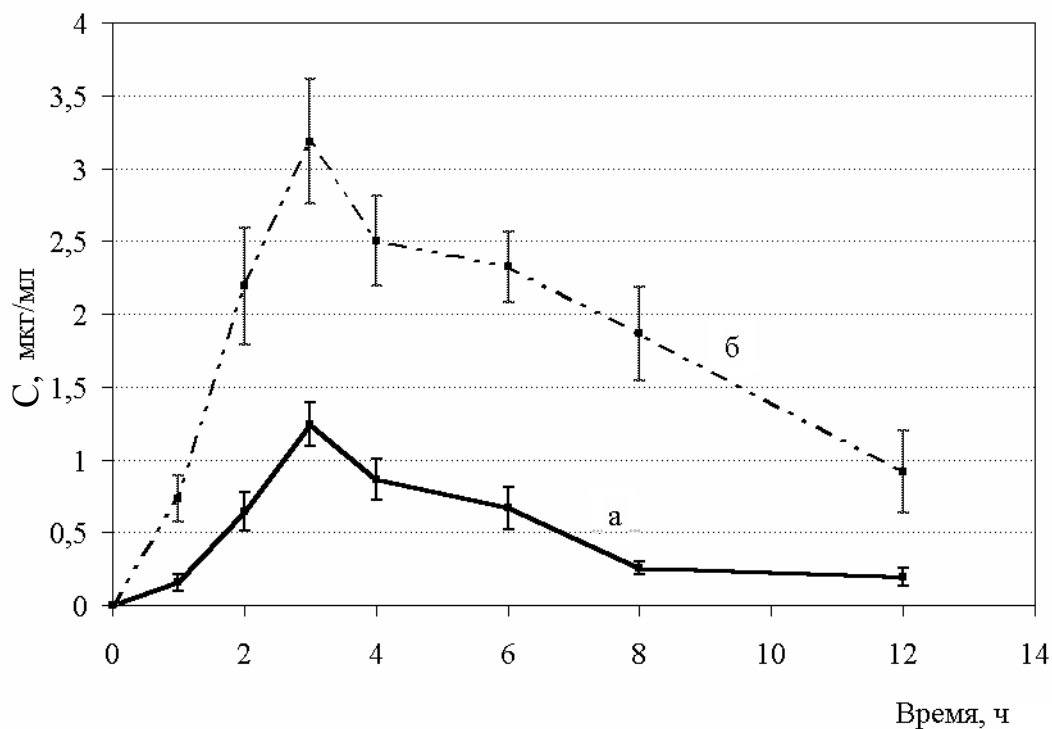


Рис. 5. Фармакокинетический профиль гликлазида в норме (а) и после НГГу (б)

Очевидно, после гипоксического воздействия фармакокинетика гликлазида существенно изменяется за счет угнетения процессов биотрансформации и элиминации, что можно объяснить деэнергизацией МХ, катализирующих метаболизм ксенобиотиков, вследствие угнетения системы энергопродукции в стадию истощения адаптивной реакции организма в ответ на гипоксическое воздействие. Уровень гликлазида в плазме крови мышей, перенесших гипоксию, гораздо выше, чем у контрольных животных, что может приводить к неконтролируемому фармакологическому эффекту и проявлению побочных эффектов.

### Оценка фармакокинетики лоратадина в норме и при разных функциональных состояниях системы энергопродукции МХ печени

Фармакокинетику лоратадина изучали после воздействия НГГу, через 4 и 8 сут после НГГу, а также через 0,5 ч после введения серотонина в дозе 5 мг/кг, кроме того, оценивали содержание препарата в плазме крови животных, перенесших НГГа, через время, равное параметру  $T_{max}$ , – в группе контрольных животных.

Фармакокинетический профиль лоратадина у контрольных животных представлен на рис. 6, а и 7, а. Максимальная концентрация препарата достигается через 15 мин ( $T_{max}$ ) после однократного введения лоратадина животным и составляет 25,4 нг/мл. Значительное снижение концентрации препарата в плазме крови (не менее чем на 80% от максимального значения) наблюдается через 2 ч после его введения. Остальные фармакокинетические параметры представлены в табл. 4.

Таблица 4

Фармакокинетические параметры лоратадина в норме, после НГГу, через 4, 8 сут после НГГу и после введения серотонина в дозе 5 мг/кг ( $X \pm S_x^-$ ), n = 6

Параметр	Контроль	НГГу	НГГу, 4-е сут	НГГу, 8-е сут	СКС 5 мг/кг
$T_{max}$ , мин	15,0	25,0±3,46*	10,0*	27,0±2,7*	15,0
$AUC_t$	1,36±0,13	1,55±0,15	6,40±0,51*	1,17±0,11	3,29±0,28*
$K_{el}$ , 1/мин	21,50±1,81	4,34±0,33*	10,47±1,15*	7,42±0,63*	11,8±1,43*
$Cl$ , л/мин	0,682±0,057	0,26±0,018*	0,11±0,009*	0,49±0,039*	0,22±0,017*
$V_d$ , л	31,47±2,65	61,24±5,64*	10,84±1,02*	67,02±6,25*	71,94±6,54*
$C_{max}$ , нг/мл	25,35±2,13	17,84±1,54*	152,33±13,28*	17,11±1,81*	71,94±7,21*
$T_{1/2}$ , мин	32,27±3,01	161,01±13,23*	66,82±5,34*	94,00±8,65*	58,52±4,95*
$C_{max}/AUC_t$	18,72±1,22	11,52±1,30*	23,8±1,92*	14,6±1,74	21,9±1,62

(\*) – Различия статистически достоверны по сравнению с данными контрольной группы при  $p < 0,05$ .

На рис. 6, в представлен усредненный фармакокинетический профиль лоратадина в крови животных, перенесших НГГу. Фармакокинетические параметры данного профиля представлены в табл. 4. По отношению к группе контрольных животных отмечено увеличение параметра  $T_{max}$  с 15 до 25 мин, несмотря на уменьшение  $C_{max}$  на 29%, что, очевидно, связано с изменением скорости всасывания и распределением препарата. По отношению к контрольной группе животных отмечены уменьшение  $Cl$  и  $K_{el}$  на 61 и 80% соответственно, увеличение кажущегося объема распределения  $V_d$  на 95%, что указывает на снижение скорости выведения препарата из организма и повышение степени проникновения препарата в ткани после НГГу. Период полувыведения лоратадина ( $T_{1/2}$ ) возрос в 5 раз, а показатель скорости всасывания препарата уменьшился на 32% по сравнению с этим показателем контрольной группы.

Выявленные изменения фармакокинетики лоратадина указывают на угнетение процессов абсорбции (уменьшение  $C_{max}/AUC_t$  и увеличение  $T_{1/2}$ ,  $T_{max}$ ), метаболизма (увеличение  $AUC_t$ ) и элиминации (снижение  $K_{el}$  и  $Cl$ ) препарата. В то же время отмечено повышение объема распределения (увеличение  $V_d$ ). Ме-

таболизм лоратадина затормаживается по сравнению с контрольными животными за счет угнетения процессов биотрансформации и элиминации, что можно объяснить деэнергизацией МХ, катализирующих метаболизм ксенобиотиков, вследствие угнетения системы энергопродукции после воздействия НГГу. Вероятно, механизм нарушения процессов абсорбции и распределения препарата связан с последствиями гипоксического воздействия: нарушением гемодинамики, микроциркуляторного русла и изменением мембранной и клеточной проницаемости.

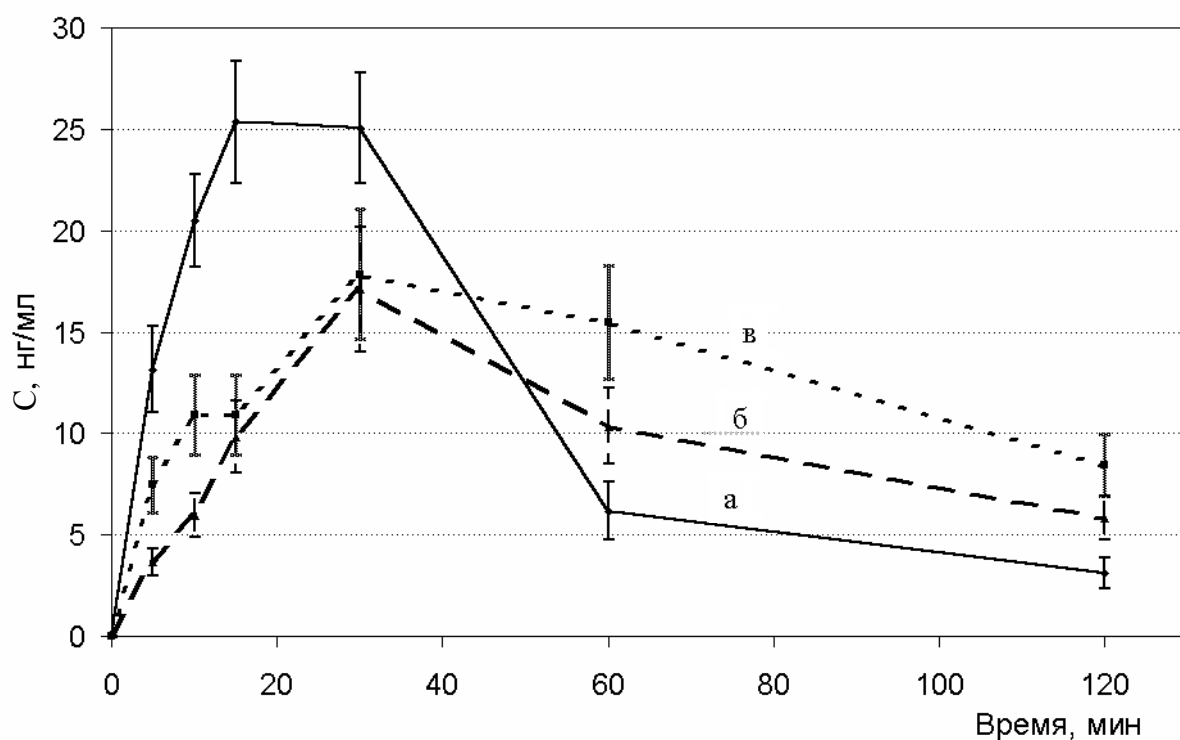


Рис. 6. Фармакокинетический профиль лоратадина в плазме крови: в норме (а), через 8 сут после НГГу (б) и после НГГу (в)

Фармакокинетический профиль лоратадина у животных через 4 сут после НГГу представлен на рис. 7, в. Анализ фармакокинетических параметров (см. табл. 4) позволил выявить ряд изменений по сравнению с параметрами контрольной группы. Отмечены уменьшение  $T_{max}$  с 15 до 10 мин и увеличение скорости всасывания препарата на 27%. Площадь под фармакокинетической кривой увеличилась в 4,7 раза с сопутствующим снижением  $Cl$  и  $K_{el}$  на 83 и 51% соответственно по отношению к показателям в группе контроля. Кажущийся объем распределения препарата снизился на 66%, что указывает на снижение степени проникновения препарата в ткани, а значение  $C_{max}$  возросло в 6 раз по сравнению с этим показателем контрольной группы животных. Фармакокинетические свойства препарата значительно изменились как по сравнению с контрольными значениями, так и по сравнению со значениями в группе животных, которым лоратадин вводили сразу после НГГу. Значительное повышение максимальной концентрации лоратадина в плазме крови свидетельствует о снижении интенсивности метаболических процессов лоратадина, либо о снижении степени его проникновения в ткани.



Через 8 сут после гипоксического воздействия по сравнению с аналогичным параметром в группе контрольных животных было выявлено увеличение значения  $T_{\max}$  с 15 до 27 мин, что свидетельствует о замедлении процесса абсорбции препарата. На этот факт указывает и уменьшение  $C_{\max}$  на 32% с одновременным снижением  $K_{el}$  и  $Cl$  на 66 и 27% соответственно. Двукратное повышение кажущегося объема распределения  $V_d$  свидетельствует о резком изменении соотношения препарата между кровью и тканями (повышении концентрации препарата в тканях) (см. табл. 4). На рис. 6, б изображен усредненный фармакокинетический профиль лоратадина в плазме крови мышей на 8-е сут после гипоксического воздействия.

Таким образом, низкий уровень лоратадина в плазме крови животных на 8-е сут после НГГу связан с интенсификацией процессов метаболизма и резким изменением кажущегося объема распределения лоратадина.

### Оценка содержания лоратадина в плазме крови животных, перенесших НГГа через 15 мин после введения

Концентрация лоратадина в плазме крови животных, перенесших НГГа через 15 мин после однократного введения, составляла  $(48,25 \pm 5,11)$  нг/мл, что в 1,9 раза выше, чем в контроле (рис. 8). Активация системы энергопродукции в этой группе животных не приводит к ожидаемому понижению концентрации препарата в связи с ускорением метаболизма. Очевидно, повышение концентрации лоратадина в плазме крови животных связано со снижением степени распределения в тканях, в результате повышается концентрация препарата в центральной камере (кровь).

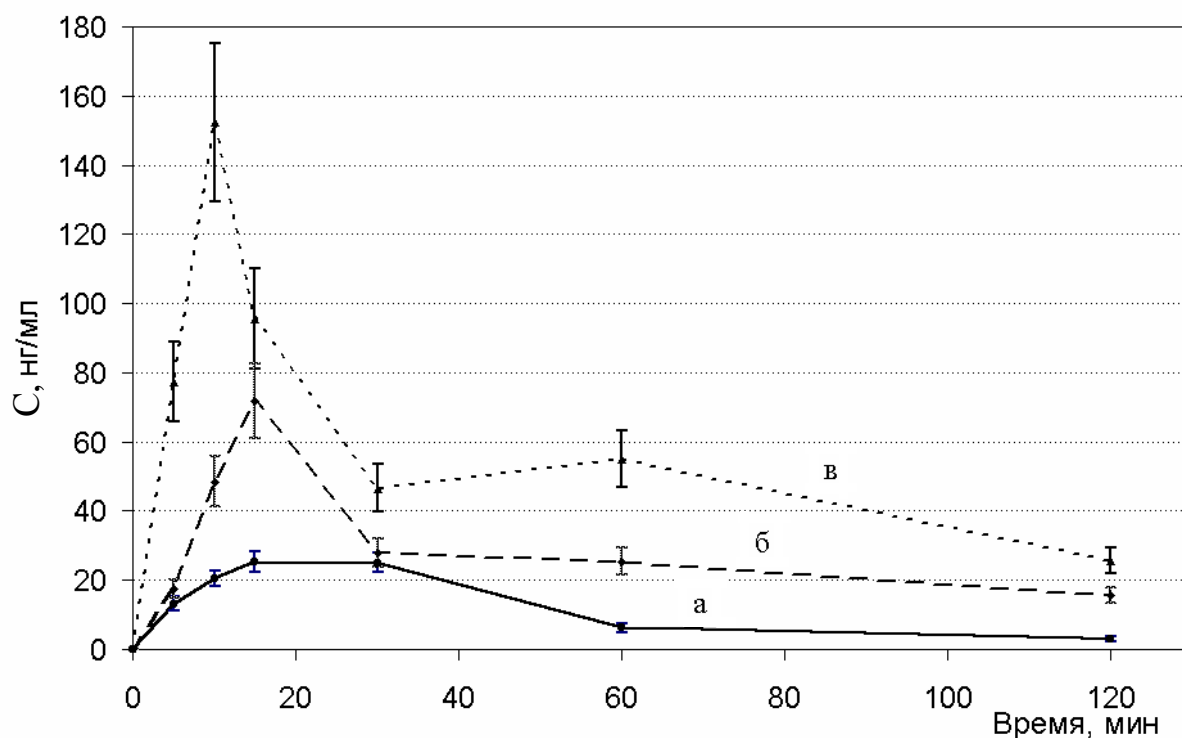


Рис. 7. Фармакокинетический профиль лоратадина в плазме крови: в норме (а), после введения СКС в дозе 5 мг/кг (б) и через 4 сут после НГГу (в)

### Анализ фармакокинетики лоратадина при введении серотонина

На фоне угнетения системы энергопродукции печени при введении животным 5 мг/кг СКС [Диш А.Ю., 2004] отмечено существенное изменение фармакокинетических параметров лоратадина по сравнению с показателем в группе контроля (см. табл. 4). Выявлено увеличение параметров  $C_{max}$  и  $AUC_t$  в 2,8 и 2,2 раза, снижение значения  $K_{el}$  и  $Cl$  на 45 и 67% по сравнению с контролем. Объем распределения препарата увеличился в 2,3 раза по сравнению с контролем. Выявленные изменения указывают на ингибирование процессов выведения препарата, накоплении лекарственного вещества в центральной камере и повышение его концентрации в тканях. На рис. 7, б представлен усредненный фармакокинетический профиль лоратадина на фоне введения животным СКС. Очевидно, при введении серотонина в ингибирующей СДГ дозе 5 мг/кг происходит замедление метаболизма препарата по сравнению с группой животных контроля.

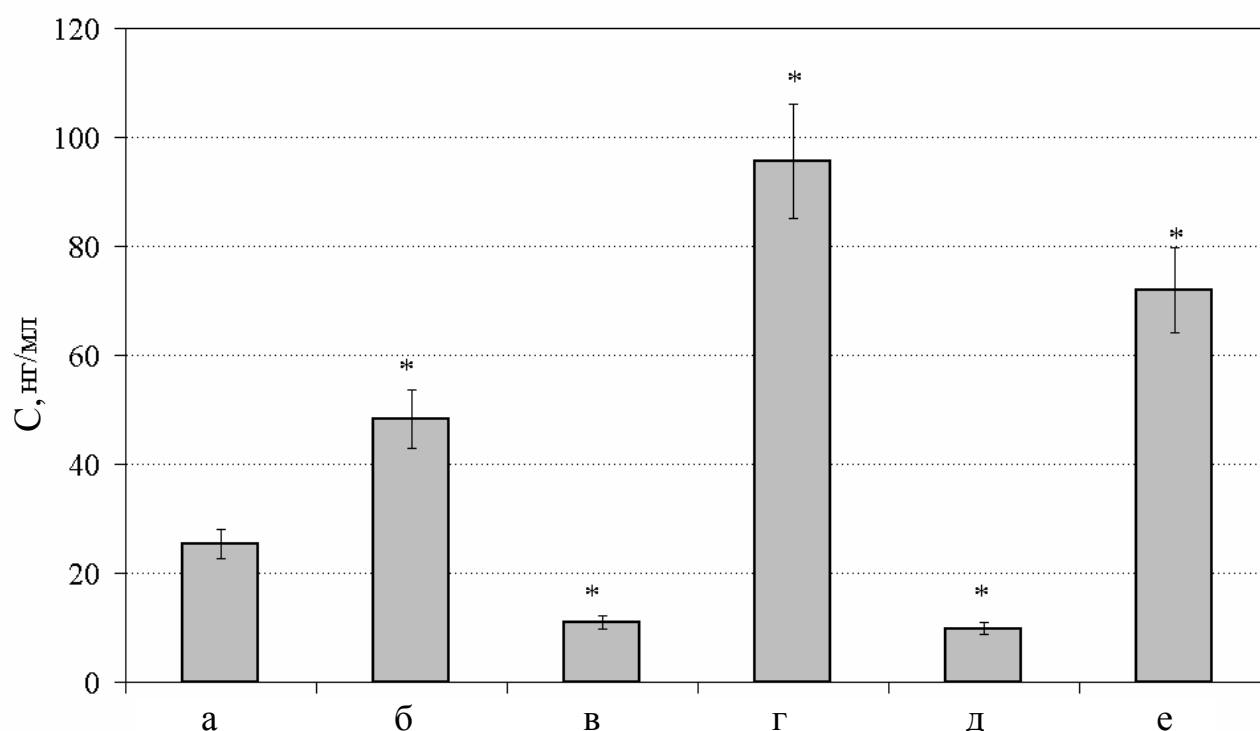


Рис. 8. Содержание лоратадина в плазме крови животных через 15 мин после введения в дозе 30 мг/кг: в контрольной группе (а), после НГГа (б), после НГГу (в), через 4 сут после НГГу (г), через 8 сут после НГГу (д), после введения СКС 5 мг/кг (е); (\*) – различия достоверны по сравнению с контролем при  $p < 0,05$

### **Влияние интермедиатов ЦТК на фармакокинетику лоратадина у мышей, перенесших гипоксическое воздействие**

С целью предотвращения дезадаптивных сдвигов энергетического обмена после гипоксического воздействия на систему энергопродукции применяли янтарную кислоту и ее комбинацию глутаматом (Глу).

Введение ЯК в стадию истощения адаптивной реакции системы энергопродукции вызывает парадоксальное ингибирование СДГ и реакций быстрого метаболического кластера МХ, усугубляет ингибированное состояние системы энергопродукции [Диш А.Ю., 2004]. Введение животным, перенесшим НГГу, вместе с лоратадином ЯК приводит к еще большему угнетению системы энергопродукции и, в связи с замедлением процессов биотрансформации, ведет к увеличению концентрации лоратадина в плазме крови животных в 5,5 раза по сравнению с этим параметром в группе животных, перенесших НГГу. Введение совместно с лоратадином комбинации ЯК + Глу, очевидно приводит, к некоторой нормализации активности системы энергопродукции и нивелирует различия в концентрации лоратадина по сравнению с этим показателем в группе контроля (рис. 9, а, б)

Введение животным ЯК, перенесшим НГГу, в течение 4 сут привело к увеличению максимальной концентрации лоратадина в плазме крови по сравнению с таковой в группе животных перенесших НГГу и не получавших ЯК, в 1,6 раза. Введение в течение 4 сут композиции ЯК и Глу животным, перенесшим НГГу, привело к увеличению максимальной концентрации лоратадина в плазме крови по сравнению с таковой в группе животных, перенесших НГГу и не получавших композицию ЯК и Глу, в 1,9 раза. Достоверной разницы этого показателя между группой животных, получавших ЯК и смесь ЯК и Глу, нет. Как при введении ЯК, так и ее композиции с Глу концентрация препарата в плазме крови гораздо выше значений в контрольной группе (рис. 9, а, в). Очевидно, введение интермедиатов ЦТК в постгипоксическом периоде ведет к нормализации функционирования системы энергопродукции и, соответственно, системы биотрансформации, что, однако, не приводит к нормализации плазменного уровня лоратадина. Казуистическое повышение концентрации лоратадина, вероятно, связано с нарушением мембранной и клеточной проницаемости, связывания препарата с белками как следствие гипоксического повреждения [Chan, Fishman, 1978, 1980]. Подобные изменения наблюдали и в группе животных, перенесших НГГу и получавших 8 сут ЯК и ее композицию с Глу. Отмечено 9-кратное увеличение  $C_{max}$  лоратадина при введении ЯК и 8-кратное при введении животным комбинации ЯК и Глу по отношению к группе животных, перенесших НГГу (рис. 9, а, г).

Таким образом, введение интермедиатов ЦТК животным, перенесшим НГГу, приводит к существенному изменению фармакокинетики лоратадина.

На основании полученных данных можно утверждать, что фармакокинетика, а значит и фармакодинамика лекарственных средств (так как основополагающим фактором обеспечения фармакологического эффекта лекарственного вещества является его концентрация в крови), на примере лоратадина и гликлазида, зависят от состояния системы энергопродукции печени.

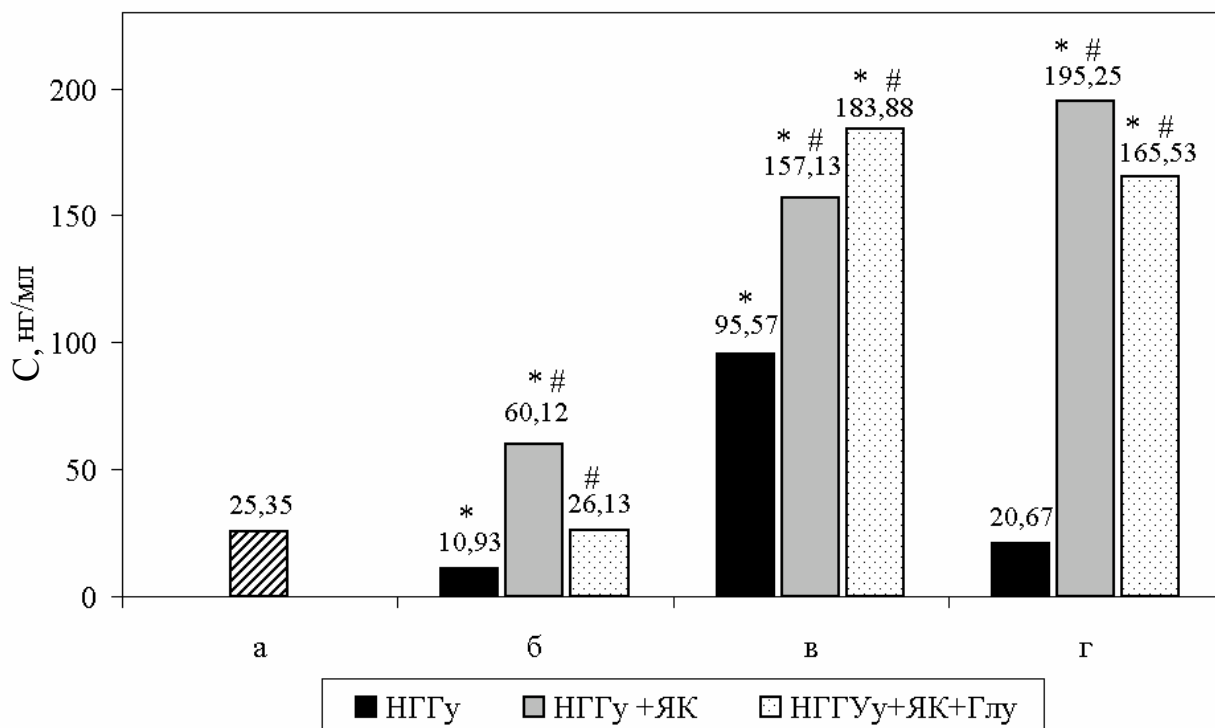


Рис. 9. Содержание лоратадина в плазме крови животных через 15 мин после введения в дозе 30 мг/кг: в контрольной группе (а), после НГГУ (б), через 4 сут после НГГУ (в), через 8 сут после НГГУ (г); различия достоверны по сравнению: (\*) – с группой контроля, (#) – с группой НГГУ при  $p < 0,05$

Установленный в нашей лаборатории общий механизм фазного формирования ответной реакции системы энергопродукции, независимо от действующего на организм фактора, будь то физические или ксенобиотические нагрузки, стресс, ишемия, гипоксия, ставит перед исследователями задачу разработки экспрессных методов мониторинга состояния системы энергопродукции. Понимание взаимосвязи фармакокинетики лекарственных средств, на примере лоратадина и гликлазида, и состояния системы энергопродукции позволяет адекватно проводить лекарственную терапию с учетом энергетического статуса больного, назначать уникальный режим дозирования конкретному больному для достижения оптимального фармакологического эффекта и снижения токсического влияния препарата, а не использовать усредненные дозировки лекарственных средств.

Янтарная и глутаминовая кислоты являются компонентами разработанных лекарственных препаратов – регуляторов энергетического обмена [Хазанов В.А., 2003, 2004]. Их эффект проявляется в изменении сукцинат- и НАД-зависимых процессов МХ, повышении резистентности системы энергопродукции. Следует ожидать, что препараты, созданные на их основе, могут применяться с целью оптимизации фармакологического эффекта другого лекарственного препарата при изменении его концентрации в крови в результате изменения энергетического статуса организма больного.

## ВЫВОДЫ

1. Разработанная высокочувствительная хроматографическая методика позволяет уверенно определять концентрацию лоратадина и гликлазида в плазме крови при введении препаратов в терапевтических дозах.
2. Реакция системы энергопродукции печени мышей на нормобарическую гиперкапническую гипоксию в гермокамере 0,2 л продолжительностью 10 мин характеризуется активацией сукцинат- и НАД-зависимого звеньев окисления субстратов; гипоксическое воздействие до агональных явлений приводит к угнетению сукцинат- и НАД-зависимых путей окисления и снижению сопряженности окислительного фосфорилирования.
3. Функциональное состояние системы энергопродукции печени мышей на 1 – 4-е сут после гипоксической травмы характеризуется ингибированием сукцинат- и НАД-зависимых путей окисления с увеличением сопряженности окислительного фосфорилирования, на 7 – 11-е сут наблюдается активация сукцинат- и НАД-зависимых путей окисления с признаками разобщения окислительного фосфорилирования, на 14 – 21-е сут после гипоксической травмы отмечается гиперактивация сукцинат- и НАД-зависимого окисления с прогрессирующим разобщением окислительного фосфорилирования.
4. Изменение состояния системы энергопродукции сопровождается изменением фармакокинетики лоратадина и гликлазида. Так, ингибирование системы энергопродукции гипоксическим воздействием или введением серотонина в дозе 5 мг/кг сопровождается угнетением процессов биотрансформации и элиминации лоратадина и гликлазида, а активация системы энергопродукции гипоксическим воздействием приводит к повышению максимальной концентрации лоратадина в крови.
5. Терапевтическое введение янтарной кислоты и ее композиции с глутаминовой существенно влияет на концентрацию лоратадина в крови мышей, перенесших гипоксическое воздействие. В начальный и отдаленные сроки после гипоксического воздействия янтарная кислота повышает концентрацию лоратадина в крови, ее смесь с глутаминовой кислотой в начальный период после гипоксии снижает повышенную концентрацию препарата до нормы, а в отдаленные периоды (7 – 11 и 14 – 21 дней) повышает.
6. Фармакологическое воздействие на митохондриальные процессы интермедиатами цикла Кребса позволяет управлять процессами биотрансформации и фармакокинетики, что особенно важно при фармакотерапии препаратами с узким диапазоном терапевтического действия и влияющими на состояние жизненно важных органов и систем.

**Перечень работ опубликованных по теме диссертации**

1. Особенность высокоэффективной жидкостной хроматографии анализа гликлазида в плазме крови // Актуальные проблемы экспериментальной и клинической фармакологии. – Томск: Изд-во Том. ун-та. – 2001. – С. 61-63 (соавт. Диш А.Ю., Хазанов В.А.).
2. Фармакокинетическое исследование каптоприла // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. - 2002. – Прил. 1. - С. 117-119 (соавт. Диш А.Ю., Хазанов В.А. и др.).
3. Индивидуальная вариабельность фармакокинетики каптоприла // Настоящее и будущее технологичной медицины: Мат. Всерос. конф., г. Ленинск-Кузнецкий. – 2002 / СО РАМН, ФГЛПУНКЦОЗШ. – Ленинск-Кузнецкий: Издательский отдел. – С. 325-326 (соавт. Хазанов В.А., Диш А.Ю.).
4. Роль доклинических исследований биодоступности в процессе разработки воспроизведенного лекарственного средства // Настоящее и будущее технологичной медицины: Мат. Всерос. конф. – Ленинск-Кузнецкий. – 2002 / СО РАМН, ФГЛПУНКЦОЗШ. – Ленинск-Кузнецкий: Издательский отдел. – С. 328. (соавт. Зелепукина Ю.Г., Диш А.Ю., Хазанов В.А.).
5. Профилактика нарушения энергетического обмена в эксперименте при сочетанной нагрузке / Многопрофильная больница: пробл. и решения. – Ленинск-Кузнецкий, 2003. Мат. конф. – С. 336 – 337 (соавт. Васильев К.Ю., Хазанов В.А., Диш А.Ю., Зелепукина Ю.Г.).
6. Оптимизация фармакотерапии с учетом состояния системы энергопродукции и фармакокинетики лекарственных средств / Многопрофильная больница: пробл. и решения. Мат. конф. – Ленинск-Кузнецкий, 2003. – С. 354 – 355. (соавт. Диш А.Ю., Васильев К.Ю., Хазанов В.А., Зелепукина Ю.Г.)
7. Влияние нормобарической гиперкапнической гипоксии на систему энергопродукции митохондрий печени мышей в эксперименте / Компен.-приспособ. процессы: фундаментальные, экологические и клин. аспекты. Мат. конф. – Новосибирск, 2004. С. 23 – 24. (соавт. Хазанов В.А., Васильев К.Ю., Диш А.Ю.)
8. Регуляция системы энергопродукции митохондриальными субстратами в опытах *in vitro* / Компен.-приспособ. процессы: фундаментальные, экологические и клин. аспекты. Мат. конф. Новосибирск, 2004. С. 212 – 213. (соавт. Диш А.Ю., Хазанов В.А.).
9. Сравнительный анализ биодоступности ацетилсалициловой кислоты и ее композиции с метаболитом цикла Кребса / Регуляторы энергет. обмена. Клин.-фармакол. аспекты. Мат. симп. на XII Российском симпозиуме «Человек и лекарство» Москва, 2005. С. 134 – 138. (соавт. Брюшнина О.С., Хазанов В.А.).
10. ВЭЖХ с многоволновой детекцией в анализе лекарственных препаратов в биологических объектах / Теория и практика хроматографии. Мат. Конф. – Самара, 2005. С. 72. (соавт. Диш А.Ю., Хазанов В.А.)