МРНТИ: 34.45.05 **DOI: 10.58318/2957-5702-2026-25-52-62**
Оригинальная статья

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА ФАРМАКОКИНЕТИКИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ ТИЛОЗИН 50 И ТИЛАНИК 5% И СТАТИСТИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ ИХ БИОЭКВИВАЛЕНТНОСТИ

Ю.А. Костыркин, Ю.В. Никитин, Игнатосян А.Г., В.Е. Руник В.Е.

ООО Фирма «БиоХимФарм», г. Владимир, Россия
* ignatosyanag@gmail.com

Аннотация. Микробиологическим методом диффузии в агар оценивали суточную динамику содержания антибиотика тилозина в сыворотке крови 6 особей КРС после однократного внутримышечного введения инъекционных форм тилозина тартрата (Тилозин 50, испытуемый препарат) и тилозина основания (Тиланик 5%, тестируемый препарат). При этом Тилозин 50 в отличие от Тиланика 5% дополнительно содержал в своем составе аскорбиновую кислоту, натрия метабисульфит и трилон Б. Был использован последовательный дизайн исследований.

Расчет значений фармакокинетических параметров показал, что препарат Тилозин 50 более активно проникал в системный кровоток в отличие от Тиланика 5%. Между тем, различия между объемами распределения, константами элиминации, значениями клиаренса были статистически незначимыми. Т.е. форма антибиотика в препарате, состав вспомогательных веществ и кислотность инъекционного раствора оказывали воздействие на скорость всасывания действующего вещества, но не отражались на распределении и выведении лекарственного средства из организма телят.

Двусторонний доверительный интервал для соотношений C_{max} и AUC_t при вероятности 90 % находился в диапазоне от 80,00 до 125,00 %, для соотношений C_{max} / AUC_t и C_{max} / AUC_∞ - в диапазоне от 75 до 133 %, что соответствует установленным критериям приемлемости в отношении биоэквивалентности.

Ключевые слова: тилозин, сыворотка крови, динамика содержания, фармакокинетика, доверительные границы, биоэквивалентность.

Введение

В настоящее время в Российской Федерации и за рубежом в ветеринарной практике широкое применение нашли пролонгированные формы антибиотика тилозина, выпускаемые под различными торговыми названиями. Тилозин принадлежит к группе антибиотиков макролидов и является продуктом ферментационной активности актиномицета *Streptomyces fradiae* и представляет собой смесь четырёх основных компонентов —тилозинов A, B,C и D. Тилозин обладает очень широким спектром антимикробного действия, но самым важным является его чрезвычайно высокая активность в отношении стафилококков и микроорганизмов плевропневмониоподобной группы (PPLO, микоплазм). При этом, наиболее эффективными, стабильными и удобными в применении являются инъекционные лекарственные формы тилозина [1,2]. Из-за повышенного спроса на данный антибиотик увеличиваются объемы производства и ассортимент лекарств-дженериков, расширяется спектр фармакокинетических исследований, обеспечивающих всестороннюю оценку процессов, происходящих с лекарственным средством в организме после введения препарата - от момента попадания в организм до полной элиминации. Понимание процессов всасывания, распределения, метаболизма и выведения позволяет подобрать оптимальные параметры терапии, минимизируя риск побочных эффектов и токсического действия.

В основе фармакокинетических исследований лежит количественная оценка фармакокинетических параметров с построением фармакокинетической кривой, представляющей собой зависимость концентрации лекарственного средства (или его метаболита) в плазме крови от времени после его введения [3,4].

Согласно международным и отечественным требованиям, процедура государственной

регистрации препаратов-синонимов в обязательном порядке предусматривает оценку биоэквивалентности регистрируемого лекарственного средства соответствующему референтному продукту**.** Биоэквивалентность — количественный показатель, характеризующийся степенью различия соотношений значений отдельных фармакокинетических параметров сравниваемых лекарственных средств. К данным параметрам относятся максимальная концентрация, достигнутая в ходе испытаний *(C_{max}),* и площадь под фармакокинетической кривой *(AUC).* Причем, расчет биоэквивалентности проводят после оценки статистической значимости различий значений фармакокинетических параметров испытуемого и референтного препаратов [4-6].

В свете современных требований к составу сравниваемых лекарственных средств, содержание действующего вещества в исследуемом лекарственном средстве и препарате сравнения не должно отличаться более чем на 5%. Кроме того, препараты не должны отличаться по составу в отношении вспомогательных веществ. Различия в их количественном содержании также строго регламентируется [5,6].

Между тем вопрос биоэквивалентности препаратов, отличающихся по качественному и количественному составу вспомогательных веществ, по-прежнему актуален и может представлять научный и практический интерес для специалистов, задействованных в таком процессе фармацевтической системы качества, как «Фармацевтическая разработка» [4].

Цель эксперимента — на основе статистических критериев дать сравнительную оценку фармакокинетики инъекционных форм тилозина тартрата и тилозина основания, отличающихся по составу вспомогательных веществ, и установить их биоэквивалентность.

Объекты исследования – Тилозин 50 производства ООО Фирма «БиоХимФарм» (тестируемый препарат) и Тиланик 5 % производства «ВИК — здоровье животных» (референтный препарат), компонентный состав которых представлен в таблице 1.

Таблица 1 - Компонентный состав препаратов Тилозин 50 и Тиланик 5%

Препарат	Действующее вещество	Вспомогательные вещества
Тилозин 50	Тилозина тартрат (5,4 г/100 мл)	Спирт бензиловый, пропиленгликоль, трилон Б, кислота аскорбиновая, натрия метабисульфит, вода для инъекций
Тиланик 5%	Тилозин основание (5,0 г/100 мл)	Спирт бензиловый, пропиленгликоль, вода для инъекций

Материалы и методы. Исследование фармакокинетики препаратов Тилозин 50 (5% раствор) и Тиланик 5% раствор проводили на 6 телятах с массой тела 96-108 кг. Был использован последовательный дизайн исследований, что соответствует требованиям законодательства в части исследования биоэквивалентности. Временной интервал между применением тестируемого и референтного препаратов в опытной составил 3 суток, что более, чем в 6 раз превышало период полуэлиминации тилозина *($T_{1/2}$)* [5,7].

Каждому животному был присвоен индивидуальный номер от 1 до 6. Нумерация проводилась в произвольном порядке без применения генерации случайных чисел.

Все животные находились в одинаковых условиях содержания и кормления под постоянным наблюдением сотрудников организации в соответствии с требованиями нормативных документов, касающихся биоэтики в отношении животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях [8]. В течение 30 суток до начала исследования животные не получали каких-либо лекарственных препаратов [7].

Животным вводили инъекционные препараты Тиланик 5% производства «ВИК — здоровье животных» и препарат Тилозин 50 производства ООО Фирма «БиоХимФарм». Препараты вводили внутримышечно однократно в дозе 10 мг/кг по активно действующему веществу. До введения препаратов, а затем через 1, 3, 6, 12, 18 и 24 часа после введения у животных отбирали кровь из яремной вены и проводили определение содержания тилозина в сыворотке крови микробиологическим методом. Введение препарата, как и отбор крови проводили без анастезии, поскольку данные процедуры не причиняют животным боли, страданий или тревоги. Т.е. исследования проводились без нарушения принципов гуманного отношения к экспериментальным животным [8]. Сыворотку крови получали с соблюдением правил асептики. Для устранения или по

крайней мере уменьшения действия ингибиторов роста микробов образцы прогревали при 60 °С в течение 10 минут.

Содержание тилозина в сыворотке крови проводили общепринятым микробиологическим методом диффузии в агар. Диаметр лунок - стандартный: 6 мм (1, 2). Размер зоны задержки измеряли специальной линейкой [9].

В рамках данного метода обработку полученных результатов проводили расчетным путем с использованием соответствующих формул и уравнения прямолинейной регрессии **[1]**. В качестве стандартного вещества использовали стандарт тилозина Европейской фармакопеи (*Tylosin, CRS & BRP, Cat. code T2880000, Batch N 1*) с содержанием суммы тилозинов А, В, С, D 103,5 %. Контрольная концентрация составила 0,5 мкг/мл.

Определение содержания тилозина проводили на среде следующего состава: агар-агар – 20 г; пептон – 6 г; панкреатический перевар казеина – 4 г; дрожжевой экстракт – 1,5 г; вода дистиллированная – до 1000 мл; pH после стерилизации – 8,6. В среду перед разливом в чашки добавляли 1% глюкозы. Среду разливали в один слой по 15 мл. В качестве тест-культуры использовали штамм, рекомендованный в указанном выше справочном руководстве *Micrococcus luteus ATCC 9341*. Тест-микроб был получен в Государственном научно-исследовательском институте стандартизации и контроля медицинских биологических препаратов имени Л.А. Тарасевича. Микробная нагрузка составляла 50 млн. микробных тел в 1 мл среды. Объем стандартного и испытуемого растворов составили 0,1 мл / лунка. Инкубацию проводили при 32,5±2,5 °С в течение 18 часов.

Расчет фармакокинетических параметров проводили согласно руководствам В.Г. Раменской [3] и С.А. Куценко [10] (табл. 2).

Площадь под фармакокинетической кривой (AUC_t) в мкг ч/мл определяли методом трапеций, AUC_∞ - расчетным методом (табл. 1). При расчете AUC_∞ использовали медианное значение константы элиминации. Начальную концентрацию (C_0) в мкг/мл, как условную величину, определяли экстраполяцией прямой зависимости lnC_t от времени к моменту $t = 0$.

Статистическую обработку проводили согласно И.П. Ашмарину, А.А. Воробьеву [11] и К. Дерффелю [12]. В частности, сравнение двух средних значений проводили с помощью критериев Фишера (F) и Стюдента (t). Табличное значение критерия F при P=95 % и $f_1=f_2=5$ составляет 4,28, табличное значение критерия t при двусторонней постановке задач и P=95 % для f=10 (f_1+f_2) составляет 2,23. Перед расчетом стандартного отклонения (S) посредством программы Mycrosoft Office Exel 2010 проводили анализ первичных данных на нормальность распределения.

Параметрический двусторонний 90% доверительный интервал средних значений показателей биоэквивалентности рассчитывали по отношению средних значений соответствующих выборок и стандартных отклонений единичных результатов расчета отношений $(AUC)_T / (AUC)_R$, $(C_{max})_T / (C_{max})_R$, и $((C_{max})_T / (AUC)_T) / ((C_{max})_T / (AUC)_T)$, где символ «T» обозначает тестируемый препарат, символ «R» - препарат референтный [6, 7]. В расчетах использовали значения как AUC_t , так и AUC_∞.

Таблица 2 - Формулы расчета основных фармакокинетических параметров

Фармакокинетический параметр	Формула
Константа скорости элиминации (k_E), ч.$^{-1}$	$k_E = \Delta lnC / \Delta t$ ΔlnC – разница между натуральными логарифмами начальной и конечной концентраций в конкретный период измерений, мкг/мл; Δt — период изменения концентрации, ч.
Время полуэлиминации $(T_{1/2})$, ч.	$T_{1/2} = 0{,}693 / k_E$
Объем распределения (Vd), л	$V_d = D / C_0$ C_0 - начальная концентрация препарата в сыворотке крови, мкг/мл (мг/л);

Относительный объем распределения (V_R), л	$V_R = V_d / M$ D — доза введения препарата, мг; M — масса животного, кг
Начальная концентрация (C_0), мкг/мл	$lnC_0 = K_E / \Delta t + lnC_t$
Общий клиаренс (Cl), л/ч.	$Cl = Vd \times k_E$
AUC_∞, мкг ч/мл	$AUC_t + C_t / k_E$ C_t - концентрации тилозина в последней пробе

Проведение градуировки. При градуировке использовали сыворотки крови от группы из 6 особей КРС, которым препараты тилозина не вводили. От каждой особи отбирали по 20 мл сыворотки.

Процедура приготовления сывороток с известным содержанием искомого антибиотика заключалась в следующем:

В мерной колбе на 50 мл растворяли в небольшом количестве 96% этанола ректификата 50,0 мг стандартного вещества тилозина с содержанием активного ингредиента 103,5 %. Доливали растворитель до метки. В колбу добавляли 1,8 мл того же растворителя и аккуратно перемешивали. Таким образом получали основной стандартный раствор с содержанием антибиотика 1000 мкг/мл.

Фосфатным буфером с pH 7,8 — 8,0 разводили основной раствор в пять раз (до концентрации 200 мкг/мл) и добавляли в образцы сыворотки, предварительно прогретых до 60 °С (табл. 3). Дальнейшие действия осуществляли в соответствии с п. 1. Результаты, полученные в ходе градуировки представлены в таблицах 3 и 4. По данным таблицы 3 также проведена оценка чувствительности микробиологической методики применительно к конкретным условиям ее применения.

Таблица 3 - Подготовка стандартных проб сыворотки

Проба	Объем сыворотки, мл	Объем добавки, 10^{-3} мл	Концентрация тилозина в пробе, мкг/мл
1	20	10	0,10
2	20	25	0,25
3	20	50	0,50
4	20	75	0,75
5	20	100	1,00
6	20	150	1,50

Таблица 4 - Зоны задержки роста микроорганизмов *Micrococcus luteus ATCC 9341* при введении в лунки стандартных проб сыворотки (мм)

Повторение	Содержание тилозина в лунках с сыворотками (среднее по трем лункам), мкг/мл											
	0	0,5	0,10	0,50	0,25	0,50	0,75	0,50	1,00	0,50	1,50	0,50
1	6,0	9,0	6,5	8,0	7,5	9,0	10,5	9,5	11,5	9,5	12,5	7,5
2	6,0	9,5	6,5	9,0	8,5	8,5	10,0	8,5	10,5	8,5	11,0	9,0
3	6,0	8,0	6,5	8,5	8,5	9,0	9,5	8,5	11,0	8,0	12,0	8,5
Среднее значение	6,0	8,8	6,5	8,5	8,2	9,0	10,0	9,0	11,0	8,7	11,8	8,5

Таблица 4 - Регрессионный анализ

Концентрация стандартного раствора *(C)*, мкг/мл	*lg* C_i	Поправка, мм	Диаметр зоны с учетом поправки (d_i,) мм
C_1 = 0,10	-1,0000	0,2	d_1 = 6,7
C_2 = 0,25	-0,6021	-0,3	d_2 = 7,9
C_3 = 0,50	-0,3010	0	d_3 = 8,7
C_4 = 0,75	-0,1249	-0,3	d_4 = 9,7
C_5 = 1,00	0,0000	0	d_5 = 11,0
C_5 = 1,50	0,1761	0,2	d_6 = 12,0
Уравнение регрессии		d = 10,7+4,429 *lg C*	

По результатам наблюдений при концентрации антибиотика в лунке 1,50 мкг/мл культура микроорганизмов *Micrococcus luteus ATCC 9341* имела максимальную зону задержки, равную 12,0 мм (с учетом поправки), размер которой закономерно снижался по мере разбавления раствора тилозина. Зона задержки вокруг лунок с минимальным содержанием аналита составила не более 6,5 миллиметров. Вокруг лунок с пробой без антибиотика, задержку роста микроорганизмов не наблюдали. Таким образом, можно утверждать, что в нашем эксперименте минимальная подавляющая концентрация (МПК), как показатель степени чувствительности определения, составила 0,10 мкг/мл.

Результаты. *Оценка концентрации Тилозина в сыворотке крови микробиологическим методом***.** В результате проведенных исследований установлено, что после внутримышечного введения препаратов тилозин быстро всасывался из места инъекции и обнаруживался в сыворотке крови в течение 24 часов (табл. 5). В отличие от Тиланика 5% препарат Тилозин 50 демонстрировал более активное проникновение системный кровоток: максимальное содержание антибиотика в пробах сыворотки (1,42 ± 0,10 мкг/мл) было обнаружено уже через час после введения и сохранялось в течение последующих двух часов. Содержание вещества в пробах сыворотки животных, которым вводили референтный препарат, составила (через час после начала эксперимента) 1,18 ± 0,10 мкг/мл**.** При этом разница 0,24 мкг/мл оказалась статистически значимой, о чем свидетельствует расчетный критерий Стьюдента *(t)*, который составил при вероятности *(P)* 95 % 4,62, практически вдвое превысив табличное значение.

Несмотря на то, что при введении Тиланика 5% уровень антибиотика повышался менее резко, через три часа его содержание повысилось до значений, полученных при применении Тилозина 50. В период с 3 до 18 часов концентрация тилозина в сыворотке плавно снижалась до 0,53-0,55 мкг/мл, через 24 часа - до 0,37 - 0,39 мкг/мл (табл. 5). Важно отметить, что оба препарата не обеспечивали математически доказуемых различий в содержании тилозина в пробах, отобранных в период с 3 до 24 часов после инъекции. Расчетные значения критерия Стьюдента *(t)* варьировали от 0,30 до 1,92 и не превышали табличное значение, равное 2,23 (табл. 5).

Таблица 5 - Содержание тилозина (*Xcp.*± *S*, мкг/мл) в сыворотке крови телят после однократного введения 5% инъекционных препаратов тилозина в дозе 10 мг ДВ/кг и значения критерия Стьюдента *(t)*

Препарат	Сроки исследования, ч.						
	До введения	1	3	6	12	18	24
Тилозин 50	Не обнаружено	1,42± 0,10	1,45± 0,10	1,17± 0,18	0,77± 0,08	0,55± 0,08	0,37± 0,08
Тиланик 5%	Не обнаружено	1,18 ± 0,10	1,50± 0,09	1,24± 0,10	0,87± 0,16	0,53± 0,10	0,39± 0,13
t расчетный	--	4,21	0,93	0,83	1,37	0,45	0,36

Суточную динамику концентрации тилозина в сыворотке крови КРС наглядно демонстрируют рисунки 1 и 2.

Сравнительная оценка основных фармакокинетических параметров . Результаты расчета основных фармакокинетических показателей представлены в таблицах 6 и 7.

Пик концентраций. Как было описано выше при введении Тилозина 50 и Тиланика 5% максимальная концентрация искомого антибиотика в сыворотке составила 1,45 ± 0,10 и 1,50 ± 0,09 мкг/мл соответственно при отсутствии статистической значимости между полученными значениями.

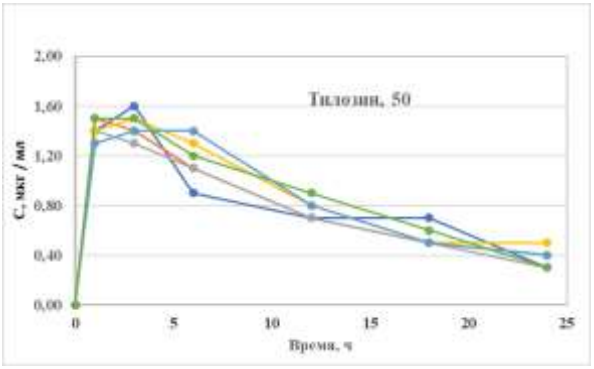


Рисунок.1

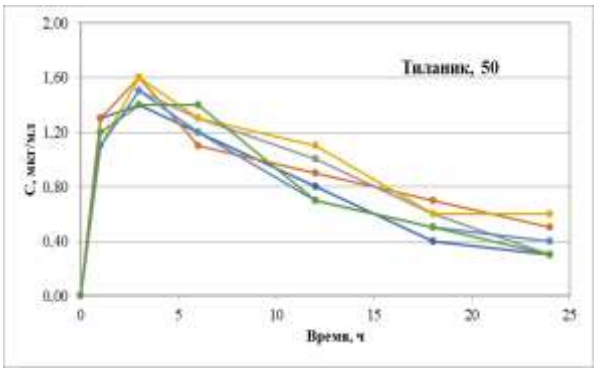


Рисунок.2

Рисунки 1, 2 – Суточная динамика концентрации тилозина в сыворотки крови КРС при внутримышечном введении препаратов Тилозин 50 и Тиланик 5%

Объем распределения. Для тестируемого и референтного препаратов объем (V_d) распределения антибиотика превысил объем крови более, чем в 80 раз, что является нормой при внутримышечном введении [10].

Как было указано выше Тилозин 50 демонстрировал более высокую скорость проникновения вещества в системный кровоток. Между тем объемы распределения обоих препаратов (V_d) и (V_R) были одинаковыми, о чем свидетельствуют расчетные значения критерия Стьюдента (t), равные 1,47 и 1,15 соответственно (Табл. 7).

Период полуэлиминации. Уменьшение концентрации антибиотика в сыворотке на 50 % происходило в среднем через 10,5 часов после введения для каждого из препаратов: тестируемого и референтного.

Константа скорости элиминации. Анализ выявил отсутствие нормального распределения экспериментальных данных. По этой причине проводили расчет медианы, причем как для всего массива полученных результатов, так и для каждого периода элиминации. Провести статистический анализ уровней k_E по периодам выведения не представилось возможным вследствие недостаточного объема выборок: 6 значений в расчете на выборку. Доверительные интервалы интегрального медианного значения константы скорости элиминации составили для Тилозина 50 0,040-0,080, для Тиланика 5% 0,050 - 0,085 $ч^{-1}$.

Таблица 7 – Значения основных фармакокинетических параметров *(Xcp.± S)* и критерия Стьюдента *(t)*

Фармакинетический параметр	Тилозин 50	Тиланик 5%	*t* расчетный
Пик концентрации *(C_{max})*, мкг/мл	1,45 ± 0,10	1,52 ± 0,09	0,93
Пик концентрации, ч	1-3	3	--
Объем распределения *(V_d)*, л	665 ± 28	643 ± 24	1,47
Относительный объем распределения, л/кг	6,8 ± 0,5	6,5 ± 0,4	1,15
Период полуэлиминации *($T_{1/2}$)*, ч	10,2 ± 2,4	10,7 ± 1,5	0,46
Константа скорости элиминации *(K_E)*, $ч^{-1}$	0,040-0,080	0,050-0,085	--
Общий клиаренс *(Cl)*, л/ч	48,2 ± 9,2	42,6 ± 7,1	1,18
C_0, мкг/мл	1,49 ± 0,11	1,54 ± 0,09	0,86
AUC_t мкг ч/мл	19,93 ± 1,06	20,97 ± 3,04	--
AUC_∞, мкг ч/мл	25,06 ± 3,82	26,40 ± 4,09	--

Общий клиаренс. Значения данного фармакокинетического показателя, определяющего объём плазмы или крови, который полностью очищается от препарата за единицу времени, составили для Тилозина 50 и Тиланика 5% 48,2 ± 9,2 и 42,6 ± 7,1 л/ч соответственно при отсутствии достоверной разницы между средними.

Оценка биоэквивалентности

Результаты исследования данного показателя представлены в таблице 8, из которой следует, что доверительные границы значений параметров оценки биоэквивалентности не выходили из заданных пределов [5,6].

Таблица 8 – Результаты определения биоэквивалентности препаратов Тилозин 50 (тестируемый препарат) и Тиланик 5% (референтный препарат) при однократном внутримышечном введении

Параметры оценки биоэквивалентности	*Xcp.*	Δ*Xcp.*	Доверительные пределы, %	
			Норма	Результат
$(AUC_t)_T / AUC_t)_R$	0,9716	0,1490	80,00-125,00 [6]	82,36-114,11
$(AUC_\infty)_T / AUC_\infty)_R$	0,9825	0,1586	80,00-125,00 [6]	82,39-114,11
$(C_{max})_T / (C_{max})_R$	0,9710	0,0916	80,00-125,00 [6]	87,94-106,26
$((C_{max})_T / (AUC_t)_T) / ((C_{max})_T / (AUC_t)_T)$	1,01	0,12	75-133 [5]	88-112
$((C_{max})_T / (AUC_\infty)_T) / ((C_{max})_T / (AUC_\infty)_T)$	1,08	0,08	75-133 [5]	110-116

Обсуждение. Согласно полученным данным, в отличие от Тиланика 5% препарат Тилозин 50 демонстрировал в течение первого часа более активное проникновение в системный кровоток.

В качестве антиоксиданта, стабилизирующего действующее вещество, при производстве тестируемого препарата используется аскорбиновая кислота, которая, как известно, играет в живом организме фундаментальную биохимическую и физиологическую роль. Внутримышечное введение этого вещества в составе Тилозина 50, усиливая тканевый обмен (в том числе за счет образования пероксида водорода), предположительно ускоряет активный транспорт тилозина через клеточные мембраны, являясь стимулирующими фактом повышения концентрации антибиотика в периферических кровеносных сосудах [13]. В настоящее время установлено, что аскорбиновая кислота повышает концентрацию в крови бензилпенициллина и тетрациклинов. Между тем, сведений о подобном влиянии на макролиды и, в частности на тилозин, в научной литературе недостаточно, чтобы представить более развернутые комментарии полученным результатам.

Тилозин основание, находясь в составе соли тилозина тартрата и являясь действующими веществом препарата Тилозин 50, может проявлять более высокую подвижность при преодолении

клеточных мембран слизистых оболочек, стенок капилляров, клеточных и субклеточных структур, чем, собственно, Тилозин основание – как действующее вещество препарата Тиланик 5%. Кроме того, испытуемый препарат, в отличие от референтного, pH которого составляет 8,5-10,5 ед., характеризуется нейтральной или слабокислой реакцией, обеспечивающей максимальную скорость протекания внутриклеточных процессов, что в свою очередь, может дополнительно повлиять на интенсивность всасывания антибиотика, тилозина тартрата, при парентеральном введении [14-16].

Между тем, в период с 3 до 24 часов после инъекции оба препарата не обеспечивали математически доказуемых различий в содержании тилозина в пробах. Расчетные значения критерия Стьюдента *(t)* варьировали от 0,30 до 1,92 и не превышали табличное значение, равное 2,23.

Если по интенсивности всасывания действующего вещества Тилозин 50 и Тиланик 5% достоверно отличались друг от друга, то в отношении распределения и выведения оба препарата демонстрировали одинаковую динамику: различия между объемами распределения, периодом полуэлиминации, общим клиаренсом были статистически незначимыми. Доказательством тому также является расчетный критерий Стьюдента *(t)*, значения которого составили 0.86-1,47.

При расчете константы скорости элиминации были получены данные, которые не подчинялись принципу нормального распределения. По этой причине проводили расчет медианы, причем, как для всего массива полученных результатов, так и для каждого периода элиминации. Интегральные значения медиан испытуемого и референтного препаратов с точки зрения описательной статистики были одинаковыми. Однако, учитывая достаточно широкий диапазон доверительных границ нельзя с полной уверенностью утверждать, что выведение антибиотика из организма происходило по моноэкспоненциальному типу. Поскольку доверительный интервал медианы существенно шире, чем интервал, рассчитанный по критерию Стьюдента *(t)*, необходимы дополнительные испытания с обязательным условием получения комплекса экспериментальных данных, подчиняющихся гауссову распределению.

Таким образом, в наших исследованиях форма антибиотика в препарате, состав вспомогательных веществ и кислотность инъекционного раствора оказывали воздействие на скорость всасывания действующего вещества, но не отражались на распределении и выведении лекарственного средства из организма телят.

В связи с вышеизложенным закономерным стало предположение об биоэквивалентности препаратов, с точки зрения принятых методик расчета, что в итоге было подтверждено статистически.

В соответствии с утвержденными требованиями [5] при AUC_t > 80% AUC_∞ для оценки полноты всасывания исследуемого препарата следует использовать значения AUC_t, а при условии, что AUC_t < 80% AUC_∞ значения AUC_∞. Согласно полученным данным отношения AUC_t / AUC_∞ для испытуемого и референтного препаратов составили 80 и 79 % соответственно. По этой причине проводили расчеты с использованием значений величин AUC_t и AUC_∞. Результаты расчетов доверительных границ полученных значений соответствовали утвержденным критериям приемлемости (табл. 8).

Заключение. Согласно результатам испытаний форма антибиотика в препарате, состав вспомогательных веществ и кислотность инъекционного раствора оказывали воздействие на скорость всасывания действующего вещества, но не отражались на распределении и выведении лекарственного средства из организма телят. По каждой из фармакокинетических величин расчетный критерий Стьюдента *(t)* не превышал табличное значение, равное 2,23 (при P=95 % и $f=10$). Полученные результаты позволили выдвинуть гипотезу о фармакокинетической эквивалентности препаратов, которая была доказана посредством применения утвержденных методик расчета. Так двусторонний доверительный интервал для соотношений C_{max} и AUC_t при вероятности 90 % находился в диапазоне от 80,00 до 125,00 % [6]; для соотношений C_{max} / AUC_t и C_{max} / AUC_∞ - в диапазоне 75-133 % [5,6].

Таким образом, проведенные исследования показывают, что при математически доказанном различии в скорости всасывания действующего вещества при парентеральном введении, лекарственные формы Тилозин 50 и Тиланик 5% в целом являются биоэквивалентными.

Финансирование. Полное финансирование исследований осуществлялось силами производителя препарата Тилозин 50 ООО Фирма «БиоХимФарм», г. Владимир.

Благодарность. Работа выполнена без спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Литература

1. Зуев Н.П. Клинико-экспериментальное обоснование применения препаратов тилозина в ветеринарии: автореферат диссертации на соискание ученой степени д-р ветеринар. наук: 06.02.03, 06.02.02. Краснодар, 2012. 35 с.

2. Ковалев, В.Ф. Антибиотики, сульфаниламиды и нитрофураны в ветеринарии / В.Ф. Ковалев, И.Б. Волков, Б.В. Виолин. - М.: Агропромиздат, 1988. - 224 с.

3. Раменская, В.Г. Основные фармакокинетические параметры и их клиническое значение // Клиническая фармакокинетика: теоретические, прикладные и аналитические аспекты / под общей редакцией В.Г. Кукеса. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. - С. 13-20.

4. Подпружников, Ю.В. Хрестоматия фармацевтического качества / Ю.В. Подпружников, А.С. Немченко, Л.Н. Андрюкова, С.В. Емшанова, Т.П. Козельская, В.В. Чистяков / под общей редакцией А.А. Ишмухаметова. - М.: ООО «ГРУППА РЕМЕДИУМ», 2015. - 432 с.

5. Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств / Методические указания: утв. Министерством здравоохранения и социального развития РФ от 10.08.2004 г.- 14 с.

6. Об утверждении правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза): решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. N 85 (в ред. решений Совета Евразийской экономической комиссии от 04.09.2020 N 67, от 15.02.2023 N 22, от 12.04.2024 N 30).

7. Об утверждении правил проведения доклинического исследования лекарственного средства для ветеринарного применения, клинического исследования лекарственного препарата для ветеринарного применения, исследования биоэквивалентности лекарственного препарата для ветеринарного применения: Приказ Министерства сельского хозяйства Российской Федерации от 14 марта 2025 г. № 153

8. Директива 2010/63 EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22.09.2010 г. по охране животных, используемых в научных целях. - Санкт-Петербург: Rus – LASA НП «Объединение специалистов по работе с лабораторными животными», 2012.- 48 с.

9. Определение антимикробной активности методом диффузии в агар: утв. Минздравом РФ от 31.10.2018 № 749 // Государственная фармакопея РФ, XIV, Том I, ОФС. 1.2.4.0010.15.

10. Куценко С.А. Основы токсикологии: монография. Санкт — Петербург: 2002. С.174-177.

11. Ашмарин И.П. Статистические методы в микробиологических исследованиях / И.П. Ашмарин, А.А. Воробьев. - Ленинград: Государственное изд-во медицинской литературы, 1962. 180 с.

12. Дерффель К. Статистика в аналитической химии / К. Дерффель. - М.: Мир, 1994. 270 с.

13. Тимирханова Г.М., Абдуллина Г.М., Кулагина И.Г. Витамин С: Классические представления и новые факты биологического действия // Вятский медицинский вестник. – 2007. - № 4. С. 158-161.

14. Ван Хуэй. Синергическое усиление антибактериальной активности антибиотиков посредством комплексообразования с пероксидом водорода и органическими кислотами: механистическое и статистическое исследование // София: электронный научно-просветительский журнал. БГУ, Минск. – 2026. – № 1. С. 108-118.

15. Крылов Ю.Ф. Фармакология / Ю.Ф. Крылов, В.М. Бобырев. М.: ВУНМЦ МЗ РФ, 1999. 350 с.

16. Бибарцева Е.В. Основы фармакокинетики и фармакодинамики лекарственных средств : учебное пособие / Е.В. Бибарцева, О.А. Науменко, Е.С. Барышева, А.Н. Сизенцов. Оренбург: ОГУ, 2021. 94 с.

References

1. Zuev N.P. Kliniko-eksperimental'noe obosnovanie primeneniya preparatov tilozina v veterinarii: avtoref. dis. ... d-ra veterinarnykh nauk: 06.02.03, 06.02.02. Krasnodar, 2012. 35 p.

2. Kovalev V.F., Volkov I.B., Violin B.V. Antibiotiki, sul'fanilamidy i nitrofurany v veterinarii. Moscow: Agropromizdat, 1988. 224 p.

3. Ramenskaya V.G. Osnovnye farmakokineticheskie parametry i ikh klinicheskoe znachenie. In: Klinicheskaya farmakokinetika: teoreticheskie, prikladnye i analiticheskie aspekty. Kukes V.G., ed. Moscow: GEOTAR-Media, 2009. P. 13–20.

4. Podpruzhnikov Yu.V., Nemchenko A.S., Andryukova L.N., Emshanova S.V., Kozel'skaya T.P., Chistyakov V.V. Khrestomatiya farmatsevticheskogo kachestva. Ishmukhametov A.A., ed. Moscow: OOO “GRUPPA REMEDIUM”, 2015. 432 p.

5. Provedenie kachestvennykh issledovanii bioekvivalentnosti lekarstvennykh sredstv. Metodicheskie ukazaniya approved by the Ministry of Health and Social Development of the Russian Federation on 10 Aug 2004. 14 p.

6. On approval of the rules for conducting bioequivalence studies of medicinal products within the Eurasian Economic Union: Decision of the Council of the Eurasian Economic Commission No. 85 dated 3 Nov 2016 (as amended on 04 Sept 2020 No. 67, 15 Feb 2023 No. 22, 12 Apr 2024 No. 30).

7. On approval of the rules for conducting preclinical studies of veterinary medicinal products, clinical studies of veterinary medicinal products and bioequivalence studies of veterinary medicinal products: Order of the Ministry of Agriculture of the Russian Federation No. 153 dated 14 Mar 2025.

8. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 Sept 2010 on the protection of animals used for scientific purposes. Saint Petersburg: Rus-LASA NP “Ob"edinenie spetsialistov po rabote s laboratornymi zhivotnymi”, 2012. 48 p.

9. Opredelenie antimikrobnoi aktivnosti metodom diffuzii v agar. OFS 1.2.4.0010.15. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossiiskoi Federatsii. XIV ed. Vol. I. Approved by the Ministry of Health of the Russian Federation on 31 Oct 2018 No. 749.

10. Kutsenko S.A. Osnovy toksikologii: monografiya. Saint Petersburg, 2002. P. 174–177.

11. Ashmarin I.P., Vorob'ev A.A. Statisticheskie metody v mikrobiologicheskikh issledovaniyakh. Leningrad: Gosudarstvennoe izdatel'stvo meditsinskoi literatury, 1962. 180 p.

12. Derffel' K. Statistika v analiticheskoi khimii. Moscow: Mir, 1994. 270 p.

13. Timirkhanova G.M., Abdullina G.M., Kulagina I.G. Vitamin C: klassicheskie predstavleniya i novye fakty biologicheskogo deistviya. Vyatskii meditsinskii vestnik. 2007;(4):158–161.

14. Van Khuei. Sinergeticheskoe usilenie antibakterial'noi aktivnosti antibiotikov posredstvom kompleksoobrazovaniya s peroksidom vodoroda i organicheskimi kislotami: mekhanisticheskoe i statisticheskoe issledovanie. Sofiya: elektronnyi nauchno-prosvetitel'skii zhurnal. Minsk: BGU, 2026;(1):108–118.

15. Krylov Yu.F., Bobyrev V.M. Farmakologiya. Moscow: VUNMTs MZ RF, 1999. 350 p.

16. Bibartseva E.V., Naumenko O.A., Barysheva E.S., Sizentsov A.N. Osnovy farmakokinetiki i farmakodinamiki lekarstvennykh sredstv: uchebnoe posobie. Orenburg: OGU, 2021. 94 p.

ТИЛОЗИН 50 ЖӘНЕ ТИЛАНИК 5% ДӘРІЛІК ПРЕПАРАТТАРЫНЫҢ ФАРМАКОКИНЕТИКАСЫН САЛЫСТЫРМАЛЫ БАҒАЛАУ ЖӘНЕ ОЛАРДЫҢ БИОЭКВИВАЛЕНТТІЛІГІН СТАТИСТИКАЛЫҚ НЕГІЗДЕУ

Ю.А. Костыркин, Ю.В. Никитин, Игнатосян А.Г., В.Е. Руник В.Е.
«БиоХимФарм» фирмасы ЖШҚ, Владимир қ., Ресей
* ignatosyanag@gmail.com

Аннотация. Агарға диффузиялаудың микробиологиялық әдісімен тилозин тартратының инъекциялық түрі (Тилозин 50, зерттелетін препарат) және тилозин негізінің инъекциялық түрі (Тиланик 5%, тестіленетін препарат) бұлшықет ішіне бір рет енгізілгеннен кейін 6 ірі қара малдың қан сарысуындағы тилозин антибиотигі мөлшерінің тәуліктік динамикасы бағаланды. Сонымен қатар, Тилозин 50 препараты Тиланик 5%-дан айырмашылығы құрамында қосымша аскорбин қышқылын, натрий метабисульфитін және трилон Б қамтыды. Зерттеулердің дәйекті дизайны қолданылды.

Фармакокинетикалық параметрлер мәндерін есептеу Тилозин 50 препаратының Тиланик 5%-ға қарағанда жүйелік қан ағымына белсендірек енгенін көрсетті. Сонымен қатар, таралу көлемдері, элиминация константалары және клиренс мәндері арасындағы айырмашылықтар статистикалық

тұрғыдан мәнді болған жоқ. Яғни, препараттағы антибиотик формасы, қосымша заттардың құрамы және инъекциялық ерітіндінің қышқылдығы белсенді заттың сіңу жылдамдығына әсер еткенмен, препараттың бұзаулар организмінде таралуы мен шығарылуына ықпал етпеген.

Cmax және AUCt арақатынасы үшін 90 % ықтималдықтағы екіжақты сенімді интервал 80,00–125,00 % аралығында, ал Cmax / AUCt және Cmax / AUC∞ арақатынасы үшін 75–133 % аралығында болды, бұл биоэквиваленттілікке қойылатын қабылданған критерийлерге сәйкес келеді.

Түйінді сөздер: тилозин, қан сарысуы, мөлшер динамикасы, фармакокинетика, сенімді шектер, биоэквиваленттілік.

COMPARATIVE EVALUATION OF THE PHARMACOKINETICS OF TYLOSIN 50 AND TYLANIC 5% MEDICINAL PRODUCTS AND STATISTICAL SUBSTANTIATION OF THEIR BIOEQUIVALENCE

Yu.A. Kostyrkin, Yu.V. Nikitin, A.G. Ignatosyan, V.E. Runik
«BioHimFarm» LLC, Vladimir, Russia
* ignatosyanag@gmail.com

Abstract. Using the microbiological agar diffusion method, the daily dynamics of tylosin antibiotic concentration in the blood serum of six cattle after a single intramuscular administration of injectable tylosin tartrate (Tylosin 50, investigational product) and tylosin base (Tylanic 5%, reference product) were evaluated. In contrast to Tylanic 5%, Tylosin 50 additionally contained ascorbic acid, sodium metabisulfite, and Trilon B. A sequential study design was used.

The calculated pharmacokinetic parameters demonstrated that Tylosin 50 penetrated the systemic circulation more actively than Tylanic 5%. Meanwhile, the differences in distribution volumes, elimination constants, and clearance values were not statistically significant. Thus, the antibiotic form in the preparation, the composition of excipients, and the acidity of the injection solution affected the absorption rate of the active substance but did not influence the distribution and elimination of the drug from the calves' organism.

The two-sided 90% confidence interval for the ratios of Cmax and AUCt ranged from 80.00 to 125.00%, while for the ratios of Cmax/AUCt and Cmax/AUC∞ it ranged from 75 to 133%, which corresponds to the established bioequivalence acceptance criteria.

Keywords: tylosin, blood serum, concentration dynamics, pharmacokinetics, confidence intervals, bioequivalence.