

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОКІНЕТИКИ ТРИМЕТИЛГІДРАЗИНІЮ ПРОПІОНАТУ

І.А.Зупанець, Ю.В.Подпружніков, М.Я.Головенко**, Н.П.Безугла,
І.Ю.Борисюк***

Національний фармацевтичний університет
Біоаналітична лабораторія ТОВ “Клінфарм”*
Фізико-хімічний інститут ім. О.В.Богатського НАН України**

*Ключові слова: фармакокінетика; триметилгідразинію пропіонат;
шлунково-кишковий тракт; GastroPlus™; моделювання*

У рамках проведення дослідження з біоеквівалентності препаратів, що вміщують триметилгідразинію пропіонат, препарати “Вазонат” та “Мілдронат”, вивчено фармакокінетику триметилгідразинію пропіонату (C_{max} , t_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, K_{el}) в організмі здорових людей (волонтерів). Кількісний вміст препарату в крові визначали методом ультраефективної рідинної хроматографії з тандемним мас-селективним детектуванням. Встановлено, що всмоктування лікарського засобу має двофазну залежність і в крові волонтерів характеризується двома піками в координатах “концентрація — час”. Аналіз отриманих результатів довів біоеквівалентність препаратів “Вазонат” та “Мілдронат”. Моделювання процесу транзиту триметилгідразинію пропіонату вздовж шлунково-кишкового тракту з використанням комп’ютерної програми GastroPlus™ показало наявність у кишечнику, принаймні, двох зон всмоктування. Розчинення капсул мілдронату (250 мг) та ступінь їх всмоктування мають симбатну залежність.

Триметилгідразинію пропіонат [3-(2, 2, 2-триметилгідразиній) пропіонату дигідрат] (мілдронат, вазонат) є конкурентним інгібітором ГАМК-бутиробетаїн-гідроксилази. В основі його біохімічної дії лежить процес зменшення концентрації вільного карнітину та гальмування окиснення жирних кислот [11-13]. Препарат обмежує транспорт активних форм жирних кислот до клітин організму і затримує їх накопичення. Подібні зміни метаболічних процесів запобігають пошкодженню

клітин при збереженні можливого транспорту АТФ із мітохондрій в місце його споживання та активізації гліколізу. Таким чином, триметилгідразинію пропіонат (ТП) забезпечує захист клітин в умовах ішемії [7].

Механізмом дії препарату обумовлено різноманітність його фармакологічних ефектів: підвищення працездатності, зменшення виразності симптомів психічного та фізичного перенавантаження, активація тканинного та гуморально-імунітету, кардіопротекторна

дія [15]. У випадках гострого ішемічного пошкодження препарат зменшує розміри зони некрозу, скорочує період реабілітації. Так, при серцевій недостатності ТП підвищує скоротливість міокарда, толерантність до фізичного навантаження, зменшує частоту нападів стенокардії [8, 10]. При гострих та хронічних ішемічних порушеннях покращує мозковий кровообіг, сприяє перерозподілу крові на користь ішемізованої ділянки. Препарат ефективний при васкулярній та дистрофічній патології дна ока; чинить тонізуючу дію на ЦНС, усуває функціональні порушення соматичної та вегетативної нервової системи у хворих на хронічний алкоголізм [14].

Незважаючи на успіх оцінки фармакодинамічних властивостей ТП та клінічних аспектів, все ще залишається мало вивченими питання його фармакокінетики. В

І.А.Зупанець — доктор мед. наук, професор, завідувач кафедри клінічної фармакології з фармацевтичною опікою Національного фармацевтичного університету (м. Харків)

Ю.В.Подпружніков — доктор фармац. наук, професор, директор Біоаналітичної лабораторії ТОВ “Клінфарм” (м. Ірпінь)

М.Я.Головенко — академік АМН України, доктор біол. наук, завідувач відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В.Богатського НАН України (м. Одеса)

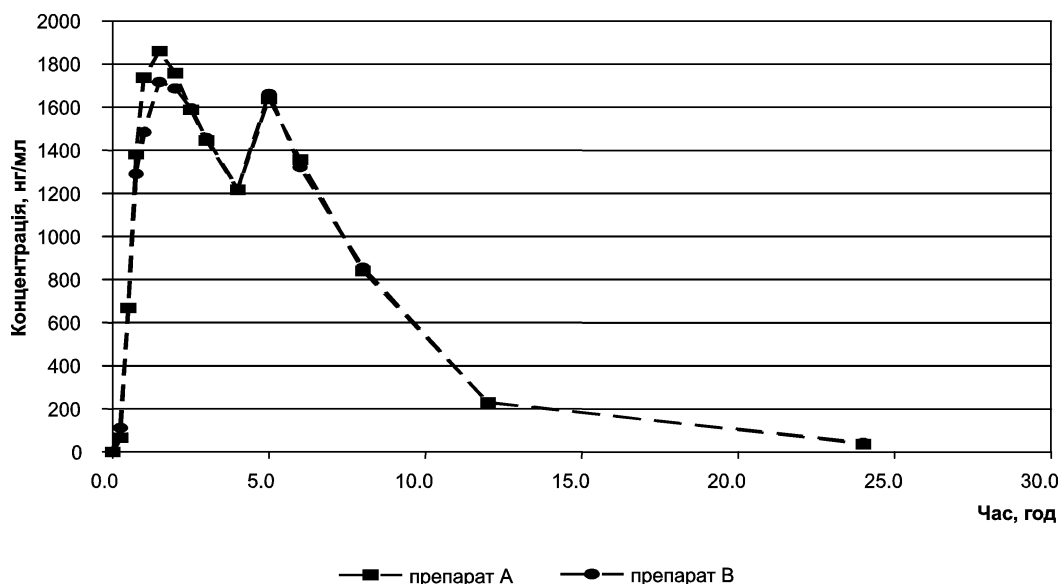


Рис. 1. Співставлені криві залежностей “концентрація — час” (середні арифметичні)
Примітка: препарат А — мілдронат, препарат В — вазонат

той же час вони є необхідними для визначення безпеки сполуки, раціональної фармакотерапії, біоеквівалентності та можливого використання в підтвердженні еквівалентності *in vitro* [3].

Зазначене визначило мету наших досліджень, тобто встановити фармакокінетичні параметри у людей та змоделювати процеси, що регулюють біодоступність ТП.

Матеріали та методи

Клінічне дослідження вивчення біоеквівалентності препаратів, що вміщують ТП, “Вазонат” (капсули по 250 мг виробництва АТ “Олайнфарм”, Латвія) та “Мілдронат” (капсули по 250 мг виробництва АТ “Гріндекс”, Латвія), який був препаратом порівняння, було проведено на базі Клініко-діагностичного центру НФаУ (м. Харків).

Дане дослідження було проведено у відповідності до затвердженого протоколу дослідження з дотриманням принципів Належної клінічної практики (GCP), Належної лабораторної практики (GLP) та ряду директивних документів [9].

Дослідження з вивчення біоеквівалентності препаратів “Вазонат” (В) та “Мілдронат” (А) було проведено за участю 24 здорових волонтерів обох статей у віці 18-45 років (дизайн — по-

рівняльне, рандомізоване, перехресне з двома періодами та двома послідовностями дослідження з вивчення біоеквівалентності при введенні добровольцям натще одноразової дози кожного з препаратів, з “осліпленням” аналітичного етапу дослідження та статистичної обробки результатів).

Для вивчення концентрації досліджуваних препаратів у сироватці крові здорових волонтерів після одноразового прийому кожного з препаратів було відібрано 15 проб крові (у кожний період дослідження). Відбір проб крові проводили згідно з наступним графіком — 0 год (до прийому препарату), через 15'; 30'; 45'; 1 год; 1 год 30'; 2 год; 2 год 30'; 3; 4; 5; 6; 8; 12, 24 год після прийому препарату (прийом препарату о 08⁰⁰ після попереднього нічного 12-годинного голодування). Кров відбирали у вакуумні центрифужні пробірки, оброблені гепарин-натрієм.

Біоаналітичний метод визначення концентрації ТП — ультраефективна рідинна хроматографія з тандемним мас-селективним детектуванням проводився в лабораторії ТОВ “Клінфарм” (м. Ірпінь). Отримані дані оброблені статистично. Висновок щодо біоеквівалентності було зроблено із застосуванням підходу, який базувався на 90% довірчих інтервалах для відношення середніх зна-

чень параметрів C_{\max} та AUC_{0-t} для досліджуваного та референтного препарату, які були оцінені при виконанні процедури статистичного аналізу. Препарати вважали біоеквівалентними, якщо 90% довірчий інтервал для геометричного середнього, який вираховано для індивідуальних відношень логарифмічно перетворених значень AUC_{0-t} , знаходиться в межах 0,80-1,25 (80-125%), C_{\max} — в межах 0,75-1,33 (75-133%).

Дослідження особливостей всмоктування ТП проводили в Фізико-хімічному інституті ім. О.В.Богатського НАН України (м. Одеса) методом моделювання процесів з використанням офіційної версії програми GastroPlusTM [19]. У даному дослідженні був використаний лікарський препарат “Мілдронат” капсули по 250 мг виробництва АТ “Гріндекс” (Латвія).

Результати та їх обговорення

На рис. 1 представлені дані про середню концентрацію ТП у плазмі здорових волонтерів (n=24) після одноразового перорального прийому вазонату та мілдронату.

У таблиці представлені основні фармакокінетичні параметри (середні) досліджуваного та референтного препаратів.

Довірчі інтервали основних фармакокінетичних параметрів C_{\max}

Таблиця

Фармакокінетичні параметри (середні)

Препарат / фармакокінетичний параметр	C_{max}	t_{max}	AUC_{0-t}	$AUC_{0-\infty}$	K_{el}
Вазонат (В)	2076,03	2,78	14807,58	15056,54	0,1910
Мілдронат (А)	2231,64	2,44	14979,28	15181,67	0,1961

та AUC_{0-t} складають 87,74-99,22% та 95,53-102,06% відповідно. Довірчий інтервал для геометричного середнього, який враховано для індивідуальних відношень логарифмічно перетворених значень AUC_{0-t} , знаходиться в межах 0,80-1,25 (80-125%), C_{max} — в межах 0,75-1,33 (75-133%), що відповідає загальноприйнятим критеріям біоеквівалентності. Таким чином, біоеквівалентність досліджуваних препаратів ("Вазонат" та "Мілдронат") за даними параметрами слід вважати встановленою.

Отже, фармакокінетика ТП в організмі людини характеризується наявністю його другого піку в плазмі крові в координатах "концентрація — час" (рис. 1). Така закономірність не є розповсюдженою серед пероральних препаратів, але деякі з них мають аналогічний характер. Вони пов'язані, в тій чи іншій мірі, з особливістю всмоктування у відповідних сегментах кишечника людини [1].

Для деяких ЛЗ не існує значної різниці у всмоктуванні в окремих ділянках шлунково-кишкового тракту (ШКТ) та його сегментах. Наприклад, у дослідженнях [21] показано, що всмоктування парацетамолу проходить однаково в проксимальному і дистальному відділах тонкої кишки. При аналогічному підході Делхієр зі співавт. [18] знайшли подібні ділянки всмоктування нікардипіну в порожній та клубовій кишках. Шляхом місцевої інстиляції було продемонстровано [22] послідовне всмоктування гіперону на протяязі всієї тонкої кишки. Тим не менше, в деяких дослідженнях наведені приклади відмінності всмоктування ЛЗ в залежності від місця в ШКТ. Так, в експериментах на добровольцях встановлено [17], що всмоктування 1-діаміно-8-D-

аргінінвазопресину знижується у наступному напрямку: шлунок, дванадцятипала кишка і порожня кишка > дистальна частина клубової кишки > проксимальна частина прямої кишки. Барр і співавт. [16] повідомили про зниження всмоктування амоксициліну в клубовій кишці порівняно з порожньою. У той же час метопролол всмоктується однаково у порожній і прямій кишці, а у шлунку цей процес відсутній. Ранітидин з однаковим ступенем всмоктується у шлунку і клубовій кишці, але уповільнюється в сліпій при місцевій інстиляції [23]. Результати були підтвержені та уточнені в дослідженнях *in vivo* [20], в яких відмічалось, що швидкість всмоктування ранітидину знижується зі збільшенням відстані від ротової порожнини до системного кровообігу. Прикладами препаратів з різницею у місці всмоктування є також алопуринол, бензеприл, циклоспорин, ципрофлоксацин, глібенкламід, піретанід і суматриптан [1]. Вони пояснюються такими основними причинами: доступною площею поверхні і часом транзиту через цю ділянку. Маючи велику площу поверхні, тонка кишка є основним місцем всмоктування для багатьох ліків. Тим не менше, існують приклади ЛЗ (глібенкламід, теофілін, ацетамінофен і фенілпропаноламін), які свідчать про превалююче всмоктування препаратів у прямій кишці, за рахунок чого вони мають високі фармакокінетичні параметри (AUC). В цьому випадку тривалий час знаходження в товстій кишці по відношенню до тонкої компенсує менш оптимальну площу поверхні, що доступна.

Наявність у ШКТ зон, які відрізняються значеннями рН, до-

зволила висунути [24] так звану концепцію рН-розподілу. Її необхідність була продиктована тим фактом, що більшість препаратів — слабкі кислоти чи основи, які у визначених умовах можуть існувати в іонізованій чи неіонізованій формі. Іонізовані речовини мають дуже низьку ліпофільність (у 10000 разів менш неіонізованих).

У випадку пасивної дифузії концепція рН-розподілу передбачає наявність у ШКТ проксимальних зон переважного всмоктування кислотних лікарських засобів і збільшення всмоктування основних молекул у дистальних ділянках. Це явище пояснюється градієнтом рН в рідинах відповідних ділянок ШКТ, який підтримує співвідношення між протонуваними і непротонуваними формами ЛЗ. Тому всмоктування може відбуватись у різних відділах ШКТ, але кількісне співвідношення буде різним. У цілому всмоктування ліків у ШКТ відповідає концепції рН-розподілу до тих пір, доки розчинність і показник $P_{o/v}$ (октанол/вода) залишається достатньо високим у діапазоні фізіологічних значень рН. Так, метопролол (pK_a 9,5) і окспренолол (pK_a 9,7) добре всмоктуються в дванадцятипалій кишці і практично інертні в кислому середовищі шлунка.

Виходячи із зазначеного, з метою визначення ролі транзиту мілдронату вздовж ШКТ людини ми використали метод моделювання цього процесу за допомогою комп'ютерної програми GastroPlusTM [19]. Її структура базується на фізіологічних принципах і використовує камерні моделі всмоктування [2].

У програму нами були введені дані (C_{max} , t_{max} , AUC_{0-t} , $AUC_{0-\infty}$, K_{el}), а також структура препарату, що дало можливість отримати відповідні фізико-хімічні показники ($ClogP$, pK_a , молекулярну масу тощо).

Зазначена програма описує процес вивільнення, розчинення, розпаду в порожнині ШКТ (якщо воно має місце), метаболізму, абсорбції/адсорбції при транзиті через відсіки ТП (мілдронату). Ки-

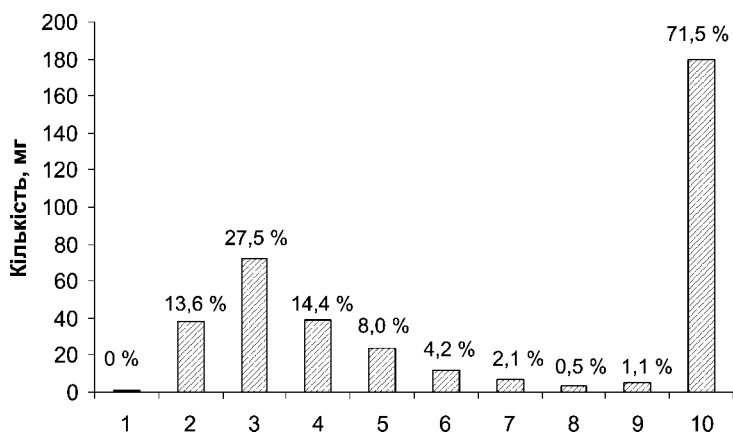


Рис. 2. Вміст триметилгідразинію пропіонату в окремих відділах кишечника людини, % (1 — шлунок; 2 — дванадцятипала кишка; 3, 4 — відповідні відсіки порожньої кишки; 5, 6, 7 — відсіки клубової кишки; 8 — сліпа кишка; 9 — товста кишка; 10 — загальна сума)

нетичні параметри розраховуються системами лінійних і нелінійних рівнянь швидкостей. Вони включають шість показників концентрації ЛЗ (яка не вивільняється, не розчинна, розчинна, така, що розпалася, метаболізована і така, що всмокталась), 18-ти відсіків, з них 9-ти ШКТ (шлунок, 7 сегментів тонкого кишечника, прямої кишки) і 9-ти зон ентероцитів, 3-х станів матеріалу, що екскретується (який не вивільняється, не розчинний і розчинний), а також кількості препарату в 3-х фармакокінетичних камерах, де відповідні параметри є доступними. Загальна кількість ма-

теріалу, що всмоктався, є сумою інтегрованих показників, в яких враховані процеси абсорбції/ексорбції в кожному відсіку ШКТ, а також його транзит.

Швидкість зміни концентрації в порожнині ШКТ залежить від 6-ти різних процесів: а) надходження сполуки до відповідного відсіку; б) виходу з відсіку; в) вивільнення препарату з лікарської форми у відсіку; г) розчинення/осаду частинок; д) розпаду у порожнині; е) абсорбції/ексорбції. Шкала часу процесу розчинення відповідає постійній швидкості перенесення k_d , яка визначена як функція від рН, включаю-

чи ефективний розмір частинок, їх щільність, концентрацію в порожнині, коефіцієнт дифузії і товщину дифузійного шару.

Транзит між камерами описується об'ємом для розчинення і константою швидкості, яка є усередненим показником для кожної камери та має певний середній час транзиту, рН. Модель містить одну (часова модель транзиту у людей) або дві (фізіологічна модель у людей) камери товстої кишки, де присутні великі об'єми рідини для розчинення ліків і довготривалість транзиту, що необхідно для всмоктування. Оскільки фізіологія (рН, об'єм рідини тощо) змінюється від проксимальної до дистальної частини товстої кишки, використання тільки однієї або двох камер товстої кишки обмежує моделювання всмоктування з неї. Ця модель забезпечує можливість прогнозування всмоктування з керованим вивільненням препарату чи погано розчинних, наданих у високій дозі.

Частина дози, що всмокталась, підраховується у вигляді суми концентрації препарату, що знижуються в ШКТ як функція часу, що ділиться на дозу, або шляхом підсумовування всіх доз, якщо препарат використовується багаторазово.

Фізіологічна відповідність набору штучних відсіків ШКТ вимагає наших знань про час транзиту через кишечник. Дослідження, проведене на чотирьохстах пацієнтах, показало, що в тонкому кишечнику воно складає близько 3,3 год, у шлунку — 0,1 год, а товстому кишечнику — 12,5 год [4]. У разі відсутності всмоктування або метаболізму (припущення) розподіл ТП (мілдронату) у ШКТ при встановленому часі транзиту може бути подано як відсоток дози, що потрапляє в товстий кишечник залежно від часу (рис. 2).

Модель передбачає наявність наступних камер: шлунок, дванадцятипала кишка, два відсіки порожньої кишки, три клубової та по одному сліпій і товстій.

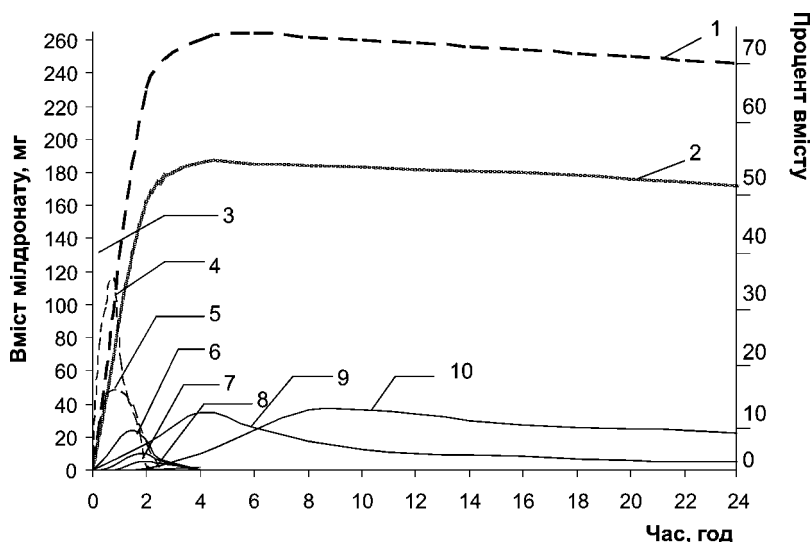


Рис. 3. Залежність концентрації триметилгідразинію пропіонату (мілдронату) в різних відділах кишечника від часу (1 — біодоступність; 2 — загальна; 3 — дванадцятипала кишка; 4, 5 — відповідні відсіки порожньої кишки; 6, 7, 8 — відсіки клубової кишки; 9 — сліпа кишка; 10 — товста кишка)

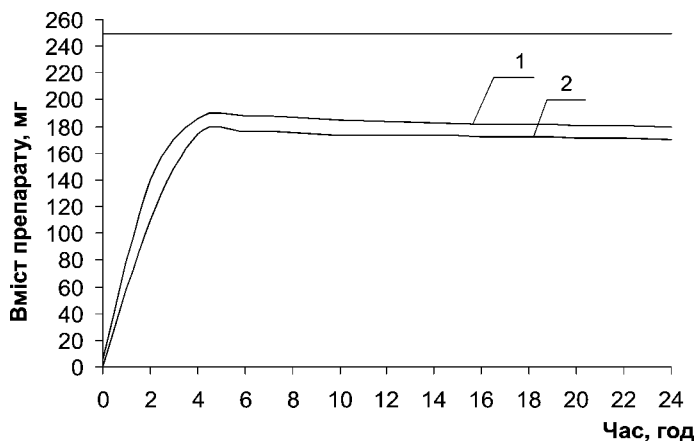


Рис. 4. Взаємозв'язок розрахованої кількості вивільненого мілдронату (1) з капсули та концентрації його субстанції в крові (2)

хунки показали, що більший вміст сполуки має місце в тонкій кишці (дванадцятипала — 13,6% та порожня — 27,5%). На проксимальну частину клубової кишки також приходить частина препарату. Модель виключає наявність речовини у шлунку, припускаючи швидко її евакуацію.

Картину зміни концентрації від часу в окремих відділах ШКТ представлено на рис. 3.

Прогнозування транзиту препарату вздовж ШКТ людини свідчить про наявність, принаймні,

двох вікон всмоктування (криві 3 та 4), що можуть забезпечити два піки концентрації в плазмі (рис. 1). Загальна кількість, яка підлягає всмоктуванню (крива 1), становить 70% від дози препарату. Цей показник співпадає із значенням біодоступності сполуки, визначеної експериментальним шляхом [7].

Зіставлення прогнозованих профілів розчинення капсули мілдронату у водному середовищі з показниками концентрації субстанції в плазмі крові (рис. 4) свід-

чить про певну кореляцію зазначених показників, що робить можливим в умовах відповідної розчинності (більше 3 мг/мл) використовувати тест *in vitro* для встановлення еквівалентності двох препаратів.

Зазначимо, що розроблені методи та підходи дозволили використати їх для проведення порівняльного рандомізованого, перехресного з двома періодами та двома послідовностями вивчення біоеквівалентності *in vivo* генеричного препарату "Вазонату" [5].

Таким чином, аналіз результатів клінічного дослідження дозволив зробити наступні висновки: 1) ґрунтуючись на результатах аналізу C_{\max} і AUC_{0-t} , доведена біоеквівалентність препарату В (вазонату у капсулах по 250 мг виробництва АТ "Олайнфарм", Латвія) і препарату А (мілдронату у капсулах по 250 мг виробництва АТ "Гріндекс", Латвія); 2) наявність двох піків кривих залежності "концентрація — час" обумовлена двома зонами всмоктування ТП в сегментах ШКТ (дванадцятипала та порожня кишки).

ЛІТЕРАТУРА

1. Головенко М., Борисюк І. // *Вісник фармакол. та фармацевції.* — 2008. — № 3. — С. 43-49.
2. Головенко М.Я., Борисюк І.Ю. // *Журн. Академії медичних наук.* — 2009. — №1. — С. 32-49.
3. Головенко Н.Я., Борисюк І.Ю. // *Биомедицинская химия.* — 2008. — Т. 54, вып. 4. — С. 392-407.
4. Головенко Н.Я., Борисюк І.Ю., Кузьмин В.Е. // *Фармаком.* — 2008. — № 3. — С. 29-40.
5. Зупанец І.А. // *Аптека.* — 2009. — Т. 693, №22. — С. 12-14.
6. Зупанец І.А., Безуглая Н.П., Подпрудников Ю.В. // *Ліки України.* — 2009. — № 5 (131). — С. 78-81.
7. Кальвиньш І.Я. *Милдронат — механизм действия и перспективы его применения.* — Рига, 2002. — 39 с.
8. Недовишан А.О., Кутузова А.Э., Перепад Н.Б. // *Клиническая медицина.* — 1999. — Т. 77, №3. — С. 41-43.
9. *Руководство по клиническим испытаниям. Лекарственные средства. Исследование биодоступности и биоэквивалентности (42-7.1:2005).* — К.: МОЗ України, 2005. — 26 с.
10. Сейфулина Р.Д., Тревизани К., Ким Е.К. // *Эксперим. и клин. фармакол.* — 1993. — Т. 56, №6. — С. 34-36.
11. Симхович Б.З., Бриезде Я.Д., Озола Р.А. и др. // *Фармакол. и токсикол.* — 1990. — №5. — С. 27-28.
12. Симхович Б.З., Мейрена Д.В., Хаги Х.Б. и др. // *Вопр. мед. химии.* — 1986. — №4. — С. 72-75.
13. Симхович Б.З., Мейрена Д.В., Хаги Х.Б. и др. // *Фармакол. и токсикол.* — 1991. — №4. — С. 41-45.
14. Суслина З.А., Федорова Т.Н., Максимов М.Ю. и др. // *Эксперим. и клин. фармакол.* — 2003. — Т. 66, №3. — С. 32-35.

15. Французова С.Б., Яценко В.П., Зотов Л.С. и др. //Журн. АМН України. — 1997. — Т. 4, №4. — С. 612-624.
16. Barr W.H., Zola E.M., Candler E.L. et al. //Clin. Pharmacol. Ther. — 1994. — Vol. 56, №3. — P. 279-285.
17. D'Agay-Abensour L., Fjellestad-Paulsen A., Hoglund P. et al. //Eur. J. Clin. Pharmacol. — 1993. — Vol. 44, №5. — P. 473-476.
18. Delchier J.C., Guerret M., Vidon N. et al. //Eur. J. Clin. Pharmacol. — 1988. — Vol. 34, №2. — P. 165-171.
19. Gastro Plus. Product of Simulations Plus, Inc., www.simulationsplus.com
20. Gramatte T., Desoky E., Klotz U. //Eur. J. Clin. Pharmacol. — 1994. — Vol. 46, №3. — P. 253-259.
21. Gramatte T., Richter K. //Br. J. Clin. Pharmacol. — 1994. — Vol. 37, №6. — P. 608-611.
22. Tay L.K., Dixon F.Jr., Sostrin M.B. et al. //J. Clin. Pharmacol. — 1992. — Vol. 32, №9. — P. 827-832.
23. Williams M.F., Dukes G.E., Heizer W. et al. //Pharm. Res. — 1992. — Vol. 9, №9. — P. 1190-1194.
24. Yu L.X., Amidon G.L. //Int. J. Pharm. — 1999. — Vol. 186, №2. — P. 119-125.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 27. Тел. (57) 706-30-72.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 22.09.2009 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України

Про підозрювану побічну дію комплексного препарату, який містить **гідроксид заліза(III) з полімальтозою** (Препарати заліза. Код АТС В03А С04)

Хворій В. (52 роки) з діагнозом: клімактерична менометрорагія, постгеморагічна анемія II-III ст. було призначено комплексний препарат, який містить гідроксид заліза(III) з полімальтозою (внутрішньом'язово по 100 мг 1 раз на добу). Відразу після першого введення у неї з'явився озноб, біль у поперековій ділянці, суглобах нижніх кінцівок. Препарат, який містить комплекс гідроксиду заліза(III) з полімальтозою, було відмінено, реакцію купірували за допомогою преднізолону, супрастину. Після вжитих заходів зазначені явища минули без наслідків. У минулому спостерігалась алергічна реакція при застосуванні новокаїну.

Інформація надійшла від Житомирського регіонального відділення ДП “Державний фармакологічний центр” МОЗ України.