

Клиническая фармакокинетика таблеток парааминосалициловой кислоты

И. И. МИРОШНИЧЕНКО, Г. Б. СОКОЛОВА, Л. В. МОХИРЕВА

НЦПЗ РАМН; НИИ фтизиатрии и пульмонологии ММА им И. М. Сеченова, Москва
ОАО «АКРИХИН», Москва

Clinical Pharmacokinetics of Paraaminosalicylic Acid Tablets

I. I. MIROSHNICHENKO, G. B. SOKOLOVA, L. V. MOKHIREVA

Scientific Centre of Mental Health, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow
Research Institute of Phthisiology and Pulmonology, I. M. Sechenov Moscow Medical Academy, Moscow. Akrikhin Co., Moscow

Проведено изучение фармакокинетических параметров препарата ПАСК-Акри, производимого фирмой ОАО «АКРИХИН», (Россия) и выпускаемого в виде таблеток, покрытых оболочкой, содержащих ПАСК в виде дигидрата соли натрия в количестве 1000 мг. Здоровые добровольцы принимали однократно внутрь 6, 9 или 12 таблеток по 1 г ПАСК-Акри, через 7 дней добровольцы принимали ПАСК-Акри в другой дозировке. Пробы крови отбирались через 0,25; 0,5; 0,75, 1, 2, 4, 6, 8 и 10 часов после введения. Концентрации ПАСК в сыворотке крови добровольцев определяли методом ВЭЖХ. Проведенные исследования позволяют оптимизировать дозирование ПАСК для достижения эффективной противотуберкулезной терапии.

Ключевые слова: клиническая фармакокинетика, противотуберкулезные препараты, парааминосалициловая кислота, добровольцы.

Pharmacokinetic parameters of PAS-Akri coated tablets (Akrikhin, Russia) were investigated. The tablets contain paraaminosalicylic acid (PAS) as sodium dihydrate in an amount of 1000 mg. The single oral dose of the drug for healthy volunteers in the trial was 6, 9 or 12 tablets. In 7 days the dosage was changed. The blood samples were collected 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 4, 6, 8 and 10 hours after the drug administration. The PAS serum levels were determined with HPLC. The trials will allow to optimize the dosing of PAS for providing efficient antituberculosis therapy.

Key words: clinical pharmacokinetics, antituberculosis drugs, paraaminosalicylic acid, volunteers.

Парааминосалициловая кислота (4-амино-2-гидроксibenзойная кислота; ПАСК) обладает бактериостатической активностью в отношении микобактерий туберкулёза и относится к резервным противотуберкулезным препаратам [1]. По туберкулостатической активности парааминосалицилат уступает другим резервным препаратам (протионамиду, циклосерину, канамицину, капреомицину), поэтому его сочетают с более активными основными и резервными противотуберкулезными препаратами. Комбинированная терапия замедляет развитие лекарственной устойчивости и усиливает действие соответствующих препаратов [2].

ПАСК быстро всасывается в ЖКТ, легко проходит гистогематические барьеры и распределяется по тканям [3]. В организме человека подвергается интенсивному метаболизму посредством N-ацетилтрансферазы (изоформа NAT1) с образованием неактивного продукта ацетил-парааминосалициловой кислоты [4]. Около половины дозы определяется в моче в виде это-

го ацетилированного производного. Элиминирование зависит как от скорости метаболизма, так и от почечной экскреции. Сопутствующий прием жирной пищи увеличивает степень абсорбции ПАСК, что выражается в увеличении значений C_{max} и AUC [5].

Целью данного исследования являлось изучение фармакокинетических параметров препарата ПАСК-Акри, производимого фирмой ОАО «АКРИХИН», (Россия) и выпускаемого в виде таблеток, покрытых оболочкой, содержащих ПАСК в виде дигидрата соли натрия в количестве 1000 мг. Исследование проведено на здоровых добровольцах.

Материал и методы

Исследование проводилось на 18 добровольцах, получавших утром однократно внутрь 6, 9 или 12 таблеток по 1 г ПАСК-Акри после стандартного завтрака. После периода отмывки (7 дней), добровольцы получали утром однократно внутрь ПАСК-Акри в другой дозировке. Препарат запивали 100 мл кипячёной воды.

Перед началом исследования испытуемые подвергались тщательному врачебному контролю с проведением лабораторных анализов. На каждого пробанд была составлена индивидуальная карта обследования, в которой отмечали возни-

© Коллектив авторов, 2009

Адрес для корреспонденции: 117105 Москва, Нагатинская ул., д. 3А.
Редакция журнала «Антибиотики и химиотерапия»

Таблица 1. Демографические характеристики добровольцев

	Возраст, лет	Рост, см	Вес, кг
M	24,06	170,50	66,00
STD	4,45	6,30	10,37
SE	1,05	1,48	2,44
CV%	18,51	3,69	15,71

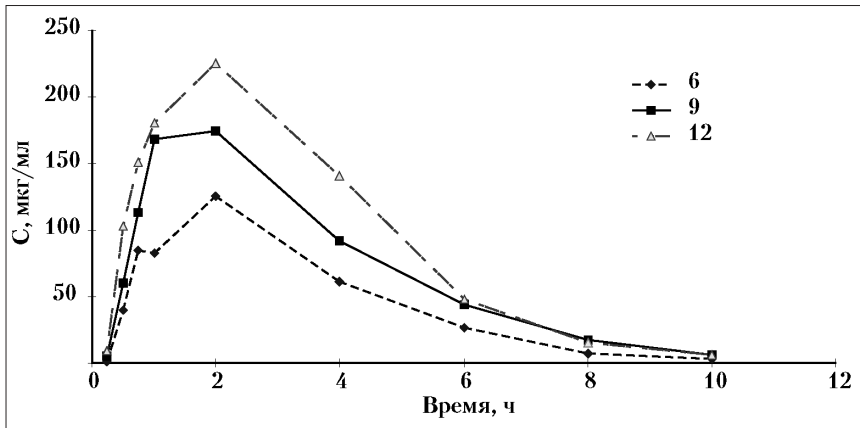


Рис. 1. Динамика изменения содержания ПАСК в сыворотке крови человека в результате приема препарата в различных дозах

кающие в связи с приёмом препаратов побочные явления. Накануне исследования добровольцы подвергались общему медицинскому осмотру с целью исключения из исследования лиц с нарушениями функций органов и систем.

В исследование включали пробандов без выраженных поражений функции печени и почек и не имеющих язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. В табл. 1 приведены средние значения некоторых демографических показателей. В исследование не включались беременные женщины, лица с аллергией к препаратам, лица детского и пожилого возраста. Из исследования также исключались истощённые и тучные люди.

Пробы крови отбирались в следующие временные интервалы после введения препарата: 0,25, 0,5, 0,75, 1, 2, 4, 6, 8 и 10 часов. Кровь центрифугировалась в пробирках Vacuette, сыворотка отбиралась в полипропиленовые пробирки и хранилась при температуре -20° . Код пробы содержал номер испытуемого, дозу препарата (6, 9, 12) и временной интервал отбора крови, что соответствовало приведённым в отчёте обозначениям.

Для экстракции препарата из проб и проведения хроматографического анализа экстрактов использовали следующие реактивы и органические растворители: H_3PO_4 , (WAKO, Япония), NaH_2PO_4 (Fluka, Швейцария), цетилэтилтриаммоний бромид (WAKO, Япония), ацетонитрил (осч).

Центрифугирование образцов проводили на центрифуге FP-350 LabSystems Oy (Финляндия). Для равномерного перемешивания проб использовали вибровстряхиватель типа «Vortex» фирмы Labomed (Швейцария).

Анализ проб с целью определения концентрации ПАСК в образцах сыворотки крови добровольцев осуществляли методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе в следующей комплектации:

1. насос высокого давления Waters 501 (США);
2. спектрофотометрический детектор Spectromonitor D (LDC, США);
3. компьютерный интегратор Chromatorac C-R6A (Shimadzu — Europe GmbH, Германия);
4. инжектор модели 7125 (Rheodyne, США) с объёмом петли 50 мкл.

Во все образцы сыворотки крови (объём 0,25 мл), включая нулевую и стандарт (100 мкг/мл) ПАСК, добавляли 0,5 мл аце-

тонитрила. Затем образцы энергично встряхивали в течение 20 сек и инкубировали 10 мин при температуре $5^{\circ}C$. Далее пробы центрифугировали при 5000 об/мин в течение 10 мин. Аликвоту супернатанта объёмом 50 мкл инжигировали в хроматограф.

Для количественного определения ПАСК в сыворотке крови применяли метод ВЭЖХ [6]. Для детектирования использовали спектрофотометрический детектор. Длина волны поглощения составляла 265 нм.

Колонка — Silasorb C_{18} , 7 мкм, 150×4 мм (ЭЛСИКО, Россия). Преколонка — 10×4 мм, 10 мкм. Элюент состоял из смеси 0,02 М фосфатного буфера (рН 6,2) и ацетонитрила 70%:30% по объёму с добавлением 1,5 мМ ионопарного реагента цетилэтилтриаммоний бромид. Скорость элюирования равня-

лась 1,5 мл/мин. Объём вводимой в хроматограф пробы — 50 мкл. Времена удерживания ПАСК $8,7 \pm 0,2$ мин.

Зависимость между приведённой высотой хроматографических пиков ПАСК (Н) в $мкв \times 10^{-2}$ и концентрацией ПАСК в пробе (С) в мкг/мл носила нелинейный характер и описывалась полиномом вида $C = -15 + 0,1985 \times N - 0,000011 \times N^2$ для $N > 100$ и $C = 1,09 - 0,0172 \times N + 0,0011 \times N^2$ для $N < 100$.

Фармакокинетический анализ проводили непараметрическим методом статистических моментов при использовании программ РЕЗОЛЬВЕНТА [7] и NCOMP [8], статистический анализ по программе Statgraf с использованием электронной таблицы Excel.

Результаты и обсуждение

В нулевой точке (перед вводом препарата) исследование проб крови у всех пробандов не выявило присутствия в сыворотке ПАСК. В последующие сроки наблюдения в пробах крови было обнаружено достаточное для анализа количество ПАСК. Установлено, что фармакокинетика ПАСК характеризуется интер- и интраиндивидуальной вариабельностью. Профили фармакокинетических кривых усреднённых концентраций в крови после введения таблеток ПАСК в дозах 6, 9 и 12 г изображены на рис. 1 в декартовых координатах.

Показано соответствие профиля усреднённых значений концентрации на фармакокинетических кривых (рис. 2 и 3) при приёме препарата в разных дозах: изменение дозы препарата не вызывает изменений в величине t_{max} , в то же время чем больше доза, тем выше концентрация лекарственного вещества в каждой временной точке. ПАСК быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта, достигая максимального значения концентрации в среднем через 2 часа, со-

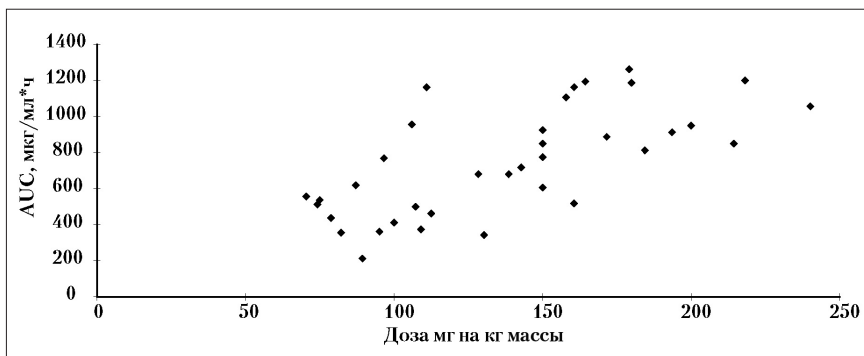


Рис. 2. Зависимость площади под кривой от дозы ПАСК на 1 кг массы тела

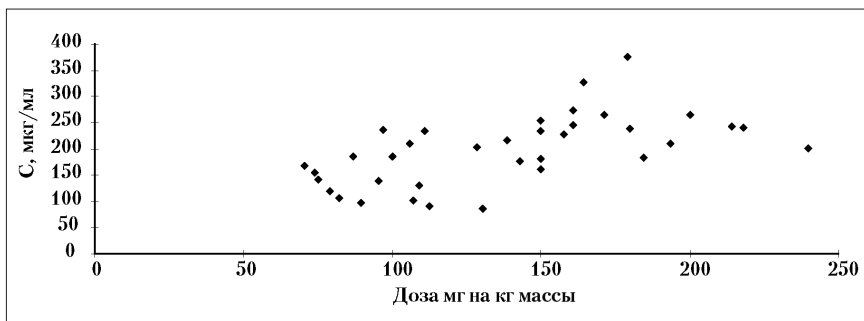


Рис. 3. Зависимость максимальной концентрации от дозы препарата на 1 кг массы тела

значениями максимальных концентраций (C_{\max}) $146,9 \pm 11,3$ мкг/мл ($D = 6$ г) $199,2 \pm 16,7$ мкг/мл ($D = 9$ г) и $246,3 \pm 15,7$ мкг/мл ($D = 12$ г), соответственно (табл. 2). Подобным образом происходило дозозависимое увеличение площади под фармакокинетической кривой см. рис. 2). Значения константы абсорбции (K_{abs}), периода полувыведения (T_{max}), среднего время пребывания препарата в организме (MRT), общего клиренса (Cl/F) и кажущегося объема распределения (V_{ss}/F) не зависели от дозы введенного препарата и составляли в среднем по всей исследован-

ной выборке добровольцев с нормальным состоянием выделительной функции и без патологии ЖКТ (табл. 2).

Для проверки линейности фармакокинетики того или иного препарата обычно сравнивают фармакокинетические данные, полученные после введения исследуемого вещества в разных дозах [9]. Если при таком сравнении отклонение друг от друга фармакокинетических кривых, нормированных относительно дозы, не носит систематического характера, т. е. выполняется принцип суперпозиции, или фармакокинетические параметры инвариантны относительно дозы, фармакокинетика лекарственного вещества имеет линейный характер, по крайней мере, в диапазоне исследованных концентраций. Как видно из табл. 3, достоверных различий в значениях нормированной относительно дозы площади под фармакокинетической кривой, не наблюдается. Это обстоятельство позволяет сделать вывод о линейности фармакокинетики ПАСК в диапазоне доз от 6 до 12 г.

Выявлена линейная зависимость между дозой ПАСК на 1 кг массы тела и величиной площади под кривой и максимальной концентрацией препарата в крови испытуемых (см. рис. 2 и 3). Путем регрессионного анализа получены следующие соотношения:

$$AUC = 132,3 + 44,6 \times D/\text{kg}, r=0,694;$$

$$C_{\max} = 79,3 + 0,86 \times D/\text{kg}, r=0,597.$$

Таблица 2. Значения фармакокинетических параметров ПАСК при приеме препарата в различных дозах

Параметр	Доза		
	6 г	9 г	12 г
D/кг массы, мг/кг	89±4	139±6	186±8
MRT, ч	2,02±0,13	2,31±0,22	2,19±0,13
K_{abs} , ч ⁻¹	1,13±0,22	0,96±0,11	1,37±0,04
AUC_{0-10} , мкг·ч/мл	463,5±38,9	753,0±79,5	981,6±42,1
$T_{1/2}$, ч	1,46±0,08	1,62±0,20	1,46±0,13
$AUC_{0-\infty}$, мкг·ч/мл	471,0±39,5	771,0±78,5	1001,1±43,0
C_{\max} , мкг/мл	146,9±11,3	199,2±16,7	246,3±15,7
T_{max} , ч	2*	2*	2*
Cl/F , л·ч ⁻¹ ·кг ⁻¹	0,15±0,02	0,15±0,02	0,14±0,01
V_{ss}/F , л·кг ⁻¹	0,30±0,04	0,35±0,07	0,30±0,02

Примечание. * – значение медианы.

Таблица 3. Инвариантность параметров фармакокинетики ПАСК относительно введенной дозы

Доза, г	C_{\max}/D , мкг·мл ⁻¹ ·г ⁻¹	AUC_{0-t}/D , мкг·ч·мл ⁻¹ ·г ⁻¹	$AUC_{0-\infty}/D$, мкг·ч·мл ⁻¹ ·г ⁻¹
6	34,2±2,6	107,8±9,1	109,5±9,2
9	30,9±2,6	116,7±12,3	119,5±12,1
12	29,7±1,9	118,3±5,1	120,6±5,2

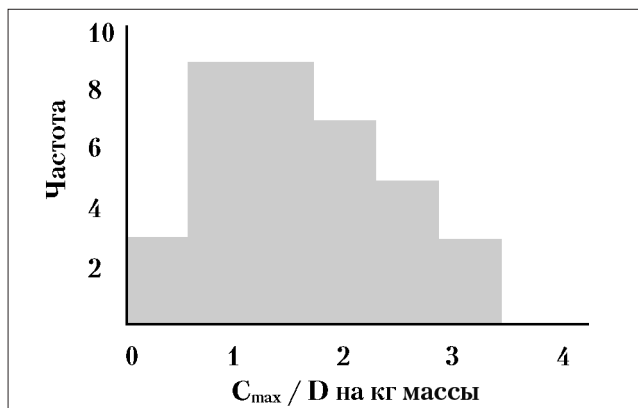


Рис. 4. Частотное распределение максимальной концентрации ПАСК, нормированной относительно дозы

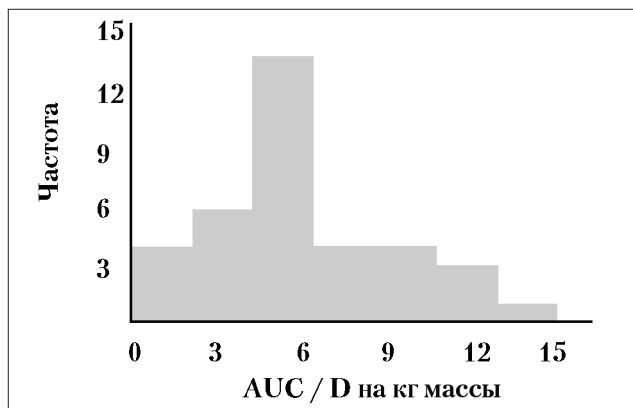


Рис. 5. Частотное распределение AUC ПАСК, нормированной относительно дозы

Таблица 4. Средние значения параметров, характеризующих многократное введение ПАСК при моделировании

Параметр	Режим		
	9 г / 24 ч	4,5 г / 12 ч	3 г / 8 ч
C_{avg} , МКГ/МЛ	30,74	30,71	30,65
C_{max} , МКГ/МЛ	174,3	78,0	60,2
C_{mix} , МКГ/МЛ	0,01	1,12	5,9

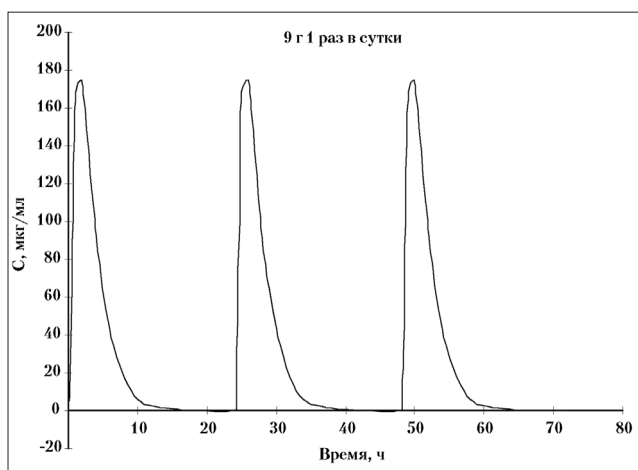


Рис. 6. Моделирование профиля концентрации ПАСК в плазме крови от времени при повторных приёмах внутрь с интервалом дозирования 24 ч

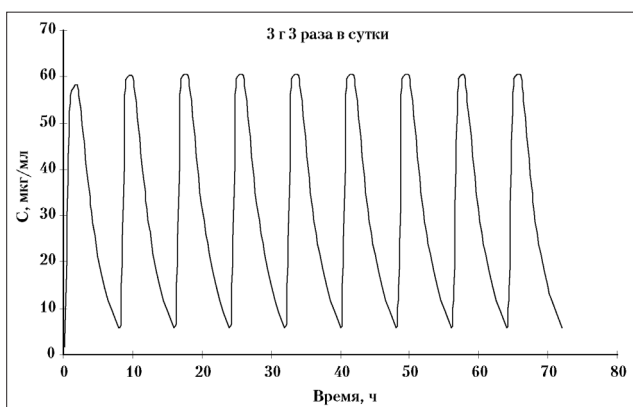


Рис. 8. Моделирование профиля концентрации ПАСК в плазме крови от времени при повторных приёмах внутрь с интервалом дозирования 8 ч

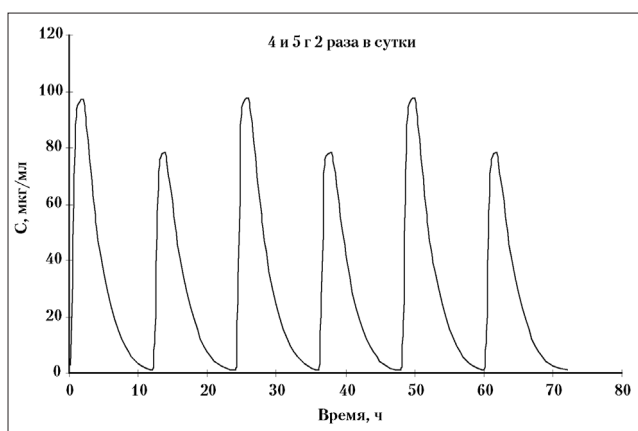


Рис. 7. Моделирование профиля концентрации ПАСК в плазме крови от времени при повторных приёмах внутрь с интервалом дозирования 12 ч

В дальнейшем для анализа межиндивидуальных различий нами использовались такие взвешенные показатели, как максимальная концентрация или площадь под кривой, нормированные относительно дозы: $C_{max}/D/kg$, $AUC/D/kg$. Как видно из рис. 4 и 5 достаточно информативную картину дает диаграмма частот распределения. Установлено нормальное гауссово распределение основной части популяции со смещением в область низких значений.

Задача фармакокинетики оптимизация терапии. В заключительной части проведено моделирование фармакокинетики ПАСК при многократном введении препарата в следующих режимах:

$D = 9 \text{ г}, \tau = 24 \text{ ч}$ (рис. 6);

$D = 5 \text{ и } 4 \text{ г}, \tau = 12 \text{ ч}$ (рис. 7);

$D = 3 \text{ г}, \tau = 8 \text{ ч}$ (рис. 8);

Суточная доза во всех случаях составляла 9 г, что эквивалентно дозе 150 мг на кг для человека с

массой 60 кг. Для моделирования использовались реальные значения параметров (табл. 2), полученные экспериментальным путем.

Значения основных показателей, характеризующих эти режимы лекарственного дозирования приведены в табл. 4.

В заключение можно отметить, что генотипирование пациентов позволит выявить поли-

морфизм N-ацетилтрансферазы и выделить субпопуляции с замедленным и сверхинтенсивным метаболизмом. Проведение терапевтического лекарственного мониторинга позволит установить межиндивидуальные различия. Это позволит оптимизировать дозирование ПАСК для достижения эффективной противотуберкулезной терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Iseman M. D.* Tuberculosis therapy: past, present and future. // *Eur. Respir. J* 2002; 36: 87–94.
2. *Wilson J. W., Kelkar P., Frigas E.* Para-aminosalicylic acid (PAS) desensitization review in a case of multidrug-resistant pulmonary tuberculosis. // *Int J Tuberc Lung Dis* 2003; 7 (5): 493–497.
3. *Glazko A. J.* Early adventures in drug metabolism: 2. The absorption of drugs. // *Ther Drug Monit.* 1987; 9 (2): 180–189.
4. *Hughes N. C., Janezic S. A., McQueen K. L. et al.* Identification and characterization of variant alleles of human acetyltransferase NAT1 with defective function using p-aminosalicylate as an *in vivo* and *in vitro* probe. *Pharmacogenetics.* 1998; 8 (1): 55–66.
5. *Peloquin C. A., Zhu M., Adam R. D., Singleton M. D., Nix D. E.* Pharmacokinetics of para-aminosalicylic acid granules under four dosing conditions. // *Ann Pharmacother* 2001; 35: 1332–1338.
6. *Vasbinder E., Van der Weken G., Vander Heyden Y. et al.* Quantitative determination of p-aminosalicylic acid and its degradation product m-aminophenol in pellets by ion-pair high-performance liquid chromatography applying the monolithic Chromolith Speedrod RP-18e column. // *Biomed Chromatogr* 2004; 18 (1): 55–63.
7. *Мирошниченко И. И.* Основы фармакокинетики. М: ГЭОТАР-МЕД 2002. 192.
8. *Laub P. B., Gallo J. M.* NCOMP a Windows-based computer program for noncompartmental analysis of pharmacokinetic data. // *J. Pharmaceut. Sci.* 1996; 85: 4: 393–395.
9. *Schlatter J., Di Blasi-Bouvet S., Raynaud F., Cisternino S.* Population pharmacokinetics of methotrexate in the guinea pig. // *Cell Mol Biol* 1999. 30; 3: 363–368.