

УДК 547.918

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОДОСТУПНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА ИЗОНИАЗИД-Д ТАБЛЕТКИ ДИСПЕРГИРУЕМЫЕ**¹Ким М.Е., ¹Мурзагулова К.Б., ²Степанова Э.Ф.***Фармацевтическая компания «Ромат», Павлодар, e-mail: company@romat.kz;**Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России», Пятигорск, e-mail: e.f.stepanova@mail.ru*

С целью снижения токсичности, маскировки неприятного вкуса и повышения стабильности при хранении противотуберкулезного препарата изониазид фармацевтической компанией «РОМАТ», Казахстан, разработаны на основе инкапсулирования изониазида с β -циклодекстрином Изониазид-Д таблетки диспергируемые для использования в педиатрической практике. Необходимость оценки биоэквивалентности оригинальному лекарственному препарату при создании дженериков послужила основанием для изучения биодоступности разработанного лекарственного препарата Изониазид-Д таблетки диспергируемые, производства ТОО «Павлодарский фармацевтический завод» в сравнении с лекарственным препаратом таблетки диспергируемые производства Кадила Фармасьютикалс Лтд, Индия. Исследование проведено на кроликах-самцах породы Шиншилла. Концентрация препаратов в сыворотке крови определялась методом ВЭЖХ. Фармакокинетические данные изониазида показали, что вещество определяется на протяжении 12 часов после однократного введения животным как испытуемого препарата, так и препарата сравнения. Время достижения максимальной концентрации составляло в среднем около 1 часа. Средняя максимальная концентрация изониазида в сыворотке крови была идентична у тестируемого препарата и препарата сравнения. Установлено, что изониазид быстро достигает максимальной концентрации и быстро выводится из организма – через 24 часа после введения в плазме крови животных обнаруживаются следовые концентрации. Относительная биодоступность исследуемого препарата по отношению к препарату сравнения в среднем составила 91,81%. Таким образом, испытуемый препарат и препарат сравнения имеют идентичные фармакокинетические характеристики.

Ключевые слова: биодоступность, диспергируемые таблетки, изониазид, туберкулез**BIOAVAILABILITY RESEARCH OF DRUG ISONIAZID-D TABLETS DISPERSIBLE****¹Kim M.E., ¹Murzagulova K.B., ²Stepanova E.F.***Pharmaceutical company «Romat», Pavlodar, e-mail: company@romat.kz;**Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute, Pyatigorsk, e-mail: e.f.stepanova@mail.ru*

Isoniazid-D dispersible tablets for use in pediatric patients based on the encapsulation of isoniazid with β -cyclodextrin in order to reduce toxicity, mask the unpleasant taste and improve the storage stability of anti-tuberculosis drug isoniazid pharmaceutical company «ROMAT» Kazakhstan were developed. The necessity to assess the bioequivalence of original drugs when creating generic served the basis for study the bioavailability of the drug developed Isoniazid-D dispersible tablets, manufactured by LLC «Pavlodar Pharmaceutical Plant» in comparison with the drug-dispersible tablet production Cadila Pharmaceuticals Ltd, India. The study was conducted on male rabbits Chinchilla. The drug concentration in blood serum was determined by HPLC. Pharmacokinetic data of isoniazid showed that the substance is determined at 12 hours after single administration to animals the test drug and comparison drug. The maximum isoniazid concentration time was on average about 1 hour. Average maximum concentration of isoniazid in serum were identical in the test preparation and drug-comparison. It was established that maximum isoniazid concentration is quickly reached and isoniazid is rapidly excreted from the body – in 24 hours after injection in the blood plasma of animals is detected trace concentrations. The relative bioavailability of the test drug to the comparison drug is average of 91,81%. Thus, the test drug and the reference drug have identical pharmacokinetic characteristics.

Keywords: bioavailability, dispersible tablets, isoniazid, tuberculosis

По данным Всемирной организации здравоохранения, жертвами туберкулеза ежегодно становятся порядка 1,7 миллионов и ежедневно умирают около 5 тысяч человек. Происходит быстрое распространение лекарственно-устойчивой формы туберкулеза. В отчете ВОЗ «Глобальный доклад 2010 года об эпидемическом надзоре и ответных действиях» от 18 марта 2010 г., особое внимание уделяется росту заболеваемости множественным лекарственно-устойчивым туберкулезом [9].

По данным ВОЗ, в некоторых районах мира у каждого четвертого человека с туберкулезом развивается форма болезни, ко-

торая не поддается стандартному лечению противотуберкулезными препаратами первой линии. В настоящее время к странам, где наблюдается высокий уровень заболеваемости туберкулезом с приобретенной множественной и широкой лекарственной устойчивостью, относятся и страны СНГ, в том числе Россия и Казахстан.

Крайне неблагоприятная ситуация складывается в отношении лечения детей, больных туберкулезом, поскольку в мире ранее не выпускались специальные лекарственные формы для детей. В основном для лечения детей использовались лекарственные препараты, предназначенные для взрослых.

В этих случаях таблетки размалывали и расфасовывали в соответствующих дозах. В большинстве случаев это приводило к снижению терапевтической активности лекарственных препаратов и проявлению ряда побочных эффектов [9, 10].

В декабре 2007 года ВОЗ была объявлена глобальная кампания по производству лекарственных средств для детей, вызванная необходимостью улучшения доступа к безопасным лекарствам для всех детей в возрасте до 15 лет. Оптимальными для детей лекарственными препаратами являются адаптируемые твердые оральные формы, предпочтительно диспергируемые таблетки [3].

Фармацевтической компанией «РО-МАТ», Казахстан, разработан состав и технология нового детского лекарственного препарата – Изониазид-Д (диспергируемые таблетки) на основе инкапсулирования изониазиды с β -циклодекстрином для снижения токсичности, маскировки неприятного вкуса и повышения стабильности при хранении противотуберкулезного препарата изониазиды [2].

Создание воспроизведенных лекарственных препаратов (дженериков) предполагает обязательное проведение фармакокинетических исследований, оценку их биоэквивалентности оригинальному лекарственному препарату, что является основным видом медико-биологического контроля их качества [1, 5].

Исходя из сказанного, целью настоящей работы явилось изучение относительной биодоступности Изониазид-Д таблетки диспергируемые производства ТОО «Павлодарский фармацевтический завод», Республика Казахстан, в сравнении с лекарственным препаратом Изониазид таблетки диспергируемые (Кадилла Фармасьютикалс Лтд, Индия).

Материалы и методы исследования

Изониазид – противотуберкулезный препарат первого ряда, производное гидразиды изоникотиновой кислоты (гидразид 4-пиридинкарбоновой кислоты).

Тестируемый препарат – таблетки диспергируемые изониазид 0,1 г производства ТОО «Павлодарский фармацевтический завод», Республика Казахстан. В качестве препарата-сравнения выбран аналог, не зарегистрированный в Республике Казахстан – таблетки диспергируемые 0,1 г производства Кадилла Фармасьютикалс Лтд, Индия, так как на фармацевтическом рынке Казахстана отсутствует аналог тестируемого препарата по лекарственной форме и дозировке.

Исследование проводилось на кролика-самца породы Шиншилла массой тела – $3,19 \pm 0,41$ кг, полученных из питомника ТОО НПП «Антиген» (г. Алматы).

В «случайном» порядке животным с помощью зонда внутрь вводили 1 таблетку испытуемого лекарственного препарата Изониазид-Д таблетки диспер-

гируемые 0,1 (Т) или 1 таблетку препарата сравнения Изониазид таблетки диспергируемые 0,1 (R). Промежуточный период составил 7 дней, по истечении которого препараты вводили в обратном порядке.

Образцы крови (около 1,0 мл) отбирали из краевой ушной вены с помощью игл и переносили в центрифужные пробирки, предварительно обработанные гепарином. Взятие образцов крови для последующего определения содержания препарата в плазме крови осуществлялось в дискретные интервалы времени: через 0; 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; 6,0; 8,0; 12,0 и 24,0 часа после их перорального введения. Образцы крови отстаивались в течение 15 минут в условиях комнатной температуры. После центрифугирования (3000 об/мин в течение 10 минут) отбирали плазму крови, которая хранилась при температуре -30°C в морозильной камере «Premium».

Для количественного определения изониазиды в плазме крови использовали хроматографический метод [4]. Анализ проводили на жидкостном хроматографе «Agilent 1100» с УФ-детектором и компьютером с соответствующим пакетом программ для обсчета результатов. Условия хроматографирования: аналитическая колонка – «Zorbax Bonus-RP», Agilent (150/4,6 мм; 5 мкм); подвижная фаза: градиент растворителей А и В, профильтрованная через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм и дегазированная на ультразвуковой бане; скорость потока элюента – 1,0 мл/мин; детектирование проводили при длине волны – 280 нм; температура колонки + 35°C .

Для экстракции изониазиды из плазмы крови 0,5 мл плазмы помещали в пробирку Centrisart I и центрифугировали в течение 15 мин при 4500 об/мин. По 50 мкл надосадочной жидкости вводили в петлю инжектора. Процент извлечения изониазиды составил $84,6\% \pm 6,7$ (среднее из 3 определений). В диапазоне концентраций 10; 25; 50 и 100 мкг/мл калибровочная зависимость была линейной.

Количественное определение изониазиды проводили методом абсолютной калибровки. В описанных условиях время удерживания изониазиды составило 3,25–4,33 мин. В диапазоне концентраций 10–100 мкг/мл калибровочная кривая была линейной. Стандартная кривая изониазиды описывалась уравнением: $y = 46,756x + 178,42$ ($R^2 = 0,9636$), где y – площадь хроматографического пика изониазиды; x – концентрация в мкг/мл. Минимальная обнаруживаемая концентрация составила 0,01 мкг/мл; относительная ошибка для концентрации 100 мкг/мл не более 32,8%.

Полученные данные предварительно были подвергнуты математической статистической обработке с помощью программы «Excel». Расчет фармакокинетических параметров анализируемых препаратов был проведен с использованием программы «ANOVA».

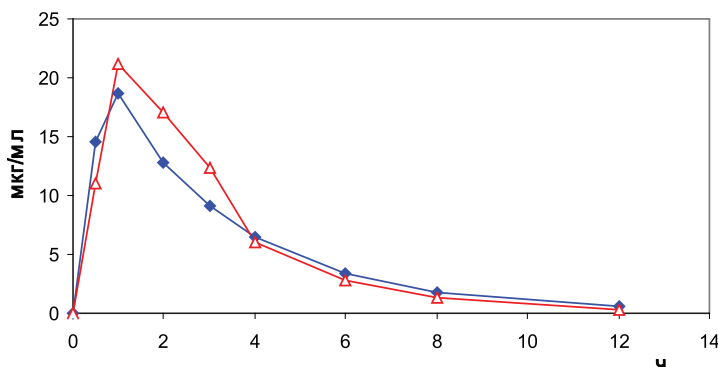
Результаты исследования и их обсуждение

С целью оценки биологической доступности исследуемых лекарственных средств были определены концентрации изониазиды в сыворотке крови кроликов: рассчитаны основные фармакокинетические параметры, позволяющие количественно охарактеризовать относительную биодоступность (f), величины площадей под фармакокинетическими кривыми зависимости

«концентрация-время» (AUC_{0-360}), время достижения максимальной концентрации (T_{max}) и значения максимальных концентраций (C_{max}) [1, 7].

На рисунке представлен усредненный фармакокинетический профиль изониазида после введения тестируемого и референс-препаратов.

Усредненный фармакокинетический профиль изониазида



Усредненный фармакокинетический профиль изониазида в плазме крови кроликов после однократного перорального введения Изониазида-Д (Т) и Изониазида (R)

Профили концентраций изониазида препаратов Изониазид-Д (Т) и Изониазид (R) схожи. Фармакокинетические кривые изониазида показывают, что исследуемое соединение определяется на протяжении 12 часов

после однократного введения животным испытуемого препарата и препарата сравнения.

В табл. 1 представлены фармакокинетические параметры изониазида у кроликов после введения исследуемых препаратов.

Таблица 1

Индивидуальные и средние значения фармакокинетических параметров изониазида тестируемого (Т) и референс-препаратов (R)

№ п/п	t_{max} , ч		C_{max} , мкг/мл		$AUC_{0 \rightarrow t}$, мкг/мл·ч		$C_{max}/AUC_{0 \rightarrow t}$, ч ⁻¹	
	T	R	T	R	T	R	T	R
1	1,00	1,00	26,56	28,09	89,97	78,39	0,295	0,358
2	0,50	1,00	9,81	10,91	26,79	40,15	0,366	0,272
3	1,00	2,00	20,43	21,31	49,08	67,80	0,416	0,314
4	1,00	1,00	27,00	26,96	96,78	104,95	0,279	0,257
5	2,00	1,00	20,82	25,57	70,03	72,88	0,297	0,351
6	0,50	0,50	23,11	25,27	62,01	57,07	0,373	0,443
x	1,00	1,08	21,29	23,02	65,78	70,21	0,34	0,33
SD	0,50	0,45	5,72	5,81	23,73	19,85	0,05	0,06
$S\bar{x}$	0,20	0,18	2,34	2,37	9,68	8,10	0,02	0,03
S.V., %	50,00	41,42	26,88	25,23	36,07	28,27	14,86	18,58

Сравнительный анализ основных фармакокинетических параметров изониазида показал, что изучаемый препарат быстро всасывается в системный кровоток из желудочно-кишечного тракта. Значения $C_{max}/AUC_{0 \rightarrow t}$ для препаратов Изониазид-Д и Изониазид статистически достоверно не различаются и составляют в среднем $0,34 \pm 0,05$ и $0,33 \pm 0,06$ ч⁻¹ соответственно, а индивидуальный разброс значений — С.В. незначительный (14,86–18,58%). Время достижения максимальной концентрации (T_{max}) составило в среднем для Т— $1,00 \pm 0,50$ и для

R— $1,08 \pm 0,45$ ч. Значения T_{max} для тестируемого и референс-препаратов статистически достоверно не различаются. Приведенные данные свидетельствуют, что у исследуемых препаратов время достижения максимальной концентрации (T_{max}) соответствует данным научной литературы [6, 8].

Средняя максимальная концентрация изониазида, определяемая в плазме крови кроликов (C_{max}), для тестируемого препарата составила $21,29 \pm 5,72$ мкг/мл и для препарата-сравнения — $23,02 \pm 5,81$ мкг/мл. Изониазид быстро достигает максимальной

концентрации и быстро выводится из организма: через 24 часа после введения обнаруживаются следовые концентрации в плазме крови кроликов.

Индивидуальный анализ основного параметра, характеризующего степень биодоступности действующего вещества из лекарственной формы – $AUC_0 \rightarrow t$ указывает на значительную вариабельность данного параметра. Среднее значение $AUC_0 \rightarrow t$ для тестируемого препарата составило $65,78 \pm 23,73$ и для $R-70,21 \pm 19,85$ мкг/мл·ч. Доверительные интервалы для логарифмически преобразованных значений AUC составляют от 3,29 до 4,57, а для логарифмически преобразованных значений C_{max} – от 2,28 до 3,30 и не выходят за допустимые границы [6].

Относительная биологическая доступность (f) изониазида, определяемая отношением индивидуальных значений AUC_0-t тестируемого препарата по отношению к референс-препарату, у всех кроликов находится в диапазоне 66,72–114,77%, среднее значение составляет – $91,81 \pm 17,49\%$ (табл. 2). Имел место незначительный разброс индивидуальных значений относительной биодоступности, коэффициент вариации составил 19,05%.

Таблица 2

Индивидуальные значения относительной биодоступности ($AUC_0/AUCR$) изониазида тестируемого (Т) и референс-препарата (R)

№ п/п	$AUC_0/AUCR$
1	114,77
2	66,72
3	72,39
4	92,22
5	96,09
6	108,66
x	91,81
SD	17,49
$S\bar{x}$	7,14
C.V.%	19,05

Заключение

В результате исследований установлено, что после однократного введения испытуемого препарата – Изониазид-Д таблетки диспергируемое лекарственное средство изониазид достигает системного кровотока. При этом уровни максимальных концентраций изониазида в плазме крови животных после перорального введения испытуемого препарата и препарата сравнения сопоставимы друг с другом.

После введения исследуемых препаратов экспериментальным животным не выявлено достоверных различий в скорости всасывания (C_{max}/AUC) и времени наступления макси-

мальной концентрации изониазида в плазме крови. Относительная биодоступность исследуемого препарата по отношению к препарату сравнения в среднем составила 91,81%.

Список литературы

1. Белоусов Ю.Б., Гуревич К.Г. Клиническая фармакокинетика. – М.: Литтерра, 2005. – 288 с.
2. Жансарина Г.Х., Мазинова И.Ж., Калелова Р.Р. Безопасные и эффективные лекарства детям // Фармация Казахстана. – 2010. – № 6. – С. 8–10.
3. Ким М.В. Разработка новых технологий детских форм противотуберкулезных препаратов: автореф. дис. ... канд. фармацевт. наук – РК, Караганда, 2010. – 28 с.
4. Коломиец Л.Н., Волков А.А., Якубов Э.С. Хроматография на благо России. – М.: Граница, 2007. – 688 с.
5. Проведение надлежащих исследований биоэквивалентности лекарственных средств в Республике Казахстан: методические указания. – Астана, РК. – 2007. – 48 с.
6. Холодов Ю., Яковлев В. Клиническая фармакокинетика – М.: Медицина, 1986. – 464 с.
7. Lawes J.B., Gurevich K.G. Clinical pharmacokinetics. – M.: Litterra, 2005. – 288 p.
8. Marzo A. Pharmacokinetic analysis, bioavailability and operating guidelines. // J. Pharm. Pharmacol. – 1997. – Vol. 49. – P. 1259.
9. Marzo A., Ceppi Monti N. Acceptable and unacceptable procedures in bioavailability and bioequivalence trials // Pharmacol. Res. – 1998. – Vol. 38. – P. 401.
10. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): WHO global report on surveillance and response. – Switzerland, Geneva, 2010. – P. 1–71.
11. Shelley E. Haydel. Extensively Drug-Resistant Tuberculosis: A Sign of the Times and an Impetus for Antimicrobial Discovery// Pharmaceuticals. – 2010. – № 3. – P. 2268–2290.

References

1. Belousov J.B., Gurevich K.G. Clinicheskaya farmakokinetika. M.: Litterra, 2005, 288p.
2. Zhansarina G.H., Mazinova I.Z., Kalelova R.R. Bezopasnye and effektivnyye lekarstva detyam. Pharmaciya Khazakhstan, 2010, no 6, pp. 8–10.
3. Kim M.E. Rasrabotka novykh technology detskikh form protivotuberculesnykh preparatov: Author. dis. cand. farmac. nauk. Khazakhstan, Karaganda, 2010, 28 p.
4. Kolomiec L.N., Volkov A.A., Yakubov E.S. Khromatografiya na blago Rossii. M.: Granica, 2007, pp. 688.
5. Provedenie nadleghashchich issledovani lekarstv v Respublike Khazakhstan: metodiceskie ukazanya. Astana, Kazakhstan, 2007, 48 p.
6. Kholodov U., Yakovlev V. Klinicheskaya farmacokinetika. M., Medicina, 1986, 464 p.
7. Lawes J.B., Gurevich K.G. Clinical pharmacokinetics. M.: Litterra, 2005. 288 p.
8. Marzo A. Pharmacokinetic analysis, bioavailability and operating guidelines. // J. Pharm. Pharmacol., 1997, Vol. 49, pp. 1259.
9. Marzo A., Ceppi Monti N. Acceptable and unacceptable procedures in bioavailability and bioequivalence trials Pharmacol. Res. 1998, Vol. 38, pp. 401.
10. Multidrug and extensively drug-resistant TB (M/XDR-TB): WHO global report on surveillance and response. Switzerland, Geneva, 2010. pp. 1–71.
11. Shelley E. Haydel. Extensively Drug-Resistant Tuberculosis: A Sign of the Times and an Impetus for Antimicrobial Discovery// Pharmaceuticals. 2010. no. 3. pp. 2268–2290.

Рецензенты:

Ефименко Н.В., д.м.н., профессор, Пятигорский государственный НИИ курортологии ФМБА России, г. Пятигорск;

Андреева И.Н., д.фарм.н., профессор кафедры туризма КМВИС, г. Пятигорск.

Работа поступила в редакцию 06.03.2014.