

С. А. Рожнова, М. В. Гаврилин, С. П. Сенченко, А. В. Крикова

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА КАПИЛЛЯРНОГО ЭЛЕКТРОФОРЕЗА
ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ ФАРМАКОКИНЕТИКИ АМЛОДИПИНА БЕЗИЛАТА**

Пятигорская государственная фармацевтическая академия

Проведено сравнительное изучение фармакокинетики и биологической доступности двух лекарственных форм, содержащих амлодипина безилат, — таблеток амлодипина (ЗАО “Биоком”) и нормодипин таблетки (АО “Химические заводы Гедеон Рихтер”). При этом установлено, что по степени биологической доступности таблетки амлодипина отечественного производства в условиях поставленного эксперимента на 16–17 % меньше обеспечивают биодоступность действующего вещества по сравнению с прототипом. В то же время при применении таблеток амлодипина препарат быстрее всасывается в кровь, что обеспечивает более быстрое наступление терапевтического эффекта. Некоторое снижение относительной биологической доступности связано с тем, что таблетки амлодипина получены с использованием других вспомогательных веществ.

Амлодипин — производное дигидропиридина — антагонист кальция второго поколения. Амлодипин связывается с дигидропиридиновыми рецепторами, блокирует кальциевые каналы, ингибирует трансмембранный переход ионов кальция внутрь клетки (в большей степени в гладкомышечные клетки сосудов, чем в кардиомиоциты). Оказывает пролонгированный дозозависимый антигипертензивный эффект. Гипотензивное действие обусловлено прямым расслабляющим влиянием на гладкие мышцы сосудов. Уменьшает выраженность ишемии миокарда за счет расширения периферических артериол, мало влияя на частоту сердечных сокращений. Препарат применяется в виде безилата (таблетки, содержащие 5 и 10 мг активного вещества).

Ввиду высокой активности данного препарата освоение производства таблеток, содержащих амлодипин, является целесообразным. В связи с этим на ЗАО “Биоком” (Ставрополь) освоена технология производства таблеток амлодипина.

Задачей настоящего исследования являлось сравнительное изучение фармакокинетики и биологической доступности отечественной и зарубежной лекарственных форм, в частности, получение концентрационных профилей неизмененного препарата в сыворотке крови крыс, получавших однократно сравниваемые лекарственные формы перорально в виде суспензии.

Экспериментальная часть

В работе использовали препарат “нормодипин” таблетки 10 мг, производства АО “Химические заводы Гедеон Рихтер” и таблетки, произведенные ЗАО “Биоком”.

Опыты проводили на белых крысах самцах Wistar, полученных из питомника Раппалово (Ленинградская обл.), массой тела 190–210 г в марте 2005 г. Крысы содержались в стационарных условиях вивария, при естественном световом режиме и стандартном рационе. Животных лишали пищи за 18–20 ч до начала эксперимента, оставляя доступ к воде.

Дозы и способ введения. Растертую таблеточную массу сравниваемых лекарственных форм вводили в дозе 50 мг/кг в пересчете на субстанцию. Суспензии растертых таблеток готовили непосредственно перед введением животным. Пробы крови отбирали после декапитации (под эфирным наркозом) через 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 и 360 мин после введения препарата, для каждой временной точки использовали 8 животных. Всего было использовано 128 животных.

Подготовка проб. Пробы крови центрифугировали в течение 15 мин при 5000 мин⁻¹. К 1000 мкл сыворотки добавляли 50 мкл кислоты уксусной ледяной и 950 мкл ацетонитрила, перемешивали и центрифугировали 15 мин при 5000 мин⁻¹.

Методика анализа и оборудование. Для определения свободного амлодипина в сыворотке крови был использован метод капиллярного электрофореза. Измерения проводились на приборе Капель 103 Р (ЗАО “Люмэкс”, Санкт-Петербург). Для этого в пробирку помещали 500 мкл супернатанта и осуществляли ввод пробы избыточным давлением (30 мБар) в течение 5 с. Затем на электроды подавали напряжение 20 кВ и проводили разделение в ацетатном буфере с рН 3,6. Детектирование осуществляли спектрофотометрически при 254 нм, время электрофореза составляло 15 мин. Для обработки электрофореграмм была использована программа “Мультихром”. Параллельно в этих же условиях проводили электрофорез серии стандартных растворов амлодипина с различной концентрацией.

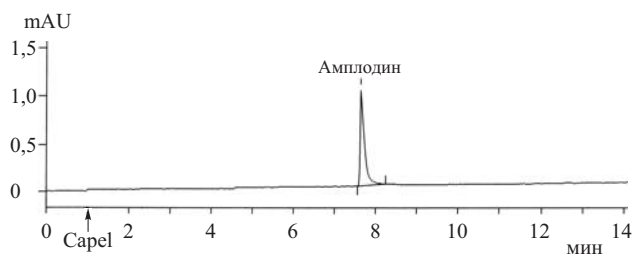


Рис. 1. Электрофореграмма стандартного раствора амлодипина безилата

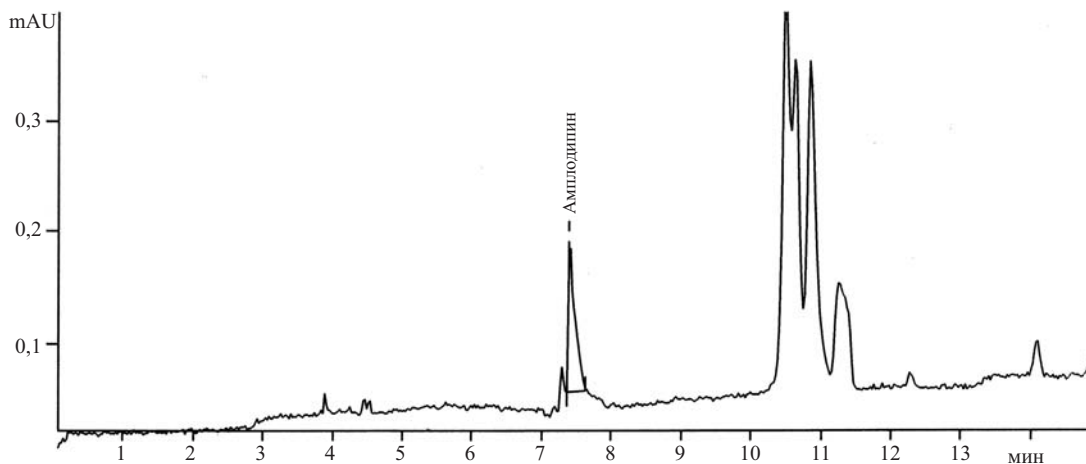


Рис. 2. Электрофореграмма сыворотки крови, содержащей амлодипин

Полученные электрофореграммы амлодипина и сыворотки крови, содержащей амлодипин, представлены на рис. 1 – 2.

Результаты и их обсуждение

Результаты количественной оценки содержания амлодипина в сыворотке при пероральном введении сравниваемых лекарственных форм представлены на рис. 3 – 4 в виде стандартной и логарифмической кривых. Анализ концентрационных профилей показывает, что для их описания может быть использована однокамерная модель. Как следует из представленных данных, при применении отечественных таблеток максимум амлодипина в сыворотке крови наблюдается через 2 ч, а при применении импортного препарата — через 3 ч. В целом профили кривых имеют одинаковый характер. Вместе с тем известно, что у человека максимум амлодипина в крови наступает через

6 – 12 ч при пероральном приеме. Однако, учитывая, что у крыс метаболизм протекает значительно быстрее чем у человека, полученные результаты можно считать достоверными. Для расчета фармакокинетических параметров использовались различные программы, а полученные результаты контролировались с использованием стандартного набора формул [1 – 3].

В табл. 1 приведены основные фармакокинетические параметры, рассчитанные с учетом однокамерной модели, которой описываются полученные концентрационные кривые [1 – 3].

Для оценки фармакокинетики и биодоступности рассчитывали константы скоростей всасывания, распределения, элиминации, максимальную концентрацию препарата в крови и время ее достижения, периоды полувсасывания и полувыведения, среднее время удерживания. Из полученных результатов следует, что концентрационные профили амлодипина для двух ле-

Таблица 1
Параметры амлодипина в сыворотке крови крыс после однократного введения, рассчитанные по стандартным методикам

Определяемый параметр	Амлодипин таблетки	Нормодипин таблетки
Константа скорости всасывания, K_{01} , мин ⁻¹	0,015	0,0096
Период полувсасывания, мин, $T_{0,5}$	46	72
Константа скорости элиминации K_{el} , мин ⁻¹	0,0064	0,0065
Период полувыведения, мин, $T_{0,5}$	108	108
Общий объем распределения, V , мл	2380	1923
Общий клиренс, Cl , мл/мин	15,2	12,3
Площадь под кривой “концентрация – время”, AUC_{∞}	656,2	800,7
Относительная биодоступность, F , %	82,0	100
Время достижения максимальной концентрации препарата в крови, ч	2	3

Таблица 2
Параметры амлодипина в сыворотке крови крыс после однократного введения, рассчитанные с помощью прикладных программ

Определяемый параметр	Амлодипин таблетки	Нормодипин таблетки
Константа скорости всасывания, K_{01} , мин ⁻¹	0,018	0,015
Период полувсасывания, мин, $T_{0,5}$	38	46
Константа скорости элиминации K_{el} , мин ⁻¹	0,0085	0,0076
Период полувыведения, мин, $T_{0,5}$	82	92
Общий объем распределения, V , мл	2026	1868
Общий клиренс, Cl , мл/мин	17,25	14,12
Площадь под кривой “концентрация – время”, AUC_{∞}	597,7	707,9
Относительная биодоступность, F , %	84,4	100
Время достижения максимальной концентрации препарата в крови, ч	2	3

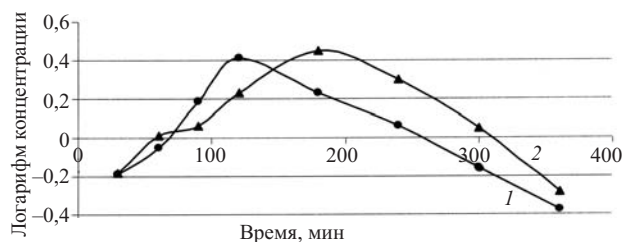


Рис. 3. Логарифмические профили концентрационных кривых для таблеток амлодипина (1) и нормодипина (2)

карственных форм незначительно различаются. Максимальное количество препарата в крови при применении отечественного наступает через 2 ч, а импортного — через 3 ч. При этом уровни амлодипина в крови в точках максимума достоверно не отличаются $2,61 \pm 0,23$ и $2,82 \pm 0,19$ мкг/мл ($P > 0,05$).

Константы скоростей всасывания и время полувсасывания составляют $K_{01} = 0,015 \text{ мин}^{-1}$, $T_{0,5;01} = 46$ мин и $K_{01} = 0,0094 \text{ мин}^{-1}$, $T_{0,5;01} = 72$ мин соответственно. Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что применение таблеток отечественного препарата обеспечивает большую скорость всасывания, чем нормодипин.

После достижения максимальной концентрации амлодипин распределяется в органах и тканях и элиминирован с примерно одинаковой скоростью. Представленные данные показывают, что константы элиминации и время полувыведения одинаковы для сравниваемых лекарственных форм. Это связано с тем, что характер лекарственной формы (способ получения таблетки, набор вспомогательных веществ) влияет только на всасывание и не может влиять на метаболизм и элиминацию. В целом это свидетельствует о правильном выполнении эксперимента и использовании надежных методик определения амлодипина в крови. Значение среднего времени удерживания также практически одинаково для двух сравниваемых лекарственных форм: 5,8 и 5,5 ч.

В то же время площади под фармакокинетическими кривыми различаются. Относительная биодоступность амлодипина при применении новой лекарственной формы составляет 80 % по сравнению с прототипом.

PHARMACOKINETICS OF AMLODIPINE BENZYLATE STUDIED BY CAPILLARY BAND ELECTROPHORESIS

S. A. Rozhnova, M. V. Gavrilin, S. P. Senchenko, and A. V. Krikova

Pyatigorsk State Pharmaceutical Academy, Pyatigorsk, Russia

The pharmacokinetics and biological availability of two medicinal forms containing amlodipine besylate (amlodipine tablets from Biocom Co. and normodipine tablets from Gedeon Richter) have been studied in comparative experiments. It is established, that the degree of biological availability of amlodipine is 16 – 17% below that of the prototype drug. At the same time, amlodipine is more rapidly absorb in the blood, which provides faster therapeutic effect. Some decrease in the biological availability is explained by the use of different auxiliary substances.

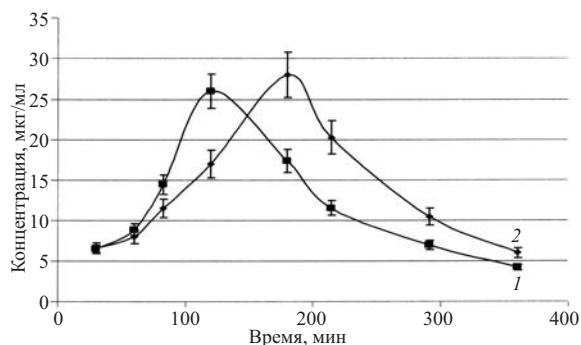


Рис. 4. Кинетические кривые для таблеток амлодипина (1) и нормодипина (2)

Следующим этапом исследования был вывод уравнений фармакокинетических кривых и вычисление фармакокинетических характеристик с использованием пакета прикладных программ. Полученные результаты представлены в табл. 2.

Как следует из представленных данных, компьютерная обработка результатов заметно изменила значения констант всасывания. Это связано с тем, что процесс всасывания (как это следует из рис. 1 – 4) несколько отличается от стандартного профиля кривых, описывающих кинетику в рамках однокамерной модели. Однако значения относительной биодоступности, объема распределения и клиренса сопоставимы. На основании проведенных исследований были получены соответствующие уравнения фармакокинетического процесса.

$$C = 9,126 \times (e^{-0,00851 \cdot t} - e^{-0,01854 \cdot t}) \text{ — амлодипин-таблетки}$$

$$C = 10,732 \times (e^{-0,00756 \cdot t} - e^{-0,01508 \cdot t}) \text{ — нормодипин-таблетки}$$

ЛИТЕРАТУРА

1. Руководство по экспериментальному доклиническому изучению новых фармакологически активных веществ, ЗАО "ИИИ Ремедиум", Москва (2000), сс. 107 – 113.
2. В. К. Пиотровский, *Хим.-фарм. журн.*, **19**(5), 845 – 850 (1985).
3. В. К. Пиотровский, *Антибиотики и мед. биотехнология*, № 7, 492 – 497 (1987).

Поступила 08.11.05