

Белолипецкая В.Г.¹, Кузнецова А.А.¹, Суханов Я.В.¹, Колтунов И.Е.¹,
Марцевич С.Ю.¹, Писарев В.В.², Смирнова Л.Б.², Зверков Ю.Б.²

Новый отечественный антагонист кальция Амлорус: сравнительное фармакокинетическое исследование с Норваском

¹ФГУ «Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины Росздрава», Москва, ²НПП «Иммунотех», Москва.

Резюме

Изучена фармакокинетика и биоэквивалентность таблеток Амлорус (ОАО «Синтез», Россия) в сравнении с зарегистрированным в России аналогом – таблетками Норваск[®] («Pfizer», Бельгия) у 18 добровольцев - здоровых мужчин и женщин. Исследование проводили двойным слепым, рандомизированным методом по перекрестной схеме. Концентрацию амлодипина в плазме крови определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием. В результате проведенного исследования установлена биоэквивалентность тестируемого препарата Амлорус референс-препарату (Норваск[®]).

Ключевые слова: амлодипин, фармакокинетика, здоровые добровольцы, биоэквивалентность.

Введение

Антагонисты кальция (АК) представлены большим количеством препаратов, классификация которых по поколениям была предложена в 1996 году Т. Тоюо-Ока и W. Nayler [1]. Каждое новое поколение обладает улучшенными фармакокинетическими свойствами, более оптимальными показателями эффективности и безопасности.

Антагонисты кальция I поколения, вероятно, будут постепенно вытеснены из медицинской практики в связи с широким кругом и выраженностью их побочных эффектов, а также кратковременностью действия. Антагонисты кальция II поколения, несмотря на улучшенный фармакокинетический профиль и тканевую селективность, все же отличаются недостаточной предсказуемостью, значительными колебаниями концентрации препарата в плазме в течение интервала дозирования и внезапным прекращением действия, приводящим к неблагоприятным клиническим эффектам [2].

Представитель III поколения антагонистов кальция амлодипин выгодно выделяется среди других препаратов по ряду параметров. От препаратов I и II поколений его отличает сочетание благоприятных фармакологических и фармакокинетических свойств, в т. ч. высокая избирательность в отношении сосудов, медленно прогрессирующая фиксация на кальциевых каналах типа L, длительный период полувыведения и большая продолжи-

тельность действия, что позволяет принимать препарат 1 раз в сутки. Последнее обстоятельство является важным фактором, определяющим приверженность пациентов лечению. Существуют доказательства наличия у препарата антиагрегационного и антитромботического действия, а также способности уменьшать выраженность гипертрофии миокарда и сосудистых миоцитов. Благоприятные фармакодинамические и фармакокинетические свойства амлодипина обуславливают его широкое применение в медицинской практике. За последнее десятилетие он стал одним из наиболее широко выписываемым препаратом в мире при АГ и стенокардии (более 8 млрд пациенто-дней лечения) [3].

В настоящее время опубликованы результаты большого количества крупных клинических исследований, убедительно доказывающие сопоставимость (а в некоторых случаях – превосходство) терапевтической эффективности и безопасности амлодипина и популярных препаратов из групп ингибиторов АПФ, блокаторов рецепторов АТII, диуретиков [4].

Высокая востребованность амлодипина объясняет появление на мировом фармацевтическом рынке все большего числа воспроизведенных препаратов (генериков). Их количество исчисляется десятками, однако данные об их биоэквивалентности, не говоря уже о терапевтической эквивалентности, практически не публикуются. Между тем, известны случаи, когда генерические препараты не были биоэквивалентными [5]. В литературе есть сведения о биоэквивалентности оригинального Норваска («Pfizer»,

Бельгия) и генерика Кардиолопина (EGIS, Венгрия) [6]. Для этих же препаратов в ходе последующего клинического исследования у больных мягкой и умеренной АГ показана терапевтическая эквивалентность [7]. Однако, таких примеров немного, чаще всего фармакокинетические характеристики новых генерических препаратов остаются недоступными широкому кругу клиницистов, что не позволяет им быть уверенными в адекватности назначаемой терапии.

Целью настоящего исследования было изучение фармакокинетики и биоэквивалентности таблеток Амлорус (ОАО «Синтез», Россия) в сравнении с зарегистрированным в России аналогом – таблетками Норваск® («Pfizer», Бельгия) у здоровых добровольцев.

Материал и методы исследования

Препараты. Тестируемый препарат – Амлорус, таблетки по 10 мг, производства ОАО «Синтез», Россия. Препарат сравнения – Норваск, таблетки по 10 мг, производства компании «Pfizer», Бельгия.

Добровольцы. В каждое исследование было включено 18 здоровых добровольцев, 5 мужчин и 13 женщин, средний возраст которых составил $26,7 \pm 5,9$ (лет), средний рост – $168,2 \pm 7,5$ (см), средняя масса тела – $65,3 \pm 8,6$ (кг). За 7 – 14 дней до первой госпитализации добровольцы были подвергнуты стандартному клиническому и лабораторному обследованию с целью дальнейшего допуска к участию в исследовании. Критерии включе-

ния в исследование и исключения из него соответствовали требованиям [8]. Все добровольцы подписали информированное согласие на участие в исследовании. Они были проинформированы о том, что во время всего исследования они должны соблюдать стандартный режим: не подвергаться физической и психической нагрузке, не употреблять спиртные напитки, кофе, чай и цитрусовые соки, а также не принимать никакие другие лекарственные препараты. В обязанности добровольцев также входило сообщать врачу-исследователю о любых изменениях режима и самочувствия во время и после проведения исследования.

Дизайн исследования. Исследование проводили двойным слепым рандомизированным методом по перекрестной схеме (рисунок 1). В день исследования добровольцы прибывали к 8 часам утра в Государственный научно-исследовательский центр профилактической медицины (последний прием пищи – не позднее 21 часа накануне). Врач, руководящий исследованием, проводил клиническое обследование, измерял параметры гемодинамики (САД, ДАД и ЧСС) – и делал запись в индивидуальной карточке добровольца. Приблизительно в 9 часов утра доброволец принимал 1 таблетку (10 мг) одного из сравниваемых препаратов в соответствии со схемой рандомизации. Таблетки принимали внутрь, не разжевывая, запивая 200 мл воды.

Для отбора крови использовали разовые кубитальные катетеры (с нулевого фона до 12 часов) и одноразовые шприцы (все последующие

отборы). Образцы крови отбирались из локтевой вены в количестве 5 мл в стеклянные пробирки с добавлением гепарина в дискретные интервалы времени в соответствии с утвержденным протоколом: до приема и через 1, 3, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 12, 24, 72, 96 и 120 часов после приема препарата. Пробы центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин, полученную плазму хранили при -30°C до анализа. Стабильность концентраций амлодипина в плазме крови при -30°C в течение 2 месяцев подтверждена экспериментально – в контрольных образцах с известным его содержанием убыль определяемого вещества в течение всего срока хранения (9 недель) не регистрировалась. Непосредственно перед отбором каждого образца крови проводилось измерение параметров гемодинамики (САД, ДАД, ЧСС). Все измерения, а также забор крови, осуществлялись в положении сидя. Питание добровольцев, начиная с обеда осуществлялось в соответствии с графиком питания стационара. Повторное исследование проводилось через 14 дней по идентичной схеме.

Аналитический метод. Концентрацию неизмененного амлодипина в плазме крови добровольцев определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием [9]. В работе использовали субстанцию амлодипина производства фирмы Marimed (Аргентина). Для экстракции и элюента использовались реактивы производства “Merck” (ФРГ). Вода – двухступенчатая

очистка обратным осмосом и деионизированная (аппаратура для очистки воды – «Millipore», Франция).

Подготовка проб плазмы для анализа. Для выделения амлодипина и очистки экстракта использовали картриджи для твердофазной экстракции AccuBond ODS-C₁₈ 55µm, 100мг (США). Картридж предварительно промывали 1 мл ацетонитрила, 1 мл воды и 2 мл 3%-ного водного раствора муравьиной кислоты. К 1 мл сыворотки прибавляли 0,5 мл 9%-ного водного раствора муравьиной кислоты, перемешивали на вихревом встряхивателе Vortex'е, центрифугировали 5 мин при 13000 об/мин и супернатант переносили в картридж. Картридж промывали 0,5 мл 3%-ного водного раствора муравьиной кислоты и 1 мл раствора ацетонитрил – 0,1М ацетат аммония – вода – муравьиная кислота (40:5:55:2), затем элюировали определяемое соединение 1 мл мл раствора ацетонитрил – 0,1М ацетат аммония – муравьиная кислота (95:5:2). Полученный элюат упаривали до суха при 60⁰С под вакуумом. Сухой остаток растворяли в 100 мкл смеси метанол-вода (1:1) и 60 мкл полученного раствора вводили в хроматограф. Степень извлечения амлодипина составила 76,4±1,5%.

Хроматографическое определение. Анализ проводили на жидкостном хроматографе «Agilent 1100» (США) с масс-спектрометрическим детектором (электроспрей). Колонка Eclipse XDB-C₁₈, 5µм, 4,6*150мм (США).

Температура разделения 40⁰С. Подвижная фаза:

Время (мин)	А%	В%
0	25	75
10	90	10

А – ацетонитрил – муравьиная кислота (99,9:0,1);

В – вода – муравьиная кислота (99,9:0,1).

Скорость потока 0,5 мл/мин. Объем пробы 40мкл.

Детектирование проводилось по протонированному молекулярному иону (M+H)⁺ с m/z 409,3. Фрагментор 30 В, напряжение капилляра 3500 В, температура азота 350⁰С, расход газа 9,7 л/мин, давление небулайзера 35 psig.

Количественное определение проводили методом абсолютной калибровки с использованием программного обеспечения фирмы «Agilent». Калибровочную кривую получали в результате анализа проб сыворотки с добавками известных количеств амлодипина. Калибровочная зависимость носила линейный характер в диапазоне концентраций 0,25 – 50 нг/мл. Минимальная обнаруживаемая концентрация амлодипина составила 0,25 нг/мл.

Фармакокинетические расчеты выполняли с помощью программы “ESTRIP” модельно-независимым методом.

Статистическая обработка результатов выполнялась с помощью пакетов STATISTICA 6.0 (ANOVA) и EXCEL’XP. Для статистической оценки полученных результатов было принято предположение о том, что пара-

метры AUC_{0-120} , $AUC_{0-\infty}$ и C_{max} имеют ln-нормальное распределение, а параметры T_{max} и $T_{1/2}$ - нормальное распределение.

Результаты и обсуждение

На рис. 2 представлены средние фармакокинетические профили амлодипина у здоровых добровольцев после приема Амлоруса и Норваска. Концентрации амлодипина при приеме обоих исследуемых препаратов ни в одной временной точке достоверно не отличались, что хорошо видно из рисунков.

Средние значения основных фармакокинетических параметров Амлоруса в сравнении с Норваском[®] представлены в таблице 1.

Таблица 1. Средние значения фармакокинетических параметров Амлоруса (ОАО «Синтез», Россия) и Норваска ("Pfizer", Бельгия)

Препарат	AUC_{0-120} (нг*ч /мл)	C_{max} (нг/мл)	T_{max} (ч)	$T_{1/2}$ (ч)
Амлорус	240,7±72,8	4,48±1,07	7,94±1,00	37,4±14,8
Норваск	246,9±73,2	4,67±0,94	8,28±1,18	38,5±14,3

Примечание: (± стандартное отклонение).

Полученные результаты хорошо согласуются с данными литературы [2, 6, 10-12]. Значения AUC_{0-120} для обоих препаратов превышали соответствующие значения $0,8 \cdot AUC_{0-\infty}$, поэтому для статистических сравнений, в соответствии с [8], был выбран параметр AUC_{0-120} . Для всех параметров достоверно значимых различий сравниваемых величин не отмеча-

лось. Результаты сравнения индивидуальных значений основных фармакокинетических параметров представлены на рисунке 3.

Степень относительной биодоступности таблеток Амлорус по отношению к таблеткам Норваск представлена в таблице 2. Хорошо видно, что рассчитанные 95% доверительные интервалы не выходят за установленные границы (80 –125 %).

Таблица 2. Значения относительной биодоступности Амлоруса (ОАО «СИНТЕЗ», Россия) по отношению к Норваску («Pfizer», Бельгия).

	f%	f%
Среднее значение± стандартное отклонение	98,9 ± 16,7	96,3± 14,8
Интервальные значения	90,6 – 107,2	89,0 – 103,7

Пояснения: $f = AUC_{0-120, \text{тест}} / AUC_{0-120, \text{референс}}$, $f = C_{\text{max, тест}} / C_{\text{max, референс}}$

Результаты вариационного анализа позволили для всех сравниваемых параметров принять нулевую гипотезу о том, что различия в средних значениях изучаемых фармакокинетических показателей не вызваны различиями между сравниваемыми препаратами

Побочные эффекты при приеме обоих препаратов не наблюдались.

Выводы.

Сравнительное фармакокинетическое исследование биодоступности нового отечественного препарата - генерика, содержащего амлодипин, **Амлорус** производства ОАО «Синтез» показало, что он биоэквивалентен оригинальному препарату Норваск производства «Pfizer», Бельгия.

Литература.

1. Toyo-Oka T., Nayler W.G. Third generation calcium entry blockers. Blood Pressure, Suppl.: 206-208 (1996).
2. Свидетельства терапевтической активности амлодипина (Обзор литературы). Медицина, 2, 86-89 (2003).
3. Е.А.Ушкалова. Фармакологические свойства амлодипина – антагониста кальция последнего поколения. Кардиология, 14, 91 (2004).
4. М.В.Леонова Амлодипин в современных клинических исследованиях. Качественная клиническая практика, 3, 23-30 (2002).
5. А.В.Соколов, Ю.Б.Белоусов, И.Ф.Тищенкова Сравнительное фармакокинетическое исследование биоэквивалентности двух пролонгированных лекарственных форм метопролола. Клиническая фармакокинетика, 1, 27-33 (2004).
6. Randomized two-way single dose, fasting, comparative bioavailability comparative study of amlodipine 10 mg tablets. Anapharm statistical report № 99056, 1999.
7. С.Ю.Марцевич, Н.П.Кутишенко, А.Д.Деев и др. Изучение терапевтической эквивалентности двух препаратов амлодипина (оригинального и воспроизведенного) у больных артериальной гипертонией. Результаты двойного слепого, рандомизированного, перекрестного исследования. Российский кардиологический журнал, 4 (2004).

8. Проведение качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств. Методические указания. Москва (2004).
9. S. Tatar, S. Atmaca. Determination of amlodipine in human plasma by high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *J. Chromatogr. B.*, **758**, 305-310 (2001).
10. D.M. Williams, L.X. Cubeddu. Amlodipine pharmacokinetics in healthy volunteers. *J. Clin. Pharmacol.*, **28**, 990-994(1988).
11. J.Stangier, C.A.Su . Pharmacokinetics of repeated oral doses of amlodipine and amlodipine plus telmisartan in healthy volunteers. *J. Clin. Pharmacol.*, **40**, 1347-54 (2000).
12. G.Kungys, H.Naujoks, C.Wanner. Pharmacokinetics of amlodipine in hypertensive patients undergoing haemodialysis. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **59**, 291-5 (2003).

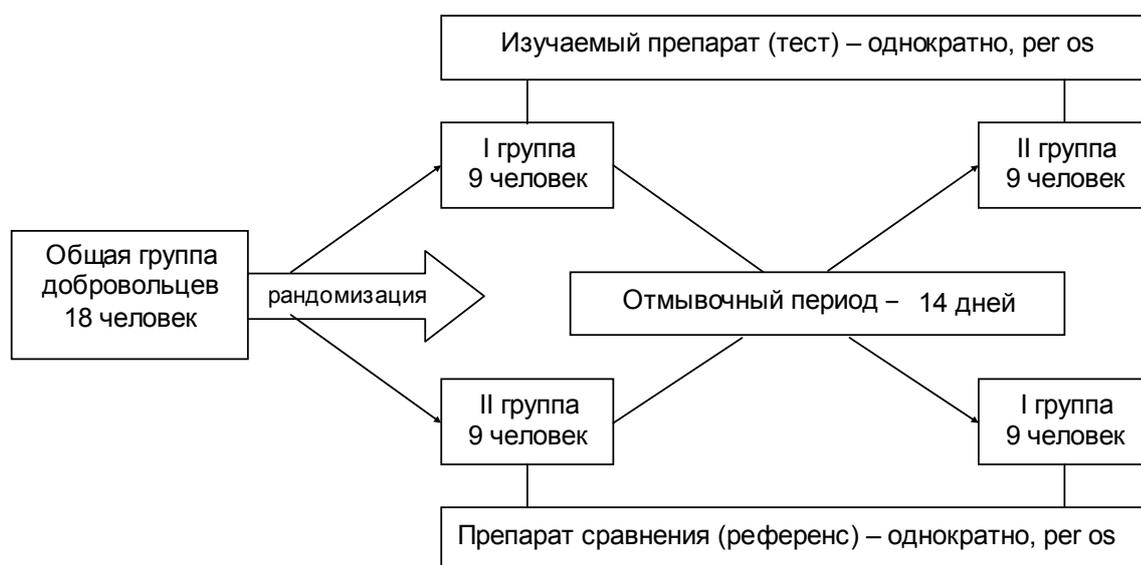


Рисунок 1.

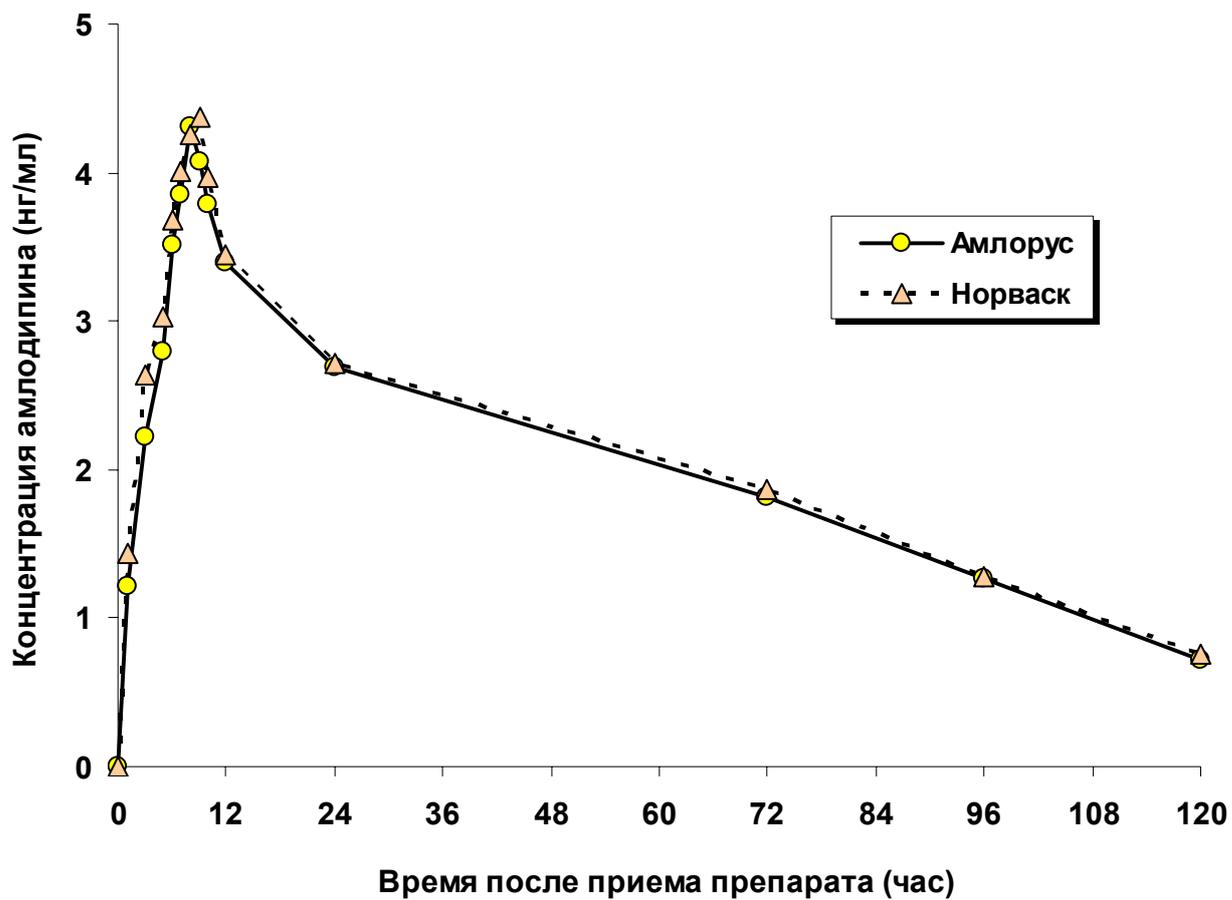


Рисунок 2.

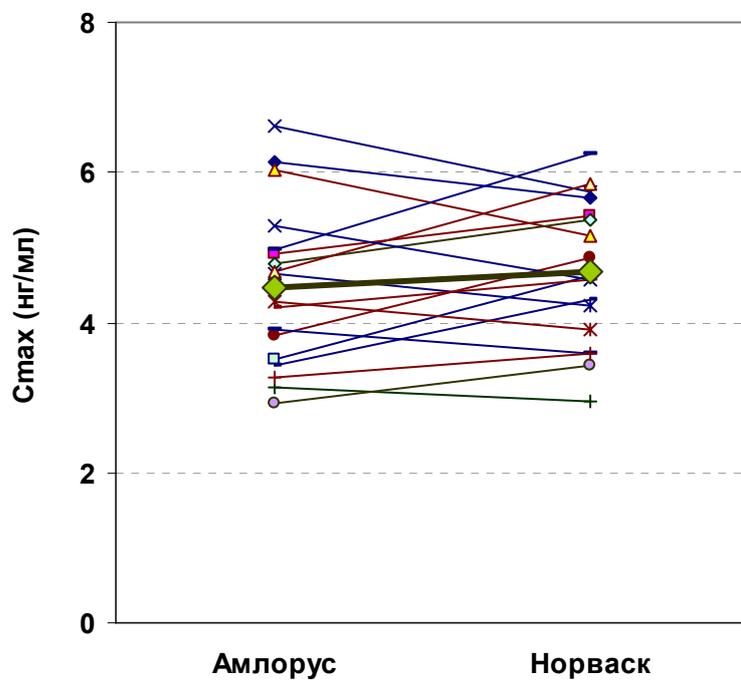
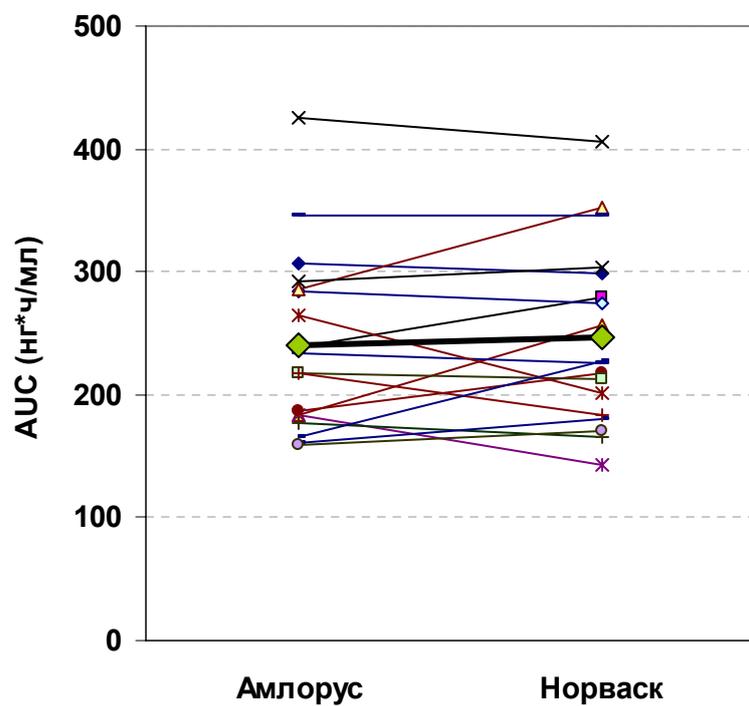


Рисунок 3.

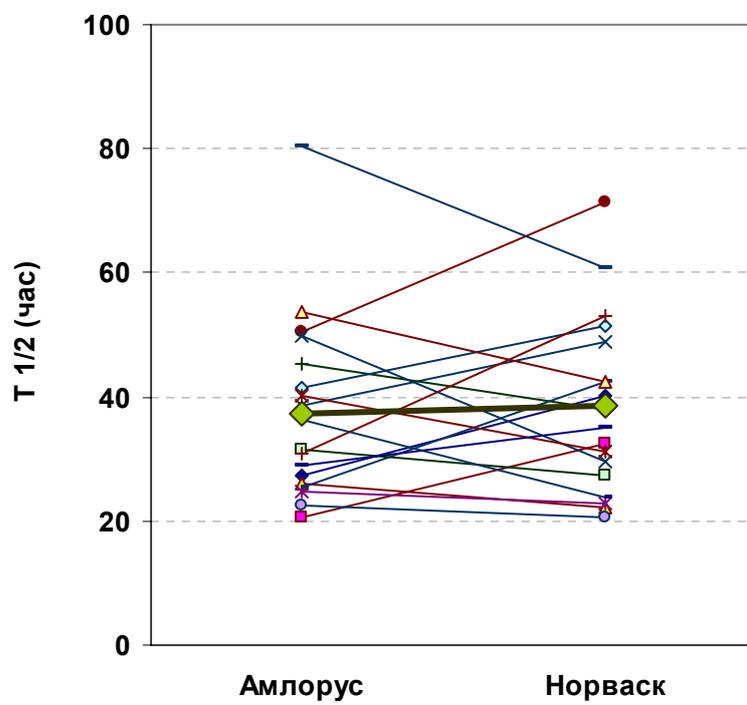
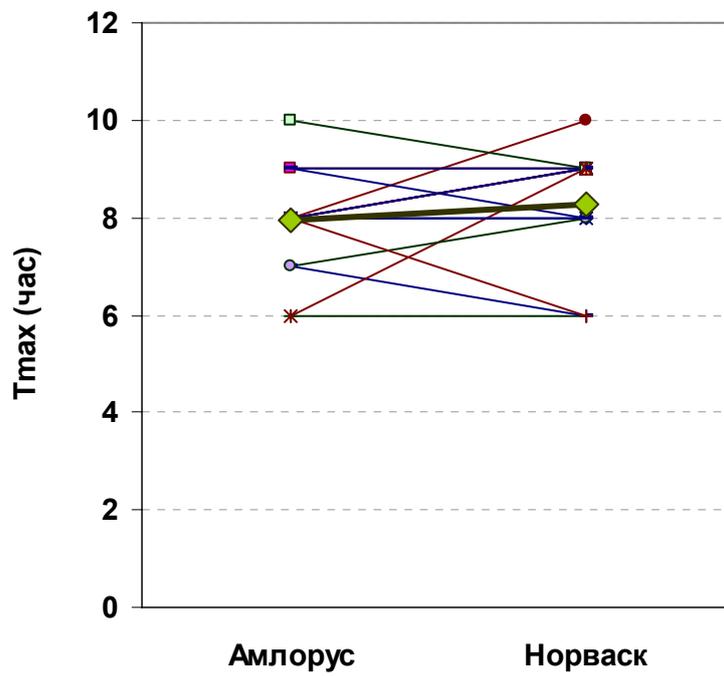


Рисунок 3.

Рисунок 1. Схема проведения исследования.

Рисунок 2. Средние фармакокинетические профили амлодипина у здоровых добровольцев после однократного приема внутрь 10 мг Амлоруса и Норваска.

Рисунок 3. Парное сравнение индивидуальных значений основных фармакокинетических параметров амлодипина у здоровых добровольцев после однократного приема внутрь 10 мг Амлоруса и Норваска (жирной линией и крупными маркерами выделены средние значения).