

УДК

Сравнительное фармакокинетическое исследование лекарственных форм амоксициллина

Ю.Б. Зверков, А.А. Лелишенцев, И.С. Липатова, А.В. Камаев,
О.Ю. Кравцова, О.Е. Пасхина, С.В. Сидоренко, А.В. Соколов

Национальное агентство клинической фармакологии и фармации, Москва

Контактный адрес:
Ю. ... Б. ... Зверков

Введение

Клиническая эффективность антибиотиков, как и других лекарственных средств, определяется двумя основными параметрами: способностью связываться с мишенью действия и способностью препаратов достигать мишень в условиях целостного организма. Параметром, характеризующим способность антибиотиков связываться с мишенью действия, является их *минимальная подавляющая концентрация* (МПК) в отношении микроорганизмов. Способность антибиотиков достигать мишень действия зависит от ряда факторов, связанных как с особенностями бактериальной клетки, так и с параметрами фармакокинетики препаратов.

В настоящее время разработаны теоретические подходы, позволяющие прогнозировать эффективность антибактериальной терапии на основе оценки ряда интегральных параметров, учитывающих МПК антибиотика и особенности его фармакокинетики. Указанные параметры получили название «предикторы» эффективности. Для бета-лактамов и макролидных антибиотиков предиктором эффективности является длительность периода времени, в течение которого концентрация антибиотика в очаге инфекции превышает значение его МПК в отношении возбудителя инфекции, выраженная в % от длительности интервала дозирования антибиотика (% T>МПК). Цефалоспорины обеспечивают наибольший антибактериальный эффект при T>МПК = 60–70%, пенициллины – 40–50%, карбапенемы – 40%, следует однако отметить, что эти значения нельзя признать окончательно установленными. Для фторхинолонов предиктором эффективности является соотношение площади под фармакокинетической кривой и МПК (ПФК/МПК), при этом препараты проявляют максимальную бактериологическую эффективность при значении этого параметра более 100.

Появление возможности прогнозировать эффективность антибиотиков привело к важным практическим результатам. Так, это позволяет объективно обосновывать критерии чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, а также сравнивать эффективность разных режимов дозирования препаратов и их различных лекарственных форм.

Амоксициллин относится к антибиотикам, сохраняющим клиническое значение при респираторных (прежде всего пневмококковых и гемофильных) инфекциях, несмотря почти 50-летнюю историю применения. Во многом это обусловлено уникальными фармакокинетическими свойствами антибиотика, обеспечивающими в очаге инфекции его концентрации, достаточные для подавления

даже микробиологически устойчивых пневмококков.

Целью настоящего исследования было сравнение основных фармакокинетических параметров и прогнозирование клинической эффективности двух лекарственных форм амоксициллина тригидрата (быстрорастворимых таблеток «Флемоксин Солютаб®» производства компании «Астеллас Фарма Юроп Б.В.», Нидерланды и порошка для приготовления суспензий «Амосин®» производства компании ОАО «Синтез», Россия).

Материалы и методы

Дизайн исследования. Данное сравнительное фармакокинетическое исследование представленных лекарственных форм амоксициллина проводилось в Люберецкой районной больнице № 2 на 18 здоровых добровольцах. В работу включены 18 здоровых добровольцев, отобранных в соответствии с критериями включения и исключения, принятыми при проведении подобных исследований и разбитых на 2 группы (группа А и группа В). Группы были рандомизированы по полу, возрасту, массе тела. До начала исследования добровольцам был сделан общий анализ крови, мочи, биохимический анализ крови с определением концентраций билирубина, мочевины, креатинина, глюкозы, холестерина, щелочной фосфатазы, активности печеночных аминотрансфераз (АЛТ, АСТ), анализ крови на ВИЧ, сифилис, вирусный гепатит В и С. Всем добровольцам проводилось ЭКГ. Осмотр специалиста включал в себя обязательное измерение параметров гемодинамики (артериальное давление на левой и на правой руках, частоту сердечных сокращений).

В течение 4-х недель до начала исследования добровольцы не получали аналогичные препараты и не принимали других лекарств во время исследования. Добровольцы не принимали пищу, по крайней мере, за 10 часов до приема дозы препарата; прием воды не разрешался за 1 час до приема препарата. Исследование проводилось в условиях стационара. Был применен двойной перекрестный метод исследования. Добровольцы группы А получали однократно внутрь утром натощак 500 мг препарата Амосин®, группы В – 500 мг препарата Флемоксин Солютаб®. После периода «отмывки» (7 дней), добровольцы группы А, соответственно, получали Флемоксин Солютаб®, а группы В – Амосин®. Препараты принимались в виде растворов, которые готовились непосредственно перед приемом путем растворения в 200 мл кипяченой воды.

Пробы крови получали до и через 0,25; 0,5; 0,75; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6 и 8 часов после приема препарата.

На 3 часа в локтевую вену устанавливался катетер, отбор образцов крови после снятия катетера осуществлялся посредством венопункции. При возникновении экстремальной ситуации (ухудшение самочувствия, психические нарушения, желание испытуемого выйти из исследования) отбор проб прекращался. Кровь в количестве 5 мл отбирали в стеклянные пробирки, выдерживали 30 мин при комнатной температуре, затем центрифугировали при 1500 об/мин 15 мин. Полученную сыворотку хранили в холодильнике при $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Исследование проводилось с соблюдением этических принципов, заложенных в Хельсинкской декларации Всемирной медицинской ассоциации «Рекомендации для врачей, занимающихся биомедицинскими исследованиями с участием людей» (1964 г., с последующими дополнениями, включая версию 2000 г.), и в соответствии с международными требованиями к проведению клинических испытаний (ICH GCP), Федеральным законом «О лекарственных средствах», а также в соответствии с «Методическими рекомендациями по проведению качественных клинических исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов».

В соответствии с Хельсинкской декларацией 1964 г. и с учетом имеющихся дополнений последующих лет добровольцы были информированы о целях и методах исследования, согласие на которое было подтверждено ими письменно.

Определение концентраций амоксициллина в сыворотке крови. Определение концентрации амоксициллина проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофотометрическим детектированием. Для выделения амоксициллина из плазмы и очистки экстракта использовали метод осаждения белков органическим растворителем.

К 0,25 мл плазмы крови добавляли 0,5 мл охлажденного метанола, встряхивали на Multi-vortex V-32 в течение 1 минуты и центрифугировали при 13000 об/мин 10 минут. Надосадочный раствор переносили в вials, разбавляли водой в соотношении 1:1 и перемешивали. 100 мкл полученного раствора вводили в хроматограф.

Анализ проводили на жидкостном хроматографе «ProStar» (США), оснащенном насосом «ProStar 210», автосамплером «ProStar 410» и спектрофотометрическим детектором «ProStar 325». Детектирование проводили при 229 нм. Разделение осуществляли на хроматографической колонке Microsorb 100 C18, 5 мкм, $4,6 \times 250$ мм (VARIAN). Температура разделения $20\text{ }^{\circ}\text{C}$. Подвижная фаза состояла из раствора: ацетонитрил – 0,0035 М натрия додецилсульфат – трифторуксусная кисло-

та (35 : 75 : 1). Скорость потока 1,0 мл/мин. Объем пробы 50 мкл.

Количественный анализ проводили методом абсолютной калибровки с использованием программного обеспечения Galaxie-CDS компании «VARIAN». Калибровочную кривую получали в результате анализа проб плазмы с добавками известных количеств стандарта определяемого соединения.

Процедура валидации методики определения неизмененного амоксициллина в плазме крови проводилась согласно международным требованиям и стандартам.

Статистическая обработка. Статистический анализ включал в себя следующие процедуры: вычисление базовой и порядковой статистики, дисперсионный анализ, анализ остатков, графические методы, вычисление доверительных интервалов, вычисление и анализ отношений биодоступности и отношений максимальных концентраций, проверка интервальных критериев, непараметрического критерия знаковых рангов Уилкоксона, построение гистограммы распределения парных геометрических средних отношений биодоступности и максимальных концентраций.

Результаты исследования

Значения концентраций амоксициллина в крови здоровых добровольцев, получавших препараты Амосин® и Флемоксин Солютаб® в одинаковых дозах (по 500 мг), приведены в табл. 1 и 2.

Для оценки фармакокинетических параметров препаратов «Амосин» (test) и «Флемоксин Солютаб» (standard) был проведен статистический анализ полученных данных. В качестве основных переменных при этом были выбраны показатели AUC (площадь под кривой), MRT (среднее резидентное время), VRT (дисперсия среднего резидентного времени), C_{\max} (максимальное значение концентрации препарата в крови), T_{\max} (время достижения максимума концентрации), отношения C_{\max}/AUC для соответствующих фармакокинетических кривых. Моменты фармакокинетических кривых (AUC, MRT, VRT для заданного интервала времени 0 – T) были рассчитаны по правилу трапеций. Период времени наблюдения T был равен 8 часам.

Для статистического оценивания были сделаны предположения о распределении основных параметров: 1) параметр AUC и C_{\max} имеют log-нормальное распределение, 2) параметры MRT и VRT – нормальное.

В таблице 3 приведены полученные значения фармакокинетических параметров амоксициллина

Таблица 1. Динамика концентраций (мкг/мл) амоксициллина в плазме крови добровольцев после однократного перорального приема препарата Амосин в дозе 500 мг

№ добровольца	Время после приема препарата, ч										
	0	0,25	0,5	0,75	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	6,0	8,0
1	0	4,02	9,09	13,55	16,95	15,72	9,10	5,83	3,73	0,98	0,00
2	0	0,11	0,89	2,72	6,45	10,33	8,87	4,92	2,49	0,64	0,10
3	0	1,63	3,02	8,82	18,95	18,41	10,92	5,82	4,08	1,84	0,96
4	0	2,50	9,79	13,79	12,17	8,03	5,64	3,64	1,86	0,53	0,10
5	0	1,44	10,12	13,54	13,30	10,66	6,73	3,80	1,66	0,00	0,00
6	0	0,37	6,39	8,46	8,99	10,49	8,01	4,96	2,98	0,14	0,00
7	0	0,61	3,58	7,00	11,98	17,62	14,95	9,04	4,17	1,05	0,00
8	0	2,58	16,18	13,25	11,90	10,50	6,65	3,76	1,84	0,18	0,00
9	0	3,52	10,45	15,38	16,86	16,48	10,88	7,16	4,13	0,80	0,10
10	0	0,28	7,64	9,98	15,47	10,16	5,94	2,98	1,19	0,00	0,00
11	0	10,39	17,15	25,05	22,65	13,28	9,18	3,81	2,04	1,54	0,51
12	0	1,23	3,45	4,89	6,05	6,43	5,20	3,91	2,31	0,10	0,00
13	0	5,53	10,85	16,29	19,29	14,45	10,71	5,24	3,30	1,19	0,44
14	0	2,34	4,45	8,16	8,66	10,53	9,04	4,89	2,96	0,88	0,11
15	0	1,68	4,34	7,53	8,87	8,57	7,96	5,32	1,87	0,82	0,33
16	0	1,81	7,10	8,91	10,16	8,90	9,17	7,06	2,72	0,00	0,00
17	0	1,79	4,71	5,84	6,11	6,30	7,08	6,28	3,88	1,51	0,67
18	0	2,85	11,70	14,10	13,20	8,50	5,40	3,20	0,80	0,00	0,00
Ср. знач.	0	2,48	7,83	10,96	12,67	11,41	8,41	5,09	2,67	0,68	0,18
Ст. откл.	–	2,41	4,49	5,23	4,88	3,72	2,47	1,59	1,05	0,60	0,28
Ст. ошибка	–	0,57	1,06	1,23	1,15	0,88	0,58	0,37	0,25	0,14	0,07
Коэф. вар., %	–	97,13	57,36	47,73	38,51	32,62	29,39	31,25	39,41	88,28	153,51
Границы ДИ (95%)	–	1,28	5,59	8,36	10,24	9,56	7,18	4,30	2,14	0,38	0,04
	–	3,68	10,06	13,56	15,09	13,26	9,64	5,88	3,19	0,98	0,33

при приеме сравниваемых лекарственных форм.

Из данных таблицы 3 видно, что практически все параметры, характеризующие кинетику циркуляции амоксициллина в организме, его распределение и элиминацию (C_{\max} , T_{\max} , MRT), при приеме изучаемых лекарственных форм кроме площади под фармакокинетической кривой различаются. Так в случае применения препарата «Амосин» T_{\max} составляла $1,11 \pm 0,39$ ч, а C_{\max} – $13,98 \pm 4,83$ мкг/мл. В случае применения препарата «Флемоксин Солютаб» эти величины составляли $1,32 \pm 0,47$ ч и $11,68 \pm 4,90$ ч и мкг/мл, соответственно. Значения площади под фармакокинетической кривой для Амосина и Флемоксина Солютаб® составляли соответственно $32,71 \pm 8,73$ ч и $31,80 \pm 10,29$ ч.

Основные параметры, характеризующие биодоступность сравниваемых лекарственных форм, отличаются ($f=1,12 \pm 0,44$), причем эти различия связаны с более высокой величиной среднего вре-

мени удержания (MRT) амоксициллина в случае применения таблеток «Флемоксин Солютаб». Так, величина MRT при приеме таблеток Амосин составляла $2,08 \pm 0,37$ ч, а Флемоксина Солютаб – $2,50 \pm 0,58$ ч. Исходя из отношения значений площадей под кривыми можно рассчитать относительную биодоступность амоксициллина при приеме таблеток «Амосин» и «Флемоксин Солютаб», она составляет $1,12 \pm 0,44$. Кинетика амоксициллина после приема таблеток исследуемых лекарственных форм Амосин и Флемоксин Солютаб удовлетворительно описывается однокамерными моделями с внеклеточным всасыванием.

На рисунке представлены кривые, характеризующие динамику концентраций амоксициллина в сыворотке крови после приема таблеток «Амосин» и «Флемоксин Солютаб». Как видно из сравнения графиков, представленных на рисунке, характер кривых зависимости содержания амоксицилли-

Таблица 2. Динамика концентраций (мкг/мл) амоксициллина в плазме крови добровольцев после однократного перорального приема препарата Флемоксин Солютаб в дозе 500 мг

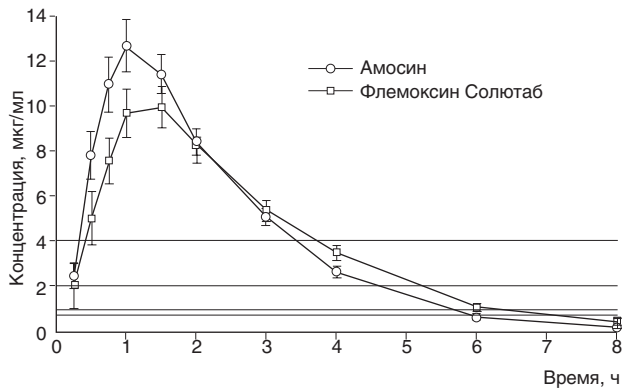
№ добровольца	Время после приема препарата, ч										
	0	0,25	0,5	0,75	1,0	1,5	2,0	3,0	4,0	6,0	8,0
1	0	1,17	4,38	7,79	10,90	15,28	12,65	6,26	3,54	0,57	0,00
2	0	0,12	0,83	2,66	4,10	8,45	6,87	4,64	3,99	1,59	0,00
3	0	1,55	6,96	13,78	11,83	11,77	10,00	8,64	7,08	2,36	0,40
4	0	0,51	2,06	4,82	12,12	15,60	16,11	8,07	4,20	1,20	0,63
5	0	0,40	2,17	5,80	6,38	8,27	8,86	4,75	1,64	0,00	0,00
6	0	0,64	4,65	6,17	9,80	8,81	7,45	5,22	4,14	0,99	0,20
7	0	1,40	9,62	14,62	16,46	14,90	12,69	8,54	4,24	0,65	0,00
8	0	2,03	4,45	8,50	13,93	10,90	6,46	2,99	1,16	0,00	0,00
9	0	19,37	22,15	12,28	11,65	9,27	5,42	4,68	3,14	0,90	0,43
10	0	1,56	5,21	9,22	11,74	11,23	7,72	4,88	2,77	0,73	0,00
11	0	1,15	2,57	9,77	16,95	12,34	8,02	5,42	2,85	1,36	1,14
12	0	0,16	1,04	1,76	2,98	4,91	7,83	6,40	4,69	1,37	0,53
13	0	3,92	6,74	13,77	14,63	14,89	9,78	6,12	4,66	2,31	1,67
14	0	0,39	3,35	5,08	5,66	4,66	4,19	1,96	0,78	0,11	0,10
15	0	1,11	5,96	8,52	10,18	10,46	8,80	5,25	4,54	1,04	0,59
16	0	0,21	0,73	1,32	1,99	3,06	3,18	2,31	1,96	1,43	1,17
17	0	0,94	6,35	8,37	9,83	9,52	8,82	7,39	4,13	0,38	0,00
18	0	0,55	1,57	2,16	3,44	4,89	4,13	3,65	3,58	2,68	1,52
Ср. знач.	0	2,07	5,04	7,58	9,70	9,96	8,28	5,40	3,51	1,09	0,47
Ст. откл.	–	4,41	4,94	4,23	4,62	3,87	3,26	1,97	1,51	0,79	0,56
Ст. ош.	–	1,04	1,16	1,00	1,09	0,91	0,77	0,46	0,35	0,19	0,13
Коэф. вар., %	–	213,58	97,87	55,80	47,65	38,87	39,39	36,44	42,96	72,40	119,79
Границы ДИ (95%)	–	0,00	2,59	5,47	7,40	8,03	6,66	4,42	2,76	0,70	0,19
	–	4,26	7,50	9,68	12,00	11,88	9,90	6,38	4,25	1,49	0,74

Таблица 3. Фармакокинетические параметры амоксициллина для препаратов Амосин и Флемоксин Солютаб, рассчитанные по усредненным данным

Параметр	Амосин	Флемоксин Солютаб
C_{max} , мкг/мл	12,67	9,96
T_{max} , ч	1,00	1,50
$AUC_{0 \rightarrow 8}$, мкг×ч/мл	32,71	31,80
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$, мкг×ч/мл	32,99	32,76
$T_{1/2}$, ч	1,04	1,43
k_{el} , 1/ч	0,67	0,48
MRT, ч	2,14	2,51
$C_{max}/AUC_{0 \rightarrow 8}$, 1/ч	0,39	0,31

на в крови после приема таблеток «Амосин» и «Флемоксин Солютаб» отличается. Препарат из исследуемых форм достаточно быстро всасывается в организме. Однако, время достижения максимальной концентрации и сами значения максимальной концентрации различаются. Затем концентрация амоксициллина в крови монотонно убывает и через 8 часов после приема таблеток «Амосин» и «Флемоксин Солютаб» практически не определяется. Обращает на себя внимание характер снижения концентрации амоксициллина после приема различных лекарственных форм. Так, после приема порошка «Амосин» концентрация амоксициллина после 3-х часов наблюдения снижается значительно быстрее, чем после приема таблеток «Флемоксин Солютаб» и эта тенденция сохраняется при фармакокинетическом моделировании процесса.

На основании результатов, представленных на рисунке для сравниваемых лекарственных форм



Усредненные фармакокинетические кривые концентраций амоксициллина в плазме крови добровольцев после однократного перорального приема препаратов Амосин и Флемоксин Соллютаб в дозе 500 мг ($n=18$, среднее значение \pm стандартная ошибка среднего).

амоксициллина, были рассчитаны значения основного предиктора эффективности $T > \text{МПК}$, при различных значениях МПК потенциальных возбудителей инфекций (табл. 4). Сопоставление данных, полученных в результате фармакокинетического исследования препаратов «Амосин» и «Флемоксин Соллютаб» свидетельствует, что для обоих препаратов к 8 часам после приема значение $T > \text{МПК}$ в отношении чувствительных штаммов (МПК 0,06 мкг/мл) приближается к 100%. В отношении штаммов со сниженным уровнем чувствительности между препаратами выявляются определенные различия. В отношении штаммов с МПК = 0,75 мкг/мл различия составляют 15,6% от интервала дозирования, в отношении штаммов с МПК = 1,0 мкг/мл – 10,6%, в отношении штаммов с МПК = 1,5 мкг/мл – 6,87%, а в отношении штаммов с МПК = 2,0 мкг/мл – 5,62%.

Выявленные различия могут иметь определенное клиническое значение при лечении респираторных инфекций. Как уже было отмечено выше, для обеспечения максимальной клинической и бактериологической эффективности величина $T > \text{МПК}$

должна быть не менее 40–50% от интервала дозирования. Следовательно, с большой долей вероятности можно предположить, что при пневмококковых инфекциях, вызванных чувствительными бактериями (МПК $\geq 0,06$ мкг/мл) или бактериями с незначительным уровнем устойчивости (МПК $\geq 1,0$ мкг/мл) эффективны будут обе лекарственные формы амоксициллина, так как $T > \text{МПК}$ существенно более 60% от интервала дозирования. Однако в отношении штаммов с МПК более 1,0 мкг/мл, значения этого параметра снижаются, и достигают для Амосина критического значения 50% при МПК $\geq 2,0$ мкг/мл. В отношении таких штаммов Флемоксин Соллютаб проявляет отчетливые фармакодинамические преимущества.

Уместно отметить, что в 2007 в московском регионе частота распространения штаммов пневмококков с МПК амоксициллина $\geq 2,0$ мкг/мл превышала 11%.

Заключение

Полученные результаты позволяют говорить о несовпадении основных фармакокинетических параметров амоксициллина и об отсутствии биоэквивалентности исследуемых лекарственных форм. Можно предположить, что препарат «Флемоксин Соллютаб» обладает фармакокинетическими характеристиками, позволяющими более надежно достичь стационарного уровня концентрации амоксициллина. Препарат «Амосин» быстрее всасывается из лекарственной формы, чем «Флемоксин Соллютаб», однако и быстрее выводится из организма.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что оба антибиотика в режиме дозирования 500 мг 3 раза в день способны обеспечить высокую бактериологическую и клиническую эффективность при лечении пневмококковых инфекций дыхательных путей, вызываемых чувствительными штаммами пневмококков. Однако, при инфекциях, вызываемых промежуточными и устойчивыми штаммами «Флемоксин Соллютаб» демонстрирует существенные фармакодинамические преимущества.

Таблица 4. Значения параметра $T > \text{МПК}$ для сравниваемых лекарственных форм амоксициллина при различных значениях МПК

	$T > \text{МПК}$ (% от длительности интервала дозирования)		$\Delta T > \text{МПК}$
	Флемоксин Соллютаб	Амосин	
0,06	≈ 100	≈ 100	0
0,75	89,6	74,0	15,6%
1,0	79,3	68,7	10,6%
2,0	56,9	51,3	5,6%
4,0	49,2	42,3	6,9%

Литература

1. Leggett J.E., Fantin B., Ebert S., Totsuka K., et al. Comparative antibiotic dose-effect relations at several dosing intervals in murine pneumonitis and thigh-infection models. *J Infect Dis* 1989;159(2):281-92.
2. Drusano G.L. Antimicrobial pharmacodynamics: critical interactions of 'bug and drug'. *Nat Rev Microbiol* 2004; 2(4):289-300.
3. Craig W.A. Pharmacokinetic/pharmacodynamic parameters: rationale for antibacterial dosing of mice and men. *Clin Infect Dis* 1998;26(1):1-10; quiz 1-2.
4. Craig W.A., Andes D. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antibiotics in otitis media. *Pediatr Infect Dis J* 1996;15(3):255-9.
5. Craig W.A. Interrelationship between pharmacokinetics and pharmacodynamics in determining dosage regimens for broad-spectrum cephalosporins. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1995;22(1-2):89-96.
6. Leggett J.E., Ebert S., Fantin B., Craig W.A. Comparative dose-effect relations at several dosing intervals for beta-lactam, aminoglycoside and quinolone antibiotics against gram-negative bacilli in murine thigh-infection and pneumonitis models. *Scand J Infect Dis Suppl* 1990; 74:179-84.
7. Агафонов А.А., Пиотровский В.К. Программа M-ind системы параметров фармакокинетики модельно-независимым методом статистических моментов.// *Хим.-фарм. журн.* – 1991, № 10, С.16-9.
8. Бондарева И.Б. Статистический анализ данных исследований биоэквивалентности.// *Клин. фармакокинет.* – 2004, №1, С.14-22.
9. Методические указания МЗиСР РФ «Проведение качественных клинических исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов». М., 2008.
10. de Abreu L.R., Ortiz R.A. HPLC determination of amoxicillin comparative bioavailability in healthy volunteers after a single dose administration.// *J. Pharm. Pharmaceut. Sci.* – 2003, 6(2), P.223-30.
11. Dousa M.; Hosmanova R. Rapid determination of amoxicillin in premixes by HPLC.// *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* – 2005, 37(2), P.373-7.
12. Kennedy D.G., McCracken R.J., Cannavan A., Hewitt S. A. Use of liquid chromatography-mass spectrometry in the analysis of residues of antibiotics in meat and milk// *J. Chromatography A* – 1998, 812, P.77-98.