

Изучение сравнительной фармакокинетики препаратов левофлоксацина у здоровых добровольцев открытым рандомизированным методом

В. В. Писарев¹, Л. Б. Смирнова¹, Ю. Б. Зверков¹, С.В.Буданов²

¹ ФГУП «Государственный научный центр по антибиотикам»

² ФГУ НЦЭСМ Росздравнадзора

Левофлоксацин - первый из фторхинолонов расширенного спектра действия вошел в практику лечения инфекционно-воспалительных заболеваний в середине 90 годов прошлого столетия. Его широкомасштабное клиническое изучение первоначально проводилось в Японии при лечении инфекций дыхательного тракта, мочевыводящих путей, хирургических инфекций средней тяжести течения и др. В США и Европе широкие исследования по оценке клинической эффективности, микробиологической активности, переносимости проводятся с 1997 года.

В России левофлоксацин применяют с конца 90 годов 20 века в основном при инфекционной патологии органов дыхания, чему способствовало возрастание частоты выделения множественноустойчивых штаммов грамположительных и грамотрицательных возбудителей. В настоящее время эффективно используется также при хирургической инфекции средней тяжести течения, инфекциях мочевыводящих путей, гнойно-воспалительных процессах органов малого таза и др. [1]

Молекула левофлоксацина устойчива к трансформации, в том числе и в инфицированном организме. Низкая степень ионизации, низкое связывание с белками плазмы, достаточная растворимость в воде обеспечивают в организме хорошее проникновение препарата.

Механизм действия левофлоксацина – общий для всех фторхинолонов, связанный с необратимым ингибированием ДНК-гиразы бактерий, ответственной за процесс биосинтеза ДНК клетки. Причем атом фтора в положении 6 гетероциклической молекулы повышает проникновение левофлоксацина в бактериальную клетку [2].

Преимущества левофлоксацина перед антибиотиками других групп при различных формах инфекционно-воспалительных заболеваний обусловлены широтой спектра его действия, высокой активностью в отношении большинства возбудителей инфекций, в том числе и множественноустойчивых, особенностями тканевого и клеточного распределения, созданием в крови и органах высоких концентраций препарата; более длительным по сравнению с ципрофлоксацином и офлоксацином

постантибиотическим эффектом, 100% биодоступностью, что делает пероральную лекарственную форму препарата клинически равнозначной внутривенной форме [3, 4]. Существенного влияния пола и возраста на фармакокинетику левофлоксацина не установлено, полученные кинетические различия между пожилыми и молодыми исследуемыми связаны в основном с состоянием функции почек [2]. Фармакокинетика левофлоксацина носит линейный характер как при однократном, так и при повторных введениях.

В условиях возрастания частоты выделения множественноустойчивых штаммов возбудителей инфекций кожи и мягких тканей, осложненных форм раневой инфекции, инфекций дыхательных путей, мочеполовых органов и др. к левофлоксацину сохраняют чувствительность 90-95% возбудителей большинства инфекций человека. Эффективен при инфекциях у ослабленных, иммунокомпроментированных больных, при тяжелом течении инфекций, вызываемых штаммами микроорганизмов, устойчивых к большинству других антибиотиков, в том числе и новых (беталактамы, современные макролиды, тетрациклины и др.).

Безопасность препарата подтверждена многочисленными клиническими испытаниями и опытом применения у миллионов пациентов. К наиболее частым побочным эффектам левофлоксацина относят расстройства функции желудочно-кишечного тракта (тошнота, рвота, диарея, боли в животе, запоры, которые наблюдаются у 1 – 2%), сыпь (< 1%), нарушения функции центральной нервной системы (головная боль, головокружение, нарушение сна – 1%).

Среди лабораторных показателей приблизительно в 0,3% случаев отмечают повышение активности сывороточных трансаминаз, щелочной фосфатазы и уровня билирубина. Однако эти нарушения, как правило, протекают бессимптомно и не требуют отмены препарата. Риск развития серьезных гепатотоксических реакций при приеме левофлоксацина практически отсутствует [4].

Повышение эффективности антибактериальной терапии возможно в направлении совершенствования химической структуры уже известных препаратов, открытия новых препаратов, а также разработки генериков. Проблемы изучения биодоступности и биоэквивалентности воспроизведенных препаратов приобретают все большее значение в клинике, фармацевтике, экономике. Относительная биодоступность является основной оценкой любого генерического препарата, что лежит в основе проведения исследований по биоэквивалентности, так как фармацевтическая эквивалентность не гарантирует эквивалентности фармакокинетической [5].

Высокая потребность в левофлоксацине приводит к появлению на фармацевтическом рынке его воспроизведенных препаратов. Цель данной работы – изучение фармакокинетики отечественных препаратов левофлоксацина, а также оценка их биоэквивалентности с зарубежным аналогом – Таваником после однократного приема сравниваемых препаратов.

Материал и методы

В каждое исследование были включены 18 здоровых мужчин и женщин, отобранных согласно критериям включения и исключения. За две недели до начала исследования добровольцы были подвергнуты стандартному клиническому и лабораторному обследованию с целью дальнейшего допуска к участию в исследовании. После получения информации о ходе проведения исследования добровольцы подписывали информированное согласие на участие в проведении исследований.

Исследуемые препараты (тест-препараты – Т) двух отечественных производителей: Левофлоксацин (ЛФ1), таблетки, покрытые оболочкой, по 500 мг; Левофлоксацин (ЛФ2), таблетки, покрытые оболочкой, по 500 мг. Препарат сравнения (R): Таваник, таблетки, покрытые оболочкой, по 500 мг производства «Авентис Фарма Дойчланд ГмБХ», Германия.

Дизайн исследования. Фармакокинетическое исследование проводили открытым рандомизированным методом по перекрестной схеме. Дизайн исследования соответствовал требованиям [6], а исследование было одобрено Комитетом по этике при Федеральном органе контроля и качества лекарственных средств.

Концентрации левофлоксацина в плазме крови добровольцев определяли с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с масс-спектрометрическим детектированием.

У каждого добровольца непосредственно перед приемом препаратов в локтевую вену на 8 часов устанавливался кубитальный катетер и отбирались образцы крови для исключения возможного присутствия других препаратов. Прием препаратов осуществлялся перорально в дозе 500 мг (1 таблетка) в 8 часов утра. Отбор венозной крови в количестве 5 мл проводился до и через 0,5; 1, 1,5; 2, 2,5; 3, 5, 8 и 24 часа после приема препаратов. Отбор образцов крови после снятия катетера осуществлялся посредством венопункции. Из крови готовили плазму с добавлением гепарина, полученную плазму хранили в морозильнике при -20° С до начала проведения анализа.

Стандартный легкий завтрак допускался через 4 часа, обед - через 6 часов, ужин - через 10 часов после приема препарата.

Параметры фармакокинетики рассчитывали модельно-независимым методом. Статистическая обработка результатов выполнялась с помощью программ STATISTICA 6.0 и EXCEL 2000 для персонального компьютера. Рассчитывались следующие статистические параметры: среднее арифметическое значение, среднее геометрическое значение, стандартное отклонение среднего результата, коэффициент вариации, границы доверительного интервала, проведено парное сравнение фармакокинетических параметров. Оценка биоэквивалентности проводилась применительно к параметрам $AUC_{0-\infty}$, C_{max} и C_{max}/AUC_{0-t} (натуральные и ln-преобразованные данные).

Результаты и обсуждение

Подготовка пробы плазмы крови для анализа. К 0,5 мл плазмы крови добавляли 50 мкл 5% водного раствора сульфата меди и 0,5 мл ацетонитрила, перемешивали на вихревой мешалке типа vortex 2 мин и центрифугировали при 13000 об/мин 10 мин. Отбирали 0,86 мл супернатанта и упаривали при 60°C под вакуумом. Сухой остаток растворяли в 500 мкл 30% метанола в воде. 100 мкл полученного раствора вводили в хроматограф [7, 8].

Хроматографическое определение. Анализ проводили на жидкостном хроматографе «KNAUER» (Германия), оснащенный автосамплером «Triathon 3800» и спектрофотометрическим детектором (K-2501) при 280 нм в изократическом режиме. Колонка Luna C18 (20, 5мкм, 4,6 × 150мм (США). Температура разделения 20°C. Подвижная фаза состояла из раствора ацетонитрил – солевой буфер рН 3,0 (10:90). Скорость потока 1,0 мл/мин. Объем пробы 100 мкл.

Приготовление солевого буфера: в 1 л деионизованной воды растворяли последовательно 2 мл триэтиламина и доводили рН полученного раствора фосфорной кислотой до 3,0. Раствор фильтровали через фильтр Millipore (0,22 мкм).

Количественное определение проводили методом абсолютной калибровки с использованием программного обеспечения фирмы «KNAUER» (Eurochrom 2000). Калибровочную кривую получали в результате анализа проб плазмы с добавками известных количеств левофлоксацина. Калибровочная зависимость носила линейный характер в диапазоне концентраций 0,05 – 20,0 мкг/мл. График описывался линейным уравнением $Y=mx-b$, где $m=2,65 \times 10^4$, $b=2,1 \times 10^3$ (рис. 1). Коэффициент корреляции 0,99993. Предел обнаружения 0,05 мкг/мл.

Типичные хроматограммы интактной плазмы крови и плазмы, содержащей левофлоксацин, приводятся на рис. 2-3.

Использованные методы определения концентраций левофлоксацина позволили проследить его фармакокинетические кривые на всем интервале наблюдения. Фармакокинетические кривые добровольцев, получавших Левофлоксацин 1, Левофлоксацин 2 и Таваник приведены на рис. 4. Средние фармакокинетические профили левофлоксацина при приеме двух изучаемых препаратов были близки между собой, а также практически совпадали со средними фармакокинетическими кривыми для Таваника., достоверных различий не наблюдалось ни в одной временной точке. Основные фармакокинетические параметры сравниваемых препаратов представлены в табл. 1. Значения всех фармакокинетических параметров после приема изучаемых препаратов достоверно не различались.

В целом, полученные данные хорошо согласуются с данными литературы.

Дисперсионный анализ не выявил статистически достоверных различий в процессе всасывания (как по полноте, так и по скорости всасывания) левофлоксацина после приема отечественных препаратов и Таваника. Параметры биоэквивалентности приводятся в табл. 2. На основании полученных данных, учитывая, что доверительные интервалы отношений (90%) для логарифмически преобразованных значений $AUC_{0-\infty}$, C_{max} и C_{max}/AUC_{0-t} не выходят за установленные рамки и удовлетворяют требованиям [6], сравниваемые препараты являются биоэквивалентными. Препараты отечественных производителей Левофлоксацин 1 и Левофлоксацин 2 были признаны биоэквивалентными Таванику.

При проведении исследований по изучению сравнительной фармакокинетики и биоэквивалентности препаратов левофлоксацина ни один доброволец не выбыл из исследования. Не было обнаружено проявлений нежелательного действия препаратов.

Выводы

Разработанная методика позволила определять с высокой чувствительностью и точностью (методика была валидирована) концентрации левофлоксацина в биологических жидкостях человека.

Показана биоэквивалентность отечественных препаратов левофлоксацина по сравнению с препаратом Таваник производства Авентис Фарма Дойчланд ГмБХ», Германия Авентис Фарма Дойчланд ГмБХ», Германия.

Заключение о биоэквивалентности препаратов исследуемых препаратов позволит выпустить на отечественный фармацевтический рынок российские препараты, соответствующие стандартам лечения и обладающие более низкой стоимостью, что сделает их доступными для широкого использования в клинической практике.

Таблица 1.

Средние значения фармакокинетических параметров левофлоксацина

Фармакокинетические параметры	Таваник	ЛФ 1	ЛФ 2
AUC _{0-t} , МКГ×ч/мл	49,57±13,24	50,40±12,23	48,17±13,24
AUC _{0-∞} , МКГ×ч/мл	64,40±16,60	63,37±15,50	60,61±17,19
C _{max} , МКГ/мл	4,93±0,98	5,08±0,99	4,94±1,27
T _{max} , ч	1,67±0,38	1,56±0,38	1,58±0,46
T _{1/2} , ч	11,45±2,71	10,72±0,52	10,66±2,43
C/AUC _{0-t} , ч ⁻¹	0,101±0,017	0,103±0,018	0,105±0,022
MRT, ч	9,16±0,49	9,08±0,49	9,08±0,64

Таблица 2.

90% доверительные интервалы отношения средних значений (μ_T/μ_R) AUC_{0-∞}, C_{max} и C_{max}/AUC_{0-t} (логарифмически преобразованные данные)

Доверительный интервал	Параметр		
	C_{max} (75-133)*	AUC_{0-∞} (80-125)	C_{max}/AUC₀₋₂₄ (75-133)
	Левифлоксацин 1		
Нижнее значение	0,931	0,853	0,930
Среднее значение	1,030	0,983	1,019
Верхнее значение	1,141	1,133	1,117
	Левифлоксацин 2		
Нижнее значение	0,887	0,845	0,947
Среднее значение	0,990	0,933	1,031
Верхнее значение	1,104	1,030	1,123

Примечание:* критерии биоэквивалентности [6]

Рис. 1. Калибровочная кривая зависимости отклика детектора от концентрации левифлоксацина

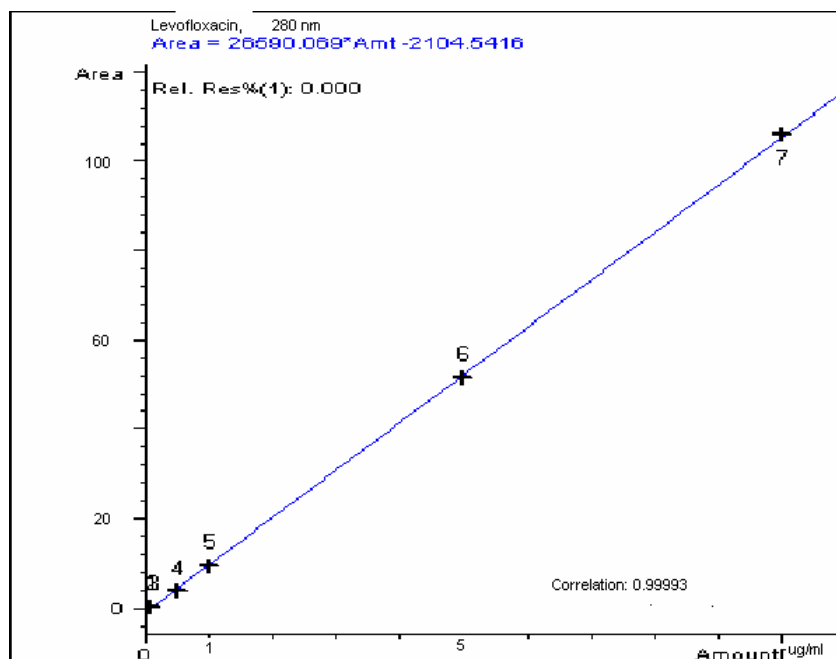


Рис. 2. Хроматограмма интактной плазмы крови

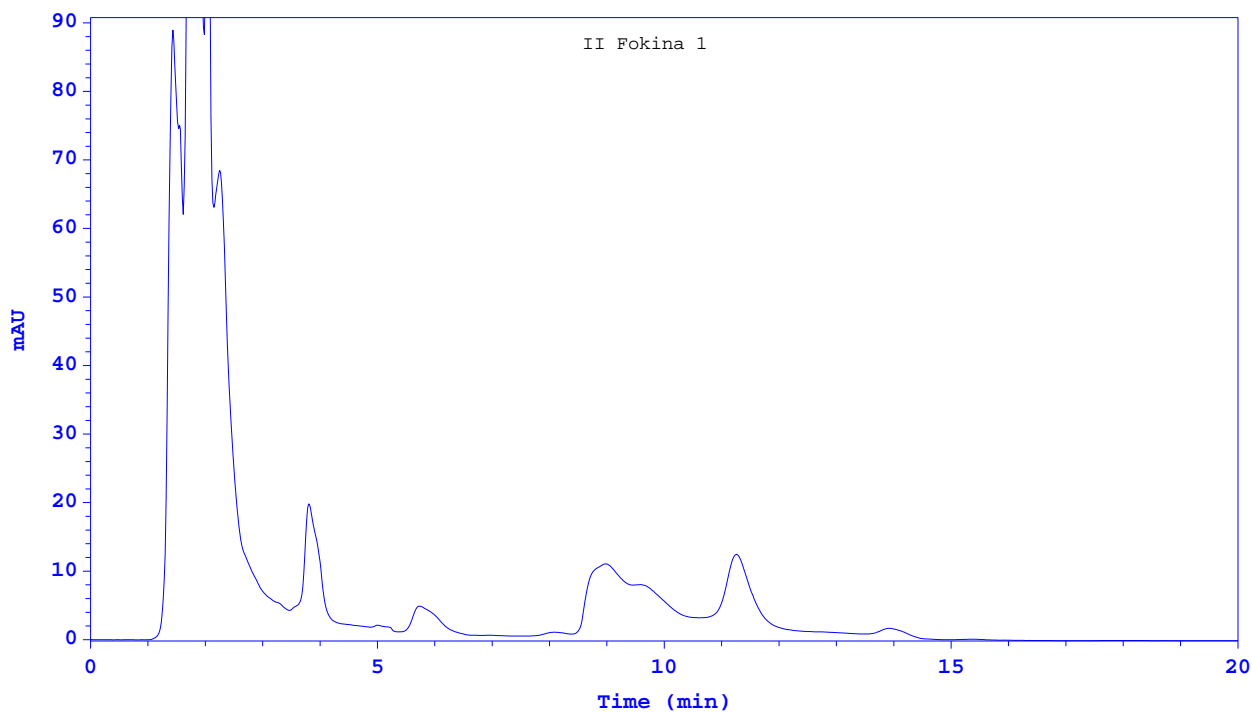


Рис. 3. Хроматограмма плазмы крови, содержащей 5,64 мкг/мл левофлоксацина

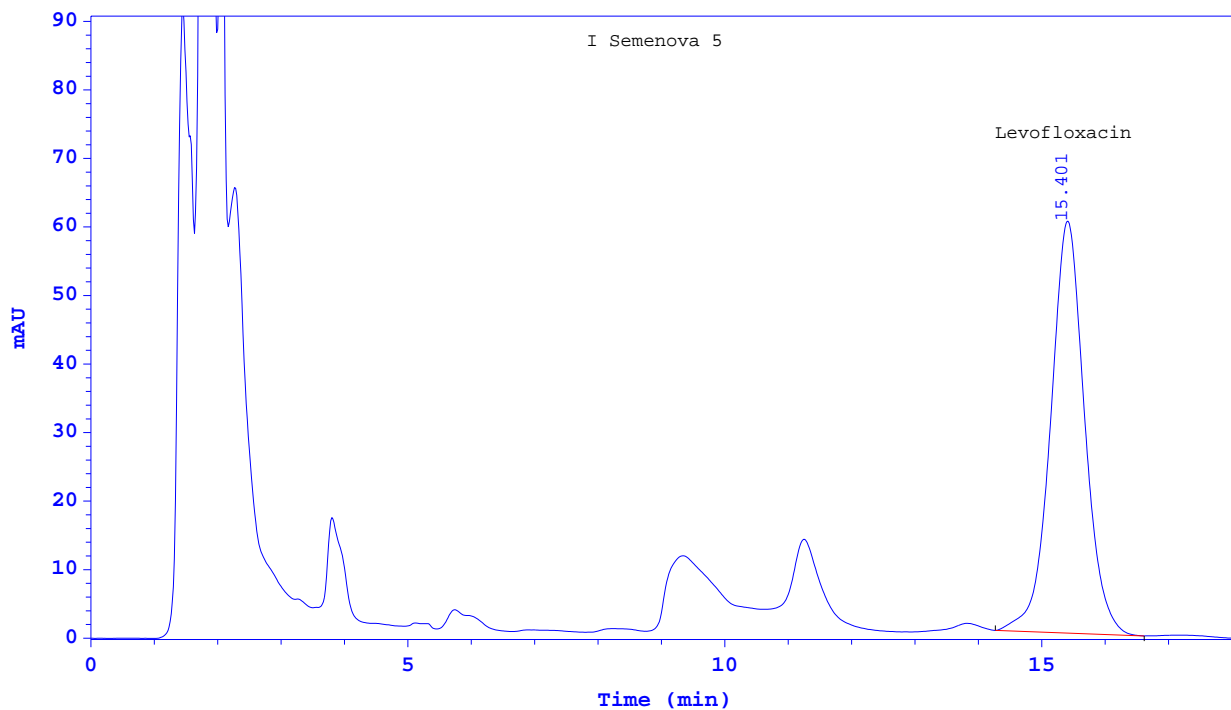
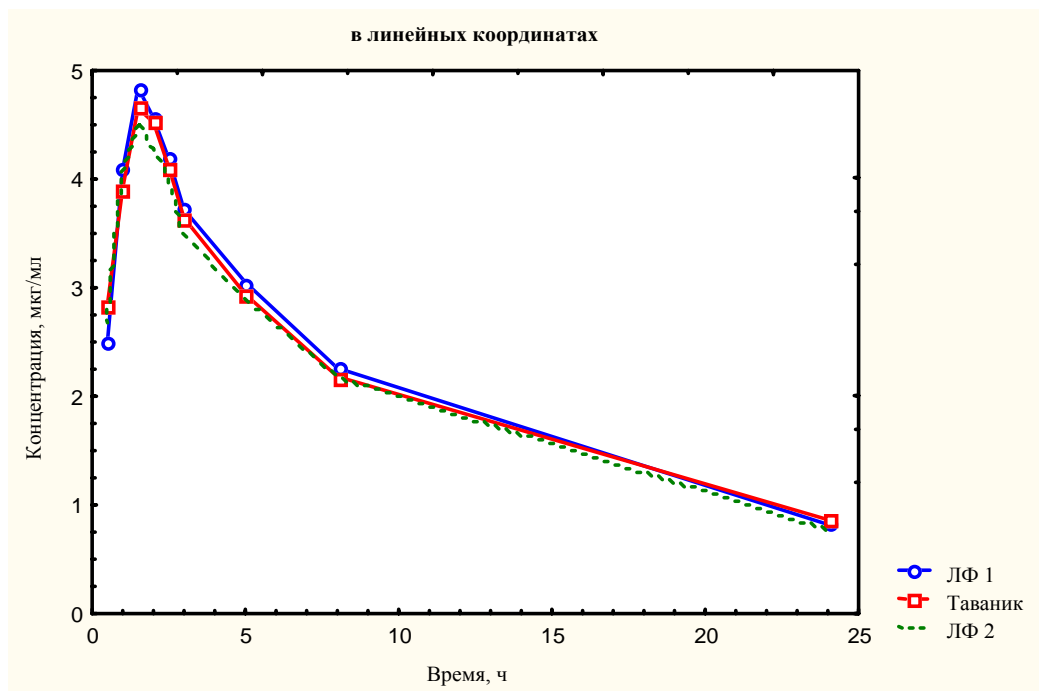


Рис. 4. Средние фармакокинетические кривые левофлоксацина в плазме добровольцев после приема отечественных препаратов и Таваника



Литература

1. Падейская Е.Н. Фармакокинети левофлоксацина как основа режима дозирования и оптимизации схем лечения. Клиническая фармакокинетика 2005; 2: 58-71.
2. Иванов Д.В., Буданов С.В. Место левофлоксацина в ряду антибактериальных препаратов. Антибиотики и химиотерапия, 2006: 6: 27-37.
3. Fish D.N., Chow A.T. The clinical pharmacokinetics of levofloxacin. Penetration. Intern, update on levofloxacin and ofloxacin. Biomedis, Tokyo; 1998: 11-12.
4. Pea F., Brollo L., Lugatti E. et al. Comparative pharmacokinetics of levofloxacin in patients with lower respiratory tract infections (LRTI) being treated with sequential therapy. 4th Eur. Congr. Chemother. Inf., Paris , 2002; Abstracts: № PS116. In: Intern. J. Antimicrob Ag., 2002; 19: Suppl.
5. Жердев В.П., Литвин А.А. Роль и организация фармакокинетических исследований. Клиническая фармакокинетика 2005; 2: 3: 1-3.
6. Методические указания по проведению качественных исследований биоэквивалентности лекарственных средств. Москва, 2004.
7. Wright D. H., Herman V. K., Konstantinides F. N., Rotschafer J. C. "Determination of quinolone antibiotics in growth media by reversed-phase high-performance liquid chromatography". J. Chromatogr. B. 709 (1998) 87-104.
8. Djabarouti S., Boselli E., Allaouchiche B., at al. "Determination of levofloxacin in plasma, bronchoalveolar lavage and bone tissues by high-performance liquid chromatography with ultraviolet detection using a fully automated extraction method". J. Chromatogr. B. 799 (2004) 165-172.