

DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-7-25-28

ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ПРЕПАРАТОВ КАЛЬЦИЯ С ОЦЕНКОЙ ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКИХ КОНЕЧНЫХ ТОЧЕК

Н. Н. Ерёмченко, Е. В. Ших, С. Ю. Сереброва¹

Изучены фармакодинамические конечные точки после применения препаратов кальция, которые содержат 1000 и 1200 мг кальция, 800 и 1000 МЕ колекальциферола. Проведена оценка экскреции кальция с мочой с пересчетом на клиренс креатинина и уровень паратиреоидного гормона. Экспертная оценка всасывания кальция из различных лекарственных препаратов затруднена в связи с тем, что вещество является эндогенным и при экзогенном его поступлении существует возможность перехода в другие компартменты организма. Предложено, наряду с использованием стандартного способа расчета фармакокинетических параметров общего кальция сыворотки, оценивать экскрецию кальция с мочой с пересчетом на экскрецию креатинина, а также ориентироваться на изменение уровня паратиреоидного гормона у добровольцев, который можно рассматривать как референтное значение уровня кальция в крови.

Ключевые слова: сравнительные фармакокинетические клинические исследования *in vivo*; кальциево-креатининовый коэффициент; паратгормон; кальций; эндогенные соединения; экспертная оценка.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время интерес к препаратам кальция обусловлен большим спектром заболеваний, связанных с нарушением обмена кальция в организме [2, 5, 10, 12, 15]. Препараты на основе солей кальция относятся к аналогам эндогенных соединений, наряду с гормонами, ферментами, белками, ионами, витаминами. Для оценки эффективности и безопасности, новых, впервые регистрируемых лекарственных препаратов-аналогов эндогенных соединений (в твердых лекарственных формах) возможно проведение сравнительных фармакокинетических исследований биодоступности и биоэквивалентности (БЭ) *in vivo* [3, 4, 6, 9]. Эндогенные вещества присутствуют в организме в определенных базовых концентрациях [7, 8, 12], поэтому площадь под фармакокинетической кривой “концентрация — время” вещества (*AUC*) складывается из суммы его базовой концентрации и экзогенной концентрации. Таким образом, фоновое содержание эндогенных веществ в организме, особенно подверженных колебаниям, вносит дополнительное искажение в показатели при определении концентрации подобных соединений, что затрудняет оценку биодоступности и БЭ таких препаратов.

В некоторых случаях, базовые эндогенные концентрации могут быть более или менее постоянными; в других случаях — значительно вариабельными (на

пример, из-за различных эндогенных процессов, циркадных ритмов и др.). В некоторых ситуациях, базовые эндогенные концентрации могут оставаться без изменений в крови, но концентрация соединения увеличивается в другом компартменте организма, например, в моче [8]. Также стоит отметить, что для препаратов, выводящихся из организма, главным образом, с мочой, почечный клиренс — полезный фармакокинетический параметр, отражающий как концентрацию соединения в плазме крови, так и экскрецию [1]. Для ионов кальция характерна так называемая “Непредсказуемо нестабильная базовая линия” эндогенного содержания кальция [8]. Отмечено, что после применения лекарственного препарата концентрация кальция стабилизируется вследствие активации в организме человека механизмов регуляции гомеостаза. Существующие гомеостатические механизмы поддержания уровня эндогенного кальция в пределах физиологической нормы не допускают изменения его концентрации до токсичного уровня [8].

Исходя из вышеперечисленного, для оценки биодоступности препаратов кальция, наряду с традиционными параметрами фармакокинетики, необходимо изучать и гомеостатические механизмы регуляции, включая механизмы выведения [8].

Таким образом, для полноценной экспертной оценки всасывания кальция из лекарственного средства необходимо учитывать, как факторы, участвующие в его абсорбции, так и факторы, поддерживающие кальциевый гомеостаз. То есть, наряду с оценкой концентрации кальция в сыворотке крови, дополнительными суррогатными конечными точками должны выступать

¹ ФГБУ “Научный центр экспертизы средств медицинского применения” Министерства здравоохранения Российской Федерации, Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, д. 8, стр. 2.

параметры кальциевого гомеостаза — биомаркеры, заменяющие клинически значимые конечные точки и которые, как ожидается, позволят предсказать эффект терапевтического вмешательства.

Поэтому целью работы явилось изучение сравнительной биодоступности кальция из фармацевтически альтернативных препаратов по суррогатным конечным точкам: параметрам выведения и уровню паратиреоидного гормона.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследуемый препарат, содержащий 1200 мг кальция и 1000 МЕ колекальциферола сравнивали с референтным препаратом, который содержал 1000 мг кальция и 800 МЕ колекальциферола. Для данного исследования использовались подходы, регламентируемые соответствующими нормативными руководствами Российской Федерации (РФ) [3], государств — членов Евразийского экономического союза (ЕАЭС) [4], Соединенных Штатов Америки (Food and Drug Administration, FDA) [6] и Европейского союза (European Medicines Agency, EMA) [9].

В качестве суррогатных конечных точек, характеризующих гомеостатические механизмы, выступали параметры, регулирующие концентрацию кальция, как эндогенного соединения [12]:

1. Оценивали выведение кальция: экскреция кальция с мочой с пересчетом на экскрецию креатинина (соотношение кальция и креатинина в моче должно сохраняться в пределах физиологической нормы);

2. Оценивали уровень интактного паратиреоидного гормона (иПТГ), как одного из главных гормонов, регулирующих фосфатно-кальциевый гомеостаз.

Выбор иПТГ обусловлен тем, что он является центральным звеном в регуляции метаболизма кальция. Кроме того, динамика его концентрации является опосредованным показателем количества всосавшегося кальция [13, 14].

Таким образом, при комплексной оценке фармакокинетических и фармакодинамических параметров можно провести экспертную оценку относительной биодоступности лекарственных препаратов, содержащих кальций и сделать заключение о поступлении в организм кальция в количестве, которое оказывает те-

рапевтический эффект, но не изменяет физиологического значения кальций-креатининового соотношения, и не допускает изменения концентрации кальция до токсичного уровня. В исследовании приняли участие 50 здоровых добровольцев-мужчин в возрасте от 20 до 40 лет, с индексом массы тела 20 – 26 кг/м² по Кетле. Набор только мужчин обусловлен тем, что содержание иПТГ значительно меняется под влиянием эстрогенов. Добровольцы первой группы принимали однократно сначала исследуемый препарат, спустя 7 дней, — референтный препарат, в другой группе пациенты препараты принимали в обратном порядке.

Так как кальций поступает в организм с пищей, при оценке биодоступности кальция, необходим строгий контроль содержания соединения в пище до начала исследования и на всем его протяжении [6]. За 2 дня до приема препаратов добровольцы соблюдали диету со сниженным содержанием кальция (исключался творог, сыр, орехи, сметана, сливки, фасоль, каши на молоке). Накануне дня приема препарата добровольцы не принимали пищи после 18 часов вечера, только 500 мл минеральной воды со сниженным содержанием кальция. Прием препаратов проводился вместе с легким завтраком. Далее прием пищи проводился в 14 часов и включал продукты со сниженным содержанием кальция. Перед приемом препаратов добровольцы опорожняли мочевой пузырь и, на протяжении 8 часов после приема препарата, проводился сбор мочи. Кровь для анализа содержания иПТГ в количестве 3 мл отбирали до приема препарата и через 2 ч после приема препарата, иПТГ определялся с применением ELISA. Общий кальций мочи количественно измерялся с использованием О-крезолфталеинового метода. Максимальная экскреция кальция пересчитывалась на креатинин (содержание кальция/содержание креатинина).

Статистический анализ проведен с помощью программ Microsoft Office Excel 2010. Сравнение двух групп проводили с применением *t*-критерия Стьюдента. Результаты представлены как среднее и стандартная ошибка среднего ($M \pm m$). Статистически значимыми считались различия при $p < 0,05$.

Таблица 1. Экскреция кальция с мочой в течение 8 ч у добровольцев до и после приема референтного и исследуемого препаратов ($M \pm m$)

Препарат	Объем мочи, мл	Ca ²⁺ , мкг/мл	Экскреция кальция с мочой, мг	Креатинин, мкмоль/л	Экскреция креатинина с мочой	Кальциево-креатининовый коэффициент
Референтный	1447,6 ± 317	201,5 ± 34,3	241,5 ± 59,7	1468,8 ± 371,5	1615 ± 218,3	0,140 ± 0,06
Исследуемый	1285,4 ± 306,7 ($p > 0,05$)	207,8 ± 33,6 ($p > 0,05$)	214,13 ± 38,4 ($p > 0,05$)	1352,5 ± 334,5 ($p > 0,05$)	1448,3 ± 2301,85 ($p > 0,05$)	0,159 ± 0,06 ($p > 0,05$)

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На основании научных публикаций по лекарственным препаратам аналогов эндогенных соединений [7, 8, 10, 11, 12, 15], а так же в дополнении к существующим рекомендациям по проведению исследований биоэквивалентности [3, 4, 6, 9] были изучены и оценены процессы выведение кальция в совокупности с фармакодинамическими параметрами.

Была проведена оценка экскреции кальция с мочой за 8 часовой интервал после приема препаратов. Результаты представлены в табл. 1. Анализ данных показывает, что статистически значимых различий между показателями, характеризующими экскрецию кальция с мочой в течение 8 ч после приема тестируемого и референтного препаратов не выявлено.

Среднее содержание кальция в моче при приеме исследуемых препаратов было сопоставимым ($p > 0,05$) (табл. 1). Соотношение кальция и креатинина в моче оставалось в пределах физиологической нормы как после приема исследуемого препарата, так и после приема референтного препарата (табл. 1). Данные результаты свидетельствуют о том, что изучаемые препараты кальция сопоставимо влияют на гомеостатические процессы регулирования как эндогенной, так и экзогенной концентрации кальция.

Была проведена оценка изменения концентрации иПТГ через 2 ч после приема препаратов, результаты представлены в табл. 2. До приема исследуемого и референтного препаратов уровень иПТГ в крови у добровольцев практически не имел отличий. Через 2 ч после приема изучаемых препаратов отмечено сопоставимое снижение уровня иПТГ, при приеме тестируемого препарата — в среднем по группе 51,2 Δ%; при приеме референтного препарата — 52,3 Δ%.

Данный факт свидетельствует о проявлении сопоставимого биологического эффекта кальция, что является косвенным критерием сопоставимой эффективности действия изучаемых препаратов.

Экспертная оценка результатов сравнительных фармакокинетических исследований биодоступности и БЭ *in vivo* для лекарственных средств, содержащих эндогенные вещества, в ряде случаев затруднена и требует анализа дополнительных параметров. Для проведения экспертной оценки всасывания эндогенного вещества кальция из различных лекарственных препаратов и сравнения биодоступности, наряду с использованием стандартного способа расчета площади под фармакокинетической кривой “концентрация — время” общего кальция сыворотки, целесообразно оценивать процесс выведения — экскрецию кальция с мочой с пересчетом на экскрецию креатинина, который дает возможность учитывать гомеостатические механизмы, регулирующие концентрацию эндогенных соединений, включая механизмы выведения соединений. Изменение уровня иПТГ у добровольцев, а именно снижение концентрации иПТГ после приема препарата,

Таблица 2. Концентрация иПТГ (пг/мл) у добровольцев до и после приема референтного и исследуемого препаратов ($M \pm m$)

Препарат	иПТГ, пг/мл	
	до приема препарата	после приема препарата
Референтный	4,06 ± 1,85	1,95 ± 0,4
Исследуемый	3,99 ± 0,9 ($p > 0,05$)	1,92 ± 0,4 ($p > 0,05$)

содержащего кальций, является проявлением биологически значимого эффекта и может служить косвенным критерием сопоставимой эффективности действия. Совокупный учет этих параметров дает возможность провести объективную экспертную оценку относительной биодоступности лекарственных средств, содержащих эндогенное вещество — кальций, в сочетании с оценкой фармакодинамики.

ВЫВОД

Для корректной характеристики лекарственных препаратов, содержащих кальций, необходимо дополнительно к стандартным фармакокинетическим параметрам оценивать процесс выведения кальция с мочой (с пересчетом на экскрецию креатинина) и степень снижения концентрации ПТГ в крови добровольцев после приема препарата, содержащего кальций.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ “НЦЭСМП” Минздрава РФ № 056-00023-18-02 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР АААА-А18-118021590049-0).

ЛИТЕРАТУРА

1. В. П. Жердев, Г. Б. Колыванов, А. А. Литвин, А. К. Сариев, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **66**(2), 60 – 64 (2003).
2. Б. Г. Искандеров, *Артериальная гипертензия и метаболизм кальция*, Пенза (2010), с. 225.
3. А. Н. Миронов, *Руководство по экспертизе лекарственных средств*, Т. I, Москва, (2013), с. 323.
4. *Правила проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза*, Утвержденные Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 85, Москва (2016).
5. Е. В. Ших, А. А. Махова, *Эффект. фармакотер.*, **36**, 24 – 30 (2013).
6. *Bioequivalence Studies with Pharmacokinetic Endpoints for Drugs Submitted Under an ANDA*, United States Food and Drug Administration, New Hampshire (2013).
7. P. Colucci, M. Pasternyk-Di Marco, D. Potvin, et al., *Generic Drug Product Development: Bioequivalence Issues*, Boca Raton (2007), pp. 233 – 256.
8. S. Dissanayake, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **69**(3), 238 – 244 (2010).
9. Investigation of bioequivalence (CPMP / EWP / QWP / 1401 / 98 Rev. 1), European Medicines Agency, London (2013).

10. L. Fialova, M. Vejražka, *Metabolism of calcium and phosphorus*, Praha (2010 / 2011).
11. *Human Vitamin and Mineral Requirements. Report of a joint FAO / WHO expert consultation Bangkok*, World Health Organization, Thailand (2001), p. 303.
12. J. Gabrielsson, D. Weiner, *Am. J. Pharmaceut. Education*, **74**(3), 250 (2010).
13. A. Marzo, *Ital. J. Med.*, **7**(3), 156 – 159 (2013).
14. A. Marzo, *Pharmacol. Res.*, **40**(4), 357 – 368 (1999).
15. M. Peacock, *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.*, **5**, Suppl. 1, S23 – S30 (2010).

Поступила 17.04.18

STUDYING THE PHARMACOKINETICS OF CALCIUM WITH ESTIMATION OF THE PHARMACODYNAMICS ENDPOINTS

N. N. Eremenko, E. V. Shikh, and S. Yu. Serebrova

Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, Ministry of Public Health
of the Russian Federation, Petrovsky bul. 8/2, Moscow, 127051 Russia

The pharmacodynamics parameters (endpoints) upon the administration of calcium preparations with composition containing 1000 or 1200 mg of calcium and 800 or 1000 IU of cholecalciferol were studied. The excretion of calcium with urine in terms of creatinine clearance and parathyroid hormone level was estimated. Expert assessment of calcium absorption from various drugs is difficult because this substance is endogenous, so that exogenous delivery may be accompanied by transfer to other compartments of the body. It is proposed, along with standard way of calculating the area under the “concentration-time” curve and total calcium in serum to assess the excretion of calcium with urine in terms of the excretion of creatinine, as well as to focus on changes in the level of parathyroid hormone in volunteers, which can be considered as providing a marker for the reference level of calcium in the blood.

Keywords: comparative pharmacokinetics; *in vivo* clinical studies; calcium/creatinine ratio; parathormone; calcium; endogenous compounds; expert evaluation.