

УДК 615.281.8

НОВЫЙ ПРОТИВОВИРУСНЫЙ ПРЕПАРАТ «ТРИАЗИД». РЕЗУЛЬТАТЫ I ФАЗЫ КЛИНИЧЕСКОГО ИССЛЕДОВАНИЯ

Э. Г. Деева¹, Ю. И. Шевчик¹, А. А. Шалджан¹, К. А. Загородникова²,
А. А. Тумашов³, А. В. Баклыков^{3,4}, С. К. Котовская^{3,4}, О. Н. Чупахин^{3,4},
В. Н. Чарушин^{3,4}, В. Л. Русинов^{3,4}, Д. С. Копчук^{3,4*}

Резюме. В работе представлены результаты исследования фармакокинетики, переносимости и безопасности нового противогриппозного препарата «Триазид» в нескольких дозовых режимах, проведенного на здоровых добровольцах. Предложена удобная методика определения препарата «Триазид» в плазме крови и моче методом ВЭЖХ, использованная в рамках исследования. При этом не установлено достоверной статистической связи между приемом препарата, нежелательными клиническими явлениями и изменениями лабораторных показателей. Изучение фармакокинетики показало, что «Триазид» в плазме крови обнаруживается в среднем через 0,5 ч, кривая убывания концентраций двухфазна, период полувыведения в первой фазе составляет 1,5–4,0 ч. Максимальные концентрации с увеличением дозы возрастают прямо пропорционально. С увеличением суточной дозы максимальная концентрация достигается раньше. При этом не отмечено существенной кумуляции при длительном применении. «Триазид» хорошо переносился всеми участниками во всех изученных дозовых режимах. Предпочтительными режимами, обеспечивающими поддержание эффективных и безопасных концентраций, выглядят приемы по 300 мг два и три раза в сутки.

Ключевые слова: «Триазид», грипп, клиническое исследование, безопасность, фармакокинетика.

NEW ANTIVIRAL DRUG TRIAZID. RESULTS OF FIRST PHASE OF CLINICAL TRIAL

E. G. Deyeva¹, Yu. I. Shevchik¹, A. A. Shaldghan¹, K. A. Zagorodnikova², A. A. Tumashov³, A. V. Baklykov^{3,4},
S. K. Kotovskaya^{3,4}, O. N. Chupahin^{3,4}, V. N. Charushin^{3,4}, V. L. Rusinov^{3,4}, D. S. Korchuk^{3,4*}

Abstract. The paper contains a results of the study of the pharmacokinetics, tolerability and safety of a new influenza drug Triazide in several dose regimens conducted on healthy volunteers. The convenient method for the determining the Triazide in blood plasma and urine by the HPLC have been proposed for the using in this study. There was no reliable statistical relationship between drug intake, undesirable clinical events and changes in laboratory parameters. A study of the pharmacokinetics have been showed that Triazide in the blood plasma was found on average after 0.5 hours, the curve of decrease in concentrations was two-phase, the half-life in the first phase was 1.5–4.0 hours. The maximum concentrations with increasing dose increased in direct proportion. With an increase in the daily dose, the maximum concentration was reached earlier. At the same time, no significant cumulation was observed with prolonged use. In the study, Triazide was well tolerated by all participants in all studied dose regimens. Preferred regimens that provide maintenance of effective and safe concentrations, appearances were 300 mg two and three times a day.

Keywords: Triazide, influenza, clinical research, safety, pharmacokinetics.

1 – ФГБУ «НИИ гриппа» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 197376, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Проф. Попова, д. 15/17

2 – ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова», 191015, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, д. 41

3 – ФГБУН Институт органического синтеза им. И. Я. Постовского УрО РАН, 620990, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Ковалевской, д. 22 / Академическая, д. 20

4 – ФГАУ ВО «Уральский федеральный университет имени первого Президента России Б. Н. Ельцина», 620002, Россия, г. Екатеринбург, ул. Мира, д. 19

1 – Research Institute of Influenza of Ministry of healthcare of the Russian Federation, 15/17, Prof. Popova str., Saint-Petersburg, 197376, Russia

2 – North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, 41, Kirochnaya str., Saint-Petersburg, 191015, Russia

3 – I. Ya. Postovsky Institute of organic synthesis of UB of RAS, 22, S. Kovalevskaya str. / 20, Akademicheskaya str., Yekaterinburg, 620990, Russia

4 – Ural Federal University named after the first President of Russia B. N. Yeltsin, 19, Mira str., Yekaterinburg, 620002, Russia

* адресат для переписки:

E-mail: dkorchuk@mail.ru

Тел.: 8 (343) 375 45 01

ВВЕДЕНИЕ

Создание инновационных лекарственных препаратов, эффективных в отношении инфекций вирусной этиологии, является одной из наиболее актуальных задач современной медицины и фармацевтики. Это продиктовано полиэтиологичностью и контагиозностью вирусных инфекций, высокой изменчивостью вирусов и появлением новых особо опасных агентов [1]. Так, новый высокопатогенный вирус гриппа птиц H5N1, появившийся в 1997 г., вызвал беспрецедентную

смертность (до 60%) среди заболевших в странах Юго-Восточной Азии. Подобные вспышки птичьего гриппа получили достаточно широкое распространение, охватив ряд стран Европы и США [1–3]. Всемирная организация здравоохранения уже в 2000 г. декларировала необходимость подготовки к пандемии гриппа. Пандемия гриппа 2009 г., вызванная новым штаммом вируса гриппа A(H1N1), стала серьезной проблемой вследствие отсутствия выбора средств противовирусной терапии, инъекционных лекарственных форм для лечения тяжелых форм заболе-

вания, ограничения использования препаратов по причине появления резистентных штаммов [1, 4–6].

Перечисленные проблемы противовирусной терапии диктуют необходимость разработки и практического внедрения новых эффективных средств лечения гриппа [1, 6, 7]. Скрининг, проведенный среди соединений азолоазинов, позволил выявить ряд наиболее перспективных соединений с высокой противовирусной активностью, в ряду которых особое место занимает препарат с условным названием «Триазид» – 5-метил-6-нитро-7-оксо-4,7-дигидро-1,2,4-триазоло[1,5- α]пиримидинидиа I-аргининия моногидрат [8]. Согласно результатам доклинических исследований «Триазид» в системах *in vivo* обладает высокой противовирусной активностью в отношении различных штаммов вируса гриппа. «Триазид» относится к VI классу относительно безвредных веществ по классификации Hodge [9]. Полученные результаты доклинического исследования препарата «Триазид» явились основанием проведения клинического исследования I фазы для оценки переносимости, безопасности и фармакокинетики препарата и отработки режима дозирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Клиническое исследование проводилось в ФГБУ «НИИ гриппа» Минздрава России (г. Санкт-Петербург) в соответствии с этическими нормами, определенными Правилами проведения качественных клинических испытаний в РФ и Хельсинской декларацией [10–15], на основании разрешения № 250 на проведение клинического исследования от 12 апреля 2016 г., выданного Министерством здравоохранения Российской Федерации, и выписки из протокола № 120 заседания совета по этике от 01 марта 2016 г.

Пациенты

В исследование были включены здоровые добровольцы обоего пола в возрасте от 18 до 45 лет, подписавшие информированное согласие. Основными критериями исключения являлись: беременность или кормление грудью; наличие острых и хронических заболеваний; сопутствующая терапия; недавнее участие в каком-либо клиническом исследовании.

Дизайн исследования

В исследовании участвовали 44 здоровых добровольца, в том числе 4 дублера, когортами по 10 добровольцев, последовательно участвовавших в случае первых трех когорт в трех этапах исследования, а в случае четвертой когорты – в двух этапах исследования.

В ходе исследования проводились следующие лабораторно-инструментальные обследования: общий анализ крови, биохимический анализ крови, общий анализ мочи – в день скрининга и на 1, 5, 27, 34, 62 и 69-й дни исследования, ЭКГ в 12 стандартных отведениях – в день скрининга и на 33-й и 68-й дни исследо-

вания, измерение АД, ЧСС – в день скрининга и на 1–5, 27, 28, 34–38, 62, 63, 69–73-й дни исследования. Исследование включало 3 этапа: изучение фармакокинетики и переносимости при однократном приеме «Триазид»; при многократном режиме дозирования (добровольцы принимали препарат ежедневно однократно в течение 7 дней); при многократном режиме дозирования с увеличением кратности приема и суточной дозы препарата. В целом было проанализировано 11 схем приема препарата «Триазид» с эскалацией суточных доз от 300 мг до 1200 мг.

На каждый следующий этап с увеличением дозы добровольцы переходили в случае удовлетворительной переносимости и установленной безопасности на предыдущем этапе. Период «отмывания» между этапами введения препарата составлял 4 недели (5 периодов полувыведения).

Средняя продолжительность участия в исследовании для когорт I, II и III составила 73 дня, для когорты IV – 38 дней.

Забор крови для фармакокинетического анализа

При изучении фармакокинетических параметров образцы крови получали в следующие временные точки: 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 8; 12; 24; 48; 72; 96 ч после приема препарата, а также изучались фоновые показатели крови (до приема препарата – точка 0). Сбор мочи проводился у добровольцев на этапе 1 в следующие интервалы времени: 0–4 ч; 4–8 ч; 8–12 ч; 12–24 ч. В каждый из указанных промежутков времени регистрировался объем мочи. Таким образом, забор проб для фармакокинетики проводился следующим образом: на 1 этапе – кровь и моча, на 2 и 3 этапах – только кровь. В качестве антикоагулянта при этом использовался гепарин (3%), 1 часть на 20 частей крови; выполнялось центрифугирование (3000 об/мин в течение 20 мин); заморозка не использовалась.

Препарат

Препарат «Триазид», капсулы, 300 мг, выпущен ОАО «Фармстандарт-Лексредства» (Россия).

Изучение безопасности и переносимости

Основными показателями безопасности и переносимости являлись: частота возникновения и тип нежелательных явлений, их тяжесть и связь с приемом препарата, динамика лабораторных и инструментальных показателей.

Изучение фармакокинетических параметров

Пробоподготовка образцов производилась в результате их обработки водным раствором соляной кислоты, дальнейшая экстракция «Триазид» производилась этилацетатом; растворитель был отогнан, а

остаток растворен в буферном растворе, используемом для проведения количественного анализа.

Содержание «Тризида» определяли в плазме крови и моче методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Хроматографический анализ проводили на хроматографе Agilent 1200 (Agilent Technologies, США) с использованием хроматографической колонки Phenomenex Luna C18 (2), 150×2,00 мм, 5 мкм (Phenomenex, США), и предколонке Eclipse XDB-C18, 4,6×12,5 мм, 5 мкм (Agilent Technologies, США), при температуре 28 °С. В качестве подвижной фазы использовали смесь 50 мМ фосфатный буферный раствор (рН 4,67) : ацетонитрил (Sigma-Aldrich, США), доля ацетонитрила – от 5% на старте до 20% на 7-й мин. Время хроматографирования составляло 18 мин. УФ-детектирование проводили при длине волны 210±1,2 нм. Время удерживания «Тризида» составило около 8,8 мин. Валидация данной методики была выполнена согласно ОФС.1.1.0012.15 в диапазоне концентраций от 0,03 до 20 мкг/мл.

В ходе исследования оценивались следующие фармакокинетические параметры: максимальная концентрация (C_{max}); время достижения максимальной концентрации (T_{max}); константа элиминации (k_{el}); период полувыведения ($T_{1/2}$); площадь под кривой концентраций за время наблюдения (AUC_{0-t}); площадь под кривой концентраций, экстраполированная до бесконечного времени ($AUC_{0-\infty}$); минимальная концентрация (C_{min}); фактор кумуляции (f_c); фракция, выводимая в неизменном виде (f_e); почечный клиренс (CL_R).



Agilent Technologies 1200

Статистический анализ

Статистическая обработка полученных данных была выполнена с использованием непараметрических и параметрических методов.

Для статистического анализа результатов принят уровень значимости 5% и мощность используемых критериев 80%. Описательная статистика измеряемых показателей содержит следующие значения: минимальные и максимальные значения, среднее, медиана, межквартильный размах.

Оценка клинико-лабораторных показателей внутри и между когортами на всех этапах исследования проведена с помощью критерия Краскелла – Уоллиса или критерия Фридмана с соответствующими апостериорными критериями. Категориальные данные описаны с помощью процентных соотношений и абсолютных значений. Сравнение категориальных данных проводилось с помощью точного критерия Фишера. Анализ выполнен с помощью пакета статистических программ IBM SPSS Statistics, ver. 21.0 (IBM Corporation, США).

Для анализа фармакокинетических параметров использовались методы линейной и нелинейной регрессии, анализа интегральных моментов, параметрических и непараметрических анализов парных и непарных наблюдений соответственно характеру данных. Анализ был выполнен с помощью программного обеспечения Statistica, Excell и GraphPad Prizm. Были представлены статистические характеристики максимальных, минимальных и средних величин с указанием интервала стандартной ошибки или процентов в зависимости от характера данных. Принимаемый уровень вероятности для отвержения нулевой гипотезы установлен при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В ходе работы проведена оценка переносимости, безопасности и фармакокинетики препарата «Триазид» при использовании 11 схем приема препарата с эскалацией суточных доз от 300 мг до 1200 мг. Режим дозирования препарата составил 1, 2 и 3 раза в сутки.

Безопасность

В ходе проведенного исследования установлена безопасность и хорошая переносимость препарата «Триазид».

Средние суммарные дозы на добровольца составили: в когорте I – 6600 мг, в когорте II – 11100 мг, в когорте III – 15600 мг, в когорте IV – 9600 мг. Все когорты добровольцев получали «Триазид» в нарастающих дозировках (максимальная разовая доза – 1200 мг, максимальная суточная доза – 1200 мг, максимальная курсовая доза – 8400 мг). При этом не установлено достоверной статистической связи между приемом

препарата, нежелательными клиническими явлениями и изменениями лабораторных показателей. В ходе исследования было отмечено 53 клинических нежелательных явления, из которых 25 нежелательных явлений зафиксированы в когорте I, 13 – в когорте II, 9 – в когорте III, 6 – в когорте IV. Все нежелательные явления были легкой степени тяжести, носили транзиторный характер и не требовали отмены препарата или проведения дополнительной терапии. В процессе исследования не было зафиксировано ни одного серьезно нежелательного явления.

Среди зафиксированных нежелательных явлений (НЯ) таковые с возможной/вероятной связью с приемом препарата распределились по когортам следующим образом: в когорте I – 15 НЯ с возможной связью с приемом препарата ($n_{\text{общее}}=25$); в когорте II – 6 НЯ с вероятной связью с приемом препарата ($n_{\text{общее}}=13$); в когорте III – 4 НЯ с возможной/вероятной связью с приемом препарата ($n_{\text{общее}}=9$); в когорте IV – 1 НЯ с возможной связью с приемом препарата ($n_{\text{общее}}=6$).

При этом необходимо отметить, что связи нежелательных явлений с увеличением дозы препарата не выявлено. Наибольшее количество случаев нежелательных явлений отмечено в когорте I, где доза препарата при всех трех схемах введения была минимальной.

Таким образом, за все время проведения исследования нежелательные явления по причинно-следственной связи с приемом препарата распределены следующим образом: вероятная связь ($n=8$), возможная связь ($n=18$), сомнительная связь ($n=18$), не связанные с приемом препарата ($n=9$).

Все нежелательные явления можно разделить на следующие группы: гастроинтестинальные ($n=23$), респираторные ($n=4$), неврологические ($n=23$), кожные ($n=1$), сердечно-сосудистые ($n=1$), другие ($n=1$).

Среди нежелательных клинических явлений были отмечены: головная боль ($n=21$), боли в животе ($n=10$), диарея (неоформленный стул до двух раз в сутки) ($n=5$), тошнота ($n=3$), потеря аппетита ($n=3$), слабость ($n=2$), заложенность в ушах ($n=1$), сердцебиение ($n=1$), чувство жажды ($n=1$), метеоризм ($n=1$), кожный зуд ($n=1$), катаральные явления (заложенность носа, насморк, боли в горле) ($n=4$).

Статистически значимых различий между количеством нежелательных явлений, дозами и схемами приема препарата выявлено не было (для нежелательных явлений с вероятной связью двусторонняя значимость точного критерия Фишера составляет $p>0,999$, с возможной связью – $p=0,392$).

Таким образом, частота и характер нежелательных явлений не имели значимых различий в зависимости от когорт, схем применения и дозировок препарата.

Изучение изменений лабораторных показателей в разных когортах и при сравнении когорт между собой не позволило установить определенных тенденций. Колебания величин лабораторных показателей не выходили за пределы физиологических норм ни в одной из 11 испытанных схем применения препарата.

Анализ совокупности данных показал, что «Триазид» не вызывал каких-либо изменений общеклинического статуса добровольцев, не нарушал функциональной активности систем организма, не оказывал негативного влияния на оцениваемые параметры (ЭКГ, АД, ЧСС, температура тела).

Таким образом, применение препарата «Триазид» не оказывало патологического влияния на состояние жизнеобеспечивающих органов и систем организма, было безопасно и хорошо переносилось всеми участниками исследования.

Фармакокинетические параметры при однократном приеме препарата

С целью определения концентрации препарата «Триазид» в плазме крови и моче в рамках работы была предложена эффективная методика его количественного определения методом ВЭЖХ, которая и использовалась во всех дальнейших случаях.

Кривая убывания концентраций «Триазида» после приема однократной дозы 300 мг была нелинейной и характеризовалась двумя фазами убывания. Период полувыведения в 1-й фазе составлял 4,3 ч, во второй – 14 ч. Максимальные значения концентрации регистрировались в среднем через 4 ч и составляли 0,07 мкг/мл (медиана). В половине случаев наблюдался второй равноценный пик концентраций в интервале 12–72 ч, с медианным значением 0,09 (от 0,06 до 0,2) мкг/мл. Усредненная кривая представлена на рисунке 1А.

Среднее время удерживания составило 39 ч. Начальная фаза абсорбции была быстрой, коэффициент в несколько раз превышал соответствующий коэффициент фазы элиминации, однако затем всасывание, вероятно, замедлялось, уравниваясь со скоростью элиминации. Общий плазменный клиренс составил в среднем 219 л/ч, что подтверждает преобладание элиминации над всасыванием. Соответственно, значение кажущегося объема распределения также в среднем составило 4379 л.

При приеме «Триазида» в дозе 600 мг (рисунок 1Б) максимальная концентрация возросла пропорционально увеличению дозы, но достигалась несколько раньше, при этом одновременно увеличивалась скорость убывания концентраций в 1-й фазе, тогда как во второй она оставалась в целом неизменной. Пропорционально дозе увеличивалось и значение площади под кривой. Клиренс и кажущийся объем распределения примерно не изменялись.

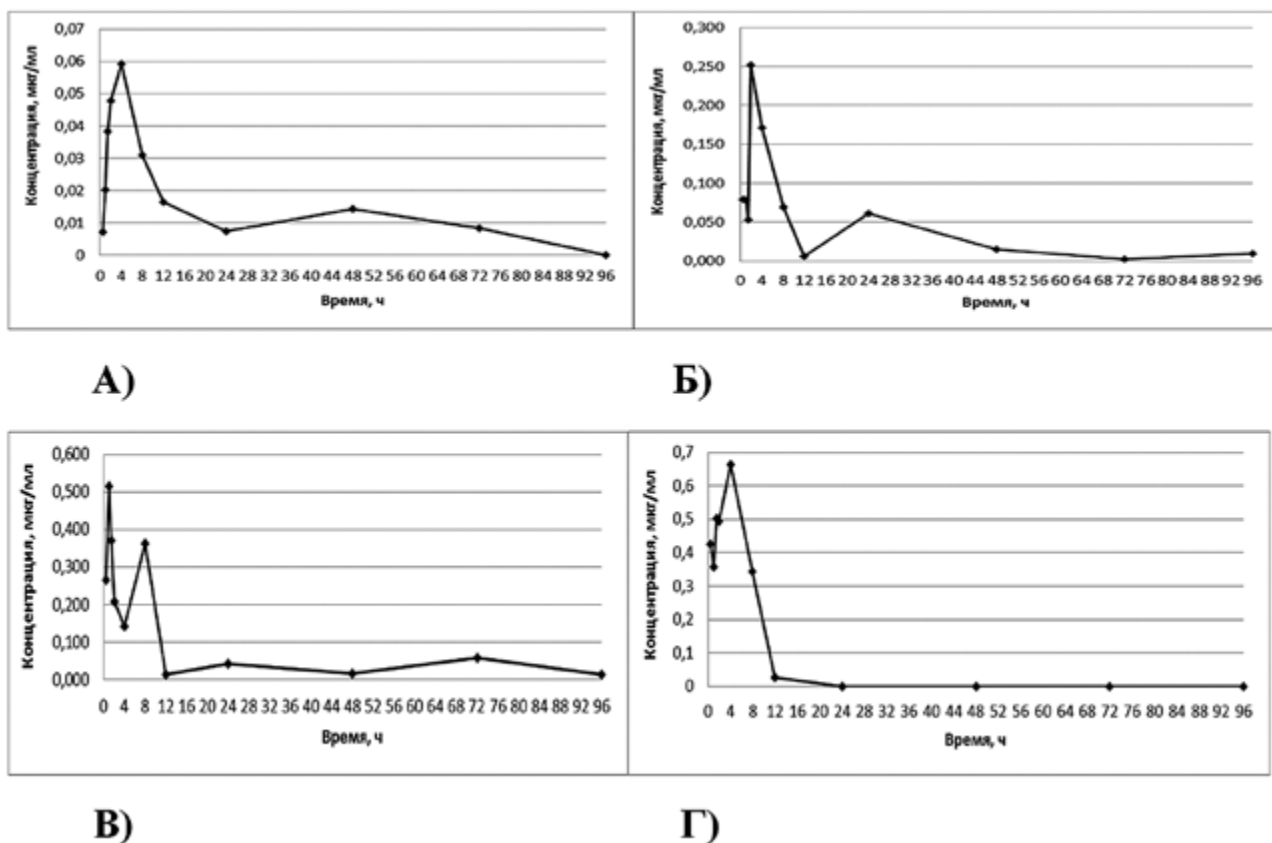


Рисунок 1. Кривые убывания концентраций «Триазид» после приема однократных доз: А) 300 мг, Б) 600 мг, В) 900 мг, Г) 1200 мг

При увеличении однократной дозы «Триазид» до 900 мг (рисунок 1В) оба пика концентраций сдвигались во времени к началу. Максимум концентраций, так же как значения площади под кривой, увеличивались пропорционально дозе. Коэффициент элиминации на хвосте распределения не изменялся, незначительно уменьшались значения плазменного клиренса и кажущегося объема распределения.

При увеличении разовой дозы до 1200 мг начальная фаза абсорбции максимально сокращалась, средний максимум концентраций наблюдался около 3 ч, максимальное значение увеличивалось пропорционально дозе (рисунок 1Г). Вторая фаза убывания нивелировалась: период полувыведения и среднее время удерживания уменьшались до значений 1-й фазы, соответственно уменьшались значения площади под кривой. В таблице 1 представлены данные показателей фармакокинетики «Триазид» при приеме однократной дозы препарата.

Оценка клиренса

С мочой при приеме препарата «Триазид» в дозе 300 мг в течение 24 ч в неизменном виде выделялось от 9 до 26% принятой дозы, в среднем 16%. Соответственно почечный клиренс составил в среднем (медиана) 63 л/ч. При увеличении дозы препарата до 600 мг

количество выведенного в неизменном виде с мочой «Триазид» варьировало от 11 до 32% (в среднем 23%). Основная часть, как и при приеме 300 мг, выводилась в интервале 4-8 ч. При приеме 900 мг однократно процент выводимого с мочой вещества несколько увеличивался (8-55%, в среднем 32%). Необходимо отметить, что при увеличении дозы до 1200 мг общее количество выведенного с мочой «Триазид» не увеличилось, что подтверждает предположение о лимитировании всасывания в этой дозе. На рисунке 2 представлена динамика выделения «Триазид» с мочой при приеме однократной дозы во всех когортах.

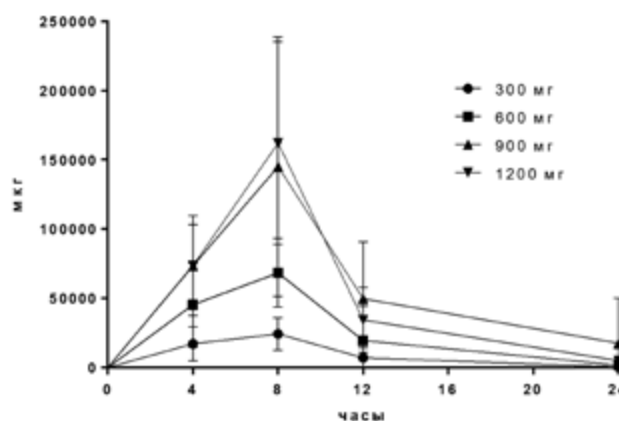


Рисунок 2. Динамика выделения «Триазид» с мочой

Таблица 1.

Данные показателей фармакокинетики «Тризида» при приеме однократной дозы препарата (при отсутствии стандартного отклонения указана медиана)

Показатель	300 мг		600 мг		900 мг		1200 мг		Достоверность различий ¹ p
	Среднее	Ст. откл.	Среднее	Ст. откл.	Среднее	Ст. откл.	Среднее	Ст. откл.	
T _{max} (ч)	4	2,7	3	1	1**	0,5	1,25	–	0,005
C _{max} (мкг/мл)	0,1	0,06	0,3	0,26	0,59	0,4	0,77	0,5	<0,0001
(k _{el}) ₁ (ч ⁻¹)	0,16	–	0,43	–	0,31	–	0,42	–	
(T _{1/2}) ₁ (ч)	4,3	–	1,6	–	2,2	–	1,7	–	
(k _{el}) ₂ (ч ⁻¹)	0,05	–	0,06	–	0,06	–	–	–	
(T _{1/2}) ₂ (ч)	14	–	11,6	–	11,6	–	–	–	
AUC _{0-t} (мкг·ч/мл)	1,2* ¹	1	2,88*	3,4	5,41 ¹	4,1	4,70	1,4	0,007
AUC _{0-∞} (мкг·ч/мл)	1,37	0,1	2,92	3	5,48	4,1	4,70	1,4	
AUMC _{0-t} (мкг·ч ² /мл)	37,4	53	65,1	102	167	228,1	23,11	7,4	>0,05
AUMC _{0-∞} (мкг·ч ² /мл)	53,5	39	68,9	108	172	228,5	23,11	7,4	>0,05
MRT (ч)	39	21	23,6	18	22	22,3	4,5	1,76	0,07
f _e	0,16**	0,06	0,23	0,06	0,32**	0,12	0,23	0,06	0,005
CL _R (л/ч)	62	–	89	–	105	–	59	–	>0,05
Cl/F (доза/AUC) (л/ч)	219	138	205	825,9	177,4	442	251	102	>0,05
V _{d/F} (CL/k _{el}) (л)	4379	2319	3425**	6560	2359	–	634**	314	0,0005
K _a (ч ⁻¹)	0,72**	0,4	1 ¹	0,2	2,8** ¹	1,5	2,3	5	0,006
V _{ss} =CL·MRT (л)	8540**	6435	4848	10233	4109 ¹	2749	1194** ¹	639	0,004

Примечание: ¹сравнения проведены методом Kruskal – Wallis с коррекцией Dunn.

**Пары статистически достоверных различий.

Фармакокинетические параметры при многократном и длительном приеме

При многократном введении в дозе 300 мг в сутки «Триазид» кумулировал (рисунок 3), среднее значение фактора кумуляции составило 5,3 (от 1,2 до 7,5). Максимальная концентрация была в 6 раз выше, чем при однократном приеме, и достигалась раньше. Несколько ускорялось убывание в первой фазе. Значение плазменного клиренса достоверно снижалось.

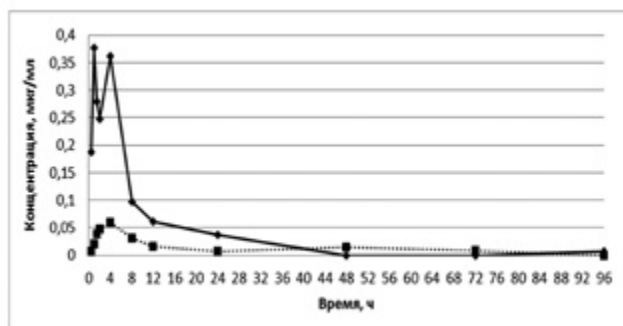


Рисунок 3. Кривые убывания концентраций «Тризида» при однократном (прерывистая линия) и многократном (сплошная линия) приеме в дозе 300 мг

При многократном приеме «Тризида» в дозе 600 мг 1 раз в сутки площадь под фармакокинетической кривой также незначительно увеличивалась

(рисунок 4). Медиана значения фактора кумуляции составила 1,7 (от 0,24 до 8,9). Максимальные значения достигались дважды, как и в случае однократного приема, но происходило это раньше: в первый раз – через 0,5–1,5 ч после введения, во второй – через 4–8 ч. Значения C_{max}, а также других показателей фармакокинетики значимо не изменялись. В целом, как и для дозы 300 мг, отмечался сдвиг обоих пиков концентраций влево и, как следствие, сокращение общего времени удержания «Тризида» в организме.

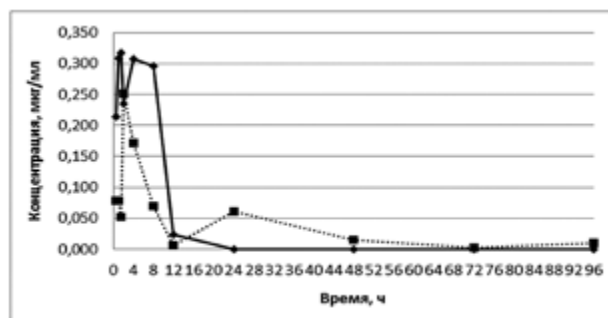


Рисунок 4. Кривые убывания концентраций «Тризида» при однократном (прерывистая линия) и многократном (сплошная линия) приеме в дозе 600 мг

При приеме 600 мг «Тризида» (по 300 мг два раза в день) достигались такие же максимальные концентрации, как и при его приеме в дозе 600 мг один раз в

сутки (рисунок 5). Второй пик концентраций достигался раньше (в среднем через 4 ч). Вторая фаза убывания концентраций практически не наблюдалась, период полувыведения в среднем составил 1,2 ч, что совпадало с соответствующим значением при приеме «Триазид» в дозе 600 мг один раз в сутки и длительном его приеме в дозе 300 мг. Площади под фармакокинетической кривой были существенно ниже, чем при приеме 600 мг один раз в сутки. При этом скорость элиминации «Триазид» из плазмы существенно не изменялась, не наблюдалось кумуляции, напротив, C_{max} были снижены по сравнению с многократным приемом 1 раз в сутки.

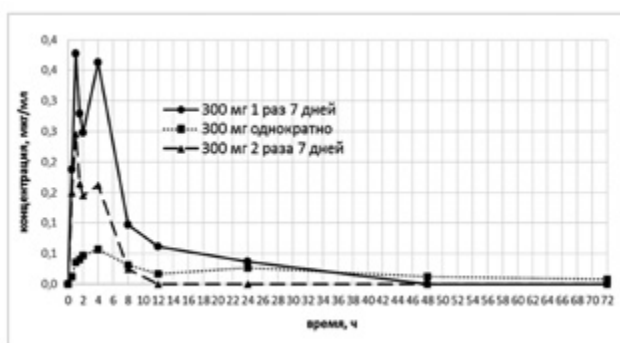


Рисунок 5. Кривые убывания концентраций «Триазид» при приеме в дозе 300 мг однократно, 300 мг 1 раз в сутки 7 дней и 300 мг 2 раза в сутки 7 дней

При длительном приеме «Триазид» в дозе 900 мг в сутки значения максимальной концентрации и время ее достижения значимо не изменялись (рисунок 6). Вторая фаза элиминации нивелировалась, первая характеризовалась такой же константой, как и при однократном приеме. Площадь под фармакокинетической кривой имела тенденцию к снижению, в основном за счет отсутствия повторного появления «Триазид» в крови через 11–12 ч (второй пик концентраций).

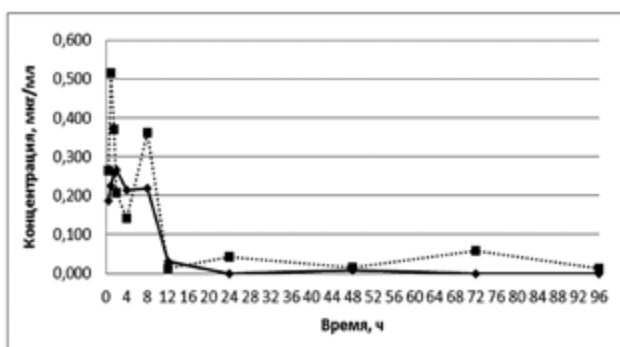


Рисунок 6. Кривые убывания концентраций «Триазид» при однократном (пунктирная линия) и многократном (сплошная линия) приеме в дозе 900 мг

При дозировании 900 мг «Триазид» в три приема по 300 мг кривая концентраций после каждого приема характеризовалась такими же значениями T_{max} ,

C_{max} и AUC, как после ежедневного приема препарата в дозе 900 мг один раз в сутки. Однако благодаря подобным подъемам концентраций 3 раза в сутки представляется, что этот режим обеспечивает наиболее стабильные концентрации препарата в крови в течение наиболее продолжительного времени без кумуляции (рисунок 7).

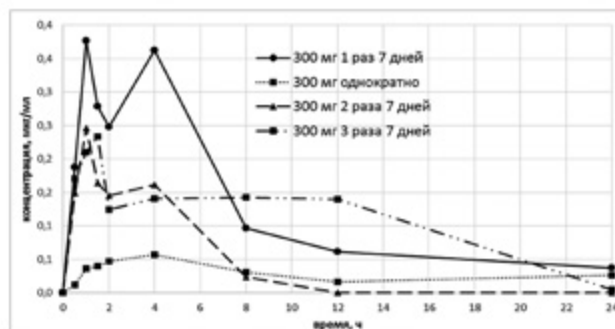


Рисунок 7. Кривые убывания концентраций «Триазид» в разных режимах приема дозы 300 мг

При длительном приеме «Триазид» в дозе 1200 мг в сутки значения максимальной концентрации и время ее достижения значимо не изменялись (рисунок 8).

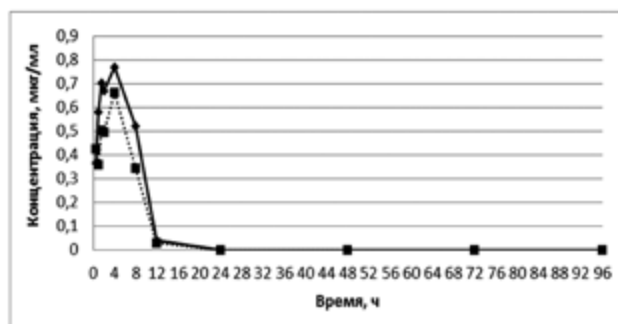


Рисунок 8. Кривые убывания концентраций «Триазид» при однократном (пунктирная линия) и многократном (сплошная линия) приеме в дозе 1200 мг в сутки

Таким образом, по сравнению с данными, полученными при однократном приеме «Триазид» в дозах 300, 600, 900 и 1200 мг, при многократном приеме в тех же дозах исчезали различия во времени достижения и величине максимальной концентрации, а также в значениях площади под фармакокинетической кривой и среднего времени удержания (таблицы 2, 3). Рассчитанный фактор кумуляции отмечен только для дозы 300 мг, в остальных дозах кумуляции практически не наблюдалось. Минимальным в дозе 300 мг был общий плазменный клиренс «Триазид», тогда как при более высоких дозах его значения значимо не различались. Отмечалась тенденция к снижению скорости всасывания при длительном приеме и при увеличении дозы, выраженной в значении константы абсорбции, однако статистической значимости эти различия не достигли.

Таблица 2.

Сводные результаты показателей фармакокинетики «Триазид» при приеме внутрь в течение недели (в отсутствие стандартного отклонения указана медиана)

Показатель	300 мг		600 мг		900 мг		1200 мг		Достоверность различий ¹ p
	Среднее/медиана	Ст. откл.	Среднее/медиана	Ст. откл.	Среднее/медиана	Ст. откл.	Среднее/медиана	Ст. откл.	
T _{max} (ч)	1	1	1	0,4	1	0,5	1	0,4	>0,05
C _{max} (мкг/мл)	0,45	0,23	0,4	0,3	0,41	0,3	0,79	0,43	>0,05
(k _{el}) ₁ (ч ⁻¹)	0,4	–	0,6	–	0,35	–	0,6	–	>0,05
(T _{1/2}) ₁ (ч)	1,7	–	1,2	–	2,2	–	1,5	0,8	>0,05
(k _{el}) ₂ (ч ⁻¹)	0,05	–	–	–	–	–	–	–	–
(T _{1/2}) ₂ (ч)	13,9	–	–	–	–	–	–	–	–
AUC _{0-t} (мкг·ч/мл)	4,7	1,4	3	1,7	2,5	1	6,3	3,8	>0,05
AUC _{0-∞} (мкг·ч/мл)	3,5	–	3	1,7	2,5	1	6,3	3,8	>0,05
AUMC _{0-t} (мкг·ч ² /мл)	23	7,3	16	11	22	20	31,4	20,7	>0,05
AUCM _{0-∞} (мкг·ч ² /мл)	54	–	16	11	22	20	31,4	20,7	>0,05
MRT (ч)	4,5	1,7	5,7	1,5	7,8	4	4,5	1,76	>0,05
f _c	5,3*	–	1,7	–	0,92*	–	1	–	0,0095*
Cl/F (доза/AUC) (л/ч)	68***	25	203	–	402	146	202	96	<0,0001
V _{d/F} (CL/k _{el}) (л)	1714	–	297	–	862	619	441	222	–
K _a (ч ⁻¹)	2,3	5	0,3	0,2	0,6	0,8	0,35	0,3	>0,05

Таблица 3.

Сводные результаты показателей фармакокинетики «Триазид» при приеме внутрь однократно и в течение недели

Показатель	300 мг		600 мг		900 мг		1200 мг	
	1 день	7 дней	1 день	7 дней	1 день	7 дней	1 день	7 дней
T _{max} (ч)	4	1	3	1	1	1	1,25	1
C _{max} (мкг/мл)	0,1	0,45	0,3	0,4	0,59	0,41	0,77	0,79
(k _{el}) ₁ (ч ⁻¹)	0,16	0,4	0,43	0,6	0,31	0,35	0,42	0,6
(T _{1/2}) ₁ (ч)	4,3	1,7	1,6	1,2	2,2	2,2	1,7	1,5
(k _{el}) ₂ (ч ⁻¹)	0,05	0,05	0,06	–	0,06	–	–	–
(T _{1/2}) ₂ (ч)	14	13,9	11,6	–	11,6	–	–	–
AUC _{0-t} (мкг·ч/мл)	1,2	4,7	2,88	3	5,41	2,5	4,70	6,3
AUC _{0-∞} (мкг·ч/мл)	1,37	3,5	2,92	3	5,48	2,5	4,70	6,3
AUMC _{0-t} (мкг·ч ² /мл)	37,4	23	65,1	16	167	22	23,11	31,4
AUCM _{0-∞} (мкг·ч ² /мл)	53,5	54	68,9	16	172	22	23,11	31,4
MRT (ч)	39	4,5	23,6	5,7	22	7,8	4,5	4,5
Cl/F (доза/AUC) (л/ч)	219	63	205	203	177,4	402	251	202
V _{d/F} (CL/k _{el}) (л)	4379	1714	3425	297	2359	862	634	441
K _a (ч ⁻¹)	0,72	2,3	1	0,3	2,8	0,6	2,3	0,35

Обсуждение полученных результатов

При анализе фармакокинетических параметров было показано, что при приеме внутрь «Триазид» быстро всасывается и обнаруживается в крови уже через 0,5 ч. Нарастание концентраций происходит ступенчато благодаря одновременному течению с разной скоростью процессов всасывания, распределения в тканях и выведения. В связи с этим отмечается несколько пиков концентраций. Максимальные концентрации с увеличением дозы возрастают прямо пропорционально и составляют в среднем 0,1 мкг/мл в дозе 300 мг, 0,3 мкг/мл в дозе 600 мг, 0,6 мкг/мл в дозе 900 мг и 0,8 мкг/мл в дозе 1200 мг. С увеличением су-

точной дозы максимальная концентрация достигается раньше. Так, при однократном приеме 300 мг «Триазид» время достижения максимальной концентрации составляет в среднем 4 ч, при длительном приеме – 1 ч. При применении доз 900 и 1200 мг были получены аналогичные данные. Убывание концентраций в плазме носит двухфазный характер, в первой фазе период полувыведения составляет от 1,5 до 4 ч, во второй – 11–13 ч. Сразу после появления в плазме «Триазид» интенсивно выводится почками в неизменном виде в среднем в количестве 30% независимо от доз. Относительное уменьшение выведения отмечается после приема 1200 мг «Триазид». Большая часть препарата выводится в интервале 4–8 ч.

При длительном применении в дозах 300 и 600 мг наблюдается некоторое увеличение площади под кривой (коэффициент кумуляции 5 и 1,7 соответственно), в дозах 900 и 1200 мг нарастания значения AUC (кумуляции) не отмечается. Коэффициент абсорбции при длительном применении снижается, говоря о замедлении всасывания. Также при длительном приеме не регистрировалась вторая фаза элиминации и общий период полувыведения составлял в среднем 1,5–2 ч во всех дозах. Благодаря этому прием «Триазид» несколько раз в сутки не приводил к кумуляции, но обеспечивал более длительное нахождение вещества в плазме. Клиренс и кажущиеся объемы распределения были значительными независимо от дозы.

В целом полученные данные говорят о лимитировании нарастания концентраций с увеличением дозы при длительном приеме, что делает в случае кратности приема более 1 раза целесообразным получение препарата в дозе не выше 600 мг. Из числа кратных режимов введения наиболее стабильные концентрации создают режимы приема 300 мг 3 раза в сутки и 300 мг 2 раза в сутки. Таким образом, для дальнейших исследований именно эти режимы представляются наиболее целесообразными.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, в ходе проведенного исследования были изучены фармакокинетика, переносимость и безопасность нового противогриппозного препарата «Триазид» в различных дозовых режимах; была предложена удобная методика определения препарата «Триазид» в плазме крови и моче методом ВЭЖХ, использованная в рамках работы. При этом установлена безопасная и хорошая переносимость препарата, а изучение его фармакокинетики показало, что после приема внутрь «Триазид» быстро всасывается и обнаруживается в крови уже через 0,5 ч. Максимальные концентрации с увеличением дозы возрастают прямо пропорционально. С увеличением суточной дозы максимальная концентрация достигается раньше. Убывание концентраций в плазме носит двухфазный характер, в первой фазе период полувыведения составляет от 1,5 до 4 ч, во второй – 11–13 ч. Анализ различных режимов приема «Триазид» показывает, что из числа кратных режимов введения наиболее стабильные концентрации создают режимы приема 300 мг 3 раза в сутки и 300 мг 2 раза в сутки.

Результаты проведенного клинического исследования I фазы по протоколу «Исследование безопасности, переносимости и фармакокинетики препарата «Триазид» при применении у здоровых добровольцев, I фаза» позволяют рекомендовать данный препарат к испытанию II фазы по оценке безопасности и эффективности.

Работа была выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (грант № 4.6351.2017/8.9).

ЛИТЕРАТУРА

1. Киселев О. И. Пандемии начала XXI века. Грипп птиц и пандемия «свиного» гриппа H1N1 2009 года. – СПб.: Фолиант, 2016. 368 с. [Kiselev O. I. Pandemii nachala XXI veka. Gripp ptic i pandemiya "svinogo" grippa H1N1 2009 goda. [Avian influenza and pandemic of "swine" influenza H1N1 of 2009 year.] – SPb.: Foliant, 2016. 368 p.]
2. Грипп птиц: происхождение инфекционных биокатастроф: Сб. статей / Под ред. акад. РАМН Покровского В. И. и др. – СПб.: Росток, 2012. 304 с. [Gripp ptic: proiskhozhdenie infekcionnykh katastrof: Sb. statey / Pod red. akad. RAMN Pokrovskogo V. I. i dr. [Avian influenza: the origin of infectious catastrophes: Sat. articles / Ed. Pokrovsky V.I. et al.] – SPb.: Rostok, 2012. 304 p.]
3. Ligon B. L. Avian influenza virus H5N1: a review of its history and information regarding its potential to cause the next pandemic // Semin. Pediatr. Infect. Dis. 2005. V. 16. P. 326.
4. Reddy D. Responding to pandemic (H1N1) 2009 influenza: the role of oseltamivir // J. Antimicrob. Chemother. 2010. V. 65. P. ii35.
5. Update: Drug Susceptibility of Swine-Origin Influenza A (H1N1) Viruses // JAMA. 2009. V. 301. P. 2086.
6. Киселев О. И. Химиопрепараты и химиотерапия гриппа. – СПб.: Росток, 2012. 272 с. [Kiselev O. I. Khimioterapiya i khimioterapiya grippa. [Chemodrugs and chemotherapy for influenza.] – SPb.: Rostok, 2012. 272 p.]
7. Деева Э. Г. Грипп. На пороге пандемии. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 208 с. [Deeva E. G. Gripp: na poroge pandemii. [Influenza. On the eve of a pandemic.] – M.: GEOTAR-Media, 2008. 208 p.]
8. Патент RU 2529487. 5-Метил-6-нитро-7-оксо-1,2,4-триазоло[1,5-а]пиримидинид л-аргининия моногидрат / Чупахин О. Н., Чарушин В. Н., Русинов В. Л., Уломский Е. Н., Котовская С. К., Киселев О. И., Деева Э. Г., Саватеев К. В., Борисов С. С.; патентообладатель ИОС УрО РАН. – Заявл. 15.04.13; опубл. 27.09.14. [Patent RU 2529487. 5-Metil-6-nitro-7-okso-1,2,4-triazolo[1,5-a]pirimidinid l-argininiya monogidrat. [Patent RU 2529487. 5-Methyl-6-nitro-7-oxo-1,2,4-triazolo[1,5-a]pyrimidinide l-arginine monohydrate] / Chupakhin O. N., Charushin V. N., Rusinov V. L., Ulomsky E. N., Kotovskaya S. K., Kiselev O. I., Deeva E. G., Savateev K. V., Borisov S. S.; patentoobladatel' IOS UrO RAS. – Zajavl. 15.04.13; opubl. 27.09.14.]
9. Gosselin R.E., Hodge H., Smith R.P., Gleason M.N. Clinical Toxicology of Commercial Products: Acute Poisoning. Ed. IV. – Baltimore: Williams & Wilkins, 1976. 332 p.
10. Национальный стандарт РФ «Надлежащая клиническая практика» от 04.01.2006 г. [Nacional'nyiy standart RF "Nadlezhashchaya klinicheskaya praktika" ot 04.01.2006 g.] [National standard of the Russian Federation «Good Clinical Practice» from 04.01.2006.]
11. Приказ Минздрава России № 266 от 19.06.2003 «Об утверждении правил клинической практики в Российской Федерации». [Prikaz Minzdrava Rossii № 266 ot 19.06.2003 "Ob utverzhdenii pravil klinicheskoy praktiki v Rossiyskoy Feredecii".] [Order of the Ministry of Health of Russia No. 266 of June 19, 2003 "On the approval of the rules of clinical practice in the Russian Federation".]
12. Guideline for good clinical practice, 1996. ICH harmonised tripartite guideline. International Conference on Harmonisation. URL: <http://www.ich.org/LOB/media/MEDIA482.pdf> (accessed on 08.08.2018).
13. Федеральный Закон от 12.04.2010 г. № 61-ФЗ «Об обращении лекарственных средств». [Federal'nyiy zakon ot 12.04.2010 g. № 61-FZ "Ob obrashchenii lekarstvennykh sredstv".] [Federal Law № 61-FZ of 12.04.2010 «On circulation of drugs».]
14. Хабриев Р. У. Руководство по проведению клинических исследований новых лекарственных средств. – М.: ФГУ НЦЭСМП, 2005. 357 с. [Khabriev R. U. Rukovodstvo po provedeniyu klinicheskikh issledovaniy novykh lekarstvennykh sredstv. [Guidelines for the clinical trials of new drugs.] – M.: Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 2005. 357 p.]
15. Guidance for Industry Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers. 2005. FDA/CDER. URL: <http://www.fda.gov/cder/guidance/index.htm> (accessed on 08.08.2018).