

ФАРМАКОКИНЕТИКА

ОТНОСИТЕЛЬНАЯ БИОДОСТУПНОСТЬ ГЛЮКОЗАМИНА ПОСЛЕ ПЕРОРАЛЬНОГО, ВНУТРИМЫШЕЧНОГО ВВЕДЕНИЯ И ТРАСДЕРМАЛЬНОГО ПРИМЕНЕНИЯ ПРЕПАРАТА ХОНДРОКСИД® МАКСИМУМ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Blair Yasso¹, Yinghe Li², Asafov Alexander³, Н. Б. Мельникова⁴, И. В. Мухина⁵

Проведено сравнение относительной биодоступности и интенсивности проникания глюкозамина сульфата в кровь при пероральном, внутримышечном введении водных растворов и местном применении препарата Хондроксид® Максимум в виде крема, содержащего мицеллярную систему трансдермальной доставки глюкозамина, в эксперименте на крысах линии Спраг-Дуоли. На основе анализа фармакокинетических профилей глюкозамина в плазме крови крыс установлено, что при применении 3 раза в день в течение недели крема Хондроксид® Максимум в дозе 400 мг/кг биодоступность глюкозамина относительно однократной внутримышечной инъекции 4 % раствора глюкозамина сульфата в дозе 400 мг/кг составляла 61,6 %. Средняя скорость проникания глюкозамина в плазму крови через кожу крыс за 4 ч равнялась 26,9 мкг/см² · ч, доля проникания глюкозамина из крема через кожу в плазму крови животного при однократном введении за 4 ч составила 4,12 %. Сравнительный анализ литературных и экспериментальных данных, а также расчеты на их основе позволили заключить, что в процессе применения в соответствии с инструкцией по применению препаратом Хондроксид® Максимум расчетная средняя концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного сустава может составлять 0,7 – 1,5 мкг/мл, что в 10 – 75 раз выше концентрации эндогенного глюкозамина в синовиальной жидкости сустава человека (0,02 – 0,07 мкг/мл). Эта величина сравнима с уровнем, достигаемым при инъекционном введении глюкозамина, и превышает до 2 раз уровень, достигаемый после введения глюкозамина в лекарственных формах для перорального применения.

Ключевые слова: относительная биодоступность; глюкозамина сульфат; трансдермальный глюкозаминоый комплекс; мицеллярная трансдермальная система доставки.

ВВЕДЕНИЕ

Принято считать, что глюкозамин (2-амино-2-дезоксид-Д-глюкоза) является хондропротектором и может быть использован для профилактики и лечения нарушений метаболизма костной и соединительной тканей. По данным [1] глюкозамин в качестве лекарственного средства продемонстрировал симптоматический и модифицирующий эффект в отношении течения остеоартрита. Глюкозамин в этом случае является специфическим субстратом и стимулятором синтеза эндогенных гликозаминогликанов (гиалуроновой кислоты, хондроитинсульфата А и С, дерматансульфата, кератансульфата, гепарина и гепарансульфата) и, соответ-

ственно, протеогликанов, которые, наряду с гиалуроновой кислотой, являются одним из строительных элементов внеклеточного матрикса соединительной ткани. Недостаток эндогенного глюкозамина вызывает воспалительные и дегенеративные изменения, поэтому большое влияние на развитие и течение таких заболеваний оказывает концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости, которая может быть восполнена введением глюкозамина в плазму крови одним из рассматриваемых здесь путей.

Препараты глюкозамина широко представлены пероральными, инъекционными и лекарственными формами для наружного применения, содержащими глюкозамина гидрохлорид или глюкозамина сульфат, предполагающие разовую дозу от 100 до 1500 мг. Причиной, ограничивающей использование пероральных препаратов глюкозамина в практике, является необходимость использования высоких концентраций глюкозамина при длительном приеме для обеспечения необходимой биодоступности, что может привести к нежелательным побочным последствиям, связанным с раздражением слизистых оболочек органов желудочно-

¹ MB Research Laboratories, 1765 Wentz Road, Spinnerstown, PA 18968, USA.

² Alliance Pharma, Inc., 17 Lee Blvd, Malvern, PA 19355, USA.

³ Foura Pacific Pte Ltd, (Singapore), 35 Selegie Road #10-05, Parklane Shopping Mal Singapore 188307.

⁴ ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России, Нижний Новгород, ул. Родионова, 293.

⁵ Центральная научно-исследовательская лаборатория ГБОУ ВПО НижГМА Минздрава России.

но-кишечного тракта. Существующие лекарственные формы для наружного применения (крем, мазь, эмульсия, гель), имеющие в своем составе глюкозамин, не располагают эффективным механизмом его переноса к синовиальной мембране, окружающей пораженное место. Поэтому, несмотря на высокую потенциальную эффективность глюкозамина, лечебный эффект классических местных средств уступает препарату в пероральной форме. Инъекционные формы препарата при их максимальной биодоступности ограничены самим методом введения, приемлемым не для всех пациентов, а также необходимостью участия профессионального медицинского персонала.

Одним из способов улучшения биодоступности глюкозамина из препаратов для наружного применения является введение в состав лекарственной формы системы трансдермальной доставки этого соединения [2, 3]. Представителем таких препаратов с улучшенной биодоступностью является препарат Хондроксид® Максимум, содержащий мицеллярный трансдермальный глюкозаминовый комплекс (ТГК), как систему эффективной доставки глюкозамина в кровь и ткани сустава. Достижение высокой проникающей способности ТГК через кожу обусловлено размером мицелл 20–80 нм и участием в образовании мицеллярной системы триглицеридов, повышающих липофильность частиц дисперсной фазы в прямой эмульсии крема.

До настоящего времени фармакокинетические исследования, позволяющие выявить преимущества использования такого трансдермального комплекса и сопоставить его действие с глюкозамином для перорального и инъекционного применения, отсутствовали, что затрудняло масштабное внедрение этого препарата в практику.

Целью исследования являлось сравнительное экспериментальное изучение относительной биодоступности и интенсивности проникания глюкозамина сульфата в кровь при его пероральном и внутримышечном введении и местном применении препарата Хондроксид® Максимум ТГК в эксперименте на крысах линии Спраг-Доули, а также прогнозирование содержания глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного сустава человека.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Экспериментальные исследования проведены в лаборатории MB Research Laboratories Spinnerstown, PA (США), с привлечением аналитической лаборатории Alliance Pharma, Inc., Malvern, PA (США), в соответствии с Положениями и принципами действующих правил GLP (Good Laboratory Practices), Агентства о защите окружающей среды (EPA), 40 CFR Часть 160 и 792, Управления контроля продуктов и лекарств (FDA), 21 CFR Часть 58, и ОЭСР.

Сравнительную биодоступность глюкозамина при пероральном, внутримышечном введении и местном

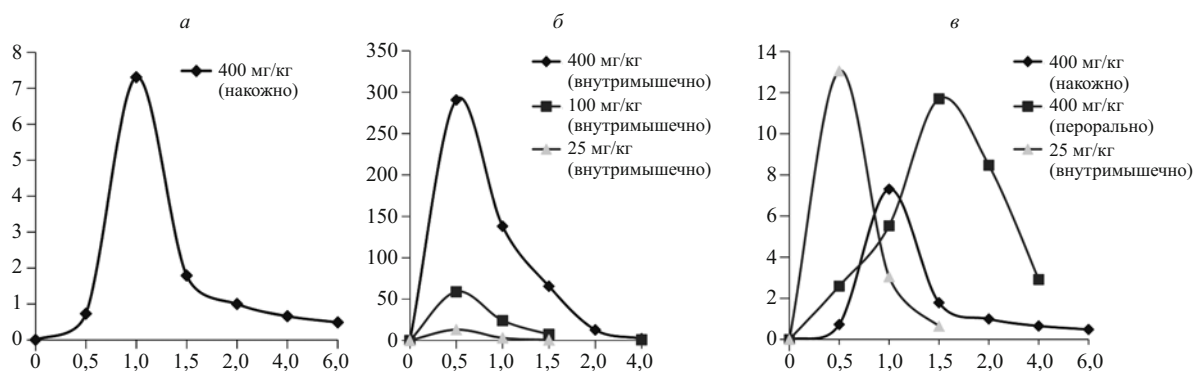
применении в эксперименте изучали, используя для перорального применения и внутримышечного введения 4 % водный раствор глюкозамина сульфата (40 мг сухого порошка глюкозамина сульфата/мл), в качестве растворителя выступала дистиллированная вода и стерильная вода для инъекции, соответственно. Для изучения наружного применения наносили препарат Хондроксид® Максимум (Licht Far East (S) Pte. Ltd, Сингапур) в виде крема, содержащего систему трансдермальной доставки глюкозамина в виде мицелл. В состав крема (в расчете на 100 г) входят: глюкозамина сульфат калия хлорид 8 г, вспомогательные вещества, в частности диметилсульфоксид — 1 г, аскорбиновая кислота — 0,1 г и формообразующие ингредиенты. Эксперименты проведены на восьминедельных крысах-самцах Спраг-Доули (Sprague-Dawley) массой 250 ± 25 г ($n = 45$), число животных в каждой группе 9 — минимально достаточное количество, необходимое для возможности взятия по 3 анализа на каждую временную точку (0, 0,5, 1, 2, 4, 6 ч) и получения статистически значимых данных. По окончании эксперимента животных подвергали эвтаназии с CO₂ камере.

Доза исследуемого препарата Хондроксид® Максимум в виде крема по действующему веществу составила 400 мг/кг или по лекарственной форме 5 г/кг (102 мг/крысу). Препарат применялся наружно в виде накожной аппликации и легкого втирания в выбритую за 24 ч до применения тестового препарата область спины с общей поверхностью около 39 см². Область выстрижки начиналась с плеч и продолжалась до тазовой кости и вниз от спины до живота с обеих сторон животного. Место применения оставалось непокрытым.

Доза исследуемого 4 % раствора глюкозамина сульфата для применения внутрь по действующему веществу составила 400 мг/кг (88,8 мг/крысу). 4 % раствор глюкозамина сульфата вводился однократно перорально в объеме 10 мл/кг.

Доза исследуемого 4 % раствора для инъекций составила 400, 100 и 25 мг/кг (соответственно 102,4, 25,9 и 6,2 мг/крысу). Препарат вводился однократно внутримышечно в объемах 10, 2,5 и 0,625 мл/кг 4 % раствора глюкозамина сульфата, соответственно.

Сбор образцов и подготовка плазмы для проведения анализов осуществлялись согласно следующей схеме: 0,5 мл цельной крови при помощи прямой венепункции хвоста крысы отбиралось в пробирки, содержащие ЭДТА в качестве антикоагулянта. Образцы крови центрифугировали для отделения плазмы, которая была затем разделена на 2 равные части и помещена в 2 предварительно промаркированные полипропиленовые криогенные пробирки с завинчивающимися крышками. Все собранные образцы плазмы хранились при (-70 ± 5) °С до момента отправки ночным курьером (на сухом льду) в лабораторию Alliance Pharma, Inc (Malvern, PA, США) для проведения анализа. Анализ образцов плазмы крови животных на содержание глюкозамина проводили методом жидкостной хрома-



Концентрация глюкозамина в плазме крови крыс Sprague-Dawley при различных способах введения:
по оси ординат — концентрация глюкозамина, мкг/мл, по оси абсцисс — время взятия пробы крови, ч.

тографии — тандемной масс-спектрометрии (LC-MS/MS) с учетом принципов, подробно описанных в статье [4]. В качестве детектора на жидкостном хроматографе Shimadzu Prominence LC (Япония) использовали совместимый масс-спектрометр Sciex API 4000 QTrap (США). Хроматограммы анализировали с помощью программы Analyst 1.4.2. В качестве калибровочного стандарта использовали D-Glucosamine Hydrochloride (Toronto Research Chemicals, Inc., Lot number 13-XJZ-183 – 1, чистота 98 %), внутренний стандарт — D-Glucosamine-1,2-IJC2 Hydrochloride (10 мкг/мл, Toronto Research Chemicals, Inc., Lot number 6-SXG-29 – 1, чистота 98 %). Для построения калибровочного графика для глюкозамина использовали регрессионный метод, при этом нижний уровень определения концентрации глюкозамина в плазме крови для разработанного метода составлял величину 0,4 мкг/мл.

Из фармакокинетических кривых определяли основные фармакокинетические характеристики: C_{\max} — максимальную концентрацию лекарственного вещества в крови; $C_{4ч}$ — среднюю концентрацию лекарственного вещества в крови за первые 4 ч; t_{\max} — время достижения максимальной концентрации; AUC_t — площадь под кинетической кривой “концентрация — время”. Для расчета биодоступности использовали только AUC_t .

Для оценки биоэквивалентности препарата Хондроксид® Максимум в виде крема с действующим ве-

ществом глюкозамина сульфатом калия хлоридом в сравнении с 4 % раствором для применения внутрь и 4 % раствором для инъекций глюкозамина сульфата был проведен статистический анализ полученных фармакокинетических данных (среднее значение, стандартное отклонение, точность) с использованием программного продукта Watson LIMS™ для биоаналитических лабораторий и согласно [5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На первом этапе был исследован фармакокинетический профиль глюкозамина в плазме крови крыс при однократном местном применении крема Хондроксид® Максимум (в дальнейшем “крем”) на кожу спины и боковой поверхности туловища в дозе 400 мг/кг (табл. 1).

Сопоставление инъекционного метода введения с местным проведено на 3 уровнях дозы — 400 мг/кг (102 мг/крысу), 100 мг/кг (25,9 мг/крысу), 25 мг/кг (6,2 мг/крысу), отражающих диапазон, в котором у крыс данного вида реализуется желаемый эффект глюкозамина без признаков побочного действия. Из данных рисунка (б) видно, что в этом интервале доз сохраняется линейность фармакокинетики. Максимальная концентрация C_{\max} препарата при местном нанесении, равная 7,31 мкг/мл, наиболее приближена к $C_{\max} = 13,05$ мкг/мл, определенной по фармакокинетической кривой при внутримышечном введении в дозе

Таблица 1. Фармакокинетические параметры глюкозамина в плазме крови крыс при однократном применении разных лекарственных форм

Расположение кривых, рисунок (а, б, в)	Препарат	Доза на 1 крысу по ЛФ, мг	Фармакокинетические параметры			
			C_{\max} , мкг/мл	$C_{4ч}$, мкг/мл	AUC_t , мкг · ч/мл	t_{\max} , ч
а, в	Крем Хондроксид® Максимум (накожно)	102,0	7,31	1,84	7,35	1,0
в	4 % раствор для применения внутрь	88,8	11,7	4,93	19,7	1,5
б	4 % раствор для инъекций (10 мл) внутримышечно	102,4	290,7	62,6	250,4	0,5
б, в	4 % раствор для инъекций (0,625 мл) внутримышечно	6,2	13,05	2,7	10,8	0,5

25 мг/кг (6,2 мг/крысу); величины AUC_t равны 7,35 и 10,8 мкг · ч/мл, соответственно (табл. 1).

Сравнение фармакокинетических показателей после перорального (400 мг/кг), внутримышечного (25 мг/кг) и местного (400 мг/кг) введения препарата продемонстрировано в табл. 1. Из данных табл. 1 видно, что C_{\max} глюкозамина в плазме крови при внутримышечном введении достигалась через 0,5 ч, при местном введении — через 1 ч и при пероральном введении — через 1,5 ч.

Учитывая вышеизложенные факты, для расчета относительной биодоступности глюкозамина из лекарственной формы “крем” в дозе 102 мг на крысу при однократном введении были использованы данные по внутримышечному введению 4 % водного раствора глюкозамина в дозе 6,2 мг на крысу.

Для выбора критерия сравнительной оценки местного введения по отношению к другим способам был выполнен приблизительный расчет массы глюкозамина (ГА) в плазме крыс при однократном введении ($C^{\text{ГА}}$, мг), используя отношение AUC^{top} к AUC^x , и массу глюкозамина в 1 дозе при определенном способе введения $m^{\text{ГА}(x)}$:

$$C^{\text{ГА}}, \text{ мг} = (AUC^{\text{top}}/AUC^x) \cdot m^{\text{ГА}(x)},$$

где AUC^x представляет значения:

$AUC^{\text{in, max}}$ — AUC при инъекционном введении с максимальной дозой 102 мг на 1 крысу;

$AUC^{\text{in, min}}$ — AUC при инъекционном введении дозы 6,2 мг на 1 крысу;

$AUC^{\text{per os}}$ — AUC при пероральном введении дозы 88,8 мг на 1 крысу.

Из данных табл. 2 следует, к примеру, что однократное нанесение крысе крема массой 1,28 г (доза глюкозамина 102 мг) соответствует однократному введению внутримышечно 4 % раствора глюкозамина в количестве 4,2 мг.

Расчет сравнительной биодоступности через кожу человека

Проникание глюкозамина из крема через кожу площадью 39 см² в плазму крови оценивали через долю α в % и удельную скорость проникания $v_{\text{пр}}$ (удельная диффузия).

Доля проникания глюкозамина α (%) из крема массой m при однократном местном введении через кожу в плазму за 4 ч равнялась:

$$\alpha, \% = (C^{\text{ГА}}_{\text{в плазме}}, \text{ мг/мл}, \text{ мг}) \cdot 100 = 4,2/102 \cdot 100 = 4,12 \%,$$

а удельная скорость проникания $v_{\text{пр}}$ глюкозамина соответствовала 26,9 мкг/см²/ч:

$$v_{\text{пр}} = (C^{\text{ГА}(6,2 \text{ мг})}_{\text{в плазме}}), \text{ мкг}/S_{\text{кожи}}, \text{ см}^2/4 \text{ ч} = (4200 \text{ мкг}/39 \text{ см}^2)/4 \text{ ч} = 26,9 \text{ мкг}/\text{см}^2/\text{ч}.$$

Величину α в % можно рассматривать как биодоступность глюкозамина за 4 ч после нанесения крема. Для прогнозирования проникания $\beta^{\text{in vivo}}$ глюкозамина из препарата Хондроксид® Максимум через кожу человека использовали следующее уравнение, полученное авторами статьи [8]:

$$\beta^{\text{in vivo}}_{\text{человека}} = K'_{\text{эф}} \cdot v^{\text{in vivo}}_{\text{крысы}},$$

где $K'_{\text{эф}} = v^{\text{in vitro}}_{\text{человека}} / v^{\text{in vitro}}_{\text{крысы}} \approx 0,3 - 0,5$, определенная в эксперименте в диффузионной камере методом диализа;

$$v^{\text{in vivo}}_{\text{крысы}} = 26,9 \text{ мкг}/\text{см}^2/\text{ч}.$$

В соответствии с вышеприведенной зависимостью расчетная удельная скорость проникания (диффузии) глюкозамина в плазму крови при нанесении препарата Хондроксид® Максимум на кожу человека составила величину $\beta^{\text{in vivo}}_{\text{человека}} = (8,1 - 13,5) \text{ мкг}/\text{см}^2/\text{ч}$.

Прогноз концентрации глюкозамина в синовиальной жидкости

Полученная нами приближенная оценка удельной скорости переноса глюкозамина из крема в плазму крови $v^{\text{in vivo}}_{\text{крысы}}$, равная 26,9 мкг/см²/ч, сопоставима с величиной скорости чрезкожного переноса из раствора глюкозамина в кровь в экспериментах *in vitro* в модельной диффузионной ячейке $v^{\text{in vitro}} = 19,2 \pm 0,6 \text{ мкг}/\text{см}^2/\text{ч}$ [3]. Удельная скорость переноса в этих модельных условиях глюкозамина из крема другого состава с трансдермальной системой доставки лежит в интервале от $(23,5 \pm 2,3)$ до $(48,2 \pm 1,9) \text{ мкг}/\text{см}^2/\text{ч}$. Учитывая, что в реальных условиях эксперимента *in vivo* на крысах $v^{\text{in vivo}}$ почти равна средней величине $v^{\text{in vitro}}$, определенной в диализной ячейке [3], можно считать нашу приближенную оценку $v = 26,9 \text{ мкг}/\text{см}^2/\text{ч}$ как величину, характеризующую эффективное проникание глюкозамина из крема через кожу в плазму крови.

Таблица 2. Сравнительная характеристика методов введения

Введение	Сравнение	AUC^{top}/AUC^x	$C^{\text{ГА}}$, мг
накожно 400 мг/кг (102 мг)	внутримышечно 400 мг/кг $m^{\text{ГА}} = 102 \text{ мг}$	7,35/250,4	3,0
накожно 400 мг/кг (102 мг)	внутримышечно 25 мг/кг $m^{\text{ГА}} = 6,2 \text{ мг}$	7,35/10,8	4,2
накожно 400 мг/кг (102 мг)	перорально 400 мг/кг $m^{\text{ГА}} = 88,8 \text{ мг}$	7,35/19,7	33,1

Сопоставление данных анализа фармакокинетических профилей глюкозамина плазмы человека, полученных в работе [9] при однократном пероральном применении в дозе 1500 мг, и плазмы крови крыс при наружном нанесении крема Хондроксид® Максимум в нашей работе свидетельствует о высокой биодоступности глюкозамина из исследуемого препарата. При пероральном введении человеку показатель AUC_t ($3,6 \pm 0,72$) мкг · ч/мл, а при наружном нанесении крема крысе – $7,35 \pm 1,48$; величина C_{max} равна ($0,49 \pm 0,16$) мкг/мл (перорально для человека) и ($7,31 \pm 2,08$) мкг/мл (накожно, крем Хондроксид® Максимум для крыс).

Приблизительно рассчитанная величина $\beta_{\text{человека}}^{in vivo}$ может быть использована для оценки уровня концентрации глюкозамина в плазме крови сосудов микроциркуляторного русла, окружающих сустав. Например, по инструкции к препарату Хондроксид® Максимум в виде крема с ТГК количество наносимого крема составляет полоску крема длиной до 3 см, что примерно соответствует 3 – 3,5 г. При сохранении удельной величины наносимого на кожу крема, используемой в эксперименте на животных в течение 4 ч, площадь для нанесения крема составит 106 см². Количество глюкозамина, доставленного в плазму крови через капилляры сосочкового слоя дермы, составит величину ($8,1 - 13,5$) мкг/см²/ч · 106 см² · 4 ч = (3434 – 5724) мкг.

Принимая объем циркулирующей крови у человека равным в среднем 5500 мл без учета прямого проникновения глюкозамина в составе ТГК через кожу к синовиальной мембране, величина средней концентрации глюкозамина в плазме крови сосудов микроциркуляторного русла, окружающих сустав, в течение 4 ч будет составлять ($3434 - 5724$) мкг/5500 мл = (0,62 – 1,04) мкг/мл.

При лечении остеоартрозов инъекционным препаратом на основе глюкозамина (ЛСР-000050 от 26.12.2007) курс составляет 3 инъекции внутримышечно в неделю по 3 мл с содержанием глюкозамина 400 мг в одной инъекции или 0,072 мг/мл плазмы крови.

Биодоступность глюкозамина при внутривенном введении на модели крупного животного. По данным [8] пиковая концентрация (C_{max}) глюкозамина в плазме при однократном внутривенном введении здоровой лошади из расчета 0,2 мг на 1 мл плазмы крови достигала 50 мкг/мл, средняя концентрация глюкозамина в плазме крови за 12 ч составляла 4,5 мкг/мл, а пиковая концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости составляла 1,5 мкг/мл при средней концентрации глюкозамина в синовиальной жидкости за 12 ч 0,7 мкг/мл.

Следует отметить, что при проникновении глюкозамина из плазмы крови в синовиальную жидкость уровень максимальной концентрации глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного сустава, в соответствии с полученными экспериментальными данными

[9], может быть до 5 раз выше, чем в интактном суставе. Приведенные данные позволяют с большой долей уверенности считать, что при остеоартрозе разных стадий пиковая концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного сустава лошади при внутривенном введении может достигать до величины 7 – 8 мкг/мл.

Биодоступность глюкозамина при внутримышечном введении человеку. Учитывая, что инъекция глюкозамина человеку проводится в концентрации, которая в 3 раза ниже, чем на модели, рассмотренной выше (0,072 мг на 1 мл плазмы крови), пиковая концентрация глюкозамина в плазме крови при разовой инъекции составит величину приблизительно 15 – 20 мкг/мл, средняя концентрация в плазме в течение 12 ч после инъекции при этом составит величину около 1,5 – 1,7 мкг/мл, а средняя концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости здорового сустава человека составит величину 0,25 – 0,3 мкг/мл.

Биодоступность глюкозамина при пероральном введении человеку. При приеме внутрь взрослым при остеоартрозе препарат назначается в максимальной дозе 1500 мг глюкозамина в сутки, что составляет 0,2 мг/мл плазмы крови. Глюкозамин принимают внутрь в виде капсул или приготовленного водного раствора. Рекомендованная продолжительность терапии, в зависимости от тяжести заболевания, составляет от 4 до 12 недель. По данным [10], при введении 1500 мг глюкозамина человеку однократно пиковая концентрация глюкозамина в плазме крови человека достигает 1,6 мкг/мл к 3 ч после момента приема, средняя площадь под кривой зависимости концентрации от времени в течение периода 48 ч составляет 14,6 мкг · ч/мл, тогда средняя концентрация от разового приема глюкозамина в дозе 1500 мг в течение 48 ч составит величину 0,3 мкг/мл. Соответственно, доза 1500 мг, принимаемая каждые сутки, даст среднюю концентрацию в плазме крови человека не более 0,6 мкг/мл. В более поздней работе тех же авторов [11] показано, что при введении внутрь глюкозамина в дозе 1500 мг ежедневно в течение 14 дней в плазме крови и синовиальной жидкости сустава человека происходит накопление глюкозамина, и на 14 день средняя концентрация глюкозамина в плазме крови возрастает от эндогенного уровня концентрации 0,052 до 1,28 мкг/мл, в синовиальной жидкости сустава — соответственно от 0,037 до 0,78 мкг/мл. Другими словами, средняя концентрация глюкозамина в плазме крови после 14-дневного приема возрастает примерно в 20 раз, по сравнению с эндогенным уровнем концентрации глюкозамина, и в 2 раза, по сравнению с уровнем средней концентрации глюкозамина, достигаемым после разового приема. Средняя концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости после 14-дневного приема возрастает также примерно в 20 раз.

Биодоступность глюкозамина при пероральном введении на модели крупного животного. При вве-

дении лошади глюкозамина перорально однократно в дозе 0,2 мг/мл пиковая концентрация в плазме крови составляет 1,13 мкг/мл, средняя концентрация глюкозамина в плазме крови за 12 ч после введения составляет 0,4 мкг/мл, пиковая концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости — 0,16 мкг/мл, средняя концентрация экзогенного глюкозамина в синовиальной жидкости — 0,072 мкг/мл. С учетом того, что удельные дозы при пероральном введении лошади и человеку в рассматриваемых случаях равны (0,2 мг/мл), а параметры пиковой и средней концентрации глюкозамина в плазме крови очень близки, можно предположить, что у человека при разовом пероральном введении глюкозамина уровень средней концентрации глюкозамина в синовиальной жидкости будет составлять такую же величину — 0,07 мкг/мл.

В этом случае можно сделать обобщающий вывод, следующий из всех вышеприведенных экспериментальных данных по биодоступности глюкозамина при пероральном введении лошади и человеку: при ежедневном введении глюкозамина перорально в течение 14 дней происходит накопление препарата в плазме крови и синовиальной жидкости воспаленного сустава, средняя концентрация глюкозамина при этом, по сравнению с результатами, полученными при однократном введении, возрастает, соответственно, примерно в 2 раза в плазме крови человека от 0,6 до 1,28 мкг/мл и примерно в 11 раз в синовиальной жидкости воспаленного сустава человека — от 0,07 до 0,78 мкг/мл.

На основе проведенных исследований и теоретических расчетов при однократном внутримышечном введении глюкозамина в составе 4 % раствора глюкозамина сульфата калия хлорида человеку в дозе 400 мг (0,072 мг/мл плазмы крови) пиковая концентрация глюкозамина в плазме может быть оценена величиной 15 – 20 мкг/мл, что обеспечивает величину среднего уровня концентрации глюкозамина в синовиальной жидкости в течение первых 12 ч 0,25 – 0,3 мкг/мл для здорового сустава, и величину до 1,25 – 1,5 мкг/мл для воспаленного сустава с периодом полувыведения около 68 ч. При многократном введении (3 раза в неделю), поскольку следующее введение происходит через 48 – 72 ч, концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости до момента каждого следующего введения падает до уровня 0,6 – 1,0 мкг/мл, а средняя концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного сустава в течение курса лечения может быть оценена величиной 1,2 – 1,3 мкг/мл.

Таким образом, средняя концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного сустава в течение инъекционного курса лечения (3 инъекции в неделю, внутримышечно, по 3 мл с содержанием глюкозамина 400 мг в инъекции) может быть оценена величиной 1,2 – 1,3 мкг/мл.

При приеме больным остеоартрозом глюкозамина 1500 мг внутрь, не менее 14 дней, ежедневно, в виде

капсул или раствора, средняя концентрация глюкозамина в плазме крови человека достигнет по нашим расчетам величины не менее 1,3 мкг/мл, в синовиальной жидкости воспаленного сустава человека — не менее 0,7 – 0,8 мкг/мл.

Таким образом, средняя концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного сустава в течение перорального курса лечения (прием внутрь в дозе 1500 мг глюкозамина в сутки в течение 14 дней) может быть оценена величиной 0,7 – 0,8 мкг/мл.

При нанесении препарата Хондроксид® Максимум, крем с ТГК, однократно средняя концентрация в плазме крови в течение 4 ч после каждого нанесения ТГК будет составлять величину 0,62 – 1,04 мкг/мл.

Далее есть 2 пути для оценки эффективности стандартного курса лечения ТГК. Если взять за основу расчета зависимости, полученные для перорального введения, то получатся следующие величины. Поскольку уровень средней концентрации глюкозамина в плазме крови после однократного нанесения на кожу очень близок к величинам, получаемым при однократном пероральном введении (0,6 мкг/мл), а частота введения в 3 раза выше, то с большой долей вероятности можно применить механизм накопления глюкозамина в плазме крови и синовиальной жидкости сустава. Тогда, сделав предположение о том, что в 3 раза большая частота введения приведет к увеличению концентрации в 3 раза, получим вывод, что после курса лечения препаратом Хондроксид® Максимум, крем с ТГК, в течение 14 дней средняя концентрация в плазме крови может составить величину не менее 1,8 – 3,1 мкг/мл, а в синовиальной жидкости воспаленного сустава величину порядка 0,9 – 1,5 мкг/мл или в среднем 1,2 мкг/мл.

Если взять за основу расчета зависимости, полученные для инъекционной модели введения препаратов, то получатся следующие величины. Средняя концентрация глюкозамина при нанесении ТГК примерно в 1,6 раза ниже, чем при инъекционном введении, поэтому средняя концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости будет примерно во столько же раз ниже и составит величину 0,17 мкг/мл для здорового сустава. С учетом информации о том, что уровень максимальной концентрации глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного сустава примерно в 5 раз выше, чем в интактном [11], то среднюю концентрацию в синовиальной жидкости воспаленного сустава можно оценить величиной 0,8 – 0,9 мкг/мл. Если учитывать, что с каждым нанесением ТГК (примерно каждые 6 – 8 ч) концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного сустава будет восстанавливаться до максимально возможного уровня, то можно сделать вывод о том, что концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного сустава в этом случае будет практически поддерживаться на уровне 0,7 – 0,8 мкг/мл или в среднем 0,75 мкг/мл.

Таким образом, средняя расчетная концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного

сустава в течение курса лечения препаратом Хондроксид® Максимум, крем с ТКК (нанесение крема 3 раза в день в количестве 3 – 3,5 г в течение 14 дней), может быть оценена величиной 0,7 – 1,5 мкг/мл.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что при нанесении на кожу крысам линии Спраг-Дули препарата Хондроксид® Максимум (крем с глюкозамином) в дозе 400 мг/кг, 3 раза в день, ежедневно, в течение недели, количество глюкозамина, проникшего в плазму крови, составило 61,6 %, по сравнению с однократным внутримышечным введением 4 % раствора глюкозамина сульфата в дозе 400 мг/кг.

2. Средняя скорость диффузии глюкозамина при нанесении препарата Хондроксид® Максимум, крем с трансдермальным глюкозаминным комплексом, на кожу крысы в дозе 0,033 г/см² равна 26,9 мкг/см²/ч.

3. Расчетная средняя концентрация глюкозамина в синовиальной жидкости воспаленного сустава может составлять величину 0,7 – 1,5 мкг/мл, что в 10 – 75 раз выше концентрации эндогенного глюкозамина в синовиальной жидкости сустава человека (0,02 – 0,07 мкг/мл), сравнима с уровнем, достигаемым инъекционными формами глюкозамина и превышает до 2

раз уровень, достигаемый пероральными формами глюкозамина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Р. Д. Альтман, *Клин. фармакол.*, **2**(4), 359 – 371 (2009).
2. В. В. Береговых, Н. В. Пятигорская, Ю. А. Прудкевич, С. А. Кедик, *Вестник МИТХТ*, **7**(5), 17 – 22 (2012).
3. A. Sharma and S. Arora, *World J. Pharm. Pharm. Sci.*, **2**(6), 6448 – 6462 (2013).
4. Z. Liang, J. Leslie, A. Adebowale, et al., *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **20**(5), 807 – 814 (1999).
5. *Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств*, Ч. 1, Гриф и К, Москва (2012).
6. B. Van Ravenzwaay and E. Leibold, *Human Experim. Toxicol.*, **23**, 421 – 430 (2004).
7. C. G. Jackson, A. H. Plaas, J. D. Sandy, et al., *Osteoarthritis Cartilage*, **18**, 297 – 302 (2009).
8. M. Meulyzer, P. Vachon, F. Beaudry, et al., *Osteoarthritis Cartilage*, **16**(9), 973 – 979 (2008).
9. M. Meulyzer, P. Vachon, F. Beaudry, et al., *Osteoarthritis Cartilage*, **17**(2), 228 – 234 (2009).
10. S. Persiani, E. Roda, L. C. Rovati, et al., *Osteoarthritis Cartilage*, **13**(12), 1041 – 1049 (2005).
11. S. Persiani, R. Rotini, G. Trisolino, et al., *Osteoarthritis Cartilage*, **15**(7), 764 – 772 (2007).

Поступила 25.11.14

RELATIVE BIOAVAILABILITY AND PENETRATION OF GLUCOSAMINE AFTER TOPICAL TREATMENT BY HONDROXID® MAXIMUM TRANSDERMAL GLUCOSAMINE COMPLEX IN COMPARISON WITH ORAL, INJECTABLE ROUTES IN EXPERIMENT ON THE RATS

Blair Yasso¹, Yinghe Li², Asafov Alexander³, N. B. Melnikova⁴, I. V. Muchina⁵

¹ MB Research Laboratories, 1765 Wentz Road, Spinnerstown, PA 18968, USA, Blair Yasso, B. S., Study Director

² Alliance Pharma, Inc., 17 Lee Blvd, Malvern, PA 19355, USA, Yinghe Li, Bioanalytical Principal Investigator

³ Foura Pacific Pte Ltd, (Singapore), 35 Selegie Road #10-05, Parklane Shopping Mall, Singapore 188307, Asafov Alexander, R&D, CEO

⁴ Department of pharmaceutical chemistry of NSMA Russian Ministry of Health (Head of department — Professor, Dr. Melnikova N. B, Nizhny Novgorod, Rodionova str, 293)

⁵ Central Research Laboratory of NSMA Russian Ministry of Health (Head of Central Research Laboratory - Professor, Dr. Mukhina I. V., Nizhny Novgorod, Gagarin Avenue, 70)

A comparison of the relative bioavailability and intensity of penetration of glucosamine sulfate in oral, injection and topical administration of the dosage form Hondroxid® Maximum as a cream containing micellar system for transdermal delivery of glucosamine in the experiment by Sprague-Dawley rats was carried out. On the base on the pharmacokinetic profiles data of glucosamine in rat blood plasma with daily administration in 3 times a day for 1 week by cream Hondroxid® Maximum 400 mg/kg and the single injection solution of 4 % Glucosamine sulfate 400 mg/kg was found that the relative bioavailability was 61.6 %. Calculated penetration rate of glucosamine in the plasma through the rats skin in 4 hours, equal to 26.9 µg/cm² · h, and the penetration of glucosamine through the skin into the plasma after a single dose of cream in 4 hours was 4.12 %. Comparative analysis of literature and experimental data and calculations based on them suggest that medicine Hondroxid® Maximum, cream with transdermal glucosamine complex in the treatment in accordance with the instructions can provide an average concentration of glucosamine in the synovial fluid of an inflamed joint in the range (0.7 – 1.5) µg/ml, much higher than the concentration of endogenous glucosamine human synovial joint fluid (0.02 – 0.07 µg/ml). By theoretical calculations taking into account experimental data it is shown that the medicine Hondroxid® Maximum can reach the bioavailability level of the modern injection forms and exceed the bioavailability level of modern oral forms of glucosamine up to 2 times.

Key words: relative bioavailability; glucosamine sulfate; transdermal glucosamine complex; micellar transdermal delivery system.