

## ФАРМАКОКИНЕТИКА ОКСИЭТИЛАММОНИЯ МЕТИЛФЕНОКСИАЦЕТАТА У ЗДОРОВЫХ ДОБРОВОЛЬЦЕВ

<sup>1</sup>Шитов Л.Н., <sup>1</sup>Джурко Ю.А., <sup>1</sup>Шабров В.Н., <sup>1</sup>Петрова Л.М., <sup>2</sup>Кабанова И.А.,  
<sup>2</sup>Кабанов Д.О., <sup>3</sup>Малыгин А.Ю., <sup>3</sup>Жеребцова О.Н., <sup>3</sup>Овечкина Н.А.

<sup>1</sup>ООО «Квинта-Аналитика Ярославль», Ярославль, e-mail: L.schitov@qayar.ru;

<sup>2</sup>ООО «ФармДирект», Москва, e-mail: irinanova@yandex.ru;

<sup>3</sup>ГБУЗ ЯО «Ростовская центральная районная больница», Ростов, e-mail: rostovcrb@mail.ru

В пилотном клиническом исследовании на здоровых добровольцах получены данные о фармакокинетических свойствах оксиэтиламмония метилфеноксиацетата (ОМ), представляющего собой соль триэтанолamina (ТЭА) и 2-(2-метилфенокси)-уксусной кислоты (МФУК) и являющегося активным компонентом препаратов, обладающих иммуностимулирующей и адаптогенной активностью. Исследование проведено на трёх здоровых добровольцах мужского и женского пола, соответствующих общепринятым критериям включения в клинические исследования. Аналитическая часть исследования выполнена с использованием высокочувствительного и селективного метода высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandem-масс-спектрометрическим детектированием на системе Shimadzu LCMS-8060 (Shimadzu Corporation, Япония). Фармакокинетические расчёты проведены методами некомпартментного анализа в пакете программного обеспечения Phoenix™ WinNonlin® 8.3 (CERTARA, Pharsight, США). Показано, что ТЭА и МФУК при фармакокинетическом анализе могут рассматриваться как индивидуальные соединения. Были получены следующие значения фармакокинетических параметров ТЭА (среднее арифметическое  $\pm$  стандартное отклонение):  $C_{\max}$  893,1  $\pm$  158,4 нг/мл,  $T_{\max}$  1,00  $\pm$  0,50 ч,  $AUC_{0-1}$  6527,0  $\pm$  1691,0 нг·ч/мл,  $AUC_{0-\infty}$  6660,5  $\pm$  1630,8 нг·ч/мл,  $\lambda_z$  0,13148  $\pm$  0,03230 ч<sup>-1</sup>,  $T_{1/2}$  5,52  $\pm$  1,51 ч. Аналогичные показатели МФУК были равны:  $C_{\max}$  11,347  $\pm$  1,688 мкг/мл,  $T_{\max}$  0,58  $\pm$  0,38 ч,  $AUC_{0-1}$  50,707  $\pm$  25,206 мкг·ч/мл,  $AUC_{0-\infty}$  51,647  $\pm$  25,886 мкг·ч/мл,  $\lambda_z$  0,22784  $\pm$  0,13740 ч<sup>-1</sup>,  $T_{1/2}$  3,84  $\pm$  2,08 ч. Полученные результаты и применяемые методические подходы могут быть использованы при планировании и проведении будущих клинических исследований препаратов, содержащих ОМ.

**Ключевые слова:** фармакокинетика, оксиэтиламмония метилфеноксиацетат, триэтанолamin, 2-(2-метилфенокси)-уксусная кислота, клинические исследования, высокоэффективная жидкостная хроматография, tandemная масс-спектрометрия, некомпартментный анализ

## PHARMACOKINETICS OF OXYETHYLAMMONIUM METHYLPHENOXYACETATE IN HEALTHY VOLUNTEERS

<sup>1</sup>Shitov L.N., <sup>1</sup>Dzhurko Yu.A., <sup>1</sup>Shabrov V.N., <sup>1</sup>Petrova L.M., <sup>2</sup>Kabanova I.A.,  
<sup>2</sup>Kabanov D.O., <sup>3</sup>Malygin A.Yu., <sup>3</sup>Zherebtsova O.N., <sup>3</sup>Ovechkina N.A.

<sup>1</sup>LLC «Quinta-Analytica Yaroslavl», Yaroslavl, e-mail: L.schitov@qayar.ru;

<sup>2</sup>LLC «PharmDirect», Moscow, e-mail: irinanova@yandex.ru;

<sup>3</sup>PBHI YR «Rostov CDH», Rostov, e-mail: rostovcrb@mail.ru

In the pilot clinical trial in healthy volunteers the data about the pharmacokinetic properties of the drug oxyethylammonium methylphenoxyacetate (OM), the salt of triethanolamine (TEA) and 2-(2-methylphenoxy)-acetic acid (MPAA) with immunostimulating and adaptogenic properties was obtained. The study was conducted on three healthy volunteers (male and female) who met the generally accepted criteria for inclusion in clinical trials. The analytical part of the study was performed using a highly sensitive and selective method of high performance liquid chromatography with tandem mass spectrometric detection on a Shimadzu LCMS-8060 system (Shimadzu Corporation, Japan). Pharmacokinetic calculations were performed using non-compartmental analysis methods using the Phoenix™ WinNonlin® 8.3 software package (CERTARA, Pharsight, USA). It was shown that TEA and MPAA can be considered as individual compounds in pharmacokinetic analysis. The following values of the pharmacokinetic parameters of TEA were obtained (arithmetic mean  $\pm$  standard deviation):  $C_{\max}$  893,1  $\pm$  158,4 ng/mL,  $T_{\max}$  1,00  $\pm$  0,50 h,  $AUC_{0-1}$  6527,0  $\pm$  1691,0 ng·h/mL,  $AUC_{0-\infty}$  6660,5  $\pm$  1630,8 ng·h/mL,  $\lambda_z$  0,13148  $\pm$  0,03230 h<sup>-1</sup>,  $T_{1/2}$  5,52  $\pm$  1,51 h. Pharmacokinetic parameters of MPAA:  $C_{\max}$  11,347  $\pm$  1,688 µg/mL,  $T_{\max}$  0,58  $\pm$  0,38 h,  $AUC_{0-1}$  50,707  $\pm$  25,206 µg·h/mL,  $AUC_{0-\infty}$  51,647  $\pm$  25,886 µg·h/mL,  $\lambda_z$  0,22784  $\pm$  0,13740 h<sup>-1</sup>,  $T_{1/2}$  3,84  $\pm$  2,08 h. The obtained results and the applied methodological approaches can be used in planning and conducting future clinical trials of drugs containing OM.

**Keywords:** pharmacokinetics, oxyethylammonium methylphenoxyacetate, triethanolamine, 2-(2-methylphenoxy)-acetic acid, clinical trials, high-performance liquid chromatography, tandem mass spectrometry, non-compartmental analysis

Оксиэтиламмония метилфеноксиацетат (ОМ) является активным компонентом зарегистрированных в Российской Федерации препаратов «Трекрезан», «Трекресил», «Трекрезолид», обладающих иммуности-

мулирующей и адаптогенной активностью. ОМ стимулирует выработку  $\alpha$ - и  $\gamma$ -интерферонов, влияет на иммунный статус организма за счёт активации клеточного и гуморального звеньев иммунитета, сти-

мулирует фагоцитарную активность макрофагов [1–3]. В связи с широкой востребованностью в медицинской практике препаратов, обладающих указанными фармакологическими свойствами, проведение клинических исследований, направленных на глубокое и всестороннее изучение характеристик применяемых препаратов ОМ, является актуальной задачей. Важным аспектом клинических исследований лекарственных препаратов является оценка их фармакокинетических параметров; вместе с тем сведения, представленные в доступных источниках, недостаточны для формирования полного представления о фармакокинетике ОМ у человека. Исходя из изложенного, в задачи выполненной работы входила оценка фармакокинетики ОМ в рамках пилотного клинического исследования на минимальном числе субъектов с дальнейшим использованием полученной информации для планирования будущих исследований, включая сравнительные исследования фармакокинетики, проводимые в рамках разработки и регистрации воспроизведённых лекарственных препаратов. Поскольку ОМ представляет собой соль, образованную органическим основанием (триэтаноламин, ТЭА) и органической кислотой (2-(2-метилфенокси)-уксусная кислота, МФУК), исследование выполнено исходя из предположения о том, что в биологических средах происходит диссоциация ОМ и возможно измерение концентраций ТЭА и МФУК как индивидуальных соединений (рис. 1).

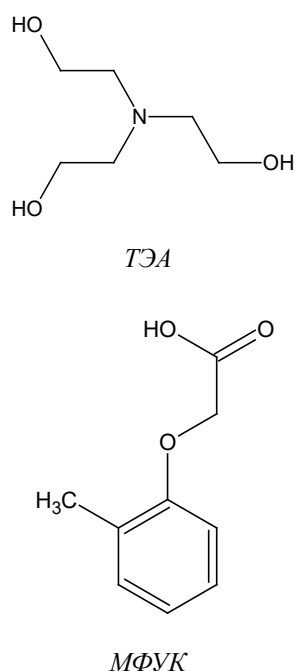


Рис. 1. Структурные формулы ТЭА и МФУК

Целью представленного исследования является оценка фармакокинетических параметров оксиэтиламмония метилфеноксиацетата у здоровых добровольцев при однократном пероральном приёме в форме таблеток.

### Материалы и методы исследования

В исследование были включены три добровольца (двое мужчин и одна женщина) в возрасте от 23 до 32 лет, клинически здоровые, с нормальными показателями физического обследования, без отклонений в показателях клинического и биохимического анализов крови и клинического анализа мочи, с отрицательными тестами на ВИЧ, гепатиты В и С, сифилис, COVID-19, наркотические и сильнодействующие вещества и алкоголь (а также отрицательный тест на беременность для субъекта женского пола), не осуществлявших донорскую сдачу крови в течение предшествующих двух месяцев, не принимающих участия в других клинических исследованиях, не принимавших за последние 60 дней лекарственных препараты, оказывающие выраженное влияние на гемодинамику, функцию печени и другие системы, не принимавших за последние 72 часа алкоголь, пищу и напитки, содержащие метилксантины (чай, кофе, кола, энергетические напитки, шоколад), а также цитрусовые и клюкву (включая соки, морсы).

Добровольцы принимали натошак препарат «Трекрезан», таблетки, 200 мг, производитель АО «Фармпроект», Россия.

Отбор проб крови для оценки фармакокинетики осуществлялся в следующие моменты времени: 0 минут (до приёма препарата), через 15 мин, 30 мин, 45 мин, 1 ч, 1 ч 30 мин, 2 ч, 3 ч, 4 ч, 6 ч, 9 ч, 12 ч, 18 ч, 24 ч, 48 ч, 72 ч после приёма препарата (всего 16 отборов проб). Кровь отбирали с помощью постоянного катетера, установленного в вену, в вакуумные центрифужные пробирки объёмом 5 мл, содержащие трикалиевую соль этилендиаминтетрауксусной кислоты ( $K_3$ ЭДТА) в качестве антикоагулянта. После отбора крови образцы центрифугировали при температуре  $+4\text{ }^{\circ}\text{C}$ , полученную плазму помещали в криопробирки, замораживали и хранили при температуре не выше  $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$ .

В качестве аналитического стандартного образца для количественного определения ТЭА и МФУК использовали оксиэтиламмония метилфеноксиацетат, субстанция-порошок; производитель АО «Активный компонент» (Россия), серия АКП 750921, дата производства 09.2021, годен до 10.2023.

Подготовку проб осуществляли методом осаждения белков (депротеинизации). К аликвоте плазмы объёмом 100 мкл добавляли 400 мкл ацетонитрила, перемешивали, подвергали центрифугированию, надосадочную жидкость использовали для анализа.

Количественное определение ТЭА и МФУК было выполнено с помощью системы высокоэффективной жидкостной хроматографии с tandemным масс-спектрометрическим детектором Shimadzu LCMS-8060 (Shimadzu Corporation, Япония). В связи с выраженными различиями физико-химических свойств рассматриваемых веществ проводился отдельный анализ с использованием индивидуальных аналитических методик.

Хроматографическая колонка Luna 3  $\mu\text{m}$  HILIC 200Å, 150 x 3.0 mm (Phenomenex), компоненты подвижной фазы: ацетонитрил, 40 mM формиат аммония, вода деионизированная ультрачистая; ионизация электро-распылением; детектирование в режиме мониторинга выбранных реакций превращения иона прекурсора в дочерние ионы:  $m/z$  150  $\rightarrow$  70, 150  $\rightarrow$  88, 150  $\rightarrow$  132, полярность – положительная. Диапазон измеряемых концентраций ТЭА: 5 – 3750 нг/мл.

Хроматографическая колонка Luna 5  $\mu\text{m}$  C18 100Å, 100 x 4.6 mm (Phenomenex), компоненты подвижной фазы: метанол, 0,1% муравьиная кислота, вода деионизированная ультрачистая; ионизация электро-распылением; детектирование в режиме мониторинга выбранных реакций превращения иона прекурсора в дочерний ион:  $m/z$  166  $\rightarrow$  107, полярность – отрицательная. Диапазон измеряемых концентраций МФУК: 0,05 – 15 мкг/мл.

Расчёты концентраций выполнены по уравнению калибровочного графика (8 калибровочных точек) с использованием линейной функции.

Расчёты фармакокинетических параметров и статистическая обработка данных выполнены с использованием пакета программного обеспечения Phoenix<sup>TM</sup> WinNonlin<sup>®</sup> 8.3 (CERTARA, Pharsight, США). Методами некомпартментного анализа рассчитаны следующие фармакокинетические параметры:  $C_{\text{max}}$  – максимальная концентрация в плазме,  $T_{\text{max}}$  – время достижения максимальной концентрации,  $AUC_{0-t}$  – площадь под фармакокинетической кривой «концентрация – время» от момента приёма препарата до времени последнего отбора крови, при котором концентрация препарата равна или выше нижнего предела количественного определения,  $AUC_{0-\infty}$  – площадь под кри-

вой «плазменная концентрация – время» с момента приёма препарата до бесконечности, отношение  $AUC_{0-t} / AUC_{0-\infty}$ ,  $\lambda_z$  – константа скорости терминальной элиминации,  $T_{1/2}$  – период полувыведения из плазмы. Графические иллюстрации фармакокинетических профилей построены с помощью Microsoft Excel 2016.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Все включённые добровольцы завершили исследование, нежелательные явления отсутствовали. Образцы плазмы крови были отобраны и проанализированы согласно запланированным процедурам.

На рис. 2 представлены примеры хроматограмм ТЭА и МФУК: образцы blankовой (интактной) плазмы, полученные от здоровых доноров, не принимающих лекарственных препараты, и модельные калибровочные образцы на уровне нижнего предела количественного определения (НПКО) и верхнего предела количественного определения (ВПКО). На хроматограммах blankовых образцов отсутствуют значимые пики в области времени удерживания аналитов, что свидетельствует о достаточной селективности аналитических методик. В диапазонах измеряемых концентраций наблюдалась линейная зависимость площади хроматографических пиков от концентраций аналитов; расчётные значения концентраций калибровочных образцов находились в пределах 15% от номинальных.

В табл. 1 и 2 приведены фармакокинетические параметры ТЭА и МФУК, рассчитанные по результатам выполненных измерений концентраций.

На рис. 3 и 4 представлены усреднённые фармакокинетические кривые; данные кривые имеют профиль, характерный для однократного перорального приёма, включающий фазу абсорбции (нарастания концентрации), достижения максимального значения концентрации с последующим снижением (фаза элиминации). На фармакокинетических кривых отсутствуют какие-либо специфические особенности (не наблюдается мультипикового характера кривой, многостадийной элиминации, признаков энтерогепатической циркуляции и т.п.).

Полученные результаты подтверждают исходно сформулированное предположение о том, что при фармакокинетическом анализе ТЭА и МФУК могут рассматриваться как индивидуальные соединения.

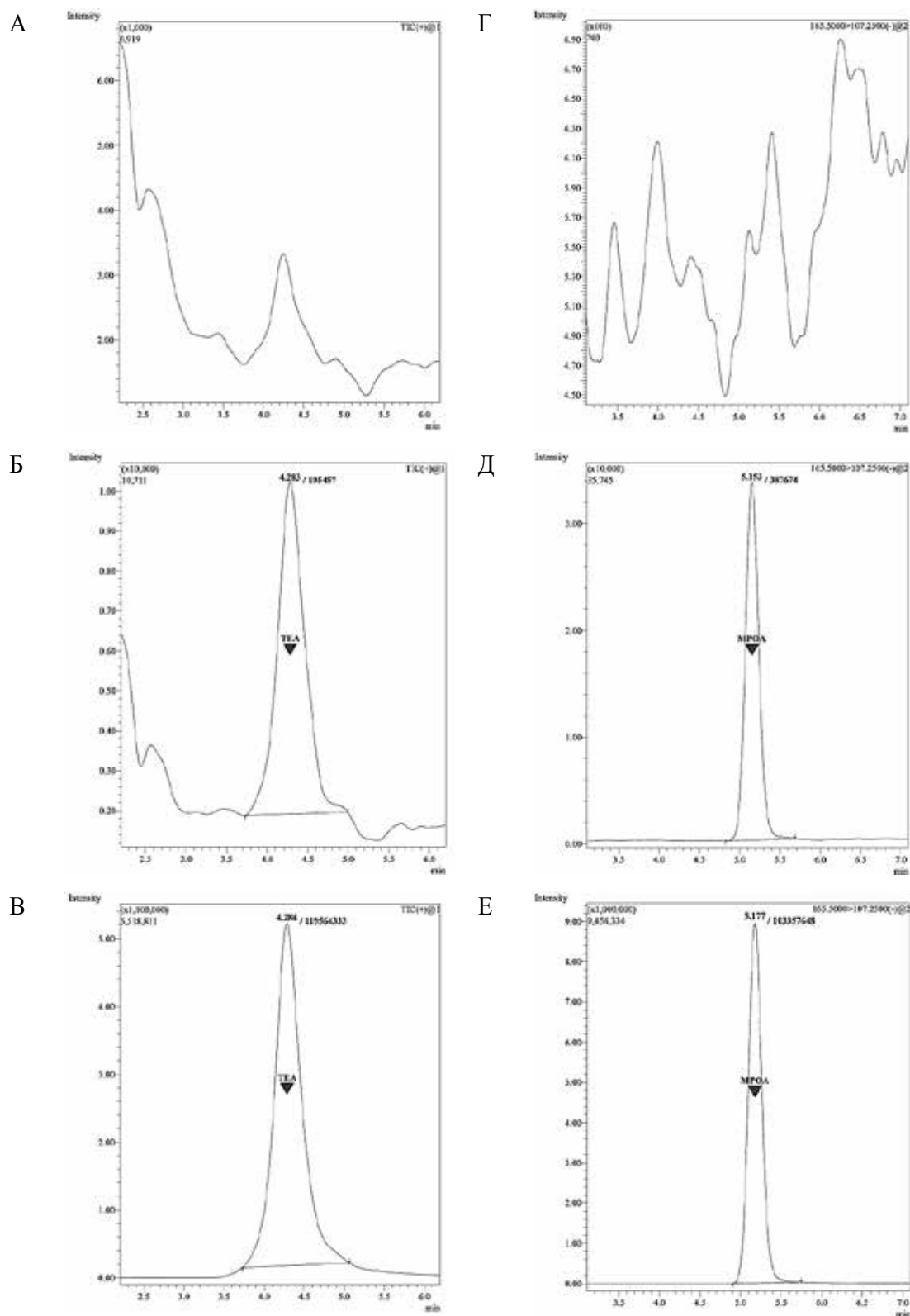


Рис. 2. Примеры хроматограмм ТЭА и МФУК: А, Г – бланковые образцы; калибровочные образцы: Б – 5 нг/мл ТЭА (НПКО), В – 3750 нг/мл ТЭА (ВПКО), Д – 0,05 мкг/мл МФУК (НПКО), Е – 15 мкг/мл МФУК (ВПКО)

Таблица 1

## Фармакокинетические параметры ТЭА

№ добр.	$C_{\max}$ , нг/мл	$T_{\max}$ , ч	$AUC_{0-t}$ , нг·ч/мл	$AUC_{0-\infty}$ , нг·ч/мл	$AUC_{0-t} /$ $AUC_{0-\infty}$	$\lambda_z$ , ч <sup>-1</sup>	$T_{1/2}$ , ч
01	1065,8	1,00	8456,9	8509,2	99,38	0,09597	7,22
02	754,4	0,50	5304,6	5426,0	97,76	0,15909	4,36
03	859,2	1,50	5819,5	6046,2	96,25	0,13938	4,97
M	893,1	1,00	6527,0	6660,5	97,80	0,13148	5,52
SD	158,4	0,50	1691,0	1630,8	1,57	0,03230	1,51
%CV	17,74	50,00	25,91	24,48	1,60	24,56	27,34

M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение, % CV – коэффициент вариации

Таблица 2

## Фармакокинетические параметры МФУК

№ добр.	$C_{\max}$ , мкг/мл	$T_{\max}$ , ч	$AUC_{0-t}$ , мкг·ч/мл	$AUC_{0-\infty}$ , мкг·ч/мл	$AUC_{0-t} /$ $AUC_{0-\infty}$	$\lambda_z$ , ч <sup>-1</sup>	$T_{1/2}$ , ч
01	11,171	1,00	64,953	65,726	98,82	0,18645	3,72
02	9,753	0,25	21,603	21,774	99,22	0,38118	1,82
03	13,116	0,50	65,563	67,443	97,21	0,11590	5,98
M	11,347	0,58	50,707	51,647	98,42	0,22784	3,84
SD	1,688	0,38	25,206	25,886	1,06	0,13740	2,08
%CV	14,88	65,47	49,71	50,12	1,08	60,31	54,28

M – среднее арифметическое, SD – стандартное отклонение, % CV – коэффициент вариации

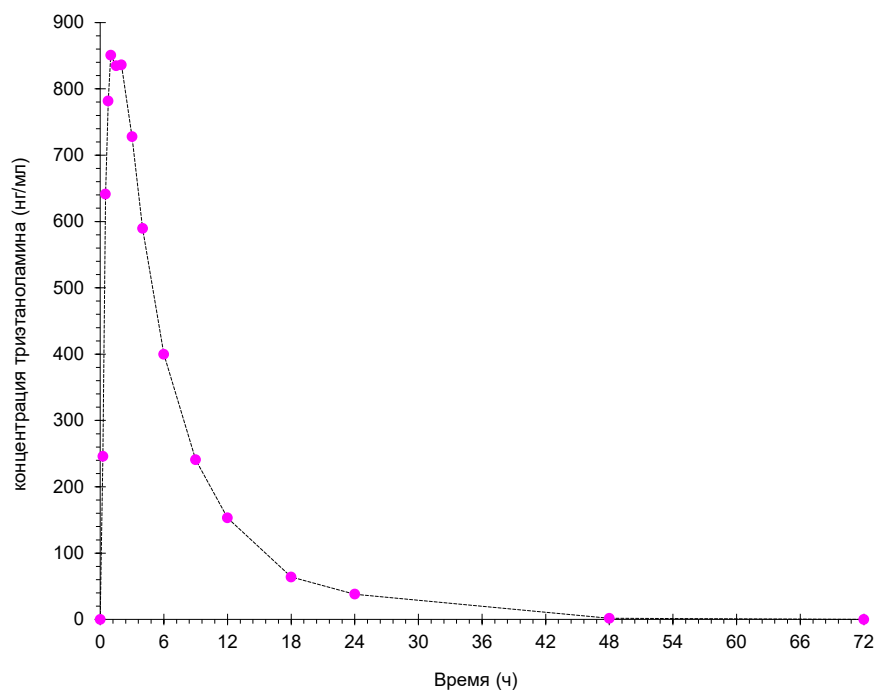


Рис. 3. Усреднённая фармакокинетическая кривая ТЭА

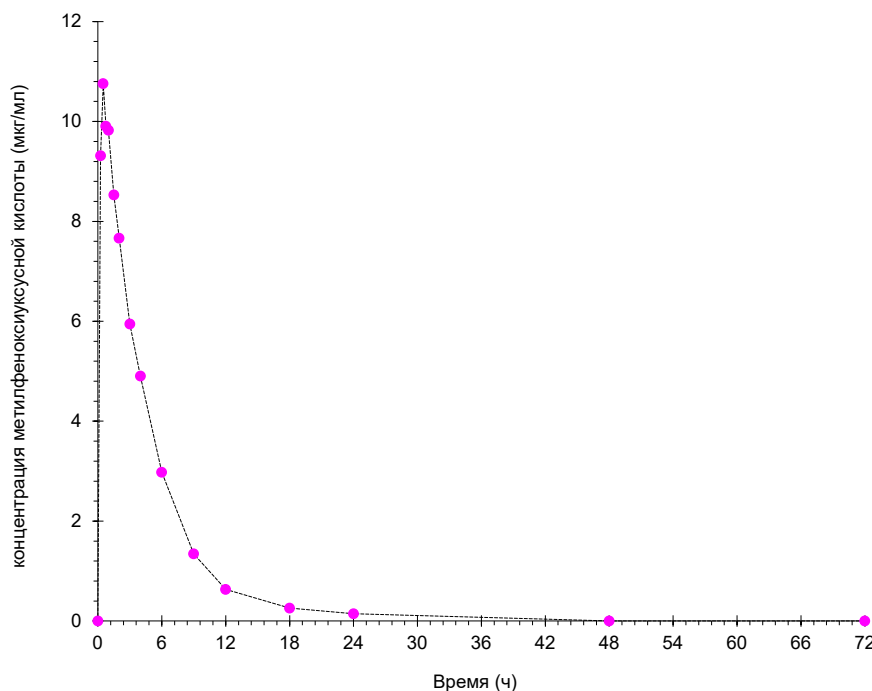


Рис. 4. Усреднённая фармакокинетическая кривая МФУК

Наблюдаемые концентрации МФУК более чем в 10 раз превышают концентрации ТЭА: средние значения  $C_{\max}$  составляют 11,347 мкг/мл и 0,8931 мкг/мл (893,1 нг/мл) для МФУК и ТЭА соответственно. При этом ТЭА характеризуется более медленным всасыванием и выведением по сравнению с МФУК: средние значения  $T_{\max}$  составляют 1,00 ч и 0,58 ч для ТЭА и МФУК соответственно, средние значения  $T_{1/2}$  — 5,52 ч и 3,84 ч для ТЭА и МФУК соответственно. В течение периода наблюдения 72 ч наблюдается полная элиминация обоих соединений. Исходя из полученных данных, достаточный период отбора проб для полного описания фармакокинетических кривых ТЭА и МФУК составляет 48 ч.

### Заключение

В выполненной работе получены сведения, уточняющие недостаточно описанные в ранее опубликованной литературе параметры фармакокинетики ОМ. Применяемая биоаналитическая методология соответствует поставленным задачам, обладая достаточными параметрами чувствительности и селективности. Данные результаты

и методические подходы могут быть использованы при планировании и проведении будущих клинических исследований препаратов, содержащих ОМ, с учётом актуальных требований Надлежащей клинической практики (GCP) и регуляторных документов [4, 5].

### Список литературы

1. Трекрезан. Таблетки. Инструкция по применению лекарственного препарата для медицинского применения. МЗ РФ. ЛСР-008909/09-250316.
2. Шабанов П.Д., Зарубина И.В., Мокренко Е.В. Фармакология трекрезана — нового иммуномодулятора и адаптогена // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. 2014. Т. 12. № 2. С. 12–27.
3. Шабанов П.Д., Мокренко Е.В. Новый иммуномодулятор и адаптоген трекрезан как средство профилактики и лечения простудных воспалительных заболеваний // Вестник Смоленской государственной медицинской академии. 2014. Т. 13. № 2. С. 61–65.
4. Решение Совета Евразийской экономической комиссии от 3 ноября 2016 г. № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза» [Электронный ресурс]. URL: <https://www.alt.ru/tamdoc/16sr0085/> (дата обращения: 10.01.2022).
5. Руководство по экспертизе лекарственных средств. Том I. М.: Гриф и К, 2013. 328 с.