

مجله دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، جلد سوم، شماره (۱) بهار، تابستان ۱۳۷۲

## بررسی کنیتیک و میزان جذب فرآورده های مختلف تزریقی جنتامایسین در خرگوش

دکتر مژگان بیژن زاده\* - دکتر مسعود محمودیان - مرتضی فرزین معتمد - آرم خسروی  
مرکز تحقیقات دارویی داروپخش - صندوق پستی ۸۷۷-۱۳۱۸۵ تهران - ایران

### خلاصه

جنتامایسین (GM) از دسته آنتی بیوتیک های آمینوگلیکوزیدی دارای عوارض جانبی شدید و اندکس درمانی پایینی است. ارتباط بین غلظت این دارو با بروز اثرات سمی نظیر سمیت گوش و سمیت کلیوی آن به اثبات رسیده است و حداکثر غلظت سرمی نباید به بیش از ۱۲ الی ۱۵ میکروگرم در میلی لیتر برسد. در این مطالعه فراهمی زیستی و پارامترهای فارماکوکینتیکی این دارو پس از تجویز آمپول ژنریک جنتامایسین ۱۰ میلی گرم در میلی لیتر، GM/G در مقایسه با فرآورده مشابه خارجی ۴۰ میلی گرم در میلی لیتر GM/B بصورت عضلانی در خرگوش، بررسی شده است.

در ۸ خرگوش بالغ و سالم با دامنه وزنی ۲/۷۵ - ۱/۵ کیلوگرم جنتامایسین در دوز درمانی ۲/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم با تزریق عضلانی تجویز شد و نمونه های سرمی در زمانهای مختلف جمع آوری گردید. برای تعیین مقدار جنتامایسین در سرم از روش EMIT استفاده شد. نتایج بدست آمده نشان می دهد که مدل فارماکوکینتیکی این دارو یک مدل ۲ بخشی است و پارامترهای فارماکینتیکی که با استفاده از برنامه کامپیوتری محاسبه گردید نشان می دهد که:

۱- نیمه عمر دفعی  $t_{1/2} \text{ elim} = 1/2$  برای GM/G ۱/۵۷ ساعت و برای GM/B ۱/۱۳ ساعت می باشد. نیمه عمر پخش  $t_{1/2} \text{ dis}$  برای GM/G ۰/۵۸ ساعت و برای GM/B ۰/۵ ساعت می باشد.

۲- حداکثر غلظت پلاسمایی  $CP_{max}$  حاصل از تجویز جنتامایسین GM/G ۷/۵۱ میکروگرم در میلی لیتر برای جنتامایسین GM/B ۸/۰۸ میکروگرم در میلی لیتر می باشد.

۳- زمان رسیدن به حداکثر غلظت پلاسمایی  $T_{max}$  حاصل از تجویز GM/G ۰/۳۷ ساعت و برای فرآورده GM/G ۰/۳۰ ساعت است.

۴- ۴ AUC میزان سطح زیر منحنی تا ۴ ساعت و  $Auc \text{ inf}$  میزان سطح زیر منحنی تا بی نهایت برای فرآورده GM/G، به ترتیب ۱۱/۹۴، ۱۱/۳۲ میکروگرم در میلی لیتر ساعت است. که همین مقادیر برای جنتامایسین GM/G، به ترتیب عبارتست از ۱۰/۱۷، ۱۰/۴۸ میکروگرم در میلی لیتر ساعت می باشد.

با آنالیز آماری T-test این پارامترها، اختلاف معنی دار بین ۲ فرآورده مشاهده نشد و این دو فرآورده با یکدیگر قابل مقایسه هستند.

### مقدمه

امروزه آنتی بیوتیک های آمینوگلیکوزیدی بطور عمده ای در درمان عفونت های گرم منفی بکار می روند. مکانیسم اثر آنها عبارت از تداخل با سنتز پروتئین در میکروارگانیسم های حساس

است. مقاومت نسبت به این آنتی بیوتیک ها از طریق موتاسیون و همچنین از طریق Acquisition یک پلاسمید و آنزیم های متابولیزه کننده دارو ایجاد می شود. از محدودیت های مصرف این آنتی بیوتیک ها عوارض

۱ - غلظت سرمی جنتامایسین با اثر ضد میکروبی آن بیشتر مرتبط است تا به میزان دوز مصرفی .

۲ - دوز استاندارد جنتامایسین همیشه نمی تواند غلظت معینی در پلاسما ایجاد کند زیرا غلظت دارو به حجم توزیع دارو در بیمار و میزان دفع دارو بستگی دارد. این عوامل تحت اثر نحوه مصرف و تجویز دارو، حجم مایع خارج سلولی، عملکرد کلیوی و تغییرات فیزیولوژی حین درمان دارد.

۳ - جنتامایسین دارای اندکس درمانی پایینی می باشد.

۴ - غلظت های بالای این دارو در خون به مدت طولانی باعث اختلال کلیوی و سمیت گوش می شود.

۵ - بیمارانی که اختلال کلیوی دارند باید میزان غلظت دارو در خون تعیین شود تا اختلال کلیوی با عوارض سمیت حاصل از دارو در روی کلیه ها تشخیص داده شود.

از آنجایی که مواد حامل دارویی و حلالیت آن در میزان و سرعت جذب عضلانی دارو تأثیر بسزایی دارد لذا مطالعه حاضر جهت بررسی فراهمی زیستی و تعیین پارامترهای فارماکوکینتیکی این دارو پس از تجویز فرآورده ژنریک جنتامایسین  $10 \text{ GM/G}$  میلی گرم در میلی لیتر با فرآورده مشابه خارجی جنتامایسین  $40 \text{ GM/B}$  میلی گرم در میلی لیتر انجام گرفته است و به عنوان مدل آزمایشگاهی نزدیک به انسان، از خرگوش جهت تزریق عضلانی این دارو استفاده شده است. (۱۱ و ۱۳ و ۲).

#### بخش تجربی

برای تعیین فراهمی زیستی جنتامایسین در خرگوش، به ۸ خرگوش بالغ و سالم با دامنه وزنی  $2/75 - 1/5$  کیلوگرم، فرآورده ژنریک جنتامایسین  $10 \text{ GM/G}$  میلی گرم در میلی لیتر و فرآورده مشابه خارجی آمپول جنتامایسین  $40 \text{ GM/B}$  میلی گرم در میلی لیتر در دوزهای  $2/5$  میلی گرم در کیلوگرم با تزریق عضلانی تجویز شد. خرگوش ها پس از توزین و تزریق عضلانی در قفس مخصوص خونگیری قرار داده شدند و نمونه های خونی در زمانهای ۱۰ و ۲۰ و ۳۰ و ۶۰ و ۹۰ و ۱۲۰ و ۱۵۰ و ۱۸۰ و ۲۱۰ و ۲۴۰ دقیقه پس از تسجوز دارو از طریق وریدگوشی جمع آوری گردید. نمونه های خونی در لوله های غیر هپارینه در  $1500 \text{ rpm}$  بمدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد و سرم آن جدا گردید و تا زمان انجام آزمایش در ۲۰ - بصورت یخ زده

سمی شدید آنها می باشد که از مهمترین آنها، عوارض سمی گوش غیر قابل برگشت Irreversible ototoxicity با اثر روی عصب هشتم شنوایی و عوارض nephrotoxicity که بدلیل تجمع زیاد در کلیه و ایجاد نکروز در لوله های پروکسیمال ایجاد می شود (۱) را می توان نام برد.

جنتامایسین دارای اندکس درمانی پایینی است. کمترین غلظت پلاسمایی موثر آن ۴ میلی گرم در میلی لیتر می باشد که پس از تزریق عضلانی ۱ میلی گرم در میلی لیتر این دارو حاصل می شود بدلیل عوارض سمی شدید غلظت آن نباید از ۱۲ الی ۱۵ میلی گرم در میلی لیتر تجاوز کند و در حالت تعادل غلظت آن نباید از ۲ میلی گرم در میلی لیتر کمتر باشد. اختلافات بین فردی در غلظت پلاسمایی این دارو نیز گزارش شده است. جنتامایسین جذب گوارشی ناچیزی دارد ولی اخیراً شیافهایی از این دارو بر پایه های اسید چرب با زنجیر متوسط و گلیسیریدها برای افزایش جذب گزارشی فرموله شده است (۲). در تزریق عضلانی شدت جذب یا F در انسان بین ۶۰ تا ۹۹ درصد گزارش شده است و عواملی مانند محل تزریق، میزان گردش خون محیط و تزریق های قبل در آن محل، در کاهش یا افزایش جذب عضلانی جنتامایسین مؤثر هستند و بطور کلی جذب عضلانی دارو سریع ولی غیر کامل می باشد. ۹۰ درصد این دارو از طریق کلیه دفع می شود.

مدل فارماکوکینتیکی این دارو یک مدل ۲ بخشی است (۳) و فارماکوکینتیک این دارو در حیوانات مختلف نیز بررسی شده است. حجم توزیع آن در انسان  $0/25$  لیتر بر کیلوگرم (۴) در اسب  $0/24$  لیتر بر کیلوگرم و  $10/17$  لیتر بر کیلوگرم، (۴ و ۵) در گوسفند  $0/19$  لیتر بر کیلوگرم و  $0/16$  لیتر بر کیلوگرم (۷ و ۸) گزارش شده است.

زمان رسیدن به حداکثر غلظت پلاسمایی در انسان ۳۰ تا ۶۰ دقیقه (۹)، در اسب ۳۰ تا ۶۰ دقیقه (۹)، در گوسفند ۱۵ تا ۴۵ دقیقه (۹) و در سگ ۶۰ دقیقه (۹) گزارش شده است. میزان نیمه عمر در انسان  $1/5$  تا ۴ ساعت، در گوسفند  $1/42$  ساعت، در گربه  $0/33$  تا  $0/68$  ساعت (۱۰) و در خرگوش  $0/45$  ساعت (۱۱) گزارش شده است.

برای اطمینان از درمان کافی و لازم این آنتی بیوتیک، اندازه گیری غلظت آن در سرم مؤثرترین روش به علل زیر می باشد:

داروهای تزریقی و مورد مصرف در اطفال از نظر اخلاقی امکان انجام آن در انسان وجود ندارد با توجه به یکسان بودن جذب عضلانی در حیوانات و انسان استفاده از مدل‌های حیوانی توصیه می‌شود و از این میان خرگوش بدلیل سهولت تجویز دارو و نگهداری و کار کردن، سهولت خون‌گیری و مدت زمان کمتر، مدل حیوانی مناسبی می‌باشد.

به ۸ خرگوش بالغ و سالم جنتامایسین در دوز درمانی ۲/۵ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم از آمپول جنتامایسین GM/B و جنتامایسین GM/B با تزریق عضلانی تجویز شد و سطح خونی آنها تعیین گردید و از این نتایج میانگین سطح خونی در زمانهای مختلف محاسبه شد (شکل شماره ۲). آنالیز این اعداد توسط کامپیوتر با برنامه‌های Dknt انجام گرفته است و پارامترهای مختلف فارماکوکینتیک برای هر نمونه بدست آمده است. میانگین و آنالیز پارامترهای فارماکوکینتیک در تجویز هر ۲ فرآورده در جدول شماره ۱ آمده است.

بررسی فارماکوکینتیک جنتامایسین در حیوانات مختلف از جمله خرگوش، گربه، گوسفند و اسب و سگ قبلاً گزارش شده است (۱۱ و ۱۰ و ۹ و ۸ و ۷ و ۶). نیمه عمر جنتامایسین در گربه بین ۰/۳۳ تا ۰/۵۸ ساعت، برای خرگوش ۰/۷۵ ساعت و برای سگ ۱/۰۳ ساعت گزارش شده است که تفاوت چندانی با مطالعه ماندارد. مدل فارماکوکینتیکی جنتامایسین در خرگوش یک مدل ۲ بخشی می‌باشد. البته گزارش‌هایی نیز مبنی بر ۳ بخشی بودن مدل فارماکوکینتیکی این دارو در حیوانات دیگر گزارش شده است (۶). در گربه، گوسفند سگ و اسب نیز مدل فارماکوکینتیکی یک مدل ۲ بخشی گزارش شده است. در مطالعه حاضر نیز مدل فارماکوکینتیکی بهترین تطابق را باداده‌های تجربی دارد و یک مدل ۲ بخشی می‌باشد. از مقایسه پارامترهای بدست آمده پس از تجویز جنتامایسین داخلی و جنتامایسین فرآورده خارجی نتایج زیر (جدول شماره ۲) حاصل می‌گردد:

۱-  $CP_{max}$  حداکثر غلظت پلاسمایی حاصل از تجویز جنتامایسین GM/G ۷/۸۳ میکروگرم در میلی‌لیتر و برای جنتامایسین GM/B ۸/۳۸ میکروگرم در میلی‌لیتر می‌باشد.

۲-  $T_{max}$  زمان لازم برای رسیدن به حداکثر غلظت پلاسمایی حاصل از تجویز GM/G ۰/۴۰ ساعت و برای GM/B ۰/۳۸ می‌باشد.

نگهداری شد. برای تعیین مقدار جنتامایسین در سرم از روش Enzyme Multiple Immunoassay Technique (EMIT(syva) استفاده شد (۱۴) و منحنی استاندارد در غلظتهای صفر تا ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر جنتامایسین در هر بار آنالیز نمونه‌ها اندازه‌گیری شده است. پس از تعیین مقدار جنتامایسین در سرم هر خرگوش در زمانهای صفر تا ۴ ساعت پس از تجویز دارو یا برنامه Enzstcur غلظت دارو در خون بدست آمد. غلظتهای سرمی بدست آمده برحسب زمان برابر هر نمونه با برنامه‌های Dknt (۱۲) مورد آنالیز قرار گرفته و پارامترهای فارماکوکینتیک برای هر حیوان جداگانه تعیین شد. آنگاه میانگین هر پارامتر فارماکوکینتیک برای هر ۲ فرآورده GM/G , GM/B محاسبه شد و مورد آنالیز آماری T . test قرار گرفت.

### نتیجه و بحث

الف - اندازه‌گیری جنتامایسین در سرم به روش EMIT و منحنی استاندارد - همانطور که گفته شد برای تعیین مقدار جنتامایسین در سرم از روش Enzyme Multiple Immunoassay Technique با استفاده از دستگاه (Syva) EMIT و کیت‌های تجارتي مربوطه بدلیل آنزیمی بودن واکنش و تبعیت از قانون میکائیلیس منتون خطی نبوده و با برنامه کامپیوتری Enzstcur محاسبه شده است. (شکل شماره ۱) (۱۲)

ب - فراهمی زیستی آمپول جنتامایسین در خرگوش - گزارشات نشان می‌دهد که خرگوش برای مطالعه داروهای تزریقی، مدل مناسبی است. زیرا با توجه به محل جذب، در تزریق عضلانی فقط سیستم عروقی محل عطله مطرح می‌باشد که در همه حیوانات کم و بیش قابل مقایسه هست و بنابراین جذب در خرگوش و انسان از این طریق نباید تفاوت چندانی داشته باشد و از طرف دیگر چون تجویز دارو به میزان میلی‌گرم در کیلوگرم انجام می‌گیرد. تفاوت بین حجم فضای میان بافتی عضلانی و خرگوش و انسان مطرح نخواهد بود و حجم تزریق متناسب با آن می‌باشد (۱۱ و ۲). مدل مناسب حیوانی دیگر گربه می‌باشد که توسط بعضی از محققین بکار گرفته شده است (۱۳) ولی بدلیل امتیازات و سهولت کار با خرگوش و نگاهداری آن و سهولت خون‌گیری از وریدگوشی در این مطالعه از خرگوش استفاده شد. از طرف دیگر، در مطالعات فراهمی زیستی

و بیک غلظت پلاسمایی حدود ۰/۵ ساعت بعد حاصل می شود. مدل فارماکوکینتیکی ۲ بخشی است با پخش سریع و دفع طولانی، حداکثر غلظت پلاسمایی با دوز منفرد ۲/۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم حدود ۱۰ میکروگرم در میلی لیتر می باشد.

در آنالیز آماری T.test پارامترهای فارماکوکینتیکی ۲ فرآورده جنتامایسین GM/G و جنتامایسین GM/B (جدول ۲) اختلاف معنی دار و بین ۲ فرآورده مشاهده نشد و این ۲ فرآورده با یکدیگر قابل مقایسه هستند.

۳ -  $t_{1/2} \text{ elim}$  نیمه عمر دفعی برای ۱۰/۵۷ GM/G ساعت و برای ۱/۱۳ GM/B ساعت می باشد.  $t_{1/2} \text{ dis}$  نیمه عمر پخش برای ۰/۸۵ GM/G ساعت و برای ۰/۴۵ GM/B ساعت می باشد.

۴ - میزان سطح زیر منحنی ناساعت ۴ AUC 4 میزان سطح زیر منحنی تا بی نهایت AUCinf برای فرآورده GM/G به ترتیب ۱۰/۶۲ و ۱۰/۸۷ میکروگرم در میلی لیتر ساعت فرآورده GM/B به ترتیب ۱۰/۳۰ و ۱۰/۳۷ میکروگرم در میلی لیتر ساعت می باشد.

بطور کلی جذب عضلانی این دارو بسیار سریع می باشد

Parameter	Ke	Kd	Ka	T 1/2 elim.	T 1/2 dis.	Lag time	T max	Cp max	AUC 4	AUC inf.
Sample					h.	h.	h.	h.	mg/L/h	mgL/h
GM/G	0.44	0.81	7.75	1.57	0.5	0.01	0.37	7.51	10.94	11.32
GM/B	0.61	1.54	3.45	1.13	0.45	0.50	0.30	8.08	10.17	10.48

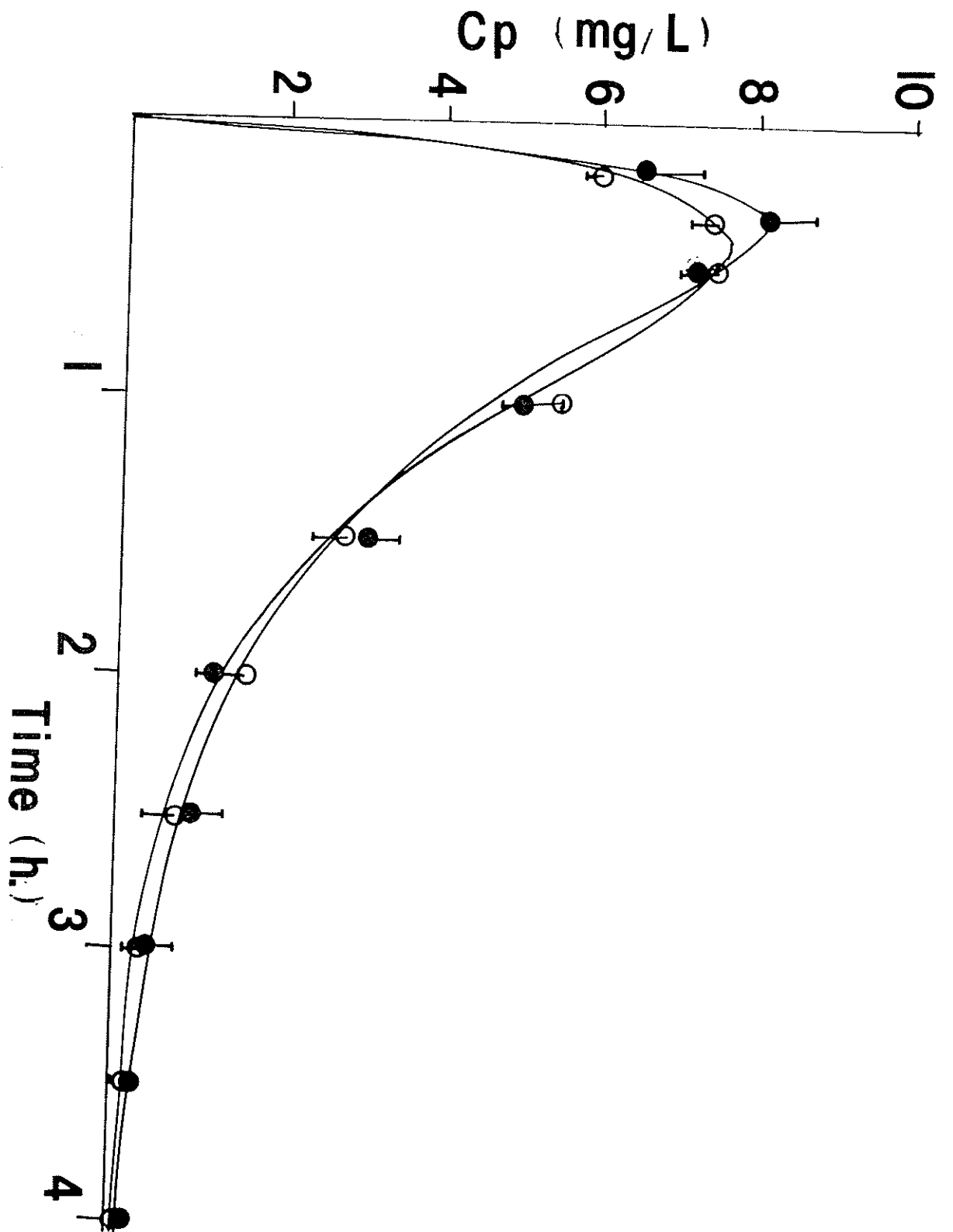
جدول شماره ۱ - پارامترهای فارماکوکینتیکی فرد معدل mean subject حاصل از تجویز عضلانی جنتامایسین

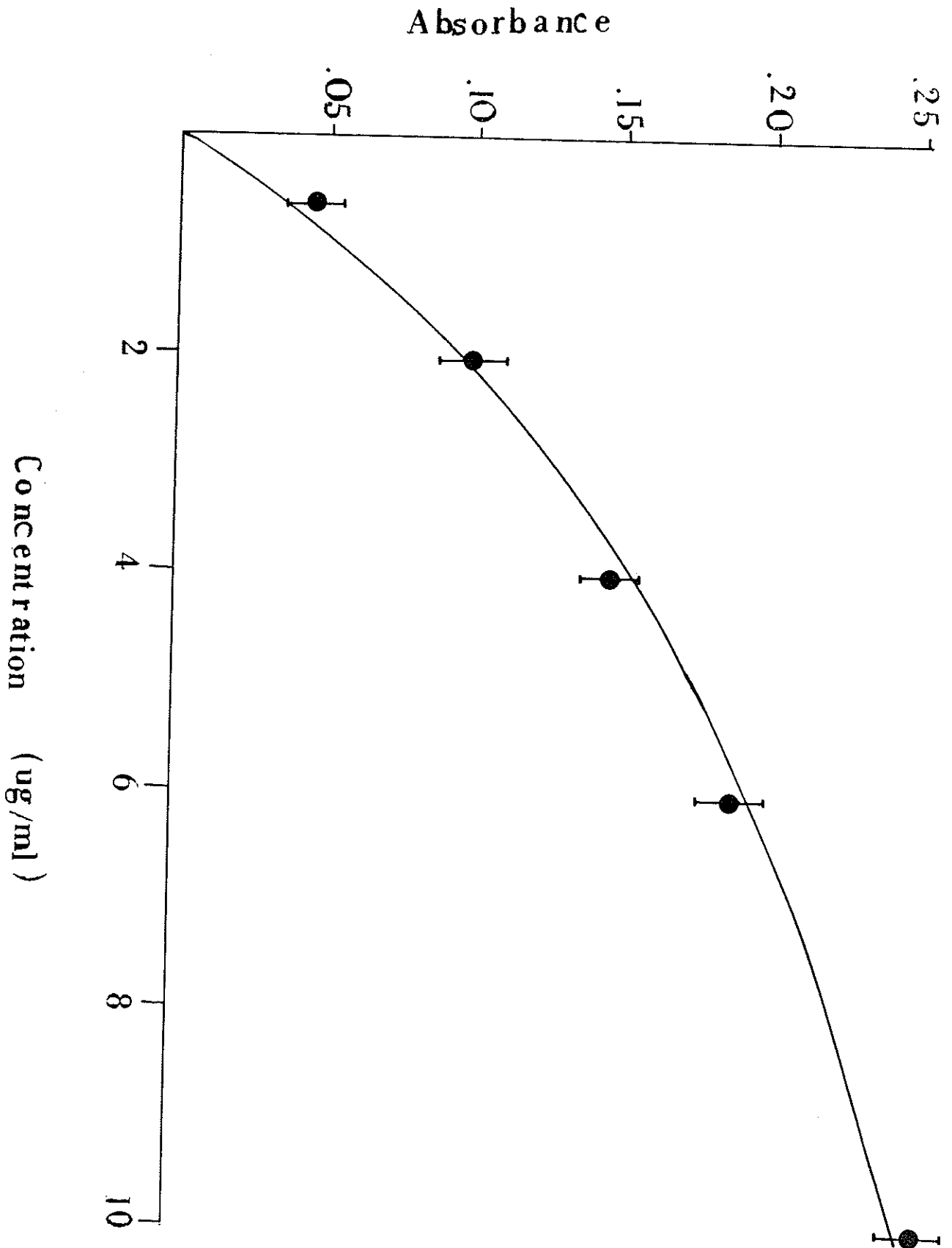
GM/G و جنتامایسین GM/B به میزان ۲/۵ میلی گرم در کیلوگرم در خرگوش

Parameter	GM/G ±S.E	GM/B ±S.E	T-test
T 1/h,2	0.4032(0.1167)	0.4517(0.053)	NS
Tmax <sub>h</sub> .	0.498(0.035)	0.3793(0.58)	NS
Cpmax <sub>mg/L</sub> .	7.8337(0.3251)	0.3814(0.3873)	NS
AUC 4 <sub>mg.L/h</sub> .	10.6216(0.8943)	10.3039(0.7938)	NS
AUCinf. <sub>mj.L/h</sub> .	10.8707(0.7875)	10.3722(0.7878)	NS

جدول شماره ۲ - میانگین پارامترهای فارماکوکینتیکی حاصل از تجویز عضلانی جنتامایسین GM/G و جنتامایسین GM/B به

میزان ۲/۵ میلی گرم در کیلوگرم در خرگوش





## منابع و ماخذ

- 1 - G- E. Burrow, J. Am. Vet. Med. Assoc. 176: 1280 - 1281, 1980
- 2 - Y. Matsumoto, Y. Watanabe, N. Hori, M. Matsumoto , J. Pharmacobio - Dyn. 13 : 591 - 596 1990.
- 3 - M. Adelman, K.E. E vans, J.J Schentag, Two Antimicrob. Agents, Chemother, 22: 800 - 804, 1982
- 4- J.J. Schentay , W.J.Jusko, J. W. Vance etal, Am. J. Vet. Res. 44 : 1746-1749, 1983.
- 5 - R, C, Wilson, J. N. Moore, N. M. Eakie, Am. J. Vet. Res. 44 : 1746-1749, 1983
- 6 - W.M. Pedersoli, A. A. Belmonte, R. C . Puran, etal. Vet. Res, 41 : 351-354, 1980
- 7 - R. C. Wilson, S. C. Wbelian, D. B. Coultor, etal Kinetics of gentamicin after I/V I/M and I/A A m . J .  
Vet. Res. 42 : 1901 -1904, 1981
- 8 - S. A. Brown, J. E. Riviere, G. L. Cooper etal. Am. J. Vet. Res. 46 : 1981 - 1986, 1985
- 9 - J. E. Penington, H. Y. Reynlids. J. Infect. Dis. 131. 158 - 162, 1975.
- 10 - E. R. Jacobson, J. M. Groff, R. R. Gronwall, et al. Am. J. Vet. Res. 46 (6): 1356 - 1358, 1985
- 11- C.Carbon, A. Contrepoiss, S. Lamotte barrillon, Antimicrob - Agents, Chemother. 13: 368 - 372, 1978.
- 12 - M. Mahnoudian, S. Khademi. Ist international congress of therapeutic drug monitoring Tehran Univ. of  
Medical Sciences Abs No: 66 1-3 March 1992
- 13 - G. Ziv, F. G. Sulman, Res. Vet. Sci. 17: 68 - 74, 1974
- 14 - D.S. Kabakoff, O. leung, P. Singh. CI in. Chem. 24 : 1055 1978.



Title: Evaluation of absorption and pharmacokinetic parameters of various injectable products of gentamicin in rabbits.

Authors: Dr. M. Bijanzadeh\*, Dr. M. Mahmoudian, M.Farzin Mothammed, A. Khosravy.

Address: *Pharmaceutical Research Center Darou Pakhsh Co. P. O Box 13185 - 877 Tehran, Iran*

## ABSTRACT

Gentamicin (GM) is an aminoglycoside antibiotic with a narrow therapeutic range and severe adverse effects. The relation between its serum concentration and toxicity and nephrotoxicity have been established. It has been recommended that its peak serum concentrations should not be exceed 12 to 15 ug/ml. For these reasons this study was undertaken to evaluate the bioavailability and pharmacokinetics characteristics of generic gentamicin 10mg/ml (GM/G) - compared to gentamicin 40mg/ml (GM/B). Eight adult and healthy rabbits weighed 1.5 - 2.75 Kg. were given GM as a single IM injection (2.5 mg/kg). Blood samples were collected from the ear vein and serum was separated and kept frozen prior to assay. Serum concentrations of GM were determined using enzyme multiple immunoassay technique EMIT (syva). Pharmacokinetics parameters were calculated from the serum concentrations data with the aid of computer program. It has been found that the pharmacokinetics of GM follows a two compartmental model. and:

- 1 -  $t_{1/2}$  elimination half life, is 1.57 h, for GM/G and 1.13 h. for GM/B.  $t_{1/2}$  distribution half life, is 0.86 for GM/G and 0.45h. for GM/B.
- 2 -  $C_p$  max' Peak plasma level is 7.83 mg/L for GM/G and 8.38 mg/L for GM/B.
- 3 -  $T_{max}$  time to reach peak plasma level is 0.37. for GM/G and 0.4h. for GM/B.
- 4 -  $AUC_4$ , Area under concentration - time curve to 4 hour. and  $AUC_{inf}$ . Area under concentration. - time curve to infinity are 10.94, 11.32 mgml/h for GM/G and 10.17. 10.48 mgml/h for GM/B.

Statistical analysis T. Test, has shown There is no significant difference between These two products and therefore, These products are bioequivalent.