



**ПРОУЧВАНЕ НА ФАРМАКОКИНЕТИКАТА НА МАРКЕРНИЯ  
АКТИВЕН МЕТАБОЛИТ – 4-МЕТИЛАМИНО-АНТИПИРИН (4-МАО)  
СЛЕД ИНЖЕКТИРАНЕ НА ПРАСЕТА С ЛЕКАРСТВЕНАТА ФОРМА  
АНАЛГИНВЕТ, СЪДЪРЖАЩА МЕТАМИЗОЛ**

**Д. Й. ДИМИТРОВА, Д. С. ДИМИТРОВ,**

**Ветеринарномедицински факултет, Тракийски университет, Ст. Загора  
Д. М. ЦОНЕВА**

**Изпълнителна агенция по лекарствата, София**

**INVESTIGATION OF PHARMACOKINETICS ON MARKER ACTIVE  
METABOLITE – 4-METHYLAMINO-ANTIPYRIN (4-MAA) AFTER  
INJECTION IN PIGS WITH DRUG FORM ANALGINVET® , CONTAINING  
METHAMIZOLE**

**D. J. DIMNITROVA, D. S. DIMITROV**

**Faculty of Veterinary Medicine, Trakia University, St. Zagora**

**D. M. TZONEVA**

**Bulgarian Drug Agency, Sofia**

**Abstract**

4-methylamino-antipyrin (4-MAA) pharmacokinetics was investigated in 6 pigs (3 female and 3 male) after intramuscular injection of methamisole (Analginvet 50 % - injection solution) at a dose 25 mg/kg body weight. The plasma concentration of 4-methylamino-antipyrin was determined using high-performance liquid chromatography with UV-detection. The blood concentration of 4-MAA was calculated with a compartmental and noncompartmental method using pharmacokinetic computer software (TopFit, v. 2.0.).

**Увод**

Analginvet (methamisole, noramidopyrine methansulfonate) е ефективен аналгетик, антипиретик и лекарство с противовъзпалително действие, широко използвано във ветеринарномедицинската практика. Той е типичен “pro-drug”, чиито метаболит 4-methylamino-antipyrin е фармакологично активен и е носител на ефектите, с които метамизолът е известен. Той се резорбира много бързо и почти напълно от гастроинтестиналния тракт или след мускулна апликация. След венозно или вътрешно въвеждане родителската субстанция се установява в кръвната плазма за изключително кратко време и се подлага на конвертиране на 7 метаболита, от които само 4 могат да се идентифицират – 4-methylamino-antipyrine (4-MAA), 4-formylaminoantipyrin (4-FAA), 4-aminoantipyrine (AA) и N-4-acethylaminoantipyrine (AAA) [2, 5, 8]

След *i.m.* инжектиране резорбцията на метамизола се последва от хидролиза до 4-МАО, като аналгитичния ефект на приложения лекарствен продукт е в тясна корелация с концентрациите на този метаболит – 4-МАО в кръвната плазма [6, 8], като само той е фармакологично активен [4, 7].

Липсват данни или те са много оскъдни при телета и коне [1, 5], предоставящи информация относно фармакокинетиката на 4-МАО при домашни животни.

Целта на настоящото проучване бе да се определят плазмените концентрации и се проучи фармакокинетиката на маркерния активен метаболит 4-МАО на метамизола след еднократно мускулно инжектиране на лекарствения продукт Analginvet® 50 %-injection solution на прасета.

### Материали и методи

В изпълнение на поставените от нас цели, опитите бяха проведени с 6 клинично здрави прасета (по равен брой от двата пола), кръстоска на Бяла българска x Ландрас, чието телесно тегло бе между 23 и 32 kg. Ден преди третиране на животните беше проследен техния здравен статус, като за целта ги термометрирахме и бяха извършени хематологични и клинично-биохимични изследвания на кръвта и урината.

Фармакокинетичните изследвания включваха мускулно инжектиране на 50 %<sup>об</sup> инжекционен разтвор на метамизол (Analginvet®) в шийната мускулатура, в доза 25 mg/kg т.

Кръвните проби (всяка по 1,5 ml) бяха събирани непосредствено преди прилагането на аналгетика и на 0,17, 0,33, 0,5, 0,75, 1,0, 1,5, 2, 5, 4, 6, 9, 12, 24 и 48 h след това. Кръвната плазма от всяко прасе съхранявахме в хладилник при -35° C за 72 h до изследването.

Концентрациите от приложения аналгетик в кръвната плазма бяха определени чрез високо ефективен течен хроматограф (HPLC). Аналитичният метод беше валидиран по отношение на точност, специфичност, прецизност, граница на количествено определяне, стабилност на пробите и разтворите, предназначени за хроматографиране. Пределно определимите концентрации (LOQ) на определения метаболит в кръвната плазма беше 0,10 µg/ml.

Изчислени бяха някои фармакокинетични параметри на всяко прасе с наличен за целта компютърен софтуер – компютърна програма TopFit, 2.0. За описаните плазмени криви бе използван двупространствения фармакокинетичен модел и некомпартиментния анализ [3]. Най-оптималният модел беше избран чрез информационния критерий (AIC) на Akaike [9] като най-оптимален в случая бе двупространствения фармакокинетичен модел.

### Резултати и обсъждане

След мускулно инжектиране на Analginvet® 50 %-injection solution, определими плазмени концентрации от 4-МАО бяха установени при всички прасета до 24<sup>ия</sup> h след неговата апликация. След *i.m.* инжектиране на methamisole, определения от нас активен метаболит много бързо се установява в кръвната плазма, още при първото взимане на кръвни проби – на 5<sup>та</sup> минута, в концентрации 7,812±0,014 µg/ml и се задържаваше до 24<sup>ия</sup> h в концентрации от 0,901±0,014 µg/ml.



Фиг. 1. Средни плазмени концентрации от активния метаболит 4-methylamino-antipyrine (4-МАО) при прасета мускулно инжектирани с лекарствена форма Analginvet 50 %- injection solution, съдържаща methamisole

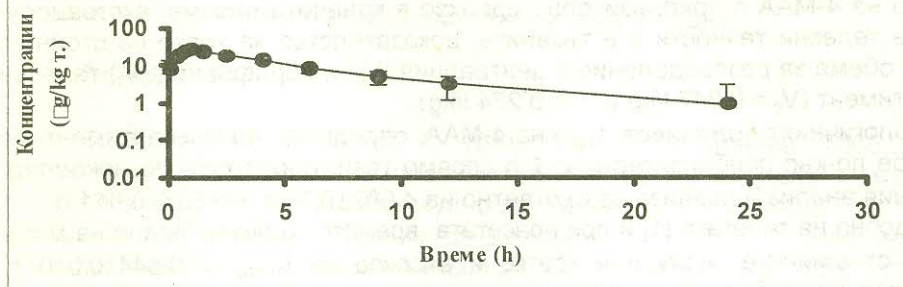


Таблица 1.

Фармакокинетични параметри ( $\bar{x} \pm S_{\bar{x}}$ ) на 4-МАО след еднократно *i.m.* инжектиране на прасета с метамизол, в доза 25 mg/kg т.

Параметри	Единици	Компартиментен метод	Некомпартиментен анализ
$t_{1/2\alpha}$	h	0,823±0,014	–
$t_{1/2\beta}$	h	4,697±0,030	5,837±0,011
$t_{1/2abs}$	h	0,544±0,010	–
MRT	h	6,203±0,0304	6,868±0,052
$AUC_{0 \rightarrow LOQ}$	$\mu g \cdot h \cdot mL^{-1}$	143,59±2,470	152,660±3,100
$AUC_{0 \rightarrow \infty}$	$\mu g \cdot h \cdot mL^{-1}$	149,67±2,920	159,905±3,321
$C_{max}$	$\mu g \cdot mL^{-1}$	24,583±0,370	25,821±0,034
$T_{max}$	h	1,120±0,004	1,083±0,024
$V_c$	L/kg	0,274±0,006	–
$V_t$	L/kg	0,247±0,010	–

$t_{1/2\alpha}$  – време на полуразпределение;  $t_{1/2\beta}$  – биологичен полуживот;  $t_{1/2abs}$  – време на полуреорборция; MRT – средно резидентно време;  $AUC_{0 \rightarrow LOQ}$  – площ под кривата концентрации - време от 0 до последната определена концентрация;  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  – площ под кривата концентрации - време от 0 до безкрайността;  $C_{max}$  – максимална плазмена концентрация;  $T_{max}$  – време за достигане на максимални плазмени концентрации;  $V_c$  – обем на разпределение в централния компартимент;  $V_t$  – обем на разпределение в периферния компартимент.

И при двата пола, плазмените криви на определения от нас фармакологичноактивен метаболит отговаряха на двупространствен фармакокинетичен модел.

При аплициране на Analginvet® в шийната мускулатура метаболитът бързо се разпределяше в кръвната плазма, доказателство за което са стойностите за времето на полуразпределение ( $t_{1/2\alpha} = 0,823$  h). Разпределението на 4-МАО е приблизително еднакво в кръвната плазма, екстрацелуларните телесни течности и в тъканите, доказателство за което са стойностите на обема за разпределение в централния ( $V_c$ ) и периферния ( $V_t$ ) телесен компартимент ( $V_c = 0,247$  l/kg и  $V_t = 0,274$  l/kg).

Биологичният полуживот ( $t_{1/2\beta}$ ) на 4-МАО, определен по компартиментния метод бе по-къс приблизително с 1 h спрямо този, определен по некомпартиментния анализ и възлизаше съответно на  $4,697 \pm 0,30$  h и  $5,837 \pm 0,011$  h.

Подобно на телетата [1] и при прасетата времето за резорбиране на метамизола от шийните мускули е кратко и възлиза на  $t_{1/2abs.} = 0,544 \pm 0,010$  h. Потвърждение за бързата резорбция на аналгетика от скелетната мускулатура са и намерените стойности на времето  $T_{max}$ , необходимо за достигането на максимални плазмени концентрации от него в кръвта, което възлиза съответно на  $1,120 \pm 0,004$  h и  $1,083 \pm 0,024$  h по двата метода на определяне.

Максималните плазмени нива ( $C_{max}$ ) от 4-МАО при 5 от прасетата се достигаха относително бързо на  $1^{-ия}$  h, и само при едно прасе – на 1,5 h след инжектирането на аналгетика.

Подобно на телетата [1] и при инжектираните от нас прасета, при мускулна апликация на метамизол, максималните плазмени концентрации ( $C_{max}$ ) от 4-МАО са високи и възлизат съответно на  $24,583 \pm 0,370$   $\mu\text{g/ml}$  и  $25,821 \pm 0,034$   $\mu\text{g/ml}$ .

Резултатите от приложената лекарствена форма Analginvet® 50 %-injection solution, включващи определените плазмени концентрации на 4-МАО и неговите фармакокинетични параметри позволяват да се приеме, че след *i.m.* апликация на метамизол на прасета, настъпва бърза и високостепенна резорбция от мястото, в което аналгетика е инжектиран. Потвърждение за това са ниските стойности на  $T_{max}$ , относително високите стойности на параметрите характеризиращи степента на резорбция –  $C_{max}$ ,  $AUC_{0 \rightarrow LOQ}$  и  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ . Ранната поява на метаболита 4-МАО в кръвната плазма свидетелства за бързото метаболизиране на метамизола.

Въз основа на данните за биологичния полуживот ( $t_{1/2\beta}$ ) на 4-МАО след *i.m.* инжектиране на метамизол (Analginvet® 50 %-injection solution), както и на тези за средното резидентно време (MRT) на 4-МАО може да бъде оценена като предпоставка за неговата клинична приложимост при прасета.

Липсата на данни относно фармакокинетиката на метамизола при прасета не позволява да бъдат правени съответни сравнения. При съпоставяне с резултатите при коня [5] и телета [1], може да се установи близко по продължителност перзистирание на метаболита в кръвта ( $t_{1/2\beta} = 4,85$  h при коня;  $t_{1/2\beta} = 4,97$  h при телета).



В заключение бихме обобщили, че лекарствената форма Analginvet® 50 %-injection solution, след *i.m.* инжектиране на прасета, в доза 25 mg/kg т., създава и поддържа плазмени концентрации от маркерния метаболит 4-ММА в продължение на 24 h след въвеждането на аналгетика. Използваната дозировка създава високи терапевтични концентрации от активния метаболит 4-метиламиноантипирин в кръвната плазма на третираните прасета в продължение на 1 денонощие и не налага нейното коригиране.

## Литература

1. Димитрова, Д. Й., Д. С. Димитров, Д. М. Цонева, 2008. Фармакокинетика на маркерния активен метаболит на метамизола – 4-метиламиноантипирин (4-ММА) след мускулно прилагане на ANALGINVET 50 %-injection solution на телета, Сборник с доклади от Седма научно-техническа конференция с международно участие "Екология и здраве 2008", 87-92.
2. Vacracheva, N., V. Vlahov, 1995. The acetylation phenotype: does it contribute to the non-linearity of the metabolite pharmacokinetics of metamizol? *European Journal of Clinical Pharmacology*, **48**, 79-80.
3. Gibaldi, M., D. Perrier, 1982. *Pharmacokinetics*, 2<sup>nd</sup> edn., Marcel Dekker, New York, USA.
4. Hinz, B., O. Cherema, J. Bachmakov, B. Renner, O. Zolk, M. F. Fromm, K. Brune, 2007. Dipyronе elicits substantial inhibition of peripheral cyclooxygenases in humans: new insight into the pharmacology of an old analgesic, *The FASEB Journal*, **21**, 2343-2351.
5. Klaus, A.-M., Y. Schlingloff, U. Klinitz, M. Böttcher, H.-J. Hapke, 1997. Pharmacokinetic study of dipyronе metabolite 4-ММА in the horse and possible implications for doping control, *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, **20**, 204-208.
6. Levy, M., E. Zylber-Katz, B. Rosenkranz, 1995. Clinical pharmacokinetics of dipyronе and its active metabolites, *Clinical Pharmacokinetics*, **28**, 216-234.
7. Pierre, S. C., R. Schmidt, C. Brenneins, M. Michaelis, G. Geisslinger, K. Scholich, 2007. Inhibition of Cyclooxygenases by Dipyronе, *British Journal of Pharmacology*, **151**, 494-503.
8. Suarez-Kurtz, G., F. M. Ribero, R. C. E. Estrela, F. L. Vicente, C. J. Struchinez, 2001. Limited-sampling strategy models for estimating the pharmacokinetic parameters of 4-methylaminoantipyrine, an active metabolite of dipyronе, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, **34**, 1475-1485.
9. Yamaoka, K., T. Nakagawa, T. Uno, 1978. Application of Akaike's Information Criterion (AIC) in the evaluation of linear pharmacokinetic equation, *Journal of Pharmacology and Biopharmaceutics*, **6**, 166-175.