

Biofarmaceutski aspekti interakcije ciprofloksacina i jona metala

Jelena Parojčić*, Aleksandra Stojković, Zorica Đurić

Univerzitet u Beogradu - Farmaceutski fakultet, Katedra za
farmaceutsku tehnologiju i kozmetologiju,
Vojvode Stepe 450, Beograd

Kratak sadržaj

Interakcija ciprofloksacina i jona metala je dobro poznata i opisana u literaturi. Rezultati *in vivo* ispitivanja pokazuju da je biološka raspoloživost ciprofloksacina smanjena nakon istovremene primene preparata koji sadrže jone metala. Rezultati *in vitro* ispitivanja su kontradiktorni i pokazuju da mogu nastati kompleksi koji imaju veću rastvorljivost u odnosu na polazno jedinjenje, da nastali kompleksi imaju smanjenu rastvorljivost, kao i da građenje kompleksa izostaje. Sa razvojem računarskih programa koji omogućavaju predviđanja farmakokinetičkog profila na osnovu fizičko-hemijskih karakteristika lekovite supstance, karakteristika formulacije i fizioloških uslova u gastrointestinalnom traktu, matematičko modelovanje i simulacije zauzimju sve važnije mesto u razvoju i proceni kvaliteta lekova.

Cilj rada je da se kroz pregled rezultata *in vivo*, *in vitro* i *in silico* studija, analiziraju potencijalni uzroci promene u bioraspoloživosti ciprofloksacina primenjenog sa preparatima koji sadrže jone metala. Dobijeni rezultati ukazuju da građenje kompleksa predstavlja jedan od mehanizama uključenih u *in vivo* interakciju ciprofloksacina i jona metala i da drugi faktori, kao što je smanjena rastvorljivost usled promene pH i/ili adsorpcija na nerastvorene komponente čvrste faze, takođe mogu uticati. U okviru biofarmaceutske karakterizacije interakcija lekova, potrebno je uzeti u obzir rezultate *in vivo*, *in vitro* i *in silico* ispitivanja i sprovesti njihovu sveobuhvatnu analizu radi utvrđivanja mehanizma interakcije.

Ključne reči: ciprofloksacin, interakcija, kompleksiranje, bioraspoloživost, rastvorljivost

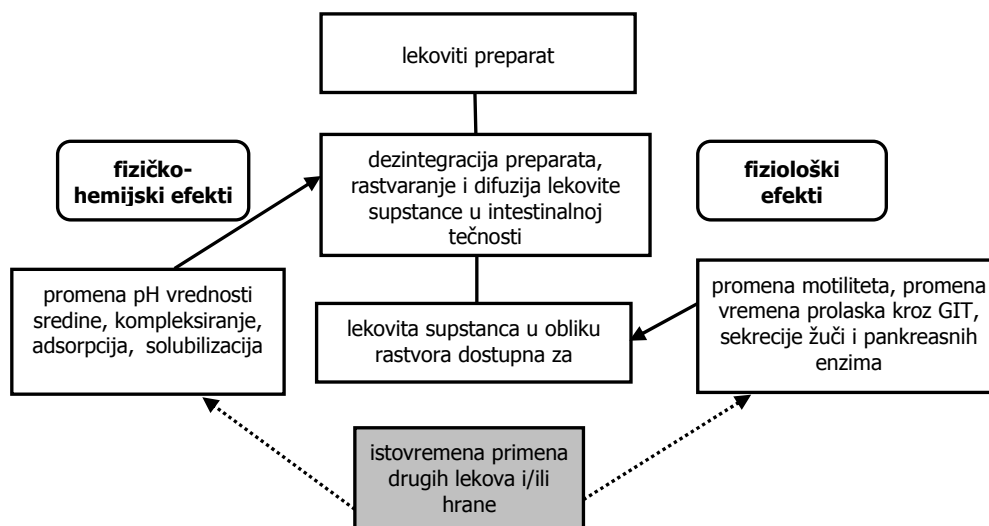
* Autor za korespondenciju e-mail: jelena.parojcic@pharmacy.bg.ac.rs

Uvod

Proces apsorpcije lekovite supstance iz gastrointestinalnog trakta (GIT) zavisi od brojnih faktora koji obuhvataju karakteristike lekovite supstance i farmaceutskog oblika leka, kao i fiziološke uslove u GIT-u. Brzina i stepen apsorpcije peroralno datog leka zavisi od brzine oslobađanja aktivne supstance iz preparata, njene rastvorljivosti i permeabilnosti. Svi faktori koji mogu uticati na ove parametre, potencijalno, mogu dovesti i do promene u biološkoj raspoloživosti, a time i ispoljavanju terapijskog efekta leka. Apsorpcija lekovite supstance može biti promenjena i usled fizičkih ili hemijskih interakcija sa drugim lekovima ili komponentama hrane prisutnim u lumenu GIT-a. Interakcije se mogu definisati kao promene u farmakodinamičkim i/ili farmakokinetičkim osobinama leka izazvane primenom drugih lekova ili hrane (1). Interakcije koje utiču na mehanizam dejstva leka, koje mogu da umanje ili pojačaju efekat leka, spadaju u farmakodinamičke interakcije. Ukoliko lekovi primenjeni istovremeno međusobno utiču na proces apsorpcije, distribucije, metabolizma ili ekskrecije iz organizma, govorimo o farmakokinetičkim interakcijama. Sa biofarmaceutskog aspekta su značajne interakcije lekova na nivou procesa apsorpcije koje se mogu klasifikovati kao fizičko-hemijski ili fiziološki zasnovane (Slika 1). Fizičko-hemijske interakcije ispoljavaju se kao promene u rastvorljivosti, brzini rastvaranja ili permeabilnosti lekovite supstance izazvane promenom pH vrednosti i viskoziteta luminalnog sadržaja, adsorpcijom lekovite supstance na druge lekove ili komponente hrane, kompleksiranjem lekovite supstance sa komponentama prisutnim u GIT-u (2). Promene u pokretljivosti, brzini pražnjenja želuca, vremenu prolaska kroz GIT, kao i promene u sekreciji pankreasnih ili žučnih sokova nastale nakon uzimanja hrane ili nekih lekova, takođe mogu dovesti do promene u obimu i brzini apsorpcije peroralno primenjenog leka i takve interakcije se označavaju kao fiziološke (2). Prema preporukama Evropske agencije za lekove (EMA), prilikom proučavanja interakcija moraju se analizirati fizičko-hemijske karakteristike supstanci i njihovih formulacija (pH-zavisna rastvorljivost, brzina rastvaranja, adsorpcija ili mogućnost formiranja helata), farmakokinetičke osobine (mehanizam apsorpcije, biološka raspoloživost, metabolizam prvog prolaska, enterohepatička cirkulacija), farmakodinamičke karakteristike (efekat na pokretljivost i brzinu pražnjenja u GIT-u, sekrecija žučnih soli, pH vrednost u želucu, protok krvi i gastrointestinalna flora), kao i toksični efekti i mogućnost oštećenja intestinalnih membrana (3).

Mogućnost *in vitro* simuliranja dešavanja u ljudskom organizmu dobila je veći značaj nakon uvođenja Biofarmaceutskog sistema klasifikacije lekova (4). Tada je počela i intenzivna primena ispitivanja brzine rastvaranja kao metoda

koji bi u *in vitro* uslovima mogao da predvidi kinetiku rastvaranja lekovite supstance *in vivo* (5-7).



Slika 1. Šematski prikaz interakcija koje utiču na proces apsorpcije leka (2)
Figure 1. Diagram of interactions in oral drug absorption (2)

To je, takođe, otvorilo mogućnost da se ispitivanje brzine rastvaranja u *in vitro* uslovima iskoristi u cilju predviđanja lek/lek interakcija i otkrivanja potencijalnih uzroka koji prethode promeni u apsorpciji lekovite supstance u GIT-u (2, 8-10). Mada je *in vivo* ispitivanje uticaja istovremeno primenjenih lekova/hrane najpouzadaniji način da se utvrdi mogućnost ispoljavanja lek/lek i lek/hrana interakcija, ta ispitivanja su skupa i dugotrajna, pa se intenzivno radi na razvoju metoda koji bi omogućili *in vitro* procenu interakcija lekova. Činjenica je da se u *in vitro* uslovima ne mogu u potpunosti reprodukovati uslovi koji postoje u organizmu, ali pažljiv odabir eksperimentalnih uslova može dati korisne podatke koji su u korelaciji sa *in vivo* podacima (11, 12). Takođe, razvoj računarskih programa koji simuliraju proces apsorpcije iz gastrointestinalnog trakta, predstavlja korisno sredstvo za *in silico* predviđanje potencijalnih interakcija (13-15).

Cilj ovog rada je da se, kroz pregled rezultata *in vivo*, *in vitro* i *in silico* studija, analiziraju potencijalni uzroci koji dovode do promene u biološkoj raspoloživosti ciprofloksacina nakon istovremene primene sa drugim lekovima, dijetetskim suplementima ili hranom koji sadrže jone metala.

Osobine ciprofloksacina

Ciprofloksacin je sintetski antibiotik širokog spektra dejstva i jedan je od najčešće korišćenih lekova iz grupe fluorohinolona. Efikasan je protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih mikroorganizama, a mehanizam delovanja se zasniva na inhibiciji aktivnosti enzima topoizomeraze II (DNK giraze) koja omogućava transkripciju i replikaciju DNK osetljivih bakterija (1). Nakon peroralne primene ciprofloksacin se apsorbira i distribuira u tkiva i telesne tečnosti u relativno visokim koncentracijama (16). Apsorpcija se, u najvećem stepenu, odvija u gornjim delovima GIT-a, dominantno u duodenumu i jejunumu (17). Na apsorpciju ciprofloksacina utiče i istovremena primena hrane. U *in vivo* studiji u grupi od 10 ispitanika pokazano je da se primenom leka nakon doručka postiže niža maksimalna koncentracija leka u plazmi, produženo vreme do postizanja maksimalne koncentracije i znatno niža vrednost konstante apsorpcije (18). Biološka raspoloživost ciprofloksacina je 60-80 % (19-21), a vezivanje za proteine plazme je oko 30 % (22).

Interakcije ciprofloksacina sa hranom i lekovima koji sadrže jone metala

Interakcije između ciprofloksacina i drugih lekova su klinički značajne ukoliko dolazi do promene u biološkoj raspoloživosti i farmakološkom efektu ciprofloksacina. U literaturi su opisane interakcije sa jonima metala poreklom iz hrane i dijetetskih suplemenata (23-28) koje dovode do smanjenja biološke raspoloživosti ciprofloksacina u takvoj meri da može doći do izostanka njegovog terapijskog dejstva. Joni metala imaju sposobnost da heliraju ciprofloksacin i grade komplekse, pri čemu u interakciji učestvuju 4-okso i karboksilna grupa ciprofloksacina koje su odgovorne i za antibiotsku aktivnost ovog fluorohinolona. Hemijske interakcije i mogućnost građenja kompleksa između ciprofloksacina i jona metala su dobro poznate i opisane u literaturi (25, 29-45). Zabeleženo je građenje kompleksa sa Mg^{2+} , Ca^{2+} , Fe^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+} , Al^{3+} , Co^{2+} , Bi^{3+} , Mn^{2+} (29-45). Građenje kompleksa zavisi od vrste i koncentracije jona, molarnog odnosa komponenata, pH vrednosti sredine, kao i prisustva drugih supstanci (organski rastvarači, površinski aktivne materije, katalizatori). Sa biofarmaceutskog aspekta, kompleksiranje ciprofloksacina sa jonima metala u prisustvu organskih rastvarača ili katalizatora nije relevantno, pa su u ovom radu razmatrani samo kompleksi koji nastaju u interakciji ciprofloksacina i jedinjenja metala koja se primenjuju u terapiji.

Pregled *in vivo* studija

Interesovanje za interakciju ciprofloksacina sa jonima metala počelo je 1985. godine kada su Hoffken i saradnici ukazali na značajno smanjenje biološke raspoloživosti ciprofloksacina nakon istovremene primene sa preparatima aluminijuma i magnezijuma (23). To je podstaklo istraživače da pokušaju da otkriju potencijalni mehanizam interakcije, ne samo sa preparatima aluminijuma i magnezijuma, nego i sa preparatima gvožđa, cinka i kalcijuma (24-28). Na osnovu rezultata ovih studija, usvojena je generalna preporuka da se preparati koji sadrže jone metala ne primenjuju u isto vreme sa preparatima ciprofloksacina, ali je moguće kombinovati ih poštujući preporuke o vremenskom razmaku (28, 46).

Interakcija između ciprofloksacina i gvožđa uočena je nakon istovremene primene preparata koji sadrže različite soli gvožđa (sulfat, fumarat, glukonat) (24-26, 47). U većini navedenih studija ispitivan je uticaj gvožđa nakon oralne primene, a smanjenje biološke raspoloživosti objašnjava se građenjem slabo permeabilnih kompleksa. U studiji Wonga i saradnika (48) razmatrana je mogućnost odvijanja interakcije u sistemske cirkulaciji i dobijeni rezultati ukazuju na promene u farmakokinetici i farmakodinamici intravenski datog ciprofloksacina kod ispitivanih životinja, nakon istovremene primene sa oralno datim gvožđe(II)-sulfatom. U prisustvu Fe^{2+} bio je povećan volumen distribucije, dok je poluvreme eliminacije bilo produženo (48). Potencijalni mehanizam interakcije u sistemske cirkulaciji nije naveden, ali se, ipak, mora uzeti u obzir činjenica da se gvožđe, odmah nakon apsorpcije, vezuje za transportni protein transferin koji deo gvožđa predaje koštanoj srži, pa u eritroblastima nastaje hemoglobin, a deo tkivu gde se gvožđe skladišti kao feritin (49). Lehto i saradnici smanjenje biološke raspoloživosti ciprofloksacina, nakon istovremene primene sa tabletama gvožđe(II)-sulfata, objašnjavaju građenjem kompleksa sa jonima gvožđa i nemogućnošću da se ciprofloksacin, u obliku kompleksa, transportuje kroz membranu intestinalnih ćelija (24). Polk i saradnici (26) su smanjenje koncentracije ciprofloksacina u plazmi objasnili građenjem kompleksa koji se ne apsorbuje, u čijem građenju učestvuju 4-keto i 3-karboksilna grupa ciprofloksacina. U ovoj studiji nije uočen uticaj preparata gvožđa na promenu pH vrednosti u GIT-u, što bi, takođe, moglo da utiče na stepen apsorpcije ciprofloksacina (26).

Kara i saradnici su ispitivali uticaj istovremeno primenjenih različitih soli gvožđa na biološku raspoloživost ciprofloksacina (25). Smanjenje maksimalne koncentracije ciprofloksacina u serumu nakon primene sa tabletom gvožđe(II)-sulfata je bilo 37 %, dok je u slučaju tableta gvožđe(II)-glukonata smanjenje bilo čak 57 %. Razlike u smanjenju biološke raspoloživosti ciprofloksacina se objašnjavaju različitom brzinom rastvaranja tableta gvožđa u *in vivo* uslovima,

pa je zbog toga interakcija jače izražena sa gvožđe(II)-glukonatom (25). Brouwers i saradnici su ukazali na smanjenje biološke raspoloživosti ciprofloksacina nakon istovremene primene sa gvožđe(II)-fumaratom (47).

S obzirom da se građenje kompleksa navodi kao glavni uzrok smanjene biološke raspoloživosti ciprofloksacina, Kozjek i saradnici su sproveli *in vivo* ispitivanje na psima kojima su davali prethodno sintetisane komplekse ciprofloksacin-gvožđe, ciprofloksacin-cink ili ciprofloksacin-bizmut. Uočeno je značajno smanjenje koncentracije ciprofloksacina u plazmi za komplekse sa gvožđem i cinkom, a nije uočena značajna promena u koncentraciji ciprofloksacina u plazmi kada se on primeni kao kompleks sa bizmutom (29).

U studiji Hoffkna i saradnika u grupi zdravih ispitanika zabeleženo je smanjenje biološke raspoloživosti ciprofloksacina za 94 % nakon primene 500 mg ciprofloksacina 24 h nakon doze antacidnog preparata (9 g aluminijum-hidroksida i 6 g magnezijum-hidroksida) (23). Fleming i saradnici (50) su zabeležili uticaj antacida na apsorpciju ciprofloksacina kod pacijenata koji su na peritonealnoj dijalizi. Pacijenti, koji su učestvovali u studiji, primenjivali su ciprofloksacin u kombinaciji sa aluminijum/magnezijum preparatima ili sa preparatima kalcijuma. Zabeleženo je smanjenje biološke raspoloživosti ciprofloksacina za više od 50 % sa preparatima aluminijum/magnezijuma i smanjenje za oko 7 % sa preparatima kalcijuma (50). Da bi ispitali razliku u smanjenju biološke raspoloživosti ciprofloksacina primenjenog sa preparatima aluminijuma i kalcijuma, Frost i saradnici (27) su ispitanicima, u razmaku od 5 minuta, davali tablete ciprofloksacina i tablete kalcijum-karbonata ili tablete aluminijum-hidroksida. Za razliku od rezultata koje su dobili Fleming i saradnici (50), Frost (27) beleži značajno smanjenje biološke raspoloživosti u prisustvu kalcijuma (za 47 %) i za 81 % smanjenje biološke raspoloživosti u prisustvu aluminijuma. Zabeleženo je da kod ispitanika koji su primenjivali tablete sa aluminijumom nema značajnih interindividualnih razlika u smanjenju koncentracije ciprofloksacina u plazmi, dok kod ispitanika koji su primenjivali tablete sa kalcijumom postoje značajne interindividualne razlike.

Nix i saradnici (28) su ispitivali kako vreme između primene antacida i ciprofloksacina utiče na pojavu interakcije. Ispitanici su primenjivali antacidni preparat sa aluminijumom i magnezijumom (Maalox®) ili ranitidin 10 minuta i 2, 4 ili 6 sati pre doziranja ciprofloksacina. Najveće smanjenje biološke raspoloživosti (za 80 %) zabeleženo je kada je Maloox® primenjen 10 minuta pre ciprofloksacina, a nije zabeležen značajan uticaj kada je Maloox® primenjen 6 h pre ciprofloksacina. Sa druge strane, ranitidin nije uticao na promenu farmakokinetičkih parametara ciprofloksacina (28). Lomaestro i saradnici su pokazali da kalcijum ne utiče na biološku raspoloživost ciprofloksacina ako se primeni 2 h pre doze antibiotika (51). Nix i saradnici su

pokazali da primena sukralfata istovremeno ili 2 sata pre doze ciprofloksacina može da smanji biološku raspoloživost ciprofloksacina za 30 % (52).

In vivo ispitivanja interakcije ciprofloksacina sa cinkom rađena su sa dijetetskim suplementima u kojima se cink nalazi u sastavu kompleksa vitamina i minerala. Polk i saradnici (26) su zabeležili smanjenje biološke raspoloživosti ciprofloksacina za 24 % kada se primeni sa preparatom koji sadrži 23,9 mg cinka, dok su Kara i saradnici (25) zabeležili smanjenje biološke raspoloživosti ciprofloksacina za 53 % kada se primeni preparat koji u svom sastavu ima 15 mg cinka. Ipak, ne sme se zanemariti činjenica da je u studiji Kara i saradnika (25) korišćen oligomineralni preparat koji pored cinka, sadrži i 10 mg gvožđa, 100 mg magnezijuma, 162 mg kalcijuma, 2 mg bakra i 5 mg mangana koji, takođe, mogu da stupe u interakciju sa ciprofloksacinom i doprinesu smanjenju njegove koncentracije u plazmi.

U Tabeli I dat je pregled rezultata dostupnih *in vivo* studija interakcije ciprofloksacina sa jonima metala.

Tabela I Pregled *in vivo* rezultata interakcije ciprofloksacina sa jonima metala nakon oralne primene 500 mg ili 750 mg ciprofloksacina

Table I Summary of the *in vivo* data on ciprofloxacin – metal ion interaction following 500 mg or 750 mg ciprofloxacin oral administration

Opis studije	Doza metala (mg)	Doza ciprofloksacina (mg)	C _{max} (mg/l)	t _{max} (h)	PIK (mg/h/l)	Broj dobrovoljaca u studiji	Literatura
kontrola 1	-	500	2.8	n.n	14.66	12	26
kontrola 2	-	500	3.2	n.n	15.71		
gvožđe(II)-sulfat	65	500	0.7	n.n	5.37		
preparat sa cinkom	23.9	500	1.9	n.n	11.29		
kontrola	-	500	2.1	1.5	13.3	8	47
gvožđe(II)-fumarat	70	500	0.6	1.5	4.0		
kontrola	-	500	3.0	1.2	16.2	8	25
gvožđe(II)-sulfat	60	500	2.0	0.9	9.4		
gvožđe(II)-glukonat	69.6	500	1.3	1.1	5.8		
preparat sa cinkom	15	500	1.4	0.9	7.7		
kontrola	-	500	2.15	1.3	12.2	8	24
gvožđe(II)-sulfat	100	500	0.95	1.0	5.0		
kontrola	-	750	3.18	1.24	13.5	12	27
kalcijum-karbonat	1360	750	1.69	1.29	7.82		
aluminijum-hidroksid	623	750	0.6	1.61	2.08		
kontrola	-	750	3.42	1.25	16.07	12	28
aluminijum/magnezijum hidroksid suspenzija 30		750	0.68	0.66	2.42		

n.n – nije navedeno

Iako se, generalno, smatra da je smanjena biološka raspoloživost ciprofloksacina primenjenog sa preparatima koji sadrže jone metala posledica nastanka kompleksa sa smanjenom permeabilnošću i/ili smanjenom rastvorljivošću, ovakvi rezultati mogu nastati i usled precipitacije

ciprofloksacina u uslovima promenjene pH vrednosti u lumenu creva, kao i usled adsorpcije ciprofloksacina na nerastvorene komponente prisutne u GIT-u.

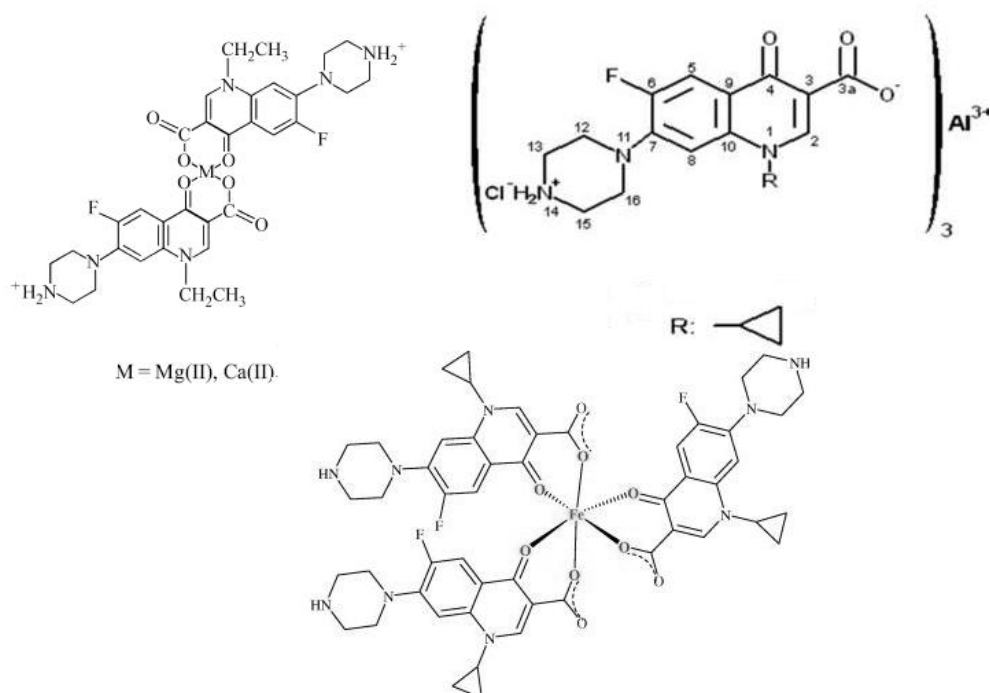
Pregled *in vitro* studija

Kao što je već navedeno, kompleksiranje ciprofloksacina sa jonima metala i karakterizacija nastalih kompleksa bila je tema brojnih istraživanja (12, 25, 29-45). Sa biofarmaceutskog aspekta, interesantne su interakcije između ciprofloksacin-hidrohlorida i jedinjenja metala koja su prisutna u terapiji, kao lekovi ili dijetetski suplementi.

Dok se rezultati *in vivo* studija slažu da prilikom interakcije sa jonima metala dolazi do smanjenja biološke raspoloživosti ciprofloksacina, u rezultatima *in vitro* studija koji se bave prirodom kompleksa i rastvorljivošću ciprofloksacina u prisustvu jona metala mogu se uočiti značajne razlike. Ispitivanja brzine rastvaranja ciprofloksacina iz tableta u prisustvu jona metala pokazuju usporeno i nepotpuno oslobađanje ciprofloksacina (12, 44), dok izvesni autori izveštavaju o porastu rastvorljivosti u prisustvu jona metala (38, 41). Treba istaći da prilikom ispitivanja rastvorljivosti istraživači obično koriste ciprofloksacin bazu čija je rastvorljivost u vodi više od četiri stotine puta manja u odnosu na rastvorljivost soli hidrohlorida koja se koristi u formulaciji tableta. Žakelj i saradnici su koristili ciprofloksacin bazu prilikom ispitivanja rastvorljivosti u prisustvu različitih soli metala pri različitim pH vrednostima i njihovi rezultati ukazuju na povećanje rastvorljivosti u prisustvu jona metala (41). Kara i saradnici su zabeležili pomeranje u spektru ka većim talasnim dužinama prilikom interakcije ciprofloksacina i jona gvožđa i to su objasnili pretpostavkom da u građenju kompleksa učestvuje Fe^{3+} jon koji nastaje oksidacijom Fe^{2+} jona u puferu koji je korišćen u studiji (25). Zanimljivo je to da se u *in vitro* ispitivanjima interakcije ciprofloksacina sa gvožđem često koriste soli Fe^{3+} koje daju stabilnije komplekse, ali biofarmaceutski značaj tih ispitivanja se dovodi u pitanje jer se gvožđe u preparatima za oralnu primenu, za koje je u *in vivo* studijama uočen uticaj na biološku raspoloživost ciprofloksacina, nalazi u obliku Fe^{2+} i u tom obliku se i apsorbuje iz GIT-a.

Sanchez i saradnici (37) su interakciju između ciprofloksacina i Fe^{2+} , Al^{3+} , Mg^{2+} i Ca^{2+} jona ispitivali u vodenom medijumu i zatim su vršili karakterizaciju dobijenih precipitata. Na osnovu dobijenih rezultata odbacili su tvrdnju da se između ciprofloksacina i metala gradi kompleks. Ovu tvrdnju su potkrepili činjenicom da su za građenje kompleksa koristili veći odnos između ciprofloksacina i metala nego što je to u organizmu kada se ove dve supstance nađu zajedno (37). Međutim, razlog za dobijanje ovakvih rezultata se može objasniti činjenicom da su autori, zapravo, koristili veoma niske koncentracije i ciprofloksacina i soli metala i da u tako razblaženom rastvoru nije moglo da

dođe do interakcije. Ovakva situacija ne odgovara situaciji u *in vivo* uslovima gde su i ciprofloksacin i joni metala prisutni u mnogo većim koncentracijama. Lee i saradnici (42) su se bavili kompleksiranjem ciprofloksacina sa gvožđem i ispitivanjem koji je optimalan pH za nastanak kompleksa. Za kompleksiranje je korišćen odnos 1:1 i dobijeni kompleks je izolovan. Za građenje kompleksa je korišćen gvožđe(III)-nitrat, a kao i Sanchez i saradnici, navedeno je da prilikom građenja kompleksa dolazi do pomeranja u spektru ciprofloksacina ka većim talasnim dužinama, da je optimalni pH za građenje kompleksa 3.8 i da se ciprofloksacin nalazi u obliku katjona (42). Na slici 2 dat je prikaz strukturnih formula kompleksa ciprofloksacina sa gvožđem, kalcijumom i aluminijumom preuzetih iz literature (38-40).



Slika 2. Prikaz strukturnih formula kompleksa ciprofloksacina dostupnih u literaturi (38-40)

Figure 2. Structure of ciprofloxacin-metal cation complexes taken from literature (38-40)

Iako mnogi istraživači pominju da prilikom interakcije dolazi do promene u UV apsorpcionom spektru ciprofloksacina, u našim ispitivanjima nije uočeno da dodatak soli Fe^{2+} pomera spektralni maksimum ciprofloksacina. Ispitivanja rastvorljivosti pokazala su da u prisustvu gvožđe(II)-sulfata dolazi do smanjenja rastvorljivosti ciprofloksacin-hidrohlorida, dok se rastvorljivost ciprofloksacin baze povećava (12). Takođe je i oslobađanje ciprofloksacin-hidrohlorida iz tableta, u prisustvu soli gvožđa, usporeno i nepotpuno (12). Uzimajući u obzir podatke iz *in vitro* studija i činjenicu da je za interakciju neophodno obezbediti visoke koncentracije i ciprofloksacin-hidrohlorida i gvožđe(II)-sulfata, ispitivanje brzine rastvaranja je rađeno u vodi kao medijumu u aparaturi sa mini lopaticom. Ovakvi rezultati su u skladu sa rezultatima drugih autora u kojima je za ispitivanje interakcije lekova sa hranom takođe korišćen uređaj malog volumena (53).

Rodriguez Cruz i saradnici (44) su ispitivanja brzine rastvaranja ciprofloksacina iz tableta u prisustvu tableta gvožđe(II)-sulfata radili u fosfatnom puferu pH~6.0 i u toku ispitivanja uočeno je da se oslobađanje ciprofloksacina smanjuje sa povećanjem procenta oslobođenog gvožđa iz tableta. Ispitivanje je rađeno i sa aluminijum-hidroksidom i uočeno je sporije i nepotpuno oslobađanje ciprofloksacina u prisustvu aluminijuma (44). S druge strane, Breda i saradnici (38) su ispitivali rastvorljivost kompleksa ciprofloksacina sa aluminijumom i, prema njihovim rezultatima, ispitivani kompleks pokazuje bolju rastvorljivost u odnosu na ciprofloksacin u obliku baze.

Mehanizam interakcije ciprofloksacina i jona metala nije do kraja razjašnjen. Potencijalan uzrok smanjene biološke raspoloživosti može biti i smanjena permeabilnost nastalih kompleksa. Kmetec i saradnici (43) ispitivali su i upoređivali *in vitro* permeabilnost ciprofloksacin baze i ciprofloksacina u kompleksu sa jonima gvožđa koristeći Sartoriusov simulator apsorpcije. Rezultati studije nisu pokazali značajne razlike u permeabilnosti između ciprofloksacin baze i ciprofloksacina u kompleksu sa gvožđem. Deset godina kasnije, Žakelj i saradnici su na izolovanom delu creva (jejunum) pacova ispitivali permeabilnost ciprofloksacin/metal kompleksa i doneli zaključak da se nastali kompleksi ne mogu apsorbovati kroz zid jejunuma (45).

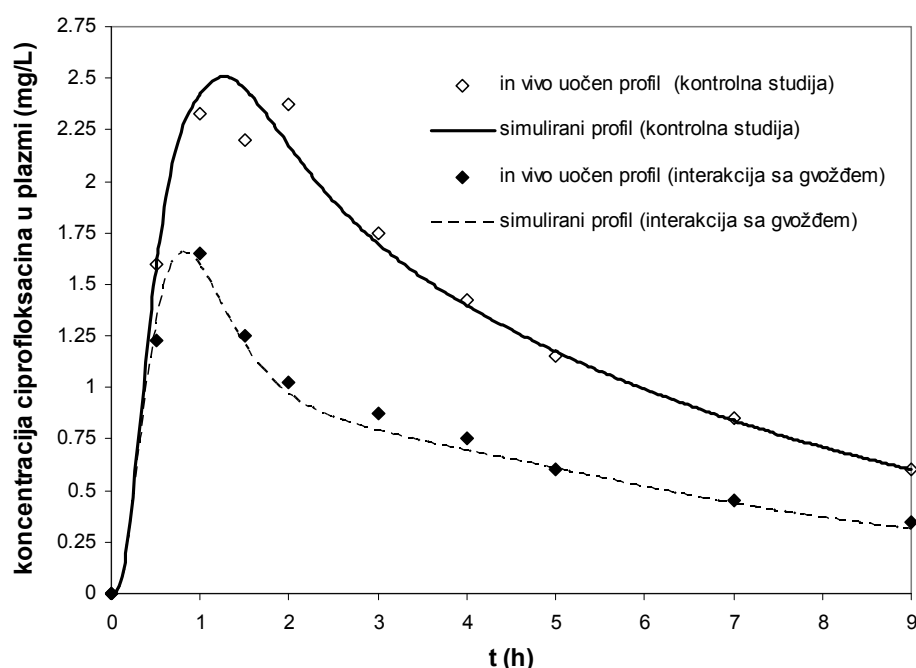
Pregled *in silico* studija

Primena matematičkog modelovanja i simulacije zauzima sve važnije mesto u razvoju lekovitih preparata i proceni njihovog kvaliteta (54). Razvijaju se različiti programski paketi koji pružaju mogućnost predviđanja frakcije apsorbovanog leka, kao i kinetiku procesa apsorpcije. U našim istraživanjima korišćen je program GastroPlus[™] (SimulationPlus Inc., Lankaster, SAD) koji,

pored gastrointestinalne apsorpcije, simulira celokupan profil koncentracije leka u organizmu, kao i efekat i delovanje lekova koji se doziraju oralno ili intravenski kod ljudi ili životinja. GastroPlus[™] je baziran na Unapređenom prostornom modelu apsorpcije i tranzita (*Advanced Compartmental Absorption and Transit*, ACAT) koji opisuje oslobađanje, brzinu rastvaranja, apsorpciju, degradaciju i metabolizam lekovite supstance u toku prolaska kroz različite delove GIT-a (55). GastroPlus[™] obuhvata više različitih modula koji omogućavaju *in silico* ispitivanje gastrointestinalne apsorpcije i eliminacije, hepatičkog metabolizma, metabolizma u enterocitima/zidu creva, aktivnog transporta i efekta efluks procesa i *in vivo* dispozicije leka tj. definisanje farmakokinetičkog profila (55). Ovaj programski paket može se koristiti kao sredstvo za simulaciju lek/hrana i lek/lek interakcija (12, 13). Metod gastrointestinalne simulacije, takođe, može biti primenjen kako bi se jasnije sagledao uticaj fizičko-hemijskih, fizioloških i farmaceutsko-tehnoloških faktora na apsorpciju leka (12, 54-58), a identifikacija faktora koji su od kritičnog značaja za biološku raspoloživost može biti korisno sredstvo za otkrivanje potencijalnog mehanizma interakcije. Očekuje se da će *in silico* metodi naći primenu u razmatranju mogućnosti izostavljanja *in vivo* ispitivanja biološke raspoloživosti i bioekvivalentnosti u različitim fazama životnog ciklusa leka (54, 57-59). Međutim, još uvek nema dovoljno publikovanih rezultata vezanih za njihovu primenu s ciljem predviđanja lek/lek i lek/hrana interakcija.

Da bi se generisao odgovarajući profil koji odgovara profilu koncentracije leka u plazmi, potrebno je uneti ulazne parametre koji se odnose na fizičko-hemijske i farmakokinetičke osobine lekovite supstance. Set ulaznih parametara dobija se korišćenjem literaturnih podataka, eksperimentalno dobijenih vrednosti i *in silico* predviđenih vrednosti. Ovaj softverski paket je iskorišćen u cilju simulacije i otkrivanja potencijalnog mehanizma interakcije ciprofloksacina sa preparatima gvožđa (12). Kao ulazni parametar korišćena je eksperimentalno određena vrednost za rastvorljivost dok je vrednost efektivne permeabilnosti (P_{eff}) dobijena korišćenjem literaturnih podataka za biološku raspoloživost ciprofloksacina uz korišćenje eksponencijalne jednačine opisane u radu Amidona i saradnika (4). Sve simulacije su rađene uz korišćenje seta fizioloških parametara koji se odnose na uslove koji su u organizmu prisutni na gladno. Odabirom adekvatnih ulaznih podataka, uz primenu optimizacionih tehnika (*Optimization Module*), simuliran je profil apsorpcije ciprofloksacina bez/uz istovremenu primenu preparata gvožđa koji se dobro slaže sa podacima iz *in vivo* studija (Slika 3). Uočeno je da, na slaganje simuliranog i *in vivo* uočenog profila, značajno utiče promena rastvorljivosti ciprofloksacin-hidrohlorida (12). Najbolje slaganje simuliranog i *in vivo* profila apsorpcije dobijeno je kada je kao parametar korišćena eksperimentalno dobijena vrednost

za rastvorljivost ciprofloksacina-hidrohlorida u prisustvu gvožđe(II) sulfata. Dobijeni rezultati ukazuju da bi potencijalni mehanizam interakcije mogao biti građenje slabo rastvorljivih kompleksa između ciprofloksacina i jona metala (12). GastroPlus™ simulacije ukazuju da se proces apsorpcije ciprofloksacina dominantno odvija u proksimalnom delu gastrointestinalnog trakta (duodenum i jejunum), dok do smanjenja apsorpcije, nakon primene preparata gvožđa, prvenstveno dolazi u jejunumu (12).



Slika 3. *In vivo* uočeni profili apsorpcije (simbol) i GastroPlus™ simulirani profili (linija) bez/uz istovremenu primenu ciprofloksacina i gvožđe(II) sulfata (12)

Figure 3. *In vivo* observed (symbole) and simulated (line) ciprofloxacin plasma profiles following administration without/with iron (12)

Zaključak

Literaturni izvori navode da je osnovni uzrok smanjene biološke raspoloživosti ciprofloksacina u prisustvu jona metala građenje slabo permeabilnih kompleksa. Međutim, ovaj mehanizam interakcije nije eksperimentalno dokazan. Sa druge strane, rezultati *in vitro* studija su relativno kontradiktorni i navodi se da kao produkt interakcije mogu nastati kompleksi koji imaju veću rastvorljivost u odnosu na polazno jedinjenje, da nastali kompleksi imaju smanjenu rastvorljivost, kao i da građenje kompleksa izostaje. Rezultati *in silico* ispitivanja ukazuju da je rastvorljivost kritičan faktor za apsorpciju ciprofloksacina. Međutim, smanjena rastvorljivost ciprofloksacin-hidrohlorida može biti rezultat promenjene pH vrednosti sredine, kao i nastanka novih jonskih vrsta (drugi oblik soli, kompleksi različitog sastava). Ostaje otvoreno pitanje da li je isti mehanizam odgovoran za *in vivo* uočene interakcije ciprofloksacina i jona metala, ili su ovi mehanizmi različiti u zavisnosti od vrste jona uključenih u interakciju. U skladu s tim, u biofarmaceutskoj karakterizaciji interakcija lekova potrebno je uzeti u obzir rezultate *in vivo*, *in vitro* i *in silico* ispitivanja i sprovesti njihovu sveobuhvatnu analizu radi utvrđivanja mehanizma interakcije.

Zahvalnost:

Ovaj rad je urađen u sklopu projekta TR34007 finansiranog od strane Ministarstva za prosvetu i nauku Republike Srbije

Literatura:

1. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. Pharmacology, 5th ed. Philadelphia USA: Elsevier Science, 2003: 718-22.
2. Fleisher D, Li C, Zhou Y, Pao LH, Karim A. Drug, meal and formulation interactions influencing drug absorption after oral administration. Clinical implications. Clin Pharmacokinet 1999; 36: 233-54.
3. European Medicines Agency/Committee for Medicinal Products for Human Use EMA/CPMP. Note for guidance on the investigation of drug interactions (Doc. Ref.: CPMP/EWP/560/95) 1997.

4. Amidon GL, Lennernas H, Shah VP, Crison JR. A theoretical basis for a biopharmaceutical drug classification: the correlation of *in vitro* drug product dissolution and *in vivo* bioavailability. *Pharm Res* 1995; 12: 413-20.
5. Gray V, Kelly G, Xia M, Butler C, Thomas S, Mayock S. The science of USP 1 and 2 dissolution: present challenges and future relevance. *Pharm Res* 2009; 26: 1289-302.
6. Food and Drug Administration/Center for Drug Evaluation and Research (FDA/CDER). Guidances for industry: Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics classification system. 2000.
7. European Medicines Agency/Committee for Medicinal Products for Human Use (EMA/CHMP). Guideline on the investigation of bioequivalence (Doc. Ref.: CPMP/EWP/QWP/1401/98 Rev.1/ Corr**) 2010.
8. Moltke L, Greenblatt DJ, Schmider J, Wright CE, Harmatz JS, Shader RI. *In vitro* approaches to predicting drug interactions *in vivo*. *Biochem Pharmacol* 1998; 55: 113-22.
9. Papai K, Budai M, Ludanyi K, Antal I, Klebovich I. *In vitro* food–drug interaction study: Which milk component has a decreasing effect on the bioavailability of ciprofloxacin? *J Pharm Biomed Anal* 2010; 52: 37-42.
10. Parojčić J, Corrigan OI. Rationale for ibuprofen co-administration with antacids: Potential interaction mechanisms affecting drug absorption. *Eur J Pharm Biopharm* 2008; 69: 640-7.
11. Parojčić J. *In vitro – in vivo* korelacija: osnovna razmatranja i značaj. Zadužbina Andrejević, Beograd 2005.
12. Parojčić J, Stojković A, Tajber L, Grbić S, Paluch K, Đurić Z, Corrigan OI. Biopharmaceutical characterization of ciprofloxacin HCl–ferrous sulfate interaction. *J Pharm Sci* 2011; 100: 5174-84.
13. Parrott N, Lukacova V, Fraczekiewicz G, Bolger MB. Predicting pharmacokinetics of drugs using physiologically based modeling--application to food effects. *AAPS J* 2009; 11: 45-53.
14. Kuentz M, Nick S, Parrott N, Röthlisberger D. A strategy for preclinical formulation development using GastroPlus as pharmacokinetic simulation tool and a statistical screening design applied to a dog study. *Eur J Pharm Sci* 2006; 27: 91-9.
15. Rostami-Hodjegan A, Tucker G. ‘*In silico*’ simulations to assess the ‘*in vivo*’ consequences of ‘*in vitro*’ metabolic drug–drug interactions. *Drug Discov Today* 2004; 1: 441-8.
16. Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 34st ed. London, UK: Royal Pharmaceutical Society, 2004.
17. Harder S, Fuhr U, Beermann D, Staib AH. Ciprofloxacin absorption in different regions of the human gastrointestinal tract. Investigations with hf-capsule. *Br J Clin Pharmacol* 1990; 30: 35-9.

18. Ledergerber B, Bettex JD, Joos B, Flepp M, Luthy R. Effect of standard breakfast on drug absorption and multiple-dose pharmacokinetics of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 27: 350-2.
19. Hoffken G, Lode H, Prinzing C, Borner K, Koeppe P. Pharmacokinetics of ciprofloxacin after oral and parenteral administration. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 27: 375-9.
20. Drusano GL, Standiford HC, Plaisance K, Forrest A, Leslie J, Caldwell J. Absolute oral bioavailability of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 1986; 30: 444-6.
21. Lettieri JT, Rogge MC, Kaiser L, Echols RM, Heller AH. Pharmacokinetic profiles of ciprofloxacin after single intravenous and oral doses. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 993-6.
22. Bergan T. Extravascular penetration of ciprofloxacin. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1990; 13: 103-4.
23. Höffken G, Borner K, Glatzel PD, Koeppe P, Lode H. Reduced enteral absorption of ciprofloxacin in the presence of antacids. *Eur J Clin Microbiol.* 1985; 4: 345.
24. Lehto P, Kivisto TK, Neuvonen JP. The effect of ferrous sulphate on the absorption of norfloxacin, ciprofloxacin and ofloxacin. *Br J Clin Pharmacol* 1994; 37: 82-5
25. Kara M, Hasinoff BB, McKay WD, Campbell RCN. Clinical and chemical interactions between iron preparations and ciprofloxacin. *Br J Clin Pharmacol* 1991; 31: 257-61.
26. Polk RE, Healy DP, Sahai J, Drwal L, Racht E. Effect of ferrous sulfate and multivitamins with zinc on absorption of ciprofloxacin in normal volunteers. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33: 1841-4.
27. Frost RW, Lettieri JT, Noe A, Shamblen EC, Lasseter K. Effect of aluminium hydroxide and calcium carbonate antacids on ciprofloxacin bioavailability. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36: 830-2.
28. Nix DE, Watson WA, Lener ME, et al. Effects of aluminum and magnesium antacids and ranitidine on the absorption of ciprofloxacin. *Clin Pharmacol Ther* 1989; 46: 700-5.
29. Kozjek F, Palka E, Krizman I, Vodopivec P. Pharmacokinetics of ciprofloxacin metal complexes. *Acta Pharm* 1996; 46: 109-14.
30. Turel I. The interactions of metal ions with quinolone antibacterial agents. *Coord Chem Rev* 2002; 232: 22-47.
31. Serafin A, Stanczak A. The complexes of metal ions with fluoroquinolones. *Russ J Coord Chem* 2009; 35: 81-95.
32. Đurđević P, Jelikić Stankov M, Odović J. Study of solution equilibria between iron(III) ion and ciprofloxacin in pure nitrate ionic medium and micellar medium. *Polyhedron* 2000; 19: 1085-96

33. Drakopoulos AI, Ioannou PC. Spectrofluorimetric study of the acid-base equilibria and complexation behavior of the fluoroquinolone antibiotics ofloxacin, norfloxacin, ciprofloxacin and pefloxacin in aqueous solution. *Anal Chim Acta* 1997; 354: 197-04.
34. Turel I, Leban I, Bukovec N. Synthesis, characterization and crystal structure of copper(II) complex with quinolone family member (Ciprofloxacin): bis(1-cyclopropyl-6-fluoro-1,4-dihydro-4-oxo-7-piperazin-1ylquinoline-3-carboxylate) copper(II) chloride hexahydrate. *J Inorg Biochem* 1994; 56: 273-82.
35. Turel I, Leban I, Bukovec N. Crystal structure and characterization of the bismuth(III) compound with quinolone family member - (ciprofloxacin). *Antibacterial Study. J Inorg Biochem* 1997; 66: 241-5.
36. Pansuriya PB, Dhandhukia P, Thakkar V, Patel MN. Synthesis, spectroscopic and biological aspects of iron(II) complexes. *J Enzym Inhib Med Ch* 2007; 22: 477-87.
37. Sanchez BM, Cabarga MM, Navarro AS, Hurle AD. A physico-chemical study of the interaction of ciprofloxacin and ofloxacin with polyvalent cations. *Int J Pharm* 1994; 106: 229-35.
38. Breda SA, Jimenez-Kairuz AF, Manzo RH, Olivera ME. Solubility behavior and biopharmaceutical classification of novel high-solubility ciprofloxacin and norfloxacin pharmaceutical derivatives. *Int J Pharm* 2009; 371: 106-13.
39. Psomas G. Mononuclear metal complexes with ciprofloxacin: Synthesis, characterization and DNA-binding properties. *J Inorg Bio* 2008; 102: 1798-811.
40. Upadhyay SK, Kumar P, Arora V. Complexes of quinolone drugs norfloxacin and ciprofloxacin with alkaline earth metal perchlorates. *J Struct Chem* 2006; 47: 1078-83.
41. Žakelj S, Berginc K, Uršič D, Kristl A. Influence of metal cations on the solubility of fluoroquinolones. *Pharmazie* 2007; 62: 318-20.
42. Lee DS, Han HJ, Kim K, Park WB. Dissociation and complexation of fluoroquinolone analogues. *J Pharm Biomed Anal* 1994; 12: 157-64.
43. Kmetec V, Kozjek F, Veber M. Chromatographic and permeation analysis of ciprofloxacin metal complexes. *Int J Pharm* 1999; 176: 225-30.
44. Rodriguez Cruz S, Gonzalez Alonso I, Sanchez-Navarro A, Sayalero Marinero L. In vitro study of the interaction between quinolones and polyvalent cations. *Pharm Acta Helv* 1999; 73: 237-45.
45. Žakelj S, Berginc K, Uršič D, Veber M, Kristl A. Metal cation-fluoroquinolone complexes do not permeate through the intestinal absorption barrier. *J Pharm Biomed Anal* 2010; 53: 655-9.
46. Summary of product characteristics, CIPRO®, 500 mg film coated tablets, Bayer HealthCare. (www.cipro.com – accessed/ poslednji pristup: 21.12. 2011.)
47. Brouwers JR, Van der Kam HJ, Sijtsma J, Proost JH. Decreased ciprofloxacin absorption with concomitant administration of ferrous fumarate. *Pharm Weekbl Sci* 1990; 12: 182-3.

48. Wong PY, Zhu M, Li RC. Pharmacokinetic and pharmacodynamic interactions between intravenous ciprofloxacin and oral ferrous sulphate. *J Chemother* 2000; 12: 286-93.
49. Spasić S, Jelić-Ivanović Z, Spasojević-Kalimanovska V. Gvožđe, poglavlje 10. U: *Medicinska biohemija*. 1st ed. Beograd, 2003: 2-4.
50. Fleming LW, Moreland TA; Stewart WK, Scott AC. Ciprofloxacin and antacids (letter). *Lancet* 1986; 2: 294.
51. Lomaestro BM, Bailie GR. Effect of staggered dose of calcium on the bioavailability of ciprofloxacin. *Antimicrob Agents and Chemother* 1991; 35: 1004-7.
52. Nix DE, Watson WA, Handy L, Frost RW, Rescott DL, Goldstein HR. The effect of sucralfate pretreatment on the pharmacokinetics of ciprofloxacin. *Pharmacotherapy* 1989; 9: 377-80.
53. Shono Y, Jantratid E, Dressman JB. Precipitation in the small intestine may play a more important role in the in vivo performance of poorly soluble weak bases in the fasted state: Case example nelfinavir. *Eur J Pharm Biopharm* 2011; 79: 349-356.
54. Jiang W, Kim S, Zhang X, Lionberger RA, Davit BM, Conner DP, Yu LX. The role of predictive biopharmaceutical modeling and simulation in drug development and regulatory evaluation. *Int J Pharm* 2011; 418: 151-160
55. Agoram B, Woltosz WS, Bolger MB. Predicting the impact of physiological and biochemical processes on oral drug bioavailability. *Adv Drug Deliv Rev* 2001; 50: 41-67.
56. Zhang L, Zhang YD, Zhao P, Huang S. Predicting Drug–Drug Interactions: An FDA Perspective. *AAPS J* 2009; 11: 300-6.
57. Tubić-Grozdanis M, Bolger MB, Langguth P. Application of gastrointestinal simulation for extensions for biowaivers of highly permeable compounds. *AAPS J* 2008; 10: 213-26.
58. Kovačević I, Parojčić J, Homšek I, Tubić-Grozdanis M, Langguth P. Justification of biowaiver for carbamazepine, a low soluble high permeable compound, in solid dosage forms based on IVIVC and gastrointestinal simulation. *Mol Pharm* 2009; 6: 40-7.
59. Kovačević I, Parojčić J, Homšek I, Tubić-Grozdanis M, Langguth P. An investigation into the importance of „very rapid” dissolution criteria for drug bioequivalence demonstration using gastrointestinal simulation technology. *AAPS J* 2009; 11: 381-4.

Biopharmaceutical aspects of ciprofloxacin interactions with metallic ions

Jelena Parojčić*, Aleksandra Stojković, Zorica Đurić

University of Belgrade - Faculty of Pharmacy,
Department of Pharmaceutical Technology and Cosmetology,
Vojvode Stepe 450, Belgrade

Summary

The ciprofloxacin – metallic ions interactions are well documented and described in the literature. *In vivo* studies show that ciprofloxacin bioavailability is reduced in the presence of metallic ions containing preparations. The results of *in vitro* studies are somewhat contradictory and indicate that highly soluble complexes, low soluble complexes, or no complexation may occur. Development of relevant simulation softwares resulted in the increased confidence and use of mathematical modeling and simulation in drug development and quality control. Advanced computer softwares are now available which simulate drug product pharmacokinetic profile based on its physicochemical properties, formulation characteristics and physiological conditions in the gastrointestinal tract.

The aim of the current work is to assess potential causes of reduced ciprofloxacin bioavailability when co-administered with metallic ion containing preparations through survey of the relevant *in vivo*, *in vitro* and *in silico* studies. The results obtained indicate that complex formation is one of the mechanisms involved in ciprofloxacin/metallic ion interaction and that other phenomena such as reduced solubility in the altered pH conditions and/or adsorption on the solid phase present in the intestinal lumen may also play a role. In order to accurately identify mechanisms responsible for drug interaction, thorough evaluation of all the available *in vivo*, *in vitro* and *in silico* data should be performed as part of the biopharmaceutical characterization.

Key words: ciprofloxacin, interaction, complexation, bioavailability, solubility

* Corresponding author e-mail: jelena.parojic@pharmacy.bg.ac.rs