

ELIMINACIJA PARACETAMOLA URINOM KOD PUŠAČA

IVAN KOVAČEVIĆ¹, BRANISLAVA MILJKOVIĆ²,
BRANKA BRZAKOVIĆ², AIDA MEHMEDAGIĆ^{3,4},
JELENA BRUJIĆ², MARIJA MILANOVIĆ², MILENA POKRAJAC²

¹Zavod za farmaciju Srbije, Vojvode Stepe 458, Beograd, Srbija i Crna Gora

²Institut za farmakokinetiku, Farmaceutski fakultet, Vojvode Stepe 450, Beograd, Srbija i Crna Gora

³Institut za kontrolu lijekova, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

⁴Farmaceutski fakultet, Sarajevo, Bosna i Hercegovina

Kratak sadržaj

U radu je ispitivan uticaj sastojaka duvanskog dima na brzinu eliminacije paracetamola urinom. U kontrolisanom ispitivanju je učestvovalo 14 zdravih dobrovoljaca ženskog pola. Sedam su bili nepušači (23±8 godine; 50±2 kg; X±SD), a sedam (26±9 godina; 58±8 kg; X±SD) pušači (15 cigareta dnevno). Određivan je „ukupan” paracetamol u urinu UV- spektrometrijskom metodom, posle hidrolize konjugata paracetamola i oksidacije dobijenog proizvoda, u prisustvu hipobromita, do obojenog jedinjenja – derivata indofenola. Farmakokinetičkom analizom izmerenih koncentracija u urinu izračunati su farmakokinetički parametri: konstanta brzine eliminacije (β) i poluvreme eliminacije paracetamola ($t_{1/2\beta}$).

Mada vrednosti ovih parametara kod pušača ukazuju na bržu eliminaciju paracetamola, statističkim poređenjem farmakokinetičkih parametara eliminacije kod pušača ($\beta=0,346$ 1/h i $t_{1/2\beta}=2,19$ h) i nepušača ($\beta=0,311$ 1/h, $t_{1/2\beta}=2,23$ h), nije dobijena značajna razlika ($P<0,05$). Veće vrednosti SD=0,108 i KV=90 % za β i SD=0,684 i KV= 14, 25 % za $t_{1/2\beta}$ u grupi pušača, u poređenju sa istim parametrima u grupi

nepušača ($SD=0,013$ i $KV=13,4\%$ za β i $SD=0,227$ i $KV=4,57\%$ za $t_{1/2\beta}$), pokazuju veću inter-individualnu varijabilnost farmakokinetičkih parametara eliminacije paracetamola kod pušača. Posledica je relativno niska predvidivost farmakokinetike paracetamola kod pušača, pa je kod njih potrebna veća pažnja u doziranju leka, naročito ako postoji i uticaj drugih faktora farmakokinetičke varijabilnosti.

Ključne reči: paracetamol, eliminacija, urin, farmakokinetika, pušenje

Analgoantipiretik paracetamol (acetaminofen) jedan je od najvažnijih lekova u terapiji blagih i umerenih bolova, kao i hipertermije, kada nije potrebno postići antiinflamatorni efekt (1).

Pretpostavlja se da paracetamol deluje perifernim i centralnim mehanizmima i da je njegovo delovanje zasnovano i na umerenoj inhibiciji ciklooksigenaze (COX), koja nema za posledicu klinički značajan antiinflamatorni efekt (2). Vrednost ovog leka kao analgoantipiretika je u tome što predstavlja dobru zamenu za aspirin u slučajevima kada se aspirin ne sme upotrebiti ili ne preporučuje u terapiji. Tako se primena paracetamola preporučuje kod bolesnika koji su alergični na aspirin; bolesnika sa hemofilijom ili peptičkim ulkusom; astmatičara; dece sa virusnom infekcijom (1).

Paracetamol se primenjuje peroralnim ili rektalnim putem. Resorpcija leka je brza i potpuna. Maksimalne koncentracije se postižu 1 h posle peroralne primene, odnosno 4 h posle rektalne primene. Paracetamol se vezuje za proteine plazme 25 - 50 % i ima vrednost volumena distribucije od 0,75 – 1 L/kg. U jetri, reakcijama druge faze metabolizma, nastaju konjugati sa glukuronskom, sulfatnom kiselinom i glutationom, koji su farmakološki neaktivni (3,4). Kada se primeni u terapijskim dozama, paracetamol se u najvećoj meri izlučuje urinom u obliku svojih konjugata i samo 5 % leka se izlučuje nepromenjeno. Poluvreme eliminacije iznosi 2 – 3 h. Vrednost ovog farmakokinetičkog parametra može biti znatno veća kod bolesti jetre i primene toksičnih doza leka (1). Kod odraslih najveća pojedinačna doza iznosi 1 g i može se primeniti svakih 6 h. Primenjen na ovakav način paracetamol ne pokazuje značajne neželjene efekte i shodno tome obezbeđuje bezbednu i efikasnu terapiju (5). Toksične doze leka (15 g i više) iscrpljuju intracelularne rezerve glutationa (GSH), koji igra važnu ulogu u detoksikaciji reaktivnog N-oksidovanog metabolita, što dovodi do

oštećenje jetre i bubrega (4,6,7). Hepatotoksičnost, koja može da se završi i letalno, posledica je kovalentnog vezivanja metabolita N-acetil-benzohinonimina za makromolekule u ćeliji (dezoksiribonukleinska kiselina, ribonukleinska kiselina, proteini) (8). Nefrotoksičnost paracetamola leži u vezivanju semibenzohinonimina za proteine u proksimalnom delu tubula, što dovodi do ćelijske smrti. Konverzija paracetamola u N-acetil-benzohinonimin je katalizovana citohromom P-450 (izoenzimi CYP1A2, CYP2E1, CYP3A4) (9-11).

Pretpostavlja se da bi sastojci iz duvanskog dima mogli da dovedu do brže eliminacije paracetamola, kao i do povećane hepatotoksičnosti ovog leka. Osnova za ovu pretpostavku je indukcija enzima koji su uključeni u metabolizam paracetamola (CYP1A2, CYP2E1 i pojedini izoenzimi glukuronil-transferaza (12). Otuda, cilj ovoga rada je da se ispita uticaj sastojaka duvanskog dima na eliminaciju paracetamola urinom kod pušača.

Eksperimentalni deo

Plan ispitivanja

Izbor ispitanika

Ispitivanje je sprovedeno pod kontrolisanim uslovima. Kako je cilj bio proceniti uticaj sastojaka duvanskog dima na brzinu eliminacije paracetamola, bilo je potrebno isključiti ostale faktore koji utiču na kinetiku ovog leka. To je podrazumevalo formiranje dve homogene grupe ispitanika. U ispitivanju je učestvovalo 14 osoba ženskog pola, 7 nepušača (23 ± 8 godine; 50 ± 2 kg; $X \pm SD$) i 7 pušača (26 ± 9 godine; 58 ± 8 kg; $X \pm SD$).

Kriterijumi za uključivanje ispitanika bili su: zdravstveno stanje osobe, očuvanost funkcije jetre i bubrega i normalna telesna masa i visina ispitanika. Dve nedelje pre, kao i u toku samog ispitivanja, ispitanici nisu uzimali druge lekove ili alkohol, a dodatni uslov za pušače bio je i pušenje 15 cigareta dnevno.

Kriterijum za isključivanje ispitanika bio je postojanje alergije na lekove.

Način ispitivanja

U ispitivanju su korišćene PARACETAMOL[®] tablete od 500 mg, Krka, Slovenija. Lek je primenjen *per os*, posle perioda noćnog

gladovanja. Uzimanje hrane i kafe nije bilo dozvoljeno 2 h posle primene leka, kako bi se omogućila neometana resorpcija.

Svi ispitanici su uzeli lek u isto vreme, kako bi se izbegao mogući uticaj cirkadijalnog ritma na kinetiku leka.

U ispitivanju je kao biološki materijal korišćen urin. Prvi (nulti) uzorak je dobijen neposredno pre primene leka, dok su ostali prikupljeni po unapred određenom protokolu i to: 1, 2, 3, 4, 6, 9, 12, 16 i 24 h posle primene leka.

Bioanalitička metoda

Korišćena je spektrofotometrijska metoda za određivanje paracetamola i njegovih metabolita izlučenih urinom. Proizvod nastao kiselom hidrolizom paracetamola i njegovih metabolita (glukuronida, sulfata i konjugata sa GSH), *p*-aminofenol, reaguje sa fenolom u prisustvu hipobromita dajući indofenolnu boju čiji se intenzitet meri na 620 nm (13). Standardna kriva je dobijena primenom linearne regresione i korelacione analize. Dobijeni su sledeći parametri za raspon koncentracija od 50-800 mg/L: $r = 0,9990$; $Sd_a = 6,6569 \times 10^{-3}$, $Sd_b = 1,4808 \times 10^{-5}$; $t_a = 1,2676$. *Intra-day* preciznost bila je u okviru statistički dozvoljenih granica ($KV < 7,6$ %). *Inter-day* preciznost je pokazala velike varijacije ($KV > 20$ %), zbog čega je svakog dana konstruisana standardna kriva.

Farmakokinetička analiza

Podaci koji su dobijeni praćenjem paracetamola u urinu poslužili su za odgovarajuću farmakokinetičku analizu, u cilju izračunavanja parametara koji definišu brzinu eliminacije paracetamola: *konstruisanje individualnih kumulativnih i kinetičkih krivih i izračunavanje konstante brzine eliminacije (β) i poluvremena eliminacije ($t_{1/2\beta}$)*.

Na osnovu izmerenih koncentracija u uzorcima urina (C_u) i zapremine svakog uzorka (V), izračunate su vrednosti količine izlučenog leka (A_e) za svaki vremenski period između dva sakupljanja urina:

$$A_e = C_u \times V.$$

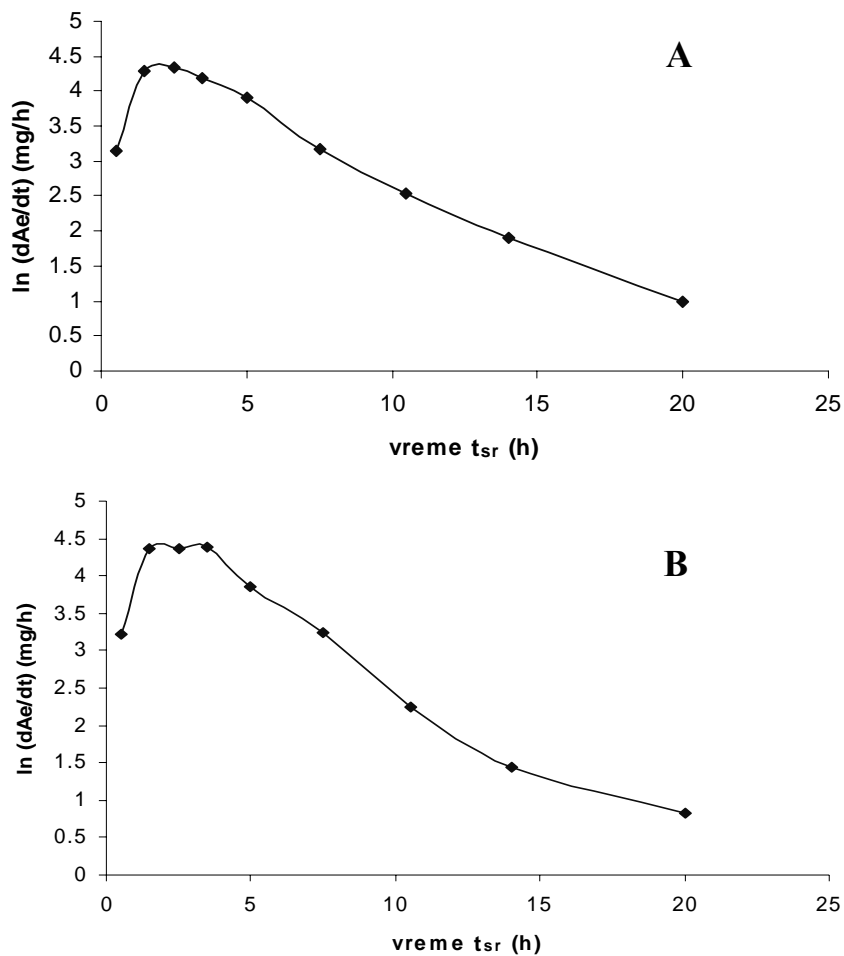
Kumulativna kriva $A_e = f(t)$ je upotrebljena za procenu ukupne količine paracetamola i njegovih metabolita izlučenih urinom (A_e^∞), količine leka koja zaostaje u organizmu do vremena t (*Amount of Drug to be Excreted-ARE*), kao i konstrukciju *kinetičke krive* $dA_e/dt = f(t_{sr})$; $t_{sr} = (t_1 + t_2)/2$. Konstanta brzine eliminacije (β) izračunata je

iz kinetičke krive izlučivanja paracetamola urinom,
 $\beta = [\ln(dA_e/dt)_n - \ln(dA_e/dt)_{n+1}] / [t_{sr(n+1)} - t_{sr(n)}]$.

Brzina eliminacije paracetamola procenjena je na osnovu (β) i poluvremena eliminacije ($t_{1/2\beta}$), pri čemu je $t_{1/2\beta} = 0,693/\beta$ (14).

Rezultati

Brzina izlučivanja paracetamola urinom kod nepušača i pušača prikazana je grafički (Slika 1):



Slika1. Kinetičke krive srednjih vrednosti brzine izlučivanja paracetamola urinom kod: A) nepušača, B) pušača

Figure 1. Pharmacokinetic curve (mean value) $\ln(dA_e/dt) = h(t_{sr})$ of paracetamol in: A) nonsmokers, B) smokers

Individualne vrednosti konstante brzine eliminacije (β), poluvremena eliminacije ($t_{1/2\beta}$) paracetamola, kao i varijacija ovih parametara (Sd) kod nepušača i pušača predstavljene su u tabeli I:

Tabela I Vrednosti β i $t_{1/2\beta}$ paracetamola kod nepušača i pušača
Table I Pharmacokinetic parameters β and $t_{1/2\beta}$ of paracetamol in nonsmokers and smokers

NEPUŠAČI			PUŠAČI		
ISPITANIK	β (h^{-1})	$t_{1/2\beta}$ (h)	ISPITANIK	β (h^{-1})	$t_{1/2\beta}$ (h)
B.V.	0,294	2,36	R.I.	0,385	1,80
B.J.	0,295	2,35	M.J.	0,344	2,01
P.V.	0,340	2,04	M.D.O.	0,269	2,58
Č.J.	0,316	2,19	P.I.	0,239	2,90
M.M.	0,285	2,43	G.N.	0,221	3,14
S.D.	0,321	2,16	V.B.	0,446	1,55
S.M.	0,327	2,12	M.M.O.	0,517	1,34
$X_{(srednje)}$	0,311	2,23	$X_{(srednje)}$	0,346	2,19
$\pm Sd$	0,013	0,227	$\pm Sd$	0,108	0,684
KV (%)	13,4	4,57	KV (%)	90,0	14,25

Diskusija

Pušenje je veoma raširena, društveno prihvaćena zavisnost. Osim što narušava zdravlje, pušenje je čest uzrok farmakokinetičke varijabilnosti lekova. Sastojci duvanskog dima stupaju u farmakokinetičke i/ili farmakodinamičke interakcije sa velikim brojem lekova. Osnova farmakokinetičkih interakcija između nikotina i drugih sastojaka duvanskog dima leži u indukciji mikrozoimnih enzima jetre (pre svega izoenzima CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1 i izoenzima UDP-glukuronil transferaze) (15).

U radu je ispitivan uticaj sastojaka duvanskog dima na brzinu eliminacije paracetamola. U ispitivanju je učestvovalo 14 osoba ženskog pola (7 pušača i 7 nepušača). Osobe su bile zdrave, normalne figure (odnos telesne mase i visine), očuvane funkcije jetre i bubrega i nisu bile na terapiji drugim lekovima dve nedelje pre, kao ni u toku samog ispitivanja.

Za određivanje koncentracija paracetamola u urinu korišćena je spektrofotometrijska metoda, kojom se meri intenzitet boje indofenola, nastalog oksidacijom paracetamola i proizvoda hidrolize njegovih konjugovanih metabolita (13). Obrada podataka podrazumevala je primenu određene farmakokinetičke analize. Tako su, konstrukcijom kumulativne i kinetičke krive izlučivanja leka urinom dobijeni kinetički parametri koji definišu brzinu eliminacije paracetamola: konstanta brzine eliminacije (β) i poluvreme eliminacije ($t_{1/2\beta}$).

Vrednosti poluvremena eliminacije paracetamola kod pušača su bile niže nego kod nepušača (2,19 h u odnosu na 2,23 h) i shodno tome vrednosti konstante brzine eliminacije bile su veće kod pušača (0,346 1/h u odnosu na 0,311 1/h). Statističkim poredjenjem (Student t-test i Mann-Whitney U-test) nije postignuta statistički značajna razlika ($p < 0,05$) između izračunatih parametara. Rezultati pokazuju da pušenje ne utiče značajno na eliminaciju paracetamola. Prema literaturnim podacima sastojci duvanskog dima indukuju izoenzime citohroma P-450 i tako utiču na dispoziciju određenih lekova u organizmu. Međutim, kada je u pitanju paracetamol podaci su u suprotnosti što je verovatno posledica značajnih razlika u metodološkom pristupu ispitivanja (12,16). Iz navedenih razloga bilo bi značajno da se ispitivanje uticaja sastojaka duvanskog dima na brzinu eliminacije paracetamola sprovede uz upotrebu selektivne bioanalitičke metode. Na ovaj način bilo bi moguće pratiti način izlučivanja nepromenjenog leka i metabolita, odnosno sagledati uticaj sastojaka duvanskog dima na sintezu i/ili aktivnost izoenzima citohroma P-450 uključenih u reakcije oksidacije paracetamola kao i enzima odgovornih za katalizu reakcija konjugacije.

U grupi pušača je znatno izraženija inter-individualna varijabilnost parametara eliminacije paracetamola: vrednosti Sd i KV u grupi pušača su znatno veće u poređenju sa istim parametrima u grupi nepušača (Sd=0,108; KV=90,0 % i Sd=0,013; KV=13,4 % za β); (Sd=0,684; KV=14,25 % i Sd=0,227; KV=4,57 % za $t_{1/2\beta}$). To ukazuje na potrebu povećane obzirivosti pri doziranju leka kod pušača, naročito ako postoji mogućnost uticaja i drugih faktora farmokokinetičke varijabilnosti.

Zaključak

Rezultati ispitivanja uticaja sastojaka duvanskog dima na eliminaciju paracetamola urinom ukazuju da pušenje ne utiče značajno na eliminaciju paracetamola. Veća inter-individualna varijabilnost u grupi pušača u poredjenju sa grupom nepušača ima za posledicu veću nepredvidivost terapije paracetamolom kod bolesnika koji puše i otuda zahteva i veću pažnju pri doziranju ovog leka, naročito ako postoji mogućnost uticaja i drugih faktora farmakokinetičke varijabilnosti.

THE INFLUENCE OF SMOKING ON THE URINE PARACETAMOL ELIMINATION

IVAN KOVAČEVIĆ¹, BRANISLAVA MILJKOVIĆ²,
BRANKA BRZAKOVIĆ², AIDA MEHMEDAGIĆ^{3,4},
JELENA BRUJIĆ², MARIJA MILANOVIĆ², MILENA POKRAJAC²

¹ Institute for Pharmacy of Serbia, Vojvode Stepe 458, Beograd, Serbia and Montenegro

² Department of Pharmacokinetics, Faculty of Pharmacy, University of Belgrade, Serbia and Montenegro

³ Institute for drugs controle, Sarajevo, Bosnia and Hercegovina

⁴ Faculty of Pharmacy, Sarajevo, Bosnia and Hercegovina

Abstract

The aim of this study was to evaluate the influence of smoking on the urine paracetamol elimination. Fourteen healthy female volunteers took part in this controlled study. Seven (23+/-3 years; 50 +/- 2 kg; x+/-SD) were non-smokers and seven (26 +/- 9 years; 58 +/- 8 kg) were smokers (15 cigarettes per day). After administration of 500 mg of paracetamol, urine sampling was performed at specific times (before drug administration and 1, 2, 3, 4, 6, 9, 12, 16 and 24 hours after). The bioanalytical method used for determination of hydrolyzed paracetamol conjugates in urine samples was UV-spectrometry. The obtained

pharmacokinetic parameters of paracetamol, first-order elimination rate constant (β) and elimination half-life ($t_{1/2\beta}$), were statistically compared between non-smokers and smokers. There were no significant differences in both elimination parameters (β 0.311 1/h; $t_{1/2\beta}$ 2.23 h non-smokers vs. β 0.346 1/h; $t_{1/2\beta}$ 2.19 h smokers) between the groups. However, the differences obtained in inter-individual variability in pharmacokinetic parameters (β SD 0.013 , KV 13.4 % ; $t_{1/2\beta}$ SD 0.227, KV 4.57% non-smokers vs. β SD 0.108 , KV 90 % ; $t_{1/2\beta}$ SD 0.684 , KV 14 % smokers) indicate relatively low predictability of paracetamol elimination in smokers. That requires higher attention in dosing this drug in smokers, especially if some other factors also influence.

Key words: paracetamol, elimination, urine, pharmacokinetics, smoking

Literatura

1. Katzung BG, ed. Basic and Clinical Pharmacology. 8th ed. New York: McGraw-Hill, 2001: 615-16, 1018-19, 57, 58.
2. MacPherson RD. The pharmacological basis of contemporary pain management. J Pharmacol Therap 2000; 88:2: 163-85.
3. Joksović D. Akutna trovanja lekovima. Beograd: Rivel Co, 1999: 100-2.
4. Jokanović M. Toksikologija. Beograd: Elit-Medica, 2001: 63, 133-36, 141-45.
5. Bannwarth B, Pehourcq F. Pharmacologic basis for using paracetamol: pharmacokinetic and pharmacodynamic issues. Drugs 2003; 63: 5-13.
6. www.phramweb.net, Paracetamol Information Center.
7. Lauterburg BH, Analgesics and glutathione. Am J Ther 2002; 9: 225-33.
8. Pokrajac M. Farmakokinetika. 2. izd. Beograd: Grafolik, 2002: 81, 192-96.
9. Snawder JE, Roe AL, Benson RW. Loss of CYP2E1 and CYP1A2 activity as a function of acetaminophen dose: relation to toxicity. Biochem Biophys Res Commun 1995; 203: 503-9.
10. Rancy JL, Lasker JM, Lieber CS. Acetaminophen activation by human liver cytochromes P450 2E1 and P450 1A2. Arch Biochem Biophys 1989; 271: 270-83.

11. Thummel KE, Lee CA, Kunze KL. Oxidation of acetaminophen to N-acetyl-p-aminobenzoquinoneimine by human CYP3A4. *Byochem Pharmacol* 1993; 45: 1563-9.
12. Schimdt LE, Dalhoff K. The impact of current tobacco on the outcome of paracetamol poisoning. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 979-85.
13. Gibson CG, Skett P. *Introduction to Drug Metabolism*. 2nd ed. London: Blackie Academic & Professional, 1996: 251-6.
14. Pokrajac M. *Farmakokinetika - Priručnik za praktičnu nastavu*. 2. izd. Beograd: Grafolik, 2001: 79-81.
15. Zewin S, Beniwitz N. Drug interactions with tobacco smoking. *Clin Pharmacokinet* 1999; 36: 425-38.
16. Miller LG. Cigarettes and drug therapy: pharmacokinetic and pharmacodynamic considerations. *Clin Pharmacol* 1990; 9:125-35.