مقایسه فراهمی زیستی سوسپانسیون کلوزانتل تولید شده در ایران با نمونه معتبر خارجی در گوسفند

دکترلیلا محمدیار[۱*]،دکتر حمیدرضا اشراقی[۲]، دکترمرتضی ثمینی[۳]، دکترعلیرضا مرتضوی[۴]

چکیده

در مطالعه حاضر، فراهمی زیستی سوسپانسیون کلوزانتل ساخت یک شرکت ایرانی به عنوان آزمون، در مقایسه با سوسپانسیون کلوزانتل ساخت شرکت یانسن به عنوان مرجع مورد ارزیابی قرار گرفت. به منظور انجام این بررسی یک دوز منفرد mg/kg ۱۰ از سوسپانسیون تست به تعداد ۱۰ راس گوسفند و به همین میزان از سوسپانسیون رفرانس به تعداد ۱۰راس گوسفند دیگر خورانده شد. نمونه‌های خون از گوسفندان هر دو گروه در زمانهای صفر (قبل از تجویز دارو)۴،۸،۱۲،۲۴،۴۸،۹۶،۲۴۶،۴۳۲ و ۶۲۴ ساعت بعد از تجویز دارو گرفته شد. کلوزانتل موجود در سرم خون گوسفندان بعد از استخراج با فاز مایع و کارتریج‌های C18، با کمک روش کروماتوگرافی با کارآیی بالا و ردیاب UV اندازه‌گیری شد. جهت محاسبه غلظتها، سطح پیک های حاصل و برای محاسبه پارامترهای فارماکوکینتیکی، مدل غیر وابسته به بخش دفع دارو مورد استفاده قرار گرفت. بررسی‌های آماری که با استفاده از t-test و احتساب ($P\leq ۰/۰۵$) انجام گرفت نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین سطح زیر منحنی غلظت-زمان، غلظت حداکثر، زمان رسیدن به غلظت حداکثر، ثابت سرعت حذف و نیمه عمر حذفی دارو بین دو گروه مورد آزمایش وجود ندارد. نتایج بدست آمده نشان دادکه نمونه سوسپانسیون کلوزانتل تولید داخل کشور با نمونه سوسپانسیون کلوزانتل ساخت شرکت یانسن از لحاظ بیولوژیک هم ارز است.

واژگان کلیدی: کلوزانتل، فراهمی زیستی، گوسفند، فارماکوکینتیک، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا

مقدمه

فراهمی زیستی یک دارو عبارت است از فراکسیون یا درصدی از دوز اولیه یا متابولیتهای فعال آن که مستقل از راه تجویز دارو وارد جریان عمومی خون میشود (۲، ۳، ۱۲ و۲۰)، این واژه در فارسی به عناوین مختلفی مانند بازدهی بدنی، بهره دهی بیولوژیک و بهره دهی درمانی و.... نیز

۱*- دانش آموخته دوره تخصصی فارماکولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران و عضو هیات علمی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار،ایران، leilamohammadyar@iau-garmsar.ac.ir

۲-گروه فارماکولوژی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

۳- گروه فارماکولوژی، دانشکده پزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

۴- دانشکده داروسازی دانشگاه شهید بهشتی، تهران، ایران

The comparison of Bioavailability of Iranian oral suspension of closantel with reference product in sheep

Mohammadyar L.[1*], Eshraghi H.R.[2], Samini M.[3], Mortazavi A.[4]

1-Graduated of Pharmacology, School of Specialized Veterinary Sciences, Islamic Azad University, Science & Research Branch, Tehran, Iran and Scientific Member of Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Garmsar Branch, Garmsar, Iran (leilamohammadyar@iau-garmsar.ac.ir)*

2-Department of Pharmacology, School of Specialized Veterinary Sciences, Islamic Azad University, Science & Research Branch, Tehran, Iran

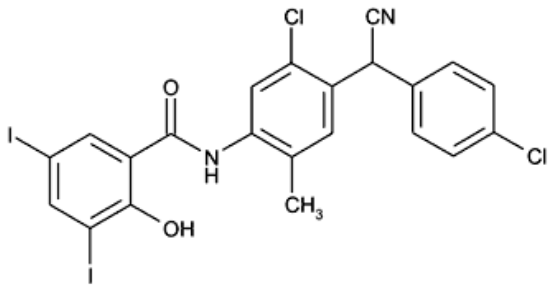
3-Faculty of Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

4-Faculty of Pharmacy, Shahid Beheshti University, Tehran, Iran

In the present study, the bioavailability of closantel, a single oral dose of test closantel, 10 mg/kg, was administered to a group of 10 sheep and the same dose was performed by the reference drug (Jansson Company) to another group. Blood samples were collected before administration and 4,8,12,24,48,96,246,432 and 624 hours after administration in both groups of sheep. The serum levels of closantel were determined by liquid phase and C18 cartridges extraction by using a high-performance liquid chromatographic procedure with UV detector. To measures the concentrations, the areas under the peaks were used and pharmacokinetics parameters obtained using non-compartmental analysis. Statistical investigations by t-test showed non significant differences ($P\leq 0.05$) in the area under the concentration-time curve, peak serum concentration, time of the peak serum concentration, elimination rate constant, and elimination half-life between test and reference drug. The results showed that the closantel suspension produced by Iranian Company and the reference product was bioequivalent.

Key words: *Closantel, Bioavailability, Sheep, Pharmacokinetics, HPLC*

نامیده می‌شود(۱). از آنجایی که خصوصیات فیزیکو شیمیایی ماده موثره دارویی شامل اندازه ذرات، شکل، میزان پراکندگی، ضریب توزیع، فرمولاسیون و روش ساخت وچگونگی آزاد شدن دارو از شکل دارویی و انحلال دارو و تفاوتهای بیولوژیک موجود در افراد مختلف شامل عوامل موثر در دستگاه گوارش، غذا، تفاوتهای فردی (جنس، سن، وزن، نژاد)، اثر بیماری و شرایط مختلف کینتیکی بر میزان فراهمی زیستی داروها موثر است، اشکال دارویی مختلف ونیز فرمهای تجاری گوناگون از یک دارو علیرغم داشتن محتوای دارویی یکسان ممکن است کارآیی درمانی متفاوت داشته باشند و این امر ضرورت انجام آزمایشهای فراهمی زیستی (Bioavailability) و اثبات هم ارزی بیولوژیک (Bioequivalence) محصولات دارویی را آشکار می‌سازد(۳، ۸، ۱۲ و ۲۰). کلوزانتل N (۵- کلرو -۴-[(۴- کلرو فنیل) سیانو متیل]-۲ متیل فنیل)- ۲هیدروکسی-۳و۵- دی یدو بنزامید)(نگاره ۱) داروئی ضد انگل از دسته سالیسیل آنیلید هاست که از سال ۱۹۷۷ توسط شرکت داروسازی یانسن کشف و ساخته شد و مانند سایر سالیسیل آنیلیدها با ایجاد وقفه در فرایند فسفریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری سلول انگلی اثر خود را ایجاد می‌کند(۹ و۲۲).



نگاره ۱- ساختمان شیمیایی کلوزانتل

این داروی ضد انگل وسیع الطیف بر ضد گونه‌های مختلف ترماتود، نماتود وآرتروپود تجویز می شود . داروی مزبور به طور گسترده در دامپزشکی بر علیه کرم کبد (فاسیولا هپاتیکا) جهت پیشگیری و درمان کاربرد دارد(۴ و۱۴). به دلیل اتصال بالای دارو به پروتئین پلاسما (بیش از۹۰٪) این دارو برای مدت طولانی در پلاسما باقی مانده و می‌تواند میزبان را برای بیشتر از ۲۸ روز محافظت نماید(۱۰). بدلیل اهمیت و فراوانی مصرف این دارو در دامپزشکی و در دسترس نبودن گزارشات بررسی بهره دهی بیولوژیک داروهای دامپزشکی تولید داخل کشور این تحقیق جهت ارزیابی و مقایسه بهره‌دهی بیولوژیک بین سوسپانسیون کلوزانتل ساخت داخل کشور با سوسپانسیون کلوزانتل ساخت شرکت یانسن، که دارای مجوز از سوی سازمان غذا و دارو می‌باشد به عنوان مرجع انجام گرفت. کلوزانتل به میزان بسیار کمی تحت تاثیر متابولیسم قرار می‌گیرد بنابراین جهت سنجش غلظت دارو، میزان داروی اصلی و نه متابولیتهای آن در خون اندازه‌گیری می‌شود(۱۵) و از آنجایی که برای تشخیص و سنجش کلوزانتل در مایعات بیولوژیک وبافت روش کروماتوگرافی با کارایی بالا (HPLC-UV) توصیه شده است از این روش استفاده گردید(۱۱).

مواد و روش کار

الف- آماده سازی حیوانات مورد آزمایش

جهت انجام این بررسی تعداد۲۰ راس گوسفند نر بظاهر سالم از نژاد شال که در محدوده وزنی ۳۶-۲۱ کیلوگرم و محدوده سنی ۱۰-۸ ماه بودند وقبلاً هیچ داروی ضد انگلی دریافت نکرده بودند در مرکز تحقیقات دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران، آموزشکده ابوریحان مورد استفاده قرار گرفت. این گوسفندان که دارای وضعیت مشابه از نظر رژیم غذایی و نگهداری بودند به مدت ۲ هفته جهت آماده سازی اولیه تحت مراقبت قرار گرفتند. محل نگهداری گوسفندان جایگاهی به مساحت ۳۵ متر مربع بود وتمامی آنها به یک نوع جیره خاص که حاوی علوفه و کنستانتره بود دسترسی

داشتند. پس از گذشت این زمان گوسفندان شماره گذاری و وزن کشی شدند و مورد معاینه بالینی قرار گرفتند که همگی آنها به ظاهر سالم بودند. سپس گوسفندان به صورت کاملا تصادفی به دو گروه ۱۰ راسی جهت خوراندن سوسپانسیون تقسیم شدند و میزان داروی لازم برای هر راس گوسفند محاسبه گردید. به گروه اول به میزان mg/kg ۱۰ از سوسپانسیون کلوزانتل ۵٪ ساخت شرکت داخلی به وسیله سرنگ خورانده شد و به گروه دوم نیز به همین میزان از سوسپانسیون ۵٪ ساخت شرکت یانسن خورانده شد.

ب- نمونه گیری خون

خونگیری از هر دو گروه به ترتیب شماره گوسفندان در فواصل زمانی، ۴،۸،۱۲،۲۴،۴۸،۹۶،۲۴۶،۴۳۲ و ۶۲۴ ساعت پس از خوراندن دارو به وسیله سرنگ از ورید وداج انجام گرفت و حجم خون اخذ شده در هر نوبت ۱۰ میلی لیتر بود. لازم به ذکر است که قبل از خوراندن دارو از تمام گوسفندان خونگیری انجام شده بود تا به عنوان خونگیری زمان صفر جهت کنترل استفاده گردد. نمونه‌های خون در لوله های پلی اتیلن فاقد هپارین ریخته و پس از سانتریفوژ و جداسازی، سرم حاصله در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمایشات نگهداری شد.

ج ـ استخراج کلوزانتل از سرم وتزریق کلوزانتل به دستگاه

استخراج کلوزانتل از سرم و نیز برنامه کروماتوگرافی مطابق روش توصیف شده توسط استو و همکاران (۱۹) با مقدار جزئی تغییرات انجام پذیرفت. جهت استخراج ابتدا به میزان ۲ میلی لیتر از نمونه‌های سرم ذوب شده در دمای آزمایشگاه با ۲ میلی لیتر اسید استیک ۰/۰۵ درصد در آب اشباع شده با کلرید سدیم و نیز ۶/۵ میلی لیتراستونیتریل به مدت ۳ دقیقه به وسیله همزن کاملا مخلوط کرده و سپس این مخلوط به مدت ۵ دقیقه با دور g ۲۴۰۰ سانتریفوژ شد و محلول روئی حاصل به وسیله پیپت جدا شد و پس از افزودن ۱۷/۵ میلی لیتر استونیتریل به آن جهت جداسازی کامل پروتئین ها مجددا به مدت ۵ دقیقه با همان دور سانتریفوژ گردید. مجدداً محلول رویی جدا شد و این محلول تحت شرایط خلاء در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و پس از خشک شدن کامل فاز استونیتریل به حجم ۲ میلی لیتر رسانده شد. به منظور خالص سازی این حجم از کارتریج‌های C18 عبور داده شد و قبل از آن جهت آماده‌سازی، کارتریج‌ها با ۵ میلی‌لیتر از استونیتریل و ۵ میلی‌لیتر از مخلوط ۱۰ درصد استونیتریل و۹۰ درصد آب و ۰/۱ درصد دی اتیل آمین شستشو گردید. حجم ۲ میلی‌لیتر حاصل از سانتریفوژ دوم از کارتریج عبور داده شد و پس از آن ۵ میلی لیتر استونیتریل نیز از کارتریج عبور داده شد و حجم حاصل (مجموع ۵ میلی لیتر استونیتریل و ۲ میلی لیتر محلول حاصل از سانتریفوژ دوم که از کارتریج عبور داده شده بود) تحت شرایط خلا در دمای ۵۰ درجه سانتی گراد و پس از خشک شدن کامل فاز استونیتریل به حجم ۰/۲ میلی لیتر رسانده شد و سپس ۲۰ میکرولیتراز آن به دستگاه تزریق شد

جهت آنالیز از دستگاه HPLC ساخت شرکت شیماتسوی ژاپن و ستون با خصوصیات زیر استفاده شد:

Shim-pack [CLC- ODS(M)]
5micron particle diameter, 100A pore diameter, 250×4.6 mmID, C18 column

فاز متحرک در این آزمایشات دو فاز A وB بود که فاز متحرک A حاوی ۵۰ میلی لیتر بافر استات و ۲۵ میلی لیتر استو نیتریل و ۴۲۵ میلی لیتر آب و فاز متحرک B حاوی۵۰ میلی لیتر بافراستات و ۴۲۵ میلی لیتر استو نیتریل و ۲۵ میلی

لیتر آب بود و pH فازهای متحرک در این آزمایش ۴/۳ بود. برنامه چگونگی جابجایی فاز متحرک A وB تا زمان نمایان شدن پیک کلوزانتل در جدول ۱ آورده شده است. شرایط دستگاه شامل دتکتور UV-VIS با طول موج ۲۴۰ نانومتر و flow rate ۱/۵میلی‌لیتر در دقیقه و حجم تزریق ۲۰ میکرولیتر به دستگاه بود.

جدول ۱- برنامه جابجایی فاز متحرک A و B

زمان (دقیقه)	فاز متحرکA (درصدV/V)	فاز متحرکB (درصدV/V)
۰-۲	۵۰	۵۰
۲-۵	۲۰	۸۰
۵-۱۰	۱۵	۸۵
۱۰-۱۵	۵۰	۵۰

د- سنجش غلظت کلوزانتل

سطح پیک‌های کلوزانتل که در زمان ۱۲/۵-۱۲ دقیقه نمایان شده و منطبق با زمان جداسازی نمونه رفرانس استاندارد (با۹۹/۱٪ خلوص) ساخت شرکت Menadiona بود، توسط برنامه کامپیوتری دستگاه (Shimadzu CLASS-VP V6.12 SP3.) اندازه گیری شده و با قرار دادن این اطلاعات در معادله خط حاصل از رسم منحنی استاندارد، غلظتهای کلوزانتل نمونه‌ها محاسبه گردید. به منظور تهیه منحنی استاندارد، ابتدا ۲ میلی لیتر ازسرم خون فاقد کلوزانتل داخل لوله‌های خالی آزمایش ریخته شد از طرفی یک محلول مادر از پودر رفرانس استاندارد کلوزانتل در استونیتریل تهیه شد ومجددا با استونیتریل رقیق شد و به لوله‌های حاوی سرم اضافه گردید تا غلظتهای ۱۰، ۲۰، ۳۰، ۴۰، ۵۰ و۶۰ میکرو گرم در میلی لیتر بدست آید و مجدداً مراحل استخراج و تزریق به دستگاه مشابه آنچه در مورد نمونه ذکر شد، قبل از آنالیز نمونه‌های اصلی انجام گردید و سپس منحنی استاندارد به کمک نرم افزار کامپیوتری Office Excel 2003 رسم گردید.

ه ـ اندازه‌گیری پارامترهای فارماکو کینتیکی

جهت اندازه‌گیری پارامترهای فارماکوکینتیکی از برنامه کامپیوتری کینتیک دارو استفاده گردید (۶ و۱۶) و بر اساس مدل غیر وابسته به بخش، این پارامترها شامل حداکثر غلظت سرمی دارو **(Cmax)** و زمان رسیدن به حداکثر غلظت سرمی **(T max)** از روی منحنی غلظت ـ زمان که برای هر راس گوسفند جداگانه ترسیم شده بود بدست آمد. ثابت سرعت حذف دارو از سرم**(Ke)** نیز با در نظر گرفتن ۳ نقطه غلظتهای انتهایی نمودار بر اساس آنالیز حداقل مجذور رگرسیون لگاریتم غلظت-زمان محاسبه شد (۶، ۱۳ و۱۷) ونیز نیمه عمر حذفی دارو**(T1/2)** با کمک فرمول **T۱/۲=۰/۶۹۳/ke** برای هر راس گوسفند جداگانه مشخص شد.

سطح زیر منحنی نمودار غلظت- زمان **(AUC)** به کمک روش مساحت ذوزنقه **(Trapezoidal)** در فاصله زمانی ۶۲۴-۰ ساعت در مورد هر یک از نمودارهای ترسیم شده محاسبه گردید وسپس این پارامتر در فاصله زمانی ∞-۰ نیز بر اساس فرمول زیر بدست آمد:

(AUC 0-∞= AUC 0-624+C 624/Ke)

و- آنالیز آماری

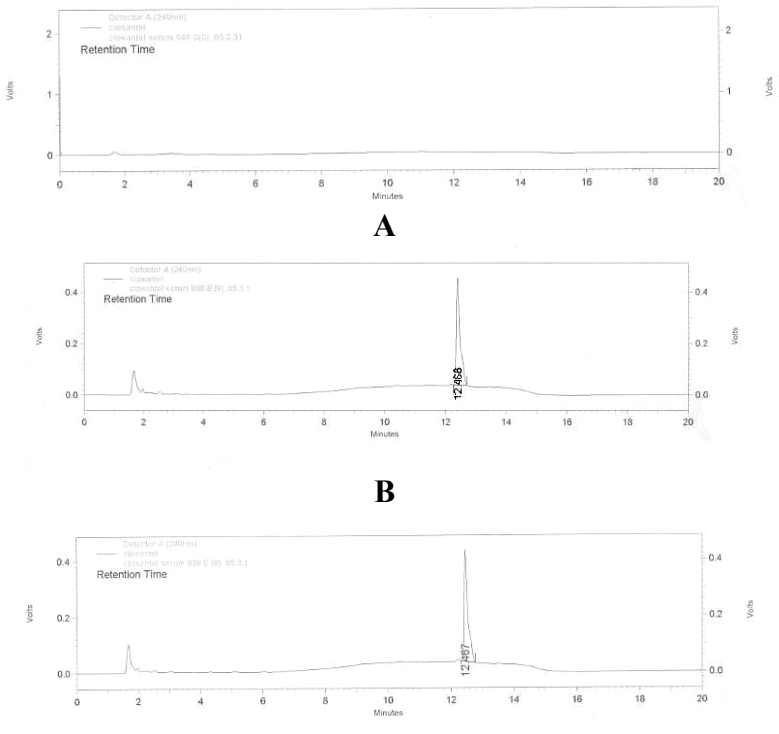
جهت آنالیز آماری یافته‌ها از آزمون t-test استفاده گردید و پارامترهای کینتیکی به صورت میانگین و خطای معیار گزارش گردید و سپس بین گروه آزمون و گروه مرجع مقایسه و با در نظر گرفتن P≤۰/۰۵ انجام گرفت.

نتایج

کروماتوگرام‌های حاصل از تزریق نمونه‌های سرم به

دستگاه شامل نمونه سرم فاقد کلوزانتل یا زمان صفر که قبل از خوراندن دارو به گوسفندان گرفته شده است، سرم فاقد کلوزانتل که ۵۰ میکروگرم در میلی لیتر کلوزانتل رفرانس به آن اضافه شده و نمونه سرم گرفته شده از خون گوسفندی که سوسپانسیون کلوزانتل به میزان mg/kg ۱۰ دریافت کرده است در نگاره ۲ آورده شده است. زمان نمایان شدن پیک برای کلوزانتل ۱۲/۸-۱۲/۳ دقیقه است که در نمونه شاهد این پیک دیده نمی شود. منحنی استاندارد رسم شده در غلظتهای بین ۶۰-۱۰ میکروگرم در میلی لیتر شیب خط قابل قبولی را نشان داده و معادله آن بصورت **Y=34073X-56955** و **r^2= ۰/۹۹۵۱** بدست آمد. میانگین و خطای معیار غلظتهای سرمی کلوزانتل در زمانهای مختلف بعد از خوراندن سوسپانسیون کلوزانتل در هر دو گروه مورد آزمایش محاسبه و در مقایسه با یکدیگر در جدول ۲ ونمودار ۱ آورده شده است که در هیچ یک از زمانها اختلاف معنی‌داری بین دو گروه مشاهده نگردید. پارامترهای فارماکوکینتیکی محاسبه شده در دو گروه آزمون و مرجع به ترتیب در جدول ۳ و۴ آورده شده است و مقایسه آماری این پارامترها که در جدول ۵ آورده شده نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین این پارامترها در هر دو گروه حیوانات که سوسپانسیون ساخت شرکت یانسن به عنوان مرجع و سوسپانسیون تولید داخل به عنوان آزمون را دریافت کرده بودند وجود ندارد. برای بررسی هم ارزی بیولوژیک این داروها نسبت **AUC 0-624** و **C max** گروه آزمون به نمونه مرجع محاسبه گردید و نتایج زیر بدست آمد.

AUC 0-624-test/AUC 0-624-reference =0.95
Cmax-test / Cmax-reference = 0.99



A

B

C

نگاره ۲- کروماتو گرامهای حاصل از تزریق محصول به دست آمده از استخراج سه نمونه سرمی: (A) نمونه سرمی فاقد کلوزانتل، (B) نمونه سرمی فاقد کلوزانتل که به آن میزان ۵۰µg/ml کلوزانتل اضافه شده است و (C) نمونه سرمی خون گوسفندی که میزان mg/kg ۱۰ از سوسپانسیون کلوزانتل را به صورت خوراکی دریافت کرده بودند.

جدول ۲- میانگین و خطای معیارغلظتهای سرمی حاصل از تجویز سوسپانسیون کلوزانتل نمونه مرجع و نمونه آزمون و مقایسه آماری بین آنها

زمان (ساعت)	غلظت کلوزانتل در سرم گوسفندان گروه آزمون (Mean ±SE)	غلظت کلوزانتل در سرم گوسفندان گروه مرجع Mean±SE	t-test
۰	۰	۰	N-S
۴	۹/۱۲±۱/۴۱۴	۷/۶۱±۰/۸۳۷	N-S
۸	۲۲/۲۳±۲/۲۹۴	۱۹/۹۵±۱/۷۲۱	N-S
۱۲	۳۱/۸۵±۳/۷۴۷	۳۰/۷۰±۳/۰۲۷	N-S
۲۴	۴۷/۷۱±۳/۷۲۸	۴۹/۴۴±۲/۲۸۳	N-S
۴۸	۴۳/۹۴±۳/۵۴۳	۴۴/۸۹±۲/۳۲۴	N-S
۹۶	۳۴/۹۸±۲/۵۲۲	۳۶/۸۸±۲/۱۷۷	N-S
۲۴۶	۳۰/۰۳±۱/۹۴۴	۳۲/۲۶±۲/۲۴۵	N-S
۴۳۲	۲۴/۲۸±۲/۰۶۹	۲۶/۶۲±۱/۷۵۳	N-S
۶۲۴	۱۷/۳۹±۱/۸۰۸	۱۹/۱۶±۱/۳۵۸	N-S

جدول۳- پروفایل پارامتر های فارماکوکینتیکی نمونه کلوزانتل آزمون پس از تجویز خوراکی به میزان mg/kg ۱۰در ۱۰ راس گوسفند

دارو	شماره	Cmax (µg/ml)	Tmax (hours)	Ke	T1/2 (hours)	AUC0-624 (µg.h/ml)	AUC0-∞ (µg.h/ml)
کلوزانتل آزمون	۱	۴۸/۱	۲۴	۰/۰۰۱۴۱	۴۸۸/۶۰	۱۷۲۶۵/۳۹	۲۹۸۸۳/۱۹
	۲	۶۵/۶	۲۴	۰/۰۰۱۰۸	۶۳۹/۵۴	۲۳۶۸۳/۸۰	۴۶۳۸۱/۶۰
	۳	۴۶/۷	۲۴	۰/۰۰۱۱۰	۶۲۵/۵۴	۱۸۴۳۸/۴۰	۳۶۸۴۸/۷۶
	۴	۶۶/۷	۲۴	۰/۰۰۱۲۹	۵۳۵/۶۵	۱۵۱۰۷/۴۵	۲۶۲۳۵/۵۱
	۵	۳۸/۱	۲۴	۰/۰۰۱۷۰	۴۰۵/۰۰	۱۶۵۳۵/۶۹	۲۶۱۹۵/۶۸
	۶	۴۰/۰	۴۸	۰/۰۰۱۴۳	۴۶۴/۱۶	۱۴۳۳۴/۰۰	۱۵۷۶۰/۴۸
	۷	۳۰/۲	۲۴	۰/۰۰۰۹۱	۷۵۴/۰۸	۱۴۰۶۳/۰۹	۲۵۶۰۹/۳۹
	۸	۴۸/۱	۲۴	۰/۰۰۱۸۷	۳۶۸/۸۹	۱۸۸۳۸/۴۰	۲۷۵۱۳/۴۰
	۹	۶۲/۷	۴۸	۰/۰۰۰۹۸	۷۰۵/۹۳	۲۱۸۴۰/۰۰	۴۶۵۸۶/۷۱
	۱۰	۵۰/۰	۲۴	۰/۰۰۱۳۴	۵۱۴/۵۷	۲۰۱۸۰/۵۰	۳۶۰۶۷/۳۳
میانگین		۴۹/۶۵	۲۸/۸۰	۰/۰۰۱۴	۵۵۰/۱۹	۱۸۰۲۸	۳۱۷۰۸
خطای معیار		۳/۸۴۵	۳/۲	۰/۰۰۰۱	۴۰/۲۹	۱۰۱۴	۳۰۸۲

Cmax= حد اکثر غلظت سرمی Tmax= زمان رسیدن به حداکثر غلظت سرمی T1/2= نیمه عمر حذفی دارو AUC0-624 = سطح زیر منحنی نمودار غلظت- زمان بین ۰ تا ۶۲۴ ساعت بعد از تجویز دارو
AUC0-∞=سطح زیر منحنی نمودار غلظت- زمان بین زمان ۰ تا بینهایت

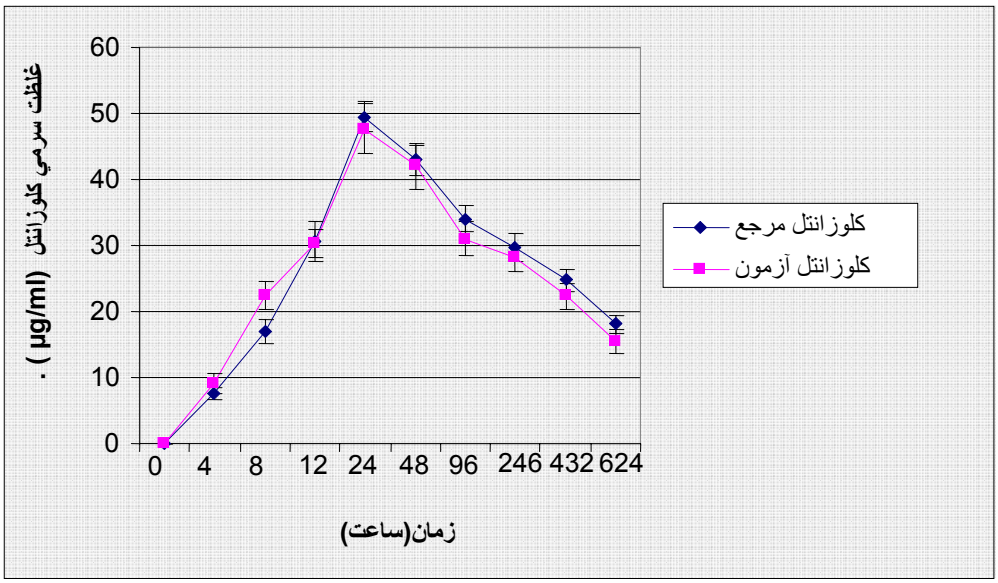
جدول۴- پارامترهای فارماکوکینتیکی نمونه کلوزانتل مرجع پس از تجویز خوراکی به میزان mg/kg ۱۰در۱۰ راس گوسفند

دارو	شماره	Cmax (µg/ml)	Tmax (hours)	Ke	T1/2 (hours)	AUC0-624 (µg.h/ml)	AUC0-∞ (µg.h/ml)
کلوزانتل مرجع	۱	۳۷/۷	۲۴	۰/۰۰۰۹۷	۷۱۳/۲۵	۱۶۱۷۶/۲۹	۳۴۸۰۱/۲۶
	۲	۵۱/۵	۲۴	۰/۰۰۲۱۸	۳۱۷/۳۸	۱۸۴۶۴/۰۰	۲۵۱۴۹/۰۹
	۳	۵۷/۲	۴۸	۰/۰۰۱۱۷	۵۸۸/۹۹	۲۲۶۳۶/۰۰	۴۳۸۷۹/۹۲
	۴	۵۵/۷	۲۴	۰/۰۰۱۹۲	۳۵۹/۹۲	۲۲۴۶۴/۶۰	۳۴۱۰۹/۵۴
	۵	۵۲/۷	۲۴	۰/۰۰۱۹۵	۳۵۴/۷۱	۱۹۵۴۰/۱۹	۲۷۷۷۹/۲۷
	۶	۵۰/۷	۲۴	۰/۰۰۱۰۹	۶۳۵/۶۴	۱۹۲۳۸/۳۰	۳۸۶۷۹/۴۶
	۷	۶۰/۹	۲۴	۰/۰۰۱۰۸	۶۳۶/۷۱	۲۳۹۰۴/۵۰	۴۸۹۸۱/۶۹
	۸	۴۸/۰	۲۴	۰/۰۰۱۶۷	۴۱۰/۸۷	۱۸۷۱۱/۳۰	۲۹۱۴۳/۹۹
	۹	۴۳/۵	۲۴	۰/۰۰۱۳۶	۵۰۶/۴۶	۱۴۷۶۶/۰۰	۲۵۷۲۶/۱۲
	۱۰	۴۰/۴	۲۴	۰/۰۰۰۸۸	۷۸۴/۸۲	۱۴۴۷۸/۵۰	۳۲۸۲۱/۱۶
میانگین		۴۹/۸۵	۲۶/۴۰	۰/۰۰۱۴	۵۳۰/۸۷	۱۹۰۳۷	۳۴۱۰۷
خطای معیار		۲/۳۵۸	۲/۴	۰/۰۰۰۱۵	۵۲/۰۸	۱۰۳۴	۲۴۸۳

Cmax= حد اکثر غلظت سرمی Tmax= زمان رسیدن به حداکثر غلظت سرمی T1/2= نیمه عمر حذفی دارو AUC0-624 = سطح زیر منحنی نمودار غلظت- زمان بین ۰ تا ۶۲۴ ساعت بعد از تجویز دارو
AUC0-∞=سطح زیر منحنی نمودار غلظت- زمان بین زمان ۰ تا بینهایت

جدول ۵ – مقایسه پارامترهای کینتیکی سرمی حاصل از تجویز سوسپانسیون نمونه کلوزانتل آزمون و مرجع به میزان mg/kg۱۰ به دو گروه گوسفند (n=10)

پارامترهای فارماکوکینتیکی	کلوزانتل آزمون (mean±SE)	کلوزانتل مرجع (mean ±SE)	P-Value
Cmax(µg/ml)	۴۹/۶۵±۳/۸۴۵	۴۹/۸۵±۲/۳۵۸	۲۱/۰
Tmax(hours)	۲۸/۸۰±۳/۲۰۰	۲۶/۴۰±۲/۴۰۰	۰/۲۳
T1/2(hours)	۵۵۰/۱۹±۴۰/۲۹	۵۳۰/۸۷±۵۲/۰۸	۰/۲۴
Ke	۰/۰۰۱۴±۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۱۴±۰/۰۰۰۱۵	۰/۰۵۱
AUC0-624(µg.h/ml)	۱۸۰۲۸±۱۰۱۴	۱۹۰۳۷±.۱۰۳۴	۰/۹۵
AUC0-∞(µg.h/ml)	۳۱۷۰۸±۳۰۸۲	۳۴۱۰۷±۲۴۸۳	۰/۴۲



نمودار ۱= mean±SE غلظت سرمی حاصل از خورانیدن سوسپانسیون کلوزانتل شرکت یانسن به عنوان استاندارد و سوسپانسیون کلوزانتل آزمون به میزان mg/kg ۱۰به دو گروه گوسفند (n=10)

بحث

پارامترهای فارماکو کینتیکی حاصل از خوراندن سوسپانسیون کلوزانتل ساخت شرکت یانسن (**Cmax-Tmax-T1/2**) به عنوان استاندارد در این بررسی قابل مقایسه با نتایج سایر مطالعات انجام شده بعد از خوراندن این ترکیب با دوز مشابه ۱۰ میلی‌گرم در کیلوگرم در گوسفند می‌باشد(۱۱، ۱۵و۱۸). براساس این گزارشات حداکثر غلظت سرمی ۵۵-۴۵ میکرو گرم در میلی لیتر، زمان رسیدن به حداکثر غلظت سرمی ۴۸-۸ ساعت و نیمه عمر حذفی دارو ۳-۲ هفته ذکر شده که نتایج حاصل از این بررسی نیز در همین محدوده است و تفاوتهای جزئی می‌تواند به دلیل وجود اختلافات بیولوژیک مانند جنس، سن، وزن و نژاد بین حیوانات مورد آزمایش در این مطالعه و حیوانات مورد آزمایش در گزارشات ذکر شده باشد(۱۸،۱۵،۱۱).

جهت بررسی هم ارزی بیولوژیک بنا به اصول و قوانین تنظیم شده از طرف سازمان FDA و WHO، سطح زیر شده از طرف سازمان FDA و WHO، سطح زیر منحنی غلظت – زمان دارو (**AUC**)، ماکزیمم غلظت سرمی (**Cmax**) و زمان رسیدن به این غلظت نباید بیش از ۲۰٪ اختلاف داشته باشد(۵، ۷، ۱۳و۲۱). در این مطالعه پارامترهای ذکر شده اختلاف معنی‌داری بین دو گروه آزمون و رفرانس وجود نداشته و اختلاف آنها بسیار کمتر از ۲۰٪ می‌باشد (P<۰/۰۵). با مقایسه سطوح زیر منحنی غلظت ـ زمان هر دو فراورده می‌توان بهره‌دهی بیولوژیک نسبی کلوزانتل ساخت شرکت تولید داروهای دامی ایران را محاسبه کرد. **Frel=AUC-test/AUCreference= 0.95**. نتایج این تحقیق نشان داد که سوسپانسیون کلوزانتل ساخت داخل از لحاظ بیولوژیک با نمونه کلوزانتل ساخت شرکت یانسن، هم ارز است. در انتها انجام بررسی‌های بهره‌دهی بیولوژیک بر روی سایر داروهای مورد مصرف در دامپزشکی که در داخل کشور تولید می‌شوند، جهت افزایش اطمینان از کارآیی درمانی آنها پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و سپاسگزاری

در پایان از همکاری صمیمانه جناب آقای مهندس بهراد، مدیریت محترم تولید وسرکار خانم فلورا دوستی کارشناس محترم آزمایشگاه شیمی کارخانه تولید کننده دارو که زحمات زیادی را در به انجام رسیدن این طرح متحمل شده‌اند تشکر و قدردانی می‌گردد.

فهرست منابع

۱ . رستمی. ا (۱۳۶۹): بیوفارماسی و اصول فارماکوکینتیک در درمان بیماریها، جلد اول، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تهران، صفحات ۲۹۰ -۲۵۱.

۲. زرین تنو م.ح و رستمی. ا (۱۳۷۰): درمان با سیستم‌های داروئی جدید، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی تهران، صفحات ۳۲-۳۱.

۳. فتح اللهی. ع(۱۳۸۲): فارماکولوژی پایه و بالینی ،جلد اول، ویرایش هشتم، انتشارات ارجمند، صفحات ۶۶-۶۴.

4. Boray, C.J. (1999): Fasiolicides: Efficacy, actions, resistance and its management. Vet .J. 158:81-112.

5. EMEA. (2001): Guidelines for the conduct of bioequivalence Studies for Veterinary Medicinal Products. Westerry Circus. Pp: 1-11.

6. Eslami, A., Rassouli, A., Meshki, B. and Shams, G.R., (2006): A bioequivalence study of an albendazole oral suspension produced in Iran and a reference product in Iran. Inter. J. Appl. Res. Vet. Med. 4(2): 109-114.

7. FDA guidance for industry (2003): Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administration Drug Products General Considerations. Orange Book Company. Pp: 1-23.

8. Gibaldi, M. (1991): Biopharmaceutics and clinical pharmacokinetics. 3th edition. Pp: 156-131.

9. Guerrero, J. (1984): A review of Closantels antiparasitic activity. Preventive Vet. Med. 2:317-327.

10. Hall, C.A., Kelly, J.D., Whitlock, H.V. and Ritchie, L.(1981): Prolonged anthelmintic effect of closantel and disophenol against a thiabendazol selected resistant strain of Haemonchus contours in sheep. Res. Vet. Sci. 31:104-105.

11. Hennessy. D.R. and Ali, D.N. (1997): The effect of feed intake level on the pharmacokinetic disposition of closantel in sheep. Inter. J. Parasitol. 27(9):1081-1086.

12. Henry, J .M. (2005): Bioavailability and bioequivalence Remingtons pharmaceutical sciences. 21st ed.Wiley Iterscience Company. Pp:1037-46.

13. Lifschitz, A. Pis, A., Alvarez, L.et al .(1999):Bioequivalence of ivermectin formulation in pigs and cattle. J. Vet. Pharmacol. Ther.22:27-34.

14. Maes, L., Vanparijs, O. and Lauwers, E. (1990):Activity of closantel against Fasciola hepatica. Pharmacodynamic approach. Rev. Vet. Med. 141(12): 991-995.

15. Michiels, M., Meuldermans, W. and Heykants, J. (1987): The metabolism and fate of Closantel (flokiver) in sheep and cattel .Drug. Metab .Rev.18 (2-3):235-251.

16-Mirfazaelian, A. and Mahmoudian, M. (1995): A comprehensive computer program for evaluation and teaching pharmacokinetics .Abstract of the XIIth Iranian Congress of Physiology and Pharmacology: Tehran, Iran. Pp: 336.

17. Mirfazaelian. A., Rouini, M.R. and Dadashzadeh, S. (2002): Dose dependent pharmacokinetics of albendazol in human. Biopharm Drug Dispos.23:379-383.

18. Mohammad-Ali, NAK. and Bogan, J.A. (1987): The Pharmacodynamics of the flukicidal salicylanilides, rafoxanid, Closantel and oxyclozanid. J. Vet. Pharmaco.Therap.10:127-33.

19. Stove, G. (1998): Determination of Closantel residues in plasma and tissues by high performance liquid chromatography with florescence detection. J. Chromat. B.710:234-238.

20-Shargel, L. and B.C. Yu A. (2005): Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics. 5th edition. Appleton & Lange. Pp: 498-453.

21. US Food and Drug Administration. (2002): Bioequivalence guidance. Rockvir MD: Center for Veterinary Medicine, Food and Drug Administration. Pp: 1-28.

22. VanDenBossche., Verhoven, H., Vanparijs, O., Lavwers, H., Thienpont, D. (1979): A new antiparasitic hydrogen ionophore. Int. Physio. Biochim. 87(4): 851-3.