

Терапевтический лекарственный мониторинг нифедипина методом ВЭЖХ-МС/МС при лечении артериальной гипертензии

Т.А. Родина^{1,2}, Е.С. Мельников^{2,3}, С.А. Белков^{1,2,3}, А.А. Данько²,
А.В. Соколов^{1,3}, А.Б. Прокофьев^{1,2,3}

¹ – ФГБУ «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Минздрава России, Москва

² – ГБУЗ «Городская клиническая больница имени И.В. Давыдовского Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва

³ – ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Минздрава России, Москва

Контактная информация: к.х.н. Родина Татьяна Александровна, semina_tatiana@mail.ru;
к.ф.н. Мельников Евгений Сергеевич, evgeniy.melnikov@gmail.com

Разработана и валидирована методика определения нифедипина и дегидронифедипина в сыворотке крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС для проведения терапевтического лекарственного мониторинга у пациентов с артериальной гипертензией. В исследовании участвовали 42 пациента, принимавших нифедипин в форме таблеток с модифицированным высвобождением. Показано, что терапевтический лекарственный мониторинг нифедипина целесообразно проводить как при назначении дозы 30 мг (для выявления пациентов, которым требуется повышение дозы препарата для достижения необходимого терапевтического эффекта), так и при назначении доз 60 мг и 90 мг с целью выявления пациентов, имеющих высокую склонность к развитию нежелательных лекарственных реакций. Одновременное определение нифедипина и дегидронифедипина в сыворотке крови человека позволяет определять фенотип каждого пациента по скорости метаболизма нифедипина и корректировать дозу и кратность приёма препарата в зависимости от интенсивности биотрансформации.

Ключевые слова: нифедипин, дегидронифедипин, ВЭЖХ-МС/МС, артериальная гипертензия, терапевтический лекарственный мониторинг.

Введение

Оптимизация фармакотерапии (подбор оптимальных дозировок лекарственных средств (ЛС) и интервалов дозирования) является одной из основных задач клинической фармакологии, и эта задача решается в т.ч. с помощью фармакокинетического подхода. Данный подход реализуется на практике при проведении терапевтического лекарственного мониторинга (ТЛМ) и позволяет корректировать и поддерживать концентрации ЛС в месте действия с

учётом индивидуальных особенностей каждого пациента [1, 4].

Нифедипин является важнейшим представителем ЛС из группы блокаторов кальциевых каналов, применяется для лечения артериальной гипертензии, ишемической болезни сердца, хронической сердечной недостаточности [3, 15].

При терапевтических субтоксичных концентрациях нифедипин мало влияет на кардиомиоциты и проводящие клетки. Блокируя кальциевые каналы, он подавляет спазм коронарной артерии и

расширяет системные артерии, приводит к увеличению доставки кислорода к миокарду и снижению системного артериального давления (АД). Быстро и полностью всасывается после перорального введения. Связывание с белками – более 90%. Метаболизируется в печени с помощью ферментов системы цитохрома P450. Биодоступность составляет 40-60% вследствие эффекта первого прохождения через печень. Преобладает метаболизм при участии изофермента CYP3A4, в меньшей степени – CYP1A2

и CYP2A6, при этом образуются высоко растворимые неактивные метаболиты (рис. 1), которые выводятся почками и составляют 60-80% от принятой дозы [19].

Фармакокинетические параметры значительно различаются в зависимости от применяемой лекарственной формы (ЛФ). Для ЛФ немедленного высвобождения время достижения максимальной концентрации (t_{max}) нифедипина в крови составляет менее часа, а период полуэлиминации – около двух

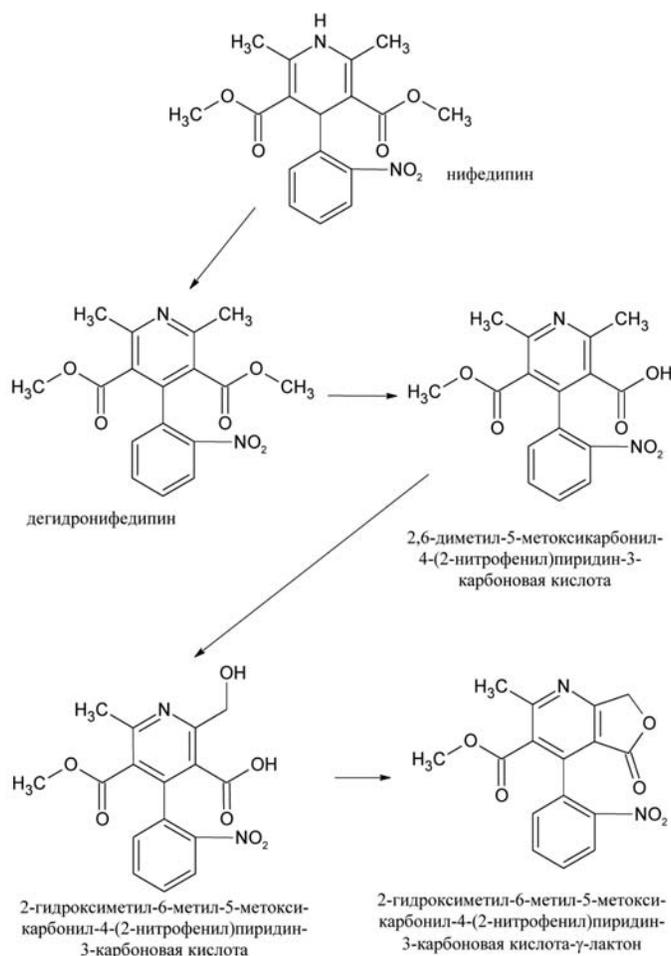


Рис. 1. Путь метаболизма нифедипина.

часов. Широкое распространение получили ЛФ нифедипина пролонгированного действия, которые обеспечивают длительное поддержание равновесной концентрации ЛС в крови. Для ЛФ с модифицированным высвобождением t_{\max} возрастает до 1,7-15 ч [16, 18, 21, 22].

Диапазон терапевтических концентраций по нифедипину составляет 25-150 нг/мл [7, 14]. При превышении максимального значения терапевтической концентрации возможно возникновение нежелательных лекарственных реакций (НЛР). Симптомы передозировки включают головокружение, сонливость, тошноту, тяжелое падение АД, невнятную речь и слабость. Кроме того, нифедипин порой становится причиной случайных или преднамеренных острых отравлений [2].

Среди факторов, влияющих на межиндивидуальные различия в фармакокинетике нифедипина, можно отнести расовую и этническую принадлежность, возраст, приём препарата натощак или с пищей, скорость клубочковой фильтрации, межлекарственные взаимодействия и т.п. [8, 9, 20, 25].

Таким образом, проведение ТЛМ при назначении препаратов нифедипина необходимо при индивидуальном подборе дозировки и кратности приёма ЛС, которые обеспечивали бы поддержание равновесной концентрации препарата в пределах терапевтического диапазона.

Одновременное определение концентраций нифедипина и его основного метаболита – дегидронифедипина – позволяет оценить индивидуальную скорость метаболизма ЛС в организме пациента.

Применяемые в настоящее время методики определения концентраций ни-

федипина и дегидронифедипина имеют ряд ограничений, не позволивших нам использовать их в практической работе, а именно: узкий диапазон анализируемых концентраций [11-13, 24], трудоёмкая пробоподготовка [10-13, 24], длительное время хроматографического разделение [10, 11], невозможность одновременного определения [10-13, 23, 24].

В связи с этим **целью** нашего исследования была разработка и валидация методики определения нифедипина и дегидронифедипина в сыворотке крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС для проведения ТЛМ нифедипина.

Материалы и методы

Исследование проводилось на оборудовании фирмы «Shimadzu» (Япония), система ВЭЖХ Nexera LCMS-8040 (QQQ).

В работе использовали следующие реактивы: ацетонитрил (Panreac, supergradient for UPLC), муравьиная кислота (Fluka, for mass-spectrometry), деионизированная вода (электросопротивление – 18,2 МОм*см). В исследовании использовали нифедипин, дегидронифедипин и прометазина гидрохлорид («Sigma-Aldrich»), отвечающие требованиям USP. Разделение осуществляли на колонке Synergi Polar RP (50x2 мм, 4 мкм, 80Å) с универсальной предколонкой C18, 4x3 мм («Phenomenex», США) при температуре 40°C. Подвижная фаза состояла из элюента А (0,1% (об.) муравьиной кислоты / деионизированная вода) и элюента В (0,1% (об.) муравьиной кислоты / ацетонитрил). Градиент по составу подвижной фазы представлен в табл. 1. Скорость потока – 0,7 мл/мин. Объем вводимой пробы – 3 мкл.

Градиент по составу подвижной фазы

Время анализа, мин	Объёмная доля элюента В, %
0,00 → 0,20	5
0,20 → 0,35	5 → 40
0,35 → 1,10	40
1,10 → 1,13	40 → 55
1,13 → 1,30	55
1,30 → 1,50	55 → 100
1,50 → 2,10	100
2,10 → 2,20	100 → 5
2,20 → 3,00	5

В качестве внутреннего стандарта использовался прометазин, поскольку в наше время в клинической практике он практически не применяется, и, следовательно, это исключает возможность его нахождения в исследуемых образцах.

При ионизации использовали метод электрораспыления в положительном режиме. Детектирование проводилось в режиме мониторинга множественных реакций (ММР⁺). Ионы-предшественники соответствовали протонированным молекулярным ионам, а именно: [М+Н]⁺ для нифедипина – 347,1 m/z, для дегидронифедипина – 345,2, для прометазина – 285,1 m/z. Параметры детектирования в режиме ММР⁺ и энергии соударений подобраны экспериментально и представлены в табл. 2. Время

удерживания нифедипина составляло 1,65±0,09 мин, дегидронифедипина – 1,59±0,09, прометазина – 1,20±0,07 мин.

Пробоподготовка осуществлялась путём осаждения белков сыворотки крови ацетонитрилом. Для этого к 300 мкл исследуемой сыворотки (либо 270 мкл интактной сыворотки крови человека с прибавлением 30 мкл рабочего стандартного р-ра нифедипина и дегидронифедипина) добавляли 5 мкл р-ра внутреннего стандарта (прометазин с концентрацией 250 нг/мл), 900 мкл ацетонитрила, встряхивали в течение 15 с на лабораторном шейкере типа вортекс. Далее пробу центрифугировали в течение 15 мин со скоростью 14000 об/мин. Надосадочную жидкость переносили в вials и помещали в автосамплер хроматографа.

Параметры детектирования исследуемых препаратов в режиме ММР⁺

Вещество	Ион-предшественник, m/z	Фрагментный ион, m/z	Энергия соударений, В
Нифедипин	347,10	315,10	-9,0
Дегидронифедипин	345,20	284,00	-29,0
Прометазина гидрохлорид	285,10	86,10	-20,0

Следует помнить, что недопустимо использование дневного (естественного) или искусственного освещения, поскольку нифедипин является фотолabileм веществом. В связи с этим, при работе со стандартными р-рами необходимо использовать посуду из тёмного стекла. Транспортировку образцов следует проводить в светонепроницаемой таре. Все операции с р-рами и пробами желательно проводить в тёмной комнате при свете красной лампы, используя светонепроницаемую посуду [17].

Результаты исследований

Была проведена валидация методики по следующим характеристикам: селективность; эффект матрицы; степень извлечения; калибровочная кривая (рис. 2, 3); точность (внутри цикла

и между циклами); прецизионность (внутри цикла и между циклами); нижний предел количественного определения; перенос пробы; линейность отклика; стабильность образцов, в полном соответствии с требованиями Руководства [5].

Представленный способ количественного определения нифедипина и дегидронифедипина в сыворотке крови человека имеет ряд достоинств перед существующими методиками, таких как: экспрессность (время хроматографического анализа – 3 мин); одновременное определение нифедипина и дегидронифедипина, т.е. не требуется перехода на другой метод анализа или пробоподготовки в зависимости от задачи; максимально упрощённая пробоподготовка; использования метода

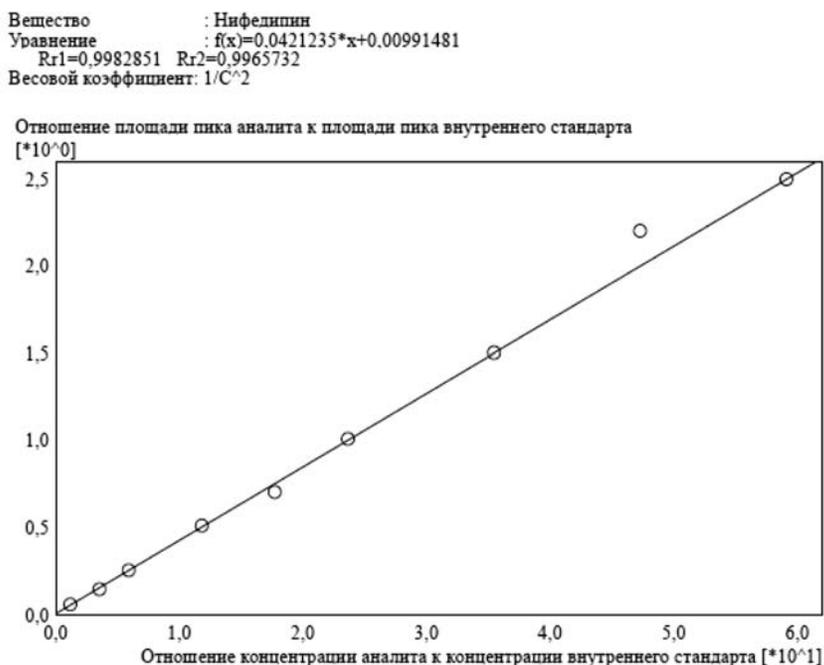


Рис. 2. Калибровочный график зависимости отношения площади пика нифедипина к площади пика прометазина от отношения концентрации нифедипина к концентрации прометазина в сыворотке крови человека.

Вещество : Дегидронифедипин
 Уравнение : $f(x)=0,156540 \cdot x-0,00439762$
 $Rr1=0,9991144$ $Rr2=0,9982295$
 Весовой коэффициент: $1/C^2$

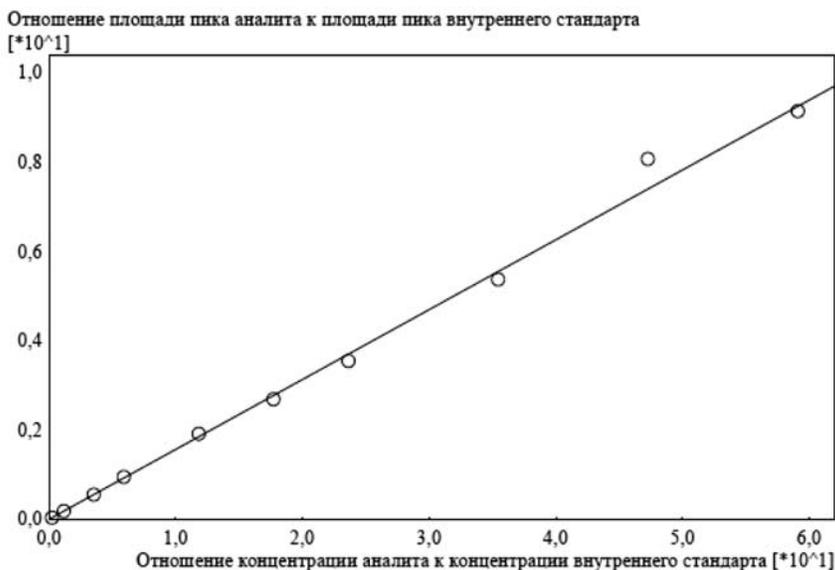


Рис. 3. Калибровочный график зависимости отношения площади пика дегидронифедипина к площади пика прометазина от отношения концентрации дегидронифедипина к концентрации прометазина в сыворотке крови человека.

внутреннего стандарта, что позволяет нивелировать вариабельность состава биологической матрицы (сыворотка крови человека).

Кроме вышеизложенного, следует отметить широкий аналитический диапазон разработанной методики ($5 \div 250$ нг/мл для нифедипина и $1 \div 250$ нг/мл – для дегидронифедипина), что позволяет использовать её для проведения ТЛМ, выполнения аналитического этапа исследований биоэквивалентности, оценки взаимозаменяемости препаратов нифедипина, диагностики острых отравлений ими.

Обсуждение результатов

В настоящее время данная методика применяется в Центре персона-

лизированной медицины ГБУЗ «ГКБ им. И.В. Давыдовского ДЗМ» для проведения фармакокинетических исследований с целью оптимизации фармакотерапии нифедипином при заболеваниях сердечно-сосудистой системы.

В исследование были включены 42 пациента в возрасте 50-86 лет, из них 55% – женщины и 45% – мужчины. Всем пациентам был первично назначен нифедипин в форме таблеток с модифицированным высвобождением в дозировке 30 или 60 мг в зависимости степени тяжести заболевания. Сопутствующая терапия отражена в табл. 3.

Целью проведения ТЛМ является повышение эффективности и безопасности фармакотерапии с учётом индивидуальных особенностей пациентов.

Сопутствующая терапия у пациентов, включённых в исследование

Фармакологическая группа ЛС	Международное непатентованное наименование	Число пациентов, принимавших ЛС	Всего пациентов
Антиаритмические	Метопролол	25	37
	Бисопролол	4	
	Соталол	4	
	Верапамил	1	
	Лаптаконитина гидробромид	1	
	Дигоксин	1	
	Амиодарон	1	
Антигипертензивные	Эналаприл	27	31
	Лозартан	2	
	Азилсартан	1	
	Моксонидин	1	
Диуретики	Фуросемид	9	26
	Индапамид	8	
	Гидрохлоротиазид	5	
	Спиронолактон	4	
Антиагреганты	Ацетилсалициловая кислота	22	23
	Клопидогрел	1	
Гиполипидемические	Аторвастатин	11	22
	Розувастатин	11	
Антикоагулянты	Варфарин	4	7
	Дабигатран	2	
	Ривароксабан	1	
Гипогликемические	Гликлазид	4	7
	Метформин	3	
Прочие	Л-тироксин	5	5
	Алимемазин	3	3
	Тамсулозин	3	3
	Циннаризин	1	1
	Омега-3	1	1

Исходя из этих положений, нами были выработаны подходы к интерпретации результатов фармакокинетических исследований.

Первое, на что следует обратить внимание, – это абсолютное значение концентрации нифедипина в сыворотке крови пациента. В случае если она выходила за рамки терапевтического коридора, обычно требовалась корректировка дозы.

В результате проведённых исследований пациентов можно условно разделить на две основные группы. К первой группе относятся пациенты с условно нормальной фармакокинетикой после приёма ЛС, т.е. в пробе № 1 (перед очередным приемом препарата) концен-

трация нифедипина в сыворотке крови была в пределах нормы. Во второй группе находились пациенты с повышенной концентрацией нифедипина в сыворотке крови. В большинстве случаев это было связано с нарушением функции почек, что требовало коррекции дозы препарата.

трация нифедипина была ниже, чем в пробе № 2 (через 4 ч после очередного приема препарата). Доля таких пациентов составляла 67% от общего числа. Ко второй группе относятся пациенты с условно парадоксальной фармакокинетикой после приёма ЛС, т.е. в пробе № 1 концентрация нифедипина была выше, чем в пробе № 2. Доля таких пациентов составляла 33% от общего числа. Каждая из этих групп была дополнительно поделена на две подгруппы: подгруппа А – пациенты, получавшие таблетки нифедипина с модифицированным высвобождением в дозе 30 мг; подгруппа Б – пациенты, получавшие таблетки нифедипина с модифицированным высвобождением в дозе 60 мг (табл. 4).

В подгруппе А группы 1 в пробе № 1 у 18-ти пациентов (43% от общего числа) среднее содержание нифедипина в сыворотке крови составило $32,0 \pm 7,2$ нг/мл. Причем у 12-ти больных (28,5% от общего числа) данный показатель не достигал нижнего уровня терапевтического диапазона (25-150 нг/мл). В пробе № 2 в указанной подгруппе среднее содержание нифедипина было несколько выше и составляло $51,7 \pm 10,6$ нг/мл.

В подгруппе Б группы 1 в пробе № 1 у 10-ти пациентов (24% от общего числа) концентрация нифедипина в сыво-

ротке крови находилась в пределах терапевтического диапазона и составляла в среднем $126,4 \pm 27,7$ нг/мл, что статистически значимо превышало аналогичный показатель в подгруппе А ($p \leq 0,05$). В пробе № 2 концентрация нифедипина в крови увеличилась до $157,6 \pm 35,0$ нг/мл, что в 3 раза превышало аналогичный показатель в подгруппе А ($p \leq 0,05$).

Среди пациентов подгруппы Б группы 1 наблюдалось 3 случая (7% от общего числа), когда концентрация нифедипина в крови была очень высокой как в пробе № 1, так и в пробе № 2. Так, у двух пациентов была существенно превышена верхняя граница терапевтического диапазона, и концентрации нифедипина составила в пробе № 1 180,8 и 271,7 нг/мл, и, соответственно, в пробе № 2 – 213,4 и 338,4 нг/мл. При этом у больных имели место НЛР, выражавшиеся в гиперемии лица и тахикардии. В одном случае развилась выраженная гипотония, потребовавшая проведения неотложных мероприятий и отмены препарата. Ещё у одного пациента концентрация нифедипина в пробе № 1 была близка к верхней границе терапевтического коридора и составила 145,3 нг/мл, а во второй пробе – существенно превысила норму, составив 235,4 нг/мл, при отсутствии НЛР. Кроме того, в данном случае не удалось

Таблица 4

Распределение пациентов по группам и подгруппам

Группа	1 «нормальная» фармакокинетика		2 «парадоксальная» фармакокинетика	
	А (30 мг)	Б (60 мг)	А (30 мг)	Б (60 мг)
Подгруппа (доза нифедипина)	А (30 мг)	Б (60 мг)	А (30 мг)	Б (60 мг)
Число пациентов (%)	18 (43%)	10 (24%)	10 (24%)	4 (9%)
НЛР, число пациентов (%)	-	3 (7%)	-	-
Всего пациентов в группе (%)	28 (67%)		14 (33%)	
Всего пациентов (%)	42 (100%)			

добиться снижения АД до нормальных значений. В связи с этим был сделан вывод о неэффективности применения нифедипина в данном случае, произведена замена препарата.

К подгруппе А группы 2 можно отнести 10 пациентов (24% от общего числа), у которых концентрация нифедипина в сыворотке крови в пробе № 1 была выше, чем в пробе № 2, и составляла в среднем $53,2 \pm 13,8$ и $43,2 \pm 10,5$ нг/мл соответственно ($p \leq 0,05$). К подгруппе Б группы 2 можно отнести 4 пациента (9,5% от общего числа), у которых концентрация препарата в сыворотке крови в пробе № 1 была выше, чем в пробе № 2, и составляла в среднем $65,4 \pm 16,1$ и $54,3 \pm 18,3$ нг/мл соответственно ($p \leq 0,05$). Данный факт можно объяснить тем, что скорость абсорбции и время достижения максимальной концентрации в сыворотке крови для нифедипина тесно связаны с временем приёма и качественным составом пищи. Например, приём жирной пищи увеличивает скорость всасывания препарата в кишечнике, а приём таблетки натощак, напротив, замедляет абсорбцию. Кроме того, ЛФ с модифицированным высвобождением обеспечивают поддержание равновесной концентрации нифедипина в течение суток, благодаря чему перед очередным приёмом препарата его уровень в сыворотке крови остаётся в границах терапевтического диапазона [8-9, 20, 25].

Таким образом, при назначении больным с артериальной гипертензией таблеток нифедипина с модифицированным высвобождением в суточной дозе 30 мг наблюдается равномерное всасывание и поддержание равновесной концентрации ЛС в течение суток. Вместе с тем, примерно у трети больных концентрация

препарата не достигала значений терапевтического диапазона. Нормализация АД у этих пациентов, вероятно, достигалась за счёт параллельного назначения гипотензивных препаратов из других групп. Назначение таблеток нифедипина с модифицированным высвобождением в дозе 60 мг приводило к равномерному всасыванию и поддержанию равновесной концентрации ЛС в пределах терапевтического диапазона в течение суток, что может являться подтверждением возможности его эффективного использования в качестве монотерапии. При этом примерно в 7% случаев концентрация ЛС в сыворотке крови существенно превышала верхнее значение терапевтического диапазона, и именно у этих пациентов наблюдались НЛР.

В некоторых случаях достижение равновесной концентрации в границах терапевтического диапазона не позволяет добиться ожидаемого эффекта. В подобных ситуациях следует обратить внимание на интенсивность метаболизма нифедипина до дегидронифедипина. Как указывалось ранее, нифедипин метаболизируется в первую очередь под действием изофермента CYP3A4 при первом прохождении через печень [19]. Удобным инструментом для оценки скорости биотрансформации нифедипина в дегидронифедипин (определения фенотипа по скорости метаболизма) является расчёт метаболического отношения (МО) как частного от деления концентрации нифедипина на концентрацию дегидронифедипина [6]. По полученным экспериментальным данным можно сделать вывод, что МО не зависит от дозы и остаётся постоянным во времени ($MO \pm 15\%$), а также не коррелирует с полом и возрастом пациентов.

Однозначное определение быстрого, медленного или среднестатистического типа метаболизма затруднительно ввиду многообразия факторов, влияющих на биотрансформацию. Сопоставление значений МО и АД показало, что при МО, равном менее двух (концентрация нифедипина превышает концентрацию дегидронифедипина не более чем в 2 раза, т.е. наблюдается интенсивная биотрансформация), практически не удаётся достичь снижения АД до целевых значений (140/90), следовательно, таких пациентов можно отнести к группе «быстрых метаболизаторов». Для данной группы больных рекомендовано увеличение дозы нифедипина, сокращение интервалов между приёмами препарата, либо замена ЛС.

Для пациента 1 количество нифедипина и дегидронифедипина в пробе № 1 (до приёма ЛС) составляло 19,42 и 18,10 нг/мл соответственно (рис. 4а).

В пробе № 2 через 4 ч после приёма ЛС концентрации нифедипина и дегидронифедипина составляли 13,27 и 12,06 нг/мл соответственно (рис. 4б). Значения МО до и после приёма препарата составили 0,74 и 1,10 соответственно, что свидетельствует о быстром метаболизме нифедипина.

При значениях МО более пяти (концентрация нифедипина превышает концентрацию дегидронифедипина более чем в 5 раз, т.е. наблюдается замедленная биотрансформация) в большинстве случаев удаётся достичь снижения АД до целевых значений (140/90). Для данной группы пациентов, относимых к категории «медленных метаболизаторов», важнейшую роль при принятии решения о коррек-

тировке схемы назначения нифедипина играют абсолютные значения концентрации препарата и выраженность побочных явлений.

У пациента 2 количество нифедипина и дегидронифедипина в пробе № 1 до приёма ЛС составляло 131,52 и 22,90 нг/мл соответственно (рис. 5а). В пробе № 2 через 4 ч после приёма ЛС – 122,59 и 22,46 нг/мл соответственно (рис. 5б).

У данного пациента наблюдается достаточно высокое содержание нифедипина, находящееся в интервале терапевтического диапазона и, в то же время, несущественно отличающееся между пробами. Значения МО составили 5,74 – до и 5,46 – после приёма препарата. Исходя из полученных результатов, можно заключить, что в данном случае у пациента наблюдается медленный метаболизм нифедипина.

При значениях МО от двух до пяти практически всегда наблюдается снижение АД до целевых значений (140/90), данная группа пациентов составляет около 70% от общего числа больных, для которых проводился ТЛМ нифедипина, и данную категорию следует рассматривать как «среднестатистических метаболизаторов».

Следующий пример демонстрирует случай среднестатистического метаболизма. Пациент 3: количество нифедипина и дегидронифедипина в пробе № 1 (до приёма ЛС) составляло 64,24 и 13,48 нг/мл соответственно (рис. 6а). В пробе № 2 через 4 ч после приёма ЛС – 66,03 и 13,91 нг/мл соответственно (рис. 6б). Значения МО до и после приёма препарата составили 4,76 и 4,75 соответственно.

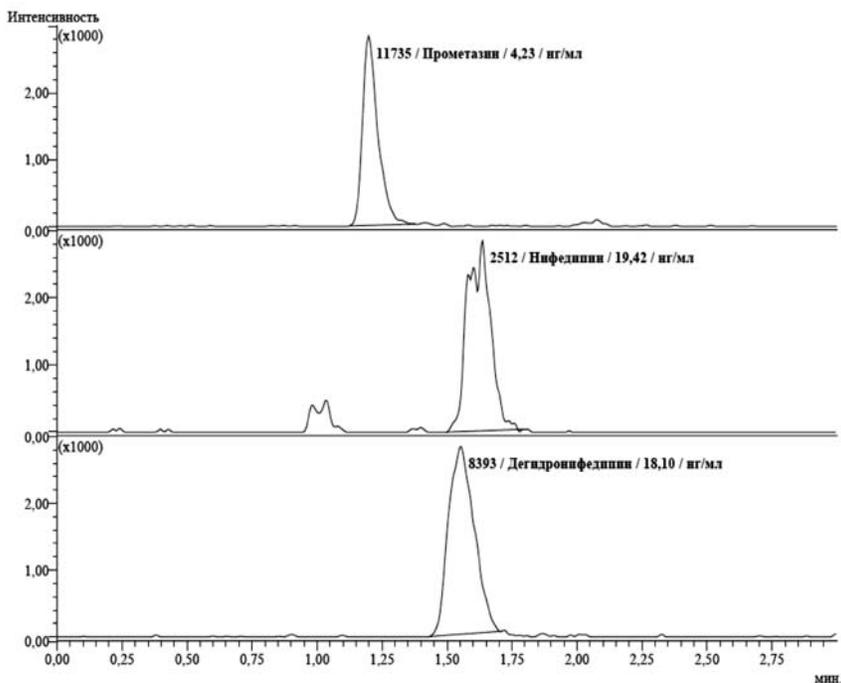


Рис. 4а. Хроматограмма пробы № 1 (до приёма ЛС) сыворотки крови пациента 1.

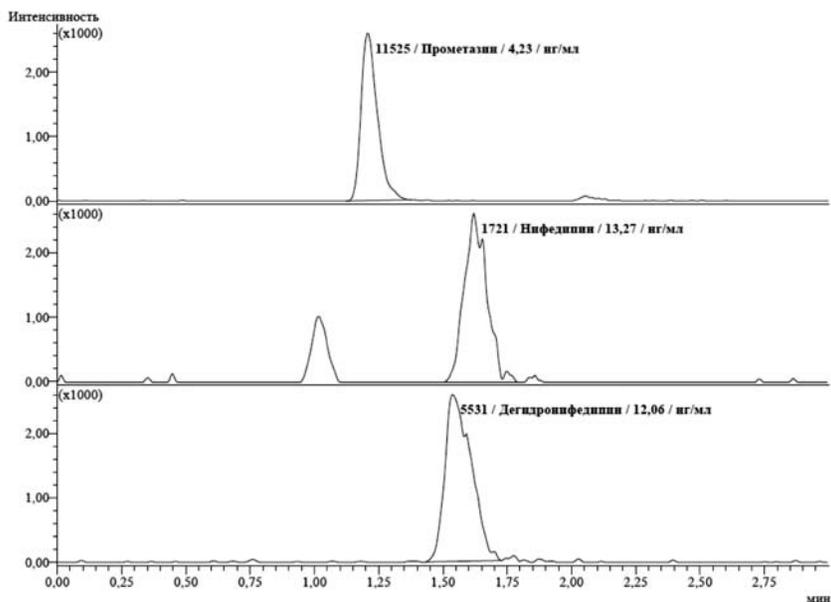


Рис. 4б. Хроматограмма пробы № 2 (после приёма ЛС) сыворотки крови пациента 1.

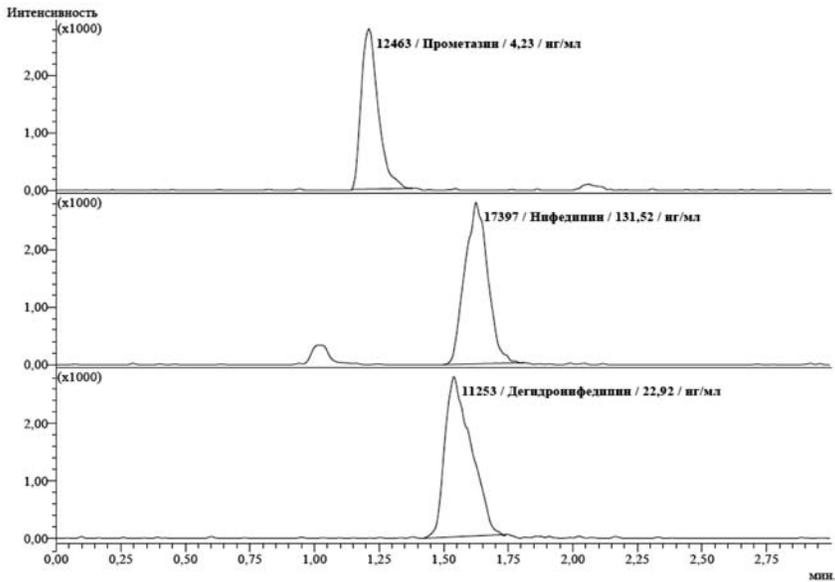


Рис. 5а. Хроматограмма пробы № 1 (до приёма ЛС) сыворотки крови пациента 2.

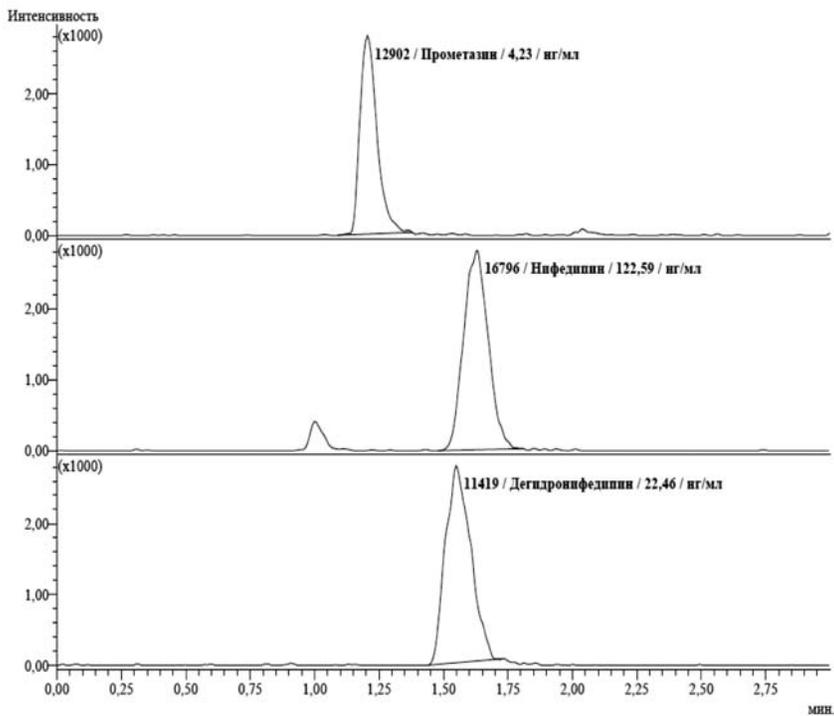


Рис. 5б. Хроматограмма пробы № 2 (после приёма ЛС) сыворотки крови пациента 2.

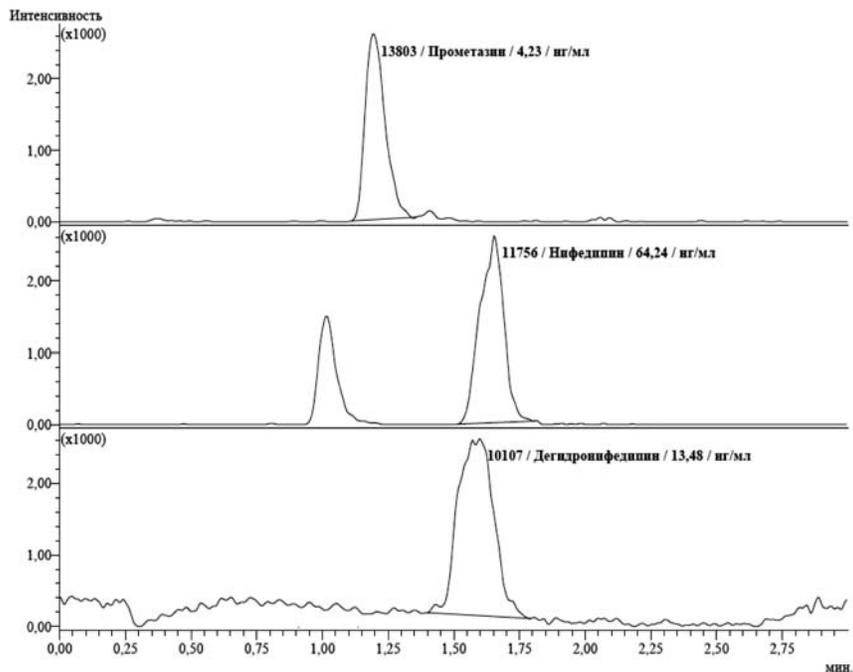


Рис. ба. Хроматограмма пробы № 1 (до приёма ЛС) сыворотки крови пациента 3.

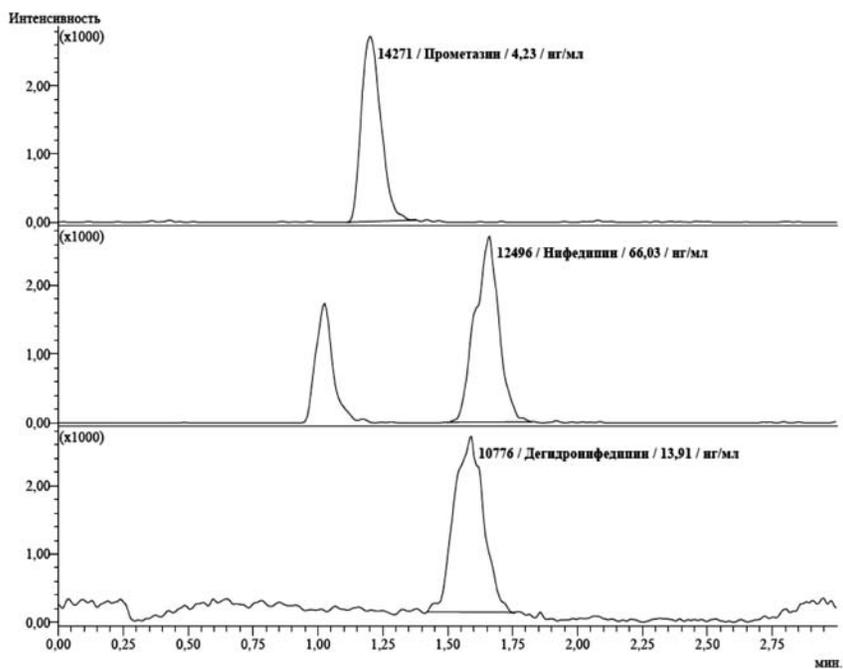


Рис. бб. Хроматограмма пробы № 2 (после приёма ЛС) сыворотки крови пациента 3.

Выводы

Таким образом, разработана и валидирована методика определения нифедипина и дегидронифедипина в сыворотке крови человека методом ВЭЖХ-МС/МС. В ходе исследования с участием 42-х пациентов, принимавших нифедипин в форме таблеток с модифицированным высвобождением, была продемонстрирована пригодность разработанной методики для проведения терапевтического лекарственного мониторинга нифедипина. Обобщение полученных результатов показало, что при применении формы с модифицированным высвобождением оно целесообразно как при назначении дозы 30 мг (для выявления пациентов, которым требуется повышение дозы препарата для достижения необходимого терапевтического эффекта), так и при назначении доз 60 и 90 мг с целью выявления пациентов, имеющих высокую склонность к развитию НЛР. Кроме того, разработанная методика позволяет проводить одновременное определение нифедипина и дегидронифедипина в сыворотке крови, благодаря чему появляется возможность определить фенотип каждого пациента по скорости метаболизма нифедипина и скорректировать дозировку и кратность приёма препарата в зависимости от интенсивности биотрансформации.

Список литературы

1. *Баймеева Н.В., Красных Л.М., Мирошниченко И.И.* Мониторинг концентрации клозапина и норклозапина при терапии шизофрении // *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.* – 2016. – № 4. – С. 53-57.
2. *Белова М.В., Ильяшенко К.К.* Острые отравления препаратами, действующими преимущественно на сердечно-сосудистую систему // *Токсикологический вестник.* – 2016. – Т. 140. – № 5. – С. 31-35.
3. *Кардиология: национальное руководство / Под ред. Ю.Н. Беленкова, Р.Г. Оганова.* – М.: ГЭОТАР-Медиа. – 2007. – 1232 с.
4. *Красных Л.М., Платова А.И., Баймеева Н.В., Василенко Г.Ф.* Определение содержания клозапина и норклозапина в плазме крови методом тандемной масс-спектрометрии // *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.* – 2014. – № 1. – С. 27-31.
5. *Руководство по экспертизе лекарственных средств / Под ред. проф. А.Н. Миронова.* – М.: Гриф и К. – 2013. – Т. 1. – 328 с.
6. *Смирнов В.В., Егоренков Е.А., Красных Л.М., Василенко Г.Ф., Раменская Г.В.* Определение активности ферментов метаболизма лекарственных средств – перспектива использования в клинической практике // *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения.* – 2016. – № 4. – С. 28-32.
7. *Baselt R.C.* Disposition of toxic drugs and chemicals in man, 9 edn. Seal Beach: Biomedical Publications. – 2011.
8. *Bortel L., et al.* Total and free steady-state plasma levels and pharmacokinetics of nifedipine in patients with terminal renal failure // *Eur. J. of Clinical pharmacology.* – 1989. – Т. 37. – No. 2. – Pp. 185-189.
9. *Breimer D.D., Schellens J.H.M., P.A.* Nifedipine: variability in its kinetics and metabolism in man // *Pharmacology & therapeutics.* – 1989. – Т. 44. – No. 3. – Pp. 445-454.
10. *Dias E., et al.* An LC-MS assay for the screening of cardiovascular medications in human samples // *J. of Chromatography B.* – 2013. – Т. 937. – Pp. 44-53.
11. *Gonzalez O., et al.* Development of an LC-MS/MS method for the quantitation of 55 compounds prescribed in combined cardiovascular therapy // *J. of Chromatography B.* – 2011. – Т. 879. – No. 3. – Pp. 243-252.

12. **Grigoriev A., et al.** Development of a HPLC–MS/MS method for the simultaneous determination of nifedipine and lidocaine in human plasma // *J. of Pharmaceutical and biomedical analysis.* – 2016. – Т. 131. – Pp. 13-19.
13. **Kallem R.R., et al.** Sensitive LC-MS/MS-ESI method for simultaneous determination of nifedipine and atenolol in human plasma and its application to a human pharmacokinetic study // *Biomedical Chromatography.* – 2013. – Т. 27. – No. 3. – Pp. 349-355.
14. **Kirsten R., Nelson K., Kirsten D., Heintz B.** Clinical pharmacokinetics of vasodilators. Part I // *Clin. Pharmacokinet.* – 1998. – Т. 34. – Pp. 457-482.
15. **Mancia G., et al.** ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC) // *Eur. Heart J.* – 2013. – Т. 34. – No. 28. – Pp. 2159-2219.
16. **Meredith P.A., Elliott H.L.** A review of the gastrointestinal therapeutic system (GITS) formulation and its effectiveness in the delivery of antihypertensive drug treatment (focus on nifedipine GITS) // *Integrated blood pressure control.* – 2013. – Т. 6. – Pp. 79-87.
17. **Pietta P., Rava A., Biondi P.** High-performance liquid chromatography of nifedipine, its metabolites and photochemical degradation products // *J. of Chromatography A.* – 1981. – Т. 210. – No. 3. – Pp. 516-521.
18. **Poole-Wilson P.A., et al.** Effect of long-acting nifedipine on mortality and cardiovascular morbidity in patients with stable angina requiring treatment (ACTION trial): randomised controlled trial // *The Lancet.* – 2004. – Т. 364. – No. 9437. – Pp. 849-857.
19. **Raemsch K.D., Sommer J.** Pharmacokinetics and metabolism of nifedipine // *Hypertension.* – 1983. – Т. 5. – No. 4. – Part 2. – P. 1118.
20. **Rashid T.J., et al.** Factors affecting the absolute bioavailability of nifedipine // *Br. J. of Clinical pharmacology.* – 1995. – Т. 40. – No. 1. – Pp. 51-58.
21. **Toal C.B., et al.** Nifedipine gastrointestinal therapeutic system (GITS) for hypertensive patients in a primary care setting: results of the Extended Release Adalat Canadian Trial (EXACT) // *Clinical therapeutics.* – 1997. – Т. 19. – No. 5. – Pp. 924-935.
22. **Toal C.B.** Formulation dependent pharmacokinetics – does the dosage form matter for nifedipine? // *J. of Cardiovascular pharmacology.* – 2004. – Т. 44. – No. 1. – Pp. 82-86.
23. **Van der Nagel B.C.H., et al.** High-throughput quantification of 8 antihypertensive drugs and active metabolites in human plasma using UPLC–MS/MS // *J. of Chromatography B.* – 2017. – Т. 1060. – Pp. 367-373.
24. **Wang D., et al.** Determination of nifedipine in human plasma by ultra-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry and its application in a pharmacokinetic study // *J. of Chromatography B.* – 2011. – Т. 879. – No. 20. – Pp. 1827-1832.
25. **Zhou S.F.** Drugs behave as substrates, inhibitors and inducers of human cytochrome P450 3A4 // *Current drug metabolism.* – 2008. – Т. 9. – No. 4. – Pp. 310-322.

References

1. **Bajmeeva N.V., Krasnyh L.M., Miroshnichenko I.I.** Monitoring koncentracii klozapina i norklozapina pri terapii shizofrenii [Monitoring of concentration of clozapine and norklozapine at therapy of schizophrenia]. *Vedomosti Nauchnogo centra jekspertizy sredstv medicinskogo primeneniya* [Sheets of Scientific center of expertise of means for medical application]. 2016. No. 4. Pp. 53-57. (In Russian).
2. **Belova M.V., Il'jashenko K.K.** Ostrye otravlenija preparatami, dejstvujushhimi preimushhestvenno na serdechno-sosudistuju sistemu [Acute poisoning with drugs operating mainly on cardiovascular system]. *Toksikologicheskij vestnik* [The toxicological messenger]. 2016. T. 140. No. 5. Pp. 31-35. (In Russian).

3. Kardiologija: nacional'noe rukovodstvo [Cardiology: national leadership]. Pod red. Ju.N. Belenkova, R.G. Oganova [Edited by Yu.N. Belenkov, R.G. Oganov]. Moscow: GJEOTAR-Media. 2007. 1232 p. (In Russian).
4. *Krasnyh L.M., Platova A.I., Bajmeeva N.V., Vasilenko G.F.* Opredelenie sodержaniya klozapina i norklozapina v plazme krovi metodom tandemnoj mass-spektrometrii [Determination of the content of clozapine and norclozapine in blood plasma by the method of tandem mass spectrometry]. Vedomosti Nauchnogo centra jekspertizy sredstv medicinskogo primenenija [Sheets of Scientific center of expertise of means for medical application]. 2014. No. 1. Pp. 27-31. (In Russian).
5. Rukovodstvo po jekspertize lekarstvennyh sredstv [The guide to examination of pharmaceuticals]. Pod red. prof. A.N. Mironova [Edited by prof. A.N. Mironov]. Moscow: Grif i K. 2013. T. 1. 328 p. (In Russian).
6. *Smirnov V.V., Egorenkov E.A., Krasnyh L.M., Vasilenko G.F., Ramenskaja G.V.* Opredelenie aktivnosti fermentov metabolizma lekarstvennyh sredstv – perspektiva ispol'zovanija v klinicheskoj praktike [Determination of the activity of enzymes of drug metabolism – the prospect of use in clinical practice]. Vedomosti Nauchnogo centra jekspertizy sredstv medicinskogo primenenija [Sheets of Scientific center of expertise of means for medical application]. 2016. No. 4. Pp. 28-32. (In Russian).
7. *Baselt R.C.* Disposition of toxic drugs and chemicals in man, 9 edn. Seal Beach: Biomedical Publications. 2011.
8. *Bortel L., et al.* Total and free steady-state plasma levels and pharmacokinetics of nifedipine in patients with terminal renal failure. Eur. J. of Clinical pharmacology. 1989. T. 37. No. 2. Pp. 185-189.
9. *Breimer D.D., Schellens J.H.M., Soons P.A.* Nifedipine: variability in its kinetics and metabolism in man. Pharmacology & therapeutics. 1989. T. 44. No. 3. Pp. 445-454.
10. *Dias E., et al.* An LC–MS assay for the screening of cardiovascular medications in human samples. J. of Chromatography B. 2013. T. 937. Pp. 44-53.
11. *Gonzalez O., et al.* Development of an LC–MS/MS method for the quantitation of 55 compounds prescribed in combined cardiovascular therapy. J. of Chromatography B. 2011. T. 879. No. 3. Pp. 243-252.
12. *Grigoriev A., et al.* Development of a HPLC–MS/MS method for the simultaneous determination of nifedipine and lidocaine in human plasma. J. of Pharmaceutical and biomedical analysis. 2016. T. 131. Pp. 13-19.
13. *Kallem R.R., et al.* Sensitive LC-MS/MS-ESI method for simultaneous determination of nifedipine and atenolol in human plasma and its application to a human pharmacokinetic study. Biomedical Chromatography. 2013. T. 27. No. 3. Pp. 349-355.
14. *Kirsten R., Nelson K., Kirsten D., Heintz B.* Clinical pharmacokinetics of vasodilators. Part I // Clin. Pharmacokinet. 1998. T. 34. Pp. 457-482.
15. *Mancia G., et al.* ESH/ESC guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the European Society of Hypertension (ESH) and of the European Society of Cardiology (ESC). Eur. Heart J. 2013. T. 34. No. 28. Pp. 2159-2219.
16. *Meredith P.A., Elliott H.L.* A review of the gastrointestinal therapeutic system (GITS) formulation and its effectiveness in the delivery of antihypertensive drug treatment (focus on nifedipine GITS). Integrated blood pressure control. 2013. T. 6. Pp. 79-87.
17. *Pietta P., Rava A., Biondi P.* High-performance liquid chromatography of nifedipine, its metabolites and photochemical degradation products. J. of Chromatography A. 1981. T. 210. No. 3. Pp. 516-521.
18. *Poole-Wilson P.A., et al.* Effect of long-acting nifedipine on mortality and cardiovascular morbidity in patients with stable angina requiring treatment (ACTION trial):

- randomised controlled trial. *The Lancet*. 2004. T. 364. No. 9437. Pp. 849-857.
19. *Raemsch K.D., Sommer J.* Pharmacokinetics and metabolism of nifedipine. *Hypertension*. 1983. T. 5. No. 4. Part 2. P. 1118.
20. *Rashid T.J., et al.* Factors affecting the absolute bioavailability of nifedipine. *Br. J. of Clinical pharmacology*. 1995. T. 40. No. 1. Pp. 51-58.
21. *Toal C.B., et al.* Nifedipine gastrointestinal therapeutic system (GITS) for hypertensive patients in a primary care setting: results of the Extended Release Adalat Canadian Trial (EXACT). *Clinical therapeutics*. 1997. T. 19. No. 5. Pp. 924-935.
22. *Toal C.B.* Formulation dependent pharmacokinetics – does the dosage form matter for nifedipine? *J. of Cardiovascular pharmacology*. 2004. T. 44. No. 1. Pp. 82-86.
23. *Van der Nagel B.C.H., et al.* High-throughput quantification of 8 antihypertensive drugs and active metabolites in human plasma using UPLC–MS/MS. *J. of Chromatography B*. 2017. T. 1060. Pp. 367-373.
24. *Wang D., et al.* Determination of nifedipine in human plasma by ultra-performance liquid chromatography – tandem mass spectrometry and its application in a pharmacokinetic study. *J. of Chromatography B*. 2011. T. 879. No. 20. Pp. 1827-1832.
25. *Zhou S.F.* Drugs behave as substrates, inhibitors and inducers of human cytochrome P450 3A4. *Current drug metabolism*. 2008. T. 9. No. 4. Pp. 310-322.

Therapeutic drug monitoring of nifedipine by HPLC-MS/MS in treatment of arterial hypertension

T.A. Rodina, E.S. Melnikov, S.A. Belkov, A.A. Danko, A.V. Sokolov,
A.B. Prokofiev

The method for the determination of nifedipine and dehydronifedipine in human serum for therapeutic drug monitoring in patients with arterial hypertension using HPLC-MS/MS was developed and validated. The study involved 42 patients taking nifedipine in the form of modified-release tablets. It has been shown that therapeutic drug monitoring of nifedipine is advisable to be performed both when administering dose of 30 mg (to identify patients needing to increase the dose of the drug to achieve the desired therapeutic effect), and when administering doses of 60 mg and 90 mg to identify patients with a high tendency to the development of side-effects. Simultaneous determination of nifedipine and dehydronifedipine in human serum allows to determine the phenotype of each patient according to the rate of nifedipine metabolism and to adjust the dose and the frequency of taking the drug depending on the intensity of biotransformation.

Key words: nifedipine, dehydronifedipine, HPLC-MS/MS, arterial hypertension, therapeutic drug monitoring.