

## ФАРМАКОКИНЕТИКА

### СРАВНИТЕЛЬНАЯ ФАРМАКОКИНЕТИКА ДИГИДРОКВЕРЦЕТИНА У КРЫС ПОСЛЕ ВВЕДЕНИЯ ВНУТРЬ В ВИДЕ СУБСТАНЦИИ И ЛИПОСОМАЛЬНОГО ПРЕПАРАТА ФЛАМЕНА D

В. П. Жердев<sup>1</sup>, Г. Б. Колыванов<sup>1</sup>, А. А. Литвин<sup>1</sup>, А. К. Сариев<sup>1</sup>,  
А. О. Виглинская<sup>1</sup>, Б. И. Геккиев<sup>2</sup>, А. М. Григорьев<sup>2</sup>, В. В. Горлов<sup>2</sup>

Изучена фармакокинетика дигидрокверцетина (ДГК) у крыс после однократного введения внутрь субстанции и липосомального препарата фламена D. Доза ДГК составила 50 мг/кг. Концентрацию ДГК в плазме крови животных определяли методом ВЭЖХ после ферментативного гидролиза. Установлено, что период полувыведения ДГК при введении в виде суспензии фламена D составляет около 1,3 ч. Выявлена высокая относительная биодоступность ДГК после введения препарата фламена D, которая составила 159 % по сравнению с субстанцией.

**Ключевые слова:** дигидрокверцетин, липосомы, относительная биодоступность

#### ВВЕДЕНИЕ

Дигидрокверцетин — 2,3-дигидро-3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4Н-бензопиран-4-он (ДГК), главный компонент экстракта, выделенного из лиственницы сибирской — *Larix sibirica Ledeb.* (Pinaceae) [1, 2, 8, 9].

Препараты, содержащие ДГК, применяют для лечения сердечно-сосудистых заболеваний [3, 5], церебрального атеросклероза [7], сахарного диабета [4, 6]. В литературе встречаются отдельные данные о фармакокинетике ДГК в плазме крови различных видов животных и человека [10, 11].

В ООО НК “Фламена” разработан новый препарат фламена D, содержащий липосомы с ДГК. В связи с предстоящим внедрением препарата в медицинскую практику необходимо было оценить относительную биодоступность фламена D в эксперименте.

#### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В работе использовали субстанцию ДГК (МНН — таксифолин) производства НПЦ “Бородино-МС” (Россия), № партии — 03-3-Д. Препарат фламена D — суспензия, содержащая ДГК (0,4 %), фосфатидилхолин (3 %), глицерин (5 %) и воду (серия № 112808).

Фармакокинетику ДГК изучали методом открытой рандомизации на белых беспородных крысах-самцах массой  $200 \pm 20$  г, полученных из питомника “Столбовая” РАМН. Животных содержали на стандартной ди-

ете при 12-часовом световом режиме по 10 особей в клетке.

Субстанцию ДГК вводили крысам однократно внутрь в 1 % растворе крахмального клейстера в дозе 50 мг/кг. Препарат фламена D вводили крысам однократно внутрь (в пересчете на дозу чистого ДГК 50 мг/кг).

Содержание ДГК определяли в плазме крови через 0; 0,083; 0,25; 0,5; 1; 1,5; 2; 4; 6 ч.

Образцы крови крыс получали после декапитации животных. На каждую дискретную точку было взято по 8 животных.

Анализ проб плазмы крови крыс, содержащих ДГК, проводили с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. Разделение проводили на персональном хроматографе Beckman-Coulter (США), состоящим из изократической помпы — Solvent module-127, УФ-детектора — Detector-166 и компьютера с соответствующим пакетом программ для обсчета хроматограмм Амперсенд (Россия).

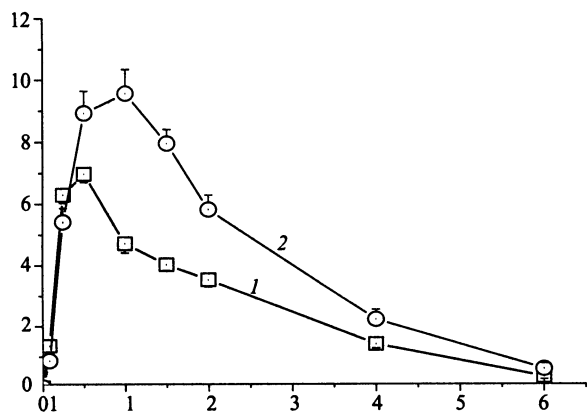
Условия хроматографирования: аналитическая колонка — Luna C-18 (2) “Phenomenex”, 5 мкм,  $250 \times 4,6$  мм; детектирование проводили при  $\lambda$  — 290 нм. Подвижная фаза — глициновый буфер (рН 2,2) : ацетонитрил (75:25). Скорость потока подвижной фазы — 1,2 мл/мин.

В этих условиях время удерживания для дигидрокверцетина составило — 440 с (7,3 мин). Козкстрактивные вещества не мешали определению ДГК.

В изучаемом диапазоне концентраций (0,05 – 5 мкг/мл) отмечена линейная зависимость между концентрациями анализируемого соединения и соответствующими им площадями пиков, которые описывались следующими уравнениями: для плазмы

<sup>1</sup> Лаборатория фармакокинетики (руководитель — проф. В. П. Жердев) НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва 125315, ул. Балтийская, 8.

<sup>2</sup> ООО НК “Фламена” Московская обл., г. Реутов, 143966, ул. Гагарина, 2.



Усредненные фармакокинетические кривые ДГК в плазме крови крыс после введения внутрь субстанции и препарата фламена D ( $x \pm SD$ ).

1 — субстанция ДГК; 2 — фламен D. По оси абсцисс — время, ч; по оси ординат — концентрация, мкг/мл.

крови  $S = -1,242 + 0,221 \cdot C$  ( $r = 0,9997$ ), где  $S$  — площадь хроматографического пика ДГК.

Предел чувствительности разработанной методики составил 0,025 мкг/мл.

Разработанная методика была метрологически оценена на растворах стандартного образца ДГК. Ошибка определения ДГК по разработанной методике для концентрации 0,05 мкг/мл составила 10,6 %.

Для анализа изучаемого соединения в плазме крови требовалось провести гидролиз с целью получения неизмененного ДГК. Для этого использовали  $\beta$ -глюкуронидазу.

#### Подготовка плазмы крови крыс к хроматографическому анализу

В качестве экстрагента был выбран свежеперегранный диэтиловый эфир, обладающий низкой температурой кипения (34,5 °С).

В экстракционную пробирку вносили 1 мл плазмы крови, 0,1 мл раствора  $\beta$ -глюкуронидазы (из *E. coli* K12 в 50 % глицерине "Roche"). Пробирку помещали в водяную баню на 1 ч (инкубацию проводили при температуре 37 °С). После инкубации к пробе добавляли 1 мл глицинового буфера (рН 2,2). Полученный раствор перемешивали и добавляли 15 мл диэтилового эфира. Содержимое пробирки встряхивали на механическом горизонтальном шейкере в течение 10 мин. Затем пробирку с эфирным слоем переносили в морозильник с температурой  $-18$  °С до замораживания водной фазы (20–30 мин). Далее органический слой переносили в выпарительную колбу. Процедуру экст-

ракции повторяли дважды. Эфирные экстракты объединяли и выпаривали досуха на ротаторном испарителе. Сухой остаток растворяли в 0,3–1 мл подвижной фазы; 100 мкл полученного раствора вводили в петлю инжектора хроматографа.

Процент извлечения ДГК из плазмы крови в среднем составляет  $94,5 \pm 2$  % (среднее из 3 определений).

Основные фармакокинетические параметры рассчитаны модельно-независимым методом.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рисунке представлены усредненные фармакокинетические кривые ДГК, где исследуемое соединение определяется на протяжении 6 ч после однократного введения внутрь животным суспензии фламена D и субстанции ДГК в дозах 50 мг/кг. Поскольку на каждую временную точку использовали по 8 животных, результирующая фармакокинетическая кривая была построена по усредненным концентрациям, поэтому при расчетах фармакокинетических параметров отсутствует статистическая обработка результатов. Следует отметить, что концентрационные величины ДГК в плазме крови крыс после введения фламена D и субстанции достоверно различаются на протяжении всей кинетической кривой. В таблице представлены фармакокинетические параметры ДГК у крыс после введения суспензии фламена D и субстанции ДГК. Учитывая, что вклад экстраполированной части в общую величину площади под фармакокинетической кривой (AUC) не превышал 4 %, для последующих расчетов использовалось значение  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$ .

Сравнительный анализ основных фармакокинетических параметров ДГК показал, что изучаемое соединение в 0,86 раза медленнее всасывается из желудочно-кишечного тракта при введении в виде суспензии фламена D по сравнению с субстанцией, поскольку параметр, характеризующий скорость всасывания лекарственного вещества —  $C_{\max}/AUC_{0 \rightarrow \infty}$  для фламена D составил — 0,359, для субстанции — 0,416 ч<sup>-1</sup>. При этом время достижения максимальной концентрации ( $t_{\max}$ ) для субстанции ДГК наступало в 2 раза быстрее, чем для суспензии. Таким образом, в случае введения препарата в виде суспензии ДГК всасывается из желудочно-кишечного тракта медленнее и достигает максимальной концентрации в плазме крови животных через 1 ч, тогда как для субстанции этот параметр составляет 0,5 ч.

Максимальная концентрация ДГК ( $C_{\max}$ ), определяемая в плазме крови крыс, составила для фламена D —

#### Фармакокинетические параметры ДГК в плазме крови крыс после его введения внутрь в виде субстанции и препарата фламена D

Препараты	$C_{\max}/AUC_{0 \rightarrow \infty}$ ч <sup>-1</sup>	$T_{1/2el}$ , ч	$t_{\max}$ , ч	$C_{\max}$ , мкг/мл	MRT, ч	$AUC_{0 \rightarrow 6}$ ,    @/мл · ч	$AUC_{0 \rightarrow \infty}$ , мкг/мл · ч	$f_{i/s}$ , %
Субстанция	0,416	1,30	0,5	6,97	2,59	16,1	16,75	159
Фламена D	0,359	1,05	1	9,56	2,66	25,7	26,61	

9,56 мкг/мл, а для субстанции — 6,97 мкг/мл. Анализ основного показателя, характеризующего степень биологической доступности действующего вещества из лекарственной формы —  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  указывает на то, что значение данного параметра в 1,59 раза выше для фламена D по сравнению с субстанцией ДГК. Среднее значение  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  для суспензии фламена D составило 26,61, для субстанции — 16,75 мкг/мл · ч.

Таким образом, относительная биологическая доступность ( $f_{i/s}$ ) ДГК, определяемая отношением значений  $AUC_{0 \rightarrow \infty}$  суспензии фламена D по отношению к субстанции, составила 159 % (таблица).

## ВЫВОДЫ

1. В организме крыс препарат дигидрокверцетин (ДГК) определяется на протяжении 6 ч. Период полувыведения ДГК при введении в виде суспензии фламена D составляет около 1,3 ч.

2. После введения в виде суспензии фламена D ДГК всасывается из желудочно-кишечного тракта животных более пролонгированно и достигает максимальной концентрации в плазме крови через 1 ч по сравнению с субстанцией, где максимальная концентрация определяется через 0,5 ч.

3. Выявлена высокая относительная биологическая доступность ДГК после введения фламена D, которая составила 159 % по сравнению с субстанцией.

4. Перспектива создания лекарственной формы ДГК для приема внутрь на основе препарата фламена

D подтверждена высокой относительной биодоступностью по отношению к субстанции.

## ЛИТЕРАТУРА

1. О. И. Алиев, Д. М. Плотников, М. Ю. Маслов и др., *V Межд. съезда "Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения" Материалы*, С-Пб. 2001, сс. 172 – 175.
2. Г. Ф. Антонова, Р. З. Пен, Н. А. Тюкавкина, *Химия древесины*, № 6, 147 – 155 (1970).
3. К. И. Лаптева, В. И. Луцкий, Н. А. Тюкавкина, *Хим. природн. соед.*, № 1, 97 – 98 (1974).
4. Л. В. Недосугова, А. К. Волкова, И. А. Рудько и др., *Клин. фармакол. и тер.*, № 4, 65 – 67 (2000).
5. М. Б. Плотников, М. Ю. Маслов, О. И. Алиев и др., *Вопр. биол., мед. и фармац. хим.*, № 2, 31 – 33 (2000).
6. М. Б. Плотников, Н. А. Тюкавкина, Т. М. Плотникова, *Лекарственные препараты на основе диквертина*, Изд. Томского университета, Томск (2005).
7. Е. А. Тарасова, *Практ. фитотер.*, № 1, 37 – 41 (1999).
8. Н. А. Тюкавкина, М. Ф. Шостаковский, Н. Г. Девятко, *Известия СО АН, сер. биол. н.*, Вып. 3(15), 77 – 83 (1969).
9. Н. А. Тюкавкина, К. И. Лаптев, Н. Г. Девятко, *Хим. древесины*, 11, 137 – 146 (1972).
10. T. Grimm, R. Skrabala, Z. Chovanova, et al., *BMC Clin. Pharmacol.*, 6, 4, (2006).
11. O. Pozharnitskaya, M. Karlina, A. Shikov, et al., *Phytomedicine*, 16, 244 – 251 (2009).

Поступила 12.05.09

## COMPARATIVE PHARMACOKINETICS OF DIHYDROQUERCETIN IN RATS UPON PERORAL ADMINISTRATION OF PARENT SUBSTANCE AND FLAMEN D LIPOSOMAL FORMULATION

V. P. Zherdev<sup>1</sup>, G. B. Kolyvanov<sup>1</sup>, A. A. Litvin<sup>1</sup>, A. K. Sariev<sup>1</sup>, A. O. Viglinskaya<sup>1</sup>, B. I. Gekkiev<sup>2</sup>, A. M. Grigor'ev<sup>2</sup>, and V. V. Gorlov<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315, Russia

<sup>2</sup> Flamena Company, ul. Gagarina 2, Reutov, Moscow Oblast, 143966, Russia

The pharmacokinetics of dihydroquercetin (DHQ) in the forms of parent substance and a new liposomal formulation (Flamena D) have been studied in rats upon single peroral administration in a dose of 50 mg/kg. DHQ concentration after enzymatic hydrolysis in the blood plasma was determined by HPLC with UV detection. The elimination half-life of DHQ introduced in the form of Flamena D was about  $T_{1/2} = 1.3$  h. The relative bioavailability of DHQ after the administration of Flamena D amounted to 159% in comparison to that of the parent substance of DHQ.

**Key words:** Dihydroquercetin, liposomes, bioavailability