

## ОЦЕНКА ОСНОВНЫХ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ *n*-ТИРОЗОЛА ПРИ ВНУТРИВЕННОМ ВВЕДЕНИИ У КРЫС. III. РАСПРЕДЕЛЕНИЕ *n*-ТИРОЗОЛА В ОРГАНИЗМЕ

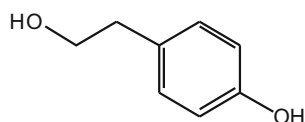
Г. А. Чернышева, М. Б. Плотников, В. И. Смольякова, Е. А. Краснов<sup>1</sup>

В экспериментах на крысах изучено распределение *n*-тирозола в организме при однократном внутривенном введении в дозе 200 мг/кг. Показано, что *n*-тирозол быстро проникает в ткани хорошо перфузируемых органов (мозг, сердце, почки). Максимальная концентрация препарата определяется в тканях этих органов уже на 1-й минуте после введения, при этом константа распределения составляла от 0,80 до 1,11. Фракция связанного с альбумином *n*-тирозола составила 0,26 – 0,3.

**Ключевые слова:** *n*-тирозол, фармакокинетика

### ВВЕДЕНИЕ

*n*-Тирозол — синтетический аналог природного фенольного антиоксиданта, обнаруженного в родиоле розовой, в масле плодов оливы [6, 13, 14]. Кроме



4-(2-гидроксиалкил)фенол (*n*-тирозол)

антиоксидантного эффекта, *n*-тирозол обладает адаптогенным, психостимулирующим, антитромбоцитарным, гемореологическим и кардиопротекторным свойствами [5, 6, 8]. Это позволило создать на его основе препарат для лечения ишемических и реперфузионных расстройств [8, 11].

Целью настоящей работы является изучение распределения *n*-тирозола в организме после его однократного внутривенного введения.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

С целью исследования распределения *n*-тирозола в организме животным под эфирным оглушением в бедренную вену вводили *n*-тирозол в дозе 200 мг/кг в объеме 1 мл. Через 1, 5, 10, 20, 30, 45, 60 мин под эфирным оглушением животных декапитировали и изымали органы и ткани. Изъятые органы животных (печень, почки, сердце, мозг, мышечная и жировая ткань) гомогенизировали с добавлением дистиллированной воды в соотношении 1:1 масса : объем до однородной массы и центрифугировали при 1300 g.

Содержание *n*-тирозола в надосадочной жидкости, полученной после центрифугирования гомогената органов, определяли спектрофлуориметрическим методом (А. С. Саратиков, Е. А. Краснов). Полученную на-

досадочную жидкость предварительно освобождали от белков с помощью 10 % трихлоруксусной кислоты (1:1 по объему) с последующим центрифугированием. Очистку от сопутствующих водорастворимых соединений осуществляли, используя амфифильные свойства *n*-тирозола, переводом в хлороформную фракцию. Для этого хлороформ и исследуемый материал смешивали в соотношении 1:1 по объему и встряхивали в течение 15 мин. Для удаления жирорастворимых соединений из 1 мл хлороформного экстракта отгоняли хлороформ с использованием ротационного испарителя, а полученный сухой остаток растворяли в 1 мл дистиллированной воды, после чего определяли содержание *n*-тирозола при  $\lambda$  возбуждения — 275 нм и  $\lambda$  эмиссии — 305 нм. Чувствительность метода составляет  $1 \cdot 10^{-6}$  мг/мл. Предварительно строили калибровочную кривую, добавляя к гомогенату органов интактных животных *n*-тирозола. В работе использовали флюоресцентный спектрофотометр Hitachi (модель 850).

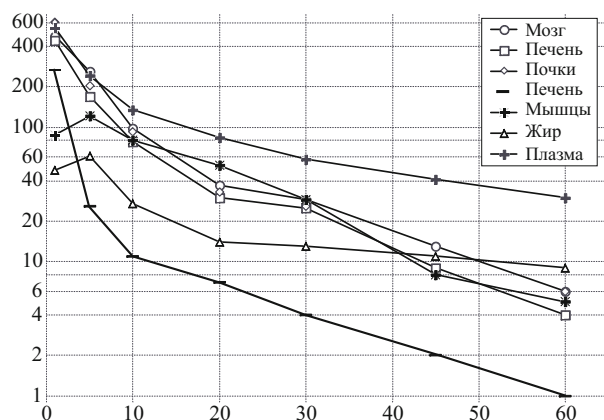
Для оценки связывания *n*-тирозола с белками плазмы применяли метод равновесного диализа с использованием биомембраны VISKING TYP 20/32 (FEINBIOCHEMICA, New York) с радиусом пор 24 Å в системе 5 % раствора альбумина/фосфатный буфер. Необходимое время диализа (24 ч) было определено в предварительных экспериментах по скорости выравнивания концентрации препарата по обе стороны мембраны в системе фосфатный буфер/фосфатный буфер.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета статистических программ Statistica for Windows 5.0.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенные исследования показали, что скорость проникновения *n*-тирозола во внутренние органы определяется уровнем кровоснабжения последних. Так, препарат быстро проникал в ткани хорошо перфузируемых органов: мозг, сердце, почки. Максимальная

<sup>1</sup> НИИ фармакологии ТНЦ СО РАМН, 634028, Томск, пр. Ленина, 3.



Концентрационные профили *n*-тирозола в плазме и тканях органов после внутривенного введения в дозе 200 мг/кг. По оси ординат — значения концентрации *n*-тирозола в плазме, мкг/мл; по оси абсцисс — время, мин.

концентрация *n*-тирозола определялась в тканях этих органов уже на 1-й минуте после введения, при этом константы распределения лекарственного вещества ( $K_p$ ) составляли от 0,8 до 1,11 (таблица, рисунок). В этот период концентрации препарата в плазме крови и тканях хорошо перфузируемых органов были достаточно близкими (рисунок).

Медленнее происходило проникновение препарата в ткани органов с умеренной и слабой васкуляризацией — скелетные мышцы, жировую ткань. Максимальная концентрация препарата в этих тканях была определена на 5-й минуте (таблица, рисунок).

Тканевая доступность ( $f_{\text{тк}}$ ) для *n*-тирозола (параметр, характеризующий интенсивность проникновения соединения в ткани органов) была высокой и близкой по величине для хорошо перфузируемых органов (кроме печени), более низкой для мышечной ткани и наименьшей для жировой ткани (таблица). По-видимому, эти различия обусловлены скоростью перфузии тканей, так как наиболее интенсивное поступление *n*-тирозола из крови в периферические ткани наблюдается в первые минуты после введения препарата в кровеносное русло.

#### Фармакокинетические характеристики распределения *n*-тирозола в организме

| Орган         | Тканевая доступность, $f_{\text{тк}}$ | $K_{el, 1}$ , мин | $T_{1/2}$ , мин | $MRT$ , мин | $K_p$ |
|---------------|---------------------------------------|-------------------|-----------------|-------------|-------|
| Мозг          | 0,443                                 | 0,0469            | 14,79           | 12,15       | 0,87  |
| Сердце        | 0,354                                 | 0,0531            | 13,06           | 11,106      | 0,80  |
| Почки         | 0,443                                 | 0,0468            | 14,81           | 10,30       | 1,11  |
| Печень        | 0,1325                                | 0,0483            | 14,36           | 6,21        | 0,48  |
| Мышцы         | 0,249                                 | 0,0600            | 11,56           | 17,04       | 0,16  |
| Жировая ткань | 0,194                                 | 0,0112            | 62,14           | 73,22       | 0,09  |

Проведенные нами ранее исследования фармакокинетики *n*-тирозола [10, 11] показали, что препарат имеет большой объем распределения: для крыс средней массой 400 г  $V_{ss}$  составляет 0,59 – 0,7 л, что значительно превосходит объем общей воды в организме животного (0,24 – 0,26 л) [1, 4]. Известно, что высокие значения объема распределения характерны для соединений, обладающих значительной липофильностью и хорошо проникающих через биомембраны. *n*-Тирозол является амфифильным соединением, хорошо растворяясь в полярных растворителях (вода, низшие спирты, ацетон) и умеренно — в неполярных (бензол, хлороформ) растворителях [6]. По-видимому, это свойство позволяет молекулам *n*-тирозола проникать через гисто-гематические барьеры (в том числе гемато-энцефалический), распределяться в водных и липидных фазах организма, а также обеспечивать высокую скорость его распределения в организме.

Печень является органом с очень высоким уровнем перфузии: печеночный кровоток у крыс составляет  $37 - 66 \text{ мл} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1}$  [4, 7]. Вместе с тем изучение распределения *n*-тирозола в организме выявило низкие концентрации препарата в печени. Так, на 1-й минуте его концентрация в печени была в 1,7 – 2,3 раза ниже, чем в других хорошо перфузируемых органах, а, начиная с 5-й минуты, различие составляло уже 4 – 10 раз (рисунок). По-видимому, это обусловлено быстрым метаболизмом соединения в печени (скорость метаболизма превышает скорость поступления препарата в ткань печени). Показано, что *n*-тирозол подвергается биотрансформации путем конъюгации с глюкуроновой кислотой либо сульфатирования и выводится с мочой преимущественно в виде конъюгатов [13, 14].

В первые 5 мин после введения *n*-тирозола концентрация его в тканях хорошо перфузируемых органов была наиболее близкой к плазменной. Далее различия увеличивались — возрастал градиент концентраций плазма — ткань органа.

Поскольку диффузия лекарственного вещества в интерстициальное пространство тканей определяется концентрацией свободного (не связанного с белком) препарата в плазме, а в состоянии равновесия концентрация свободного вещества по обе стороны капиллярной мембраны должна быть одинакова, выявленная динамика изменений градиента концентрации может быть обусловлена несколькими причинами. Во-первых, это может быть вызвано связыванием *n*-тирозола с белками плазмы.

Связывание препарата с белками плазмы имеет важное значение в его распределении в организме: интенсивное связывание приводит к тому, что вещество большей частью остается в центральной камере, а величина его объема распределения будет небольшой. С учетом сведений о том, что среди плазменных белков наибольший вклад в связь с лекарственными веществами вносит альбумин [4], было проведено исследование изменений концентрации *n*-тирозола в процессе

равновесного диализа в системе 5 % раствор альбумина/фосфатный буфер.

Проведенная количественная оценка связывания *p*-тирозола с альбумином показала, что фракция связанного препарата составляет 0,26 – 0,3. Таким образом, связывание *p*-тирозола с белками плазмы обуславливает превышение плазменной концентрации над тканевой на 35 – 43 %.

Другой возможной причиной наблюдаемого градиента концентраций плазма — ткань органов может являться немикросомальная биотрансформация препарата, которая, как известно, может осуществляться в тканях легких, почек, селезенки, стенке кишечника и других органов [3, 4, 12].

## ВЫВОДЫ

1. *p*-Тирозол быстро проникает в ткани хорошо перфузируемых органов (мозг, сердце, почки), максимальная концентрация препарата определяется в тканях этих органов уже на 1-й минуте после внутривенного введения.

2. *p*-Тирозол в средней степени связывается с альбумином крови — фракция связанного препарата составляет 0,26 – 0,3.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Е. Б. Берхин, Ю. Н. Иванов, *Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена*, Алтайское книжное изд-во, Барнаул (1972).
2. Н. В. Гуреева, Е. Н. Дарюхина, А. И. Крысин и др., *Цитология*, № 9, 814 – 815 (1999).
3. Н. Н. Каркищенко, В. В. Хоронько, С. А. Сергеева, В. Н. Каркищенко, *Фармакокинетика*, Феникс, Ростов-на-Дону (2001).
4. И. И. Мирошниченко, *Основы фармакокинетики*, ГЭОТАР-МЕД, Москва (2002).
5. М. Б. Плотников, Г. А. Чернышева, В. И. Смольякова и др., *Бюл. exper. биол.*, **143**(1), 67 – 69 (2007).
6. А. С. Саратиков, Е. А. Краснов, *Родиола розовая*, Изд-во Том. ун-та, Томск (2004).
7. С. А. Селезнев, С. М. Вашетина, Г. С. Мазуркевич, *Комплексная оценка кровообращения в экспериментальной патологии*, Медицина, Москва (1976).
8. В. И. Смольякова, Г. А. Чернышева, М. Б. Плотников и др., *Кардиология*, **50**(11), 47 – 49 (2010).
9. Г. А. Чернышева, М. Б. Плотников, В. И. Смольякова и др., *Бюл. exper. биол.*, Приложение 1, 69 – 72 (2005).
10. Г. А. Чернышева, М. Б. Плотников, В. И. Смольякова, *Экспер. и клин. фармакол.*, **69**(4), 57 – 60 (2006).
11. Г. А. Чернышева, В. И. Смольякова, И. В. Черкашина и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **68**(6), 43 – 44 (2005).
12. Л. Е. Холодов, В. П. Яковлев, *Клиническая фармакокинетика*, Медицина, Москва (1985).
13. E. M. Casas, M. F. Albadalejo, M. I. C. Planells, et al., *Clinical Chemistry*, **47**, 341 – 343 (2001).
14. F. Visioli, C. Galli, F. Bornet, et al., *FEBS*, **467**(2–3), 159 – 160 (2000).

Поступила 21.02.11

## MAIN PHARMACOKINETIC PARAMETERS OF *P*-TYROSOL AFTER INTRAVENOUS INJECTION IN RATS. PART III: DISTRIBUTION OF *P*-TYROSOL IN RAT

G. A. Chernysheva, M. B. Plotnikov, V. I. Smol'yakova, and E. A. Krasnov

State Research Institute of Pharmacology, Tomsk Scientific Center, Siberian Branch of the, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Lenina 3, Tomsk, 634028, Russia

Distribution of *p*-tyrosol in organism was studied in rats after a single intravenous administration in a dose of 200 mg/kg. It was shown that *p*-tyrosol rapidly penetrates into well perfused organs (brain, heart, kidneys). The maximum concentration of *p*-tyrosol in these organs was determined in 1 minute after administration, and the mean distribution constant was within 0.8 – 1.11. The albumin bound fraction of *p*-tyrosol amounted to 0.26 – 0.30.

**Key words:** *p*-Tyrosol, pharmacokinetics