

ФАРМАКОКИНЕТИКА

ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ОРИГИНАЛЬНОГО НЕЙРОЛЕПТИКА ДИЛЕПТА У ЖИВОТНЫХ И ЧЕЛОВЕКА

Р. В. Шевченко, А. А. Литвин, Г. Б. Колыванов, С. С. Бойко, В. П. Жердев¹

Изучена фармакокинетика дилепта у экспериментальных животных (кролики и крысы) и человека после однократного введения внутрь таблеток и таблеточной массы дилепта. Неизмененный препарат определялся в плазме крови кроликов на протяжении 4 ч, крыс — 2 ч и в плазме крови отдельных добровольцев на протяжении 1 ч после введения. Степень превращения препарата в метаболиты (интенсивность биотрансформации — AUC_M/AUC_P) у крыс составила 21,3 (для М-1) и 1645 (для М-2), у добровольцев — 5,8 и 658,5 и у кроликов — 1,6 и 125,8 соответственно. Таким образом установлено, что интенсивность метаболизма короткого пептида у животных и человека различна и уменьшается в ряду крыса > человек > кролик.

Ключевые слова: межвидовые различия; дилепт; фармакокинетика.

ВВЕДЕНИЕ

Известно, что биотрансформация лекарственных средств протекает с различной интенсивностью в организме экспериментальных животных и человека. Для выявления возможных межвидовых различий и общих закономерностей в фармакокинетике и метаболизме нового нейролептика дилепта — оригинального препарата с антипсихотическими свойствами, разработанного в ФГБУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” РАМН, — изучена его фармакокинетика у крыс, кроликов и здоровых добровольцев.

Цель настоящей работы — изучение межвидовых различий в фармакокинетике и биотрансформации дилепта в организме крыс, кроликов и человека.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 200 ± 20 г ($n = 6$), кроликах-самцах породы Шиншилла массой 2,8 – 3 кг ($n = 6$). Животные получены из питомника “Столбовая” РАМН (Московская область), содержались в стандартных условиях вивария при 12-часовом цикле освещения. Работа с животными проводилась с соблюдением требований гуманного обращения с ними, предусмотренных “Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных за № 755 от 12.08.1977”). Изучение фармакокинетике дилепта у здоровых добровольцев ($73,4 \pm 7,5$ кг, $n = 20$)

проведено в рамках I фазы клинических исследований по стандартизированному протоколу [7].

Препарат вводили внутрь крысам в дозе 200 мг/кг (в виде таблеточной массы через желудочный зонд), кроликам внутрь вводили 40 мг дилепта (2 таблетки с помощью зонда). Доза дилепта у добровольцев составила 20 – 60 мг: у 10 человек доза дилепта 20 мг (1 таблетка); у 5 человек — 40 мг (2 таблетки) и у еще 5 человек — 60 мг (3 таблетки). Образцы крови отбирали через дискретные временные интервалы: у крыс через 0; 0,08; 0,17; 0,25; 0,33; 0,50; 0,75; 1,0; 2,0; 4,0 ч декапитацией, у кроликов — через 0; 0,25; 0,50; 0,75; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0 ч из краевой ушной вены, у добровольцев — через 0; 0,25; 0,50; 1,0; 2,0; 4,0 и 8,0 ч — через кубитальный катетер. Пробы крови центрифугировали в течение 15 мин при 3000 об/мин и 4 °С. Отбор плазмы крови проводили в стерильные пластиковые пробирки. Плазму хранили при температуре – 24 °С. При подготовке биологических проб часть гидрофобных соединений плазмы крови отделяли от целевых компонентов экстракцией гексаном, центрифугировали для разделения слоев, гексановый слой отбрасывали, а водный слой использовали для дальнейшей работы. Экстракцию дилепта и его метаболитов осуществляли хлороформом при встряхивании в течение 15 мин. После центрифугирования (8000 об/мин, 15 мин, 20 °С) органический слой отбирали и высушивали в токе азота при 60 °С. Сухой остаток растворяли в 200 мкл ацетонитрила и анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с тандемной масс-спектрометрией [1]. Хроматографическое разделение проведено на аналитической колонке Zorbax XDB-C18 (4,6 × 50 мм, размер частиц сорбента 5 мкм) фирмы “Agilent Technologies” (Palo Alto, США). Под-

¹ ФГБУ “Научно-исследовательский институт фармакологии им. В. В. Закусова” Российской академии медицинских наук, Москва, 125315, ул. Балтийская, д. 8; тел. (495) 601-21-57; e-mail: rmn.shev@gmail.com

вижная фаза состояла из смеси ацетонитрил — вода деионизованная (300:200).

Полученные данные подвергали статистической обработке (уровень значимости $p = 0,95$). Расчет фармакокинетических параметров проводили модельно-независимым методом. У крыс расчет фармакокинетических параметров проводили по усредненным фармакокинетическим профилям неизмененного препарата и его метаболитов. В таблице приведены фармакокинетические параметры дилепта и его метаболитов у добровольцев и кроликов, представлены средние арифметические значения (M) и соответствующие им стандартные отклонения (m).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Дилепт представляет собой метиловый эфир N-капроил-L-пролил-L-тирозина, являющийся дипептидным аналогом нейротензина [6]. Методом масс-спектрометрии установлено, что дилепт в организме крыс, кроликов и человека метаболизируется с образованием 2 основных метаболитов. Основными путями биотрансформации дилепта, как у животных, так и человека, являются деметилирование с образованием N-капроил-L-пролил-L-тирозина (M-1) и отщепление L-тирозина с образованием N-капроил-L-пролина (M-2) [5, 7].

На рис. 1 представлены усредненные фармакокинетические профили дилепта и его метаболитов в плазме крови крыс после однократного введения внутрь таблеточной массы препарата в дозе 200 мг/кг [5], а в таблице — соответствующие им фармакокинетические параметры. Из рис. 1 и таблицы видно, что после вве-

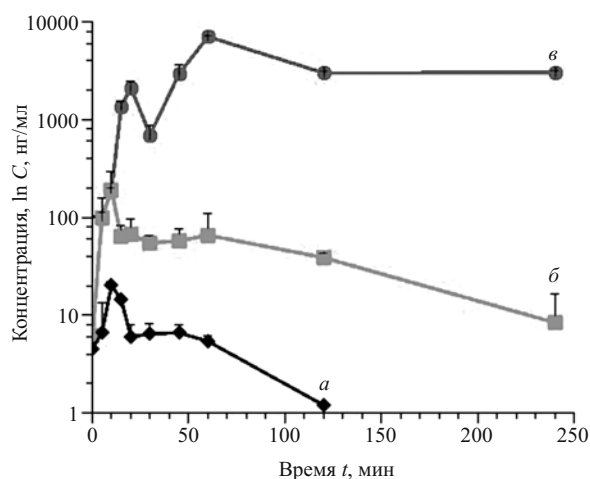


Рис. 1. Усредненные фармакокинетические профили дилепта и его метаболитов в плазме крови крыс после однократного введения внутрь таблеточной массы дилепта в дозе 200 мг/кг. Здесь и на рис. 2, 3: а) дилепт, б) M-1, в) M-2.

дения крысам препарата максимальная концентрация (C_{max}) пептида определялась через 0,17 ч (время достижения максимальной концентрации t_{max}) и составила 20,1 нг/мл. Период полувыведения ($T_{1/2\text{el}}$) при этом равнялся $\sim 0,5$ ч. Время достижения максимальной концентрации метаболита M-1 в плазме крови крыс отмечали через 0,17 ч после введения дилепта, при этом величина его C_{max} почти в 10 раз превышала таковую для неизмененного соединения. Период полувыведения M-1 составил 1,14 ч. Максимальная концентрация метаболита M-2 определялась через 1 ч после введения препарата. Величина C_{max} составила

Фармакокинетические параметры дилепта и его метаболитов (M-1 и M-2) у крыс, кроликов и человека после перорального введения таблеток и таблеточной массы препарата ($M \pm m$)

| Соединение | $AUC_{0 \rightarrow t}$, нг/(мл · ч) | $AUC_{0 \rightarrow \infty}$, нг/(мл · ч) | t_{max} , ч | C_{max} , нг/мл | k_{el} , ч ⁻¹ | $T_{1/2\text{el}}$, ч | MRT , ч | AUC_M/AUC_P |
|------------------------------|---------------------------------------|--|---------------|-------------------|----------------------------|------------------------|-------------|---------------|
| Крысы (200 мг/кг) [5] | | | | | | | | |
| Дилепт | 8,03 | 11,6 | 0,17 | 20,1 | 1,26 | 0,55 | 0,85 | — |
| M-1 | 170,9 | 186,03 | 0,17 | 188,0 | 0,60 | 1,14 | 1,61 | 21,3 |
| M-2 | 13209,3 | 24309,2 | 1,0 | 7046,2 | 0,24 | 2,87 | 4,8 | 1645 |
| Кролики (40 мг) | | | | | | | | |
| Дилепт | 4,04 ± 1,96 | 4,41 ± 1,91 | 0,75 ± 0,16 | 3,59 ± 1,94 | 0,69 ± 0,19 | 1,06 ± 0,26 | 1,46 ± 0,26 | — |
| M-1 | 6,49 ± 2,36 | 7,31 ± 2,22 | 0,70 ± 0,19 | 4,4 ± 1,9 | 0,67 ± 0,25 | 1,17 ± 0,49 | 2,00 ± 0,68 | 1,6 |
| M-2 | 508,33 ± 142,38 | 545,45 ± 155,36 | 0,62 ± 0,14 | 239,16 ± 45,51 | 0,50 ± 0,11 | 1,44 ± 0,34 | 2,33 ± 0,40 | 125,8 |
| Добровольцы (60 мг) | | | | | | | | |
| Дилепт | 0,62 ± 0,4 | 1,51 ± 0,29 | 0,4 ± 0,2 | 1,09 ± 0,66 | 0,947 ± 1,05 | 1,9 ± 2,1 | 3,1 ± 2,7 | — |
| M-1 | 3,59 ± 1,69 | 5,18 ± 2,64 | 0,75 ± 0,29 | 6,94 ± 4,64 | 0,468 ± 0,191 | 1,84 ± 1,18 | 3,49 ± 3,34 | 5,8 |
| M-2 | 408,29 ± 152,26 | 411,46 ± 151,99 | 1,30 ± 0,67 | 189,23 ± 108,12 | 0,635 ± 0,150 | 1,16 ± 0,34 | 1,14 ± 0,19 | 658,5 |

Примечание: AUC_{0-t} (нг/мл · ч) — площадь под фармакокинетической кривой (площадь под кривой “концентрация препарата — время”) после перорального введения препарата. AUC_{0-t} рассчитывается от момента введения до фиксированного времени; $AUC_{0-\infty}$ (нг/мл · ч) — площадь под фармакокинетической кривой (площадь под кривой “концентрация препарата — время”) после перорального введения препарата. Рассчитывается от момента введения до бесконечности; t_{max} (ч) — время достижения максимальной концентрации лекарственного вещества/метаболита в плазме крови; C_{max} (нг/мл) — максимальная концентрация лекарственного вещества/метаболита в плазме крови; k_{el} (ч⁻¹) — константа скорости элиминации; $T_{1/2\text{el}}$ (ч) — период, за который выводится половина введенной и всосавшейся дозы лекарственного вещества; MRT (ч) — среднее время пребывания лекарственного вещества в организме; AUC_M/AUC_P — степень превращения фармакологического вещества в метаболит, рассчитываемая по отношению площади под фармакокинетической кривой метаболита к таковой неизмененного вещества.

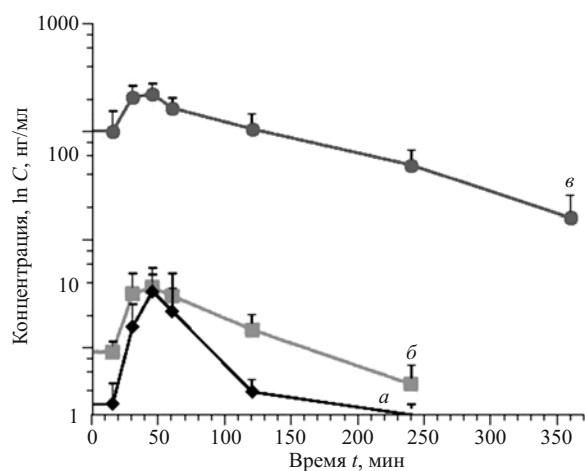


Рис. 2. Усредненные фармакокинетические профили дилепта и его метаболитов в плазме крови кроликов после однократного введения внутрь таблеток дилепта в дозе 40 мг.

7 мкг/мл, что значительно больше величин, полученных для дилепта и М-1; $T_{1/2\text{el}}$ составил около 3 ч. Таким образом, в плазме крови крыс концентрации М-2 значительно превышают концентрации неизменного вещества во всех исследуемых интервалах времени.

Фармакокинетическая кривая и фармакокинетические параметры дилепта в плазме крови кроликов после однократного введения препарата в дозе 40 мг (рис. 2 и таблица) указывают на более медленное всасывание нейролептика из ЖКТ. Анализ фазы всасывания показал, что время t_{max} дилепта в плазме крови кроликов в среднем составило 0,75 ч; для М-1 оно колебалось от 0,5 до 1 ч, а для М-2 — от 0,5 до 0,75 ч. Величина $T_{1/2\text{el}}$ у М-1 изменялась в широком диапазоне — от 0,67 до 2 ч, похожая картина наблюдалась и для метаболита М-2 — 1–2 ч. C_{max} препарата равнялась $3,59 \pm 1,94$ нг/мл, М-1 — $4,4 \pm 1,9$ нг/мл, М-2 — $239,16 \pm 45,51$ нг/мл. Концентрации дилепта в плазме крови кроликов удалось измерить в течение 4 ч. Концентрации метаболита М-1 определялись в течение 4 ч и М-2 — 6 ч, при этом концентрация М-2 была в 60 раз выше, чем М-1.

У добровольцев, принимавших дилепт в дозах 20 и 40 мг, не удалось рассчитать соответствующие фармакокинетические параметры, т.к. неизменное соединение определялось в отдельные дискретные интервалы времени [7]. Тем не менее у 2 из 5 здоровых добровольцев, принявших дилепт в дозе 60 мг, были измерены концентрации препарата, которые из-за малой выборки характеризовались большой вариабельностью, поэтому оценить фармакокинетические параметры у людей можно лишь приблизительно. Концентрации метаболитов удалось измерить у каждого здорового добровольца, независимо от принятой дозы изучаемого соединения. Из рис. 3 и таблицы видно, что максимальной концентрации в плазме крови здоровых добровольцев дилепт достигал к 0,4 ч. Величина $T_{1/2\text{el}}$ дилепта колебалась в широких пределах от 0,4

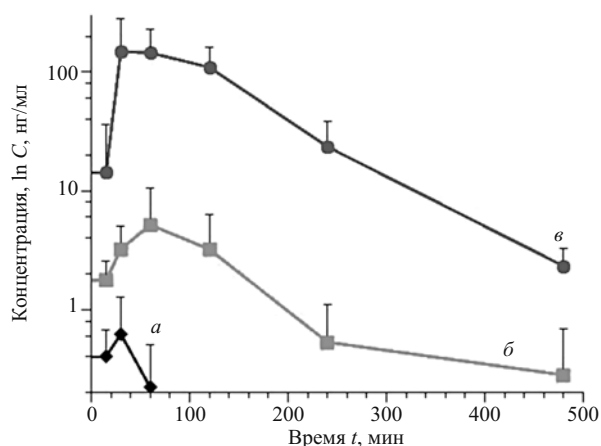


Рис. 3. Усредненные фармакокинетические профили дилепта и его метаболитов в плазме крови добровольцев после однократного приема внутрь таблеток в дозе 60 мг.

до 3,3 ч и в среднем составила 2 ч, как и для метаболита М-1. Период полувыведения метаболита М-2 оказался в 2 раза короче и составил 1 ч. Дилепт определялся в плазме крови отдельных здоровых добровольцев на протяжении 1 ч после приема. В дозах 20 и 40 мг концентрации метаболита М-1 регистрировали в течение 4 ч. С увеличением дозы препарата до 60 мг кинетика М-1 прослеживалась в течение 8 ч. Метаболит М-2, независимо от дозы дилепта, определялся в плазме крови здоровых добровольцев в течение 8 ч [7].

При сравнении дозозависимых фармакокинетических параметров дилепта и его метаболитов у животных и здоровых добровольцев, характеризующих интенсивность “очищения” организма от препарата, выявлены следующие межвидовые различия: у кроликов дилепт достигает максимальной концентрации в плазме крови (t_{max}) через 0,75 ч, в плазме крови крыс отмечается максимальная концентрация уже через 0,17 ч, тогда как этот показатель у добровольцев составил 0,4 ч (рис. 1–3). Значения периода полувыведения и среднего времени удерживания (MRT) неизменного соединения указывают на то, что в организме здоровых добровольцев дилепт находится более продолжительное время, чем в организме крыс и кроликов. Ранее проведенный сравнительный анализ фармакокинетики другого дипептидного препарата ноопепта у животных и человека выявил подобную закономерность: скорость элиминации ноотропа замедляется в ряду крыса > кролик > человек [2].

Одним из информативных фармакокинетических показателей, характеризующих активность биологической трансформации (превращение исходных соединений в метаболиты), является степень превращения фармакологического вещества в метаболит, рассчитываемая по отношению площади под фармакокинетической кривой метаболита к таковой неизменного препарата (AUC_M/AUC_P). Данный показатель был рассчитан для каждого метаболита у крыс, кроликов и чело-

века. Степень превращения дилепта в М-1 для крыс в 13 раз выше, чем у кроликов, и почти в 4 раза выше, чем у добровольцев. Похожие результаты наблюдаются для показателя степени превращения дилепта в М-2: в 13 и 2,5 раза соответственно.

Высокие показатели степени превращения препарата в М-1 в организме крыс объясняются более интенсивной энзиматической активностью эстераз у грызунов. Ранее были установлены существенные межвидовые различия в активности эстераз у крыс и человека в опытах *in vivo* и *in vitro* [9].

Очевидно, что в процессе всасывания неизменного соединения образование метаболита М-2 происходит через разрыв пептидной связи пептидазами ЖКТ, а также за счёт “эффекта первого прохождения” через печень. Образование М-2 происходит в 100 раз интенсивнее, чем образование М-1, у всех видов испытываемых животных и человека.

Следует отметить, что фармакологический эффект дилепта может складываться как за счёт активности самого нейролептика, так и его деметилированного метаболита М-1 [3, 4].

В целом результаты проведенного клинико-экспериментального исследования особенностей фармакокинетики дилепта подтверждают данные о межвидовых различиях в интенсивности биотрансформации лекарственных препаратов в организме крыс, кроликов и человека [8].

ВЫВОДЫ

1. Выявлены межвидовые различия в фармакокинетике дилепта. Независимо от дозы (40 мг, 200 мг/кг)

концентрации неизменного соединения в плазме крови здоровых добровольцев, крыс и кроликов регистрировали в нанограммовом диапазоне. При этом период полувыведения дилепта у крыс составил 0,55 ч, у кроликов — $1,06 \pm 0,26$ ч, у здоровых добровольцев — $1,9 \pm 2,1$ ч.

2. По степени превращения дилепта в основные метаболиты интенсивность биотрансформации уменьшалась в ряду крыса > человек > кролик.

ЛИТЕРАТУРА

1. Н. В. Архипенко, С. А. Апполонова, Т. Г. Соболевский и др., *Хим.-фарм. журн.*, **43**(5), 53 – 56 (2009); *Chem. Pharm. J.*, **43**(5), 283 – 286 (2009).
2. С. С. Бойко, С. А. Коротков, В. П. Жердев и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **67**(1), 40 – 43 (2004).
3. П. И. Горелов, Р. У. Островская, Н. М. Сазонова, *Эксперим. и клин. фармакол.*, **76**(7), 3 – 5 (2013).
4. Л. С. Гузевых, Т. Г. Емельянова, Н. И. Зайцева и др., *Известия РАН. Сер. биол.*, № 4, 488 – 492 (2004).
5. В. П. Жердев, С. С. Бойко, Н. В. Месонжник и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **72**(3), 16 – 21 (2009).
6. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Т. А. Гудашева и др., *Замечённые проилитрозины, обладающие психотропной активностью; Патент РФ № 2091390, Бюл. изобрет.*, № 27 (1997).
7. Р. В. Шевченко, А. А. Литвин, Г. Б. Колыванов и др., *Эксперим. и клин. фармакол.*, **76**(6), 34 – 37 (2013).
8. Н. Е. Kang, Н. Y. Jung, Y. K. Cho, et al., *J. Pharm. Sci.*, **98**(11), 4327 – 4342 (2009).
9. J. Z. Yang, W. Chen, R. T. Borchardt, *J. Pharmacol. and Experim. Ther.*, **303**(2), 840 – 848(2002).

Поступила 20.02.14

SPECIFIC FEATURES IN PHARMACOKINETICS OF THE ORIGINAL NEUROLEPTIC DILEPT IN ANIMALS AND HUMANS

R. V. Shevchenko*, A. A. Litvin, G. B. Kolyvanov, S. S. Boiko, and V. P. Zherdev

Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia

* e-mail: rmn.shev@gmail.com

Interspecies differences in pharmacokinetics of the original neuroleptic drug dilept have been studied in experimental animals (rabbits and rats) and volunteers after single oral administration of tablets and tablet mass of the drug. Parent drug in the rabbit blood plasma was detected for 4 h, in the rat plasma for about 2 h, and in the human blood plasma for about 1 h after drug administration. The degrees of dilept biotransformation into metabolites (defined as metabolism intensity, AUCM/AUCP) in rats were 21.3 (for M-1) and 1645 (for M-2), in human volunteers – 5.8 and 658.5, and in rabbits – 1.6 and 125.8, respectively. Thus, the intensity of drug metabolism in experimental animals and volunteers was different and decreased in the series rats humans rabbits.

Keywords: interspecies differences; dilept; pharmacokinetics

