

УДК 577.164.3:615.272

Ярош О. К., Будзіцька К. І., Савцова З. Д.

ОСОБЛИВОСТІ ФАРМАКОКІНЕТИКИ КВЕРЦЕТИНУ ПРИ ЙОГО ПАРЕНТЕРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ В РІЗНИХ ЛІКАРСЬКИХ ФОРМАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИМ ТВАРИНАМ

Статтю присвячено визначенню біодоступності кверцетину з різних лікарських форм. Концентрацію як вільного, так і загального кверцетину визначали в динаміці (протягом 60 хв) в сироватці, згустку крові та печінці експериментальних тварин (щурів) після введення 10 мг/кг субстанції кверцетину, гранульованого кверцетину, ліпосомальної форми та препарату корвітину.

Вступ

В Україні, як і в усьому світі, головними з причин смертності населення залишаються серцево-судинні захворювання [3]. На сьогоднішній день (2002-2003 рр.), заданими МОЗ України, щорічно від інфаркт) помирає близько 50 тис., а від інсульту та його наслідків - більше 150 тис. наших громадян, в основному чоловіків. Для вирішення цієї проблеми, хоча б частково, необхідний відповідний арсенал серцево-судинних засобів [2; 5].

Дослідження останнього часу свідчать, що в основі розвитку патологічних процесів у серці, печінці, мозку та інших життєво важливих тканинах організму лежать порушення у функціонуванні мембран клітин (кардіоміоцитів, гепатоцитів, нейронів, ендотеліоцитів та клітин крові, що взаємодіють з ними), які можуть визначати інтенсивність розвитку патологічного процесу у цих органах і, як кінцевий результат, тяжкість їх пошкодження [11; 12; 14]. До мембранних механізмів, що впливають на розвиток патологічних процесів у тканинах, наприклад серця, належать: насамперед, активація фосфоліпаз та оксигеназ (ліпоксигеназ, циклооксигеназ), яка призводить до деградації фосфоліпідного бішару мембран, що, в свою чергу, порушує їх проникність і транс-

мембранний іонний транспорт, а також спричинює утворення біологічно активних речовин, таких як похідні ненасичених жирних кислот, зокрема найбільш вивченої з них - арахідонової. Важливими мембранними механізмами, що пов'язані з попереднім, є також утворення вільних радикалів і активація перекисного окиснення ліпідів [8]. Вони мають велике значення в патогенезі порушень діяльності серцево-судинної системи під впливом радіаційних, стресорних та ішемічних факторів, а їх вивчення сприяє пошуку речовин, здатних коригувати або попереджувати ці порушення [7; 15].

Особливу роль відіграє активація ліпоксигеназ та утворення ліпоксигеназних похідних, які викликають різке звуження коронарних судин, мають аритмогенний ефект, проагрегатну та хемоатрактантну дію на нейтрофіли, посилюють цитотоксичну дію натуральних кілерів. Тому гальмування активності ліпоксигеназ є важливим напрямом у терапії захворювань серцево-судинної системи [1].

Одним з важливих спільних патогенетичних механізмів розвитку таких захворювань, як променеві ураження, атеросклероз, гіпертонічна хвороба, гострий інфаркт міокарда, є гальмування продукції оксиду азоту - речовини, що розши-

рює коронарні судини та має антиагрегантну та антиадгезивну дію [10; 13; 16].

Більшість наведених патогенетичних механізмів є результатом зміни активності різноманітних ферментних систем, тому модуляцію активності ферментів слід вважати важливим напрямом сучасної терапії захворювань серцево-судинної системи. Серед відомих модуляторів активності різних ферментів можна назвати біофлавоноїди і, зокрема, кверцетин, який змінює активність ферментів, що беруть участь у вільнорадикальних процесах, ферментів продукції оксиду азоту, а також протейнінази.

Головним недоліком кверцетину є нерозчинність у воді та біологічних рідинах, що суттєво знижує його біодоступність і перспективи застосування у клініці гострих станів, зокрема при інсультах та інфарктах міокарда. У цьому плані достатньо перспективною може бути розроблена співробітниками Інституту фармакології та токсикології АМН України ліпосомальна форма цієї речовини. Розроблені також напіврозчинна форма кверцетину з полімерами та перша в світі водорозчинна форма кверцетину - корвітин, придатна для використання в клініці шляхом внутрішньовенного введення [9]. Це дозволить принципово розширити можливості застосування кверцетину в клінічній практиці.

Метою даної роботи було порівняння біодоступності зазначених форм кверцетину в дослідженнях на експериментальних тваринах.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на білих нелінійних щурах-самцях масою 150–220 г, віком 3–4 міс., які утримувались на стандартному раціоні віварію ІФГ АМН України при температурі 22–24 °С та відносній вологості повітря 30–70 % і мали вільний доступ до води та їжі. Тварин розподіляли

на 4 групи за методом випадкового добору з попереднім карантинном протягом 10 діб. Тварини з помітними ознаками незадовільного стану здоров'я у дослідженнях не використовувались.

У всіх тварин моделювали геморагічний інсульт за методикою [6], через 1 добу вводили внутрішньовенне кверцетин-субстанцію, ліпосомальний кверцетин та корвітин, перорально - гранульований кверцетин. Через 5, 7, 10, 15, 20, 30, 40, 60 ХВ у тварин брали кров та тканини печінки. В кожній групі, в кожному часовому проміжку досліджували по 5 щурів, загальна кількість - 160 тварин.

Досліджувані зразки розділяли на дві частини, для кожної з яких (масою 1 г) проводили свою підготовку проби, і визначали хроматографічним методом окремо кількість вільного та загального кверцетину. Екстракцію вільного кверцетину здійснювали в присутності спиртового розчину аскорбінової кислоти (45 мг/мл, 50 мкл розчину на пробу) етиловим ефіром (3,0 мл на пробу). Для визначення в зразках загального вмісту кверцетину (як вільного, так і зв'язаного з компонентами тканини) перед ефірною екстракцією їх обробляли розчином β-глюкуронідази з *Helix pomatia* (20 мкл комерційного препарату ензиму, «Sigma», Німеччина).

Аналітичне визначення концентрації кверцетину проводили за допомогою високоефективного рідинного хроматографа («PERKIN - ELMER 200»). Концентрацію кверцетину визначали за площею відповідного піка при зовнішньому калібруванні. Результати експериментів обробляли методами математичної статистики за допомогою спеціалізованих програм Excel 97 та Statistika v. 5 з урахуванням t-критерію Ст'юдента [4].

Результати та їх обговорення

Результати визначення кверцетину в сироватці крові наведено в табл. 1.

Таблиця 1. Динаміка концентрації кверцетину у сироватці крові щурів ($M \pm m$), мкг/мл

Лікарська форма	Час після введення препарату, хв							
	5	7	10	15	20	30	40	60
Кверцетин-субстанція	1,40 ± 0,11	0,99 ± 0,04 ¹	–	2,38 ± 0,38 ¹	2,24 ± 0,04	1,40 ± 0,21 ¹	0,18 ± 0,00 ¹	–
Ліпосомальна форма	2,10 ± 0,03 ²	2,64 ± 0,34 ²	1,28 ± 0,24 ^{1,2}	–	0,18 ± 0,02 ^{1,2}	0,99 ± 0,01 ¹	–	–
Корвітин	1,93 ± 0,17 ²	–	2,70 ± 0,24 ^{1,2}	–	–	0,90 ± 0,10 ¹	0,56 ± 0,01 ^{1,2}	–
Гранули кверцетину	–	–	–	–	0,46 ± 0,03	–	0,13 ± 0,01	0,07 ± 0,01

«» кверцетин за допомогою застосованої методики не виявлений;

¹ P < 0,05 порівняно з попереднім терміном визначення;

² P < 0,05 порівняно з субстанцією кверцетину.

Таблиця 2. Концентрації кверцетину у згустку крові щурів ($M \pm m$), мкг/г

Лікарська форма	Час після введення препарату, ХВ							
	5	7	10	15	20	30	40	60
Кверцетин-субстанція вільний загальний	0,15±0,01 0,90±0,07	0,21±0,02 ¹ 0,47±0,05 ¹	–	0,03±0,01 ¹ 0,35±0,01 ²	0,13±0,01 ¹ 0,26±0,15	0,06±0,01 ¹	–	–
Ліпосомальна форма вільний загальний	0,60±0,07 ² 0,62±0,06 ²	0,50±0,05 ² 0,70±0,06 ²	0,31±0,03 ^{1,2} 0,36±0,04 ^{1,2}	–	0,01±0,00 ¹ 0,09±0,01 ¹	0,05±0,01 0,24±0,02 ²	0,03±0,01 0,18±0,03 ^{1,2}	–
Корвітин вільний загальний	0,67±0,06 ² 0,81±0,04	–	0,53±0,05 ^{1,2} 1,53±0,17 ^{1,2}	–	0,36±0,02 ^{1,2} 0,33±0,04 ¹	0,02±0,00 ^{1,2} 0,16±0,01 ²	0,01±0,00 0,09±0,01 ¹	–
Гранули кверцетину вільний загальний	–	–	–	–	0,01±0,00 ² 0,07±0,01 ¹	–	0,02±0,00 0,03±0,00 ^{1,2}	0,04±0,01 ¹

«» кверцетин за допомогою застосованої методики не виявлений;

¹ P < 0,05 порівняно з попереднім терміном визначення;

² P < 0,05 порівняно з субстанцією кверцетину.

Як видно з цієї таблиці, кверцетин реєструється в сироватці крові вже через 5 ХВ після введення субстанції, ліпосомальної форми та корвітину. Після введення двох останніх препаратів рівень кверцетину в сироватці крові вірогідно вищий, ніж після введення субстанції. Після введення субстанції спостерігали два піки вмісту кверцетину в сироватці крові - через 5 та 15-20 ХВ, після введення корвітину - через 5 та 10 ХВ. Після введення ліпосомальної форми найвищий рівень кверцетину в сироватці крові реєстрували на 5-7-й ХВ, зростання на 30-й ХВ було незначним. Дуже низькі значення кверцетину в сироватці крові реєструвалися через 20,46 і 60 ХВ після перорального введення гранул кверцетину.

Результати визначення кверцетину та його лікарських форм у згустку крові щурів наведено в табл. 2.

Як показують дані табл. 2, найбільший вміст вільного кверцетину реєструється в згустку крові на 5-й ХВ після введення субстанції кверцетину, ліпосомальної форми або корвітину. При цьому після введення двох останніх лікарських форм показники вмісту кверцетину достовірно вищі, ніж після введення субстанції. Подальша динаміка має свої особливості для кожної лікарської форми. При введенні субстанції рівень кверцетину вірогідно зростає на 7-й ХВ, потім різко знижується і знову підвищується на 20-й ХВ; ліпосомальної форми - поступово знижується протягом 10 ХВ, потім різко спадає. Після введення корвітину вміст вільного кверцетину різко коливається: падає нижче чутливості застосованої

методики на 7-й та 15-й ХВ і достовірно зростає на 10-й і 20-й ХВ. Динаміка вмісту загального кверцетину для кожної лікарської форми аналогічна описаним вище. Після введення гранульованої форми вміст як вільного, так і загального кверцетину був украй низьким і визначався в пізні терміни (20-60 ХВ).

Результати дослідження вмісту кверцетину у тканинах печінки наведено в табл. 3.

У тканинах печінки кверцетин накопичується переважно у зв'язаній формі. Встановлено, що вміст загального кверцетину значно (в 6-20 разів) перевищував вміст вільного протягом усього часу; дослідження. Як і при дослідженні сироватки або згустку крові, після введення субстанції, ліпосомальної форми або корвітину кверцетин визначали в печінці, починаючи з 5-ї ХВ, а після введення гранул - через 20, 40, 60 ХВ. Максимальний вміст кверцетину (загального) в печінці спостерігали через 5-10 ХВ після введення ліпосомальної форми. Загальна тривалість виявлення кверцетину в тканинах печінки після введення субстанції становила 30 ХВ, ліпосомальної форми та корвітину - 40 ХВ.

Таким чином, отримані результати щодо динаміки вмісту кверцетину в крові і печінці після його застосування в експериментальних тварин у вигляді субстанції, ліпосомальної форми, корвітину або гранульованої форми свідчать про досить високу біодоступність при парентеральному введенні. За такого способу введення кверцетин визначали в сироватці крові, згустку та тканинах печінки вже на 5-7-й ХВ незалежно від

Таблиця 3. Концентрації кверцетину у печінці щурів ($M \pm /я$), мкг/г

Лікарська форма	Час після введення препарату, ХВ							
	5	7	10	15	20	30	40	60
Кверцетин-субстанція вільний загальний	0,42 ± 0,01 2,51 ± 0,14	1,00 ± 0,10 ¹	—	0,20 ± 0,02 ¹ 2,26 ± 0,19 ¹	0,05 ± 0,00 ¹ 1,95 ± 0,26	0,07 ± 0,01 0,39 ± 0,04 ¹	—	—
Ліпосомальна форма вільний загальний	0,17 ± 0,01 ² 3,08 ± 0,17 ²	0,12 ± 0,01 ² 3,24 ± 0,34 ¹	0,07 ± 0,00 ¹ 2,72 ± 0,29 ²	—	0,04 ± 0,00 ^{1,2} 1,20 ± 0,19 ^{1,2}	0,05 ± 0,00 0,95 ± 0,03 ²	0,04 ± 0,00 0,67 ± 0,09 ¹	—
Корвітин вільний загальний	0,17 ± 0,01 ² 2,20 ± 0,07	—	0,16 ± 0,02 ² 3,19 ± 0,28 ^{1,2}	—	0,03 ± 0,02 ^{1,2} 0,65 ± 0,04 ²	0,01 ± 0,00 ² 0,30 ± 0,01 ^{1,2}	0,03 ± 0,00 ² 0,35 ± 0,04 ^{1,2}	—
Гранули кверцетину вільний загальний	—	—	—	—	0,06 ± 0,01 ² 0,01 ± 0,00	—	0,04 ± 0,00 ² 0,07 ± 0,01 ¹	0,02 ± 0,00 0,03 ± 0,003 ¹

«» кверцетин за допомогою застосованої методики не виявлений;

¹ P < 0,05 порівняно з попереднім терміном визначення;

¹ P < 0,05 порівняно з субстанцією кверцетину.

лікарської форми. Водночас слід зазначити, що в сироватці крові вміст кверцетину після введення ліпосомальної форми або корвітину був достовірно вищим, ніж після введення субстанції. Найвищі рівні кверцетину (загального) в печінці було визначено після застосування ліпосомальної форми, що збігається з даними, отриманими в ІФТАМН України щодо значно більшої спорідненості ліпосомальної форми кверцетину до ізо-

льованих мембран ендоплазматичного ретикулу-му клітин печінки порівняно з сольватованим кверцетином. Після перорального введення гранульованої форми і в крові, і в печінці кверцетин визначається в значно менших концентраціях і в більш пізні терміни (починаючи з 20-ї ХВ).

За сукупністю одержаних даних можна припустити перспективність клінічного використання ліпосомальної форми кверцетину.

В.Беленічев І. Ф., Левицький Є. Л., Губський Ю. І., Коваленко С. І. Антиоксидантна система захисту організму // Соврем. пробл. токсикол.-2002.- № 3.- С. 34-39.

1. Беленічев І. Ф., Коваленко С. І., Дунаев В. В. Антиоксиданти: сучасні уявлення, перспективи створення // Ліки.- 2002.- № 1-2.- С. 43-47.

3. Возіанов О. Ф. Смертність населення України: головні причини, шляхи подолання негативних тенденцій // Журн. Акад. наук України.- 1996.- № 2.- С. 191-198.

Б.Гланц С. В. Медико-биологическая статистика,- М.: Практика, 1998,- 459 с.

5. Губський Ю. Я., Юрженко Н. Я., Шаповал Г. С. и др. // Укр. биохим. журн.- 1998.- Т. 10.- № 3.- С. 124-130.

6. Макаранко А. Н., Косиць Н. С., Пасикова Н. В., Свиное М. М. Метод моделювання локального кровоизливання в різних структурах головного мозгу у експериментальних тварин // Журн. высш. нерв. деят.- 2002.- Т. 52.- № 6.- С. 765-768.

7. Максютіна Н. П., Пилипчук Л. Б. Рослинні антиоксиданти і пектини в лікуванні і профілактиці променевого ураження і детоксикації організму // Фармац. журн.- 1996.- № 2.- С. 35-41.

8. Могурова Т. В., Лазарева Д. Н. Влияние лекарственных средств на свободно-радикальное окисление // Эксперим. клин. фармакол.-2000.- Т. 63.- № 1.- С. 71-75.

9. Максютіна Н. П., Мойбенко О. О., Пилипчук Л. Б. Спосіб одержання корвітину. Патент України № 23996А, 1998.

10. Erlundl., Silasle M. L., Alfthan G. et al. Plasma concentration of the flavonoids hesperetin, naringenin and quercetin in human subjects following their habitual diets and diets high or low in fruit and vegetables // Eur. J. Clin. Nutr.- 2002.- V. 56.- P. 891-898.

11. Ferry D. R., Smith A., Halkhandi J. et al. Phase I. Clinical Trial of the Flavonoid Quercetin: Pharmacokinetics and Evidence for in vivo Tyrosine Kinase Inhibition // Clin. Cane. Res.- 1996.- V. 2.- P. 659-668.

12. Graefe E. U., Derendorf H., Veit M. Pharmacokinetics and bioavailability of the flavonol quercetin in humans // Internat. J. Clin. Pharm. Ther.- 1999.- V. 37.- № 5.- P. 219-233.

13. Halliwell B. How to characterize a biological antioxidant // Free Radic. Rec. Commun.- 1990.- № 9.- P. 1-32.

14. Middleton C. Kandaswami, Theoharis C. Theoharides. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer // Pharm. Rev.- 2000.- V. 52.- № 4.- P. 673-751.

15. Schwedhelm E., Maas R., Troost R., Boger R. Clinical pharmacokinetics of antioxidants and their impact on systemic oxidative stress // Clin. Pharmacokinetics.- 2003.- V. 42.- № 5.- P. 437-459.

16. Se-Joong Rim, Leong-Poi H., Lindner J. et al. Decrease in coronary blood flow reserve during hyperlipidemia is secondary to an increase in blood viscosity // Circulation.- 2001.- V. 104.- P. 2704-2709.

O. Yarosh, K. Budzitska, Z. Savtsova

**PECULIARITIES OF THE PHARMAKOKINETICS OF THE QUERCETIN
WHEN IT IS INJECTED INTRAVENOUSLY IN DIFFERENT MEDICINAL
FORMS TO THE EXPERIMENTAL ANIMALS**

This article is devoted to the definition of bioaccessibility of the quercetin from different medicinal forms. The concentration of free as well as general quercetin was defined in the blood (during 60 minutes) in the serum of the clot of blood and liver of the experimental animals (rats), after injection of 10 mg/kg substation of quercetin granulae quercetin, liposomal form quercetin and preparation of corvutin.