

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОКІНЕТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ КВЕРЦЕТИНУ ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМУ ЗАСТОСУВАННІ З МОДИФІКАТОРАМИ РОЗЧИННОСТІ

У статті наведено результати вивчення фармакокінетичних властивостей кверцетину при його пероральному застосуванні у вигляді субстанції та комбінації з модифікатором розчинності пектином.

Результати дослідження свідчать про те, що при комбінуванні кверцетину з пектином посилюється гастроінтестинальна адсорбція даного флавоноїду, що зумовлює підвищення максимальної концентрації у 10 разів, а також показників відносної біодоступності у 10 разів порівняно з чистою субстанцією.

Отримані дані дозволяють зробити висновок, що застосування модифікаторів розчинності кверцетину в комбінованих пероральних лікарських формах значно покращує ФК-параметри цього флавоноїду, збільшуючи його біодоступність.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: кверцетин, пектин, фармакокінетика, біодоступність.

ВСТУП. Флавоноїди являють собою групу поліфенольних сполук, які володіють численними фармакологічними ефектами, такими, як протизапальний, гепатопротекторний, противиразковий, протиалергійний, протівірусний. Важливими є і антиоксидантні властивості флавоноїдів [1, 9, 10, 14].

У зв'язку з великою кількістю захворювань, у лікуванні яких можлива реалізація терапевтичної дії кверцетину, необхідні розробка та впровадження в клінічну практику нових препаратів на його основі. Незважаючи на значний прогрес у створенні різних лікарських форм кверцетину, розробка нових препаратів на основі даного флавоноїду з поліпшеними фармакокінетичними властивостями залишається актуальним питанням. Внаслідок низької розчинності всмоктування кверцетину в незмінній формі у шлунково-кишковому тракті обмежене, однак саме пероральний шлях введення є найбільш зручним при проведенні тривалої терапії [6–8, 12, 13].

Актуальність дослідження визначається ще й тим, що доклінічне вивчення фармакокінетики та біотрансформації кверцетину є необхідним етапом на шляху впровадження нових препаратів у клінічну практику [5].

Продовжуючи пошук способів поліпшення всмоктування кверцетину з шлунково-кишкового тракту, на підприємстві ЗАТ НВЦ "Борща-

гівський хіміко-фармацевтичний завод" було розроблено препарат "Квертин". Він являє собою кверцетин у вигляді таблеток для розжовування, у складі якого як модифікатор розчинності використано пектин. Приємні органолептичні властивості даної лікарської форми дозволяють зручно застосовувати препарат у будь-яких умовах, розжовуючи його без використання рідини для запивання.

Метою роботи стало порівняльне дослідження фармакокінетичних властивостей субстанції кверцетину та комбінації його з пектином.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Вивчення фармакокінетичних параметрів кверцетину та комбінованої лікарської форми проводили на 8 безпородних кролях обох статей масою 2500–3000 г. Усі дослідження виконували за директивою Ради ЄС 86/609 ЄЄС від 24 листопада 1986 р. про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети [11].

Усіх кролів було поділено на 2 дослідні групи по 4 тварини у кожній: 1-ша група – кролі, які отримували перорально субстанцію кверцетину; 2-га група – кролі, які отримували перорально комбінацію кверцетину з пектином.

У дослідних групах тварин субстанцію кверцетину і його комбінацію з пектином застосо-

ували в дозі 10 мг/кг у перерахунку на чистий кверцетин. Досліджувані об'єкти вводили внутрішньошлунково за допомогою зонда, одночасно у вигляді суспензій, які виготовляли з попереднім подрібненням речовин у ступці й використанням необхідної кількості фізіологічного розчину.

Відомо, що при пероральному застосуванні кверцетин всмоктується протягом першої години та утримується в плазмі до 8–12 год [2, 5, 8]. У зв'язку з цим, забір крові з вушної вени проводили через 0,25; 0,5; 1; 2; 4 та 8 год після введення препаратів, а також за 10 хв до введення кверцетину одночасно у всіх тварин. Після підготовки проб проводили визначення концентрації кверцетину та його основного метаболіту ізорамнетину в біопробках методом ультраефективної рідинної хроматографії з мас-селективним детектором. Загальну концентрацію кверцетину та ізорамнетину в плазмі крові відображали у перерахунку на чистий кверцетин і визначали за допомогою рівняння:

$$C=C(Q)+0,95567 \cdot C(Ir),$$

де $C(Q)$ – концентрація кверцетину в плазмі крові;

$C(Ir)$ – концентрація ізорамнетину в плазмі крові;

0,95567 – коефіцієнт перерахунку ізорамнетину в кверцетин.

За даними графіка “концентрація–час”, за допомогою загальноприйнятих розрахунків та комп'ютерних програм визначали такі фармакокінетичні параметри: максимальну концентрацію препарату (C_{max}), час її досягнення (T_{max}), період напіввиведення ($T_{1/2}$), площу під фармакокінетичною кривою в межах тривалості спостереження за концентрацією лікарської речовини (AUC_{0-8}) і від 0 до ∞ ($AUC_{0-\infty}$), константу елімінації (K_{el}).

Для оцінки ступеня впливу модифікатора розчинності пектину на біодоступність кверцетину з досліджуваної пероральної форми розраховували відносну біодоступність (F) за субстанцією кверцетину за допомогою рівняння:

$$F=AUC_{0-8}(A)/AUC_{0-8}(B) \cdot 100 \%,$$

де A – дослідна комбінація кверцетину з пектином;

B – субстанція кверцетину.

Як програмний інструментальний засіб застосовували ліцензійне програмне забезпечення: MassLynx® 4.0 – TargetLynx® (Waters®), Microsoft Office Exel® 2003, WinNon-lin Professional 5.2 (Pharsight Corporation). Оцінку ФК-параметрів проведено з використанням моделі розрахунків “NCA Model 201” WinNonlin Professional 5.2.

Загальну статистичну обробку результатів проводили за допомогою методів варіаційної статистики з використанням критерію Стьюдента та непараметричних методів статистичного аналізу [3, 4].

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Внутрішньошлункове застосування кверцетину сприяло появі та коливанню концентрації діючої речовини в крові піддослідних тварин обох груп. У міру надходження кверцетину в системний кровообіг він піддавався активним метаболічним перетворенням в організмі кролів, про що свідчить визначення певного вмісту ряду метаболітів, переважно ізорамнетину.

Зміни концентрації кверцетину та його метаболітів (ізорамнетин) у перерахунку на кверцетин залежно від часу наведено в таблиці 1.

З наведених даних видно, що при застосуванні субстанції кверцетину значущу концентрацію діючої речовини в плазмі крові більшості тварин цієї групи було зареєстровано через 0,25–2 год після введення. У всіх випадках концентрація кверцетину перевищувала вміст ізорамнетину в 2–3 рази, та зміни в концентраціях даних флавоноїдів у плазмі крові кролів були прямо пропорційними й мали однакову інтенсивність. В середньому по групі концентрація кверцетину та його метаболітів у плазмі крові тварин протягом 1 год після введення препарату утримувалась у межах 340–440 нг/мл.

Таблиця 1 – Середні значення вмісту кверцетину (Q) та ізорамнетину (Ir) у плазмі крові піддослідних тварин, нг/мл (n=8)

Об'єкт дослідження		Час забору крові, год						
		0	0,25	0,5	1,0	2,0	4,0	8,0
Кверцетин (субстанція)	Q	<25,0	324,3	279,3	257,8	176,9	121,1	104,3
	Ir	<25,0	122,8	103,4	92,2	85,1	66,8	36,6
	Сума	<25,0	441,7	378,1	345,9	258,3	184,9	139,3
Кверцетин з пектином	Q	84,1	3778,9	3238,0	2428,8	1783,7	1778,1	490,0
	Ir	6,9	946,3	1326,9	904,2	539,1	608,6	62,0
	Сума	90,7	4683,2	4506,1	3292,9	2298,8	2359,7	549,2

У тварин, які отримували перорально кверцетин з пектином, спостерігались значно вищі концентрації загального кверцетину та ізорамнетину в плазмі крові, ніж при використанні субстанції. У більшості кролів кверцетин всмоктувався інтенсивніше з утворенням максимальної концентрації вже через 15–30 хв після введення. При аналізі середніх значень було виявлено, що пікові концентрації кверцетину та його метаболітів утворювались у плазмі тварин протягом перших 15 хв, досягаючи при цьому значень 4700 нг/мл, і далі поступово зменшувались. Тобто порівняно з чистою субстанцією кверцетину спостерігалось значне підвищення всмоктування діючої речовини, але без пролонгації даного процесу.

За розрахунками середніх значень концентрації кверцетину було побудовано фармакокінетичні криві, що відображають залежність загального вмісту кверцетину та його метаболітів (ізорамнетин) у сироватці крові піддослідних тварин від часу (рис.).

З графіків виходить, що фармакокінетична крива (ФК-крива) кверцетину при введенні саме чистої субстанції характеризується стрімким, але незначним, підвищенням концентрації. Максимальний вміст діючої речовини 441,7 нг/мл спостерігався вже через 15 хв від дозування. На стадії елімінації ФК-крива по-

казувала полого зниження концентрації кверцетину та його метаболітів без наявності виражених піків. При цьому концентрації діючої речовини у крові мали нижчі значення відносно препарату порівняння.

При порівняльному аналізі ФК-кривих спостерігалась суттєва зміна графіка при комбінуванні кверцетину з пектином. На стадії всмоктування відбувалось таке ж стрімке підвищення концентрації кверцетину та його метаболітів з досягненням піку протягом перших 15 хв після введення препарату. Завдяки поліпшенню всмоктування максимальна концентрація діючої речовини зростає до 4683,2 нг/мл, що значно перевищувало аналогічний показник іншої піддослідної групи. Протягом наступної години вміст флавоноїдів у крові доволі швидко знижувався, але в інтервалі часу від 2 до 4 год крива формувала чітко виражене "плато" на рівні 2300–2400 нг/мл. Надалі ФК-крива поволі знижувалась.

Відповідні фармакокінетичні параметри, розраховані за даними ФК-кривих, наведено в таблиці 2.

При порівнянні фармакокінетичних параметрів особливого значення заслуговують показники площі під кривою $AUC_{0-\infty}$ та AUC_{0-8} , оскільки вони відображають кількість діючої речовини, що досягла системного кровообігу тварини взагалі та за досліджуваний період

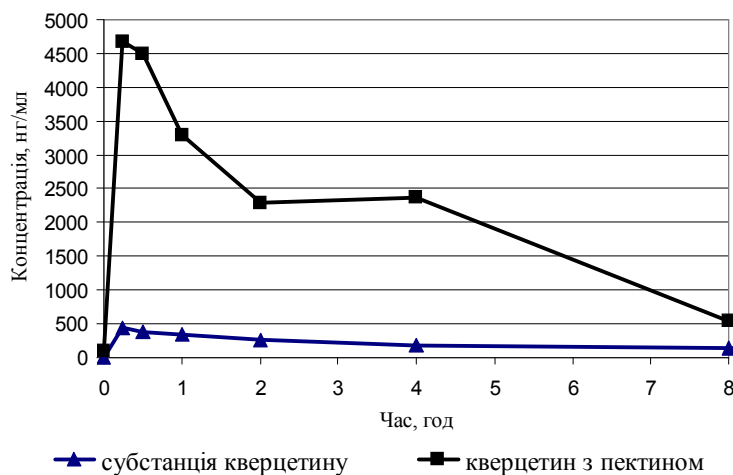


Рис. Графіки залежності середніх значень суми концентрацій кверцетину та ізорамнетину в плазмі крові кролів від часу.

Таблиця 2 – Середні фармакокінетичні показники кверцетину та ізорамнетину в досліджуваних лікарських формах (n=8)

Об'єкт дослідження	C_{max} , нг/мл	T_{max} , год	AUC_{0-8} , год·нг/мл	$AUC_{0-\infty}$, год·нг/мл	AUC_{0-t} , %	K_{el} , год ⁻¹	$T_{1/2}$, год	F, %
Кверцетин (субстанція)	441,7	0,25	1731,8	2694,4	64,3	0,14	4,8	100,0
Кверцетин з пектином	4683,2	0,25	16968,1	19092,0	88,8	0,26	2,7	978,0

часу. Показник AUC_{0-8} при застосуванні кверцетину з пектином досягав 16 968,1 нг·год/мл, а значення $AUC_{0-\infty}$ – 19092,0 нг·год/мл, що в 10 та 7 разів відповідно перевищувало рівень даного показника у кролів, які отримували чисту субстанцію кверцетину, та непрямо свідчило про значне збільшення біодоступності флавоноїду.

Розрахунок процентного співвідношення двох показників площі під ФК-кривою виявив, що при комбінуванні з пектином діюча речовина затримувалась в організмі тварин менше (88,9 %), ніж чиста субстанція кверцетину (64,3 %).

Підтвердженням даного факту можна вважати значення показників коефіцієнтів елімінації, що свідчать про інтенсивність виведення кверцетину з організму тварин. Так, значення K_{el} при введенні кверцетину з пектином знижувалось, порівняно із субстанцією, в 1,6 раза (0,26 та 0,14 год⁻¹ відповідно).

У кореляції з показниками K_{el} перебували результати розрахунків періоду напіввиведення ($T_{1/2}$). При пероральному застосуванні флавоноїду у вигляді чистої субстанції показник $T_{1/2}$ дорівнював 4,8 год. У разі комбінування кверцетину з модифікатором розчинності пектином період напіввиведення зменшувався в 1,8 (2,7 год) раза порівняно з чистою субстанцією.

Для наглядного розуміння поліпшення всмоктування кверцетину за допомогою пектину було розраховано показник відносної біодоступності за субстанцією кверцетину (F , %). Показник F при застосуванні пектину як мо-

дифікатора розчинності кверцетину перевищив рівень субстанції у 10 разів (978,0 %). Це дозволяє зробити висновок, що при поєднанні кверцетину з пектином значно більша доза флавоноїду досягає системного кровообігу тварин, ніж при використанні чистої субстанції.

Таким чином, застосування пектину як модифікатора розчинності кверцетину в комбінованих пероральних лікарських формах сприяє поліпшенню всмоктування даного флавоноїду зі шлунково-кишкового тракту, збільшуючи його біодоступність. Це буде зумовлювати не тільки спрощення використання кверцетину, а й підвищення його терапевтичної ефективності.

ВИСНОВКИ. 1. При пероральному застосуванні у кролів чиста субстанція кверцетину повільно всмоктується та піддається процесам біотрансформації з утворенням активних метаболітів, переважно ізорамнетину. Концентрація кверцетину перевищує вміст ізорамнетину в середньому в 2,0–3,0 рази при прямо пропорційній зміні з часом.

2. При комбінуванні кверцетину з пектином посилюється гастроінтестинальна адсорбція даного флавоноїду, що зумовлює підвищення максимальної концентрації в 11 разів, а також показника відносної біодоступності у 10 разів порівняно з чистою субстанцією.

3. Комбінування кверцетину з модифікатором розчинності пектином у лікарській формі для перорального застосування дозволяє значно покращити розчинні властивості даного флавоноїду та скоректувати його ФК-параметри відповідно до терапевтичної мети.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Доклінічні дослідження лікарських засобів : методичні рекомендації / за ред. О. В. Стефанова. – К. : Авіцена, 2001. – 528 с.
2. Компендиум 2008 – лекарственные препараты : в 2 т. / под ред. В. Н. Коваленко, А. П. Викторовова. – К. : Морион, 2008. – 2270 с.
3. Лапач С. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel / С. Н. Лапач, А. В. Чубенко, П. Н. Бабич – К. : Морион, 2000. – 320 с.
4. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – 3-е изд. – М. : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
5. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под ред. Р. У. Хабриева. – 2-е изд., перераб. и доп. – М. : ОАО Медицина, 2005. – 832 с.
6. Bioavailability and metabolism of the flavonol quercetin in the pig / P. Ader, A. Wessmann, S. Wolfram [et al.] // *Free Radic. Biol. Med.* – 2000. – **28**. – P. 1056–1067.
7. Bioavailability and Metabolic Pharmacokinetics of Rutin and Quercetin in Rats / Y. Chi-Yu, H. Su-Lan, W. Kuo-Ching [et al.] // *Journal of Food and Drug Analysis.* – 2005. – **13**. – P. 244–250.
8. Chow Pharmacokinetics and Modeling of Quercetin and Metabolites / Ch. Xiao, Q. P. Ophelia, Zh. Z. Yin, S. S. Moses // *Pharmaceutical Research.* – 2005. – **22**, № 6. – P. 892–901.
9. Effect of quercetin on metallothionein, nitric oxide synthases and cyclooxygenase-2 expression on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in rats / A. I. Morales, C. Vicente-Sanchez, M. Jerkic [et al.] // *Toxicology And Applied Pharmacology.* – 2006. – **210**, № 1–2. – P. 128–135.

10. Effects of chronic quercetin treatment on anti-oxidant defence system and oxidative status of deoxycorticosterone acetate-salt-hypertensive rats / M. Galisteo, M. F. Garcia-Saura, R. Jimenez [et al.] // Molecular And Cellular Biochemistry. – 2004. – **259**, № 1–2. – P. 91–99.

11. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.

12. Metabolism of quercetin and kaempferol by rat hepatocytes and the identification of flavonoid glycosides

in human plasma / E. J. Oliveira, D. G. Watson, M. H. Grant [et al.] // Xenobiotica. – 2002. – **32**. – P. 279–287.

13. Pharmacokinetics and bioavailability of the flavonol quercetin in humans / E. U. Graefe, H. Derendorf, M. Veit [et al.] // Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. – 1999. – **37**. – P. 219–233.

14. Quercetin, a bioflavonoid, protects against oxidative stress-related renal dysfunction by cyclosporine in rats / P. S. Satyanarayana, D. Singh, K. Chopra [et al.] // Methods And Findings In Experimental And Clinical Pharmacology. – 2001. – **23**, № 4. – P. 175–181.

В. Ф. Усенко, И. А. Зупанец, О. А. Тарасенко, С. К. Шебеко
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ХАРЬКОВ

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКИХ СВОЙСТВ КВЕРЦЕТИНА ПРИ ПЕРОРАЛЬНОМ ПРИМЕНЕНИИ С МОДИФИКАТОРАМИ РАСТВОРИМОСТИ

Резюме

В статье приведены результаты изучения фармакокинетических свойств кверцетина при его пероральном применении в виде субстанции и комбинации с модификатором растворимости пектином.

Результаты исследования свидетельствуют о том, что при комбинировании кверцетина с пектином усиливается гастроинтестинальная адсорбция данного флавоноида, что обуславливает повышение максимальной концентрации в 11 раз, а также показателей относительной биодоступности в 10 раз по сравнению с чистой субстанцией.

Полученные данные позволяют заключить, что применение модификаторов растворимости кверцетина в комбинированных пероральных лекарственных формах значительно улучшает ФК-параметры этого флавоноида, увеличивая его биодоступность.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: кверцетин, пектин, фармакокинетика, биодоступность.

V. F. Usenko, I. A. Zupanets, O. O. Tarasenko, S. K. Shebeko
NATIONAL UNIVERSITY OF PHARMACY, KHARKIV

EXPERIMENTAL STUDY OF PHARMACOKINETIC PROPERTIES OF QUERCETIN AT ORAL APPLICATION WITH MODIFIERS OF SOLUBILITY

Summary

The article presents the results of a study of pharmacokinetic properties of quercetin in its oral administration in the form of a substance and a combination of modifier solubility of pectin.

The findings suggest that quercetin combined with pectin increased gastrointestinal adsorption of flavonoid, which causes increase in the maximum concentration in 11 times, as well as indicators of relative bioavailability in 10 times compared to pure substance.

The data obtained suggest that the use of modifier solubility of quercetin in combined oral formulations greatly improves the PhC parameters of this flavonoid, increasing its bioavailability.

KEY WORDS: quercetin, pectin, pharmacokinetics, bioavailability.

Отримано 30.06.11

Адреса для листування: О. О. Тарасенко, Національний фармацевтичний університет, вул. Пушкінська, 27, Харків, 61057, Україна.