

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЕ НАУКИ

© Титов Д.С., Правкин С.К., 2016
УДК 615.252.349.015.4

**ИЗУЧЕНИЕ ХАРАКТЕРА И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ ВЛИЯНИЯ
ПРОИЗВОДНОГО СУЛЬФОНИЛМОЧЕВИНЫ II ПОКОЛЕНИЯ – ГЛИКВИДОНА
НА ФУНКЦИОНАЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ЛЕКАРСТВЕННОГО
ТРАНСПОРТЕРА ГЛИКОПРОТЕИНА-P**

Д.С. ТИТОВ, С.К. ПРАВКИН

Рязанский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, г. Рязань

**EXPLORE THE NATURE AND WITHDRAWAL PERIOD OF SULFONYLUREA II
GENERATION DERIVATIVE – GLIQUIDONE ON FUNCTIONAL ACTIVITY
OF THE DRUG TRANSPORTER P-GLYCOPROTEIN**

D.S. TITOV, S.K. PRAVKIN

Ryazan State Medical University, Ryazan

В исследовании *in vivo* на кроликах изучено влияние гликвидона на функциональную активность белка-транспортера гликопротеина-P (P-gp, ABCB1 белок). Активность P-gp оценивали по фармакокинетике его маркерного субстрата – фексофенадина после однократного внутрижелудочного введения. Применение гликвидона в дозе 10 мг/кг массы тела в течение 14 дней приводило к повышению максимальной концентрации фексофенадина, периода его полувыведения, площади под фармакокинетической кривой концентрация–время от нуля до последней точки забора крови, площади под фармакокинетической кривой концентрация–время от нуля до бесконечности, а также времени удерживания маркерного субстрата и к снижению общего клиренса и коэффициента абсорбции, что свидетельствует обингибировании функциональной активности белка-транспортера на уровне целостного организма. На 5-й день отмены гликвидона наблюдалось полное или частичное восстановление указанных фармакокинетических параметров.

Ключевые слова: гликвидон, гликопротеин-P, ABCB1 белок.

In the *in vivo* study in rabbits the effect of gliquidone at 10 mg / kg body weight of the functional activity of the protein transporter P-glycoprotein (P-gp, ABCB1 protein) was studied. P-gp activity was evaluated by its pharmacokinetics marker substrate – fexofenadine after a single intragastric administration. Applying gliquidone for 14 days led to an increase in the maximum concentration of fexofenadine, its half-life, area under the concentration-time curve from zero to the last point of drawing blood, area under the concentration-time curve from zero to infinity, and the retention time of marker substrate and

reduce the overall clearance and rate of absorption, indicating that the inhibition of the functional activity of the protein transporter at the level of the whole organism. On the 5-day of withdrawal period of gliquidone there was a complete or partial recovery of these pharmacokinetic parameters.

Keywords: gliquidone, P-glycoprotein, ABCB1 protein.

В последнее время все большее значение в фармакокинетике лекарственных веществ придается белкам-транспортерам [10], наиболее клинически значимым из которых является – гликопротеин-P (P-gr, ABCB1 белок, MDR1), что определяется его широкой субстратной специфичностью и локализацией в организме. P-gr осуществляет транспортировку липофильных соединений против градиента концентрации за счет энергии гидролиза АТФ. ABCB1 белок участвует в процессах всасывания, распределения и выделения широкого спектра лекарственных веществ [6, 16]. Многие лекарственные препараты способны модулировать функциональную активность транспортера, что может привести к клинически значимым лекарственным взаимодействиям, поскольку около 50% существующих препаратов являются субстратами или ингибиторами гликопротеина-P [10], причем этот список постоянно пополняется [5, 9]. Так установлено, что субстратами P-gr являются такие противодиабетические препараты как росиглитазон [15] и метформин [11, 15], которые могут быть использованы совместно с производными сульфонилмочевины [1]. Представителем последних является гликвидон – производное сульфонилмочевины II поколения, обладающий панкреатическим и внепанкреатическим эффектами. Гликвидон метаболизируется в печени, главным образом, гидроксилированием и деметилированием, с образованием неактивных метаболитов, он не оказывает ингибирующего или индуцирующего действия на изоферменты системы цитохрома P450 [3]. Ранее нами было установлено, что введение гликвидона курсом 14 дней приводит к ингибированию функциональной активности гликопротеина-P, однако данные о про-

должительности изменений транспортной функции ABCB1 белка, спровоцированных гликвидоном, на сегодняшний день отсутствуют.

Материалы и методы

В качестве тест-системы использовали кроликов, которые являются адекватной трансляционной моделью для изучения активности гликопротеина-P [2]. Эксперимент выполнен на 8 половозрелых кроликах-самцах породы Шиншилла, средней массой 3500-4500 г. Животные имели необходимые ветеринарные свидетельства и содержались в стандартных условиях вивария ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России. Работу с животными осуществляли в соответствии с правилами лабораторной практики (прил. к приказу Минздравсоцразвития РФ № 708н от 23.08. 2010).

Функциональная активность гликопротеина-P изучалась на уровне целостного организма после 14 дней введения гликвидона и на 5 сутки его отмены. Гликвидон (Препарат Глюренорм 30 мг; производитель: Boehringer Ingelheim, Греция) вводили животным внутрижелудочно в дозе 10 мг/кг массы тела [12]. Функциональную активность P-gr определяли по анализу динамики плазменной концентрации фексофенадина, маркерного субстрата данного белка-транспортера. Фексофенадин был выбран в качестве специфического субстрата P-gr, с низкой биодоступностью при пероральном введении, более чувствительного к снижению функциональной активности P-gr в кишечнике, чем пероральный дигоксин [14], который также является одним из маркерных субстратов ABCB1 белка. Фексофенадин (Препарат Телфаст 180 мг; производитель: Aventis Pharma, Италия) вводили однократно внутрижелудочно через зонд в дозе 67,5 мг/кг массы тела животного до и после 14 дневного

введения гликвидона [8]. Пробы крови отбирали в объеме 3-5 мл из краевой вены уха кролика в гепаринизированные пробирки через 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8, 12 и 24 часа после однократного внутривенного введения фексофенадина, центрифугировали 10 минут при 3000 об/мин, плазму хранили при -28°C до анализа [2].

Содержание фексофенадина в плазме крови определяли методом ВЭЖХ на хроматографе «Стайер» (Россия) с ультрафиолетовым детектором и обращенно-фазовой колонкой «Wescman Coulter» 4,6*250 мм, зернением 5 мкм. Экстракцию и хроматографирование маркерного субстрата осуществляли по модифицированному методу Г.В. Раменской. Анализ выполняли при длине волны 220 нм и скорости подвижной фазы 1 мл/мин [7].

Элюирование проводили подвижной фазой следующего состава (из расчета на 200 мл): 133,7 мл бидистиллированной воды, содержащей 2,33 мл ледяной уксусной кислоты и 0,936 мл триэтиламина, доведенной триэтиламином до $\text{pH}=4,3$ и 64 мл ацетонитрила. Время удерживания пика фексофенадина составило 12,31 мин.

В качестве экстрагентов для жидкостной экстракции фексофенадина использовали дихлорметан, этилацетат и диэтиловый эфир. Коэффициент экстракции фексофенадина из плазмы крови составил 64%.

Полученные экспериментальные данные были подвергнуты математико-статистической обработке с использованием офисного пакета «Microsoft Office XP» и программ Statistica 8.0. и IBM SPSS Statistics 20. Характер распределения данных оценивали по критерию Шапиро-Уилка. Для исследования статистической значимости показателей, имеющих нормальное распределение, использовали тест ANOVA повторных измерений. Для оценки статистической значимости показателей, распределение которых отличалось от нормального, использовали критерий Фридмана. Наличие достоверных различий определяли по параметрическому и непараметрическому критерию Ньюмена-Кейлса соответственно. Для

данных, имеющих нормальное распределение, рассчитывали среднее арифметическое значение (Mean) и стандартное отклонение (SD). Для данных, имеющих распределение отличное от нормального, рассчитывали медиану (Median), верхний и нижний квартили (lq ; uq) [4].

Фармакокинетические параметры фексофенадина рассчитывали при помощи программы «Kinetica 5.0». Изучаемые показатели фармакокинетики и полученные данные представлены в таблице 1.

Результаты и их обсуждение

При введении гликвидона в дозе 10 мг/кг массы курсом 14 дней по сравнению с исходными значениями выявлены следующие изменения фармакокинетики маркерного субстрата Р-гр – фексофенадина (табл. 1): после 14 дней введения наблюдалось достоверное увеличение медиан значений C_{max} на $\uparrow 772,7\%$ ($p < 0,05$), медиан значений $T_{1/2}$ на $\uparrow 1913,49\%$ ($p < 0,05$), средних значений AUC_{0-t} на $\uparrow 2548,22\%$ ($p < 0,01$), увеличение медиан значений $AUC_{0-\infty}$ на $\uparrow 7000,7\%$ ($p < 0,05$), медиан значений MRT на $\uparrow 1226,27\%$ ($p < 0,05$), снижение средних значений Cl на $\downarrow 98,94\%$ ($p < 0,05$), медиан значений C_{max}/AUC_{0-t} на $\downarrow 92,5$ ($p < 0,01$), и средних значений $C_{\text{max}}/AUC_{0-\infty}$ на $\downarrow 73,08\%$ ($p < 0,05$). Статистически значимые изменения по сравнению с исходными значениями на 5-й день отмены наблюдались только для средних значений Cl и $C_{\text{max}}/AUC_{0-\infty}$, которые, несмотря на тенденцию к восстановлению, оставались снижены на $\downarrow 72,68\%$ ($p < 0,05$) и $\downarrow 57,69\%$ ($p < 0,05$), соответственно. Указанные изменения свидетельствуют об увеличении концентрации фексофенадина в крови за счет увеличения абсорбции и замедления выведения маркерного субстрата. В соответствии с рекомендациями FDA ингибитором Р-гр признаются вещества, увеличивающие AUC фексофенадина более чем на 25% [13], что может служить доказательством ингибирующего влияния гликвидона на функциональную активность Р-гр. При этом на 5-й день отмены изучаемого препарата наблюдалась явная тен-

денция к восстановлению исходной транспортной функции ABCB1 белка. Таким образом, можно сделать вывод, что изменения функциональной активно-

сти ABCB1 белка, наблюдаемые после 14 дней введения гликвидона, частично сохраняются в периоде последствия до 5 дней с тенденцией к восстановлению.

Таблица 1

Фармакокинетические параметры фексофенадина

Изучаемые параметры	Исходные значения (n=8)	Значения после 14 дней введения гликвидона (n=8)	Значения на 5 день отмены гликвидона (n=8)
Максимальная концентрация (C _{max} , нг/мл)	206,8 (130,47; 249,87)	1804,77 (1544,09; 1981,07)*	319,88 (286,71; 379,5)
Время достижения максимальной концентрации (T _{max} , ч)	3 (3; 4)	5,5 (3; 6)	3 (3; 5)
Период полувыведения (T _{1/2} , ч)	2,15 (1,76; 6,05)	43,29 (20,73; 57,42)*	16,05 (8,52; 33,47)
Площадь под фармакокинетической кривой (0-t) (AUC _{0-t} , (нг/мл)×ч)	959,57 ±543,04	25411,53 ±6837,36*	3178,87 ±798,045**
Площадь под фармакокинетической кривой (0-∞) (AUC _{0-∞} , (нг/мл)×ч)	1102,13 (470,22; 1515,3)	78258,85 (47982,8; 146118,5)*	4668,09 (4013,53; 9349,2)
Общий клиренс (Cl, л/ч)	96,64±59,68	1,02±0,74*	26,4±21,43*
Коэффициент абсорбции (C _{max} /AUC _{0-t} , 1/ч)	0,2 (0,14; 0,35)	0,015 (0,01; 0,04)*	0,069 (0,033; 0,088)
Коэффициент абсорбции (C _{max} /AUC _{0-∞} , 1/ч)	0,26±0,11	0,07±0,02*	0,11±0,045*
Время удерживания (MRT, ч)	4,91 (4,44; 9,94)	65,12 (32,35; 86,25)*	24,78 (19,25; 49,42)

*- уровень значимости <0,05 (p<0,05) по сравнению с исходными значениями,

** - уровень значимости <0,05 (p<0,05) по сравнению со значениями после 14 дней введения.

Выводы

Внутрижелудочное введение кроликам гликвидона в дозе 10 мг/кг массы тела в течение 14 дней вызывает ингибирование функциональной активности гликопротеина-P, определяемой по фармакокинетике маркерного субстрата – фексофенадина, с четко выраженной тенденцией к восстановлению исходных значений на 5-й день отмены препарата.

Литература

1. Алгоритм специализированной медицинской помощи больным сахарным диабетом / под ред. И.И. Дедова, Г.А. Мельниченко. – М., 2013. – Вып. 6. – 120 с.
2. Влияние тироксина на функциональную активность гликопротеина-P в эксперименте / А.С. Бирюкова [и др.] //

Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2011. – №4. – С. 49-53.

3. Заявка 2015147617 Рос. Федерация, МПК⁷ А 61 К 31/132 А 61 К 31/133, А 61 К 31/137 А 61 К 31/145 А 61 К 31/166 А 61 К 31/40. Способ моделирования состояния ингибирования функциональной активности гликопротеина-P гликвидоном / Е.Н. Якушева, Д.С. Титов; Ряз. гос. мед. ун-т им. акад. И.П. Павлова. – Заявл. 5.11.2015 Входящий № 073317.

4. Ильичева А.С. Характеристика продуктов окислительного повреждения белков миокарда на фоне гипергомоцистеинемии / А.С. Ильичева, М.А. Фомина, Д.В. Медведев // Наука молодых (Eruditio Juvenium). – 2014. – №4. – С. 37-43.

5. Половые различия функциональной активности и экспрессии гликопротеина-P у кроликов / Е.Н. Якушева [и др.] // Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова. – 2014. – Т. 100, №8. – С. 944-952.
6. Якушева Е.Н. Характеристика гликопротеина-P как белка-транспортера лекарственных веществ / Е.Н. Якушева, И.В. Черных, А.С. Бирюкова // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2011. – №3. – С. 142-148.
7. Якушева Е.Н. Дозозависимое влияние тироксина на функциональную активность гликопротеина-P в эксперименте / Е.Н. Якушева, А.В. Щулькин, А.С. Бирюкова // Биомедицина. – 2012. – №2. – С. 53-60.
8. Якушева Е.Н. Влияние экспериментальной подострой гипобарической гипоксической гипоксии на функциональную активность гликопротеина-P / Е.Н. Якушева, И.В. Черных // Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2013. – №1. – С. 60-64.
9. Якушева Е.Н. Оценка принадлежности мексидола к субстратам, ингибиторам или индукторам гликопротеина-P / Е.Н. Якушева, А.В. Щулькин, И.В. Черных // Эксперим. и клинич. фармакология. – 2015. – №3. – С. 79-83.
10. Ayrton A. Role of transport proteins in drug discovery and development: a pharmaceutical perspective / A. Ayrton, P. Morgan // Xenobiotica. – 2008. – Vol. 38, № 7-8. – P. 676-708.
11. Changes in metformin pharmacokinetics after intravenous and oral administration to rats with short-term and long-term diabetes induced by streptozotocin / Y.H. Choi [et al.] // Journal of pharmaceutical sciences. – 2008. – Vol. 97, №12. – P. 5363-5375.
12. Effect of gliquidone on insulin binding to rabbit erythrocytes / M. de Gasparo [et al.] // The Journal of endocrinology. – 1983. – Vol. 97, №1. – P. 97-103.
13. Guidance for Industry Drug Interaction Studies – Study Design, Data Analysis, Implications for Dosing, and Labeling Recommendations / U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). – 2012. – 75 p.
14. Guideline on the investigation of bioequivalence / European Medicines Agency. – 2010. – 60 p.
15. Role of human placental apical membrane transporters in the efflux of glyburide, rosiglitazone, and metformin / S.J. Hemauer [et al.] // American journal of obstetrics and gynecology. – 2010. – Vol. 202, №4. – P. 383.e1–387.e7.
16. Zhou S.F. Structure, function and regulation of P-glycoprotein and its clinical relevance in drug disposition / S.F. Zhou // Xenobiotica. – 2008. – Vol. 38, №7-8. – P. 802-832.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Титов Дмитрий Сергеевич – аспирант кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань.
E-mail: i3762@yandex.ru

Правкин Сергей Константинович – к.м.н., ст. преп. кафедры фармакологии с курсом фармации ФДПО ГБОУ ВПО РязГМУ Минздрава России, г. Рязань.
E-mail: farm_nauka_2015@mail.ru