

**М.Я. Головенко, академік АМН України, д.б.н., професор,
Н.В. Шнейдер, інженер В.Б.Ларіонов, к.б.н.**

КІНЕТИКА РОЗПОДІЛУ ТА ЕЛІМІНАЦІЇ ДИФЕНІЛУ

Фізико-хімічний інститут ім. О.В.Богатського НАН України, м. Одеса

Дифеніл за хімічною будовою є здвоєним фенільним радикалом, нерозчинним у воді. Сполука гальмує ріст грибів, тому використовується під час транспортування цитрусових. Дифеніл відноситься до середньотоксичних речовин та спроможний розпадатись до малотоксичних метаболітів. Також він використовується як прекурсор у синтезі поліхлорированих дифенілів, що в свою чергу, можуть бути емульгаторами, інсектицидами та барвниками [1].

Широке використання знайшов дифеніл у фармацевтичній хімії [2-4] як синтон для синтезу таких лікарських засобів як лозартан, вальсартан (блокатори рецепторів ангіотензину II, HT_1 -рецепторів) та флурбінофену (нестероїдний протизапальний засіб). Виходячи з того, що ці препарати мають низьку розчинність у воді, їх біодоступність в організмі може сягати не більше 10-20 %. Більше того, вважається, що ці лікарські засоби всмоктуються в лімфатичну систему, а не в кровеносну. Тому, власне, як і дифеніл можуть бути маркерами вивчення деяких механізмів процесу абсорбції.

Отже, метою роботи було вивчення фармакокінетики дифенілу в організмі мишей.

Матеріали та методи

Для проведення досліджень було використано $4\text{-}^3\text{H}$ -дифеніл. Фармакокінетичні дослідження було проведено на нелінійних мишах-самцях масою 20-25 г. Експериментальних тварин втримували на повноцінній лабораторній дієті при природному світловому циклі. Для вивчення процесу розподілу дифенілу по органах та тканинах тваринам одноразово перорально вводили $4\text{-}^3\text{H}$ -біфеніл у дозі 100 мг/кг (0,65 ммоль/кг, у твиновій емульсії). Через 0,25, 0,5; 1; 2; 4; 6, 8 год, тварин

піддавали хлороформному наркозу, декапітували, відбирали зразки органів (печінка, нирки, селезінка, серцеві м'язи, жирова та м'язові тканини, легені та головний мозок). Потім визначали вміст радіоактивних продуктів у гомогенаті (аліквота $0,4\text{ см}^3$ у фізіологічному розчині NaCl (0,9%) у співвідношенні 1:4, або гідролізату мурашиною кислотою, $1\text{-}2\text{ см}^3$) на рідинному сцинтиляційному лічильнику TRI-CARB

сцинтилятору Брея на рідинному сцинтиляційному фотометрі. Статистична обробка результатів була проведена за допомогою програми Microsoft Excel.

Результати дослідження та їх обговорення

Використання тестів ADME [5] дозволило сформувати схему дослідження для з'ясування фармакокінетики дифенілу: вивчення процесів розподілу, всмоктування та екскреції дифенілу.

Розподіл дифенілу в організмі мишей

Помітно (рис.1, табл. 1), що після перорального введення дифенілу він досить швидко розподіляється у внутрішніх органах та тканинах. Незважаючи на високу ліпофільність речовини, її рівень у таких тканинах, як жирова або головний мозок не є високим і подібний до концентраційного профілю вмісту дифенілу у печінці,

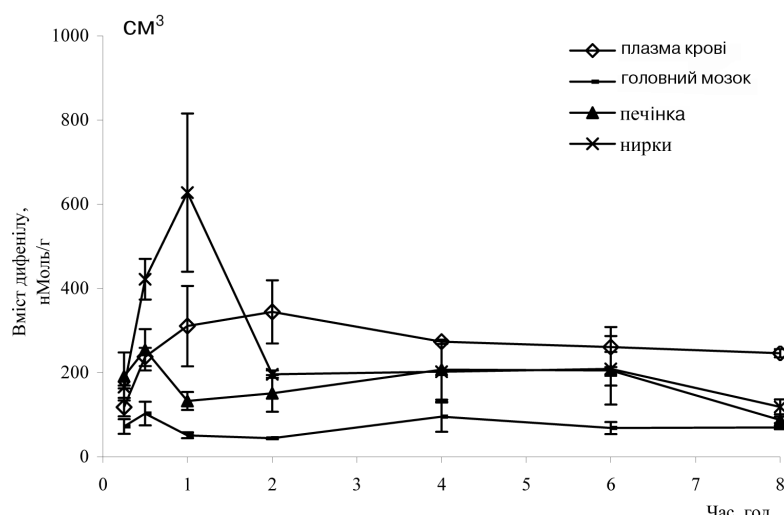


Рис. 1. Вміст $4\text{-}^3\text{H}$ -дифенілу (нмоль/г) у головному мозку, плазмі крові, печінці та нирках мишей після його перорального введення (0,65 ммоль/кг)

2700 TR (Canberra-Packard, USA). Радіоактивний матеріал у плазмі крові ($0,2\text{ см}^3$) визначали після попереднього центрифугування (4 тис. об/хв) та відбору рідкої частини центрифугату. При вивченні екскреції тваринам одноразово перорально була введена сполука у дозі 100 мг/кг. Щодобово відбирали зразки сечі та калу, визначали їх об'єм (для сечі) або масу (для калу після попереднього висушування при $60\text{ }^{\circ}\text{C}$). Вміст в екскретах визначали після їх гідролітичного розщеплення мурашиною кислотою (1 см^3), додаванням $0,5\text{ см}^3$ Тритону X-100 та 10 см^3

м'язовій тканині або серці. Абсорбцію дифенілу до лімфатичної системи [6] можна пояснити його повільним надходженням до крові, яка є центральним кінетичним відсіком та виконує транспортну функцію між внутрішніми органами, що призводить до відносно рівномірної зміни концентрації дифенілу. Навпаки, у нирках спостерігаються значні коливання вмісту радіоактивної речовини, що зумовлене їх екскреторною функцією, а у легенях значний вміст речовини (та її експоненційне зниження) є наслідком високої васкуляризації

Таблиця 1

Вміст 4-³H-дифенілу (нмоль/г) у внутрішніх органах та тканинах мишей після його перорального введення (0,65 ммоль/кг)

Термін, (год)	Внутрішні органи та тканини					
	Нирки	Селезінка	Серце	Жирова тканина	М'язова тканина	Легені
0,25	166±3	50±5	91±16	179±11	101±15	227±54
0,56	422±48	596±108	111±39	56±8	153±4	160±15
1	628±188	87±5	94±21	181±28	81±9	128±8
2	197±9	74±2	112±30	209±27	119±22	122 ±7
4	202±73	148±37	109±1	479±42	182 ±39	77±14
6	209±40	58±11	91±14	73±25	226±26	110±16
8	119±18	38±6	71±6	27±0,1	72±14	76± 7

цього органу. Разом з цим, досить стабільний профіль концентрації радіоактивної речовини у більшості органів та тканин свідчить про рівну ефективність процесів надходження до них дифенілу та його елімінації.

Кількісною характеристикою ефективності процесів масопереносу у певний момент часу є співвідношення концентрацій експериментальної речовини у певному органі у порівнянні з її вмістом у плазмі крові. Розподіл дифенілу між головним мозком (який відокремлений від системного кровообігу гематоенцефалічним бар'єром) і плазмою крові має найменші коливання (табл. 2). У той же час коливання у печінці та нирках сягають достатньо значних величин (у 2-3 рази вище за плазму крові) у перші години експе-

рименту, тоді як встановлення рівноваги масопереносу у системі "орган-плазма крові" (у період 2-8 год після введення дифенілу) характеризується однаковим зниженням цього показника в обох органах та свідчить про паралельність процесів його біотрансформації (вміст у печінці) та елімінації (вміст у нирках) з організму. А от визначення константи розподілу іншими методами [7] дає дещо інші значення, що обумовлено різною чутливістю даних методів до вихідних параметрів. Так, метод співвідношення загальних площ під кривими для головного мозку дає збільшене значення константи міжтканинного розподілу завдяки значному вкладу термінальної концентрації (зростання якої обумовлене накопиченням

метаболітів дифенілу). У той же час органи, що беруть участь у елімінації речовини з організму (печінка та нирки), характеризуються швидким відновленням рівноваги між утворенням та виведенням метаболітів. Тому термінальна концентрація радіоактивності в них має менший внесок у загальний параметр величини константи розподілу. Комбінований метод визначення константи міжтканинного розподілу використовує зростання фактичної площі під фармакокінетичною кривою та, у випадку головного мозку, більш чітко відображає загальний процес масопереносу між цим органом та кров'ю (табл. 2).

Наявність процесу всмоктування при пероральному введенні дифенілу обумовлює використання

Таблиця 2

Визначення співвідношення концентрацій дифенілу в деяких органах та плазмі крові мишей протягом терміну спостереження різними методами

Термін, (год)	Співвідношення концентрацій		
	Головний мозок	Печінка	Нирки
0,25	0,61±0,19	1,61±0,58	1,40±0,28
0,5	0,43±0,13	1,07±0,24	1,78±0,30
1	0,17±0,06	0,43±0,15	2,02 ±0,88
2	0,13±0,03	0,44±0,16	0,57 ±0,13
4	0,35±0,13	0,76±0,27	0,74 ±0,27
6	0,26±0,08	0,79±0,35	0,80 ±0,22
8	0,29±0,03	0,36±0,04	0,48±0,08
Середнє	0,24±0,07	0,55±0,21	0,65±0,19
Співвідношення площ під кривими			
	0,54±0,04	0,13±0,04	0,19±0,01
Комбінований метод			
	0,19±0,04	0,16±0,02	1,38±0,46

Основні кінетичні параметри дифенілу в організмі мишей, визначені позамоделним методом

Параметр	Плазма крові	Головний мозок
Площа під кривою, $AUC_{заг}, \text{нмоль/см}^3 \cdot \text{год}$	11593 ± 2282	6431 ± 1718
Площа під кривою, $AUMC_{заг}, \text{нмоль} \cdot \text{см}^3 \cdot \text{год}^2$	443328 ± 87081	539301 ± 143936
Середній час утримання, MRT, год	38 ± 11	84 ± 32
Константа елімінації $k_{el}, \text{год}^{-1}$	$0,026 \pm 0,007$	$0,012 \pm 0,005$
Загальний кліренс $Cl_{заг}, \text{см}^3/\text{год} \cdot \text{кг}$	$1,02 \pm 0,10$	$1,84 \pm 0,18$

Таблиця 4

Параметри кінетики екскреції $4\text{-}^3\text{H}$ -дифенілу з організму мишей із сечею, калом та обома шляхами після його перорального введення

Шлях виведення	Загальна кількість речовини, що вивелась (у % від дози)	Константа екскреції, k_{ex}
Сеча	$34,1 \pm 0,7$	$0,043 \pm 0,002$
Кал	$2,3 \pm 0,1$	$0,076 \pm 0,009$
Сеча + кал	$36,4 \pm 0,9$	$0,041 \pm 0,004$

позамоделного методу визначення загальних фармакокінетичних параметрів (табл. 3). За наведеними даними головний мозок та плазма крові можуть бути віднесені до одного відсіку кінетичної схеми за близькими значеннями як повної площі під фармакокінетичними кривими (що є мірою кількості речовини в органі або тканині), так й загального кліренсу, що відображає здатність до елімінації речовини. Слід зазначити, що виведення дифенілу є досить повільним процесом, на що вказує не тільки низьке значення загального кліренсу ($1,02 \pm 0,1$ та $1,84 \pm 0,18 \text{ см}^3/\text{год} \cdot \text{кг}$ для плазми крові та головного мозку відповідно), але й мала константа елімінації ($0,026 \pm 0,007$ та $0,012 \pm 0,005 \text{ год}^{-1}$ відповідно), яка обумовлює високий середній час утримання MRT — від 38 до 84 годин, внаслідок високої ліпофільності дифенілу та відсутності у молекулі центрів та зв'язків, які здатні піддаватись дії ензимів та утворювати більш гідрофільні метаболіти. Також характерним є те, що величина константи елімінації, що визначена методом статистичних моментів з MRT співпадає із значенням, визначеним, як нахил термінальної частини фармакокінетичної кривої у

напівлогарифмічних координатах, тобто, процес всмоктування дифенілу із шлунка проходить швидко та повно.

Екскреція дифенілу з організму мишей після його перорального введення

У випадку перорального введення речовини виведення її з організму може бути здійснене двома шляхами (окремо або разом) — із сечею (ренально) або з калом за рахунок транзиту частини речовини, що не встигла всмоктатись у ШКТ, або використовуючи біліарний (із жовчу) шлях надходження до порожнини кишків [8].

Виведення дифенілу та його метаболітів з організму мишей повністю завершується в період 0–48 годин після його перорального введення. Також помітно, що основним шляхом введення є ренальний, тоді як з калом виводиться лише незначна кількість речовини. Швидка фаза виведення дифенілу із сечею (до 24 годин) співпадає із завершенням всмоктування сполуки у ШКТ та протягом наступних 24 годин (24–48) екскретується та його кількість, що розподілилась в організмі. Повільна фаза виведення дифенілу з організму триває протягом останніх 2 діб та характеризується малою

швидкістю процесу.

Оскільки відбір екскретів проводився через рівні проміжки часу, аналіз кінетики екскреції дифенілу з організму мишей було зручно проводити за методом Мангельсдорфа [9–11]. Величина константи екскреції дифенілу з організму, яку визначено за цим методом, є дещо більшою, ніж при застосуванні традиційних фармакокінетичних підходів (табл. 4). Вищезазначене може бути наслідком сумачії всіх процесів елімінації в організмі та виведення із сечею (або частково — з калом) не тільки вільного дифенілу, але й його метаболітів, що мають меншу ліпофільність, отже, швидше виводяться з організму. Оцінка максимальної кількості речовини, що виводиться певним шляхом, доводить, що ренальний шлях виведення дифенілу з організму є переважним (з сечею екскретується $34,1 \pm 0,7$ % від дози сполуки, що була введена), тоді як з калом виводиться лише близько 2 % від введеної дози.

Висновки

Дифеніл повністю всмоктується з шлунково-кишкового тракту та майже рівномірно розподіляється у внутрішніх органах та тканинах. Висока його концентрація спостерігається у нирках протягом всього часу експерименту. Співвідношення концентрацій його у головному мозку та плазмі крові є досить стабільним внаслідок функціонування гемато-енцефалічного бар'єру, але ці об'єкти можуть бути віднесені до одного відсіку кінетичної схеми.

Екскреція дифенілу та його метаболітів з організму мишей здійснюється переважно ренальним шляхом.

ЛИТЕРАТУРА

1. Library of biphenile privileged structures using a safety-catch linker approach / R. Severinsen, G. Bourne, M. Ankersen [et al.] // *J.Comb.Chem.*, 2008. — V.10, №4. — P.557 — 566.
2. Effects of losartan therapy on endothelial function in hypertensive patients / B. Sosa-Canache, R. Hernandez, M.C. Armas-Padilla [et al.] // *Am.J.Ther.* — V.2. — P.166 — 171.
3. Pharmacological profile of valsartan: a potent, orally active, nonpeptide antagonist of the angiotensin II AT1-receptor subtype / L. Griscione, M. de Gasparo, P. Buhlmayer [et al.] // *Br.J.Pharmacol.*, 1993. — V.110, № 2. — P.761 — 771.
4. Selected Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs and Their Derivatives Target γ -Secretase at a Novel Site / D. Beher, E. Clarke, J. Wrigley [et al.] // *J.Biol.Chem.*, 2004. — V. 279, № 42. — P.43419 — 43426.
5. Головенко М.Я. Тести ADME в загальній системі створення інноваційних лікарських засобів та розробки їх генеричних аналогів / М.Я. Головенко, І.Ю. Борисюк, В.Б. Ларіонов // *Вісник фармакології та фармації*. — 2008. — № 10. — С. 14-24.
6. Charman W. Estimating the maximal potential for intestinal lymphatic transport of lipophilic drug molecules/ W. Charman, V. Stella // *Int.J.Pharm.*, 1986. — V.34. — P.175 — 178.
7. Ларіонов В.Б. Порівняльна характеристика міжтканинних констант розподілу етанолу та його метаболітів, що визначені методами асимптотичного наближення, площ під фармакокінетичними кривими та їх комбінації/В.Б. Ларіонов // *Досягнення біології та медицини*. — 2009. — №1. — С. 55 — 59.
8. Головенко Н.Я. Физико-химическая фармакология/Н.Я. Головенко — Одесса: Астропринт, 2004.—720 с.
9. Соловьев В.Н. Фармакокінетика / В.Н. Соловьев, А.А. Фирсов, В.А. Філов. — М.: Медицина, 1980. — 421 с.
10. Березин В.И. Практический курс химической и ферментативной кинетики / В.И. Березин, А.П. Комсов — М.:Изд-во Моск.унив., 1978. — 168 с.
11. Сравнительное изучение метаболитов феназепама при его однократном и многократном введении белым крысам / Н.Я. Головенко, В.Г. Зиньковский, А.В. Богатский [и др.] / *Хим.фарм.журн.*, 19789. — т.13, № 1. — С. 21 — 26.

Н.Я. Головенко, Н.В. Шнейдер, В.Б. Ларіонов

КИНЕТИКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ И ЭЛИМИНАЦИИ ДИФЕНИЛА

В работе проведен анализ данных фармакокинетики распределения, всасывания и экскреции дифенила из организма мышей при его пероральном введении. Соотношение концентраций в плазме крови и головном мозге носит стабильный характер вследствие функционирования гемато-энцефалического барьера. Экскреция дифенила и его метаболитов из организма мышей осуществляется преимущественно ренальным путем.

Ключевые слова: дифенил, распределение, экскреция

N.Ya. Golovenko, N.V.Shneider, V.B. Larionov

KINETICS OF BIPHENYL DISTRIBUTION AND ELIMINATION

The work is dedicated to the analysis of distribution and excretion pharmacokinetics data analysis of biphenyl in mice after oral administration. The brain/serum ration remains stable due to blood-brain barrier functioning. The excretion route of biphenyl and its metabolites is renal.

Key words: biphenyl, distribution, excretion