

Исследование биодоступности салидрозида и розавина – активных компонентов экстракта *Rhodiola rosea*-SHR -5 у крыс

А.Г.Абрамян, А.С.Оганесян, А.Г.Паносян, Э.С.Габриэлян

Экспертно-аналитическая лаборатория Научного центра по экспертизе лекарств и медицинских технологий АОЗТ

375051 Ереван, ул. Комитаса, 49/4

Ключевые слова: Родиола розовая, фармакокинетика, высокоэффективный капиллярный электрофорез

Родиола розовая или Золотой корень (*Rhodiola rosea* L.) – один из широко используемых растительных адаптогенов, экстракты корней которого обладают антистрессорным, тонизирующим, стимулирующим, кардиопротекторным и антиаритмическим действием [4–10]. Известно, что препараты, изготовленные из экстракта корней *Rhodiola rosea*, увеличивают работоспособность при статической и динамической нагрузке и стимулируют умственную деятельность [15–17]. В настоящее время химический состав и фармакологическая активность основных компонентов *Rhodiola rosea* достаточно хорошо изучены и установлено, что активными компонентами ее являются, в частности, фенольные гликозиды – салидрозид и розавин [3–12, 15–17].

Известно, что для оценки вклада отдельных компонентов в суммарный эффект лекарственных растений необходимо, в первую очередь, исследовать их фармакокинетику и особенно биодоступность после однократного и многократного введения [14]. Однако несмотря на наличие многочисленных работ по исследованию фармакологических свойств активных компонентов экстракта корней *Rhodiola rosea* их фармакокинетика и биодоступность до сих пор не изучены.

Цель настоящей работы – исследовать фармакокинетику и биодоступность розавина и салидрозида у крыс после однократного и многократного перорального введения экстракта корней *Rhodiola rosea*.

Материал и методы

Исследовали экстракт корней *Rhodiola rosea* L. roots (special Extract SHR-5 spissum, batch No EX 20465), предоставленный шведским институтом лекарственных растений, стандартизированный по розавину (20 ± 3 мг/г) и салидрозиду (10 ± 2 мг/г).

В работе были использованы следующие стандарты и реактивы: стандарты розавина и салидрозида

(ВИЛАР, Москва, РФ, серия S10402), метанол (Rotisolv ® HPLC Gradient Grade, Carl Roth GmbH), ацетон (HPLC grade Carl Roth GmbH, Art. No. 7328.2), боратный буфер pH=9.3, деионизированная вода, раствор 0.1N NaOH (HEWLETT-PACKARD for HPCE), гепарин (Heparin Lock Flush Solution, 500 USP heparin units/5ml, Corpuject®, USA). Исходными стандартными растворами исследуемых соединений служили растворы их стандартов в метаноле в концентрации 5 мг/мл.

В эксперименте были использованы 258 белых беспородных крыс-самцов массой 110–170 г. Животные содержались в стандартных условиях и получали одинаковую пищу.

В исследованиях использовали две дозы экстракта корней *Rhodiola rosea*: 20 мг/кг, которая обеспечивает максимальный антиаритмический и антистрессорный эффекты у крыс и 50 мг/кг, эквивалентная суточной человеческой дозе (25 капель экстракта) [4]. С целью приготовления растворов для введения взвешивали 2.5 г экстракта Родиолы розовой (PP), переносили в мерную колбу и растворяли в 50 мл воды. Раствор тщательно перемешивали, 10 мл раствора переносили в мерную колбу на 100 мл и доводили водой объем до метки. Животным вводили раствор PP утром в 9.00 натошак в соответствии с их массой. Как видно из табл.1, животные получали препарат однократно: внутривенно в хвостовую вену в дозе 20 мг/кг и перорально с помощью зонда в дозе 20 и 50 мг/кг и многократно: перорально один раз в день в дозах 50 и 20 мг/кг. Отбор проб крови проводился согласно схеме, приведенной в табл. 1.

Концентрация розавина и салидрозида в вводимом растворе составляла 97,52 и 57,618 мг/мл соответственно.

Пробы крови отбирали в гепаринизированные пробирки после декапитации животных. Плазму крови отделяли после центрифугирования при 2000 x g в течение 10 мин. Для каждого временного интервала

Таблица 1

Схема проведения эксперимента по изучению фармакокинетики экстракта РР

Группа No	Колич. животных в группе	Средний вес животных, г	Кратность введения	Доза РР, мг/кг	Путь введения	Вводимый объем, мл/кг	Доза салидрозида, мг/мл/кг	Доза розавина, мг/мл/кг	Время отбора крови после последнего введения препарата, ч
1	54	112	20	однокр.	в/в	2	0.230	0.390	0; 0.06; 0.33; 0.5; 0.75; 1.0; 1.5; 2.0; 3.0
2	54	137	20	однокр.	10	10	0.230	0.390	0; 0.5; 1.0; 1.25; 1.5; 2.0; 4.0; 5.0; 6.0
3	54	120	50	однокр.	10	10	0.576	0.975	0; 0.5; 1.0; 1.25; 1.5; 2.0; 4.0; 6.0; 8.0
4	48	157	20	многок.*	10	10	0.230	0.390	0; 0.5; 1.0; 1.25; 1.5; 2.0; 4.0; 6.0;
5	42	145	50	многок.*	10	10	0.576	0.975	0; 1.0; 1.5; 2.0; 4.0; 5.0;

* животные получали препарат один раз в день в течение 5 дней

использовали 6 крыс.

С целью подготовки проб плазмы крови для анализа к 1.5 мл плазмы крови добавляли 1.5 мл ацетона, встряхивали на вибрационном встряхивателе, к смеси снова добавляли 5 мл ацетона и повторно встряхивали. Полученную смесь центрифугировали при 3000 x g в течение 15 мин. Безбелковый супернатант отделяли, упаривали досуха на ротационном испарителе при 40° С. Остаток растворяли в 100 мкл метанола и проводили количественное определение розавина и салидрозида валидированным методом высокоэффективного капиллярного электрофореза, описанным нами ранее [1]. Валидация метода была проведена согласно требованиям ICH Q2A/CPMP/281/95 и ICH Q2B/CPMP/281/95. В частности, точность определения салидрозида и розавина в плазме крови составляла 98%, предел количественного определения в плазме – 100 нг/мл. Калибровочные графики для розавина и салидрозида сохраняли линейность в диапазоне концентраций в плазме от 100 до 1000 нг/мл. Коэффициент корреляции для обоих соединений был выше 0.9985, причем стандартное отклонение было незначительным – менее 0.022.

Фармакокинетические параметры определяли с помощью компьютерной графической программы TOPFIT, версия 1.1 (Godke/Schering/Thomae GmbH, 1991г). Рассчитывали следующие параметры: константу скорости всасывания (K_a , ч⁻¹), максимальную концентрацию (C_{max} , нг/мл), кажущийся объем распределе-

ния (V_{dss} , л), общий клиренс (Cl , мл/мин), площадь под фармакокинетической кривой ($AUC_{0-\infty}$, нг·ч/мл), скорость перехода из крови в органы и ткани и обратно (K_{12} и K_{21} , ч⁻¹), период полувыведения ($t_{1/2}$, ч), среднее время удерживания (MRT , ч), абсолютную биодоступность (F , %).

Статистический анализ проводили с помощью программы GraphPad Prism Software (версия 3.0; 2002г).

Результаты и обсуждение

Салидрозид. Установлено, что после внутривенного введения экстракта концентрация салидрозида резко снижается в течение первых 0.5 ч от начальных 920 до 367 нг/мл, затем постепенно уменьшается и через 2 часа его уровень в крови составляет менее 100 нг/мл. После перорального введения концентрация салидрозида в плазме крови крыс достигает максимума через 1 ч как после введения дозы 20 мг/кг, так и 50 мг/кг и составляет 400.4 и 699.9 нг/мл соответственно. В обоих случаях в интервале 1–2 ч уровень салидрозида резко снижается, а затем экспоненциально уменьшается. Через 6 ч концентрация салидрозида в плазме составляет 140 и 160 нг/мл для доз 20 и 50 мг/кг соответственно (рис.1).

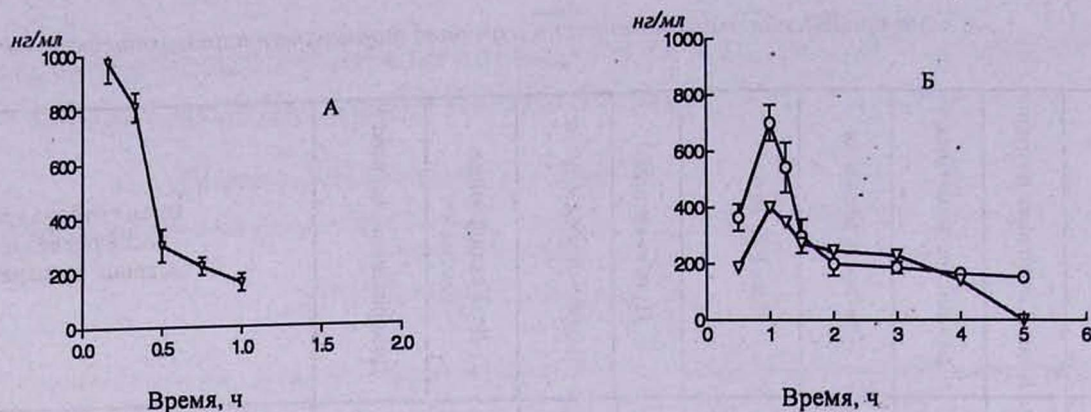


Рис. 1. Изменение концентрации салидрозида в плазме крови крыс после внутривенного (А) и перорального (Б) введения экстракта РР в дозах 20 (- ▽ -) и 50 мг/кг (-о-), $n=6$

Анализ полученного графика с помощью программ TORFIT и AS [2] показал, что изменение концентрации салидрозида происходит согласно двухфазовой модели. Анализ фармакокинетических параметров, приведенных в табл. 2, позволяет заключить, что после введения внутрь экстракта РР в дозах 20 и 50 мг/кг салидрозид быстро и практически полностью всасывается в системный кровоток (K_a – 0.7-2.0 h^{-1} , F – 78-93 %). Соединение быстро проникает в органы и ткани крыс и относительно медленно поступает обратно в кровь ($K_{12}/K_{21} > 2$). Как видно из табл. 2, фармакокинетика салидрозида после однократного и многократного введения имеет сходный характер, а в вели-

чинах фармакокинетических параметров салидрозида после однократного и многократного введения не отмечено статистически достоверных различий. Необходимо отметить также, что теоретически рассчитанная средняя равновесная максимальная концентрация салидрозида после 5-го введения экстракта РР незначительно отличается от данных, полученных экспериментальным путем. Несмотря на то, что скорость всасывания салидрозида может изменяться при использовании разных доз экстракта РР, величина его биодоступности остается постоянной независимо от кратности дозировки (табл.2).

Таблица 2

Сравнение фармакокинетических параметров салидрозида после однократного и многократного введения внутрь экстракта РР

Параметры	Путь введения				
	однократно внутривенно	однократно внутрь		многократно внутрь после 5-го введения	
Доза, мг/кг	20	20	50	20	50
K_a , $ч^{-1}$	—	2.058±0.058	0.947±0.07	0.734±0.136	1.699±0.184
C_{max} , нг/мл	974.476±27.396	400.362±8.026	699.985±26.123	472.399±8.878	545.546±8.430
V_{dss} , л	0.087±0.020	0.023±0.001	0.025±0.006	0.040±0.002	0.059±0.012
$AUC_{0-\infty}$, нг × ч/мл	809.101±26.38	1121.606±26.98	1703.685±33.51	1013.000±23.11	2114.781±61.09
K_{12} , $ч^{-1}$	0.738±0.316	4.776±0.769	1.446±0.267	0.582±0.200	1.301±0.0335
K_{21} , $ч^{-1}$	1.493±0.265	0.715±0.022	0.392±0.088	0.185±0.024	0.661±0.160
Cl_t , мл/мин	1.681±0.084	0.562±0.065	0.531±0.011	0.350±0.008	0.536±0.017
$t_{1/2}$, ч	0.569±0.04	3.568±0.178	4.449±0.639	5.589±0.516	3.481±0.347
MRT, ч	0.805±0.05	5.752±0.472	6.421±0.922	8.446±0.978	5.025±0.050
F , %	100	93.110±5.189	78.375±4.056	89.478±2.868	82.043±8.161
C_{max}^{ss} , нг/мл	—	458.238	607.846	472.399± 21.750	545.546± 30.600

Розавин. В течение первых 0.5 ч после внутривенного введения концентрация розавина резко снижается от 775 до 274 нг/мл, и уже через 1 ч в крови практически не удается определить неизмененный розавин. После введения внутрь максимальная концентрация

розавина в плазме достигается через 1 ч после введения экстракта РР. В дальнейшем уровень соединения независимо от введенной дозы резко снижается и уже через 2 ч уменьшается до количеств ниже предела детектирования метода (100 нг/мл) (рис. 2).

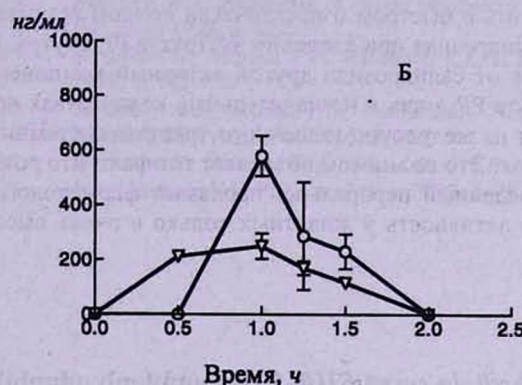
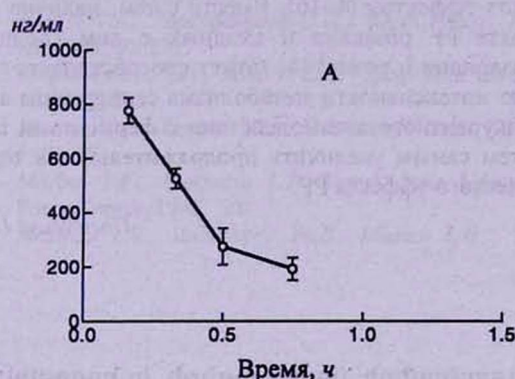


Рис. 2. Изменение концентрации розавина в плазме крови крыс после внутривенного (А) и перорального (Б) введения экстракта РР в дозах 20 (— ▽ —) и 50 мг/кг (— ○ —), $n=6$

Таблица 3

Сравнение фармакокинетических параметров розавина после однократного и многократного введения экстракта РР

Параметры	Путь введения			
	однократно внутривенно	однократно внутрь	однократно внутрь	многократно внутрь
Доза РР, мг/кг	20	20	50	50
K_a , ч ⁻¹	—	0.489±0.017	1.935±0.438	—
C_{max} , нг/мл	525.328±15.146	249.601±19.442	579.160±30.262	—
V_{dss} , л	0.054±0.007	0.058±0.008	0.057±0.001	—
$AUC_{0-\infty}$, нг × ч/мл	485.942±56.412	171.189±10.180	492.311±73.511	—
Cl_t , мл/мин	1.297±0.110	1.374±0.080	1.762±0.116	—
$t_{1/2}$, ч	0.532±0.065	0.469±0.026	0.631±0.044	—
MRT, ч	0.768±0.006	0.677±0.038	0.684±0.166	—
F, %	100	20.317±1.926	26.022±6.561	—
C_{max}^{ss} , нг/мл	—	247.251	574.360	620.2 ± 131.0

Как видно из рис. 2 и табл. 3, после перорального введения в дозах, эквивалентных терапевтическим, разработанный метод позволяет проводить количественное определение розавина в крови только в интервале 0–1.5 ч. Во всех остальных отобранных пробах крови уровень розавина ниже 100 нг/мл (предел детектирования метода). Этот факт можно объяснить очень низкой биодоступностью розавина (F-26%) и высокой скоростью его элиминации из крови ($t_{1/2}$ – 0.5 ч, MRT – 0.7 ч). Аналогичная картина наблюдается и после

многократного введения экстракта РР. Так, после 5-го перорального введения экстракта РР определить концентрацию розавина удалось только в интервале 1–1.5 ч после использования дозы 50 мг/кг/сут, а при введении дозы 20 мг/кг/сут один раз в сутки обнаружить розавин удалось только через 1 ч (260 нг/мл). Теоретически ожидаемая средняя равновесная максимальная концентрация розавина была примерно равна экспериментальной (табл. 3). Согласно расчетам, через 2 ч после 5-го введения минимальная концентра-

ция розавина, высокая скорость его элиминации из крови, резкое повышение константы скорости всасывания при увеличении дозы – все это позволяет предположить о возможном пресистемном метаболизме розавина, вероятнее всего, в печени крыс (табл.3).

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить о быстром и практически полном всасывании салидрозида при введении экстракта РР внутрь. В отличие от салидрозида другой активный компонент экстракта РР лишь в незначительных количествах поступает из желудочно-кишечного тракта в системный кровоток. Это во многом объясняет тот факт, что розавин, введенный перорально, проявляет фармакологическую активность у животных только в очень высо-

ких дозах (300 мг/кг) [4,9,10].

Можно предположить, что многие фармакологические эффекты экстракта РР обусловлены, по-видимому, действием салидрозида, что подтверждается и тем, что салидрозид, введенный индивидуально, обеспечивает идентичную с экстрактом РР выраженность эффектов [4–16]. Вместе с тем, наличие в экстракте РР розавина и сходных с ним соединений (розаридин и розин) [4] может способствовать снижению интенсивности метаболизма салидрозида за счет конкурентного взаимодействия с ферментами печени и тем самым увеличить продолжительность терапевтического эффекта РР.

Поступила 15.12.04

***Rhodiola rosea* SHR-5 էքստրակտի ակտիվ բաղադրամասերի՝ սալիդրոզիդի և ռոզավինի կենսամատչելիությունը առնետների մոտ**

Ն. Գ. Աբրահամյան, Ա.Ս. Հովհաննիսյան, Ա.Գ. Փանոսյան, Է.Ս. Գաբրիելյան

Rhodiola rosea էքստրակտը կիրառվել է դեռևս 18-րդ դարից: Մշակված է սալիդրոզիդի և ռոզավինի՝ *Rhodiola rosea* էքստրակտի ակտիվ բաղադրամասերի արյան պլազմայում որոշման նոր մեթոդ՝ մազանոթային էլեկտրաֆորեզի կիրառմամբ, որի օգնությամբ ուսումնասիրվել է նրանց ֆարմակոկինետիկան: Առնետներին 20 և 50 մգ/կգ դեղաչափով *Rhodiola rosea* SHR-5 էքստրակտի օրալ

ներմուծումից հետո սալիդրոզիդը արագ և ամբողջականությամբ (90%) ներծծվում է արյուն: Ռոզավինը՝ մյուս ակտիվ բաղադրիչը, ունի շատ ցածր կենսամատչելիություն (20-26%) և արագորեն դուրս է մղվում արյունից: Սալիդրոզիդի ֆարմակոկինետիկան և կենսամատչելիությունը համարյա նույնն են SHR-5-ի միանվագ և բազմանվագ ներմուծումից հետո:

The bioavailability of salidroside and rosavin, active components of *Rhodiola rosea* extract -SHR-5 in rats

H.G. Abrahamyan, A. S. Hovhannisyan, A.G. Panossian, E.S. Gabrielyan

The extract of *Rhodiola rosea* L. roots (SHR-5) have a well-established use back as far as 18th century. A validated method (high performance capillary electrophoresis) has been developed for determining salidroside and rosavin, the active constituents of SHR-5 extract in blood plasma of rats. Salidroside is quickly and completely absorbed in the blood (90%) after oral administration of

SHR-5 in the doses 20 and 50 mg/kg in rats. Rosavin, the other active component, has very low bioavailability (20 - 26%). It is quickly eliminated from the blood of rats after administration of SHR-5. Pharmacokinetics and bioavailability of salidroside is actually the same both in single and multiple regimens of administration of SHR-5.

Литература

1. Абрамян А. Г., Оганесян А.С., Габриэлян Э.С., Паносян А.Г. Лекарство и медицина, 2004, 3, с. 32.
2. Оганесян А.С. Вестник МАНЭБ, 2003, 8, 4, с.116.
3. Государственная фармакопея СССР, ГФ XI 1987, *Rhodiola rosea* rhizome and roots, С. 364-366 и Изменение № 2 к статье 75.

4. *Саратиков А.С.* Золотой корень, М., 1973.
5. *Krasik E.D., Morozova E.S., Petrova K.P., Ragulina G.A., Shemetova L.A., Shuvaev V.P.* Kemerovo City: Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, 1970a, 298.
6. *Krasik E.D., Petrova K.P., Rogulina G.A.* Sverdlovsk Press, 1970b, 215.
7. *Kurkin V.A., Zapesochaya G.G.* Khim Pharm. Zhurnal, 1986, 20: 231.
8. *Maimeskulova L.A., Maslov L.N.* Eksp Klin Farmak., 1998, 61, 2, 37.
9. *Marina T.F.* Tomsk State University Press, Tomsk, 1986, 27.
10. *Marina T.F., Alekseeva L.P.* Tomsk State University Press, Tomsk, 1968, 22.
11. *Maslova L.V., Lishmanov Yu.B., Maslov L.N.* Bull. Eksp.Biol.Med., 1993, 115, 3, 269.
12. *Nechoda, M.F., Aksenova, R.A., Tschrdinzeff, S.G.* Die Pharmazie, 1968, 23, 392-395.
13. *Gablielian E., Hovhannisyan A., Abrahamyan H., Panossian A., Wikman G.* Singapore 1-6 September, 2001, 412.
14. *Ritschell W.A.* Handbook of basic pharmacokinetics 5th Ed., N-Y, 1998, p. 427.
15. *Saratikov A., Marina T.F., Fisanova L.L.* J. Biol. Sci., 1978, 6, 142.
16. *Saratikov A.S., Marina T.F., Kaliko I.M.* Newslett Sib Branch USSR Acad Sci, 1965, 8, 120.
17. *Spasov A.A., Wikman G.K., Mandrikov V.B., Mironova I.A., Neumoin V.V.* Phytomedicine, 2000, 2, 85.