

N-ацетилцистеин: фармакокинетические параметры и влияние на концентрацию эндогенных аминотиолов

Дутов А.А.¹, Никитин Д.А.², Лукьянова Ю.Л.³, Шемякина Н.А.¹,
Ермолина А.В.⁴, Мищенко М.Н.¹

¹ – ФГБОУ ВО Читинская государственная медицинская академия, Чита

² – ФГБОУ ВПО Забайкальский государственный университет, Чита

³ – ГУЗ Городская клиническая больница № 1, Забайкальский край, Чита

⁴ – НУЗ «Дорожная клиническая больница на ст. Чита-2 ОАО «РЖД», Забайкальский край, Чита

Резюме. Исследовали фармакокинетические параметры N-ацетилцистеина при однократном пероральном и в/в введении у здоровых добровольцев. Период полувыведения ($t_{1/2}$) в пределах 2 ч, максимальная концентрация в крови (C_{max}) через 1 ч после введения была более чем в 10 раз выше при в/в введении по сравнению с пероральным. Также изучено влияние курсового в/в введения N-ацетилцистеина (1 200 мг/сут в течение одной недели) на концентрацию эндогенных аминотиолов у пациентов с заболеваниями, сопровождающимися оксидативным стрессом (ишемический инсульт и сосудистые осложнения сахарного диабета). На примере ишемического инсульта показано, что концентрация цистеина в плазме возросла в 1,6 раза, а уровень гомоцистеина не менялся, как и соотношение восстановленного и окисленного цистеина (CysSH/CysSSCys). Содержание общего и свободного глутатиона в эритроцитах достоверно не менялось, зато значительно возрос коэффициент GSH/GSSG, характеризующий антиоксидантный потенциал клеток. Таким образом, включение в схемы терапии N-ацетилцистеина указанных заболеваний сопровождается более благоприятным клиническим исходом за счёт значительного увеличения антиоксидантного потенциала клеток и тканей.

Ключевые слова: N-ацетилцистеин, фармакокинетика, цистеин, глутатион, оксидативный стресс, ишемический инсульт, осложнения сахарного диабета

N-acetylcysteine: pharmacokinetic parameters and the effect on the concentration of endogenous ainothiols

Dutov A.A.¹, Nikitin D.A.², Lukianova J.L.³, Shemyakina N.A.¹, Ermolina A.V.⁴, Mishchenko M.N.¹

¹ – FSEI HE State Medical Academy, Chita

² – FSEI HPE Zabaikalsky State University, Chita

³ – SII City Clinical Hospital № 1, Zabaikalsky kray, Chita

⁴ – PHI Road Clinical Hospital. Chita-2, «Russian Railways», Zabaikalsky kray, Chita

Abstract. We studied the pharmacokinetic parameters of N-acetylcysteine at a single oral and intravenous administration of healthy volunteers. Elimination half-life ($t_{1/2}$) within 2 hours and the maximum concentration in blood (C_{max}) after 1 hour after administration was more than 10 times higher when intravenous on a comparison with oral administration. Effect of exchange rate on intravenous administration of N-acetylcysteine (1 200 mg/day for one week) the concentration of endogenous ainothiols in patients with diseases that are accompanied by oxidative stress (ischemic stroke and vascular complications of diabetes mellitus) are also studied. In ischemic stroke example it shows that the concentration of cysteine in plasma was increased by 1,6 times, and homocysteine levels did not change, as the ratio of reduced and oxidized cysteine (CysSH / CysSSCys). The content of total and free glutathione in red blood cells was not significantly changed, but significantly increased GSH / GSSG ratio, characterizing the antioxidant capacity of cells. We conclude that the inclusion in the scheme of N-acetylcysteine therapy of these diseases, accompanied by a more favorable clinical outcome due to a significant increase in antioxidant capacity of cells and tissues.

Keywords: N-acetylcysteine, pharmacokinetics, cysteine, glutathione, oxidative stress, ischemic stroke, diabetes complications

Автор, ответственный за переписку:

Дутов Алексей Александрович — старший научный сотрудник НИИ молекулярной медицины при Читинской Медицинской Академии, д.м.н. (фармакология, клиническая фармакология), врач высшей категории (клиническая лабораторная диагностика), 672000, Чита, ул. Горького, 39а, лаборатория ВЭЖХ; тел. +7 (914) 455-81-59; e-mail: dutovaa@yandex.ru

Введение

N-ацетилцистеин известен в основном как муколитическое средство. Кроме того, его используют при интоксикации ацетаминофеном, он оказывает цитопротекторное действие при химиотерапии онкологических заболеваний и предупреждает развитие

нефропатии в результате использования рентгеноконтрастных средств [1]. Сульфгидрильная группа (SH) N-ацетилцистеина ответственна за его метаболическую активность, ацетильная группа делает молекулу более устойчивой к окислению и деструкции пищеварительными ферментами [2]. N-ацетилцистеин чаще рассматривают как пролекарство глутатиона [3],

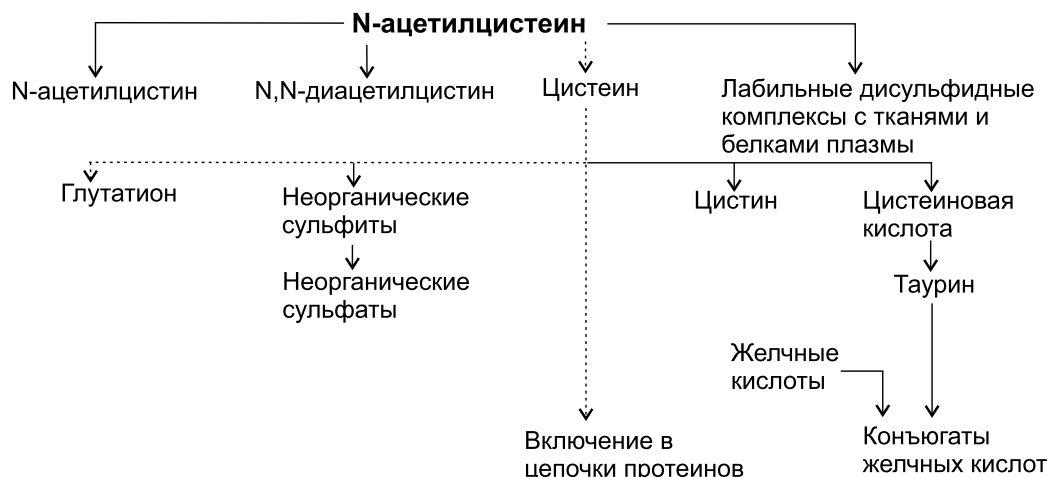


Рис. 1. Предполагаемые метаболические пути N-ацетилцистеина [4]

который в клетках и/или в плазме деацетируется, превращаясь в L-цистеин (рис. 1), который в свою очередь идёт на построение глутатиона [2, 4].

Глутатион (γ -L-glutamyl-L-cysteinylglycine, GSH), эндогенный трипептид, защищает клетки от свободных радикалов и химически активных молекул пероксидов, тем самым образуя одну из мощных систем антиоксидантной защиты [3, 5, 6].

Проведено большое количество исследований по фармакокинетике ацетилцистеина, результаты отличаются значительной вариабельностью. Так, один из важнейших показателей — период полувыведения ($t_{1/2}$) составляет: 1,95 ч [7], 2,27 ч [8], $2,7 \pm 0,3$ ч [9], $3,7 \pm 0,8$ ч [1], $3,68 \pm 1,84$ ч [10]. В некоторых источниках приводят ещё большие цифры: 5,5 ч — у взрослых и 11 ч — у новорожденных (www.slideshare.net/trennette/n-acetylcysteine).

С учётом этих обстоятельств, мы провели серию экспериментов для уточнения фармакокинетических параметров N-ацетилцистеина, а также оценили уровни эндогенных аминокислот (цистеин, гомоцистеин, восстановленный глутатион) после приёма N-ацетилцистеина.

Методы исследования

Исследования авторы (3 из 7) проводили на себе, а также на здоровых добровольцах после подписания информированного согласия. Кровь отбирали в вакуумные пробирки с ЭДТА, плазму использовали для анализа аминокислот и N-ацетилцистеина, эритроциты отмывали физиологическим раствором и затем отбирали для анализа глутатиона. Содержание аминокислот определяли до приёма N-ацетилцистеина (Sandoz®), а затем через 1, 2 и 4 ч после приёма 600 и 1 200 мг препарата. В клинических испытаниях с информированного согласия пациентов и одобрения локального Этического комитета Академии использовали в/в введение N-ацетилцистеина (флуимуцил, Zambon®,

Италия) в дозе 1 200 мг один раз в сутки, в течение одной недели пациентам с ишемическим инсультом и осложнениями сахарного диабета. Определение аминокислот в плазме и глутатиона в эритроцитах проводили по ранее разработанным методам методом ВЭЖХ [11].

Результаты и обсуждение

Фармакокинетические параметры

Расчёт фармакокинетических параметров N-ацетилцистеина осуществляли с помощью программы ClinPharmCalc собственной разработки (модель без всасывания) (табл. 1), созданной на основе математических формул из известного руководства [12].

Таким образом, среднее значение $t_{1/2}$ составляет менее 2 ч. Максимальная концентрация (C_{max}) N-ацетилцистеина через 1 ч после его приёма в дозах

Таблица 1

Фармакокинетические параметры N-ацетилцистеина после его перорального приёма

Испытуемые и доза	Kel, ч ⁻¹	$t_{1/2}$, ч	AUC, мкг×ч/мл	Vd, л	MRT, ч	Cl, мл/мин
Н, 600 мг (R=0,971)	0,408	1,70	9,43	26,0	2,45	10,6
Л, 600 мг (R=0,978)	0,589	1,18	8,48	20,0	1,70	11,8
Е, 600 мг (R=0,971)	0,292	2,37	4,04	84,8	3,43	24,8
М, 600 мг (R=0,971)	0,442	1,57	3,93	57,2	2,26	25,4
Б, 600 мг (R=0,971)	0,418	1,66	3,63	65,9	2,39	27,6
С, 1200 мг (R=0,971)	0,447	1,55	8,74	25,6	2,24	11,5
Д, 1200 мг (R=0,971)	0,345	2,01	5,56	52,1	2,90	18,0
Среднее	0,420	1,72	6,26	47,4	2,48	18,5

600 и 1 200 мг *per os* составила 1,8 мкг/мл и 2,7 мкг/мл, соответственно. Поскольку при приёме *per os* биодоступность N-ацетилцистеина низкая и не превышает 10% за счёт пресистемного метаболизма [7, 8, 13],

Таблица 2

Фармакокинетические параметры N-ацетилцистеина после его в/в введения

Испытуемые и доза	Kel, ч ⁻¹	t _{1/2} , ч	AUC, мкг×ч/мл	Vd, л	MRT, ч	Cl, мл/мин
Г, 600 мг (R=0,978)	0,259	2,67	154,7	2,49	3,86	0,65
Я, 1 200 мг (R=1,000)	0,478	1,45	85,5	2,45	2,09	1,17

исследовали фармакокинетические параметры после в/в введения N-ацетилцистеина (табл. 2).

Среднее значение t_{1/2} также было в пределах 2 ч, что в основном соответствует данным литературы и не зависит от способа введения. Максимальная концентрация (C_{max}) N-ацетилцистеина через 1 ч после его в/в введения в дозах 600 и 1 200 мг составила 30 и 25 мкг/мл, соответственно. Концентрация N-ацетилцистеина в крови при в/в введении более чем в 10 раз выше по сравнению с приёмом *per os*.

Влияние на концентрацию аминокислот в плазме и глутатиона в эритроцитах

Пероральное введение. Измерение уровня аминокислот в плазме после однократного приёма 600 и 1 200 мг N-ацетилцистеина *per os* здоровыми добровольцами, не выявило достоверных изменений концентраций цистеина, глутатиона и гомоцистеина в плазме спустя 1, 2 и 4 ч. Данные литературы по этому поводу неоднозначны. Так, при однократном приёме 600 мг N-ацетилцистеина *per os*, через 1 ч концентрация цистеина в плазме возрастала почти в 2 раза [14]. По другим источникам, уровни общего цистеина и общего глутатиона плазмы не возрастают после приёма 30 мг/кг N-ацетилцистеина *per os* здоровыми добровольцами [15], хотя приём N-ацетилцистеина *per os* в меньших дозах (10 мг/кг) может сопровождаться возрастанием концентрации как самого N-ацетилцистеина, что вполне естественно, так и цистеина

[4, 14]. У здоровых добровольцев концентрация цистеина в плазме возрастала на 1-й и 5-й дни после перорального приёма 600 мг препарата трижды в день, тогда как у пациентов с хроническими обструктивными заболеваниями лёгких, это повышение наблюдалось только на 5-й день [16].

Поскольку N-ацетилцистеин является предшественником внутриклеточного глутатиона (см. рис. 1), представлялось интересным оценить уровень последнего в эритроцитах после однократного приёма

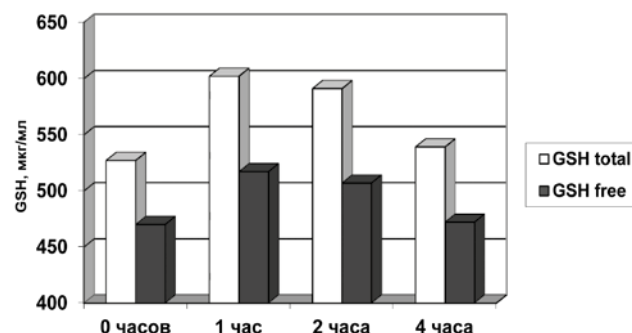


Рис. 2. Изменение концентрации общего (GSH total) и свободного (GSH free) глутатиона в эритроцитах в разное время после приёма N-ацетилцистеина. Достоверное повышение выявлено через 1 и 2 ч (расчёты с использованием критерия Уилкоксона для зависимых групп)

600 (n = 5) и 1 200 мг (n = 2) N-ацетилцистеина *per os* теми же добровольцами (рис. 2).

Таким образом, однократный приём N-ацетилцистеина в дозах 600 и 1 200 мг не оказывает влияния на концентрацию аминокислот в плазме и вызывает кратковременное повышение концентрации глутатиона в эритроцитах, которая через 4 ч возвращается к исходному уровню.

Внутривенное введение. На следующем этапе исследовали влияние курсового в/в введения N-ацетилцистеина в дозе 1 200 мг/сут в течение 1 недели на концентрацию аминокислот у пациентов с ишемическим инсультом и сосудистыми осложнениями сахарного диабета.

В плазме преобладающим аминокислотом является цистеин (Cys). Существует свободный (free) и общий (total) цистеин (свободный + восстановленный

Таблица 3

Концентрации общего и свободного цистеина в плазме (мкг/мл) у больных с ишемическим инсультом при разных вариантах фармакотерапии

Заболевание	Лечение	Cys total	Cys free	CysSH/CysSSCys
Острый период ишемического инсульта (n = 34)	До начала лечения	23,7±3,8	15,7±4,1	1,6±0,4
Ишемический инсульт, 7–10 дни (n = 34)	После курсового введения NAC	38,6±5,7	25,3±5,2	1,9±0,3
Ишемический инсульт, 7–10 дни (n = 26)	Стандартное лечение, без NAC	27±4,9	21,8±4,7	4,2±1,3

Концентрации общего и свободного глутатиона в эритроцитах (мкг/мл) у больных с ишемическим инсультом при разных вариантах фармакотерапии

Заболевание	Лечение	GSH total	GSH free	GSH/GSSG
Острый период ишемического инсульта, 1-й день ($n = 34$)	До начала лечения	547±13,7	458±12,9	5,2
Ишемический инсульт, 7-й день, ($n = 34$)	Стандартное лечение, без NAC	547±11,8	453±15,1	4,8
Ишемический инсульт, 7-й день, ($n = 34$)	После курсового введения NAC	556±9,9	538±8,7	30,5

из дисульфидов). Коэффициент CysSH/CysSSCys, т. е. соотношение восстановленного и окисленного цистеина, может служить индикатором антиоксидантной способности плазмы [17]. Такое курсовое в/в введение N-ацетилцистеина пациентам с ишемическим инсультом и сосудистыми осложнениями сахарного диабета, получающих обычное лечение, выявило достоверное повышение уровня цистеина — преобладающего аминотиола плазмы. Это хорошо видно на примере ишемического инсульта, когда концентрация цистеина возрастала в 1,6 раза (табл. 3).

В то же время коэффициент CysSH/CysSSCys практически не изменялся. При стандартном лечении уровень цистеина плазмы не менялся, а коэффициент CysSH/CysSSCys достоверно возрастал. Другой аминотиол плазмы — гомоцистеин — на фоне терапии N-ацетилцистеином достоверно не менялся. Аналогичные результаты получены у пациентов с сосудистыми осложнениями диабета. Ограниченные литературные источники свидетельствуют, что при курсовом применении N-ацетилцистеина — 600 мг/сут в течение 15 дней — обнаруживается снижение уровня гомоцистеина, но не цистеина и глутатиона, как у здоровых испытуемых, так и у пациентов с почечной недостаточностью [1]. Однозначно интерпретировать полученные данные пока не представляется возможным. Вероятно, это связано с тем, что в присутствии N-ацетилцистеина, образующийся из него цистеин, более активно проникает в клетку, участвуя в процессе биосинтеза глутатиона. В пользу этого предположения могут свидетельствовать данные по содержанию глутатиона в эритроцитах (табл. 4).

Содержание общего и свободного глутатиона в эритроцитах достоверно не менялось, зато значительно возрастал коэффициент GSH/GSSG, т. е. соотношение восстановленного и окисленного глута-

тиона за счёт увеличения восстановленного глутатиона (GSH). Именно GSH обеспечивает антиоксидантную защиту клеток и тканей [2, 5, 6, 17]. Ишемический инсульт и сосудистые осложнения сахарного диабета сопровождаются развитием оксидативного стресса разной интенсивности, хотя в обзорных работах [5, 6] приводятся сведения, в основном касающиеся ВИЧ, онкологических заболеваний, паркинсонизма, заболеваний печени, муковисцедоза и возрастной патологии. Тем не менее, есть сведения, что глутатион вовлекается в патогенез сахарного диабета [18, 19] и экспериментальные приводятся данные о нейропротекторных свойствах глутатиона и его менее полярных производных при церебральной ишемии [20, 21]. По нашим данным, коэффициент GSH/GSSG под влиянием терапии N-ацетилцистеином возрастал с 4,8 до 30,5 при ишемическом инсульте, с 10,2 до 34,2 — при диабетической ретинопатии и с 6,0 до 20,0 — при диабетической ангиопатии сосудов нижних конечностей. Это сопровождалось клиническим улучшением: при ишемическом инсульте более быстро и качественно регрессировали моторный дефицит и речевые нарушения, при диабетической ретинопатии повысилась острота зрения, а по результатам оптической когерентной томографии макулярный отёк уменьшился у 4 из 6 пациентов, у больных с диабетической ангиопатией сосудов нижних конечностей, 2-я фаза раневого процесса характеризовалась более ранним появлением грануляций.

Таким образом, включение в схемы терапии N-ацетилцистеина при ишемическом инсульте и сосудистых осложнениях сахарного диабета, сопровождалось более благоприятным клиническим исходом за счёт значительного увеличения антиоксидантного потенциала клеток и тканей.

Литература

1. Nolin T.D., Ouseph R., Himmelfarb J., McMenamin M.E. and Ward R.A. Multiple-Dose Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of N-Acetylcysteine in Patients with End-Stage Renal Disease. Clin J Am. Soc Nephrol. 2010; 5: 1588–1594.
2. Kelly G.S. Clinical Applications of N-acetylcysteine. Alt Med Rev. 1998; 3 (2): 114–127.

3. Cacciatore I., Cornacchia C., Pinnen F., Mollica A and Di Stefano A. Prodrug Approach for Increasing Cellular Glutathione Levels (review). Molecules. 2010; 15: 1242–1264.
4. De Caro L., Ghizzi A., Costa R., Longo A., Ventresca Lodola E. Pharmacokinetics and bioavailability of oral acetylcysteine in healthy volunteers. Arzneimittel Forsch Drug Res. 1989; 39: 382–386.
5. Wu G., Fang Y-Z., Yang S., Lupton J.R. and Turner N.D. Glutathione Metabolism and Its Implications for Health (review). J. Nutr. 2004; 134: 489–492.

6. Townsend D.M., Tew K.D., Tapiero H. The importance of glutathione in human disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2003; 57: 145–155.
7. Olsson B., Johansson M., Gabrielsson J., Bolme P. Pharmacokinetics and bioavailability of reduced and oxidized N-acetylcysteine. *Eur J Clin Pharmacol*. 1988; 34 (1): 77–82.
8. Borgstrom L., Kagedal B., Paulsen O. Pharmacokinetics of N-acetylcysteine in man. *Eur J Clin Pharmacol*. 1986; 31 (2): 217–222.
9. Jones A.L., Jarvie D.R., Simpson D., Hayes P.C. and Prescott L.F. Pharmacokinetics of N-acetylcysteine are altered in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther*. 1997; 11: 787–791.
10. Hong S-Y, Gil H-W, Yang J-O, Lee E-Y, Kim H-K, Kim S-H et al. Effect of High-Dose Intravenous N-acetylcysteine on the Concentration of Plasma Sulfur-Containing Amino Acids. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 2005; 20: 217–223.
11. Дутов А.А. Биомедицинская хроматография. М.: Гэотар-медиа, 2016; 312.
12. Сергуенко В.И., Джеллифф Р., Бондарева И.Б. Прикладная фармакокинетика: основные положения и клиническое применение. М.: Издательство РАМН, 2003; 208.
13. Holdiness M.R. Clinical pharmacokinetics of N-acetylcysteine. *Clin Pharmacokinet*. 1991; 20 (2): 123–134.
14. Tsikas D., Sandmann J., Ikić M., Fauler J., Stichtenoth D.O., Frölich J.C. Analysis of cysteine and N-acetylcysteine in human plasma by high-performance liquid chromatography at the basal state and after oral administration of N-acetylcysteine. *Journal of Chromatography B*. 1988; 708: 55–60.
15. Burgunder J.M., Varriale A., and Lauterburg B.H. Effect of N-acetylcysteine on plasma cysteine and glutathione following paracetamol administration. *Eur J Clin Pharmacol*. 1989; 36: 127–131.
16. Bridgeman M.E., Marsden M., Selby C., Morrison D., MacNee W. Effect of N-acetyl cysteine on the concentrations of thiols in plasma, bronchoalveolar lavage fluid, and lung tissue. *Thorax*. 1994; 49: 670–675.
17. Jones D.P. Redox potential of GSH/GSSG couple: assay and biological significance. *Methods Enzymol*. 2002; 348: 93–112.
18. Lomaestro, B.M., Malone M. Glutathione in health and disease: pharmacotherapeutic issues. *Annals Pharmacother*. 1995; 29: 1263–1273.
19. Samiec P.S., Drews-Botsch C., Flagg E.W., Kurtz J.C., Sternberg P., Reed R.L., Jones D.P. Glutathione in human plasma: decline in association with aging, age-related macular degeneration, and diabetes. *Free Radic Biol Med*. 1998; 24: 699–704.
20. Anderson M.E., Nilsson M., Eriksson P.S., Sims N.R. Glutathione monoethyl ester provides neuroprotection in a rat model of stroke. *Neurosci Lett*. 2004; 354: 163–165.
21. Anderson M.E., Nilsson M., Sims N.R. Glutathione monoethyl ester prevent mitochondrial glutathione depletion during focal cerebral ischemia. *Neurochem Int*. 2004; 44: 153–159.