

## ФАРМАКОКИНЕТИКА И БИОТРАНСФОРМАЦИЯ ЗОЛПИДЕМА: АНАЛИЗ ГЛАВНЫХ МЕТАБОЛИТОВ

Крылова Е. А., Хомов Ю. А.

*ГБОУ ВПО Пермская государственная фармацевтическая академия, Пермь, Россия (614000, г. Пермь, ул. Полевая, 2), homov@pfa.ru*

Одно из значимых мест в современной терапии инсомнии занимает препарат с новой химической структурой – золпидем, являющийся производным имидазопиридина, все более широко используемый в лечебной практике, оказывая выраженное снотворное и седативное действие. Снижает время засыпания и время бодрствования внутри сна, увеличивает продолжительность дельта-сна и фазы быстрого сна. Золпидем в терапевтических дозах хорошо переносится. Среди побочных действий имеет эффекты со стороны ЦНС. Отмечена способность вызывать явления привыкания и лекарственной зависимости. В зарубежной литературе встречаются случаи острых и летальных отравлений. При пероральном приеме быстро и практически полностью всасывается в ЖКТ. Препарат в организме интенсивно метаболизируется. Метаболиты золпидема образуются в организме в результате процессов окисления метильных радикалов имидазопиридинового ядра и бензольного кольца; далее гидроксипроизводные окисляются до соответствующих карбоксипроизводных золпидема. Все метаболиты фармакологически неактивны. Подробной и единой схемы метаболизма золпидема в литературе не представлено. Только около одного процента золпидема выводится с мочой в неизменённом виде. Очевидно, что клинико-диагностический и химико-токсикологический анализ мочи для установления факта приёма золпидема наиболее информативен при выявлении его метаболитов, так как концентрация нативного золпидема может оказаться ниже предела его обнаружения.

Ключевые слова: золпидем, фармакокинетика, биотрансформация, анализ основных метаболитов.

## PHARMACOKINETICS AND BIOTRANSFORMATION OF ZOLPIDEM: ANALYSIS OF THE MAIN METABOLITES

Krylova E. A., Khomov Y. A.

*Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia (614000 Perm, Polevaya st, 2), homov@pfa.ru*

Zolpidem is the preparation with new chemical imidazopyridinic structure which occupies the one of the significant places in modern therapy of an insomnia. This drug is more and more widely used in medical practice, having the expressed hypnotic and sedative effect. It reduces time of a sleep onset and increases duration of a delta-sleep and a phase of a REM sleep. Zolpidem is well tolerated in therapeutic doses. It has some adverse effects from the CNS side. The ability to cause the phenomena of tolerance and medicinal dependence is noted. The cases of acute and lethal poisonings are encountered in foreign literature. It is rapidly and almost completely absorbed in gastrointestinal tract after oral administration. The drug is intensively metabolized in organism. The zolpidem metabolites are formed as a result of the processes of oxidation of the methyl radicals of imidazopyridinic nucleus and benzolic cycle. Then hydroxyderivates are oxidized to the corresponding carboxyderivates of zolpidem. All metabolites are pharmacological inactive. The detailed and common scheme of a metabolism of zolpidem is not represented in literature. Only about one percent of zolpidem is excreted with urine as unchanged drug. It is obvious that the chemical and toxicological analysis of the urine for determination of the fact of intake of zolpidem is the most informative for identification of its metabolites, so concentration of the native zolpidem can appeared below of the limit of its detection.

Key words: zolpidem, pharmacokinetics, biotransformation, analysis of the major metabolites.

Известно, что на сегодняшний день нарушение цикла сон/бодрствование наблюдается в популяции у 28–45 % человек и в половине случаев представляет собой серьезную клиническую проблему, зачастую требующую специальной диагностики и лечения. Одно из значимых мест в современной терапии инсомнии занимает препарат с новой химической структурой – золпидем. По данным российских клиницистов [3], препарат по значимости находится в одном ряду с такими известными лекарственными средствами, как производные

циклопирролона (зопиклон), 1,4-бензодиазепина (с коротким и средним периодом полувыведения – мидазолам, триазолам, бротизолам), и наблюдается постоянный рост частоты употребления золпидема для лечения инсомнии [4].

Золпидем, химическое название N,N,6-триметил-2-(4-метилфенил)имидазо[1,2-*a*]пиридин-3-ацетамид. Его соль золпидема тартрат, синонимы Zolpidem Hemitartrate, торговые наименования: Ивадал, Ambien, Bikalm, Cedrol, Dalparan, Ivadal, Niotal, Stilnoct, Stilnox [5, 8].

Золпидем оказывает выраженное снотворное и седативное действие; в незначительной степени проявляются анксиолитический, миорелаксирующий, противосудорожный и амнестический эффекты [6].

Основная форма выпуска золпидема – таблетки для приема внутрь по 5 и 10 мг, покрытые оболочкой. Помимо пероральной формы немедленного высвобождения, существуют таблетки пролонгированного действия, сублингвальная форма и спрей [5].

Разовая рекомендуемая доза составляет 10 мг перед отходом ко сну, но у лиц в возрасте старше 65 лет и при наличии печеночной или почечной недостаточности она снижается до 5 мг. По данным [8], терапевтическая концентрация золпидема в сыворотке крови составляет 0,08–0,15 мг/л.

Золпидем снижает время засыпания и время бодрствования внутри сна, увеличивает продолжительность дельта-сна и фазы быстрого сна (фазы III и IV) – наиболее важных в функциональном отношении составляющих сна. Золпидем в терапевтических дозах хорошо переносится пациентами [6].

Среди побочных действий как головокружение, головная боль, остаточная сонливость, диспепсические расстройства, особо следует выделить эффекты со стороны центральной нервной системы, с возможным возникновением антероградной амнезии. Механизм парадоксального психотического действия золпидема детально не изучен. Отмечена способность золпидема вызывать явления привыкания и формирования лекарственной зависимости (психической и физической) при длительном приеме (более 4 недель) [6], формируя, таким образом, благоприятные условия для возможного злоупотребления и неконтролируемого приема препарата, что усугубляется относительной доступностью золпидема для населения.

В литературе встречаются случаи острых не смертельных интоксикаций золпидемом [23]. Приводятся также случаи отравлений людей с летальным исходом как индивидуальным препаратом [13], так и в комбинации с другими лекарственными средствами [12, 15].

По данным [8], токсическая доза золпидема в крови составляет, в среднем, 0,5 мг/л; летальная – 2–4 мг/л.

При пероральном приеме золпидем быстро и практически полностью всасывается в желудочно-кишечном тракте (во многом именно это объясняет быстрое начало действия). Эффект первого прохождения снижает биодоступность лекарства на 70 % [5, 8]. Пиковый уровень в крови, соответствующий 0,2 мг/л, достигается спустя 30 мин после перорального приема 20 мг золпидема [10]. Но в среднем пики концентраций в плазме достигаются через 2,2 (0,5-3,0) часа после приема внутрь. Одновременный прием пищи может снижать скорость и степень всасывания.

Золпидем связывается с белками плазмы (альбумин и  $\alpha_1$ -кислый гликопротеид). Общее связывание с протеинами у здоровых добровольцев было равно  $92,5 \pm 0,1$  %. Кажущийся объем распределения после внутривенного введения 5 мг препарата составил 0,5 л/кг. При почечной недостаточности он возрастает до 0,6–0,8 л/кг. Препарат проникает через гемато-энцефалический барьер и его концентрация в головном мозге достигает 30–50 % от уровня концентрации в плазме [5, 8].

Золпидем в организме интенсивно метаболизируется. Подробной и единой схемы метаболизма золпидема в литературе не представлено. Главный путь биотрансформации – гидроксирование метильных радикалов, что происходит, по данным зарубежных авторов [19], под воздействием различных изоферментов гетерогенного комплекса – цитохрома (СYP) P450 (фосфолипидопротогемсульфид-протеиновый комплекс), содержащегося в микросомах гепатоцитов человека. Причем различные изоферменты цитохрома P450 в метаболизме золпидема принимают разную долю участия, и, соответственно, имеют следующий профиль активности: 61 % СYP 3A4; 22 % СYP 2C9; 14% СYP 1A2 и менее, чем 3 % активности приходится на долю изоферментов СYP 2D6 и 2C19 [24].

По данным Nempel G. с соавторами [11], гидроксирование идет по двум метильным радикалам: бензольного кольца и конденсированной системы имидазопиридина.

Гидроксипроизводные быстро подвергаются дальнейшему окислению до соответствующих карбоксипроизводных золпидема [17, 19]. Около 56 % от принятой дозы золпидема экскретируется посредством почек с мочой и с фекалиями (37 %). Лишь 0,2–1,3 % золпидема выводится с мочой в неизменном виде [11]. Все метаболиты золпидема не обладают фармакологической активностью.

Золпидем не кумулирует у взрослых молодых людей (20–40 лет) после приема на ночь по 20 мг в течение одной недели. Не кумулирует и у пожилых пациентов после приема на ночь по 10 мг в течение 1 нед. [5]. По данным Fullerton T. [8], системный клиренс золпидема равен 0,26 л/кг \* г, а период полувыведения – 1,5 ч.

При одновременном применении золпидема со средствами, угнетающими ЦНС, в т.ч. с транквилизаторами, барбитуратами, нейролептиками, другими снотворными средствами,

антидепрессантами и антигистаминными лекарственными средствами с седативным компонентом, алкоголем, возможно взаимное усиление действия. При совместном приеме с золпидемом анксиолитиков бензодиазепинового ряда повышается риск развития лекарственной зависимости [5].

На этапе пробоподготовки биообъекта исследования очень важен гидролиз конъюгированных метаболитов, который проводится с целью получения свободных метаболитов и возможности их дальнейшего исследования. Конъюгированные метаболиты из-за высокой полярности и большой молекулярной массы нельзя анализировать многими методами, в частности, ГЖХ.

*Кислотный гидролиз* – проходит быстро, прост в осуществлении. Однако вследствие неспецифичности реакции расщепления ковалентной связи, жестких условий проведения гидролиза в среде концентрированной кислоты при кипячении, образуется большое количество побочных продуктов и может произойти потеря части информации о веществе.

*Энзимный гидролиз* – действие ферментов ( $\beta$ -глюкуронидазы,  $\beta$ -сульфатазы, трипсина и др.) является специфичным, проходит в мягких условиях, уменьшает образование побочных продуктов, в результате чего полученный образец получается более чистым. Способ требует строгого соблюдения условий (рН, температура, состав буфера, активность фермента); длительного времени инкубирования; изменения активности фермента в зависимости от происхождения и сроков хранения, ингибирования фермента.

Nempel et al. [11] в работе, посвященной определению метаболитов золпидема в моче, для деконъюгации использовали  $\beta$ -глюкуронидазу. Авторы приводят сравнительные количественные данные на примере 6-гидроксизолпидема, который определяли в моче волонтера после приема 10 мг золпидема тартрата через каждые три часа в течение 24 часов. При этом данный метаболит определяли как без гидролиза, так и с гидролизом. В результате в моче во всех исследуемых пробах концентрация аналита после гидролиза была на порядок выше, чем без гидролиза.

Следующий этап пробоподготовки связан с изолированием. Изолирование золпидема и его метаболитов из биообъектов проводится такими методами, как жидкость-жидкостная экстракция (ЖЖЭ), твердофазная экстракция (ТФЭ).

Применение ЖЖЭ при пробоподготовке биологического материала для изолирования золпидема довольно часто встречается в описаниях зарубежных авторов. Так, В. К. Logan et al. [16] изолировали золпидем из крови ЖЖЭ из щелочной среды. В работе Р. Ondra et al. [18] представлено применение ЖЖЭ золпидема из мочи диэтиловым эфиром при рН 10. Среди единичных публикаций, посвященных анализу метаболитов золпидема, имеется сообщение [14] об извлечении главного метаболита золпидема (4'-карбоксизолпидема) из

мочи ЖЖЭ при рН 4,5-5,0 смесью хлороформ–изо-пропанол, эффективность экстракции составила 80 %.

Применительно к золпидему, ТФЭ в процессе пробоподготовки плазмы крови и мочи для анализа ряд зарубежных авторов [7, 18, 20] преимущественно использовали обращённо-фазный вариант с применением модифицированных силикагелей С8, С18 на картриджах Oasis HLB, 1 см<sup>3</sup>/30 мг или патронах.

Дериватизация как реакция получения производного анализируемого соединения путем преобразования полярных групп в неполярные без изменения основной структуры молекулы с целью дальнейшего анализа газохроматографическим методом. При этом не только исключаются потери вещества из-за низкой летучести и сорбции, но и улучшаются характеристики газохроматографического анализа. После дериватизации нелетучие и мало летучие вещества становятся достаточно летучими и термически стабильными. Для этих целей используют реакции ацилирования (уксусный ангидрид, трифторуксусный ангидрид, пентафторпропионовый ангидрид и др.), алкилирования (метилирование йодметаном, diaзометаном и др.), силилирования (BCA – N,O-бис(триметилсилил)ацетамид; BSTFA – 1% ТМCS-бис(триметилсилил)трифторацетамид + 1% триметилхлорсилана; MSTFA – N-метил-N-триметилсилилтрифторацетамид и др.).

Вследствие того, что золпидем в своей структуре не имеет открытых реакционно-способных функциональных групп, то реакции дериватизации для него не применяются, в то время как его метаболиты на первой фазе биотрансформации приобретают полярные группировки, такие как –ОН, –СООН. Для улучшения хроматографических свойств метаболитов золпидема могут быть получены различные их дериваты. В научной литературе имеется немногочисленная информация об аналитических данных метаболитов золпидема и их дериватов для газохроматографического анализа. Так, в статье [14] для обнаружения главного метаболита золпидема (его 4'-карбоксиипроизводное) методом ГХ/МС проводили дериватизацию извлечений из мочи с помощью реакции алкилирования этил йодидом.

Перечень аналитических методов, применяемых для определения золпидема в биологических жидкостях, весьма широк в зарубежной литературе. Однако разрозненные и несистематизированные сведения по определению метаболитов золпидема представлены крайне скудно, в том числе и в иностранных публикациях, о чем высказываются и сами иностранные авторы [11].

В работе G. Nempel et al. [11] определение золпидема и его метаболитов (после их деконъюгации) проводили непосредственно в 10 нл образца мочи без экстракции методом капиллярного электрофореза, используя для детектирования аналитов лазерную флуоресценцию. Авторы характеризуют данную процедуру как простую, экспрессную, не

требующую применения органических растворителей, а также высокочувствительную. Следует отметить, что в настоящее время применение лазера еще пока довольно дорогостоящая процедура.

Радиоиммуноанализ охарактеризован [9, 22] как специфичный и высокочувствительный метод определения не только золпидема, но и его основных метаболитов. Предел количественного определения золпидема в сыворотке крови и моче составил 0,1 нг/мл.

Зарубежные исследователи для определения золпидема в биологических жидкостях, преимущественно, используют метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-спектрометром или с флуоресцентным детектором, при этом хроматографическое разделение осуществляют на аналитических колонках с обращённой фазой – модифицированный силикагель (C18). L.L.Moltke et al., использовали данный вариант для определения гидроксильированных метаболитов золпидема [24].

В публикации [21] исследователи использовали метод ГХ/МС в режиме полного сканирования масс для обнаружения золпидема в крови и моче, при этом отмечают, что из-за низкого содержания нативного золпидема в моче требуется скрининговый метод для обнаружения его главного метаболита (4'-карбоксыпроизводное золпидема).

Для извлечения из мочи главного метаболита золпидема – его 4'-карбоксыпроизводного, авторами [14] предложен вариант ЖЖЭ смесью хлороформ–изо-пропанол (5:1) при рН 4,5-5,0. Дериватизацию проводили алкилированием этил йодидом. Идентификацию 4'-карбоксыпроизводного золпидема осуществляли методами ГХ/МС и ЖХ-МС/МС. Предел обнаружения данного метаболита методом ГХ/МС составил 2 нг/мл. Количественное определение проводили методом внутреннего стандарта, в качестве которого использовали мефенамовую кислоту.

Зарубежная литература и появляющиеся публикации отечественных авторов в научных журналах служат подтверждением актуальности и значимости изучения направлений биотрансформации золпидема и исследования его метаболитов и их дериватов для нужд клинико-диагностического и химико-токсикологического анализа.

### Список литературы

1. Идентификация золпидема и его основных метаболитов в моче методом газовой хроматографии – масс-спектрометрии / Е.А.Крылова [и др.] // Актуальные вопросы судебно-медицинской науки и практики: матер. межрег. науч.-практ. конф. – Киров, 2010. – С. 388-392.

2. Крылова Е. А. Золпидем и его метаболиты как объекты химико-токсикологического анализа и исследований для экспертных целей / Е. А.Крылова, С. С.Катаев, Ю. А.Хомов // Наркология. – 2012, №4. – С. 43-47.
3. Левин Я. И. Инсомния и принципы ее лечения // Современная психиатрия. – 1998. – № 3. – С. 6-10.
4. Левин Я. И. Некоторые современные подходы к терапии инсомнии / Я. И.Левин, Г. В. Ковров // Лечащий Врач. – М., 2003. – С. 20-22.
5. Регистр лекарственных средств России. Энциклопедия лекарств. – 15-е изд. – М., 2007. – С. 339-343.
6. Харкевич Д. А. Фармакология. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – С. 187-188.
7. Castro A. Determinacion de zolpidem en plasma por cromatografía liquida de alta resolución y deteccion de fluorescencia / A.Castro, O.Quintela, M.Concheiro // XV Congreso Español de Toxicología. Rev. Toxicol. – 2003. – Vol. 20. – P. 146.
8. Clarke's analysis of drugs and poisons. London: Pharmaceutical press. Electronic version, 2004.
9. Clerck J. Development of a Radioimmunoassay for the determination of Zolpidem in biological samples / J.Clerck, P.Daenens // Analyst – 1997. – Vol. 122, № 10. – P. 1119-1124.
10. Guinebault P. High performance liquid chromatographic determination of zolpidem, a new sleep inducer, in biological fluids with fluorometric detection / P.Guinebault, C.Dubruc, P.Hermann // J. Chromatogr. Biomed. Appl. – 1986. – Vol. 383. – P. 208-211.
11. Hempel, G. Direct determination of zolpidem and its main metabolites in urine using capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection / G.Hempel, G.Blaschke // J. of Chromatography. – 2005. – Vol. 675. – P. 131-137.
12. Keller T. GC/MS determination of zolpidem in postmortem specimens in a voluntary intoxication / T.Keller, A.Schneider, E.Tutsch-Bauer // Forensic Sci. Int. – 1999. – Vol. 106. №2. – P. 103-108.
13. Kintz P. Drug-facilitated sexual assault and analytical toxicology: the role of LC-MS/MS A case involving zolpidem / P. Kintz, M. Villain, V. Dumestre-Toulet // J. Clin. Forensic Med. – 2005. – Vol. 12, №1. – P. 36-41.
14. Lewis J. H. A simple and rapid method for the identification of zolpidem carboxylic acid in urine / J. H.Lewis, J. H. Vine // J. Anal. Toxicol. – 2007. – Vol. 31, № 4. – P.195-199.
15. Lichtenwalner M. A fatality involving zolpidem / M.Lichtenwalner, R.Tully // J. Anal. Toxicol. – 1997. – Vol. 21, № 7. – P. 567-569.
16. Logan B. Zolpidem and driving impairment / B.Logan, F.Couper // J. Forensic Sci. – 2001. – Vol. 46. – P. 105-110.

17. Major metabolites of zolpidem: Expeditious synthesis and mass spectra / F. Klupsch [et al.] // Chem. Pharm. Bull. – 2006. – Vol. 54, № 9. – P. 1318-1321.
18. Ondra P. Possibilities and problems with identification and determination of «new» hypnotics / P.Ondra, R.Zednicova, R.Matlach // Biomedical Papers of the Faculty of medicine of «Palacky University», Olomouc, Czech Republic. – 2005. – Vol. 149, №2. – P. 469.
19. Oxidative metabolism of zolpidem by human liver cytochrome P450S / L.Pichard [et al.] // Drug Metabolism and Disposition. – 1995. – Vol. 23, №11. – P. 1253-1262.
20. Quintela O. Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry for low concentration of 21 Benzodiazepines, metabolites and analogs in urine: Method with forensic applications / O. Quintela, F.-L.Sauvage, F. Charvier // Drug Monitoring and Toxicology / Clinical Chemistry. – 2006. – Vol.52, №7. – P. 1346-1355.
21. Rohrig T. P. Identification and quantitation of zolpidem in biological matrices using gas chromatography-mass spectrometry (GC-MS) / T.P.Rohrig, L.A.Harryman, M.C.Norton // Methods Mol. Biol. – 2010. – Vol. 603. – P. 519-526.
22. The incidence of zolpidem use in suspected DUI drivers in Miami-Dade Florida: a comparative study using immunanalysis zolpidem ELIZA KIT and gas chromatography-mass spectrometry screening / L.Reidy [et al.] // J. Anal. Toxicol. – 2008. – Vol. 32, № 8. – P. 688-694.
23. Wyss P.A. Acute overdose of zolpidem / P.A.Wyss, D.Radovanovic, P.J.Meier-Abt // Schweiz. Med. Wochenschr. – 1996. – Vol. 126, №18. – P. 750-756.
24. Zolpidem metabolism in vitro responsible cytochromes, chemical inhibitors, and in vivo correlations / L. L. Moltke [et al.] // J. Clin. Pharmacol. – 1999. – Vol. 48. – P. 89-97.

**Рецензенты:**

Гейн В. Л., д-р хим. наук, профессор, зав. кафедрой физической и коллоидной химии ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава РФ, г. Пермь.

Михайловский А. Г., д-р фармацевт. наук, доцент, зав. кафедрой неорганической химии ГБОУ ВПО ПГФА Минздрава РФ, г. Пермь.