

Agnieszka PRENDA¹
 Jagoda MAJCERCZYK¹
 Andrzej KOBUS²
 Sławomir MICHALAK^{3,4}
 Wojciech PIEKOSZEWSKI^{1,5}
 Ewa FLOREK⁶

Wpływ palenia tytoniu na poziom S-citalopramu u pacjentów leczonych z powodu depresji

¹Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków
 Kierownik: Prof. dr hab. Paweł Kościelniak

²Klinika Psychiatrii Dorosłych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, Poznań
 Kierownik: Pprof. dr hab. n. med. Janusz Rybakowski

³Zakład Neurochemii i Neuropatologii, Katedra Neurologii Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, Poznań
 Kierownik: Dr hab. med. Sławomir Michalak

⁴Zespół Badawczo-Lecznicy Chorób Neuroimmunologicznych Instytut Centrum Medycyny Doświadczalnej i Klinicznej PAN im. M. Mossakowskiego
 Kierownik: Dr hab. med. Sławomir Michalak

⁵Pracownia Wysokorozdzielczej Spektrometrii Mas, Środowiskowe Laboratorium Analiz Fizykochemicznych i Badań Środowiskowych, Wydział Chemii, Uniwersytet Jagielloński, Kraków
 Kierownik Pracowni: Prof. dr hab. n. med. Wojciech Piekoszewski

⁶Laboratorium Badań Środowiskowych, Katedra i Zakład Toksykologii, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego, Poznań
 Kierownik Laboratorium: Prof. dr hab. Ewa Florek

Dodatkowe słowa kluczowe:
 citalopram
 enancjomery
 dym tytoniowy

Additional key words:
 citalopram
 enantiomers
 tobacco smoke

Podziękowania
 Dziękujemy firmie H. Lundbeck A/S, Copenhagen, Dania za nieodpłatne przekazanie substancji wzorcowej citalopramu.

Adres do korespondencji:
 Prof. dr hab. n. med. Wojciech Piekoszewski
 Zakład Chemii Analitycznej
 Uniwersytet Jagielloński
 30-060 Kraków, ul. Ingardena 3
 Tel.: 12 663 56 00; Faks: 12 663 56 01
 e-mail: wojciech.piekoszewski@uj.edu.pl

W pracy badano wpływ palenia tytoniu na poziom S-citalopramu u pacjentów leczonych z powodu depresji. Zawarte w dymie tytoniowym substancje mogą indukować lub powodować inhibicję enzymów biorących udział w biotransformacji ksenobiotyków. Zwalidowano metody wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) z detektorem spektrofotometrycznym z szeregiem diod (DAD) oznaczania citalopramu i demetylocitalopramu oraz ich enancjomerów w osoczu. Główną częścią badań było oznaczenie mieszanin racemicznych oraz enancjomerów citalopramu i demetylocitalopramu w próbkach osocza ludzkiego pochodzących od pacjentów palących tytoń i leczonych z powodu depresji. Wyniki oznaczania citalopramu w próbkach pacjentów palących zbliżone są do dolnej granicy stężeń w stanie stacjonarnym leku (30 - 130 ng/ml) u pacjentów niepalących. Sugeruje to, że palenie tytoniu prawdopodobnie nie wpływa na szybszą eliminację tego leku. Przeprowadzone badania na małej grupie pacjentów nie potwierdzają hipotezy, iż substancje zawarte w dymie tytoniowym powodują szybszą eliminację citalopramu oraz jego S(+)-enancjomeru. Konieczne są dalsze badania z udziałem większej grupy pacjentów, które wykluczyłyby wpływ dymu tytoniowego na szybkość eliminacji badanych leków.

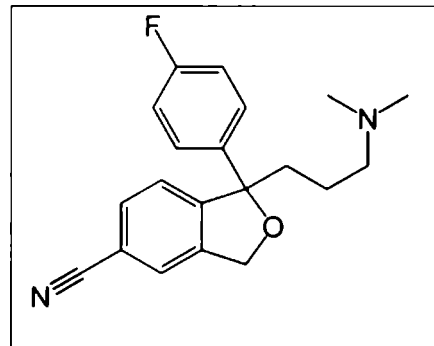
Wstęp

Depresja jest chorobą towarzyszącą człowiekowi od zarania dziejów. Obecnie, choroba ta stanowi jeden z najpoważniejszych problemów zdrowotnych na świecie. Według Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organization*, WHO) na różne odmiany depresji cierpi ok. 121 milionów ludzi na całym świecie [6].

Głównym sposobem leczenia depresji jest farmakoterapia.

Citalopram (CIT) (rycina 1) jest lekiem przeciwdepresyjnym należącym do grupy selektywnych inhibitorów wychwytnego serotoniny (ang. *Selective Serotonin Reuptake Inhibitors*, SSRI) [4]. Stosuje się go powszechnie w farmakoterapii depresji i

The aim of the study was evaluation of the effect of tobacco smoking on the pharmacokinetics of S-citalopram. The enzymes involved in the metabolism of drugs may have been induced or inhibited by the substances contained in tobacco smoke. For the determination of the plasma concentrations of citalopram and desmethylcitalopram and their enantiomers the analytical methods validation was performed. Analyses were performed using high performance liquid chromatography (HPLC) connected with diode array detector (DAD). The results have confirmed the effectiveness of the selected analytical methods. The plasma concentrations of racemic mixture and enantiomers of citalopram and desmethylcitalopram were determined in human samples. All patients have been smokers. The results show that the citalopram's steady-state concentration is close to the lower limit of quantification of analytical method. The results suggest that the substances contained in tobacco smoke do not accelerate the elimination of citalopram and its S(+)-enantiomer from human body.



Rycina 1
 Wzór strukturalny citalopramu.
 Chemical structure of citalopram.

zaburzeniach lękowych. Udowodniono, że w porównaniu do pozostałych leków z grupy SSRI, citalopram cechuje duża selektywność wychwytu zwrotnego serotoniny i praktycznie nie ma on wpływu na wychwyt zwrotny noradrenaliny oraz dopaminy. Ponadto występowanie skutków ubocznych w trakcie farmakoterapii jest znikome.

Citalopram jest związkiem chiralnym występującym głównie jako równomolowa mieszanina S(+)-enancjomeru (S-citalopram) i R(-)-enancjomeru (R-citalopram) [5]. Badania wykazały, iż za praktycznie całkowity efekt inhibicji wychwytu zwrotnego serotoniny odpowiedzialny jest S-citalopram. Wyniki otrzymane dla S(+)-enancjomeru oraz mieszaniny racemicznej w porównaniu do placebo, podanych w jednakowej dawce i z taką samą zawartością S-citalopramu, wykazały lepszy efekt działania czystego S(+)-enancjomeru. Można, zatem wnioskować, iż obecność R-citalopramu hamuje działanie S-citalopramu. Obserwacja ta stała się bodźcem do wprowadzenia w 2002 roku na rynek farmaceutyczny escitalopramu, jako niezależnego leku przeciwdepresyjnego.

Dzienna zalecana dawka citalopramu wynosi od 20 do 40 mg, co odpowiednio zapewnia detekcję leku w zakresie 30-130 ng/ml [4].

Dostępność biologiczna citalopramu po podaniu doustnym osiąga 80%, a przyjmowanie pokarmu nie wpływa na jego wchłanianie [1]. Maksymalne stężenie leku w osoczu osiągane jest po upływie 2 - 4 godzin. W porównaniu do pozostałych leków z grupy SSRI, stopień wiązania citalopramu z białkami jest niski (80%). Wynika z tego, iż interakcje z innymi lekami na drodze konkurencji o wiązanie z białkami są nieznaczne. Objętość dystrybucji citalopramu waha się w granicach 12 - 16 L/kg.

Metabolizm citalopramu przebiega w wątrobie poprzez dwukrotną N-demetylację, najpierw do demetylocitalopramu (D-CIT), a następnie do didemetylocitalopramu (DD-CIT) przy udziale enzymów CYP2C19, CYP3A4 i CYP2D6.

Citalopram występuje w osoczu w postaci niezmienionej i w postaci metabolitów, które stanowią ok. 30 - 50% D-CIT oraz ok. 5 - 10% DD-CIT w stosunku do stężenia CIT. Badania in vitro wykazały, że inhibicja wychwytu zwrotnego serotoniny przez CIT jest około 4 razy silniejsza niż w przypadku D-CIT i około 13 razy silniejsza niż DD-CIT.

Biologiczny okres półtrwania citalopramu wynosi około 30 - 35 godzin, natomiast dla jego metabolitów 50 i 100 godzin odpowiednio dla D-CIT i DD-CIT. Około 23% całkowitej dawki citalopramu wydalane jest przez nerki w postaci niezmienionej.

Palenie tytoniu jest problemem, który dotyczy znaczącej części populacji całego świata [7]. Z uzależnieniem tym w około 80% zmagają się pacjenci cierpiący z powodu depresji. Badania dowodzą, że palenie papierosów może zmieniać mechanizmy farmakokinetyczne i farmakodynamiczne jednocześnie zażywanych leków.

Dym tytoniowy zawiera ponad 4300 związków chemicznych, z czego około 40 z nich to substancje rakotwórcze [3]. Wprowadzanie do organizmu tak ogromnej licz-

Tabela I

Wybrane informacje o pacjentach uczestniczących w badaniu.

Selected information about patients participating in the study.

Wiek [%]	
20-39	50
40-59	25
60 lub więcej	25
Płeć [%]	
Kobieta	25
Mężczyzna	75
Palenie papierosów [%]	
Tak	100
Nie	0
Schorzenia wątroby [%]	
Tak	0
Nie	100
Przyjmowanie innych leków [%]	
Tak	50
Nie	50

Tabela II

Stężenia citalopramu i demetylocitalopramu w stanie stacjonarym w osoczu pacjentów palących tytoń i leczonych z powodu depresji.

Steady-state plasma concentrations of citalopram and demethylcitalopram in the blood plasma of smoking patients and treated with citalopram.

Pacjent	C _{CIT} [ng/ml]	CD _{CIT} [ng/ml]
1	58,4	37,4
2	42,1	38,7
3	34,2	

by związków przy równoczesnym przyjmowaniu leków może być przyczyną interakcji farmakokinetycznych. Najczęściej do interakcji dochodzi na etapie biotransformacji leku. Mogą one polegać na przyspieszeniu ich przemian w wyniku indukcji enzymatycznej lub zahamowaniu ich metabolizmu na skutek inhibicji enzymów biorących udział w biotransformacji. W wyniku tych mechanizmów może dojść do obniżenia lub podwyższenia stężenia leku w surowicy, a w konsekwencji zmian właściwości farmakologicznych. Największą grupą substancji zawartych w dymie tytoniowym, które przyspieszają eliminację leków są wielopierścieniowe węglowodory alifatyczne (WWA). Indukują one enzymy wątrobowe z rodziny cytochromu P450, które są odpowiedzialne za metabolizm przyjmowanych ksenobiotyków. Z kolei zawarte w dymie tytoniowym cyjanki oraz tlenek węgla działają inhibitorycznie na enzymy cytochromu P450, poprzez wiązanie się z Fe grupy hemowej. Do leków, których stężenie znacznie obniża się w wyniku palenia papierosów zaliczyć można przede wszystkim leki psychiatryczne, preparaty przeciwastmatyczne, leki stosowane w terapii przeciwnowotworowej.

Celem przeprowadzonych badań było wykazanie wpływu zawartych w dymie tytoniowym substancji na poziom citalopramu oraz jego enancjomerów w osoczu.

Material i metody

Badaniem poddano próbki osocza pobrane od 8 pacjentów leczonych z powodu depresji w Klinice Psychiatrii Dorosłych oraz pacjentów Katedry Neurologii Uniwersytetu Medycznego im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu.

Na przeprowadzenie badań uzyskano zgodę Komisji Bioetycznej przy Uniwersytecie Medycznym w Poznaniu, Uchwała nr 325/09.

Farmakoterapia oparta była głównie na podawaniu citalopramu, natomiast szczegółowe dane dotyczące chorych zostały zebrane w postaci ankiet i uwzględnione w opracowywaniu wyników.

Oznaczenia citalopramu oraz jego enancjomerów w badanym materiale biologicznym przeprowadzono wykorzystując uprzednio opracowane i zwalidowane metody HPLC z detektorem DAD.

Metodyka oznaczania mieszaniny racemicznej citalopramu

Mieszaninę racemiczną citalopramu (Lundbeck, Dania) oraz jego metabolitu (Lundbeck, Dania) z dodatkiem standardu wewnętrznego (doksepina - Aldrich, Niemcy) ekstrahowano z osocza techniką ciecz-ciecz wykorzystując w tym celu mieszaninę n-heksanu z alkoholem izoamylowym (98,5 : 1,5 v/v).

Analizy racematów przeprowadzono wykorzystując kolumnę chromatograficzną Spheri-5 C18 RP o wymiarach 100 x 4,6 mm i średnicy ziaren 5 µm. Fazę ruchomą stanowiła mieszanina buforu fosforanowego i acetonitrylu (65 : 35 v/v). Bufor fosforanowy sporządzono poprzez zmieszanie wody, dietyloaminy o pH = 2,36 i stężonego kwasu fosforowego w stosunku 248,25 : 1 : 0,75.

Detekcję oznaczanych analitów prowadzono przy długości fali λ=240 nm.

Opracowana metoda oznaczania citalopramu charakteryzowała się granicą wykrywalności równą 32 ng/ml oraz granicą oznaczalności równą 96 ng/ml. Współczynnik zmienności w ciągu dnia był mniejszy od 15%.

Metodyka oznaczania enancjomerów citalopramu

Mieszaninę enancjomerów citalopramu (Lundbeck, Dania) oraz ich metabolitów (Lundbeck, Dania) z dodatkiem standardu wewnętrznego (R-propranolol - Aldrich, Niemcy) ekstrahowano z osocza techniką ciecz-ciecz wykorzystując w tym celu mieszaninę n-heksanu z alkoholem izoamylowym (98,5 : 1,5 v/v).

Analizy racematów przeprowadzono wykorzystując kolumnę chromatograficzną Cirotobic V o wymiarach 250 x 4,6 mm i średnicy ziaren 5 µm. Fazę ruchomą stanowił roztwór metanolu, trietyloaminy i 98% kwasu octowego zmieszanych odpowiednio w stosunku 99,9 : 0,060 : 0,055.

Detekcję oznaczanych analitów prowadzono przy długości fali 240 nm.

Dla analizy S-CIT i R-CIT uzyskano granice wykrywalności równe odpowiednio 11 i 4 ng/ml oraz granice oznaczalności równe 33 i 12 ng/ml. Współczynnik zmienności w ciągu dnia był mniejszy od 15%.

Wyniki

Dane socio-demograficzne

W tabeli I zestawiono dane socjodemograficzne dotyczące chorych na depresję, którzy poddani byli farmakoterapii citalopramem. Wyniki zostały opracowane na podstawie ankiet przeprowadzonych wśród pacjentów.

Oznaczenie citalopramu i demetylocitalopramu w próbkach osocza

Wyniki oznaczania citalopramu i jego metabolitu uzyskane w próbkach pacjentów palących tytoń i leczonych z powodu depresji zestawiono w tabeli II.

Oznaczenie enancjomerów citalopramu i ich metabolitów w próbkach osocza

Wyniki oznaczania enancjomerów citalopramu i demetylocitalopramu uzyskane w

Tabela III

Stężenia enancjomerów citalopramu i demetylocitalopramu w stanie stacjonarym w osoczu pacjentów palących tytoń i leczonych z powodu depresji.

Steady-state plasma concentrations of enantiomers of citalopram and desmethylcitalopram in the blood plasma of smoking patients and treated with depression.

Pacjent	CS-CIT [ng/ml]	CR-CIT [ng/ml]	CS-D-CIT [ng/ml]	CR-D-CIT [ng/ml]
1	14,2	31,5	-	14,5
2	12,1	-	-	-
3	*3,5	16,2	-	9,1
4	35,5	-	-	-
5	23,7	-	-	6,2
6	*5,3	7,9	-	6,7
7	12,0	20,6	-	8,5

* Wyniki poniżej granicy wykrywalności

próbek pacjentów palących tytoń i leczonych z powodu depresji zestawiono w tabeli III.

Omówienie

Efekt terapeutyczny leku warunkowany jest jego stężeniem w ustroju. Zaburzenia procesów farmakokinetycznych citalopramu wywołane dymem tytoniowym mogą prowadzić do istotnych zmian w stężeniach tego leku, czego skutkiem może być utrata działania terapeutycznego, bądź pojawienie się efektu toksycznego. Głównym argumentem za podjęciem niniejszych badań była potrzeba przebadania wpływu dymu tytoniowego na farmakokinetykę citalopramu, ponieważ jest to jeden z częściej przepisywanych leków przeciwdepresyjnych, a ponad 80% pacjentów depresyjnych pali tytoń.

W badaniach przeprowadzono oznaczenie citalopramu i demetylocitalopramu w postaci ich mieszanin racemicznych oraz izomerów optycznych w osoczu pacjentów palących tytoń.

Wiek pacjentów biorących udział w badaniu był zróżnicowany (tabela I). Dwadzieścia pięć procent badanych stanowiły osoby powyżej 60 roku życia, u których możliwe jest wydłużenie biologicznego okresu

połtrwania leku na skutek obniżenia się klirensu [2]. Istnieje, więc prawdopodobieństwo, iż próbki osocza pacjentów tej grupy wiekowej mogą zawierać zwiększone ilości oznaczanego leku.

W grupie badawczej nie stwierdzono schorzeń wątroby, które mogłyby wpływać na szybkość biotransformacji leku i jego metabolitu.

Niektórzy pacjenci oprócz przyjmowania citalopramu lub escitalopramu zażywała także inne leki. Należały do nich Ebivol (stosowany w leczeniu nadciśnienia tętniczego), NeoMag (suplement diety), klazepol (stosowany w leczeniu schizofrenii), wśród tych leków nie było znanych induktorów enzymów mikrosomalnych, a niski stopień wiązania citalopramu z białkami osocza (dla CIT równego 80%, dla S-CIT 56%), pozwala wykluczyć interakcje opartą na mechanizmie wypierania z wiązania z białkami.

Wyniki oznaczania citalopramu w próbkach pacjentów palących tytoń (tabela II) zbliżone są do dolnej granicy stężeń w stanie stacjonarym leku (30 -130 ng/ml) u pacjentów niepalących. Sugeruje to, że palenie tytoniu prawdopodobnie nie wpływa na jego szybkość eliminacji z organizmu.

Ze względu na fakt, iż stężenia enancjomerów citalopramu (R, S-CIT) i demetylocitalopramu (R, S-D-CIT) w próbkach badanych pacjentów (tabela III) w większości przypadków były poniżej granicy oznaczalności lub wykrywalności, nie umożliwiło to oceny wpływu tego czynnika na stereoselektywną eliminację citalopramu.

Wnioski

1. Opracowane metody oznaczania mieszanin racemicznych oraz enancjomerów citalopramu i jego metabolitu potwierdziły jej przydatność w analizowaniu rzeczywistych próbek (pochodzących od pacjentów leczonych citalopramem lub escitalopramem).

2. Wyniki oznaczania citalopramu w próbkach pacjentów palących zbliżone są do dolnej granicy stężeń w stanie stacjonarym leku (30 -130 ng/ml) u pacjentów niepalących. Sugeruje to, że palenie tytoniu prawdopodobnie nie wpływa na jego szybszą eliminację z organizmu.

3. Przeprowadzone badania na małej grupie pacjentów nie pozwoliły na ocenę wpływu dymu tytoniowego na eliminację enancjomerów citalopramu.

Piśmiennictwo

1. **Bezchlibnyk-Butler K., Aleksic I., Kennedy S.:** Citalopram - A review of pharmacological and clinical effects. *J. Psychiatr. Neurosci.* 2000, 25, 241.
2. **De Mendonça Lima C.A., Baumann P., Brawand-Amey M. et al.:** Effect of age and gender on citalopram and desmethylcitalopram steady-state plasma concentrations in adults and elderly depressed patients. *Prog. Neuro-Psychoph.* 2005, 29, 952.
3. **Florek E., Piekoszewski W.:** Interakcje leków z dymem tytoniowym. Katedra i Zakład Toksykologii. Akademia Medyczna, Poznań 2006.
4. **Greiner C., Hiemke C., Bader W. et al.:** Determination of citalopram and escitalopram together with their active main metabolites desmethyl(es)-citalopram in human serum by column-switching high performance liquid chromatography (HPLC) and spectrophotometric detection. *J. Chromatogr. B.* 2007, 848, 391.
5. **Sánchez C., Bogeso K.P., Ebert B. et al.:** Escitalopram versus citalopram: the surprising role of the R-enantiomer. *Psychopharma.* 2004, 174, 163.
6. Światowa Organizacja Zdrowia [www:] http://www.who.int/mental_health/management/depression/definition/en/index.html (data odczytu 20.05.2011).
7. **Zevin S., Benowitz N.L.:** Drug Interactions with Tobacco Smoking. *Clin. Pharmacokinet.* 1999, 36, 425.