

ВИЗНАЧЕННЯ ПРОЦЕСІВ НЕОБОРОТНОГО ЗВ'ЯЗУВАННЯ ³H-АМІКСИНУ В ОРГАНАХ І ТКАНИНАХ МИШЕЙ

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

Вступ

У 90-ті роки різко зріс інтерес до лікарських препаратів, які мають імуностимулювальні властивості. Імуностимулятори біологічного походження і синтетичні макромолекулярні сполуки мають, як правило, поліпептидний білковий чи полісахаридний характер, що створює труднощі при їх екстракції, стандартизації, дозуванні. У зв'язку з цим останнім часом виник інтерес до пошуку низькомолекулярних імуностимулювальних засобів, здатних підсилювати продукцію ендogenous інтерферону.

Дослідження фармакологічних ефектів низькомолекулярного індуктора інтерферону — тилорону (2,7-біс-[2-N,N-діетиламіно-етокси]-флуорен-9-она — аміксин) показало наявність широкого спектра дії препарату. Йому властива біологічна активність: противірусна [1–3], інтерфероніндукуюча [4], протипухлинна [5], ферментативна [6–8] та радіопротекторна [9].

Незважаючи на широкі дослідження процесів фармакодинаміки аміксину, дані з фармакокінетики і метаболізму препарату практично відсутні [10; 11].

Мета роботи — вивчення процесів розподілу ³H-аміксину в організмі мишей при його пероральному та внутрішньовенному введенні та визначення параметрів його накопичення в органах і тканинах.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проведено на нелінійних самцях мишей масою 18–24 г за умов природного освітлення та вільного доступу до води і їжі. Для дослідження процесів фармакокінетики препарату в організмі експериментальних тварин використано синтезований на спільному підприємстві «ІнтерХім» [³H]-аміксин (2,7-біс-[2-N,N-діетиламіно-[1-³H]-етокси]-флуорен-9-он дигідрохлорид) [1]. Визначення питомої активності та радіохроматографічної чистоти синтезованого зразка [³H]-I виявило високий ступінь чистоти препарату (99,6 %), питома активність його становила 2,3 Сі/мол.

Аміксин (в ізотонічному розчині) вводили внутрішньовенно (у хвостову вену) і перорально дозою 50 мг/кг. Через проміжки часу 5, 15,

30 хв., а в подальшому через 1, 2, 4, 8 і 24 год під нембуталовим знеболюванням тварин забивали і вилучали зразки органів і тканин. У гомогенатах (1:5) тканин (об'єм 0,3 мл) і зразках плазми крові (0,3 мл) визначали вміст загального радіоактивного матеріалу.

Визначення проводили на сцинтиляційному фотометрі Tri Carb 2700 (Canberra Packard, USA).

Результати дослідження та їх обговорення

Вивчення процесів розподілу аміксину у мишей показало, що препарат досить швидко надходить у всі досліджувані органи і тканини при обох способах введення.

Як видно з таблиці, при обох способах введення мишам [³H]-I для процесів розподілу характерна швидка фаза надходження, яка завершується впродовж 1 год. Найбільший вміст загальної радіоактивності спостерігався в печінці та нирках. Найменша концентрація спостерігалася в плазмі крові за обох способів введення (див. таблицю).

Як видно з результатів дослідження, вміст препарату в печінці за весь термін експерименту більш як у сто разів перевищує концентрацію в плазмі крові.

Особливістю процесів надходження, розподілу та елімінації загального радіоактивного матеріалу є досить повільні процеси його елімінації з організму протягом досліджуваного проміжку часу (0,083–24 год). При вивченні процесів фармакокінетики [³H]-I в організмі мишей були виявлені такі особливості: при внутрішньовенному введенні — в плазмі крові, нирках, головному мозку, серцевому та скелетному м'язах вміст загального радіоактивного матеріалу (аміксину і його метаболітів) значно вищий, ніж при пероральному введенні (див. табл. 1).

У печінці та селезінці вірогідних відмінностей між рівнями вмісту препарату при різних способах уведення не виявлено. Цікавою особливістю досліджуваних процесів є високий рівень вмісту загальної радіоактивності в легенях у перших 5 інтервальних вимірах досліду (5 хв–2 год) при внутрішньовенному введенні, що перевищує вміст аміксину і його ме-

таболітів у інших органах і тканинах. Це дозволяє зробити припущення про ефект первинного проходження препарату через легеневу тканину. При вивченні кінетики розподілу аміксину в органах і тканинах мишей за умов його внутрішньовенного і перорального введення виявлено непропорційне зростання вмісту ³H-продуктів у селезінці тварин до кінця досліджу (див. таблицю).

Істотне значення для оцінки безпеки використання лікарських препаратів мають дослідження параметрів їх необоротного зв'язування в різних органах і тканинах [12]. Досі не існує загальноприйнятих регламентів експериментів і формального апарата, які забезпечували б коректну оцінку кількісних параметрів цих процесів. У даній роботі на основі формального апарата фазової фармакокінетики [13] нами запропоновано метод, що забезпечує:

— якісну ідентифікацію (визначення наявності) процесу необоротного зв'язування ксенобіотика чи його метаболітів зі складовими компонентами досліджуваних органів і тканин;

— кількісну оцінку відносної ефективності процесів необоротного зв'язування ксенобіотиків в органах і тканинах.

Обґрунтування підходу. Пропонований підхід до вирішення проблеми ґрунтується на таких твердженнях:

1. Вміст препарату в органі чи тканині (A_t) визначається різницею інтегралів швидкостей процесів його надходження з крові (1) в орган (2) і з органа (2) у кров (1):

$${}^2A_t = {}^2C_t \cdot {}^2V = {}^{12}k {}^1AUC_{0-t} - {}^{21}k {}^2AUC_{0-t}, \quad (1)$$

де 2C_t — концентрація ксенобіотика в органі в момент часу (t); ${}^{12}k$ і ${}^{21}k$ — константи швидкості першого порядку (їхня розмірність $[\text{год}]^{-1}$) масоперенесення ксенобіотика з (1) у (2) і з (2) у (1); ${}^1AUC_{0-t}$ і ${}^2AUC_{0-t}$ — площі під фармакокінетичною кривою вмісту препарату в плазмі крові та органах від 0 до t.

2. Швидкості процесів масоперенесення між двома біофазами — кров'ю і досліджуваним органом — пропорційні концентрації ксенобіотика в них [13].

3. Швидкість зв'язування ксенобіотика в досліджуваному органі (тканині) пропорційна кількості вільної (незв'язаної) сполуки (вільн. ${}^2C_t \cdot {}^2V$):

$${}^{22}v_t = \text{вільн.} {}^2C_t \cdot {}^2V \cdot {}^{22}\chi, \quad (2)$$

де 2V і ${}^{22}\chi$ — обсяг органа і константа швидкості першого порядку, розмірність — $[\text{год}]^{-1}$ зв'язування речовини в ньому (рис. 1).

При дослідженні кінетики розподілу аміксину в органах і тканинах мишей за умов внутрішньовенного і перорального введення препарату виявлено зростання вмісту ³H-продуктів у селезінці тварин зі збільшенням часу досліджу.

Відношення концентрації аміксину в селезінці тварин до його концентрації в плазмі крові в інтервалі досліджу зростає практично лінійно (рис. 2). Однак це може бути наслідком того, що відношення констант швидкостей прямого

Таблиця

Вміст загального радіоактивного матеріалу (DPM/г(мл)) в органах і тканинах мишей при різних способах введення їм ³H-I протягом інтервалу досліджень (0,083–24 год)

Час, год	Селезінка	Мозок	Печінка	Нирка	Скелетний м'яз	Серцевий м'яз	Легені	Плазма крові
Внутрішньовенне введення								
0,083	17,800±0,240	47,00±8,17	32,00±6,94	83,00±21,76	21,30±5,82	77,80±17,67	115,90±55,45	—
0,25	35,00±5,67	50,80±5,78	64,00±7,76	88,60±11,37	29,10±3,02	87,30±19,20	177,30±21,56	—
0,5	43,50±6,78	52,70±8,03	78,40±8,33	109,30±11,85	21,80±2,99	61,50±14,66	103,10±16,99	6,10±2,18
1	51,00±7,82	50,70±7,45	74,90±8,27	86,40±13,94	18,80±2,98	38,80±9,69	60,50±12,96	0,73±0,11
2	77,40±8,24	59,10±2,79	119,70±9,80	119,00±21,89	27,068±2,580	47,30±5,09	75,10±7,83	1,130±0,354
4	51,40±6,19	62,60±10,04	125,80±4,61	91,50±7,12	25,80±2,77	30,10±3,86	68,30±12,87	0,810±0,098
6	35,60±6,29	34,30±5,92	126,20±18,01	92,10±16,14	22,40±4,25	35,30±4,97	44,10±8,95	0,420±0,045
8	65,50±14,02	33,30±4,27	124,00±11,81	48,90±12,32	18,90±3,63	24,80±4,28	42,10±15,89	0,810±0,067
24	97,40±7,66	19,10±2,32	74,10±4,75	26,00±4,66	16,20±2,53	13,50±2,52	31,60±2,79	0,290±0,037
Пероральне введення								
0,25	12,50±6,08	2,20±0,44	103,30±6,81	15,80±1,89	4,00±0,32	9,1±0,8	19,60±1,55	0,50±0,10
0,5	14,20±2,74	3,200±0,483	95,00±20,98	16,55±3,25	3,00±0,71	6,70±0,99	18,80±1,75	0,29±0,08
1	36,10±5,78	1,700±0,404	86,60±14,72	19,80±2,98	5,90±1,31	13,30±2,54	19,70±3,33	0,47±0,13
2	49,00±5,56	7,10±0,62	153,80±22,08	29,84±3,70	7,40±1,19	13,30±0,62	21,30±2,74	0,43±0,07
4	36,60±3,35	11,10±0,99	201,90±17,12	54,17±5,87	10,60±1,62	26,10±4,55	29,20±3,77	0,75±0,17
6	24,90±3,87	8,90±1,64	137,20±11,45	34,00±3,51	8,80±1,62	16,90±1,47	21,30±1,93	0,40±0,06
8	58,10±8,07	11,20±2,35	105,20±14,34	33,60±3,18	9,30±1,86	15,20±1,70	18,40±3,95	0,44±0,06
24	109,50±14,98	16,00±3,17	128,10±9,39	34,60±2,37	16,47±3,34	12,90±1,90	48,30±2,93	0,37±0,03

і зворотного масоперенесення велике, а характеристичний час цих процесів значно перевищує час досліджу.

Для визначення факту необоротного зв'язування аміксину з тканиною селезінки й оцінки параметрів цього процесу було розроблено метод визначення параметрів необоротного зв'язування ксенобіотика в тканинах організму.

Виходячи з тверджень, поданих в обґрунтованні підходу, кількість необоротно зв'язано-

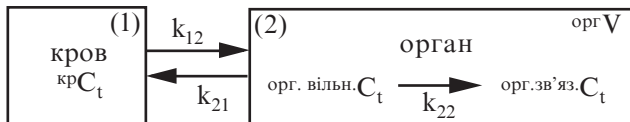


Рис. 1. Схема процесів масоперенесення ксенобіотика з крові в досліджуваний орган і назад, сполучених з необоротним процесом його зв'язування з відповідними структурами

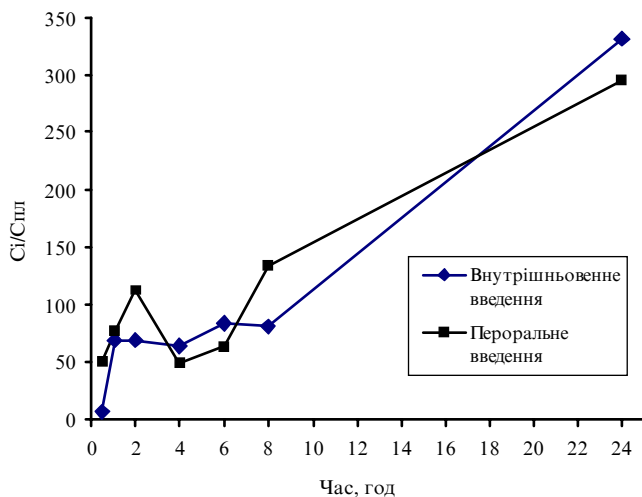


Рис. 2. Зміна відношення концентрації аміксину у його метаболітів до концентрації в плазмі крові у селезінці при його пероральному і внутрішньовенному введенні мишам дозою 50 мг/кг

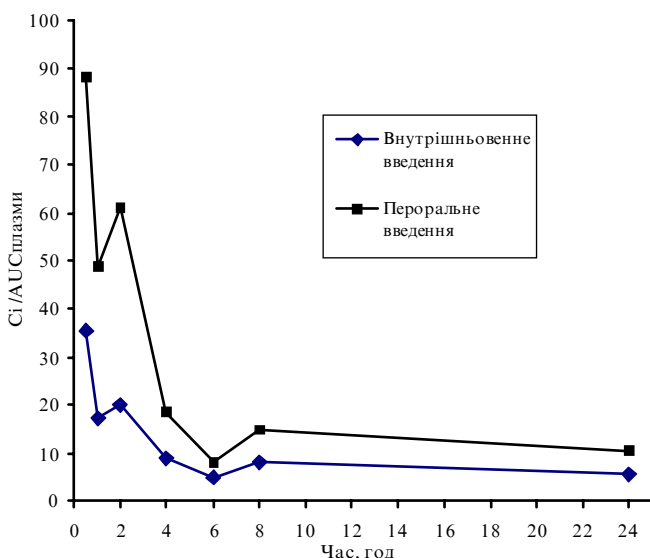


Рис. 3. Динаміка співвідношення між вмістом аміксину в селезінці мишей і площею під концентраційною кривою вмісту аміксину в плазмі крові при його пероральному і внутрішньовенному введенні мишам

го ($^{зв'яз.2}C_t$) препарату в момент часу t становить:

$$^{зв'яз.2}C_t \cdot ^2V = ^{22}\chi^2 V \int_0^t v_t dt = ^{22}\chi^2 V \cdot ^{вільн.2}AUC_{0-t}, \quad (3)$$

$$^{зв'яз.2}C_t = ^{вільн.2}AUC_{0-t} \cdot ^{22}\chi, \quad (3.1)$$

де $^{вільн.2}AUC_{0-t}$ — площа під фармакокінетичною (концентраційною) кривою вмісту вільного (незв'язаного) ксенобіотика в органі за часом.

Вміст вільної сполуки ($^{вільн.2}C_t$) безпосередньо визначити бути не може, тому визначають сумарний вміст вільного і зв'язаного препарату в органі ($^{вільн.2}C_t + ^{зв'яз.2}C_t$), однак ми можемо стверджувати (з рис. 1 і рівнянь (2, 3)), що

$$^{вільн.2}C_t \cdot ^2V = ^1AUC_{0-t} \cdot ^{12}k - ^{вільн.2}AUC_{0-t} \cdot ^{21}k + ^{зв'яз.2}AUC_{0-t} \cdot ^{22}\chi^2 V, \quad (4)$$

$$\text{де } ^1AUC_{0-t} = \int_0^t v_t dt.$$

Підставивши з (3.1) у (4), маємо:

$$\begin{aligned} \left(^{вільн.2}C_t + ^{зв'яз.2}C_t \right) \cdot ^2V &= \\ &= ^1AUC_{0-t} \cdot ^{12}k - ^{вільн.2}AUC_{0-t} \cdot ^{21}k \\ &= \frac{\left(^{вільн.2}C_t + ^{зв'яз.2}C_t \right)}{^1AUC_{0-t}} = \frac{^1AUC_{0-t} \cdot ^{12}k - ^{вільн.2}AUC_{0-t} \cdot ^{21}k}{^2V}, \quad (5) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \frac{\left(^{вільн.2}C_t + ^{зв'яз.2}C_t \right)}{^1AUC_{0-t}} &= \frac{^1AUC_{0-t} \cdot ^{12}k}{^2V} - \frac{^{вільн.2}AUC_{0-t} \cdot ^{21}k}{^2V} \\ &= \frac{^1AUC_{0-t} \cdot ^{12}k}{^2V} - \frac{^{вільн.2}AUC_{0-t} \cdot ^{21}k}{^2V}. \quad (6) \end{aligned}$$

При

$$t \rightarrow \infty \quad ^{вільн.2}AUC_{0-\infty} \rightarrow ^1AUC_{0-\infty} \frac{^1k}{^1k + ^{22}\chi^2 V}$$

Тоді

$$\frac{\left(^{вільн.2}C_{\infty} + ^{зв'яз.2}C_{\infty} \right)}{^1AUC_{0-\infty}} =$$

$$= \frac{^{12}k}{^2V} - \frac{^{12}k}{^2V} \left(\frac{^{22}\chi}{\frac{^{21}k}{^2V} + ^{22}\chi} \right). \quad (7)$$

Тому що *вільн.* $^2C_\infty \rightarrow 0$, то кількість зв'язаного препарату (при $t \rightarrow \infty$) може бути оцінена з графіка

ка в координатах $\left(\frac{^2C_t}{^1AUC_{0-t}}, t \right)$ (рис. 3).

При $t \rightarrow 0$ крива перетинає ординату в точці, що дорівнює $^{12}k/^2V$, зі збільшенням часу асимптотично прагне до величини

$$\frac{^{12}k}{^2V} \left(\frac{^{22}\chi}{\frac{^{21}k}{^2V} + ^{22}\chi} \right).$$

Перша величина може бути оцінена як $\approx 300 \text{ год}^{-1}$, друга — як $3\text{--}8 \text{ год}^{-1}$, тоді відносна ефективність процесу

$$\left(\frac{^{22}\chi \cdot ^2V}{^{21}k + ^{22}\chi \cdot ^2V} \right)$$

може бути визначена як $1\text{--}2\%$.

Висновки

Таким чином, приблизно $98\text{--}99\%$ препарату, що надходить у тканину селезінки, елімінує з неї назад у плазму крові. Необоротно зв'язуються з тканиною $1\text{--}2\%$. Навіть цього малоефективного процесу досить для значного впливу на кінетику вмісту ^3H -продуктів у селезінці. Це обумовлено високою (див. перетинання кривої з ординатою на рис. 3) швидкістю процесів прямого і зворотного масоперенесення аміксіну в системі: «селезінка — кров».

Для інших органів і тканин тварин (рис. 4) не виявлено вірогідних процесів необоротного зв'язування аміксіну.

ЛІТЕРАТУРА

1. Амиксин. Применение в терапии острых и хронических вирусных заболеваний / Ф. И. Ершов, Э. А. Баткаев, В. И. Головкин и др. — М.: 1998. — 20 с.
2. Морозов В. Г. Применение индуктора эндогенного интерферона амиксина для лечения геморрагической лихорадки с почечным синдромом // Рос. мед. журнал. — 2001. — № 15. — С. 656-657.
3. Селькова Е. П. Профилактика острых респираторных вирусных инфекций амиксином // Московск. мед. журнал. — 1999. — № 6. — С. 22-23.
4. Амиксин в лечении экспериментального туберкулеза / Г. Б. Соколова, А. Д. Куничан, Г. Н. Можожина и др. // Большой целевой журнал о туберкулезе. — 2000. — № 11-12. — С. 19-23.
5. Клинические исследования переносимости и интерфериндуцирующей активности «Амиксина» / Н. П. Чижов,

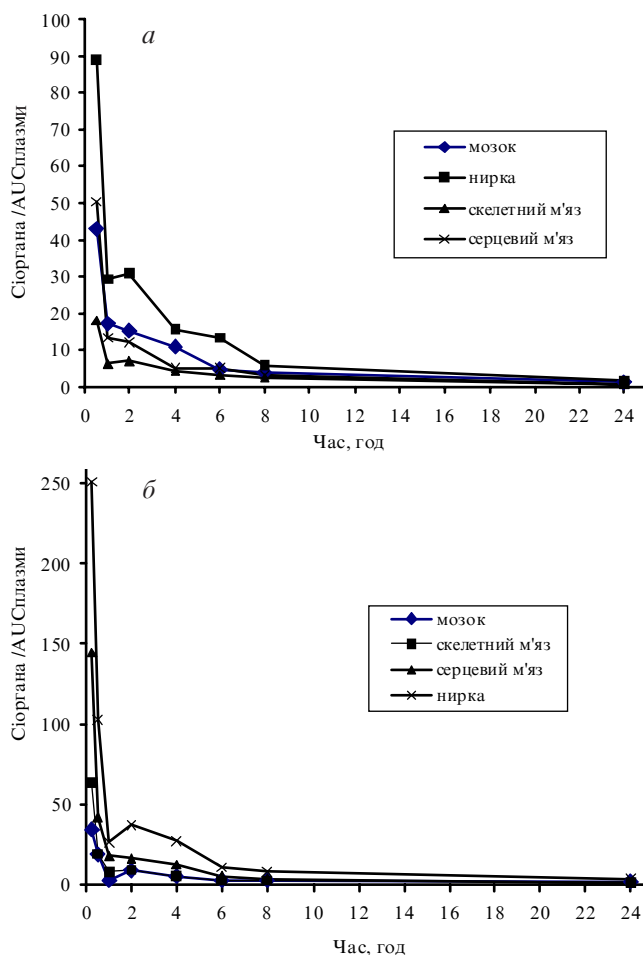


Рис. 4. Залежність співвідношення вмісту аміксіну в органах мишей до площі під концентраційною кривою вмісту аміксіну в плазмі крові при пероральному (а) і внутрішньовенному (б) введенні препарату мишам дозою 50 мг/кг

Т. Т. Смольская, П. И. Байченко и др. // Вопр. вирусологии. — 1990. — № 5. — С. 411-414.

6. Андронати С. А., Литвинова Л. А., Головенко Н. Я. Пероральный индуктор эндогенного интерферона «Амиксин» и его аналоги (обзор литературы и собственных исследований) // Журн. АМН Украины. — 1999. — Т. 5, № 1. — С. 53-66.

7. Биологическая активность липосомальной формы амиксина / Л. А. Литвинова, С. А. Ляхов, С. А. Андронати и др. // Хим-фарм. журн. — 2000. — Т. 34 — № 12. — С. 28-30.

8. Изучение динамики интерферонообразования в организме белых мышей при разных путях введения индуктора интерферона ридостана / Л. Е. Булычев, Е. П. Гончарова, А. Б. Рыжиков и др. // Антибиотики и химиотерапия. — 1998. — № 4. — С. 20-23.

9. Talas M., Szolgyay E. Radioprotective activity of interferon inducers // Arch. Virol. — 1978. — Vol. 56. — P. 309-315.

10. Бажан С. И., Белова О. Е. Молекулярно-генетические аспекты индукции и противовирусного действия интерферона // Вестн. Рос. АМН. — 1998. — № 3. — С. 18-24.

11. Еришов Ф. И., Тазулахова Э. Б. Индукторы интерферона — новое поколение иммуномодуляторов // Вест. Рос. акад. мед. наук. — 1999. — № 4. — С. 52-56.

12. Характер накопления радиоактивного рибофлавина в структурах обожженного глаза и тканях организма экспериментального животного при внутримышечном его введении / Л. В. Кучеренко, С. А. Якименко, В. Г. Зинковский, О. В. Жук, Е. Г. Лобашова // Укр. мед. альманах. — 2001. — № 3. — С. 96-99.

13. Зинковский В. Г., Жук О. В., Головенко М. Я. Фармакологічний аналіз рецепторно-лігандної взаємодії. — К.: Академперіодика, 2001. — 207 с.

УДК 615.033.07

О. В. Жук, В. Г. Зінковський, С. К. Сумрій

ВИЗНАЧЕННЯ ПРОЦЕСІВ НЕОБОРОТНОГО ЗВ'ЯЗУ-ВАННЯ ³H-АМІКСИНУ В ОРГАНАХ І ТКАНИНАХ МИШЕЙ

Вивчення процесів розподілу аміксину при його внутрішньовенному та пероральному введенні мишам виявило наявність двох фаз у фармакокінетиці препарату: швидкої фази надходження до всіх досліджуваних органів та тканин і повільного процесу елімінації з організму під час досліджу.

Найвища загальна радіоактивність спостерігалась у печінці та нирках експериментальних тварин, найменша — у плазмі крові при обох способах введення. Для печінки та легеневої тканини експериментальних тварин при введенні аміксину спостерігається ефект первинного проходження крізь органи. Виявлено зростання вмісту [³H]-продуктів у селезінці тварин зі збільшенням часу досліджу.

Ключові слова: аміксин, процеси розподілу, накопичення.

UDC 615.033.076.9

O. V. Zhuk, V. G. Zinkovsky, S. K. Sumriy

DETERMINATION OF THE IRREVERSIBLE BINDING OF ³H-AMYXIN IN THE ORGANS AND TISSUES OF MICE

Study of the amyxin distribution process at intravenous injection and oral introduction to mice has shown that there are two phases in the compound pharmacokinetics: the first phase is the penetration of the medicine into the examined organs; the second phase is the elimination of the compound from the organism during the studied time interval.

The maximal content of general radioactivity was observed in the liver and kidneys of experimental animals, the minimal — in the blood plasma for the both ways of amyxin introduction. For the liver and lung tissue of experimental animals at amyxin introduction the effect of the initial passing through organs was observed. Accumulation of the content of [³H]-products in the spleen of animals was found in case of increasing of the experiment's time.

Key words: amyxin, distribution processes, accumulation.

УДК 616.831:612.014.482:591.553:616-092.9.259

Д. А. Сутковой, канд. біол. наук,

А. Т. Носов, д-р мед. наук, проф.

ВПЛИВ НОРМОБАРИЧНОЇ ГІПОКСИТЕРАПІЇ НА ПРО-, АНТИОКСИДАНТНИЙ, ОКИСНО-ФОСФОРИЛУВАЛЬНИЙ І МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН МОЗКУ ЗА УМОВ ВНУТРІШНЬОГО ОПРОМІНЕННЯ ¹³⁷Cs

Інститут нейрохірургії ім. акад. А. П. Ромоданова АМН України

Вступ

Експериментальними дослідженнями встановлено активізацію процесів пероксидації в тканині мозку під впливом нелетальних доз іонізуючої радіації (0,5–1 Гр) [1; 2], що порушує функції клітинних, мітохондріальних та ядерних мембран, спричинює розбалансування мембранозалежних біохімічних реакцій [3; 4] і внаслідок цього призводить до ушкодження ядерного та мітохондріального геному [5]. Все це є основою порушень функціонування нервової системи і відіграє вирішальну роль у патогенезі радіаційного ураження ЦНС і, безумовно, становить основу пострадіаційної енцефалопатії у ліквідаторів аварії на ЧАЕС [1; 5; 6]. Таким чином, стає зрозумілою пріоритетність вивчення біологічних наслідків

радіаційного опромінення мозку, а головне — пошуку високоефективних загальнодоступних лікувально-профілактичних засобів.

Нами досліджувалася пострадіаційна дія гіпокситерапії. За основу брали те, що цей фактор здатний стимулювати функціональні можливості фізіологічної антиоксидантної системи (ФАОС), використовуючи природні, еволюційно вироблені та генетично закріплені механізми [7–12]. При цьому також керувалися позитивними результатами, отриманими нами при дослідженні впливу гіпокситерапії за умов дії на ЦНС цілої низки високоспецифічних ушкоджуючих факторів: бемегридового навантаження до прояву кіндлінгової симптоматики, інтоксикації при введенні цисплатину або тіопентал-натрієвого наркозу. Застосування кур-

су НПГ істотно сповільнювало активність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) в крові та мозку, підвищувало ферментативну та загальну антиоксидантну (АО) активність, покращувало формулу крові. Перспективність НПГ як лікувально-профілактичного засобу також показали наші онкологічні експериментальні дослідження, зокрема в розвитку штаму гліоми 101,8. У щурів, яким виконано курс гіпокситренінгу, відповідно до клінічних проявів та гістологічно визначалося гальмування росту пухлин цього штаму, при цьому спостерігалась істотна нормалізація про-, антиоксидантного статусу тренуваних тварин.

Метою нашої роботи було вивчення впливу нормобаричної гіпокситерапії на про-, антиоксидантний стан крові та рівень перекисного окиснення