

## ЛІТЕРАТУРА

1. Руднов В. А. Современное клиническое значение синегнойной инфекции и возможности ее терапии у пациентов отделений реанимации // Инфекции и антимикроб. терапия. — 2002. — Т. 4, № 6. — С. 19-32.
2. Гельфанд Б. Р., Гологорский В. А., Белоцерковский Б. З. Нозокомиальная пневмония, связанная с искусственной вентиляцией легких (НПивл), у хирургических больных. — М.: Медицина, 2000. — 43 с.
3. Macias M., Saltiger S. Comparison of ceftibuten and trimethoprim sulfamethoxazole for the treatment of infections of the urinary tract in children // Revista de enfermedades en pediatria. — 1995. — Vol. VIII. — N 32.
4. Cell photosensitization by porphyrins / J. Moan, S. E. Rogan, J. F. Evensen, Z. Malik // Photobiochem. Photobiophys. Suppl. — 1987. — P. 385-395.
5. Malik Z., Ladan H., Ehrenberg B. Bacterial and viral photodynamic inactivation // Photodynamic therapy — Medical applications / Ed. B. W. Henderson and T. J. Dougherty. — Buffalo: Marcel Dekker Inc., N.Y., 1992. — P. 97-113.
6. Лабинская А. С. Микробиология с техникой микробиологических исследований. — М.: Медицина, 1972. — С. 94-95.
7. Альберт Э. Избирательная токсичность: Пер. с англ. — М.: Мир, 1971. — 432 с.
8. Meso-substituted cationic porphyrins as efficient photosensitisers of gram-positive and gram-negative bacteria / M. Merchat, G. Bertoloni, P. Giacomoni et al. // J. Photochem. Photobiol. B. Biol. — 1996. — Vol. 32, N 1. — P. 153-157.
9. Vaara M. Agents that increase the permeability of the outer membrane // Microbiol. Rev. — 1992. — Vol. 56. — P. 395-411.

УДК 615.033.076.9

С. І. Щукін

# КІНЕТИКА ЕКСКРЕЦІЇ З ОРГАНІЗМУ МИШЕЙ $^{14}\text{C}$ -ЦИНАЗЕПАМУ ПРИ РІЗНИХ СХЕМАХ ЙОГО ВВЕДЕННЯ

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

Серед великої кількості психотропних засобів, що з'явилися за останні десятиліття, найбільш застосовуваними в медицині препаратами є транквілізатори бензодіазепінового ряду [1]. Незважаючи на різноманітність і ефективність медикаментів даного ряду, застосовуваних у неврології, інтенсивність досліджень, спрямованих на відкриття нових препаратів цієї групи, не зменшується. Це обумовлено потребою практичної медицини у препаратах, що мають певний комплекс психофармакологічних властивостей, у тому числі снодійних, седативних, транквілізуючих засобах, які не мають побічної міорелаксантаної дії.

Істотний інтерес для дослідників у даній галузі являє новий водорозчинний оригінальний препарат 1,4-бензодіазепінового ряду циназепам (7-бром-5-(о-хлор)-феніл-1,2-дигідро-3-гемісукцинат-2Н-1,4-бензодіазепін-2-он), синтезований у Фізико-хімічному інституті ім. О. В. Богатського

НАН України [2]. Вивчення спектра фармакологічних властивостей циназепаму показало, що препарат має потужну снодійну, анксиолітичну та седативну дію, що не зумовлює в лікувальних дозах міорелаксантаного ефекту.

Одним з етапів доклінічної оцінки лікарських засобів є експериментальне вивчення процесів метаболізму і фармакокінетики ліків у організмі експериментальних тварин [3].

Мета цієї роботи — вивчення параметрів кінетики екскреції з організму мишей циназепаму та його метаболітів при одноразовому введенні їм  $^{14}\text{C}$ -циназепаму та на фоні багаторазового введення його нерадіоактивного аналога.

## Матеріали та методи дослідження

Дослідження фармакокінетики  $^{14}\text{C}$ -циназепаму проводили на нелінійних мишах-самцях масою 22–34 г. Для збирання сечі та калу тварин вміщували в метаболічні камери "Simax"

(Чехія), забезпечували водою і стандартним харчовим раціоном. Вводили  $^{14}\text{C}$ -циназепам (питома активність 0,22 Кі/моль) експериментальним тваринам у твіновій емульсії ізотонічного розчину хлористого натрію.

Дослідні тварини були поділені на дві групи (по сім тварин у групі): 1) першій групі  $^{14}\text{C}$ -циназепам дозою 14 мг/кг вводили одноразово; вміст загальної радіоактивності визначали щодоби протягом п'яти діб; 2) другій групі тварин попередньо щодоби протягом п'яти діб вводили нерадіоактивний аналог препарату (14 мг/кг); після цього одноразово вводили  $^{14}\text{C}$ -циназепам дозою 14 мг/кг, вміст загальної радіоактивності визначали щодоби протягом п'яти діб. Відбір сечі та калу проводили один раз на добу. Методика відбору була аналогічна описаній раніше [4]. Для визначення загальної радіоактивності з усього об'єму сечі відбирали 0,3 мл, 10 мг калу (порошок) розчиняли в 1 мол мурашиної кислоти і також відбирали 0,3 мл



**Кінетика елімінації загальної радіоактивності з організму мишей при одноразовому введенні  $^{14}\text{C}$ -циназепаму дозою 14 мг/кг і на фоні багаторазового введення його нерадіоактивного аналога,  $M \pm m$ ,  $n=7$**

Час, год	Виділилося з організму, % від введеної дози		
	з сечею	з калом	усього
Одноразове введення			
24	37,79±10,32	18,47±5,09	56,27±11,51
48	53,22±4,28	25,29±1,86	78,52±4,66
72	57,72±1,85	29,45±1,43	87,17±2,34
96	59,05±0,37	32,22±1,16	91,26±1,21
120	59,70±0,11	33,05±0,37	92,75±0,38
Багаторазове введення			
24	53,98±11,61	18,37±6,96	72,35±13,54
48	70,18±6,01	27,35±1,93	97,52±6,31
72	73,00±0,79	30,47±1,58	103,47±1,77
96	74,38±0,34	34,40±1,20	108,78±1,25
120	75,22±0,02	35,87±0,70	111,09±0,70

для визначення препарату. Загальну радіоактивність у біопробах визначали за допомогою сцинтиляційного фотометра "TRI-CARB" фірми "Canberra-Packard" (США). Математичний аналіз отриманих даних здійснювався відповідно до алгоритмів, наведених у [5] і за допомогою програми "Statistika 5.0".

### Результати дослідження та їх обговорення

Вивчення процесів виведення  $^{14}\text{C}$ -циназепаму з організму мишей при різних схемах його введення показало, що препарат і його метаболіти практично цілком виводяться з організму експериментальних тварин (табл. 1). Протягом п'яти діб (0–120 г) із сечею та калом з організму мишей елімінує більше 90 % від введеної дози  $^{14}\text{C}$ -радіоактивних продуктів. Це може свідчити про відсутність депо повільного обміну препарату в організмі тварин.

Особливістю процесів кінетики виведення циназепаму з організму мишей є перевага процесів екскреції загального радіоактивного матеріалу з сечею над процесами виділення препарату з калом при всіх схемах введення  $^{14}\text{C}$ -препарату (див. табл. 1). Шляхом ренальної екскреції виводиться понад 60 % введеної мітки при обох схемах введення препарату. З калом виводиться близько 32–35 % загальної радіоактивності. Сумарний процес, в основному, визначається параметрами виведення з сечею  $^{14}\text{C}$ -продуктів. Раніше [4] було показано, що циназепам в організмі дослідних тварин піддається інтенсивній біотрансформації з утворенням гідроксильованих метаболітів [2]. Наведені результати дозволяють припустити, що даним шляхом виводяться, в основному, водорозчинні метаболіти циназепаму.

Для визначення кінетичної схеми процесів розподілу і ви-

ведення препарату у фармакокінетиці найчастіше використовуються методи «швидкості», «сигма-мінус» чи Мансгелдорфа та ін. [6–8]. Ці методи адаптовані до аналізу дослідних даних при одноразовому введенні ліків в організм. Для аналізу отриманих результатів нами розроблений новий варіант методу Мансгелдорфа, що дозволяє здійснювати оцінку кінетичних параметрів елімінації ліків з організму при їхніх тривалих введеннях. Здійснено порівняльний аналіз кінетики виведення з організму мишей  $^{14}\text{C}$ -циназепаму.

Метод Мансгелдорфа ґрунтується на використанні рівнянь:

$$\frac{M_{e,t+\Delta} - M_{e,\infty}}{M_{e,t} - M_{e,\infty}} = e^{-k\Delta}, \quad (1)$$

$$M_{e,t} = M_{e,t+\Delta} e^{k\Delta} - M_{e,\infty} (e^{k\Delta} - 1) \quad (1a)$$

$$(y) = (x) \cdot (b) + (a).$$

У результаті дістали лінійний анаморфоз процесу в координатах  $M_{e,t}(y)$ ,  $M_{e,t+\Delta}(x)$ . Тангенс кута нахилу (b) кривої дорівнює  $e^{k\Delta}$ ; перетин з ординатою (a):  $M_{e,\infty}(e^{k\Delta} - 1)$ ; перетин з абсцисою (a/b):

$M_{e,\infty}(1 - e^{-k\Delta})$ ; а перетин із бісектрисою  $\left(\frac{a}{1-b}\right)$ :  $M_{e,\infty}$ .

Модифікація методу Мансгелдорфа дозволяє визначити зміну в часі значень величин  $k_{e\ell}$  в інтервалах збирання проб екскрету. Метод ґрунтується на логарифмуванні рівняння (1):

$$k_{e\ell,\Delta} = -\frac{1}{\Delta} \ln \left[ \frac{M_{e,\infty} - M_{e,t+\Delta}}{M_{e,\infty} - M_{e,t}} \right], \quad (2)$$

де  $k_{e\ell,\Delta}$  — константа елімінації, визначена в інтервалі виміру  $\Delta$ .

При дослідженні сумарного виведення з організму мічених продуктів на фоні тривалого введення мічених ліків (n уведень доз Q) вираз (2) трансформують:

$$k_{e\ell,\Delta} = -\frac{1}{\Delta} \ln \left[ \frac{\sum_{i=1}^{i=n} Q - M_{e,t+\Delta}}{\sum_{i=1}^{i=n} Q - M_{e,t}} \right]. \quad (2a)$$

Цей підхід дозволяє оцінити зміну кінетичних параметрів (наприклад, прискорення елімінації в результаті індукції ферментних систем після однократного і в умовах тривалого введення ліків).

Як видно з аналізу дослідних даних, в інтервалах дослі-



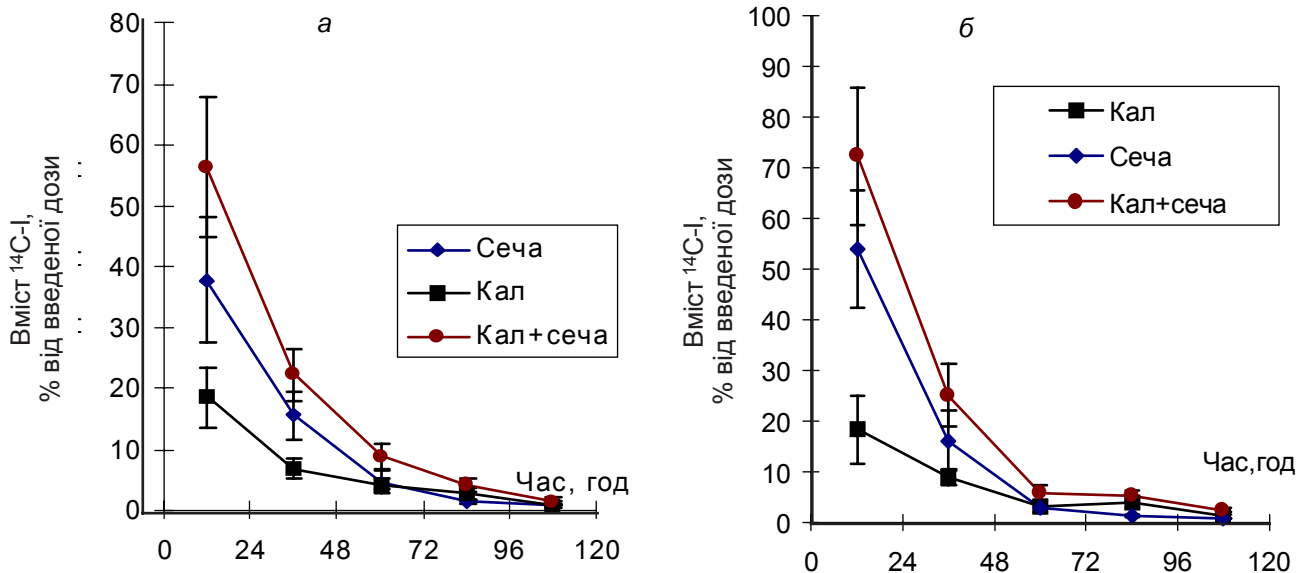


Рис. 1. Кінетика виведення загального радіоактивного матеріалу з екскретами мишей при одноразовому внутрішньочеревинному введенні <sup>14</sup>C-циназепаму дозою 14 мг/кг (а) і на фоні багаторазового введення його нерадіоактивного аналога (б)

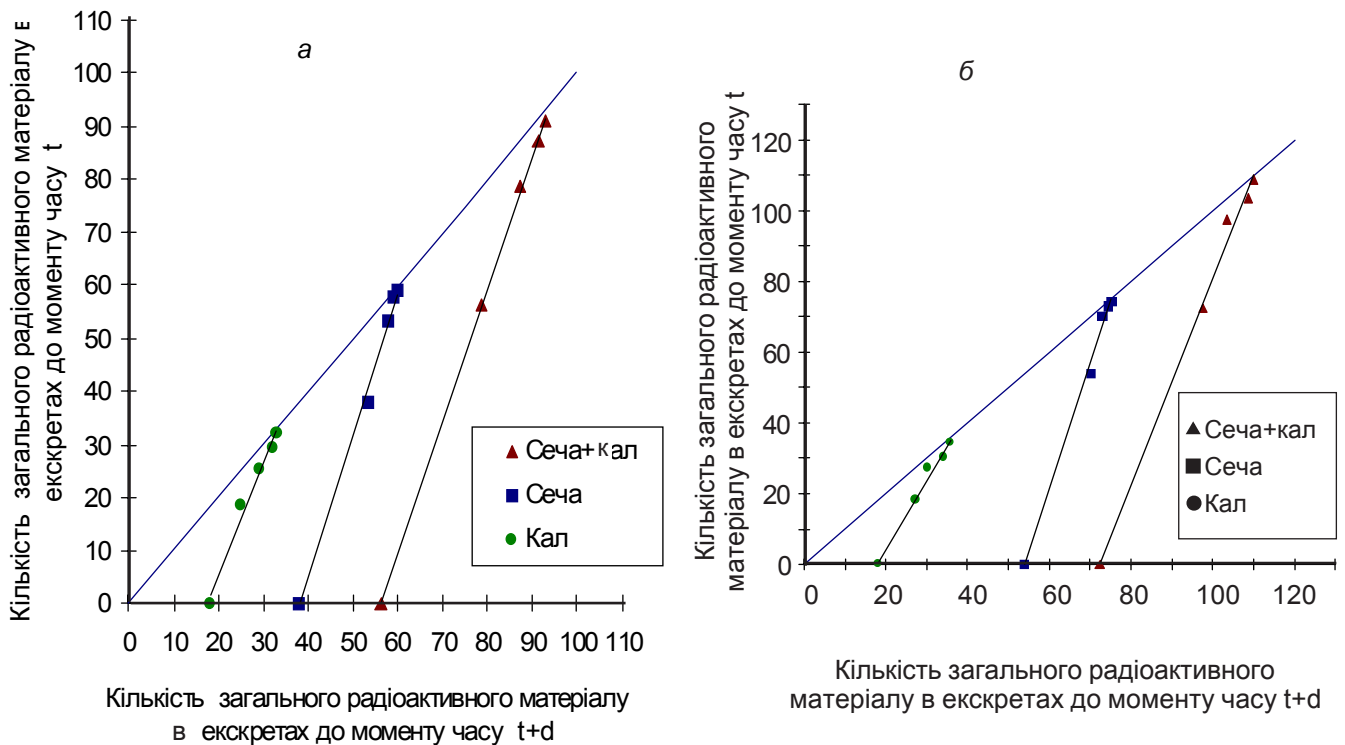


Рис. 2. Визначення модифікованим методом Мансфельда параметрів кінетики виведення загального радіоактивного матеріалу в екскретах мишей при одноразовому внутрішньочеревинному введенні їм <sup>14</sup>C-циназепаму дозою 14 мг/кг (а) і на фоні багаторазового введення його нерадіоактивного аналога

ду процесу виведення загального радіоактивного матеріалу із сечею та калом практично завершуються (табл. 1, 2; рис. 1, 2). Виведення цими шляхами є повним, у процесі екскреції із сечею та калом залучено більше 95 % введеної дози міченої сполуки. Отже, глибокої деградації ксенобіотика, з утворенням CO<sub>2</sub> чи

інших летких продуктів окиснення, що виділяються в зовнішнє середовище з видихуваним повітрям (легенева екскреція) чи трансдермально, не припускається.

Для всіх схем уведення циназепаму характерно моноекспоненційне зниження швидкості екскреції: сумарне, із сечею та з калом. Періоди на-

півелімінації (T<sub>0,5</sub>) процесів екскреції коливаються в інтервалі 12–24 год. Залежності, що спостерігаються, виключають наявність у кінетичних схемах розподілу в організмі циназепаму і його метаболітів периферичних кінетичних камер (відсіків повільного обміну, депо), в яких здійснюється зворотне накопичення ксено-



Таблиця 2

Кінетичні параметри процесів виведення з організму мишей при введенні  $^{14}\text{C}$ -циназепаму дозою 14 мг/кг і на фоні багаторазового введення його нерадіоактивного аналога, визначені за методом Мансгелдорфа

Шлях виведення	Одноразове введення		Одноразове введення на фоні багаторазового введення	
	$M_{\infty}$ , % введеної дози	$k_{\text{ел}}$ , год $^{-1}$	$M_{\infty}$ , % введеної дози	$k_{\text{ел}}$ , год $^{-1}$
Сеча+кал	93,2	0,038	110,5	0,044
Сеча	60,5	0,041	75,2	0,053
Кал	34,2	0,032	36,8	0,028

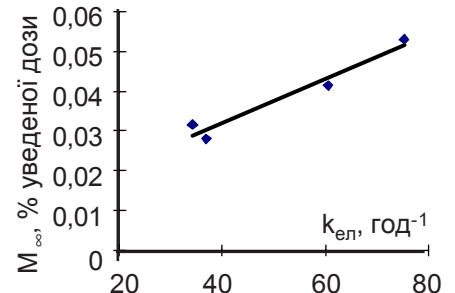


Рис. 3. Співвідношення між розрахованими величинами елімінації при нескінченній експозиції ( $M_{\infty}$ , % уведеної дози) і константами швидкості ( $k_{\text{ел}}$ , год $^{-1}$ ) виведення  $^{14}\text{C}$ -продуктів з організму мишей при різних схемах введення  $^{14}\text{C}$ -циназепаму

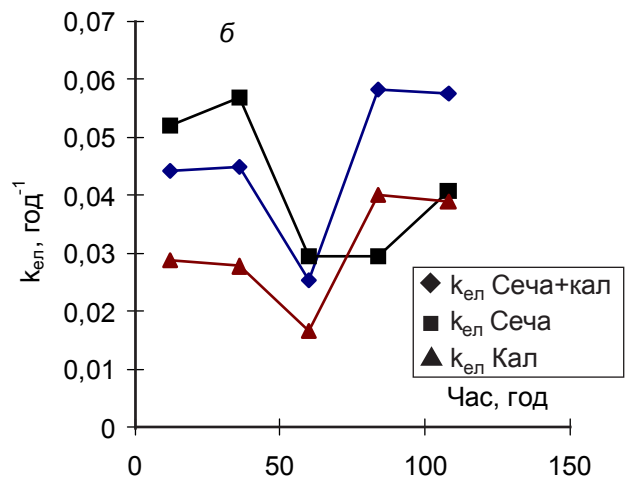
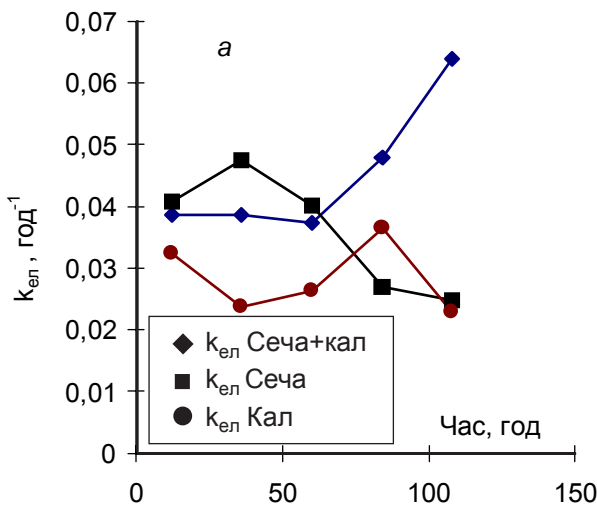


Рис. 4. Зміна в часі дослідження поточних величин констант елімінації  $^{14}\text{C}$ -продуктів з організму мишей при різних схемах введення циназепаму: а) при одноразовому внутрішньочеревинному введенні  $^{14}\text{C}$ -циназепаму дозою 14 мг/кг; б) при одноразовому внутрішньочеревинному введенні  $^{14}\text{C}$ -циназепаму дозою 14 мг/кг на фоні багаторазового введення його нерадіоактивного аналога

біотиків (звичайно ліпофільних).

Істотний інтерес мають виявлені в усіх досліджених серіях особливості кінетики екскреції: відносна ефективність виділення препарату із сечею

$$\left( \frac{M_{1,\infty}}{M_{1,\infty} + M_{2,\infty}} \right)$$

вища, ніж із калом

$$\left( \frac{M_{2,\infty}}{M_{1,\infty} + M_{2,\infty}} \right).$$

З огляду на те, що метод «швидкості» дає зміщені значення величин ( $M_{\infty}$ ), ми вдалися до використання методу Мансгелдорфа (див. рис. 2) для незміщеної оцінки параметрів екскреції (відповідно до алгоритму, наведеного вище). Як видно з рис. 2, цей метод цілком придатний для інтер-

претації екскреційних даних. Результати аналізу наведені в табл. 2.

Загальні характеристики кінетичних схем виведення препарату при різних схемах його введення в організм можуть бути інтерпретовані двома схемами, що припускають моноекспоненційні процеси екскреції циназепаму в зовнішнє середовище.

Перший варіант (I) припускає паралельне (з експонентним множником:  $(k_1+k_2)$ , де  $k_1$  і  $k_2$  — константи швидкості елімінації з сечею та калом відповідно) зниження швидкостей екскреції, здійснюваної з відносною ефективністю процесів:

$$\frac{k_1}{k_1+k_2} \quad \text{і} \quad \frac{k_2}{k_1+k_2}.$$

Кінетична схема другого варіанта (II) припускає непаралельне (що і спостерігається в досліді) зниження швидкостей (з експонентними множниками  $k_1$  і  $k_2$ ) процесів екскреції, відносна ефективність яких визначається співвідношенням швидкостей попереднього розподілу  $^{14}\text{C}$ -продуктів між відсіками, які репрезентують внутрішнє середовище організму (BCO) і шлунково-кишковий тракт (ШКТ):

$$\frac{\chi_1}{\chi_2 + \chi_1} \quad \text{і} \quad \frac{\chi_2}{\chi_2 + \chi_1}.$$

Особливо цікавим виглядає факт позитивної кореляції відносної ефективності процесів екскреції та їхніх констант швидкості екскреції (рис. 3). Якщо дотримуватися схеми II, то:



$$M_{1,\infty} = \frac{M_0 \chi_1}{\chi_1 + \chi_2}, M_{2,\infty} = \frac{M_0 \chi_1}{\chi_1 + \chi_2},$$

де значення величин екскреції із сечею і калом ( $M_{1,\infty}$ ,  $M_{2,\infty}$ ) при нескінченній експозиції та кореляція цих величин зі значеннями формально незалежних  $k_1$  і  $k_2$  припускає, що  $\chi_1$ ,  $\chi_2$ ,  $k_1$  і  $k_2$  залежать від фактора, наведеного в структурі моделі (наприклад, від фізико-хімічних властивостей циназепаму та його метаболітів). Послідовність аналітичних процедур така:

1. Застосування формального апарата методу Мансгелддорфа для визначення розрахункових величин констант елімінації ( $k_{ел}$ ) і кількостей речовин, що виділяються, при нескінченній експозиції ( $M_\infty$ ).

2. Використання розрахункових (пункт 1) величин  $M_\infty$  для визначення інтервальних значень  $k_{ел}$  варіантом методу Мансгелддорфа.

Визначення поточних (в інтервалах збирання екскретів) значень констант елімінації  $^{14}C$ -продуктів з організму було проведене таким способом: класичним методом Мансгелддорфа було попередньо визначено розрахункові значення величин екскреції при нескінченній експозиції ( $M_\infty$ ,  $M_{1,\infty}$ ,  $M_{2,\infty}$ ) і підставлено у відповідні рівняння (базове — (2)). Як видно з результатів аналізу дослідних даних (рис. 4 а, б), систематичного збільшення (чи зниження) величин констант швидкості елімінації  $^{14}C$ -продуктів з організму мишей (сумарної, з сечею та з калом)

не відзначено як при одноразовому (а), так і при тривалому (б) введенні його нерадіоактивного аналога.

Таким чином, дослідження інтервальних значень величин констант елімінації не виявило значних відхилень цих показників від вихідних, у процесі елімінації доз, що одноразово вводяться, і в умовах тривалого введення препарату. Це припускає лінійну кінетичну схему його біокінетики (відсутність індукції чи репресії ферментативних систем) при всіх досліджених схемах уведення і режимі дозування.

### Висновки

1. Для кінетики виведення з організму мишей циназепаму, при різних схемах його введення, характерною є перевага ренальної екскреції та моноекспоненційність процесів виведення, що припускають відсутність процесів накопичення препарату в організмі при одноразовому і тривалому введеннях.

2. Використані в роботі схеми одноразового введення  $2\text{-}^{14}C$ -циназепаму і тривалого введення його нерадіоактивного аналога не показали вірогідного відхилення параметрів кінетичної схеми виведення препарату від вихідних величин, визначених при одноразовому введенні. Це припускає відсутність індукції (репресії) ферментативних систем, що здійснюють метаболізм циназепаму в організмі.

Отримані результати в подальшому будуть використані при проведенні фармакокінетичних досліджень і є частиною доклінічних досліджень нового транквілізатора — циназепаму. Розроблений математичний апарат модифікації методу Мансгелддорфа дозволяє в подальшому використовувати його для оцінки параметрів накопичення препарату в організмі експериментальних тварин при тривалому його застосуванні.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Катцунг Б. Г. Базисная и клиническая фармакология. — М.; СПб.: Бином; Нев. диалект, 1998. — Т. 1. — С. 399-492.
2. Чехівський В. П., Васишин Г. Б. Вивчення метаболізму циназепаму в організмі експериментальних тварин. 1. Розробка та оптимізація методів вилучення циназепаму та його потенційних метаболітів з біологічних проб // Вісн. фармації. — 1997. — № 2. — С. 16-19.
3. Соловьев В. Н., Фирсов А. А., Филов В. А. Фармакокінетика. — М.: Медицина, 1980. — 423 с.
4. Головенко Н. Я., Зиньковський В. Г., Середенин С. Б. Ферментативная модель фармакокінетики феназепаму в організмі мишей // Хім.-фарм. журнал. — 1980. — Т. 12. — С. 14-18.
5. Плохинский Н. А. Алгоритмы биометрии. — М.: МГУ, 1980.
6. Пиотровский Е. Использование кинетики метаболизма и выведения токсических веществ в решении проблем промышленной токсикологии. — М.: Медицина, 1976. — 195 с.
7. Количественная токсикология / А. А. Голубев, Е. И. Люблина, Н. Толконцев, В. А. Филов. — М.: Медицина, 1973. — 288 с.
8. Корниш-Боуден Э. Основы ферментативной кинетики. — М.: Мир, 1979. — 280 с.

