

5. Пат. 5277 Україна, МПК7: А61В10/00. Спосіб оцінки стану нервового апарату стінки тонкої кишки при спайковій хворобі в експерименті / В. Є. Вансович, В. К. Напханюк, В. О. Ульянов. — № 20040907903; Заяв. 29.09.2004; Опубл. 15.02.2005, Бюл. № 2.

6. *Микроскопическая техника* / Под ред. Д. С. Саркисова, Ю. Л. Перова. — М.: Медицина, 1996. — 544 с.

7. *Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними* / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філонен-

ко, Г. А. Сайфетдінова. — К.: Авіценна, 2002. — 156 с.

8. Лукьянчук В. Д., Немятых О. Д. Современный взгляд на фармакологию α -липоевой кислоты (берлитиона) // Журн. практ. лікаря. — 2003. — № 3. — С. 61-65.

УДК 615.1.015.154

Н. В. Овчаренко

МЕТАБОЛІЗМ ЦИНАЗЕПАМУ В ОРГАНІЗМІ МИШЕЙ

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

Вступ

Згідно з сучасними стандартами, порушення сну є однією з найбільш значущих проблем, що мають не лише медичне значення, але й надто несприятливі соціально-економічні наслідки. Основним способом усунення безсоння є застосування лікарських засобів, яким притаманні достатньо виражені седативний та анксиолітичний ефекти.

Снодійні засоби — похідні 1,4-бенздіазепіну — належать до препаратів цього типу дії, що найчастіше використовуються. Порівняно з барбітуратами вони більш безпечні, мають значно меншу побічну дію, застосовуються малими дозами, а також, як і барбітурати, викликають сон протягом 6–8 год.

Циназепам (7-бром-5-(*o*-хлорфеніл)-1,2-дигідро-3-гемісукцинат-3Н-1,4-бенздіазепін-2-он) — останній засіб із потужним снодійним ефектом, що був синтезований та вивчений у відділі медичної хімії (завідувач — акад. НАН України С. А. Андронаті) фізико-хімічного інституту ім. О. В. Богатського НАН України [1]. Препарат знаходиться на стадії доклінічного вивчення, тому деякі важливі фармакологічні властивості (метаболізм і фармакокінетика) його не з'ясовані. Особлива увага приділяється дослідженню метаболізму циназепаму та процесів його екскреції з організму експериментальних тварин.

Метою даної роботи було вивчення складу метаболітів циназепаму та його елімінації з організму мишей при одноразовому внутрішньовенному введенні.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проводилися на мишах-самцях масою 25–27 г, яким внутрішньовенно вводили

розчин ^{214}C -циназепаму (доза 20 мг/кг, 0,27 Кі/моль) в ізотонічному 0,9%-му розчині NaCl з додаванням 1,2-пропіленгліколю (10%-му розчині) як солюбілізатора. Тварин поміщали у метаболічні камери, збирали кал і сечу (камери промивали 10 см³ дистильованої води) кожні 24 год протягом 96 год з моменту введення препарату. Циназепам і ліофільні метаболіти екстрагували хлороформом (3 рази по 5 см³) з сечі, до якої добавляли 2 см³ розчину (0,5 М) бурштинової кислоти. Екстракт випарювали та наносили у вигляді тонкої смужки на хроматографічні пластини Silufol UV 245 і хроматографували у системі гексан — хлороформ (2:1, 5 разів) у присутності нерадіоактивних речовин циназепаму та його потенціального метаболіту — норциназепаму. Після розділення пластини з нанесеними препаратами проявляли в УФ-світлі, розрізали, а потім поміщали у флакони для рідинної сцинтиляційної фотометрії, заливали толуольно-спиртовим сцинтилятором (10 см³) і визначали вміст радіоактивного матеріалу на рідинному сцинтиляційному фотометрі TRI-CARB 2700 (Canberra Packard). Вміст глюкуронових кон'югатів вивчали у водному середовищі, що залишилось після екстракції ліпофільних метаболітів і циназепаму, екстрагуючи хлороформом ліпофільні продукти, що утворилися після гідролізу β -глюкуронідазою (1 см³ у 0,5 М ацетатному буфері, 1,5–2 Од/см³). Хлороформний екстракт упарювали в сцинтиляційних флаконах, заливали толуольно-спиртовим сцинтилятором (10 см³), визначали вміст радіоактивних продуктів на рідинному сцинтиляційному фотометрі. Вміст негідролізованих метаболітів досліджували у водному середовищі, що залишилося після екстракції глюкуронових кон'югатів, упарюючи його у флаконах для рідинної сцинтиляційної фото-

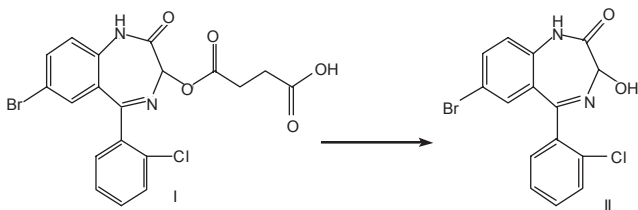


метрії з додаванням мурашиної кислоти, і, самкінець, Тритону X-100 (1–2 см³). Отримані проби заливали толуольно-спиртовим сцинтилятором і визначали вміст радіоактивних продуктів методом рідинної сцинтиляційної фотометрії.

Отримані дані піддавали статистичній обробці, яку проводили за допомогою стандартного пакета програм MS Excel.

Результати дослідження та їх обговорення

Аналіз радіохроматограм хлороформних екстрактів сечі показав наявність двох піків радіоактивності (рисунок). Порівняння їх значень R_f (система гексан — ацетон, 2:1) свідчить про те, що, ймовірно, це є циназепам (I) та його метаболіт норциназепам (II):



Наші дані збігаються з результатами досліджень [2], в яких методом мас-спектрокопії була доведена структура метаболіту (II). Так для мас-спектра і циназепаму, і його метаболіту — норциназепаму характерною є наявність піків молекулярних іонів малої інтенсивності, а також піків іонів, що утворюються при відщепленні ацильного радикала. Також реєструються піки уламкових іонів $[M-H]^+$, $[M-OH]^+$, $[M-H_2O]^+$ і $[M-CHO]^+$ (максимальний), що є характерним для 3-гідроксипохідних 1,4-бенздіазепіну.

Відомо, що складні естери біологічно активних сполук, однією з яких є циназепам, в організмі піддаються ферментативному чи спонтанному гідролізу з утворенням відповідної кислоти та спирту. Аналогічно, як було показано в роботі [3], циназепам спонтанно гідролізується у нейтральному, кислому та лужному середовищах з утворенням 3-гідроксипохідного 7-бром-5-(*o*-хлор)феніл-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-она (норциназепам). Враховуючи, що сам циназепам проявляє низьку тропність до бенздіазепінових рецепторів, а також порівняно високий афінитет його метаболіту — норциназепаму, вважаємо, що необхідно вивчити ступінь біотрансформації в організмі та кінетику екскреції як вихідної сполуки (циназепам), так і його метаболіту, що зумовлює фармакологічну активність, — норциназепаму [4].

Наявність гідроксильної групи у метаболіту II перетворює його на субстрат ферментативної дії УДФ-глюкуронілтрансфераз і сульфатаз, тобто відповідно утворюються глюкуронід і сульфат.

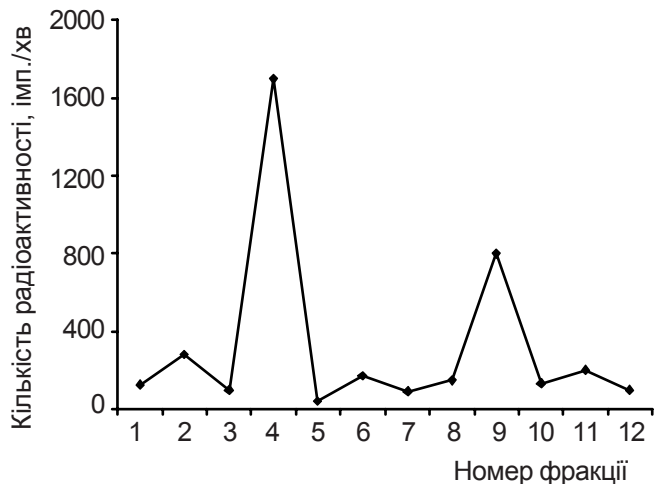


Рисунок. Радіохроматограма хлороформного екстракту сечі мишей після внутрішньовенного введення C^{14} -циназепаму (20 мг/кг, 0,27 Кі/моль)

Обробка сечі β -глюкуронідазою з подальшою екстракцією хлороформом ліофільних продуктів, що утворилися, дають змогу визначити наявність радіоактивних продуктів, що дозволяє зробити висновок про утворення глюкуронових кон'югатів норциназепаму.

Після внутрішньовенного введення мишам $2^{14}C$ -циназепаму з сечею та калом в перші 24 год виводиться близько 40 % радіоактивних продуктів від уведеної дози (табл. 1). Кількість радіоактивних продуктів, що виводяться із сечею та калом, поступово зменшується, а наприкінці експерименту (96 год після введення) сумарна їх кількість становить 85 % від уведеної дози.

Розглянуто кількісний та якісний склад гідрофільних метаболітів, що виводяться із сечею та калом. Виявлене нерівномірне співвідношення між глюкуроновими кон'югатами та негідролізованими водорозчинними метаболітами протягом усього експерименту: кількість негідролізованих глюкуронідазою метаболітів (сульфатні кон'югати, інші гідрофільні метаболіти тощо) зменшується паралельно кількості загальної радіоактивності, що виводиться, і кількість глюкуронових кон'югатів залишається практично на постійному рівні, що може бути наслідком нелінійного процесу утворення даної групи метаболітів (слід зазначити, що при внутрішньовенному введенні норциназепаму кількість глюкуронових кон'югатів, навпаки, зменшується паралельно зміні загальних радіоактивних продуктів, а кількість негідролізованих метаболітів підтримується на практично постійному рівні [5]).

Вміст циназепаму та норциназепаму визначали методом тонкошарової препаративної радіохроматографії, попередньо екстрагуючи його та ліпофільні метаболіти хлороформом із підкислених сечі та калу.

Помітно, що вже через 24 год при внутрішньовенному введенні циназепаму кількість не-



Кількість циназепаму та його метаболітів, що виводяться окремо із сечею та калом з організму мишей після внутрішньовенного введення циназепаму, % від введеної дози

Час, год	Загальні	Глюкуронові	Негідролізовані	Циназепам	Норциназепам
Сеча					
24	26,9±3,6	0,95±0,12	17,1±4,9	0,40±0,12	1,17±0,24
48	38,6±6,1	1,7±0,4	23,3±6,5	0,6±0,2	1,5±0,3
72	45±11	2,3±0,7	26,3±5,7	0,75±0,16	1,8±0,3
96	46,8±9,4	2,5±0,5	27,3±8,9	0,80±0,16	1,9±0,3
Кал					
24	14,1±2,3	2,3±0,5	5,1±0,7	1,6±0,4	0,9±0,2
48	26,8±4,2	4,3±0,9	11,1±1,4	2,5±0,6	1,8±0,4
72	33,7±3,8	5,2±0,7	14,2±1,8	2,9±0,5	2,1±0,4
96	37±5	5,6±0,7	15,7±3,7	3,1±0,4	2,4±0,3
Сеча + кал					
24	41±6	3,3±0,7	22,1±6,2	2,1±0,5	2,1±0,5
48	65±10	5,9±1,2	34,4±8,8	3,1±0,7	3,3±0,7
72	79±14	7,4±1,3	40,5±7,2	3,7±0,6	3,9±0,7
96	83±14	8,1±1,2	43±12	3,9±0,5	4,3±0,6

змінної сполуки, що виводиться з сечею та калом, становить лише 2 % від введеної дози, а наприкінці експерименту — близько 0,3 %, що зумовлено високим ступенем метаболізму циназепаму в організмі. Протягом експерименту з організму мишей після внутрішньовенного введення виводиться близько 4 % циназепаму від введеної дози препарату, тобто цей засіб має високий ступінь біотрансформації. Слід також зазначити, що норциназепам виводиться з організму приблизно з такою ж швидкістю та у тій же кількості (близько 4 % від введеної дози), що й циназепам, що пояснюється швидким утворенням з норциназепаму водорозчинних метаболітів (глюкуронові кон'югати та ін.).

Виявлено різницю між кількістю препарату та його метаболітів, що виводяться окремо із сечею та з калом. Так, із сечею виводиться більше загальних радіоактивних продуктів, ніж із калом, при цьому кількість загальної радіоактивності, що виводиться з калом, у перші 48 год змінюється повільно внаслідок екскреції циназепаму та його метаболітів з жовчю і з подальшим їх виведенням із калом. Навпаки, виведення загальних радіоактивних продуктів із сечею має експоненційний характер, тобто залежить від концентрації речовини в крові.

Кількість глюкуронових кон'югатів, що виводяться із сечею, практично вдвічі нижча, ніж при виведенні з калом, тимчасом як кількість негідролізованих глюкуронідазою метаболітів значно відрізняється лише в перші 24 год, а потім зрівнюється, залишаючись на однаковому рівні.

Слід зазначити, що кількість циназепаму, що виводиться із сечею за перші 24 год, практично в 4 рази нижча, ніж із сечею. Незважаючи на

водорозчинність циназепаму (внаслідок чого можна було б припустити більш ефективним шлях його виведення із сечею), очевидно, що екскреція його із жовчю (це є характерною рисою фармакокінетики практично усіх похідних 1,4-бенздіазепіну) — переважний процес виведення цього препарату з організму у незмінному вигляді.

Аналіз даних екскреції циназепаму та його метаболітів за методом Мангельсдорфа, який дозволяє визначити максимальну кількість препарату, що виводиться (при нескінченному часі експозиції), показав, що відносний внесок елімінації вихідної сполуки та загальних радіоактивних продуктів із сечею та калом є практично однаковим (табл. 2), тобто обидва ці шляхи ефективні. Втім, рівень негідролізованих глюкуронідазою метаболітів, що виводяться із сечею, приблизно на 10 % більший, ніж тих, що виводяться з калом, що пов'язане з їх гідрофільністю.

Зважаючи на величину константи екскреції, також розраховану за методом Мангельсдорфа, можна зробити висновок про досить повільний характер процесу виведення циназепаму та його метаболітів з організму, що при малій кількості препарату, що виводиться, може бути наслідком його значної біотрансформації в організмі.

Висновки

1. Встановлено, що при внутрішньовенному введенні циназепаму протягом 96 год з організму виводиться майже 85 % від введеної дози, при цьому лише близько 4 % — у незмінному вигляді.

2. Показано, що кількість негідролізованих глюкуронідазою водорозчинних метаболітів, що



Показники виведення циназепаму та його метаболітів із сечею та калом, розраховані методом Мангельсдорфа

Показники	Сеча		Кал	
	Максимально виведена кількість, % від дози	Константа екскреції, год ⁻¹	Максимально виведена кількість, % від дози	Константа екскреції, год ⁻¹
Загальні радіоактивні продукти	49,3±5,1	0,032±0,001	39,8±3,8	0,029±0,002
Глюкуронові кон'югати	2,90±0,25	0,022±0,005	5,9±0,7	0,032±0,003
Негідролізовані	28,3±2,4	0,034±0,002	17,2±2,7	0,029±0,010
Циназепам	1,00±0,08	0,018±0,002	3,3±0,4	0,03±0,02
Норциназепам	2,20±0,03	0,017±0,001	2,6±0,3	0,028±0,003

виводяться із сечею, в 1,5 разу перевищує їх кількість, що виводиться з калом, тимчасом як незмінного циназепаму виводиться з калом утричі більше, ніж із сечею.

ЛІТЕРАТУРА

1. Патент 19803 України, МПК5 С 07 D 243/14 А61К31/55. — Опубл.: 25.12.97. — Бюл. № 6.

2. Синтез, структура і свойства ефіров 3-оксифеназепаму / С. А. Андронати, Л. И. Якубовская, К. С. Андронати и др. // Укр. хим. журнал. — 1994. — Т. 60, № 10. — С. 712-718.

3. Кинетика и механизм кислотного гидролиза сложных эфиров 3-оксифеназепаму в присутствии трифторуксусной кислоты / К. С. Андронати, В. В. Телятников, А. А. Крысько и др. // ДАН Украины. — 1999. — № 7. — С. 134-138.

4. Аффинитет ефіров 3-оксифеназепаму к бензодиазепиновым рецепторам / С. А. Андронати, В. М. Савва, С. Ю. Макан и др. // Нейрофизиология. — 1994. — Т. 26, № 4. — С. 262-265.

5. Особливості порівняльної кінетики екскреції 3-гідроксифеназепаму та його метаболітів при трансдермальному та внутрішньовенному введенні / Н. В. Овчаренко, В. Б. Ларіонов, М. Я. Головенко та ін. // Одес. мед. журнал. — 2003. — № 3 (77). — С. 8-10.

УДК 616.831-005.4:615.21

Л. В. Чадова, І. Й. Сейфулліна, В. М. Ткаченко

СКРИНІНГ І ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ЕФЕКТИВНОСТІ ПРОТИШЕМІЧНИХ ЗАСОБІВ СЕРЕД КООРДИНАЦІЙНИХ СПОЛУК ГЕРМАНІЮ З БІОЛІГАНДАМИ ПРИ ГОСТРІЙ ЦЕРЕБРОВАСКУЛЯРНІЙ НЕДОСТАТНОСТІ

Луганський державний медичний університет,
Одеський національний університет ім. І. І. Мечникова

Вступ

У структурі цереброваскулярних захворювань центральне місце посідають ішемічні інсульти, розробка високоефективних і безпечних засобів лікарської профілактики

та лікування яких належить до пріоритетних завдань сучасної фармакології [1]. Разом з тим, перспективним напрямком розвитку вітчизняної фармакологічної науки є пошук оригінальних засобів фармакокорекції киснедефіцитних

станів серед представників нового хімічного класу — координаційних сполук германію з біолігандами [2–5].

Мета роботи — пошук і порівняльна оцінка ефективності церебропротекторів серед нових синтезованих коор-

