



УДК 615.033

М. Я. Головенко, Н. В. Овчаренко, О. Б. Ліхота, І. Ю. Борисюк

ТРАНСПОРТ ГІДАЗЕПАМУ ВЗДОВЖ ШЛУНКОВО-КИШКОВОГО ТРАКТУ В УМОВАХ ВВЕДЕННЯ ІНДУКТОРА ТА ІНГІБІТОРА ЦИТОХРОМУ P-450 І В КОМПЛЕКСІ З ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

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

Всмоктування лікарських засобів, які вживають перорально, є комплексним процесом, що залежить від фізіологічного стану організму, хімічних властивостей субстанції та допоміжних речовин у складі лікарської форми.

До важливих показників належать: склад їжі, шлункова та кишкова моторика, розчинність (залежить від значення рН уздовж шлуково-кишкового тракту — ШКТ) та зв'язування зі слизом, наявність патології, швидкість току крові та лімфи, а також ліпофільність сполук, їх р_{ка}, молекулярна маса, динаміка утворення водневих зв'язків тощо [1].

Найбільш інформативними, що об'єднують фізіологічний стан і фізико-хімічні властивості, є параметри, які характеризують розчинність сполук та їх спроможність проникати крізь біологічні мембрани. Вони, власне, і визначають швидкість і ступінь всмоктування препарату, а отже, його біодоступність [2].

Більшість експериментальних даних при аналізі біодоступності лікарських засобів, і особливо механізмів всмоктування перорально введених

препаратів, використовують такий показник, як концентрація сполуки в біологічних рідинах (плазма крові, сеча). У подальшому вони підлягають перетворенню у фармакокінетичні параметри (C_{max} , AUC, Cl, V_d). Останні є традиційними показниками для відповідних концентцій та висновків.

На жаль, більшість із них мають загальний недолік — відсутність даних, що характеризують особливості транспортних процесів препаратів уздовж ШКТ. Безсумнівно, вони є необхідними, особливо в тому випадку, коли мова йде про визначення механізму всмоктування в нормі та при впливі різних факторів. Окрім того, після відкриття периферичних бенздіазепінових рецепторів у таких органах, як нирки, серцевий м'яз, печінка, легені тощо, було показано [3], що висока концентрація у ШКТ зареєстрована саме у шлунку та 12-палій кишці. Слизова оболонка шлунка містить ендogenous ліганди периферичних бенздіазепінових рецепторів. Імуногістохімічним методом визначено наявність периферичних бенздіазепінових рецепторів у слизових клі-

тинах порожнини і парієтальних клітинах дна шлунка. За допомогою імуноелектронної спектроскопії доведено, що розташовані вони на мітохондріях. Зазначене свідчить про важливість вивчення транспортних процесів бенздіазепінів на окремих ділянках ШКТ.

Метою нашої роботи є вивчення транспортних процесів лікарських засобів (на прикладі гідазепаму) вздовж ШКТ у нормі та в умовах введення фенобарбіталу, кетоконазолу і в комплексі гідазепам-циклодекстрин.

Матеріали та методи дослідження

Експеримент проведено на безпородних мишах масою 18–22 г. Тварин розділили на чотири групи. Першій (контроль) перорально вводили гідазепам у дозі 40 мкмоль/кг, другій — 40 мкмоль/кг гідазепаму в комплексі з циклодекстрином (1 : 1). Третій та четвертій групам перорально вводили відповідно фенобарбітал і кетоконазол по 80 мг/кг протягом 4 діб. Потім було введено 40 мкмоль/кг гідазепаму. У всіх випадках препарат тварини отримували натще-серце.



Синтез ^{14}C -гідазепаму (міченого за гідрозидним фрагментом) було здійснено згідно з описаним методом [4]. Визначення метаболітів гідазепаму методами тонкошарової хроматографії та мас-спектрометрії подається нами у [5].

Тварини, яким вводили гідазепам, через відповідний час були наркотизовані та декапітовані. Черевну порожнину розкривали і почергово видаляли різні відділи ШКТ (шлунок, тонка кишка, товста кишка, пряма кишка). Одержані органи зважували, потім поміщали до пробірок і заливали 1 см^3 мурашиної кислоти, гідролізували на водяному нагрівачі протягом 1 год. Після закінчення процедури аліквоту гомогенату ($0,2\text{--}0,4\text{ см}^3$) вміщували у віали для рідинної фотометрії і добавляли $0,4\text{--}0,6\text{ см}^3$ тритон X-100 та 10 см^3 толуольно-спиртового сцинтилятора. Вміст радіоактивного матеріалу визначали на фотометрі TRI CARB Canberra Packard 2700. Комплекси ^{14}C -гідазепаму з циклодекстрином утворювали відповідним чином [6].

Отримані дані оброблено за допомогою статистичного пакета програми MS Excel.

Результати дослідження та їх обговорення

Гідазепам в організмі тварин піддається метаболізму (окисненню) з утворенням деалкільного похідного, його 3-оксиметаболіту й оксіяцетилгідрозиду. Наявність радіоактивного вуглецю (^{14}C) у гідрозидному замісника гідазепаму дає унікальну можливість простежити шляхи транспорту тільки гідазепаму й оксіяцетилгідрозиду [4].

У мишей контрольної групи (рис. 1, а) максимальну кількість радіоактивного матеріалу у шлунку відмічено вже через 15 хв дослідження. Поступове зниження концентрації ^{14}C -гідазепаму у шлунку свідчить про його спорожнення та значне всмоктування у кишечнику. Різні відділи ШКТ відрізняються вели-

чинами рН середовища, властивостями епітелію, який лежить на поверхні, складом ферментів, а отже, і здатністю до всмоктування лікарського засобу. Слід відмітити, що гідазепам належить до слабких основ, а значення рН у тонкій кишці вище, ніж у шлунку, тому всмоктування можливе саме в цьому відділі ШКТ. Про це свідчить і значно вища концентрація радіоактивного препарату в тонкій кишці протягом усього дослідження. Збільшення концентрації ^{14}C -гідазепаму через 2 год у прямій кишці підтверджує факт швидкого виведення препарату.

Для того щоб регулювати процес всмоктування на певному відрізку ШКТ, використовують спеціальні допоміжні речовини, наприклад, циклодекстрини. Нами досліджено вплив циклодекстрину на всмоктування комплексу гідазепаму з циклодекстрином (1 : 1).

Інтерес до циклодекстринів пояснюється їх унікальною здатністю утворювати комплекси включення типу «гість – хазяїн» із різними речовинами. Ці комплекси дозволяють змінити фізико-хімічні властивості, а отже, і фармакологічну дію лікарських засобів. Молекули циклодекстрину формують гідрофільний щит навколо ліпофільної частини молекули ^{14}C -гідазепаму, з якою вони взаємодіють. Це, взагалі, збільшує імовірну розчинність лікарського засобу у воді. Циклодекстрин також захищає хімічно нестійкі молекули препарату від потенційно небезпечних корозійних середовищ ШКТ і, зокрема, запобігає гідролізу, окисненню, рацемізації та ферментативному руйнуванню або зменшує їх. Так, відмічено (рис. 1, б) значне зниження концентрації радіоактивного препарату у шлунку порівняно з контрольною групою, що свідчить про високу швидкість всмоктування. Окрім того, високі концентрації ^{14}C -гідазе-

паму протягом $0,5\text{--}1$ год і швидке зниження рівня радіоактивного матеріалу у тонкій кишці та його підвищення у нижніх відділах ШКТ (товста та пряма кишки) демонструють значно вище, ніж у контролі, виведення.

З літературних даних [7] відомо, що гідазепаму властива реабсорбція в кишечнику і повторне всмоктування. Препарат, який виділяється з жовчю, у ШКТ під дією ферментів метаболізується. Крім того, слід наголосити, що гідазепам є аналогом діазепаму, який піддається N-деметилуванню і C_3 -гідроксилуванню, а в його метаболізмі беруть участь форми цитохрому CYP3A4 та CYP2C19, наявні і в печінці, і в ШКТ.

З метою визначення участі гідазепаму в пресистемній елімінації (ефект першого проходження) нами були використані інгібітор та індуктор CYP450 (3A4 та 2C19), що беруть участь у його N¹-деалкілуванні та C_3 -гідроксилуванні.

Попереднє введення фенобарбіталу (рис. 1, в) призводить до більш швидкого всмоктування ^{14}C -гідазепаму, а досягнення максимальної концентрації у тонкій кишці через 2 год демонструє наявність процесу первинного проходження через печінку, отже, і метаболізму. Фенобарбітал прискорює реакції окиснення препарату за участі монооксигеназних систем печінки, а також реакцію C_3 -гідроксилування внаслідок збільшення активності НАДФ-Н-цитохром-С-редуктази. Потім спостерігається швидке зниження концентрації у тонкій кишці загального радіоактивного матеріалу (^{14}C -гідазепаму та його метаболітів) і збільшення її у нижніх відділах ШКТ (особливо після 4-ї години), що свідчить про інтенсивність елімінації, яка майже у 4,5 рази перевищує контроль.

Попереднє введення кетоконазолу (рис. 1, г) не впливає на процес всмоктування та пер-



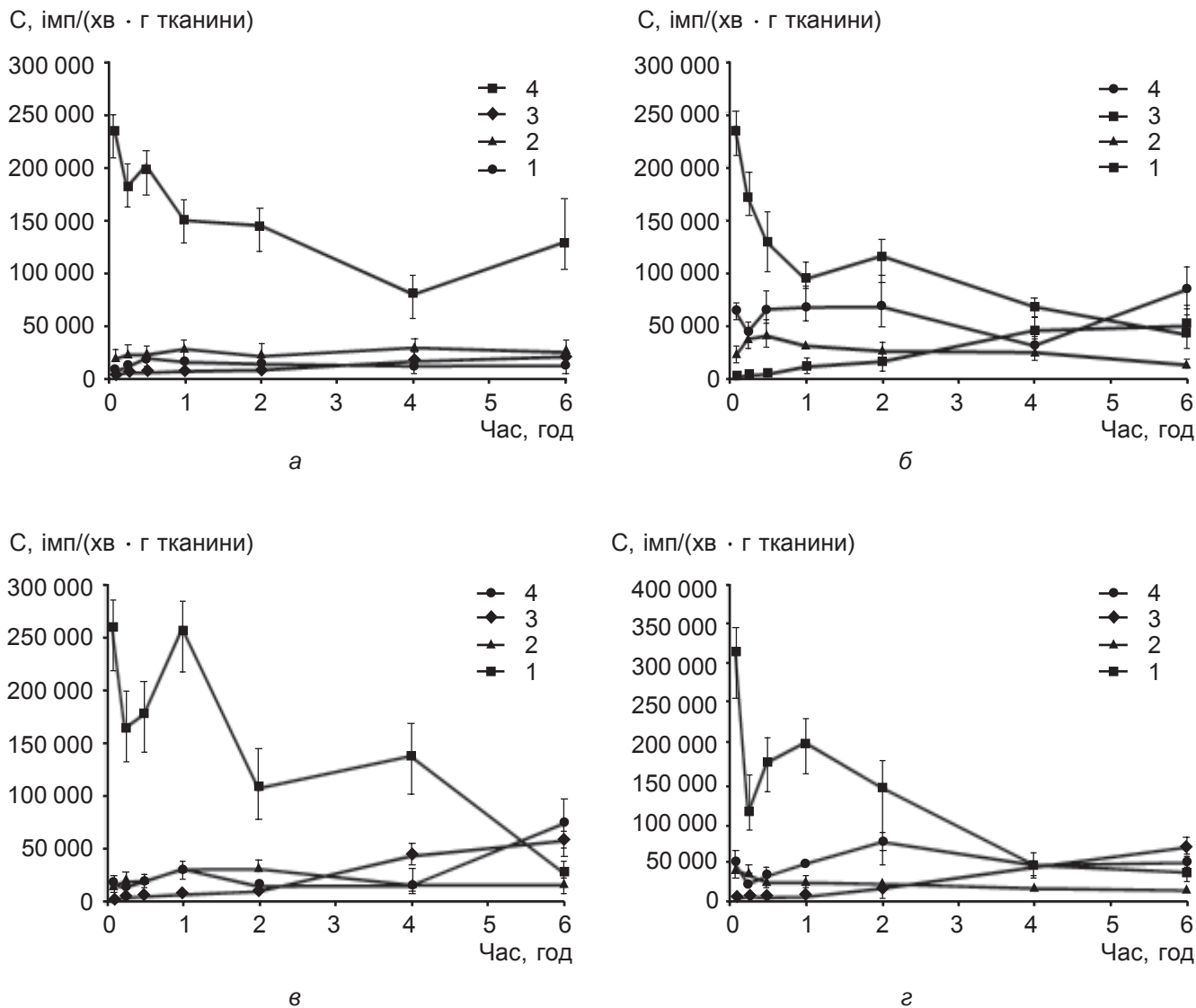


Рис. 1. Вміст ¹⁴C-гідазепаму та його метаболітів у окремих відділах шлунково-кишкового тракту: 1 — шлунок; 2 — тонка кишка; 3 — товста кишка; 4 — пряма кишка; а — контроль (гідазепам); б — гідазепам + циклодекстрин (1 : 1); в — фенобарбітал; г — кетоконазол

винне проходження через печінку (отримані результати у шлунку і тонкій кишці на 2-й годині досліду практично однакові з контролем), проте оскільки кетоконазол гальмує дію ферментів CYP3A4, то існує можливість зниження метаболізму ¹⁴C-гідазепаму цим типом ферментів у кишці на 4-й годині досліду вдвічі менше відносно контролю. Порівнюючи результати на 6-й годині досліду у прямій кишці у контролі та при попередньому введенні кетоконазолу (концентрація загального радіоактивного матеріалу вдві-

чі менша, ніж у контролі), можна зробити припущення, що ферменти типу CYP3A4 відіграють більшу роль у метаболізмі ¹⁴C-гідазепаму (принаймні вдвічі), ніж CYP2C19.

Наявність бенздіазепінових рецепторів у цих ділянках ШКТ визначає деяку спорідненість гідазепаму до них.

Крім того, дно шлунка має найбільшу кількість місць зв'язування периферичних бенздіазепінових рецепторів, що пояснює наявність високих концентрацій у шлунку і тонкій кишці при всіх схемах введення.

Як видно з рис. 2, за 15–30 хв досліду при всіх схемах перорального введення відмічені максимальні концентрації ¹⁴C-гідазепаму та його метаболітів. Значної зміни у надходженні препарату в системний кровотік (ступінь і швидкість всмоктування) при попередньому введенні фенобарбіталу чи кетоконазолу порівняно з контролем не відзначено. Це свідчить про те, що їх сумісне введення з гідазепамом не впливає на біодоступність останнього. Введення комплексу з циклодекстрином (1 : 1) приблизно вдвічі зменшує



C, імп/(хв · г тканини)

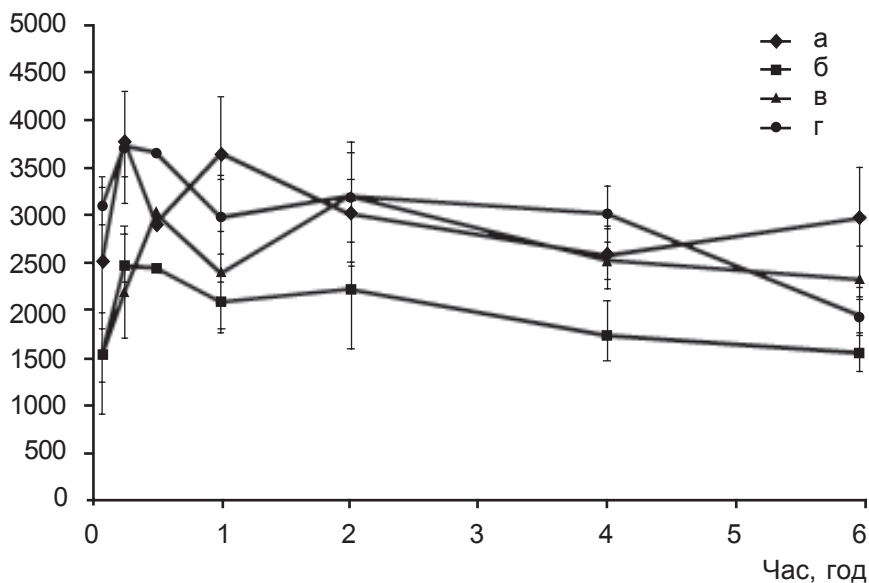


Рис. 2. Вміст ^{14}C -гідазепаму та його метаболітів у плазмі крові мишей: а — контроль (гідазепам); б — гідазепам + циклодекстрин (1 : 1); в — фенобарбітал; г — кетоконазол

бідоступність, тому що тільки вільна форма лікарського засобу може проникати через ліпофільні мембрани і потрапляти у системний кровотік.

Враховуючи отримані результати та дані, опубліковані раніше [7; 8], можна констатувати той факт, що гідазепам при пероральному введенні виявляє високу біодоступність (швидко потрапляє в тонку кишку і всмоктується в ній), дає ефект первинного проходження (наявність другого піка концентрації — 2 год) та швидко виводиться (підвищення концентрації загального радіоактивного матеріалу у нижніх відділах ШКТ). При використанні циклодекстрину хімічно нестійкі молекули гідазепаму захищені від впливу рН шлунка, тому швидше потрапляють у тонку кишку, де всмоктуються, надходять у печінку, метаболізуються і знову всмоктуються та у значно вищих концентраціях потрапляють у нижні відділи ШКТ. Попереднє введення фенобарбіталу приводить до зростання метаболізму й інтенсивності екскреції препарату, а кетоконазо-

лу — до часткового зменшення метаболізму і зниження виведення загального радіоактивного матеріалу. Оскільки концентрації ^{14}C -гідазепаму, які вводили, у всіх випадках були однаковими, то, порівнюючи зміну концентрацій, отриманих у прямій кишці протягом останніх годин досліду, тобто швидкість ($\Delta C/\Delta t$), можна припустити, що інтенсивність транспорту через ШКТ зростає у 5 разів при комплексі з циклодекстрином 1 : 1, при використанні фенобарбіталу цей показник збільшується в 4,5 рази, а якщо вводити кетоконазол (який є інгібітором CYP3A4) — удвічі порівняно з контролем, тому що метаболізм препарату перебігає за участі CYP2C19. Таким чином, доведено, що циклодекстрини зменшують ступінь окиснення гідазепаму та його пресистемну елімінацію.

ЛІТЕРАТУРА

1. Головенко Н. Я. Физико-химическая фармакология. — Одесса: Астропринт, 2004. — 720 с.
2. Головенко М., Борисюк І., Ларіонов В. Оптимізація допоміжними речовинами біодоступності лікарських

засобів, що належать до біофармацевтичної класифікаційної системи // Вісн. фармакол. та фармації. — 2007. — Т. 8. — С. 33-42.

3. Awad M., Gavish M. Peripheral-type benzodiazepine receptors in human cerebral cortex, kidney, and colon // Life Sci. — 1991. — Vol. 49, N 16. — P. 1155-1161.

4. Синтез ^{14}C -гідазепаму та його потенційних метаболітів / М. Я. Головенко, В. І. Павловський, К. В. Преподобна та ін. // Ukrainian Bioorganic Acta. — 2007. — Vol. 1. — P. 20-23.

5. Метаболізм гідазепаму в організмі щурів / М. Я. Головенко, К. В. Преподобна, О. В. Мазепа, Н. В. Шнейдер // Клін. фармація. — 2007. — Т. 11, № 3. — С. 6-10.

6. Inclusion compound of psychotropic agents and cyclodextrins / S. Andronati, Yu. Shapiro, L. Yakubovskaya et al. // J. Ind. Phenom. — 1996. — Vol. 24. — P. 175-186.

7. Метаболізм, експериментальна і клінічна фармакокінетика гідазепаму / Н. Я. Головенко, В. Г. Зиньковський, Е. А. Станкевич и др. // Гідазепам. — К.: Наук. думка, 1992. — С. 20-63.

8. Головенко Н. Я., Кравченко И. А. Биохимическая фармакология пролекарств. — Одесса: Екологія, 2007. — 358 с.

