

М. Я. Головенко, В. Б. Ларіонов, Н. О. Жукова

Фізико-хімічний інститут ім. О. В. Богатського НАН України, 65080 Одеса

ОСОБЛИВОСТІ БІОКИНЕТИКИ ТА ДОЗОЗАЛЕЖНІСТЬ КОНЦЕНТРАЦІЙНОГО ПРОФІЛЮ ¹⁴C-ЕТОКСОЗЕПАМУ В ОРГАНІЗМІ МИШЕЙ ПІСЛЯ ЙОГО ВНУТРІШНЬОВЕННОГО ВВЕДЕННЯ

Вивчали межі лінійності процесів масопереносу ¹⁴C-етоксозепаму, який вводили білим безпородним мишам-самцям в різних дозах (1, 2, 5, 7,5, 10, 15 мг/кг), та через 3 год визначали вміст радіоактивних сполук в органах та тканинах методом тонкошарової препаративної радіохроматографії. Встановлено, що підвищення концентрації вихідної сполуки у печінці та плазмі крові відбувається пропорційно введенню доз в інтервалі 1-10 мг/кг, тоді як із підвищенням дози спостерігається відхилення процесів його розподілу в організмі від лінійних. В умовах *in vivo* визначені основні параметри зв'язування ¹⁴C-етоксозепаму з білками плазми крові та встановлено, що в його абсорбції беруть участь два центра зв'язування з незначними розбіжностями у величинах констант дисоціації та слабкою кооперативністю між ними.

Ключові слова: ¹⁴C-етоксозепам, дозозалежність, зв'язування, альбуміни.

Вибір оптимальної дози при створенні ефективної схеми фармакотерапії будь-якого лікарського засобу ґрунтується не тільки на фармакологічних даних залежності ефекту від концентрації активного фармацевтичного інгредієнту (АФІ) в біомішені, але й на фармакокінетичних показниках, що описують ступінь повноти всмоктування, розподілу та елімінації з організму [2, 3, 18]. Тому оцінка залежності концентрації АФІ у внутрішніх органах залежно від введеної дози є одним із основних етапів при визначенні лінійності процесів масопереносу в організмі.

Для нового похідного 1,4-бенздіазепіну — етоксозепаму (7-бром-5-феніл-3-етокси-1,2-дигідро-3Н-1,4-бенздіазепін-2-ону), який на відміну від більшості споріднених сполук [1] має значний болетамуючий ефект [8,11], було вивчено фармакокінетичні параметри, характер розподілу в організмі мишей [4] та процеси його екскреції після одноразового введення [5]. Однак потребують визначення межі застосування лінійних фармакокінетичних моделей для цієї сполуки, що обумовлено дозою введеного АФІ.

Теоретичною основою для оцінки лінійності перебігу процесів масопереносу в організмі є визначення фармакокінетичних параметрів розподілу речовини при веденні різних доз. За умов незмінності величин сталого об'єму розподілу, констант абсорбції та елімінації тощо для концентраційних кривих вмісту речовини в органах при введенні різних доз спостерігається сімбатність — відповідність форм фармакокінетичних кривих, що обумовлено пропорційним зростанням як введеної дози (концентрація у момент часу 0, C_0), так й вмісту речовини в органі (C_t) у рамках однокамерної моделі:

$$nC_t = nC_0e^{-K_d t}, \quad (1)$$

де n — коефіцієнт співвідношення введених доз, C_t — вміст речовини в органі, C_0 — концентрація у момент часу 0.

Зазвичай для оцінки лінійності фармакокінетичних процесів використовують співставлення нормалізованих (відносно введеної дози) величин площ під фармакокінетичними кривими ($AUC_{0-\infty}$),

Відділ фізико-хімічної фармакології

М. Я. Головенко — зав. відділом, акад. НАМН України
В. Б. Ларіонов — н.с., к.б.н. (vitaliy.larionov@gmail.com)
Н. О. Жукова — аспірант

© М. Я. Головенко, В. Б. Ларіонов, Н. О. Жукова, 2013.

яке є (у випадку внутрішньовенного введення) величиною, зворотною до загального кліренсу:

$$AUC_{0-\infty} = \frac{nD}{V_{dss}k_{el}}; \frac{AUC_{0-\infty}}{nD} = \frac{1}{V_{dss}k_{el}} = \frac{1}{Cl}. \quad (2)$$

Недоліком цього методу є те, що для визначення величини $AUC_{0-\infty}$ необхідно отримати дані, що характеризують усю фармакокінетичну криву; при цьому потрібно більше часу, матеріалів та експериментальних тварин. Проте при внутрішньовенному введенні та відсутності процесу всмоктування інтегральна оцінка лінійності процесів розподілу (V_{dss}) та елімінації (k_{el}) може бути здійснена на підставі даних не площ під фармакокінетичними кривими, а концентрацій речовини у певному органі чи тканині (C_t), відповідно до (1). Можливі три основні тенденції при визначенні цього нормалізованого показника:

- 1) відношення AUC/D (n) залишається постійним незалежно від введеної дози (D), що відповідає лінійності фармакокінетики препарату у використаному діапазоні доз та пропорційності між підвищенням дози D й зростанням площі під відповідною фармакокінетичною кривою AUC ;
- 2) відношення AUC/D із підвищенням дози зменшується внаслідок непропорційності між зростанням площі AUC та введеної дози, що відбувається за рахунок насичення процесів надходження речовини до організму (у випадку процесів всмоктування) чи насичення місць зв'язування речовини з білками-носіями (наприклад, при внутрішньовенному введенні);
- 3) відношення AUC/D зростає при введенні відповідної дози речовини, що обумовлено насиченістю процесів елімінації з органу (організму) або ферментів, які здійснюють метаболізм сполуки.

Мета даної роботи — визначення меж лінійності процесу масопереносу ^{14}C -етоксоzepаму в організмі мишей при його введенні в різних дозах.

Матеріал та методи. Досліди проводили на білих безпородних мишах-самцях (20-24 г), яких утримували згідно з міжнародними та національними біоетичними рекомендаціями на стандартній лабораторній дієті при природному світловому циклі з вільним доступом до води та депривацією їжі за 12 год до початку експерименту. Для дослідів було використано ^{14}C -мічений етоксоzepам ($0,199 \pm 0,001$ Ки/моль, $0,7$ МБк/моль), радіохроматографічну чистоту та питому радіоактивність якого ми описали раніше [9, 17].

Сполуку ($0,203$ Ки/моль) вводили внутрішньовенно (у хвостову вену в емульсії *Tween-80* на фізіологічному розчині) у різних дозах (1, 2, 5, 7,5, 10, 15 мг/кг), а через три години тварин декапітували під

хлороформним наркозом. Зразки крові збирали у попередньо гепарінозовані центрифужні пробірки. Для визначення вмісту радіоактивного матеріалу у цільній крові її аліквоту ($0,1$ см³) переносили до сцинтиляційного флакону, знебарвлювали $0,1$ см³ H_2O_2 (30 %) та додавали 10 см³ ксилольно-спиртового сцинтилятора. Для визначення радіоактивного матеріалу у плазмі крові відділяли від формених елементів центрифугуванням (15 хв, 1500 об./хв), аліквоту ($0,2-0,4$ см³) переносили до сцинтиляційних флаконів та додавали 10 см³ ксилольно-спиртового сцинтилятора. Паралельно визначали рівень гематокриту стандартним методом центрифугування зразку крові у гепарінозованих капілярах при 1000 об./хв. Вміст радіоактивного матеріалу в мозку та печінці визначали в гомогенатах (розчин для гомогенізації — $0,9$ % NaCl , маса: об'єм — $1:4$, аліквота $0,4-0,6$ см³), а в інших внутрішніх органах та тканинах (нирки, селезінка, легені, жирова тканина) — після попереднього гідролізу мурашиною кислотою.

Вміст індивідуальної речовини та її метаболітів у гомогенатах мозку, печінки або крові визначали методом препаративної тонкошарової радіохроматографії [3, 6, 14]. Ліпофільні метаболіти екстрагували хлороформом (4 рази по $3-6$ см³), екстракти об'єднували, наносили на хроматографічні пластини *Sorbfil* на відстані 5 см від краю та хроматографували спочатку у зворотному напрямку в чотирихлористому вуглеці для видалення коекстрактивних речовин, а потім у прямому, у системі хлороформ:бензол:гексан:метанол ($15:25:5:1$), використовуючи в якості речовин-«свідків» немічену вихідну сполуку (значення $R_f = 0,53$) та її 3-гідроксипохідне ($R_f = 0,39$). Після хроматографування пластину проявляли під УФ-світлом, розрізали на зони, поміщали у флакони для рідинної сцинтиляційної фотометрії та заливали ксилольно-спиртовим сцинтилятором. Вміст радіоактивних сполук у пробах визначали на рідинному сцинтиляційному фотометрі *TRI CARB Canberra PACKARD 2700* (США).

Вірогідність розбіжностей значень середніх величин визначали за t -критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення. Введення зростаючих доз ^{14}C -етоксоzepаму призводить до підвищення вмісту у зазначених органах як загальних радіоактивних сполук, так і ліпофільних метаболітів, у фракції до якої надходить й вихідна сполука (табл. 1). На відміну від мозку, надходження сполук до якого обмежене гемато-енцефалічним бар'єром (ГЕБ), у печінці зростання вмісту радіоактивного матеріалу є більш рівномірним, що обумовлено значною васкуляризацією цього органу. Аналогічна тенденція зберігається й при визначенні вмісту ліпофільних метаболітів у печінці та

Таблиця 1

Вміст загальних радіоактивних продуктів, ліпофільних метаболітів та вихідної сполуки у крові, мозку та печінці після внутрішньовенного введення різних доз ^{14}C -етоксоzepаму, $M \pm t$

Доза, мг/кг	Загальні радіоактивні продукти	Ліпофільні метаболіти	Вихідна сполука
Кров, імн./(<i>хв</i> ·см ³)			
1	376 ± 78	178 ± 37	119 ± 25
2	643 ± 36*	322 ± 18*	222 ± 12*
5	1606 ± 22*#3	871 ± 121*#	663 ± 92*#
7,5	2391 ± 341*#α	1410 ± 201*#α	1128 ± 161*#α
10	4128 ± 273*#αβ	2618 ± 173*#αβ	2287 ± 151*#αβ
15	5958 ± 324*#αβλ	4647 ± 253*#αβλ	4183 ± 228*#αβλ
Мозок, імн./(<i>хв</i> ·г)			
1	304 ± 83	122 ± 33	27 ± 7
2	776 ± 49*	273 ± 17*	179 ± 11*
5	2266 ± 317*#	667 ± 93*#	560 ± 78*#
7,5	3863 ± 394*#α	1091 ± 111*#α	937 ± 95*#α
10	5904 ± 535*#αβ	1700 ± 154*#αβ	1501 ± 136*#αβ
15	8844 ± 866*#αβλ	6389 ± 626*#αβλ	6274 ± 614*#αβλ
Печінка, імн./(<i>хв</i> ·г)			
1	2898 ± 129	1189 ± 53	893 ± 19
2	6994 ± 307*	2631 ± 115*	2240 ± 64*
5	16182 ± 1470*#	5677 ± 516*#	5069 ± 67*#
7,5	23507 ± 412*#α	9847 ± 172*#α	9377 ± 286*#α
10	34191 ± 2622*#αβ	12597 ± 966*#αβ	11106 ± 185*#αβ
15	50288 ± 3011*#αβλ	20363 ± 1219*#αβλ	18828 ± 411*#αβλ

Примітки (тут і в табл. 3): * — $P < 0,05$ порівняно з дозою 1 мг/кг, # — $P < 0,05$ порівняно з дозою 2 мг/кг, α — $P < 0,05$ порівняно з дозою 5 мг/кг, β — $P < 0,05$ порівняно з дозою 7,5 мг/кг, λ — $P < 0,05$ порівняно з дозою 10 мг/кг.

крові, підтверджуючи припущення щодо швидкого розподілу між ними.

Висока ліпофільність етоксоzepаму може також обумовлювати нерівномірність його розподілу між певними органами, визначаючи необхідність оцінки співвідношення вмісту радіоактивного матеріалу, що транспортується кров'ю та надходить до печінки або мозку. Приймаючи до уваги, що у крові АФІ може знаходитись як у вигляді комплексу з білками (насамперед, альбумінами) або бути розчиненим у мембранах формених елементів, було визначено співвідношення між вмістом загального радіоактивного матеріалу у певному органі та безпосередньо плазмою чи цільною кров'ю (табл. 2).

Спостерігається помітна різниця у розподілі радіоактивного матеріалу між органом та цільною кров'ю чи безпосередньо плазмою (див. табл. 2). Так, насамперед співвідношення концентрацій радіоактивного матеріалу у крові та плазмі набуває поступового зростання внаслідок збільшення фракції речовини, що знаходиться у ліпідних мембранах формених елементів. Підвищення співвідношення "мозок/плазма" у використаному інтервалі доз може бути пояснене тим, що до головного мозку потрапляє здебільшого фракція речовини, що не зв'язана з альбумінами крові; тому значення

показника "мозок/кров" зростає з меншою інтенсивністю, ніж показника "мозок/плазма". Для печінки характерним є незначне зростання співвідношення "печінка/плазма" та майже незмінне (в інтервалі доз 2-15 мг/кг) співвідношення "печінка/кров" (див. табл. 2).

Визначення лінійності процесів масопереносу на підставі даних вмісту загальних радіоактивних сполук не є коректним, оскільки в даному випадку визначається сума радіоактивних сполук — як вихідної сполуки так й її гідроксильованих метаболітів чи водорозчинних кон'югатів (що мають різне значення ліпофільності). Тому для аналізу цих процесів слід використовувати значення вмісту незмінної сполуки, кількість якої у крові та гомогенатах мозку й печінки було визначено методом тонкошарової радіохроматографії. Використовуючи формули (1) та (2), були визначені нормалізовані значення концентрації незмінного ^{14}C -етоксоzepаму (відносно введеної дози) у вказаних органах. Так, для крові та мозку спостерігається підвищення значень цього показника при збільшенні введеної дози, тоді як для печінки ця тенденція має більш лінійний характер (рис. 1). Така нелінійність між введеною дозою та концентрацією вихідної речовини у крові, ймовірно, є наслідком фі-

Таблиця 2

Співвідношення концентрацій загального радіоактивного матеріалу у крові, плазмі та внутрішніх органах після внутрішньовенного введення різних доз ¹⁴C-етоксозепаму, $M \pm m$

Доза, мг/кг	Кров/плазма	Мозок/плазма	Мозок/кров	Печінка/плазма	Печінка/кров
1	0,50 ± 0,10	0,40 ± 0,10	0,80 ± 0,30	3,80 ± 0,40	7,70 ± 1,60
2	0,42 ± 0,07	0,51 ± 0,08	1,20 ± 0,10	4,60 ± 0,70	10,90 ± 0,80*
5	0,41 ± 0,08	0,60 ± 0,10	1,40 ± 0,30	4,10 ± 0,70	10,10 ± 1,70
7,5	0,42 ± 0,07	0,70 ± 0,10*	1,60 ± 0,30*	4,10 ± 0,40	9,80 ± 1,40
10	0,60 ± 0,10	0,80 ± 0,10* [#]	1,40 ± 0,20*	4,70 ± 0,80	8,30 ± 0,80 [#]
15	0,75 ± 0,08* ^{αβ}	1,10 ± 0,20* ^{αβ}	1,50 ± 0,20*	6,30 ± 0,70* ^{αβ}	8,40 ± 0,70 [#]

Примітки: * — $P < 0,05$ порівняно з дозою 1 мг/кг, [#] — $P < 0,05$ порівняно з дозою 2 мг/кг, ^α — $P < 0,05$ порівняно з дозою 5 мг/кг, ^β — $P < 0,05$ порівняно з дозою 7,5 мг/кг.

зико-хімічних властивостей АФІ (завдяки високій ліпофільності етоксозепаму майже нерозчинний у воді та знаходиться у плазмі, зв'язаний з білками крові). У мозку це обумовлено діяльністю ферментних систем, що окислюють етоксозепаму, та дає змогу кількісно оцінити їх активність.

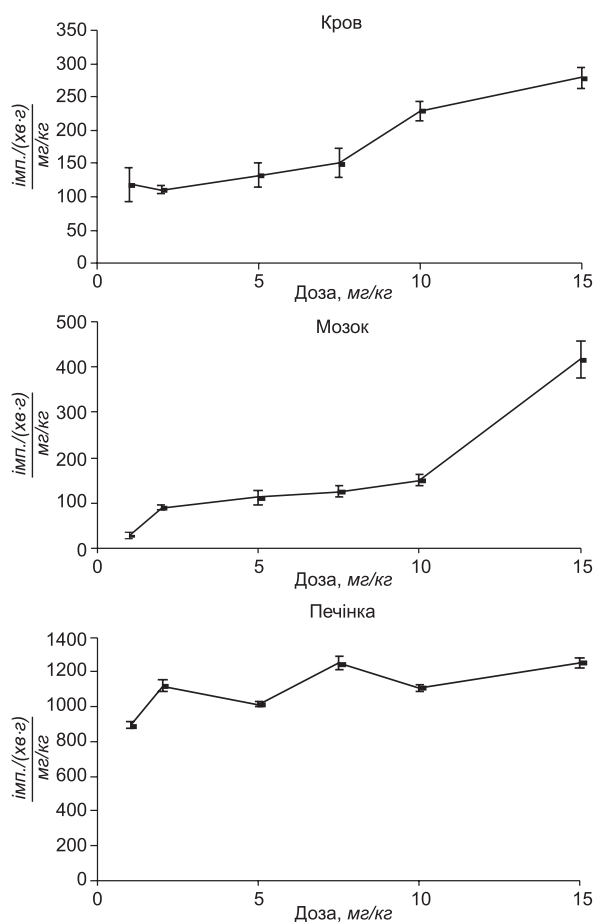


Рис. 1. Нормалізовані (відносно введеної дози) значення рівня вихідної сполуки у крові, мозку та печінці після внутрішньовенного введення ¹⁴C-етоксозепаму в різних дозах.

Лінеаризацією даних вмісту ¹⁴C-етоксозепаму у головному мозку та розрахуванням величин швидкості його біотрансформації в умовах *in vivo* (табл. 3) у подвійних зворотних координатах (метод Лайнуївера — Берка) було визначено максимальну швидкість його метаболізму в головному мозку (V_{max}), яка становила $(0,48 \pm 0,13)$ нмоль/(г тканини·год). Константа Міхаеліса — Ментен (K_m) даного процесу (як інтегральна характеристика зменшення концентрації вільної сполуки у тканинах мозку) становила $1,41 \pm 0,37$. Беручи до уваги той факт, що при інтрагастральному введенні максимальний вміст етоксозепаму у тканинах головного мозку не перевищує 4,0 нмоль/г, слід визнати, що процеси його метаболізму відіграють значну роль у процесі елімінації.

Таблиця 3

Рівень ¹⁴C-етоксозепаму у головному мозку мишей та швидкість метаболізму після внутрішньовенного введення його різних доз, $M \pm m$

Доза, мг/кг	$C_{внх.}$, нмоль/г	V , нмоль/(г·год)
1	0,09 ± 0,02	0,10 ± 0,03
2	0,58 ± 0,04*	0,31 ± 0,02*
5	1,83 ± 0,26* [#]	0,35 ± 0,05* [#]
7,5	3,06 ± 0,32* ^{αα}	0,50 ± 0,05* ^{αα}
10	4,90 ± 0,46* ^{αβ}	0,65 ± 0,06* ^{αβ}
15	20,47 ± 2,06* ^{αβλ}	0,38 ± 0,04* ^{αβλ}

Зв'язування ¹⁴C-етоксозепаму з білками плазми крові *in vivo*. Транспорт ліпофільних речовин у крові зазвичай здійснюється за допомогою кількох шляхів. Так, при низьких концентраціях ліпофільні речовини знаходяться у зв'язаному стані з білками плазми крові ($C_{зв'яз.}$) — насамперед, альбумінами [15, 16]. Для певних лікарських речовин було визначено навіть специфічні місця абсорбції на поверхні альбумінів (варфарінові та діазепінові ділянки зв'язування), що відповідають за селективний транспорт цих чи близьких за структурою сполук. При підвищенні концентрації певна фракція сполуки знаходиться у розчинному стані в

ліпідах клітин формених елементів крові — здебільшого еритроцитах ($C_{\text{ерітр.}}$). Незначна кількість речовини також знаходиться у розчиненому вигляді в плазмі крові ($C_{\text{вільн.}}$). Співвідношення між ними зумовлене насамперед фізико-хімічними властивостями речовини — ліпофільністю та афінністю до місць зв'язування. Таким чином, вміст сполуки у плазмі крові, обумовлено сумою фракцій вільної та зв'язаної АФІ (2), тоді як розподіл між кров'ю та органами визначається сумою вільної та розчиненої у мембранах еритроцитів (1) фракцій сполуки (рис. 2). Виходячи із цього, вивчення процесу зв'язування АФІ етокосезепаму з білками плазми крові є необхідним етапом визначення характеру його розподілу в організмі.

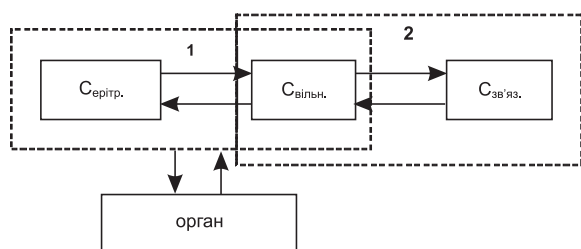


Рис. 2. Схема розподілу та обміну етокосезепаму між кров'ю та органами.

На підставі даних вмісту радіоактивного матеріалу (вільного та зв'язаного) у крові та плазмі (див. табл. 1), а також гематокриту було розраховано показники зв'язування АФІ з білками плазми крові (рис. 3). Завдяки високій ліпофільності ($\log P = 4,01$) основна кількість незв'язаного з білками етокосезепаму крові знаходиться у ліпідних мембранах еритроцитів. Переважна кількість ^{14}C -етокосезепаму в інтервалі введених доз 1-10 мг/кг знаходиться у зв'язаному вигляді у плазмі крові (див. рис. 3), тоді як його вміст у ліпідних компонентах є значно нижчим і при поступовому збільшенні його концентрації спостерігається лише при введенні високих доз (7,5-15 мг/кг).

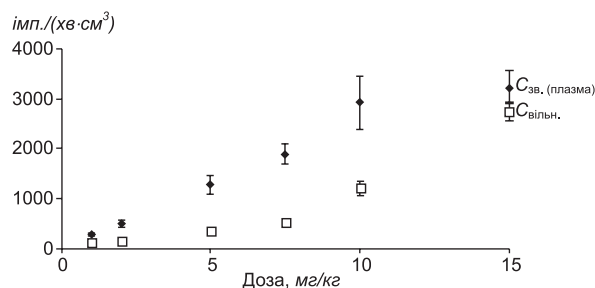


Рис. 3. Концентрація зв'язаного з білками плазми ($C_{\text{зв. (плазма)}}$) та вільного ($C_{\text{вільн.}}$) радіоактивного матеріалу в крові мишей після внутрішньовенного введення різних доз ^{14}C -етокосезепаму.

Залежність концентрації зв'язаного ^{14}C -етокосезепаму ($C_{\text{зв. (плазма)}}$) від концентрації вільного ($C_{\text{вільн.}}$) має гіперболічний характер, що відповідає насиченню місць абсорбції на поверхні молекул альбуміну. Враховуючи той факт, що, за даними літератури, концентрація фракції альбумінів у плазмі крові становить $(49,7 \pm 0,7)$ г/л [7], було розраховано максимальний ступінь зв'язування етокосезепаму з альбумінами крові, який дорівнює $(3,5 \pm 0,5) \cdot 10^{-4}$ нмоль/мг білка. Концентрація ^{14}C -етокосезепаму, при якій досягається зв'язування з 50 % молекул альбуміну (як узагальнена характеристика афінності до білку), становить $(2,5 \pm 0,3)$ нмоль/см³.

Графік залежності концентрації зв'язаного та вільного ^{14}C -етокосезепаму у крові у координатах Скетчарда не є лінійним, а його профіль свідчить про ймовірну позитивну кооперативність зв'язування (наявність максимуму); тому лінеаризацією у логарифмічних анаморфозах за методом Хілла були визначені коефіцієнт кооперативності $\gamma = 0,842$ (близьке до 1,0 значення вказує на слабкий вплив зменшення афінності до ліганду інших активних центрів) та $K_d = (0,256 \pm 0,018)$ нмоль/см³ (рис. 4).

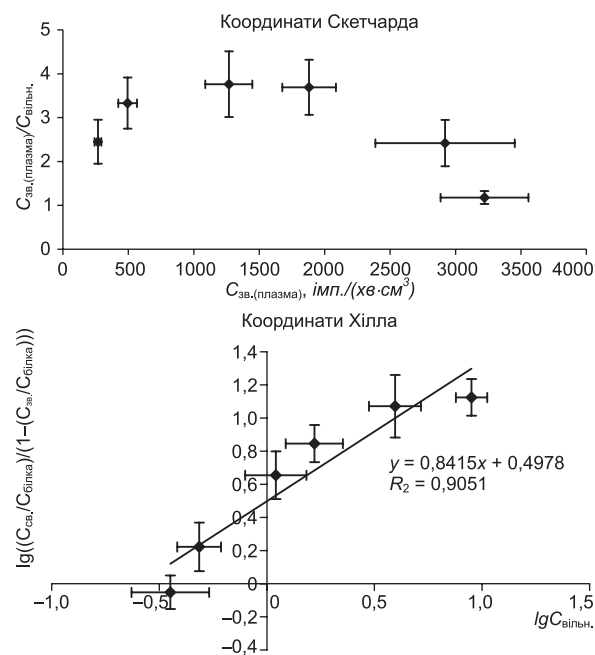


Рис. 4. Розрахунок параметрів зв'язування ^{14}C -етокосезепаму з білками плазми крові в умовах *in vitro*.

Оскільки за методами Скетчарда та Хілла було визначено наявність кількох місць зв'язування етокосезепаму з альбуміном, подальшим аналізом даних за методом Бьеррума було встановлено, що його адсорбція на поверхні молекули альбуміну здійснюється, принаймні, на двох ділянках, про що свідчить наявність двох піків на диференційній

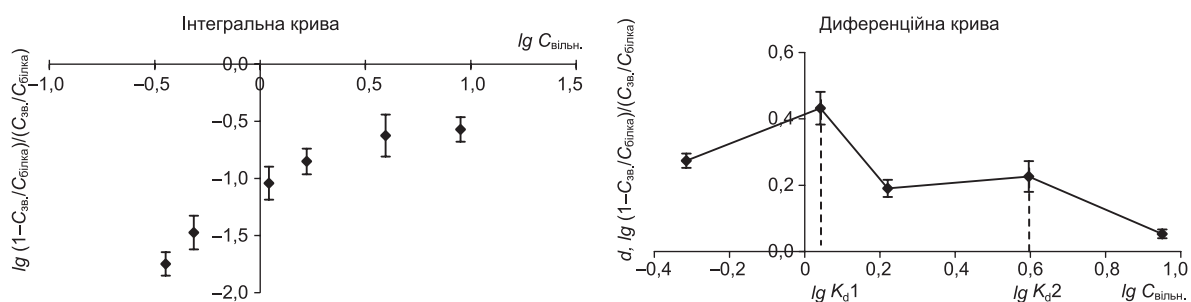


Рис. 5. Розрахунок параметрів зв'язування ¹⁴C-етоксозепаму з білками плазми крові в умовах *in vitro* за методом Бьєррума: $K_{d1} = (1,1 \pm 0,1)$ нмоль/см³ та $K_{d2} = (3,9 \pm 0,5)$ нмоль/см³.

кривій (рис. 5). Вони мають близькі значення констант дисоціації: $K_{d1} = (1,1 \pm 0,1)$ нмоль/см³ та $K_{d2} = (3,9 \pm 0,5)$ нмоль/см³.

Висновки

1. Після введення ¹⁴C-етоксозепаму підвищення його концентрації у печінці та плазмі крові відбувається пропорційно введенню доз в інтерва-

лі 1-10 мг/кг, тоді як із підвищенням дози спостерігається відхилення процесів його розподілу в організмі від лінійних.

2. В абсорбції ¹⁴C-етоксозепаму з білками плазми крові беруть участь два центра зв'язування з незначними розбіжностями у величинах констант дисоціації та слабкою кооперативністю між ними.

Список використаної літератури

1. Богатский А. В., Андронати С. А., Головенко Н. Я. Транквилизаторы (1,4-бенздиазепины и родственные структуры). — Киев: Наук. думка, 1980. — 276 с.
2. Головенко Н. Я. Физико-химическая фармакология. — Одесса: Астропринт, 2004. — 720 с.
3. Головенко Н. Я., Зиньковский В. Г. Определение транквилизаторов 1,4-бенздиазепинового ряда и их метаболитов в биологических средах // Хим.-фарм. журн. — 1978. — 12, № 1. — С. 3-14.
4. Жукова Н. О., Головенко М. Я., Ларіонов В. Б. Фармакокінетичний профіль та метаболізм ¹⁴C-етоксозепаму в організмі мишей після внутрішньовенного введення // Клін. фармація. — 2012. — 16, № 4. — С. 32-38.
5. Жукова Н. О., Ларіонов В. Б., Овчаренко Н. В. Екскреція ¹⁴C-етоксозепаму та його метаболітів з організму мишей при внутрішньовенному введенні // ХХІХ наук. — практ. конф. "Ліки — людині. Сучасні проблеми створення, вивчення, клінічної апробації лікарських засобів", (Харків, 15 березня 2012 р.). — Харків, 2012. — С. 43.
6. Зиньковский В. Г., Головенко Н. Я., Жук О. В. Оптимизация экстракции лекарственных веществ из биологических сред // Хим.-фарм. журн. — 1983. — 17, № 3. — С. 361-366.
7. Колб В. Г., Камышиников В. С. Клиническая биохимия. — Минск: Беларусь, 1976. — 311 с.
8. Кравченко И. А., Радаева И. Н., Жукова Н. А. Фармакологическая активность новых производных 1,4-бенздиазепина // Укр. наук.-мед. мол. журн. — 2011. — № 4. — С. 60.
9. Павловський В. І., Семенішина К. О., Ларіонов В. Б., Жукова Н. О. Синтез ¹⁴C-етоксозепаму та визначення його основних фізико-хімічних та радіологічних показників // Фармацевт. журн. — 2012. — № 2. — С. 43-49.
10. Созинов В. А., Руденко О. П., Головенко Н. Я. и др. Синтез и корреляция между строением и фармакологической активностью производных 1,3-дигидро-2Н-1,4-бенздиазепин-2-она // Хим.-фарм. журн. — 1984. — 18, № 10. — С. 67-71.
11. Andronati S., Semenishyna E., Pavlovsky V. et al. Synthesis, structure and affinity of novel 3-alkoxy-1,2-dihydro-3H-1,4-benzodiazepin-2-ones for CNS central and peripheral benzodiazepine receptors // Eur. J. Med. Chem. — 2010. — 45, № 4. — P. 1346-1351.
12. Baregama L. K., Singh B., Talesara G. L. Synthesis of 3-alkoxy-(substituted aryl) biguanidino-4-methyl-2,3-dihydro(1h)-1,5-benzodiazepine-2-ones and related compounds // Heterocycl. Communic. — 2002. — 8, № 6. — P. 607-612.
13. Drug discovery and evaluation: Methods in clinical pharmacology / Eds: H. G. Vogel, J. Maas, A. Gebauer. — Springer Reference, 2011. — XII. — 564 p.
14. Hancu G., Fulop E., Rusu A. et al. Thin layer chromatographic separation of benzodiazepine derivatives // Analele Universității din București — Chimie (serie nouă). — 2011. — 20, № 2. — P. 181-188.
15. Omran A. A., El-Sayed A-A., Shehata A. Binding of benzodiazepine drugs to bovine serum albumin: a second derivative spectrophotometric study // Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc. — 2011. — 83, № 1. — P. 362-367.
16. Sadlej-Sosnowska N. Relationships between binding of benzodiazepines to alpha-1-acid glycoprotein and human serum albumin and their retention on the protein and octadecylsilane columns // Biomed. Chromatography. — 1995. — 9, № 3. — P. 150-151.
17. Sherma J. Thin-layer radiochromatography // J. AOAC Int. — 2009. — 92, № 1. — P. 29-35.
18. Testa B., Krämer S. D., Wunderli-Allenspach H. Pharmacokinetic profiling in drug research. — Verlag Helvetica Chimica Acta, 2006. — 493 p.

Одержано 21.03.2013

ОСОБЕННОСТИ БИОКИНЕТИКИ И ДОЗОЗАВИСИМОСТЬ КОНЦЕНТРАЦИОННОГО ПРОФИЛЯ ¹⁴C-ЭТОКСОЗЕПАМА В ОРГАНИЗМЕ МЫШЕЙ ПОСЛЕ ЕГО ВНУТРИВЕННОГО ВВЕДЕНИЯ

Н. Я. Головенко, В. Б. Ларионов, Н. А. Жукова

Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, 65080 Одесса

Изучали границы линейности процессов массопереноса ¹⁴C-этоксозепама, который вводили белым беспородным мышам-самцам в разных дозах (1, 2, 5, 7,5, 10, 15 мг/кг), и через 3 часа определяли содержание радиоактивных соединений в органах и тканях методом тонкослойной препаративной радиохроматографии. Установлено, что повышение концентрации исходного соединения в печени и плазме крови происходит пропорционально введению доз в интервале 1-10 мг/кг, тогда как с повышением дозы наблюдается отклонение процессов его распределения в организме от линейных. В условиях *in vivo* определены основные параметры связывания ¹⁴C-этоксозепама с белками плазмы крови и установлено, что в его абсорбции принимают участие два центра связывания с незначительными различиями в величинах константах диссоциации и слабой кооперативностью между ними.

PECULIARITIES OF BIOKINETICS AND DOSE-DEPENDENCE OF THE CONCENTRATION CURVES FOR ¹⁴C-ETHOXOZEPAM IN MICE AFTER INTRAVENOUS ADMINISTRATION

M. Ya. Golovenko, V. B. Larionov, N. O. Zhukova

A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute NAS Ukraine, 65080 Odessa

A study was made of the application limits for linearity of the mass-transfer processes for ¹⁴C-ethoxozepamin, which was administered to albino male mice in different doses (1-2-5-7.5-10-15 mg/kg); the content of radioactively labeled compounds was determined 3 hours later in the organs and tissues using the thin-layer preparative radiochromatography. Increase of concentration of the initial compound in liver and blood plasma was found to be proportional to the administration of a dose in the range of 1-10 m/kg, while the increase of dose lead to non-linear dependence of distribution processes. The main parameters of ¹⁴C-ethoxozepamin binding to plasma proteins were determined *in vivo*. The results obtained showed the two binding centers with similar dissociation constants and weak cooperativity between them to participate in the absorption process.