

УДК 615.0;7547.057

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

*Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, м. Одеса***БІОКІНЕТИКА <sup>14</sup>C-ЕТОКСОЗЕПАМУ ПІСЛЯ ЙОГО ІНТРАГАСТРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ МИШАМ**

*Метою даної роботи було вивчення особливостей кінетики розподілу та визначення фармакокінетичних параметрів нової сполуки, що володіє болетамуючим ефектом – <sup>14</sup>C-етоксозепаму після його інтрагастрального введення. Сполуку вводили інтрагастрально мишам, вміст індивідуальної речовини та метаболітів по органах та тканинах визначали методами препаративної тонкошарової радіохроматографії та рідинової сцинтиляційної фотометрії.*

*Встановлено, що етоксозепам швидко всмоктується з шлунково-кишкового тракту. У легенях відмічається найменший рівень вмісту радіоактивного матеріалу, тоді як у жировій тканині – найбільший внаслідок високої ліпофільності сполуки. Максимальний вміст вихідної сполуки у мозку спостерігається до 12 години після введення та паралельно змінюється із її концентрацією у крові. Значно відрізняються співвідношення концентрацій речовини у мозку, крові та плазмі (співвідношення «мозок/кров» складає  $0,71 \pm 0,21$ , тоді як показник «мозок/плазма крові» –  $1,29 \pm 0,27$ ) що пояснюється швидкою елімінацією гідрофільних метаболітів та підвищенням концентрації ліпофільних метаболітів у головному мозку. Разом з тим, не відмічається кумуляції сполуки у цьому органі, оскільки значення загального кліренсу для мозку ( $253 \pm 20$  см<sup>3</sup>/кг·год) та крові ( $252 \pm 20$  см<sup>3</sup>/кг·год) статистично не відрізняються.*

*Ключові слова:* етоксозепам, фармакокінетика, метаболізм, інтрагастральне введення

**ВСТУП**

Для нової біологічно-активної речовини, що проявляє певний фармакологічний ефект та є потенційним кандидатом до створення на її основі нового лікарського засобу, необхідним є вивчення комплексу біокінетичних параметрів, що включають фармакокінетичні процеси всмоктування, розподілу та елімінації, метаболізму в організмі (біотрансформація) та власне величини та прояву фармакологічного ефекту (фармакодинаміка). Зазвичай, фармакологічна дія може бути оцінена вже на етапі скринінгу, тоді як на визначених фармакокінетичних параметрах базується створення ефективних фармакотерапевтичних схем, що враховують швидкість метаболізму речовини, її розподіл та екскрецію з організму.

Пероральний шлях введення лікарських засобів є одним з тих, що найширше використовуються при введенні лікарських засобів в організм. Пов'язане це насамперед з його атравматичністю, легкістю використання у амбулаторній практиці, контролю за режимом (доза та

період між прийомами) дозування. Втім, всмоктування препарату може тривати досить довгий час, бути неповним або знижувати біодоступність, що необхідно враховувати не тільки при розробці оптимальної схеми фармакотерапії, але й при визначенні біоеквівалентності різних лікарських форм. Це обумовлює необхідність вивчення фармакокінетики біологічно-активних сполук не тільки після внутрішньовенного, але й після перорального (у експериментальній практиці – аналогічного йому інтрагастрального) введення.

Метою даної роботи було вивчення особливостей кінетики розподілу та визначення фармакокінетичних параметрів нової сполуки – <sup>14</sup>C-етоксозепаму (7-бром-5-феніл-3-етокси-1,2-дигідро-3H-1,4-бенздіазепін-2-ону), який володіє значним болетамуючим ефектом [1], після його інтрагастрального введення.

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ**

Досліди проводились на білих безпорідних мишах-самцях (20-24 г), яких утримували згідно міжнародних та національних біоетичних рекомендацій на стандартній лабораторній дієті при природному світловому циклі з вільним

© Н.О. Жукова, М.Я. Головенко, В.Б. Ларіонов, 2012

доступом до води та депривацією їжі за 12 годин до початку експерименту. В експерименті було використано <sup>14</sup>C-мічений етоксозепам, радіохроматографічну чистоту та питому радіоактивність якого було визначено раніше [2]. Сполуку (0,203 Кю/моль) вводили інтрагастрально (за допомогою зонду в емульсії Tween-80 на фізіологічному розчині) в дозі 5 мг/кг (14 мкмоль/кг) та через певний проміжок часу (0,25; 0,5; 1; 3; 6; 12; 24; 32 та 48 годин) тварин піддавали хлороформному наркозу й декапітації. Зразки крові збирали у попередньо гепаринізовані центрифужні пробірки. Для визначення вмісту радіоактивного матеріалу у цільній крові її аліквоту (0,1 см<sup>3</sup>) переносили до сцинтиляційного флакону, знебарвлювали 0,1 см<sup>3</sup> H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (30 %) та додавали 10 см<sup>3</sup> ксилольно-спиртового сцинтилятора. Для визначення радіоактивного матеріалу у плазмі крові її відділяли від формених елементів центрифугуванням (15 хв, 1500 об/хв), аліквоту (0,2-0,4 см<sup>3</sup>) переносили до сцинтиляційних флаконів та додавали 10 см<sup>3</sup> ксилольно-спиртового сцинтилятора. Паралельно визначали рівень гематокриту стандартним методом центрифугування зразку крові у гепаринізованих капілярах при 1000 об/хв.

Вміст радіоактивного матеріалу в мозку та печінці визначали в їх гомогенатах (на 0,9 % NaCl, 1:4, маса:об'єм, аліквота 0,4-0,6 см<sup>3</sup>), а в інших внутрішніх органах та тканинах (нирки, селезінка, легені, жирова тканина) – після попереднього гідролізу мурашиною кислотою.

Вміст індивідуальної речовини та її метаболітів в гомогенатах мозку, печінки або крові визначали методом препаративної тонкошарової радіохроматографії [1, 2]. Ліпофільні метаболіти екстрагували хлороформом (4 рази по 3-6 см<sup>3</sup>), екстракти об'єднували, наносили на хроматографічні пластини Sorbfil на відстані 5 см від краю та хроматографували спочатку у зворотному напрямку в чьотирьоххлористому вуглеці для видалення жирів, ліпідів, пігментів та інших коекстрактивних речовин, а потім у прямому в системі хлороформ : бензол : гексан : метанол (15:25:5:1), використовуючи у якості речовин-«свідків» немічену вихідну сполуку (R<sub>f</sub>=0,53) та її 3-гідроксипохідне (R<sub>f</sub>=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.

Отримані дані оброблені за допомогою статистичного пакету програми MS Excel. Розрахункові дані фізико-хімічних параметрів отри-

мані за допомогою програм CS Chem Draw Pro та MedChem Designer (v. 1.0.1.15).

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

*Розподіл <sup>14</sup>C-етоксозепаму по органах та тканинах*

Після інтрагастального введення <sup>14</sup>C-етоксозепаму у всіх органах та тканинах реєструється присутність радіоактивного матеріалу вже в першу годину внаслідок його високої швидкості всмоктування. Розподіл по органах та тканинах є дещо нерівномірним – так, у легенях вміст радіоактивних сполук є найменшим (табл. 1), у той час як найбільший вміст загальних радіоактивних продуктів реєструється у жировій тканині внаслідок високої ліпофільності сполуки. Значний та майже незмінний вміст радіоактивного матеріалу також спостерігається у нирках внаслідок їх екскреторної функції.

Таблиця 1

### ВМІСТ РАДІОАКТИВНОГО МАТЕРІАЛУ (ІМП/ХВ/Г ТКАНИНИ) У ВНУТРІШНІХ ОРГАНАХ ТА ТКАНИНАХ МИШЕЙ ПІСЛЯ ІНТРАГАСТРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ 2-<sup>14</sup>C-ЕТОКСОЗЕПАМУ (14 МКМОЛЬ/КГ, 5 МГ/КГ)

Час, год	Селезінка	Нирки	Серце	Легені	Жирова тканина
0,25	317±37	588 ± 486	174 ± 96	–	438 ± 177
0,5	284±45	238 ± 96	185 ± 103	26 ± 20	209 ± 85
1	250±63	682 ± 277	128 ± 84	139 ± 12	368 ± 64
3	335±73	842 ± 104	1300±707	46 ± 12	596±128
6	1197±573	798 ± 135	372 ± 241	244 ± 44	665±104
12	642±192	599 ± 57	245 ± 95	234 ± 32	557±112
24	742±85	767 ± 85	201 ± 79	715 ± 43	934±162
32	841±164	572 ± 111	330 ± 116	672±104	1627±550
48	494±133	441 ± 25	88 ± 30	624±254	755±83

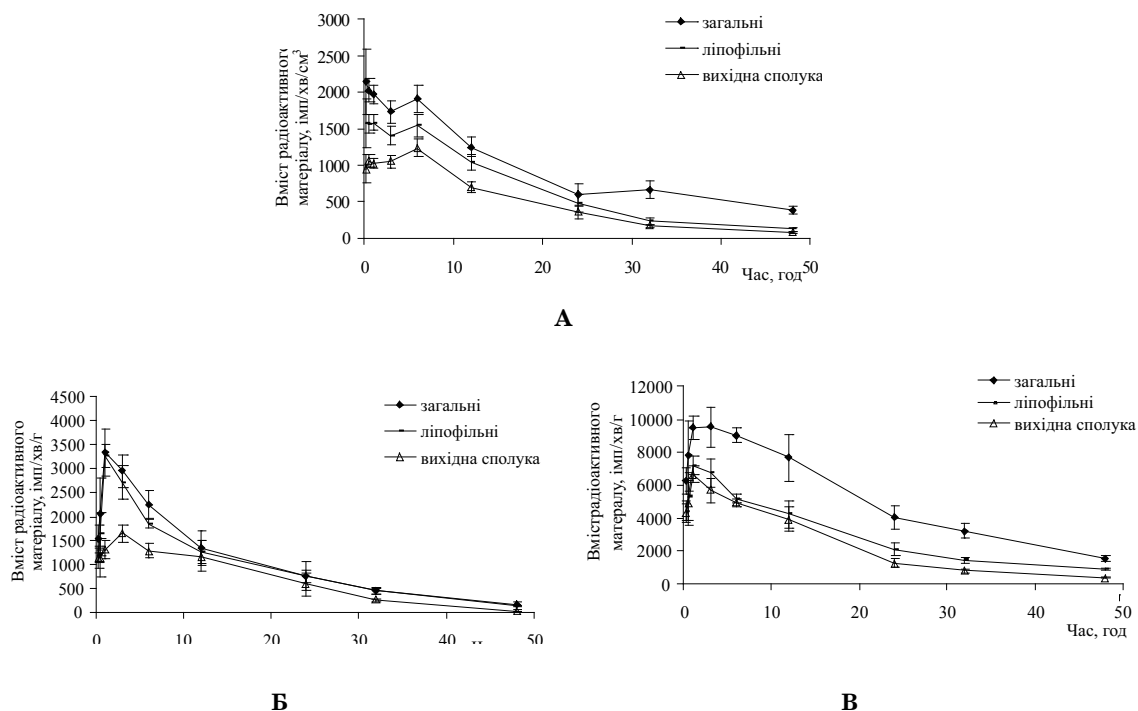
Слід відмітити, що у різних органах та тканинах час досягнення максимальної концентрації є різним – так, у серці та нирках він припадає на 3 години після введення (насамперед, за рахунок зміни концентрації радіоактивних продуктів у крові), а у селезінці – до 6 години (що пов'язане з відносно меншою васкуляризацією цього органу). Максимальний вміст радіоактивного матеріалу у жировій тканині та легенях припадає на 24-32 години за рахунок, ймовірно, утворення більш ліпофільних метаболітів.

При визначенні вмісту суми ліпофільних метаболітів та вихідної речовини (табл. 2) у гомогенатах мозку, печінки та крові встановлено (рис. 1), що залежно від органу чи тканини спостерігається значна різниця цього показника. Так, лише у печінці вихідна сполука складає максимальну

кількість від суми ліпофільних метаболітів (рис. 1, в), тоді як для мозку у перші години спостерігається інша картина – до ~ 12-ї години після введення кількість вихідної сполуки знамо менша, ніж вміст ліпофільних метаболітів. Однак до 12-ї години спостерігається поступове збільшення відносної кількості вільної речовини у головному мозку та після цього терміну це співвідношення залишається практично незмінним. Навпаки, у крові співвідношення між вмістом як суми ліпофільних метаболітів, так і вільної речовини впродовж часу експерименту не змінюється, паралельно зменшуючись до 48 години після введення. Також привертає до себе уваги те, що впродовж часу експерименту вміст вільної речовини (табл. 2) у крові та головному мозку є досить близьким, що пояснюється поступовим всмоктуванням введеної дози  $^{14}\text{C}$ -етоксозепаму з шлунково-кишкового тракту (ШКТ) та розподілу між кров'ю та мозком.

Вказані особливості обумовлені як шляхом надходження речовини до організму, так і швидкістю її метаболізму та фізико-хімічними властивостями метаболітів, що утворюються. Оскільки вся доза речовини вводилась інтрагастрально, з кров'ю із ШКТ вона потрапляє до печінки, де від-

бувається основна частина процесів її біотрансформації – як першої фази – окислення та утворення гідроксильованих похідних, так і друга фаза – кон'югація та утворення водорозчинних метаболітів. Приймаючи до уваги те, що у печінці спостерігається високий вміст ферментів як першої фази метаболізму (цитохроми Р450), так і другої (УДФ-глюкуронілтрансфераза, сульфатаза та ін.), цим пояснюється як знижений вміст (у порівнянні з мозком та кров'ю) ліпофільних метаболітів у загальній кількості загальних радіоактивних продуктів (останню частину яких складають водорозчинні кон'югати), так і відносно високий вміст вільної речовини у фракції ліпофільних метаболітів (гідроксильовані сполуки, що утворюються, швидко конвертуються до гідрофільних кон'югатів). Різною ферментативною активністю (внаслідок меншого вмісту ензимів) пояснюється й різний кінетичний профіль ліпофільних метаболітів та вихідної речовини у мозку (зменшення внеску кон'югатів у загальний процес метаболізму) та в крові (що здебільшого виконує транспортну функцію, а співвідношення ліпофільних та гідрофільних метаболітів у цій тканині насамперед обумовлене їх фізико-хімічними властивостями).



**Рис. 1.** Зміна вмісту загального радіоактивного матеріалу, суми ліпофільних метаболітів та вихідної сполуки у крові (А), мозку (Б) та печінці (В) мишей після інтрагастрального введення  $2\text{-}^{14}\text{C}$ -етоксозепаму (14 мкмоль/кг, 5 мг/кг)

Таблиця 2

**ВМІСТ ВИХІДНОЇ СПОЛУКИ  
В КРОВІ (НМОЛЬ/СМ<sup>3</sup>), МОЗКУ  
ТА ПЕЧІНЦІ (НМОЛЬ/Г) МИШЕЙ  
ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОВЕННОГО  
ВВЕДЕННЯ 2-<sup>14</sup>С-ЕТОКСОЗЕПАМУ  
(14 МКМОЛЬ/КГ, 5 МГ/КГ)**

Час, год	Кров	Мозок	Печінка
0,25	2,3 ± 0,1	2,7 ± 0,2	10,4 ± 0,7
0,5	2,6 ± 0,2	2,7 ± 0,2	11,8 ± 0,8
1	2,5 ± 0,2	3,1 ± 0,2	16,0 ± 1,0
3	2,5 ± 0,2	4,0 ± 0,3	13,8 ± 0,9
6	3,0 ± 0,2	3,9 ± 0,2	11,9 ± 0,8
12	1,7 ± 0,1	4,0 ± 0,3	9,4 ± 0,6
24	0,87 ± 0,06	2,0 ± 0,1	3,1 ± 0,2
32	0,40 ± 0,03	0,86 ± 0,05	2,0 ± 0,1
48	0,19 ± 0,01	0,11 ± 0,01	0,87 ± 0,06

Як при внутрішньовенному, так і при інтрагастральному введенні <sup>14</sup>С-етоксоzepаму співвідношення вмісту радіоактивного матеріалу у цільній крові та плазмі знаходиться у межах показника гематокриту (табл. 3), що демонструє рівномірність розподілу сполуки між білками плазми крові та мембранами формених елементів крові (співвідношення «кров/плазма»). Лише наприкінці експерименту (до 48 години) спостерігається значне (майже у 2 рази) збільшення цього показника, що обумовлено, ймовірно, накопиченням більш ліпофільних метаболітів у мембранах еритроцитів. Також не слід виключати можливість витіснення вихідної сполуки та її ліпофільних метаболітів з їх місць зв'язування із альбумінами плазми крові гідрофільними кон'югатами.

Співвідношення «мозок/кров», що є мірою розподілу речовини між кров'ю та цим органом, зростає з 0,71±0,21 у перші 0,25 години після

введення та з першої до 24 години залишається на досить високому рівні завдяки одночасному високому вмісту у головному мозку ліпофільних метаболітів та їх зменшеній кількості у цільній крові (рис. 1 а, б). Однак співвідношення «мозок/плазма крові», яке відображує процес рівноваги між концентрацією у мозку та сумарним вмістом речовини, що зв'язана з білками плазми та знаходиться у вигляді водорозчинних кон'югатів, сягає максимуму до 1 години після введення (1,29±0,27), тоді як впродовж останнього часу експерименту спостерігається поступове зменшення цього показника. Приймаючи до уваги, що в крові спостерігається паралельне зменшення концентрації загальних радіоактивних та ліпофільних продуктів (рис. 1 а), а вміст у головному мозку та крові вільної сполуки є майже рівним (табл. 2). Можна зробити висновок, що такі показники обмовлені високою швидкістю елімінації гідрофільних метаболітів, а зростання можливе віднести за рахунок підвищення вмісту ліпофільних радіоактивних метаболітів у головному мозку (рис. 1 б).

Для печінки, навпаки, характерним є досить високий вміст радіоактивного матеріалу (табл. 3), оскільки вона є першим й основним органом, крізь який транспортується основна доза речовини, що всмокталась у ШКТ. Це обумовлює як поступове зростання показників співвідношення концентрацій радіоактивного матеріалу у печінці та плазмі чи крові в першу годину після інтрагастрального введення <sup>14</sup>С-етоксоzepаму, так і підтримування їх на високому рівні впродовж усього часу експерименту.

*Характеристика складу метаболітів <sup>14</sup>С-етоксоzepаму після його інтрагастрального введення*

Питомий вміст вихідної речовини у головному мозку та печінці після інтрагастрального введення

Таблиця 3

**ПОКАЗНИКИ ГЕМАТОКРИТУ ТА ЗМІНА СПІВВІДНОШЕННЯ КОНЦЕНТРАЦІЙ  
РАДІОАКТИВНОГО МАТЕРІАЛУ МІЖ ОРГАНАМИ ТА ТКАНИНАМИ МИШЕЙ ПІСЛЯ  
ІНТРАГАСТРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ 2-<sup>14</sup>С-ЕТОКСОЗЕПАМУ (14 МКМОЛЬ/КГ, 5 МГ/КГ).**

Час, год	Співвідношення концентрацій					
	Гематокрит	Кров/Плазма	Мозок/плазма	Мозок/кров	Печінка/плазма	Печінка/кров
0,25	0,71 ± 0,04	0,88 ± 0,29	0,63 ± 0,21	0,71 ± 0,21	2,56 ± 0,75	2,92 ± 0,72
0,5	0,71 ± 0,05	0,75 ± 0,13	0,76 ± 0,30	1,01 ± 0,38	2,89 ± 0,91	3,84 ± 1,11
1	0,89 ± 0,23	0,76 ± 0,12	1,29 ± 0,27	1,69 ± 0,28	3,66 ± 0,60	4,80 ± 0,47
3	0,69 ± 0,01	0,71 ± 0,07	1,20 ± 0,15	1,70 ± 0,24	3,89 ± 0,55	5,51 ± 0,85
6	0,66 ± 0,01	0,65 ± 0,10	0,77 ± 0,13	1,18 ± 0,19	3,09 ± 0,40	4,73 ± 0,52
12	0,63 ± 0,03	0,66 ± 0,11	0,70 ± 0,21	1,07 ± 0,31	4,01 ± 0,89	6,10 ± 1,29
24	0,57 ± 0,06	0,70 ± 0,21	0,86 ± 0,39	1,24 ± 0,60	4,68 ± 1,16	6,74 ± 2,03
32	0,61 ± 0,02	0,75 ± 0,29	0,52 ± 0,20	0,69 ± 0,16	3,67 ± 1,37	4,87 ± 1,08
48	0,57 ± 0,06	1,48 ± 0,27	0,67 ± 0,15	0,45 ± 0,11	6,03 ± 0,91	4,07 ± 0,71

ня значно відрізняється від відповідних значень при внутрішньовенному введенні. Так, у мозку впродовж всього часу експерименту в хлороформних екстрактах реєструється пік вихідної сполуки (із значенням  $R_f=0,53\pm 0,58$ ), однак його інтенсивність утворення значно відрізняється при різному терміні введення  $^{14}\text{C}$ -етоксоzepаму. В першу годину після введення вміст незмінної сполуки складало лише  $\sim 40\%$  від загальної кількості ліпофільних метаболітів, що обумовлено характером його всмоктування у ШКТ та низькою концентрацією в цей час експозиції, внаслідок чого більша його фракція піддається метаболізму. Підтвердженням цього є також збільшення гідроксильованих метаболітів (із значенням  $R_f$  сполук,  $0,2-0,4$ ), а також збільшення більш рухомих у даній хроматографічній системі метаболітів з порівняно більшим  $R_f$  ( $0,8-1,0$ , ймовірно, метильовані кон'югати). Збільшення абсолютної кількості речовини після всмоктування у ШКТ призводить і до збільшення її питомого вмісту в загальній кількості ліпофільних метаболітів. На підставі знайденої закономірності можна припустити, що процес першої фази метаболізму етоксоzepаму є насиченим, тому протягом наступних 24 годин після введення сполуки вміст незмінної речовини у хлороформних екстрактах підвищується до  $\sim 80-90\%$ . У подальшому знову спостерігається зменшення вмісту вихідної сполуки у хлороформних екстрактах з одночасною появою як окислених, так і вірогідно етильованих метаболітів, нерухомих у даній хроматографічній системі.

Навпаки, у печінці вже з перших годин після введення сполуки її питомий вміст у хлороформних екстрактах є досить високим та поступово

зменшується протягом часу експерименту (з  $\sim 90\%$  впродовж перших 12 годин до  $40\%$  наприкінці експерименту). Протягом перших двох діб вмісту інших ліпофільних метаболітів практично не реєструється, та до 48-ї години, з одночасним зменшенням у хлороформних екстрактах вихідної сполуки спостерігається підвищення вмісту інших радіоактивних сполук – насамперед гідроксильованих метаболітів (з  $R_f=0,16$ ). Це спостереження також підтверджує припущення щодо насиченості ферментативних процесів першої фази метаболізму етоксоzepаму, тобто реакцій гідроксильовання при високих концентраціях субстрата. Щодо головного мозку, високий вміст незмінної сполуки у хлороформних екстрактах печінки у першу годину пояснюється швидким всмоктуванням з ШКТ та надходженням всієї дози до цього органу, внаслідок чого її відносна кількість значно збільшується.

*Фармакокінетичні параметри  $^{14}\text{C}$ -етоксоzepаму після його інтрагастрального введення*

Фармакокінетичний профіль  $^{14}\text{C}$ -етоксоzepаму після його інтрагастрального введення зберігає характерні особливості цього процесу при внутрішньовенному введенні. Так, розподіл речовини по органах та тканинах описується однокамерною моделлю із всмоктуванням (рис. 1), на підставі якої були розраховані основні фармакокінетичні параметри (табл. 4).

Слід відмітити зберігання величини константи елімінації сполуки з тест-об'єктів у порівнянні із внутрішньовенним введенням, яке демонструє незмінність шляхів виведення та інтенсивності елімінації залежно від шляху введення. Однакові значення константи елімінації для крові та печінки ( $0,062\pm 0,004$  год $^{-1}$  та  $0,065\pm 0,004$  год $^{-1}$

Таблиця 4

#### ФАРМАКОКІНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ 2- $^{14}\text{C}$ -ЕТОКСОЗЕПАМУ ПІСЛЯ ЙОГО ІНТРАГАСТРАЛЬНОГО ВВЕДЕННЯ (14 МКМОЛЬ/КГ, 5 МГ/КГ)

Фармакокінетичний параметр	Кров	Мозок	Печінка
Константа елімінації, $k_{el}$ , год $^{-1}$	$0,062 \pm 0,004$	$0,12 \pm 0,010$	$0,065 \pm 0,004$
Константа абсорбції, $k_{abs}$ , год $^{-1}$	$0,39 \pm 0,02$	$0,149 \pm 0,010$	$0,790 \pm 0,051$
Сталий об'єм розподілу, $V_{dss}$ , см $^3$ /кг	$4068 \pm 199$	$2092 \pm 102$	$979 \pm 48$
Загальний кліренс, $Cl_{app}$ , см $^3$ /кг·год	$252 \pm 20$	$253 \pm 20$	$63,5 \pm 5,1$
Час напівелімінації, $t_{1/2}^{el}$ , год	$11,2 \pm 0,7$	$5,7 \pm 0,4$	$10,7 \pm 0,7$
Час напівабсорбції, $t_{1/2}^{abs}$ , год	$1,8 \pm 0,1$	$4,6 \pm 0,3$	$0,88 \pm 0,06$
Час досягнення максимальної концентрації, $T_{max}$ , год	$5,6 \pm 0,5$	$7,4 \pm 0,7$	$3,4 \pm 0,3$
<i>Метод статистичних моментів</i>			
Загальна площа під фармакокінетичною кривою, $AUC_{0-\infty}$ , нмоль/см $^3$ ·год	$58 \pm 5$	$101 \pm 9$	$276 \pm 25$
Загальна площа під першим моментом фармакокінетичної кривої $AUMC_{0-\infty}$ , нмоль/см $^3$ ·год $^2$	$917 \pm 83$	$1477 \pm 134$	$4146 \pm 376$
Середній час утримання, MRT, год	$15,85 \pm 2,03$	$14,6 \pm 1,9$	$15 \pm 2$
Біодоступність, f	$0,98 \pm 0,10$	$0,99 \pm 0,10$	$0,70 \pm 0,07$

відповідно) обумовлені, як вже було зазначено, тим, що печінка є першим органом через який проходить доза речовини та швидким наступом рівноваги процесу розподілу її між кров'ю та печінкою. Підвищене значення константи елімінації сполуки із мозку ( $0,12 \pm 0,01 \text{ год}^{-1}$ ) також відображає швидкість процесу її масопереносу з цього органу до крові, незважаючи на відносно високу концентрацію у ньому загальних ліпофільних продуктів та вільної речовини. Слід зазначити, що у цьому органі не відбувається кумуляції, оскільки значення загального кліренсу для мозку ( $253 \pm 20 \text{ см}^3/\text{кг}\cdot\text{год}$ ) та крові ( $252 \pm 20 \text{ см}^3/\text{кг}\cdot\text{год}$ ) статистично не відрізняються. Менше значення загального кліренсу для печінки ( $63,5 \pm 5,1 \text{ см}^3/\text{кг}\cdot\text{год}$ ) обумовлене постійним надходженням до неї дози  $^{14}\text{C}$ -етоксоzepаму з ШКТ та кишково-печінковою циркуляцією впродовж часу експерименту.

Час напівелімінації речовини із вказаних об'єктів складає більше 5 годин та є наслідком низької швидкості елімінації сполуки з організму. Навпаки, константа абсорбції ( $k_{\text{abs}}$ ) та час напівабсорбції ( $t_{1/2}^{\text{abs}}$ ) демонструють значну легкість всмоктування  $^{14}\text{C}$ -етоксоzepаму у ШКТ і його надходження до системного кровообігу, печінки та головного мозку (табл. 4).

На підставі отриманих констант абсорбції та елімінації (табл. 4). розраховано час досягнення максимальної концентрації ( $T_{\text{max}}$ ) за формулою:

$$T_{\text{max}} = \frac{\ln\left(\frac{k_{\text{abs}}}{k_{\text{el}}}\right)}{k_{\text{abs}} - k_{\text{el}}}$$

Помітно, що досягнення максимальної концентрації у вказаних органах дещо розрізняється у часі внаслідок різних показників констант надходження та елімінації з них речовини. Так, цей показник є найменшим для печінки ( $3,4 \pm 0,3 \text{ год}$ ) та, у порівнянні з кров'ю ( $5,6 \pm 0,5 \text{ год}$ ) зменшується за рахунок більшої константи абсорбції. У випадку мозку більша константа елімінації обумовлює не тільки зсув часу досягнення максимальної концентрації до більшої величини ( $7,4 \pm 0,7 \text{ год}$ ), але і пологий профіль фармакокінетичної кривої етоксоzepаму у цьому органі.

Розрахований за методом статистичних моментів середній час утримання (MRT) речовини як співвідношення площ під нульовим ( $\text{AUC}_{0-t}$ ) та першим ( $\text{AUMC}_{0-t}$ ) моментами фармакокінетичної кривої має близькі значення для всіх вказаних органів незважаючи на значні коливання вмісту в них  $^{14}\text{C}$ -етоксоzepаму ( $\text{AUC}_{0-t}$ ), підтверджуючи високу швидкість масопереносу сполу-

ки між ними та відсутність значної кумуляції. Слід також відзначити, що відповідні значення MRT при внутрішньовенному введенні є менші за аналогічні показники при інтрагастральному введенні за рахунок повного та ефективного всмоктування сполуки після інтрагастрального введення. Це підтверджується високим значенням біодоступності незмінного  $^{14}\text{C}$ -етоксоzepаму, що було визначено як співвідношення загальних площ під фармакокінетичними кривими вмісту індивідуальної речовини у цих органах при інтрагастральному та внутрішньовенному введеннях.

Зазвичай, при пероральному шляху введення біодоступність рідко перевищує 80 % та обумовлена або низьким ступенем метаболізму речовини незалежно від шляху введення, або високим ступенем її абсорбції з місця введення. Введення радіоактивної сполуки та реєстрація як незмінної вихідної речовини, так й загальної кількості радіоактивного матеріалу, що проникають до внутрішнього середовища організму, дозволяють визначити ступінь, з яким піддається речовина біотрансформації при певному шляху введення та оцінити його ефективність у процесі надходження до організму.

Мірою біотрансформації у такому випадку може бути співвідношення площ під концентраційними кривими вмісту в органі загальних радіоактивних продуктів ( $\text{AUC}_{0-t}^{\text{зар.}}$ ) та вихідної речовини ( $\text{AUC}_{0-t}^{\text{вихідн.}}$ ), що кількісно рівне фракції вихідної речовини, яка не піддалась метаболізму після введення.

Помітно (табл. 5), що після внутрішньовенного введення  $^{14}\text{C}$ -етоксоzepаму у незмінному вигляді в організмі циркулює від 30 до 50 % вихідної речовини, тобто ступінь біотрансформації складає 50-70 %. Навпаки, при інтрагастральному введенні до визначених внутрішніх органів потрапляє від ~40 до 60 % речовини від загальної її кількості, що надійшла до внутрішнього середовища, тобто, ступінь біотрансформації речовини при даному шляху введення зменшується, що і визначає високий рівень біодоступності незмінної сполуки.

Введення  $^{14}\text{C}$ -етоксоzepаму внутрішньовенно та інтрагастрально в еквівалентних дозах (5 мг/кг) дозволяє також встановити загальну кількість сполуки, що всмокталася із ШКТ, по співвідношенню площ під концентраційними кривими загальних радіоактивних сполук ( $^{\text{вв}}\text{AUC}_{0-t}^{\text{зар.}}/^{\text{i.r.}}\text{AUC}_{0-t}^{\text{зар.}}$ ) при внутрішньовенному ( $^{\text{вв}}\text{AUC}_{0-t}^{\text{зар.}}$ ) та інтрагастральному ( $^{\text{i.r.}}\text{AUC}_{0-t}^{\text{зар.}}$ ) введеннях. Цей показник (табл. 5) незалежно від органу чи тканини є майже однаковим та знаходиться на рівні 70 % від введеної дози.

**СПІВВІДНОШЕННЯ ПЛОЩ ПІД КОНЦЕНТРАЦІЙНИМИ КРИВИМИ  
ВМІСТУ ІНДИВІДУАЛЬНОЇ РЕЧОВИНИ (<sup>14</sup>C-ЕТОКСОЗЕПАМ, AUC<sup>вихідн.</sup><sub>0-т</sub>)  
ТА ЗАГАЛЬНИХ РАДІОАКТИВНИХ СПОЛУК (AUC<sup>заг.</sup><sub>0-т</sub>) В ОРГАНАХ ТА  
ТКАНИНАХ ПІСЛЯ ВНУТРІШНЬОВЕННОГО ТА ІНТРАГАСТРАЛЬНОГО  
ВВЕДЕННЯ 2-<sup>14</sup>C-ЕТОКСОЗЕПАМУ (14 МКМОЛЬ/КГ, 5 МГ/КГ)**

Внутрішньовенне			
	Кров	Мозок	Печінка
Загальна площа під концентраційною кривою загальних радіоактивних сполук, AUC <sup>заг.</sup> <sub>0-т</sub> , нмоль/см <sup>3</sup> ·год	83197 ± 17738	82891 ± 16209	351362 ± 71137
Загальна площа під концентраційною кривою вихідної речовини, AUC <sup>вихідн.</sup> <sub>0-т</sub> , нмоль/см <sup>3</sup> ·год	26515 ± 1534	32406 ± 13347	176525 ± 35788
Співвідношення площ, AUC <sup>вихідн.</sup> <sub>0-т</sub> /AUC <sup>заг.</sup> <sub>0-т</sub>	0,32 ± 0,07	0,39 ± 0,18	0,50 ± 0,14
Інтрагастральне			
Загальна площа під концентраційною кривою загальних радіоактивних сполук, AUC <sup>заг.</sup> <sub>0-т</sub> , нмоль/см <sup>3</sup> ·год	57907 ± 12804	52369 ± 19503	278097 ± 60473
Загальна площа під концентраційною кривою вихідної речовини, AUC <sup>вихідн.</sup> <sub>0-т</sub> , нмоль/см <sup>3</sup> ·год	24015 ± 5073	32262 ± 13288	114585 ± 24578
Співвідношення площ, AUC <sup>вихідн.</sup> <sub>0-т</sub> /AUC <sup>заг.</sup> <sub>0-т</sub>	0,41 ± 0,13	0,62 ± 0,34	0,41 ± 0,13
Співвідношення площ під концентраційними кривими загальних радіоактивних сполук, <sup>ав</sup> AUC <sup>заг.</sup> <sub>0-т</sub> / <sup>і.г.</sup> AUC <sup>заг.</sup> <sub>0-т</sub>	0,70 ± 0,21	0,63 ± 0,27	0,79 ± 0,24

**ВИСНОВКИ**

<sup>14</sup>C-етоксозепам швидко всмоктується з шлунково-кишкового тракту та його високі концентрації реєструються в органах та тканинах експериментальних тварин в першу годину після інтрагастрального введення.

У хроматографах хлороформних екстрактів тканин реєструється як пік, що відповідає вихідній речовині (близько 80 %), так й гідроксильованих метаболітів.

Спостерігається різниця між співвідношенням концентрацій «мозок/кров» та «мозок/плазма крові», що є наслідком присутності <sup>14</sup>C-етоксозепаму у крові як зв'язаного з білками плазми, так і розчинного у мембранах еритроцитів.

Близькі значення середнього часу утримання речовини (MRT ~ 15 год), розраховані для різних органів вказують на високу швидкість масопереносу між ними <sup>14</sup>C-етоксозепаму.

Висока біодоступність <sup>14</sup>C-етоксозепаму при інтрагастральному введенні (70 %) обумовлена зниженням ступеню його біотрансформації при даному шляху введення.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Кравченко І.А. Фармакологическая активность новых производных 1,4-бенздиазепина / И.А. Кравченко, И.Н. Радаева, Н.А. Жукова // Укр. наук-мед. мол. журн., 2011. – № 4 – С. 60.
2. Павловський В.І. Синтез <sup>14</sup>C-етоксозепаму та визначення його основних фізико-хімічних та радіологічних показників. / В.І. Павловський, К.О.Семенішина, В.Б. Ларіонов, Н.О. Жукова // Фармац.журн. – 2012 – № 2 – С. 43-49.
3. Головенко Н.Я. Определение транквилизаторов 1,4-бенздиазепинового ряда и их метаболитов в биологических средах / Н.Я. Головенко, В.Г. Зиньковский // Хим.-фарм. журн. – 1978. – Т. 12, № 1. – С. 3-14.
4. Зиньковский В.Г. Оптимизация экстракции лекарственных веществ из биологических сред / В.Г. Зиньковский, Н.Я. Головенко, О.В. Жук // Хим.-фарм. журн. – 1983. – Т. 17, № 3. – С. 361-366.

**УДК 615.0;7547.057**

**Н.А. Жукова, Н.Я. Головенко, В.Б. Ларионов**  
**БИОКИНЕТИКА <sup>14</sup>С-ЭТОКСОЗЕПАМА ПОСЛЕ ЕГО**  
**ИНТРАГАСТРАЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ МЫШАМ**

Целью данной работы было изучение особенностей распределения и изучения фармакокинетических параметров нового соединения, обладающего болеутоляющим эффектом – <sup>14</sup>С-этоксозепам после его интрагастрального введения. Соединение вводили интрагастрально мышам, содержание индивидуального вещества и его метаболитов в органах и тканях определяли методами тонкослойной препаративной радиохроматографии и жидкостной сцинтилляционной фотометрии.

Установлено, что этоксозепам быстро всасывается из желудочно-кишечного тракта. В легких отмечается наименьшее содержание радиоактивного материала, тогда как в жировой ткани наибольшее вследствие высокой липофильности соединения. Максимальное содержание исходного соединения в мозге наблюдается к 12 часам после введения и параллельно изменяется с его концентрацией в крови. Значительно отличаются показатели соотношения концентраций «мозг/кровь» и «мозг/плазма крови» ( $0,71 \pm 0,21$  и  $1,29 \pm 0,27$  соответственно), что обусловлено быстрой элиминацией гидрофильных метаболитов и увеличением концентрации липофильных метаболитов в мозге. Вместе с тем, не отмечается кумуляции соединения в этом органе, так как значения клиренса для мозга ( $253 \pm 20$  см<sup>3</sup>/кг·ч) и крови ( $252 \pm 20$  см<sup>3</sup>/кг·ч) статистически не отличаются.

**Ключевые слова:** этоксозепам, фармакокинетика, метаболизм, интрагастральное введение.

**UDC 615.0;7547.057**

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

**<sup>14</sup>C-ETHOXOZEPAM BIOKINETICS AFTER ITS INTRAGASTRAL ADMINISTRATION IN MICE**

The aim of this work was studying of <sup>14</sup>C-ethoxozepam (substance, that possesses the analgesic action) pharmacokinetics and metabolism in mice after intragastral administration. The substance was administered intragastrally to mice, the metabolites content in organs and tissues was determined by the methods of thin-layer preparative chromatography and liquid scintillation photometry.

It was found that etoxozepam readily adsorbs from the gastro-intestinal tract. In the lungs there is the lowest content of the radioactive compounds, while in the fat tissue is the highest due to the high lipophilicity of the etoxozepam. The maximal content of unchanged substance in brain registers by 12 hours after administration and simultaneously changes to that in blood. There is the significant difference between concentration ratios «brain/blood» and «bran/plasma» ( $0,71 \pm 0,21$  и  $1,29 \pm 0,27$  correspondingly), that is explained with the high elimination of the hydrophilic metabolites from brain and the concentration raise for lipophilic. Regardless this there is no accumulation in the brain because the brain ( $253 \pm 20$  sm<sup>3</sup>/kg·h) and blood ( $252 \pm 20$  sm<sup>3</sup>/kg·h)clearances have no statistically significant difference.

**Key words:** ethoxozepam, pharmacokinetics, metabolism, intragastral administration.

*Адреса для листування:*  
 65080, м. Одеса, Люстдорфська дор., 86.  
 ФХІ ім. О.В. Богатського НАН України.  
 Тел.: (048) 765-94-02; (067) 766-18-63  
 E-mail: lvb\_78@mail.ru;  
 vitaliy.larionov@gmail.com

Надійшла до редакції:  
 26.11.2012