

УДК 615.917: 547.281.2

ОСОБЛИВОСТІ ФАРМАКОКІНЕТИКИ ПОХІДНОГО КАЛІКС [4]АРЕНУ ЗА РІЗНИХ УМОВ ВВЕДЕННЯ БІЛИМ МИШАМ

М. Я. Головенко, Н. В. Шнейдер, І. Ю. Борисюк

*Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України, м. Одеса**Ключові слова: п-трет-бутилкалікс [4]арен, що містить залишки етанолу, транзит вздовш шлунково-кишкового тракту, всмоктування, лімфатична система*

На самцях білих мишей досліджена фармакокінетика [14С]-5,11,17,23-тетра-третбутил-25,27-біс [(метоксикарбоніл) етокси]-26,28-дигідроксикалікс[4]арену при пероральному та внутрішньоочеревинному введенні в дозі 100 мг/кг. Встановлено, що при пероральному введенні сполука не всмоктується в шлунково-кишковому тракті (ШКТ), а транзитом переміщується вздовш нього та екскретується. Експериментально доведена можливість калікс [4]арену реабсорбуватися з системного кровообігу в ШКТ при його внутрішньоочеревинному введенні. Розраховані фармакокінетичні параметри кінетики транспорту речовини в кров.

ВСТУП

Каліксарени — макроциклічні сполуки, що є продуктами циклічної олігомеризації фенолу з формальдегідом. Класичний каліксарен вміщує верхній, центральний, кільцевий та нижній обід, що утворюються трет-бутильними замісниками в пара-положенні та ароматичними ареновими фрагментами, а також гідрокси- або алкоксиза-місниками в нижньому положенні макроцикла відповідно. Зазначені структурні фрагменти формують внутрішню порожнину молекули, об'єм якої становить 10 кубічних ангстрем [5]. Завдяки такій будові каліксарени знайшли широке використання в різних галузях науки і техніки. Так, в аналітичній хімії на базі каліксаренових платформ синтезовано рецептори для селективного та/або групового екстрагування лужних, лужно-земельних та перехідних металів [7].

В біохімії каліксарени використовуються як міметики ферментів, за допомогою яких є можливість моделювати складні ферментативні процеси [6].

Останнім часом особлива увага приділяється зазначеним структурам в медико-біологічних дослідженнях. Серед низки каліксаренів знайдено перспективні похідні, що мають іонофорні, мембранотропні, антитромботичні та антивірусні властивості [4]. На жаль, для всіх них відсутні відомості, які характеризують їх фармакокінетичні властивості. Зазначимо, що на долю фармакокінетичних показників припадає більш ніж 40% невдач, пов'язаних із розробкою та впровадженням у медичну практику інноваційних лікарських засобів [2].

Виходячи з цього, метою нашого дослідження було вивчення деяких фармакокінетичних параметрів нової структури: 5,11,17,23-тетра-третбутил-25,27-біс [(метоксикарбоніл) етокси]-26,28-дигідроксикалікс [4]арен (I).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження були проведені на статевозрілих самцях мишей масою 20–24 г із дотриманням міжнародних та національних біоетичних рекомендацій. Тварини одержували внутрішньоочеревинно та перорально розчин сполуки (14С-I) у твіновій емульсії в дозі 100 мг/кг. Її

М. Я. Головенко — завідувач відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України, Академік АМН України, д. б. н., проф.

Н. В. Шнейдер — аспірант відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України

І. Ю. Борисюк — молодший науковий співробітник відділу фізико-хімічної фармакології Фізико-хімічного інституту ім. О.В. Богатського НАН України, к. б. н.

величина була тотожною біологічно активним сполукам зазначеної дії [4]. Через певний час (0,25; 0,5; 1; 2; 4 та 6 год.) тварин декапітували під легким ефірним наркозом. Кров збирали у гепаринізовані пробірки для подальшого визначення концентрації препарату у плазмі. Окрім того, відокремлювали деякі відділи шлунково-кишкового тракту (ШКТ). Визначення вмісту радіоактивного матеріалу в крові (4 тис. об./хв., 15 хв.) проводили, відбираючи аліквоту (0,2 см³) плазми в сцинтиляційні флакони та додавши 0,5–1 см³ Тритону X-100 і 10 см³ толуольно-спиртового сцинтилятора. Вміст радіоактивного матеріалу у відділах ШКТ (шлунок, тонка, товста і пряма кишки) проводили після їх попереднього розчинення 1 см³ мурашиною кислотою на водяній бані (об'єм аліквоти, що відбирається, складав 0,2 см³). Кількість радіоактивного матеріалу в пробах визначали на рідинному сцинтиляційному фотометрі Canberra PACKARD TRI CARB 2700. Розрахунки вели в імп/хв. г (мл). Отримані дані були оброблені за допомогою статистичного пакету програм MS Excel.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Аналіз експериментальних результатів розподілу ¹⁴C-сполуки в різних відділах ШКТ після її перорального введення приведено на рис.1. Найвища концентрація загального радіоактивного матеріалу на початку експозиції (0,5 год.) відмічена у шлунку і тонкій кишці, а потім протягом 1–6 год. зменшується (шлунок). Щодо тонкої кишки, то в цій частині ШКТ спостерігається наявність другого піку концентрації, що припадає на 6-ту годину дослідження. Найбільше накопичується ¹⁴C-I в товстій кишці і найменше — у прямій, що,

очевидно, пов'язано із значною екскрецією сполуки цим шляхом.

Незвичайним в цій серії дослідів було те, що в плазмі крові та деяких органах (печінка, нирки, селезінка, серце, мозок) нами не знайдено достовірної кількості радіоактивного матеріалу. Все це свідчить про те, що при пероральному введенні ¹⁴C-I не всмоктується в кровоносну систему білих мишей. На нашу думку, для пояснення такого явища може бути, принаймні, декілька чинників. По-перше, сполука транзитом перетинає ШКТ і в незмінному вигляді екскретується з організму. По-друге, наявність у речовини або її метаболітів реакційноздатних груп сприяє взаємодії з відповідними макромолекулярними структурами ШКТ з утворенням комплексів та накопиченням їх у різних відділах кишечника. Не виключена можливість участі в процесі всмоктування лімфатичної системи. Відомо, що більшість лікарських засобів всмоктуються в ШКТ і крізь воротну вену досягають печінки. Для деяких з них спостерігається пресистемна елімінація, що призводить до утворення відповідних метаболітів. Належна біодоступність препаратів визначається їх фізико-хімічними властивостями, що відображаються в «правилі п'яти» [3], тобто їх молекулярна маса має бути меншою 500, $\log \leq 5$, кількість донорів протонів та акцепторів повинна становити ≤ 5 та ≤ 10 відповідно. Сполуки, що не вміщуються в зазначений ранг, мають низьку біодоступність ($F < 5\%$).

Особливим чинником, що впливає на процес всмоктування, а звідси і на біодоступність, є ліпофільність ($\log P$). Якщо цей показник є вищим ніж 5, деякі сполуки транспортуються в організмі за допомогою лімфатичної системи, що має

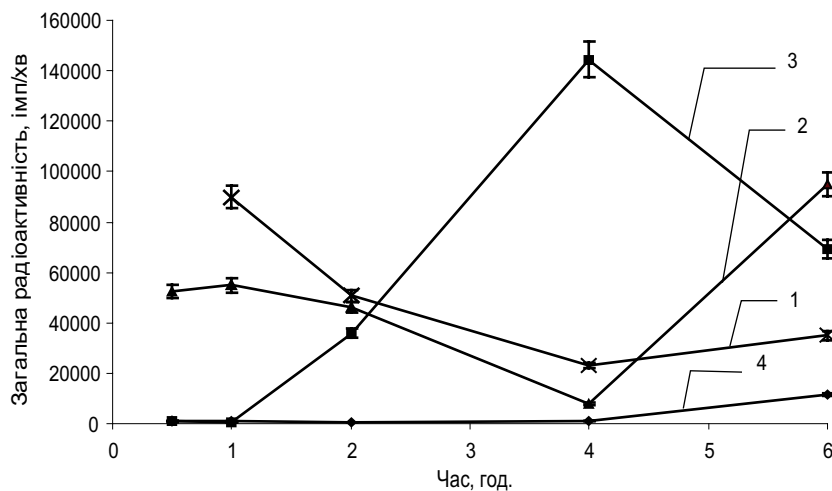


Рис. 1. Вміст загального радіоактивного матеріалу у відділах шлунково-кишкового тракту (1 — шлунок, 2 — тонка кишка, 3 — товста кишка, 4 — пряма кишка) при пероральному введенні 100 мг/кг сполуки

свої вузли в ШКТ (особливо, в шлунку та тонкій кишці). Утворюючи комплекси з хіломікронами (клас ліпопротеїнів), в тонкій кишці лікарські засоби секретуються в лімфатичні судини. Аналіз фізико-хімічних властивостей I показав наступні параметри ($M. m. 824,2$; $\log P 14,77$; $PSA 142 \text{ \AA}^2$), що свідчить про можливість такого шляху всмоктування. В той же час, відсутність радіоактивного матеріалу, наприклад, в печінці, де локалізована значна частина лімфатичних вузлів і яку ми відбирали для аналізу, викликає деяку невпевненість в наших аргументах.

Представлені результати (рис. 1) свідчать про ще один незвичайний факт, що спростовує деякі традиційні біофармацевтичні погляди. Вважається [1], що тривалість знаходження лікарської сполуки у відповідному відсіку ШКТ визначає його як основний в процесах всмоктування, тобто є «абсорбційним вікном». На прикладі I ми бачимо виключення в зазначеній концепції.

При внутрішньоочеревинному введенні I (рис. 2) всмоктування у плазму крові відбу-

вається досить повільно і максимум концентрації загального радіоактивного матеріалу досягається через годину досліджу, а подальше зниження концентрації свідчить про значний розподіл у організмі мишей. Наші розрахунки показали (табл. 1), що константа всмоктування складає 0,579, а константа елімінації — 0,229. Окрім того, спостерігається двофазовий характер процесу елімінації з крові, де швидка її фаза триває приблизно 1 годину. Разом з тим значні величини кінетичного об'єму розподілу, що складає 2000 мл/кг, загального кліренсу (239 ± 36 мл/год · кг) є наслідком більш швидкого обміну в печінці, завдяки ефекту пресистемної елімінації.

Наявність відповідних концентрацій I та її метаболітів в окремих ділянках ШКТ в умовах внутрішньоочеревинного введення вихідної сполуки дозволило нам припустити можливість реабсорбції. Таке явище може мати місце у тому випадку, коли речовина здатна повторно всмоктуватись (реабсорбція) або для неї характерна кишково-печінкова циркуляція. Теоретично

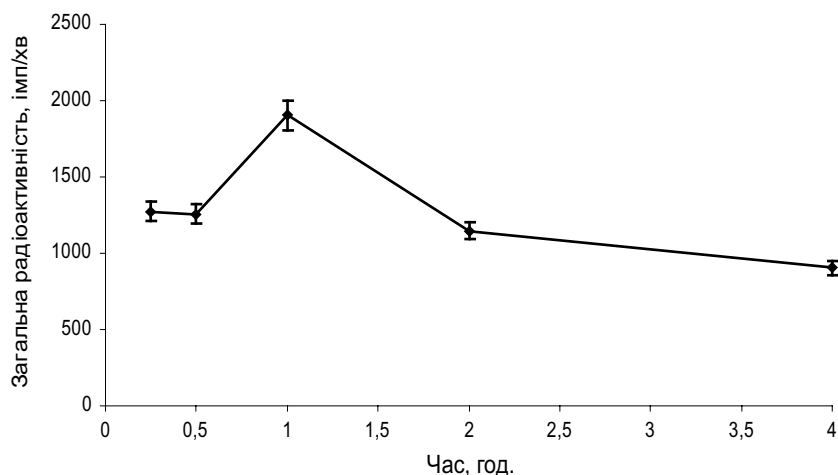


Рис. 2. Вміст загального радіоактивного матеріалу у плазмі крові при внутрішньоочеревинному введенні 100 мг/кг сполуки

Таблиця 1

**КІНЕТИЧНІ ПАРАМЕТРИ ТРАНСПОРТУ ^{14}C -I
В СИСТЕМІ ШКТ-КРОВ ПРИ ВНУТРІШНЬОЧЕРЕВИННОМУ ВВЕДЕННІ**

| Фармакокінетичний параметр | |
|---|-----------|
| Константа швидкості всмоктування, $k_{абс}$. | 0,579 |
| Константа швидкості елімінації, $k_{ел}$. | 0,229 |
| Кінетичний об'єм розподілу, V , мл/кг | 2000±89 |
| Загальний кліренс, Cl , мл/год · кг | 239±36 |
| Площа під кривою, AUC_{0-t} , мкмоль/мл · год. | 156±34 |
| Площа під кривою, $AUMC_{0-t}$, мкмоль/мл · год. | 293±25 |
| Середній час утримання, MRT , год. | 8,36±0,52 |

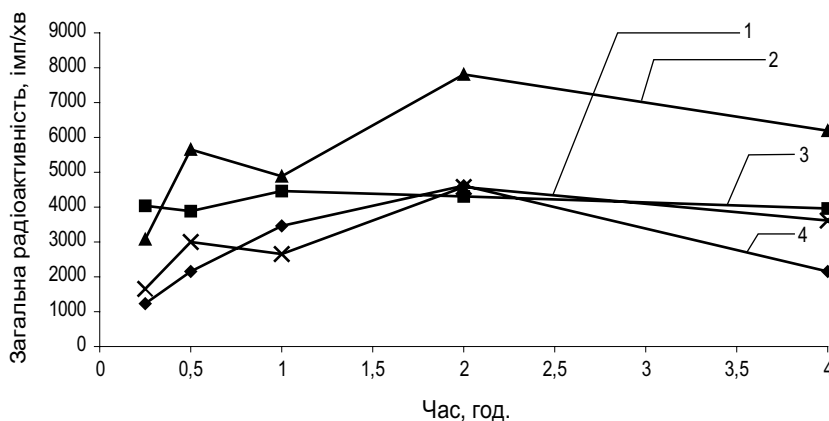


Рис. 3. Вміст загального радіоактивного матеріалу у відділах шлунково-кишкового тракту (1 — шлунок, 2 — тонка кишка, 3 — товста кишка, 4 — пряма кишка) при внутрішньоочеревинному введенні 100 мг/кг сполуки

розраховано і практично доведено [1], що повторне всмоктування може мати місце в тому випадку, коли різниця концентраційного градієнту в плазмі крові буде значно перевищувати аналогічний показник в порожнині ШКТ, що відповідає закону Фіка для дифузійних процесів. Цей факт має місце і у нашому випадку при внутрішньоочеревинному введенні.

Визначення вмісту загального радіоактивного матеріалу в тканинах ШКТ продемонструвало (рис. 3) значну його наявність в тонкій, товстій кишках та дещо нижче значення відповідно у шлунку та прямій кишці.

ВИСНОВКИ

1. За умов перорального введення похідного калікс [4]арену, що вміщує етиловий спирт, спостерігається транзит його вздовж шлунково-кишкового тракту та відсутність всмоктування в системний кровообіг.
2. При внутрішньоочеревинному введенні сполуки її незначна кількість відмічена в плазмі крові та у всіх відділах шлунково-кишкового тракту, що свідчить про реабсорбцію її в напрямі кров → ШКТ.
3. Враховуючи значення похідних калікс [4]арену як біологічно активних речовин, зазначені фармакокінетичні властивості необхідно взяти до відома при плануванні лікарської форми майбутнього препарату.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Головенко М., Борисюк І. Концепція «вікно всмоктування» в загальній фармацевтичній стратегії // Вісник фармакології та фармацевції. — 2008. — № 3. — С. 43–49.
2. Головенко М. Я. Високопродуктивні технології дослідження та створення лікарських засобів. Біофармація та фармакокінетика // Вісник фармакології та фармацевції. — 2002. — № 2. — С. 9–16.
3. Головенко Н. Я. Физико-химическая фармакология. — Одесса: Астропринт, 2004. — 720 с.
4. Кальченко В. І., Робік Р. В., Бойко В. І. Каліксарени. Перспективи, медико-біологічні застосування // Журнал органічної та фармацевтичної хімії, 2005. — Т. 3, вип. 4. — С. 13–29.
5. Asafari Z., Bohmer V., Harrofield J., Vicens J Calixarenes, 2001. — Kluwer Academic Publishers. — 373 p.
6. Coleman A., Perret F., Monsa A., Dapin M., Guo G., Perron H Calix [n]arenes as protein sensors // Top Curr. Chem. — 2007. — 277. — P. 31–88.
7. Lhetak P Anion receptor based calixarenes // Top Curr. Chem. — 2008. — 255. — P. 65–95.

УДК 615.917: 547.281.2

**ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОКИНЕТИКИ ПРОИЗВОДНОГО КАЛИКС [4]АРЕНА
ПРИ РАЗЛИЧНЫХ УСЛОВИЯХ ВВЕДЕНИЯ БЕЛЫМ МЫШАМ**

Н. Я. Головенко, Н. В. Шнейдер, И. Ю. Борисюк

Ключевые слова: n-трет-бутилкаликс[4]арен, содержащий остатки этанола, транзит вдоль желудочно-кишечного тракта, всасывание, лимфатическая система

На самцах белых мышей исследована фармакокинетика [14C]-5,11,17,23-тетра-трет-бутил-25,27-бис[(метоксикарбонил) этокси]-26,28-дигидроксикаликс[4]арена при пероральном и внутрибрюшинном введении в дозе 100 мг/кг. Установлено, что при пероральном введении соединение не всасывается в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ), а транзитом перемещается вдоль его и экскретируется. Экспериментально доказана возможность каликс[4]арена реабсорбироваться из системного кровотока в ЖКТ при его внутрибрюшинном введении. Рассчитаны фармакокинетические параметры кинетики транспорта соединения в кровь.

UDC 615.917:547.281.2

**THE PHARMACOKINETICS FEATURES OF CALYX[4]ARENE DERIVATIVE
UNDER VARIOUS METHODS OF ADMINISTRATION IN MICE**

N. Ya. Golovenko, N. V. Shneider, I. Yu. Borisyuk

Key words: n-tret-buthylcalyx [4] aren containing the ethanol residues, transit lengthways gastro-intestinal tract, absorbtion, lymphatic system

The pharmacokinetics of [14C]-5,11,17,23-tetra-tretbuthyl-25,27-bis[methoxycarbonyl]e thoxy]-26,28 dihydroxycalix[4]arene after oral and intraabdominal administrations in dose 100 mg/kg had been studied. It was found that after oral administration compound doesn't absorbed in the gastrointestinal tract (GIT) while passing through it and excreting. It was experimentally shown the possibility of calyx[4]arene to reabsorb from the system circulation after its intraabdominal administration. The pharmacokinetic parameters for compound transport to blood have been determined.