

УДК 615.1.015.154

Кравченко И. А., Овчаренко Н. В., Кириченко И. Н., Ларионов В. Б.,
Александрова А. И.

Одесский национальный университет им. И. И. Мечникова
(Кафедра фармацевтической химии)

ВЛИЯНИЕ ЛИПОФИЛЬНОСТИ ПРОИЗВОДНЫХ 1,4-БЕНЗДИАЗЕПИНА НА ИХ ФАРМАКОДИНАМИКУ ПРИ ТРАНСДЕРМАЛЬНОМ ВВЕДЕНИИ

В работе исследовано влияние липофильности производных 1,4-бенздиазепина на скорость и величину оказываемого ими противосудорожного действия (по антагонизму с коразолом) при трансдермальном введении. Показано, что величина липофильности исследуемого препарата предопределяет основные пути его проникновения через кожу; установлено, что 3-оксифеназепам, обладая оптимальным значением липофильности, проникает через кожу быстрее, чем феназепам и клоназепам.

Ключевые слова: производные 1,4-бенздиазепина, липофильность, противосудорожное действие, феназепам, клоназепам.

Центральной проблемой медицинской химии является связь между структурой и активностью молекулы лекарственного вещества. В основе количественного описания связи структура-активность лежит использование таких характерных физических констант веществ, как значение липофильности ($\log P$), стерические константы Тафта, константы Гаммета, величины молекулярной рефракции и др. На этой основе можно конструировать модели биологически активных веществ и предсказывать их фармакологический эффект. Использование количественной связи структура-активность позволяет с достаточно большой степенью вероятности предсказать наличие или отсутствие физиологической активности в ряду исследуемых препаратов [1-3].

Одним из доступных в экспериментальном отношении методов является определение липофильности исследуемых препаратов.

Липофильность является фундаментальным свойством биологической молекулы. С ростом липофильности биологически активных веществ происходит их накопление в жировых тканях организма, уменьшается растворимость в воде, увеличивается скорость проникновения вещества через кожу и увеличивается степень связывания их с белками плазмы [4 - 8].

Задачей нашего исследования было изучение связи между липофильностью производных 1,4-бенздиазепина и динамикой их противосудорожного действия при трансдермальном введении.

Экспериментальная часть. Материалы и методы

Животные

Беспородные мыши-самцы (20-25 г) были получены из вивария Одесского ме-

дицинского университета. Животные содержались при $24 \pm 1^\circ\text{C}$ при 12 часовом световом режиме и имели свободный доступ к стандартной пище и воде.

Реактивы

Феназепам был синтезирован по стандартной методике [9, 10] в отделе биологически активных веществ Физико-химического института им. А.В.Богатского НАН Украины.

Поливиниловый спирт ($M = 70000-100000$) производства "Sigma".

1,2-пропиленгликоль и Тритон X-100 производства Merck KGaA (Германия).

Определение коэффициента распределения октанол-вода

Раствор исследуемого вещества в буферном растворе ($\text{pH} = 7,4$), насыщенном н-октанолом (10 мл) и 0,5 мл н-октанола, насыщенного фосфатным буфером, помещают в емкость объемом 25 мл с тщательно пришлифованной пробкой и интенсивно перемешивают на аппарате для встряхивания в течении 2 часов при температуре $18 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Стабилизация температуры с указанной точностью достигалась в воздушном термостате. Затем содержимое емкости тщательно центрифугировали в течении 10 мин при 8000 об/мин, предварительно удалив основное количество органического слоя (предварительное удаление органического слоя обеспечивает лучшее разделение фаз). Отделив водный слой, определяют его оптическую плотность в области 200-300 нм, соответствующей максимуму поглощения препаратов бенздиазепаинового ряда. Коэффициент распределения (отношение концентраций вещества в двух фазах) определяли по формуле:

$$P = \lg K = \lg (D_6 - D_{\text{буф}}) V_{\text{буф}} / D_{\text{буф}} V_{\text{окт}}$$

где D_6 – оптическая плотность раствора до распределения;

$D_{\text{буф}}$ – оптическая плотность раствора после распределения;

$V_{\text{окт}}$ – объем октанола, используемый для экстракции, мл;

K – константа распределения вещества в системе октанол-фосфатный буфер.

Определение минимальных доз судорожного агента, вызывающих развитие клонических судорог (ДКТС) и тонической экстензии (ДТЭ) у контрольных и опытных животных.

Противосудорожный эффект препарата определяли по антагонизму с противосудорожным агентом конкурентного действия – коразолом (1,2 - пентилентетразолом). Белым беспородным мышам-самцам апплицировали гидрогелевую трансдермальную систему, содержащую производные 1,4-бенздиазепина на выбритые участки спины между лопатками. Животных помещали в условия свободного доступа к пище и воде, и исключают груминг. Через определенные промежутки времени (0,25-48 часов) внутривенно в хвостовую вену вводили 1% раствор коразола. Определяли минимальную дозу судорожного агента, вызывающего развитие клонических судорог (ДКТС) и тонической экстензии (ДТЭ) у контрольных и опытных животных.

Обсуждение результатов

Классической системой для определения липофильности является система октанол-вода. Для получения наиболее точных данных, которые можно было бы экстраполировать на живые организмы, определение липофильности следует проводить в условиях, приближенным к физиологическим. Одним из наиболее легко контролируемых и важным в физиологическом отношении является величина pH.

Коэффициент распределения определяли экстракцией водных растворов веществ октанолом [1].

Одним из показателей фармакологической активности транквилизаторов – производных 1,4-бенздиазепина является их способность устранять проявления судорожного действия коразола - блокатора ГАМК-эргических рецепторов [8].

Скорость наступления противосудорожного эффекта коррелирует со скоростью проникновения транквилизатора через кожный покров и поступления в системный кровоток. Динамику противосудорожного действия изучали для препаратов, для которых предварительно была определена липофильность (Log P). Это феназепам, 3-гидроксифеназепам и клоназепам. Значения липофильности изменялись от 3,037 у феназепама до 1,71 у клоназепама.

Препараты в зависимости от степени липофильности расположились в следующем порядке:

Феназепам (3,04) > 3-гидроксифеназепам (2,071) > клоназепам (1,71).

Изучение противосудорожного действия этих препаратов в составе ТТС показало, что значение липофильности оказывает существенное влияние на скорость достижения противосудорожного эффекта. Так, для феназепама достовер-

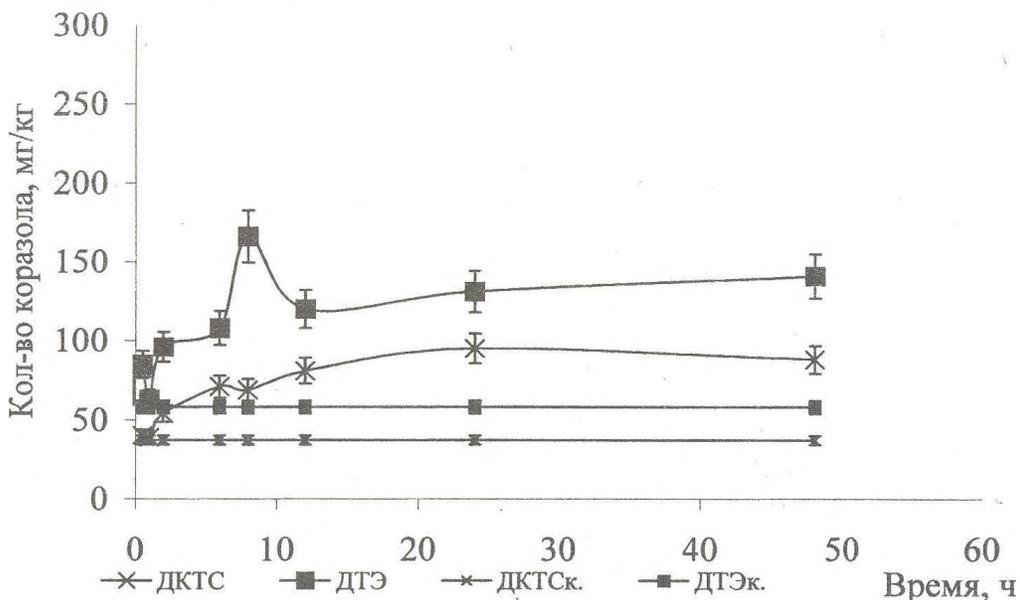


Рисунок 1. Противосудорожный эффект феназепама (по антагонизму с коразолом) при его трансдермальном введении (0,4 мг/см²).

ный противосудорожный эффект отмечался только через 3 часа после аппликации (рис.1). Достаточно длительное время достижения эффекта, возможно, объясняется тем, что преимущественным путем проникновения препарата в первые часы являются сальные железы. С уменьшение липофильности препараты приобретают способность проникать помимо сальных желез, также через потовые железы и трансцеллюлярным путем.

Достижение максимума эффекта при использовании феназепама наблюдается около 8 часов после аппликации, после чего противосудорожный эффект, обуславливаемый проникшим феназепамом, достигает максимального (стационарного) уровня, наблюдаемого в течение 72 часов.

С течением времени регистрируемый противосудорожный эффект феназепама оставался на стационарном уровне, что связано, по видимому, с постоянным выделением лекарственного вещества из кожного депо, пополняемое из матрицы ТТС.

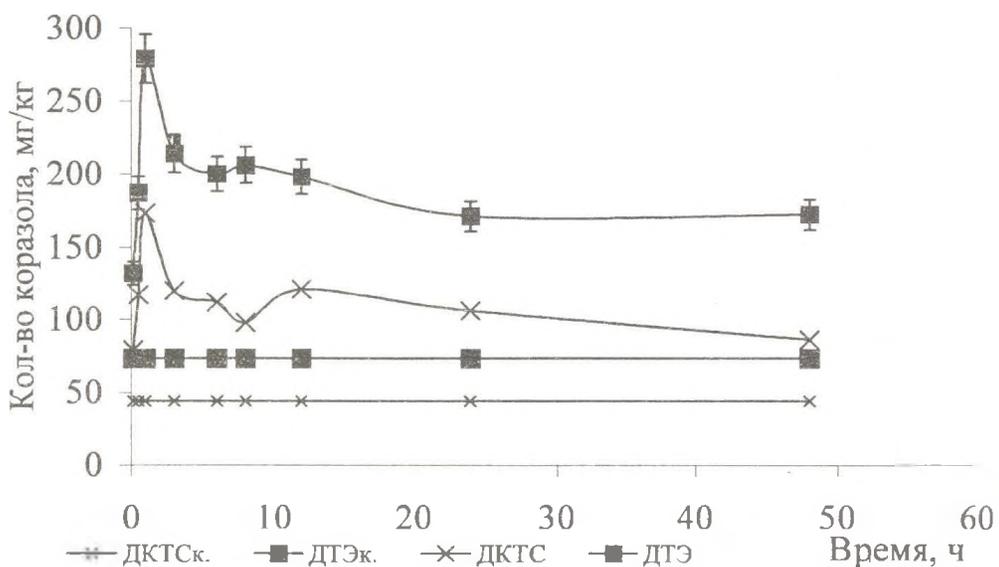


Рисунок 2. Противосудорожный эффект 3-гидроксифеназепама (по антагонизму с коразолом) при его трансдермальном введении (0,4 мг/см²).

Обладая высоким значением липофильности, феназепам также медленно выводится из организма, благодаря накоплению в жировой ткани.

Рис. 2 отражает динамику противосудорожного действия 3-гидроксифеназепама в составе трансдермальной системы. Его значение липофильности значительно ниже, чем у феназепама (2,071). Эта величина коэффициента распределения является наиболее оптимальной для проникновения через кожу [8]. Из представленных данных видно, что проникновение препарата через кожный барьер происходит уже в первые часы после аппликации. В течение 48 часов определяемый противосудорожный эффект 3-гидроксифеназепама оставался на стационарном уровне, что связано с постоянной скоростью поступления его в организм. Обладая оптимальным соотношением липофильности, 3-гидроксифеназе-

пам обеспечивает стабильный противосудорожный эффект, достаточно легко проникая через роговой слой эпидермиса и используя для своего проникновения все возможные пути введения.

Быстрое достижение противосудорожного эффекта и продолжительность его действия, возможно, объясняется более низким значением липофильности (по сравнению с феназепамом), благодаря чему происходит достаточно быстрое проникновение препарата через кожный покров.

Клоназепам (рис.3), обладая наиболее низким значением липофильности ($\log P = 1.71$) из изученных соединений, преимущественно проникает через протоки потовых желёз и волосяных фолликул. Это является причиной относительно низкой (по сравнению с 3-гидроксифеназепамом) скорости его поступления в

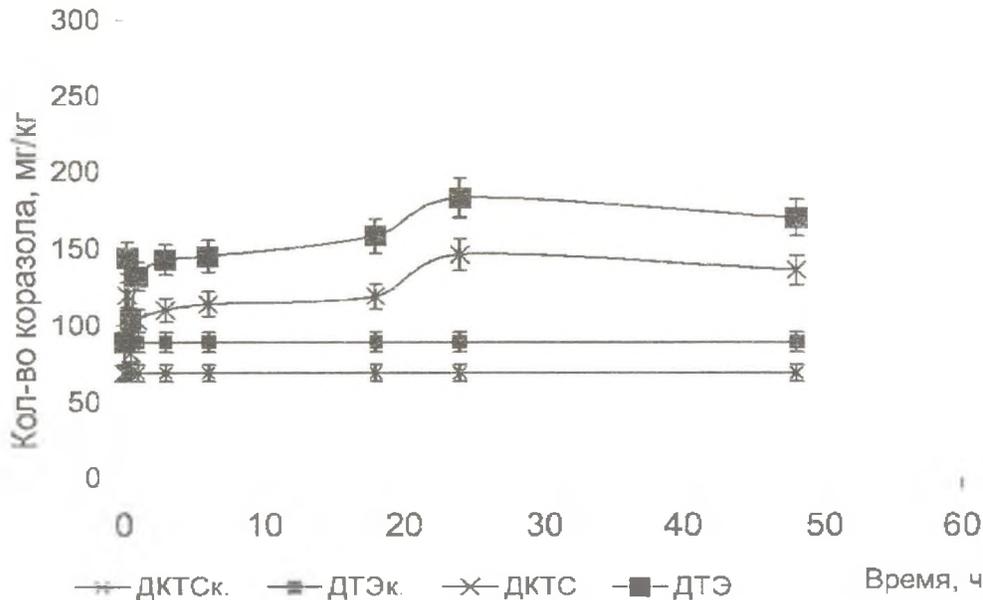


Рис у н о к 3. Противосудорожный эффект клоназепама (по антагонизму с коразолом) при его трансдермальном введении ($0,4 \text{ мг/см}^2$).

организм при трансдермальном введении, и, как следствие, уменьшением развития регистрируемого противосудорожного эффекта.

Таким образом, изучение фармакологического действия некоторых производных 1.4-бенздиазепина в составе трансдермальной формы показало, что значение липофильности исследуемых препаратов является одним из факторов, влияющим на величину регистрируемого противосудорожного эффекта (по антагонизму с коразолом) и длительность действия исследуемых препаратов (при их трансдермальном применении).

Литература

1. *Arup K. Ghose, Gordon M. Crippen.* Atomic physicochemical parameters for three-dimensional structure – directed quantitative structure – activity relationships. – 2 Modeling dispersive and hydrophobic interactions. // *J. Inf. Comp. Sci.* — 1987 — v. 27 № 21. P. 130-135.
2. *Смутьский С.П.* Исследование возможностей прогнозирования фармакологической активности транквилизаторов производных 1,4-бензодиазепин-2-она. // Диссертация на соискание учёной степени кандидата химических наук. — /Одесса, 1981. 230 с.
3. *Vollmer U., Muler B. W., Wilffert B., Peters T.* An improved model for studies on transdermal absorption in-vivo in rats. // *J. Pharm. Pharmacol.* 1993. — v. 45, № 4. — P. 242 – 245.
4. *Kitagava S., Li H., Sato S.* Skin permeation of parabens in excised guinea pig dorsal skin, its modification by penetration enhancer and their relationship with n-octanol/water partition coefficients. // *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo).* — 1997. — v. 45, № 8. — P. 1354-1357.
5. *Hanch C., Dunn W. J.* Linear relationship between lipophilic character and biological activity of drugs. // *J. Pharm. Sci.* — 1978. — v. 61, № 1. — P. 1-19.
6. *Canty A. S., Moors P. W., Deacon G. B.* Octanol – water partition coefficients as a model system for assessing antidotes for methylmercury poisoning, and for studying mercurials with medicinal applications. // *J. Inorg Biochem.* — 1984. — v. 22, № 1. — P. 394-404.
7. *Gui R. H., J. Hadgraft.* Percutaneous penetration enhancement: physicochemical considerations and implication for prodrug design. // *Chem. Pharm. Bull. (Tokyo).* — 1998. — v. 34, № 6. — P. 1354 – 1357.
8. *Potts R. O., Guy R.H.,* Mechanisms of transdermal drug delivery. // *J. Pharm. Sci.* 1997, — № 7, P. 263-270.
9. *С.А. Андронати, Г.Я. Авруцкий, А.В. Богатский* и др. — Феназепам: Наук. Думка, – 1982. — 288 с.
10. *Зиньковский В.Г.* Биокинетика и структура новых психотропных препаратов, их предшественников и метаболитов. // Диссертация на соискание учёной степени доктора биологических наук. Одесса, 1994. 560 с.

І.А. Кравченко, Н.В. Овчаренко, І.М. Кіріченко, В.Б. Ларіонов, О.І. Александрова
Одеський національний університет ім. І.І. Мечнікова (Кафедра фармацевтичної хімії)

ВПЛИВ ЛІПОФІЛЬНОСТІ ПОХІДНИХ 1,4-БЕНЗДІАЗЕПІНУ НА ЇХ ФАРМАКОДІНАМІКУ ПРИ ТРАНСДЕРМАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ.

Резюме.

Робота присвячена вивченню впливу ліпофільності похідних 1,4-бензодіазепіну (феназепаму, 3-гідроксіфеназепаму та клоназепаму) на швидкість їх проникнення (яка визначається по фармакологічній (протисудомній) дії) через шкіру мишей при трансдермальному введенні. Встановлено, що 3-гідроксіфеназепам, маючи оптимальне значення ліпофільності, проникає через шкіру швидше, ніж феназепам та клоназепам, застосовуючи для свого проникнення усі чрезшкірні шляхи проникнення.

Ключові слова: похідні 1,4-бензодіазепіну, ліпофільність, протисудомна дія, феназепам, клоназепам.

I.A. Kravchenko, N.V. Ovcharenko, I.N. Kirichenko, V.B. Larionov, A.I. Aleksandrova
Odessa national university of I.I. Mechnikov (Department of the pharmaceutical chemistry)

THE INFLUENCE OF THE LIPOPHILICITY OF THE 1,4-BENZDIAZEPINE DERIVATIVES ON THEIR PHARMACODYNAMICS AFTER TRANSDERMAL ADMINISTRATION.

Summary

This work studies the influence of the lipophilicity of the 1,4-benzodiazepine derivatives (phenazepam, 3-hydroxyphenazepam and clonazepam) on their permeability rate (determined on the base of the pharmacological effect – anticonvulsant action) through the mice skin when used transdermally. It is found that 3-hydroxyphenazepam, possessing the optimal lipophilicity value, permeates through the skin faster than phenazepam and clonazepam, using all transdermal routers for its penetration.

Key words: 1,4-benzodiazepine derivatives, lipophilicity, anticonvulsive action, phenazepam, clonazepam