

# НЕЙРОФАРМАКОЛОГИЯ

## ОСОБЕННОСТИ СНОТВОРНОГО ДЕЙСТВИЯ И ФАРМАКОКИНЕТИКИ ГЕМИСУКЦИНАТА 3-ОКСИФЕНАЗЕПАМА (ПРЕПАРАТ ЛЕВАНА)

Т. А. Воронина<sup>1</sup>, В. Б. Ларионов<sup>2</sup>, Н. Я. Головенко<sup>2</sup>, Л. Н. Неробкова<sup>1</sup>

Гемисукцинат 3-оксифеназепам (препарат левана) в дозах 0,05; 0,1 и 2 мг/кг в опытах на мышах в тесте потенцирования гексеналового сна вызывает достоверное укорочение времени засыпания и увеличение продолжительности сна. В электроэнцефалографических исследованиях на крысах линии Вистар с хронически вживленными в гиппокамп электродами гемисукцинат 3-оксифеназепам (ГС-3-ОФ) в дозе 0,1 мг/кг после однократного и 7 сут введения вызывает достоверное ( $p < 0,05$ ) сокращение длительности засыпания, увеличение числа сонных циклов и уменьшение длительности периодов бодрствования, вызывая сон, близкий к физиологическому. После прекращения курсового (7 сут) введения ГС-3-ОФ не было отмечено проявлений синдрома отмены. Установлено, что концентрация в мозговой ткани 3-оксифеназепама — основного метаболита ГС-3-ОФ после введения ГС-3-ОФ существенно выше, чем при введении 3-оксифеназепама. Концентрация 3-оксифеназепама после его введения быстро снижается, а после введения ГС-3-ОФ концентрация 3-оксифеназепама находится на стационарном уровне в течение длительного (6 ч) времени. Можно полагать, что специфика снотворного действия ГС-3-ОФ связана с особенностями фармакокинетики препарата — более легким поступлением в мозг и последующим гидролизом с высвобождением активного метаболита — 3-оксифеназепама.

**Ключевые слова:** гемисукцинат 3-оксифеназепам; левана; снотворное действие; 3-оксифеназепам; бензодиазепины; пролекарство

### ВВЕДЕНИЕ

Среди препаратов бензодиазепинового ряда особое место занимают вещества с преимущественным снотворным действием (нитразепам, флунизепам, бротизолам, триазолам и др.) [4, 8]. Вместе с тем эти бензодиазепины обладают существенными побочными эффектами (амнезия, миорелаксация, седация, изменение структуры сна, привыкание), что ограничивает их применение [4, 7]. Совместно Институтом фармакологии РАМН и Физико-химическим институтом НАН Украины проведен цикл исследований, позволивших теоретически спрогнозировать и разработать гемисукцинат 3-оксифеназепама (препарат “Левана IC”).

Цель данной работы — изучить особенности снотворного действия гемисукцината 3-оксифеназепама (ГС-3-ОФ) и выявить зависимость фармакологического эффекта от фармакокинетических параметров препарата.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

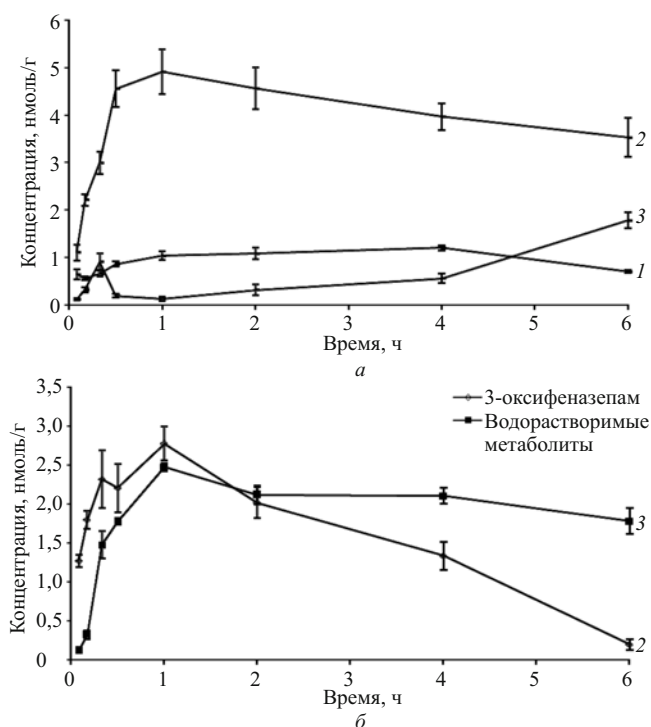
Пролонгирование снотворного действия гексенала изучали, согласно методу [1], в опытах на 40 белых

беспородных мышах-самцах массой 23–26 г (питомник “Столбовая”). Оценивали влияние ГС-3-ОФ (в субстанции) в дозах 0,05; 0,1 и 2 мг/кг (внутрибрюшинно) на время засыпания, пробуждения и продолжительность сна, вызванного гексеналом (50 мг/кг, внутрибрюшинно). Вещества вводили в объеме 0,01 мл на 10 г массы мыши. Продолжительность сна вычисляли по разнице показателя времени засыпания (момент утраты рефлекса переворачивания) и времени пробуждения (восстановление рефлекса переворачивания). Гексенал вводили внутрибрюшинно через 15 мин после ГС-3-ОФ. Побочный эффект оценивали по влиянию ГС-3-ОФ на координацию движений в тесте “вращающегося стержня” [2] и на рефлекс с мышечным напряжением в тесте “подтягивания” на проволоку” (мышей подвешивали за передние лапы на проволоку диаметром 3 мм на высоте 30 см от стола и регистрировали в течение двух минут число упавших с проволоки мышей).

Электрофизиологический анализ снотворного действия ГС-3-ОФ проводили на 12 крысах-самцах линии Вистар массой 260–290 г (питомник “Столбовая”) по методике, описанной ранее [1]. Крысам под нембуталовым наркозом (50 мг/кг, внутрибрюшинно) вживляли долгосрочные биполярные электроды в дорзальный гиппокамп и мышцы шеи. Регистрацию электрической активности и циклов сон/бодрствование проводили на 5 день после операции в течение 5 ч до введения

<sup>1</sup> ФБГУ “НИИ фармакологии им. В. В. Закусова” РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

<sup>2</sup> Физико-химический институт им. А. В. Богатского НАН Украины, Одесса, Черноморская дорога, 86.



Концентрационный профиль в ткани головного мозга мышей гемисукцината 3-оксибензапема (1), 3-оксибензапема (2) и их водорастворимых метаболитов (3) после внутрибрюшинного введения мышам леваны (а) и 3-оксибензапема (б) в эквивалентных дозах (10 мкмоль/кг).

ГС-3-ОФ и на первые и 7-е сутки после ежедневного (курсового) введения ГС-3-ОФ (внутрибрюшинно, 0,2 мл на 100 г массы крысы, за 40 мин до начала регистрации электроэнцефалограмм). Контрольным крысам вводили эквивалентный объём крахмальной взвеси. Структуру сна оценивали по изменению гиппокампо- и миограмм с определением периодов бодрствования, числа сонных циклов, длительности медленноволнового и парадоксального сна за 5 ч регистрации.

Для изучения фармакокинетики использовали  $^{14}\text{C}$ -меченные аналоги ГС-3-ОФ и его установленного ранее [5] основного метаболита 3-оксибензапема (положение “2” гетерокольца, удельная активность 0,28 мкКю/моль), синтезированных в Физико-химическом институте НАН Украины по методу описанному ранее [3]. Исследования проводили на 60 белых беспородных мышках-самцах массой 24–27 г (питомник “НАН Украины”). Соединения вводили в эквивалентных дозах (10 мкмоль/кг) внутрибрюшинно в объеме 0,01 мл на 10 г массы мыши. Выбор дозы обосновывали разрешающей способностью приборов. Через определенные промежутки времени (1, 2, 3, 4, 5 и 6 ч) мышам наркотизировали, декапитировали и извлекали головной мозг. В гомогенате мозга (1:5, масса/объем, 0,9 % NaCl) определяли содержание общего радиоактивного материала, а рН-зависимой жидкость-жидкостной экстракцией и последующей препаративной тонкослойной радиохроматографией — количество

индивидуальных соединений, на жидкостном спинтилляционном фотометре Canberra Packard TRI-CARB 2700 [3].

Животных в виварии содержали в соответствии с правилами лабораторной практики и Приказа Минздравоохранения РФ № 708н от 23 августа 2010 г. “Об утверждении правил лабораторной практики”. Работу осуществляли согласно этическим нормам, регламентирующим эксперименты на животных в соответствии с международными и российскими нормативно-правовыми документами (“Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях: EST № 123” от 18 марта 1986 г. Страсбург, 1986; “Об утверждении правил лабораторной практики: приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации” № 267 от 19 июня 2003 г.).

Данные обрабатывали с помощью статистического пакета программы MS Excel и результаты представляли в виде  $M \pm m$  (среднее и стандартное отклонение от среднего). Достоверность различий определяли при  $p < 0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

ГС-3-ОФ в дозе 0,05 мг/кг (0,13 мкмоль/кг) вызывает значительное увеличение продолжительности сна в тесте потенцирования гексеналового сна мышам с укорочением времени засыпания и удлинением времени пробуждения. Так, продолжительность сна мышам увеличивается в 3,8 раза (с  $20,7 \pm 1,1$  мин в контроле до  $78,7 \pm 4,2$  мин на фоне введения ГС-3-ОФ). ГС-3-ОФ в дозе 0,1 мг/кг (0,26 мкмоль/кг) увеличивает продолжительность сна до  $95 \pm 5$  мин, а в дозе 2 мг/кг (5,27 мкмоль/кг) — до  $234 \pm 12$  мин. Высокая активность ГС-3-ОФ в данном тесте может быть обусловлена сочетанным действием гексенала и ГС-3-ОФ на рецепторном уровне — посредством связывания с бензодиазепиновыми и барбитуровыми сайтами ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплекса.

При оценке миорелаксантного действия ГС-3-ОФ в опытах на мышцах установлено, что  $\text{ED}_{50}$  для ГС-3-ОФ в тесте вращающегося стержня составляет 2,6 ( $2,2 \div 3,12$ ) мг/кг, а в тесте подтягивания на проволоку — 2,7 ( $2,3 \div 3,11$ ) мг/кг.

В электроэнцефалографических исследованиях было показано, что ГС-3-ОФ в дозе 0,1 мг/кг (0,26 мкмоль/кг) после однократного введения вызывает достоверное значительное (в 2,8 раза,  $p < 0,05$ ) сокращение длительности засыпания, по сравнению с контролем (таблица). Наряду с этим после введения ГС-3-ОФ отмечали достоверное увеличение числа сонных циклов и уменьшение длительности периодов бодрствования, а также наблюдали недостоверное (на уровне тенденции) уменьшение продолжительности фаз быстрого и увеличение фаз медленноволнового сна.

Влияние гемисукцината 3-оксифеназепама (ГС-3-ОФ, препарат левана) в дозе 0,1 мг/кг (0,26 мкмоль/кг, внутривнутрино) при однократном и 7-суточном введении и после отмены курсового введения на циклы сон/бодрствование крыс в электрофизиологических исследованиях по показателям гиппокампо- и миограмм ( $M \pm m, n = 5$ )

Вещество, срок введения	Время засыпания, мин	Медленно-волновой сон, %	Парадоксальный сон, %	Периоды бодрствования, %	Число сонных циклов
Контроль крахм. взвесь 7 сут	82,8 ± 15,4	51,3 ± 12,7	12,3 ± 2,3	24,4 ± 4,4	9,7 ± 1,8
ГС-3-ОФ, однократно	22,4 ± 5,1*	62,8 ± 15,3	9,8 ± 3,1	19,3 ± 4,1	15,3 ± 3,1*
ГС-3-ОФ, 7 сут	11,5 ± 2,3*	65,7 ± 11,9	11,7 ± 4,7	15,9 ± 3,8*	17,4 ± 4,1*
ГС-3-ОФ, после отмены 7 сут введения	43,1 ± 12,3	55,5 ± 10,9	13,5 ± 3,2	18,3 ± 5,8	11,3 ± 3,2

Примечание. \* — достоверность отличия от контроля при  $p < 0,05$ .

ГС-3-ОФ после курсового (7 сут) введения животным вызывает укорочение периода засыпания в 7,5 раз (таблица). После прекращения курсового введения ГС-3-ОФ проявлений синдрома отмены не наблюдали.

Таким образом, ГС-3-ОФ обладает выраженным снотворным эффектом, не оказывая при этом существенного влияния на медленноволновую фазу сна, а миорелаксанта́ный эффект ГС-3-ОФ наблюдается в дозах значительно превышающих дозы снотворного эффекта, что свидетельствует о большой терапевтической широте препарата. Известно, что многим снотворным средствам свойственно изменять структуру сна, увеличивая продолжительность медленноволновой фазы, что при отмене препаратов приводит к негативным проявлениям синдрома отмены [6]. Кроме того, бензодиазепиновые снотворные в терапевтических дозах способны оказывать седативное и миорелаксанта́ное действие [4].

При изучении фармакокинетики ГС-3-ОФ установлено, что концентрация активного метаболита (3-оксифеназепама) в ткани мозга после внутривнутрино введения мышам ГС-3-ОФ (10 мкмоль/кг) существенно выше, чем при введении самого метаболита (рисунок). Также следует отметить, что концентрация 3-оксифеназепама после его введения мышам быстро (через 2 ч) снижается, что обусловлено образованием неактивных водорастворимых глюкуроидов (рисунок). Наоборот, после введения ГС-3-ОФ концентрация 3-оксифеназепама находится на стационарном уровне в течение длительного (6 ч) времени (рисунок). Такое различие может объясняться способностью свободной карбоксильной группы ГС-3-ОФ к обратимой ионизации, благодаря чему она легче проникает через гематоэнцефалический барьер и гидролизует в тканях мозга, высвобождая активный метаболит.

Таким образом, ГС-3-ОФ (левана) в дозах 0,05 и 0,1 мг/кг оказывает выраженный снотворный эффект. Левана вызывает сон, близкий к физиологическому, уменьшает период засыпания и число ночных пробуждений. После прекращения курсового введения ГС-3-ОФ (7 сут) не отмечено синдрома отмены. Побочные эффекты (миорелаксация, нарушение координации движений) регистрировали лишь при введении

высоких доз препарата (2–4 мг/кг). Зависящие от дозы фармакологические эффекты ГС-3-ОФ можно объяснить не только связыванием с бензодиазепиновыми рецепторами, но и особенностями фармакокинетики препарата, а именно более легким поступлением вещества в мозг и последующим гидролизом, с высвобождением активного метаболита — 3-оксифеназепама.

## ВЫВОДЫ

1. Гемисукцинат 3-оксифеназепама (ГС-3-ОФ, препарат левана) в малых дозах (0,05 и 0,1 мг/кг, внутривнутрино) вызывает достоверное увеличение продолжительности сна мышей в тесте потенцирования гексеналового сна.

2. В электрофизиологических исследованиях на крысах ГС-3-ОФ в дозе 0,1 мг/кг (внутривнутрино) вызывает достоверное уменьшение латентного времени засыпания: после однократного введения в 2,8 раз и после 7-дневного — в 7,5 раз, а также увеличение числа сонных циклов и уменьшение длительности периодов бодрствования.

3. ГС-3-ОФ оказывает миорелаксанта́ное действие в дозах, значительно превышающих дозы снотворного эффекта.  $ED_{50}$  для ГС-3-ОФ в тесте вращающегося стержня составляет 2,6 (2,2 ÷ 3,12) мг/кг, а в тесте подтягивания на проволоку — 2,7 (2,3 ÷ 3,11) мг/кг.

4. После введения ГС-3-ОФ (10 мкмоль/кг, внутривнутрино) мышам концентрация его активного метаболита (3-оксифеназепама) в мозговой ткани существенно выше, чем при введении самого метаболита. После введения метаболита его концентрация быстро снижается, тогда как после введения ГС-3-ОФ концентрация 3-оксифеназепама находится на стационарном уровне в течение длительного времени (более 6 ч).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, *Методические указания по изучению снотворной активности фармакологических веществ. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, издание 2-е, Р. У. Хабриев (ред.), Москва (2005), сс. 263–276.
2. Т. А. Воронина, Л. Н. Неробкова, *Методические указания по изучению противосудорожной активности фармакологиче-*

- ских веществ. *Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ*, издание 2-е, Р. У. Хабриев (ред.), Москва (2005), сс. 277 – 294.
- Н. Я. Головенко, В. Г. Зиньковский, Л. Н. Якубовская, *Украин. химич. журн.*, **65**(9), 34 – 44 (1999).
  - С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Г. Г. Незнамов, В. П. Жердев, *Феназепам. 25 лет в медицинской практике*, Наука, Москва (2007).
  - В. П. Чеховський, Г. Б. Василюк, *Вестн. фармації (Укр)*, **2**(16), 107 – 111 (1997).
  - S. J. Crowley, C. Acebo, M. A. Carskadon, *Sleep Med*, **8**(6), 602 – 612 (2007).
  - B. P. Hallahan, I. T. Murray, C. McDonald, *The Psychiatrist*, **33**, 12 – 14 (2009).
  - P. N. Pfeiffer, D. Ganoczy, K. Zivin, M. Valenstein, *J. Clin. Psychopharmacol.*, **31**(3), 360 – 364 (2011).

Поступила 16.12.13

## PECULIARITIES OF HYPNOTIC EFFECT AND PHARMACOKINETICS OF HEMISUCCINATE 3-HYDROXYPHENAZEPAM (LEVANA)

T. A. Voronina<sup>1</sup>, V. B. Lariionov<sup>2</sup>, N. Ya. Golovenko<sup>2</sup>, and L. N. Nerobkova<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Baltiiskaya 8, Moscow, 125315 Russia

<sup>2</sup> A. V. Bogatsky Physico-Chemical Institute, National Academy of Sciences of Ukraine, Chernomorskaya Doroga 86, 65080 Odessa, Ukraine

The pharmacodynamics and pharmacokinetics of hemisuccinate 3-hydroxyphenazepam (HS-3-HPh, levana) – a new hypnotic 1,4-benzodiazepine derivative – have been studied. It is established that HS-3-HPh in doses of 0.05, 0.1 and 2 mg/kg produces reliable hypnotic action (shortens the period of falling asleep, reduces the number of awakenings at night-time, and increases sleep duration) in the hexenal sleep potentiation test on mice. After a 7-day drug administration, no withdrawal syndrome has been observed. The concentration of 3-oxyphenazepam (3-OP, the main metabolite of HS-3-HPh) in brain after drug administration is significantly higher than the content of 3-OP upon its introduction. The content of 3-OP upon its introduction rapidly decreases, while that upon the administration of HS-3-HPh is retained on a stationary level for a rather long time (about 6 h). It can be suggested that a specific character of HS-3-HPh hypnotic action is determined by peculiarities of its pharmacokinetics, namely, easier entering the brain and subsequent hydrolysis with release of the active metabolite (3-OP).

**Keywords:** hemisuccinate 3-hydroxyphenazepam; levana; hypnotic effect; 3-oxyphenazepam; blood-brain barrier; 1,4-benzodiazepine; prodrug