

А. А. Прокопов, Л. И. Котлова, А. С. Берлянд

ИССЛЕДОВАНИЕ МЕТАБОЛИЗМА ТЕТРАМЕЗИНА

Московский государственный медико-стоматологический университет

С помощью хроматомасс-спектрометрии изучен метаболизм тетрамезина — нового вещества с психотропной активностью. Установлено, что тетрамезин после перорального и внутримышечного введения крысам выводится из их организма как в неизменном состоянии, так и в виде двух метаболитов, строение одного из которых установлено однозначно — это 1-(β-аминоэтил)-3,3-диметилдиазирин. В основе структуры второго метаболита также находится Diaziridine.

Тетрамезин [N,N'-этилен-бис(3,3-диметилдиазирин)] — новое биологически активное вещество, обладающее выраженными антидепрессантными свойствами [1]. Ранее нами была изучена экспериментальная фармакокинетика этого лекарственного препарата у крыс [2].

Целью настоящей работы является изучение метаболизма тетрамезина у крыс.

Экспериментальная часть

Изучение метаболизма тетрамезина в организме крыс проводили при однократном внутримышечном и пероральном введении препарата в дозах 200 и 500 мг/кг (фармакологически активные дозы составляют 13,8 и 34,5 % соответственно от DL₅₀). Опыты проводили на беспородных крысах-самцах массой 200 ± 20 г. Перед началом эксперимента крысы не получали пищи в течение 14 ч до введения тетрамезина. Сбор мочи проводили в обменных клетках в течение 24 ч после введения препарата. Во избежание возможного гидролиза действующего вещества, который не исключен при его длительном нахождении в моче, в приемник для сбора мочи добавляли 0,5 мл 0,1 М раствора гидроксида натрия. Из полученных образцов мочи, которые для увеличения полноты извлечения предварительно насыщали хлоридом натрия, тетраме-

зин и его метаболиты трижды экстрагировали 20-кратным объемом хлороформа встряхиванием на шейкере в течение 20 мин. Органическую фазу отделяли от водной, концентрировали в токе азота и анализировали методом хроматомасс-спектрометрии. Использовали хроматомасс-спектрометр Хьюлетт-Паккард с автоматической системой обработки данных (ионизирующее напряжение 70 эВ, диапазон массовых чисел 39 – 400 а.е.м., температура источника ионов 120 °С). Хроматографическое разделение осуществляли на стеклянной капиллярной колонке длиной 20 м со стационарной фазой SE-30 при скорости газа-носителя (гелий) 1,5 мл/мин. Температурный режим колонки: начальная температура 60 °С в течение 2 мин с дальнейшим нагревом со скоростью 10 °/мин до 170 °С. В максимумах хроматографических пиков определяли времена удерживания и очищенные от наложения фона масс-спектры. Анализ хлороформных экстрактов мочи до и после введения тетрамезина проводили кроме того методом восходящей ТСХ на хроматографических пластинках “Силуфол-254” размером 15 × 15 см. Использовали следующие системы растворителей: спирт метиловый – раствор аммиака концентрированный в соотношениях 14:1; 25:1; 50:1; 70:1, а также спирт изопропиловый – спирт метиловый — раствор аммиака концентрированный в соотношении 25:50:2. Наибольшая эффективность разделения тетрамезина,

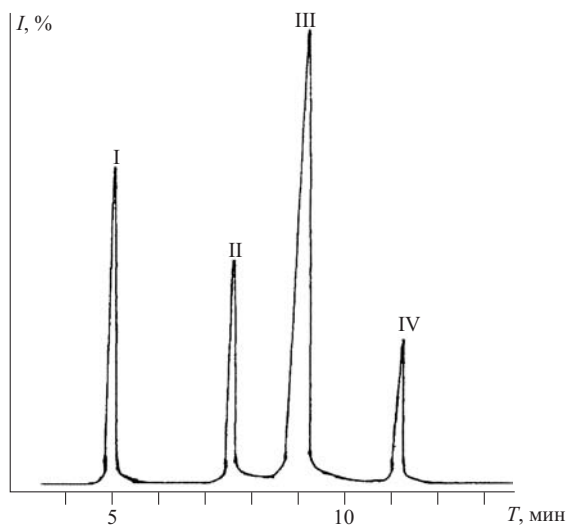


Рис. 1. Газо-жидкостная хроматограмма суммы метаболитов после внутримышечного введения тетрамезина крысам: I — 1-(β-аминоэтил)-3,3-диметилдиазирин; II — 2-й метаболит тетрамезина; III — тетрамезин; IV — эндогенное соединение.

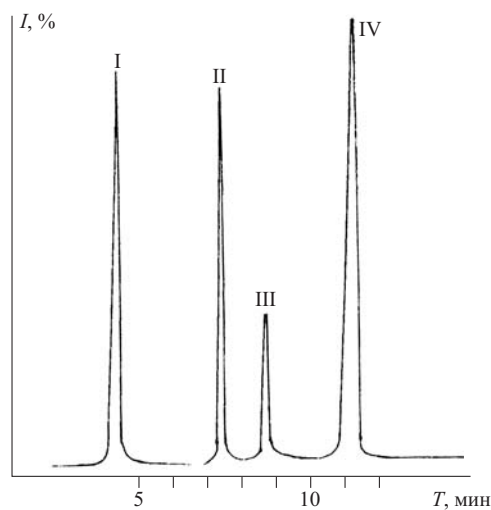


Рис. 2. Газо-жидкостная хроматограмма суммы метаболитов после перорального введения тетрамезина крысам: I — 1-(β-аминоэтил)-3,3-диметилдиазирин; II — 2-й метаболит тетрамезина; III — тетрамезин; IV — эндогенное соединение.

Способ введения	Соединение	Время удерживания на хроматограмме, мин	Значения m/z (интенсивность пиков ионов в % от максимального)
Перорально	I	4,5	85,0(100,0), 42,0(83,4), 56,0(53,6), 57,0(37,8)
	II	7,6	42,0(100,0), 71,0(88,5), 70,0(85,7), 85,0(62,9)
	III	8,9	42,1(100,0), 70,1(81,4), 85,1(61,8), 56,1(54,4)
	IV	11,1	85,1(100,0), 42,1(36,0), 56,1(34,9), 57,1(26,9)
Внутримышечно	I	4,5	85,0(100,0), 42,0(91,4), 56,2(50,9), 57,1(37,8)
	II	7,6	42,1(100,0), 71,1(76,7), 70,1(71,7), 85,1(54,7)
	III	9,1	42,1(100,0), 70,1(66,3), 85,1(50,3), 56,2(44,7)
	IV	11,1	85,1(100,0), 42,1(36,0), 56,1(34,9), 57,1(26,9)
Тетрамезин		9,0	42,1(100,0), 70,1(81,4), 85,1(70,9), 56,1(54,4)
1-(β-аминоэтил)-3,3-диметилдiazиридин		4,5	85,1(100,0), 42,1(83,4), 56,2(53,6), 57,1(37,8)
Метаболит I		4,5	85,1(100,0), 42,1(83,4), 56,2(53,6), 57,1(37,8)
Препаративно выделенное соединение IV		11,1	85,1(100,0), 56,2(36,9), 42,1(30,8), 57,1(26,9)
Этиленбисгидразин			44,1(100,0), 43,1(76,8), 45,1(75,8), 42,1(73,7), 153,1(0,8), 207,0(2,6)
Ацетилованный этилендиамин + этилендиамин			70,1(100,0), 83,1(57,9), 43,1(45,2), 68,1(33,5), 211,0(0,5), 215,6(0,5)

метаболитов и соэкстрактивных эндогенных веществ достигалась в системе растворителей спирт метиловый — раствор аммиака концентрированный в соотношении 14:1. Длина пробега растворителя составляла 10 см. Детекцию пятен веществ на хроматограммах осуществляли опрыскиванием пластинок 0,3 % спиртовым раствором нингидрина и просматриванием в УФ-свете при 254 нм.

На хроматограммах хлороформных экстрактов мочи после введения тетрамезина кроме пятен эндогенных соединений, присутствующих в хлороформных экстрактах мочи, наблюдалось пятно вещества с $R_f = 0,45$, отсутствующее в интактной моче и совпадающее по длине пробега и интенсивности окраски со свидетелем — тетрамезином. Кроме того, на хроматограммах хлороформных экстрактов мочи после введения тетрамезина имеется пятно с $R_f = 0,20$, отсутствующее в хлороформных экстрактах нативной мочи и совпадающее по значению R_f , форме пятна и интенсивности окраски с синтезированным предполагаемым метаболитом — 1-(β-аминоэтил)-3,3-диметилдiazиридином. На основании этих данных было сделано предположение, что тетрамезин из организма крыс выводится как в неизменном виде, так и в виде метаболита — 1-(β-аминоэтил)-3,3-диметилдiazиридина.

На рис. 1 и 2 представлены газожидкостные хроматограммы суммы метаболитов тетрамезина после перорального и внутримышечного введения. Они содержат 4 основных пика. Масс-спектр соединения III, которому отвечает пик со временем удерживания 8,9–9,1 мин, полностью совпадает с масс-спектром тетрамезина (рис. 3, таблица). Масс-спектр соедине-

ния I со временем удерживания 4,5 мин полностью идентичен масс-спектру синтезированного 1-(β-аминоэтил)-3,3-диметилдiazиридина и выделенного препаративно методом ТСХ ($R_f = 0,2$) метаболита.

Обращает на себя внимание пик IV со временем удерживания 11,1 мин (рис. 1 и 2). Масс-спектр этого соединения идентичен масс-спектру выделенного препаративно эндогенного соединения с $R_f = 0,7$.

Масс-спектр, снятый на вершине пика соединения II, со временем удерживания 7,6 мин (рис. 1 и 2) принадлежит неидентифицированному метаболиту тетрамезина, характер фрагментации которого (таблица) позволяет предположить, что данное соединение близко по строению к diaзиридинам.

На основании проведенных исследований можно сделать вывод, что тетрамезин после перорального и внутримышечного введения крысам выводится из их организма как в неизменном состоянии, так и в виде двух метаболитов, строение одного из которых установлено однозначно. Эти данные хорошо согласуются с результатами, полученными при исследовании фармакокинетики препарата [2], свидетельствующими об интенсивной биотрансформации тетрамезина в организме крыс.

ЛИТЕРАТУРА

1. Л. И. Хмельницкий, Н. Н. Махова, О. В. Лебедев, А. С. Берлянд, *Тез. докл. II съезда фармацевтов Латв. ССР*, Рига (1984), с. 252.
2. А. А. Прокопов, Л. И. Котлова, А. С. Берлянд, *Хим.-фарм. журн.*, **39**(7), 8–12 (2005).

Поступила 01.11.05

STUDYING TETRAMEZINE METABOLISM IN RATS

A. A. Prokopov, L. I. Kotlova, and A. S. Berlyand

Moscow State University of Medicine and Dentistry, Moscow, Russia

The metabolism of the novel antipsychotic drug tetramezine in rats was studied using a computer-aided gas chromatography/mass spectrometry system. After peroral and intramuscular administration, the drug is eliminated from the rat organism in the form of two metabolites. One of these metabolites is unambiguously identified as 1-(β-aminoethyl)-3,3-dimethyldiaziridine; the structure of the other metabolite also has a diaziridine framework. A considerable proportion of tetramezine is eliminated in the unchanged form.