

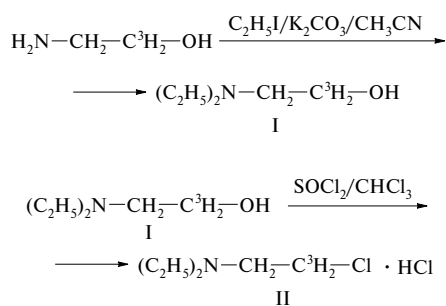
В. А. Карпинчик, Г. В. Мальцев, С. К. Сумрий

**СИНТЕЗ АМИКСИНА-<sup>3</sup>H<sub>2</sub> И РАЗРАБОТКА МЕТОДОВ ЕГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗ БИОЛОГИЧЕСКИХ СУБСТРАТОВ**

Открытое акционерное общество "Совместное Украинско-Бельгийское химическое предприятие СП "ИНТЕРХИМ", Одесса

Амиксин обладает широким спектром фармакологического действия: противовирусными, противовоспалительными, антимикробными, радиопротекторными свойствами [1 – 3].

Целью настоящей работы являлся синтез меченого <sup>3</sup>H-амиксина, определение характеристик процессов извлечения общего радиоактивного материала из биосубстратов в модельных экспериментах *in vitro*, *in vivo*; изучение процессов выведения амиксина из организма крыс при его однократном введении экспериментальным животным. Синтез амиксина-<sup>3</sup>H<sub>2</sub> из меченого тритием аминоэтанола выполнен по следующей схеме:

*Экспериментальная химическая часть*

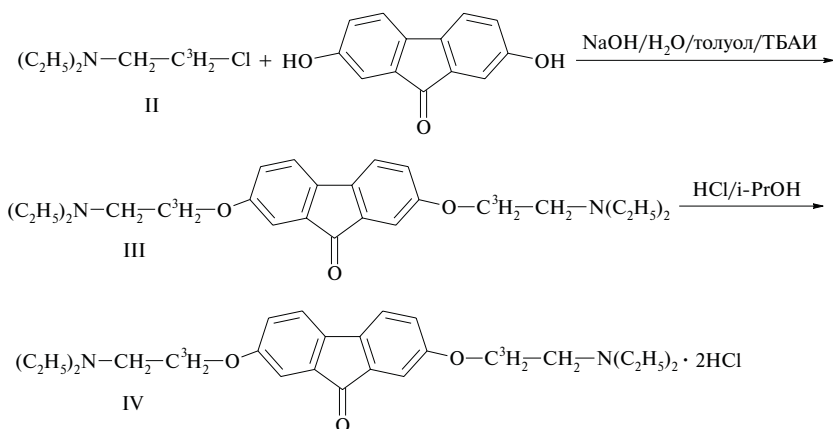
**2-N,N-Диэтиламино-[1-<sup>3</sup>H]-этан-1-ол (I).** К смеси 5 г свежепрокаленного карбоната калия и 70 мл ацетонитрила прибавляют 2 г (32,7 ммоль) моноэтаноламина и 2-амино-[1-<sup>3</sup>H]-этанола гидрохлорида активностью 1 мCi. Реакционную массу нагревают при перемешивании до кипения и прибавляют в течение 4 ч 11,2 г (71,9 ммоль) этилйодида, после чего смесь перемешивают при кипении еще 6 ч. После охлаждения массу фильтруют, осадок на фильтре промывают дважды по 30 мл ацетонитрила, фильтрат выпаривают

досуха в вакууме водоструйного насоса. Из остатка продукт экстрагируют (5 × 20 мл) диэтиловым эфиром. Эфирный экстракт выпаривают в вакууме водоструйного насоса; получают 300 мг (7,8 %) соединения I.

**2-N,N-Диэтиламино-[1-<sup>3</sup>H]-этилхлорида гидрохлорид (II).** К раствору 0,3 г (2,6 ммоль) 2-N,N-диэтиламино-[1-<sup>3</sup>H]-этан-1-ола (I) в 30 мл сухого дихлорметана прибавляют 0,5 г (4,2 ммоль) свежеперегнанного хлористого тионила, реакционную массу перемешивают 10 ч при 25 °С, после чего дихлорметан отгоняют досуха в вакууме водоструйного насоса, остаток растворяют в 1 мл воды и используют для синтеза 2,7-бис-(2-N,N-диэтиламино-[1-<sup>3</sup>H]-этоксифлоурен-9-она (III).

**2,7-Бис-(2-N,N-диэтиламино-[1-<sup>3</sup>H]-этоксифлоурен-9-она дигидрохлорид (IV) — амиксин-3H<sub>2</sub>.** К смеси 0,151 г (0,7 ммоль) 2,7-диоксифлоурен 9-она, 10 мл 50 % раствора гидроокиси натрия, 0,03 г (0,7 ммоль) тетрабутиламмония иодита (ТБАИ) и 30 мл толуола прибавляют раствор 2-N,N-диэтиламино-[1-<sup>3</sup>H]-этилхлорида гидрохлорида (II) в воде и перемешивают при температуре 80 °С в течение 6 ч. Толуольный слой отделяют и выпаривают досуха, остаток растворяют в 3 мл ацетона и прибавляют раствор хлороводорода в сухом пропанол-2 до кислой реакции (рН = 3). Выпавший осадок отфильтровывают, промывают ацетоном, получают соединение IV: выход 0,241 г (71,3 %).

Модельные эксперименты по оптимизации процессов экстракции *in vitro* были проведены с использованием гомогената печени крыс. В 1 мл гомогената добавляли [<sup>3</sup>H]-амиксин в концентрации 0,04 мг/мл. Затем проводили последовательную (6-кратную) экстракцию 5 мл хлороформа и определяли содержание общего радиоактивного материала в органической



(хлороформной) и остаточной (водной) фазе. Определение содержания [<sup>3</sup>H]-продуктов проводили на жидкостном сцинтилляционном счетчике Tri-Carb 2700 TR фирмы Canberra – Packard.

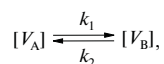
В опытах *in vivo* были использованы крысы – самцы линии Вистар массой 200 – 250 г. Животные содержались в метаболических клетках в условиях свободного доступа к воде и еде. Отбор кала и мочи проводился 1 раз в сутки. Определение [<sup>3</sup>H]-амиксина и его метаболитов проводили по описанной ранее методике [4]. Для тонкослойной радиохроматографии использовали хроматографические пластинки “Silufol UV - 254” (Чехия).

Определение удельной активности и радиохроматографической чистоты синтезированного образца [<sup>3</sup>H]-амиксина выявило высокую степень чистоты препарата — 99,6 %, удельная активность составила 0,11 Ки/моль.

В работе была исследована кинетика двухфазной жидкость – жидкостной экстракции общего радиоактивного материала в опытах *in vitro* и *in vivo*.

Использованный в работе математический аппарат позволяет, исходя из содержания [<sup>3</sup>H]-продуктов в органической фазе при *n*-ой экстракции ( $S_n$ ), рассчитать необходимое соотношение объемов экстрагента и экстрагируемой пробы ( $\Pi$ ), а также количество последовательных экстракций (*n*), достаточное для извлечения 95 % от общего содержания соединения в биопробе.

Последовательная многократная экстракция представляет процесс первого порядка:



где  $V_A$  — объем экстрагируемой биологической пробы, содержащей исходное соединение и его метаболиты — исследуемые вещества  $S$ ;  $V_B$  — объем экстрагента.  $K = k_1/k_2$  — постоянная распределения исследуемого вещества между органической и водной фазами биопробы.

Оптимизация процессов извлечения проводилась по следующему алгоритму:

1. Степень экстракции соединения в заданных условиях определялась как:

$$\Sigma[S_n]/\Sigma[S_\infty] = 1 - e^{-nB},$$

где  $B = -\ln(1 - КП)$ ; *n* — количество экстракций;  $\Pi$  — соотношение объемов экстрагента ( $V_B$ ) и экстрагируемой пробы ( $V_A$ ).

2. Количество экстракций, необходимое для извлечения с заданной степенью экстракции, при заданном соотношении объемов экстрагента и экстрагированной пробы:

$$n = -\ln\{\Sigma[S_\infty] - \Sigma[S_n]/\Sigma[S_\infty]\}/B$$

$$B = \text{tg } \alpha,$$

где  $\alpha$  — угол наклона теоретической прямой зависимости содержания препарата в органической фазе от числа последовательных экстракций в системе координат ( $\ln[S_n]$  теор., *n*).

3. Соотношение объемов экстрагента и экстрагируемой пробы, необходимое для достижения заданной степени экстракции при двух последовательных экстракциях:

$$\Pi = ((\Sigma[S_\infty] - \Sigma[S_n]/\Sigma[S_\infty])^{-1/n} - 1)/K.$$

Результаты исследований показали (табл. 1), что процесс экстракции хлороформом общего радиоактивного материала из гомогенатов печени для амиксина носит моноэкспоненциальный характер и характеризуется медленной скоростью перехода вещества в органическую фазу. Поэтому 95 % степень экстракции достигается при трехкратном извлечении данными объемами экстрагента (табл. 2). Количество экстракций, необходимое для достижения 99 % уровня содержания общего радиоактивного материала в хлороформной фазе, при извлечении из водной фазы, составило 5.

При экстракции радиоактивного материала из экскретов крыс выявлена та же закономерность, что при исследовании кинетики экстракции из гомогенатов пе-

Т а б л и ц а 1  
Содержание <sup>3</sup>H-продуктов (импульс/мин · г (мл)) в хлороформных экстрактах биосубстратов при *n*-ой экстракции (экспериментальные и расчетные данные)

Субстрат	<i>n</i>	$[S_n]_{\text{эксп.}} \pm m$	$\ln[S_n]_{\text{эксп.}} \pm m$	$\ln[S_n]_{\text{теор.}}$
Гомогенат печени	1	3559 ± 125	8,2 ± 0	8,1
	2	1228 ± 77	7,1 ± 0,1	7,2
	3	395 ± 55	6 ± 0,1	6,3
	4	164 ± 39	5,1 ± 0,2	5,3
	5	134 ± 35	4,9 ± 0,3	4,4
	6	117 ± 50	4,8 ± 0,4	3,5
Моча	1	313 ± 58	5,75 ± 0,18	5,66
	2	116 ± 49	4,53 ± 0,55	5,12
	3	66 ± 27	4,12 ± 0,51	4,58
	4	77 ± 31	4,2 ± 0,41	4,05
	5	34 ± 5	3,54 ± 0,14	3,51
Фекалии	1	2529 ± 672	8,05 ± 0,18	8,13
	2	1945 ± 281	7,57 ± 0,14	7,45
	3	668 ± 262	6,5 ± 0,39	6,77
	4	363 ± 78	5,89 ± 0,21	6,1
	5	488 ± 258	6,19 ± 0,53	5,42

Т а б л и ц а 2  
Метрологические характеристики метода двухфазной экстракции амиксина

Параметры процесса	Гомогенат печени	Фекалии	Моча
$\Pi$	44,06	45,42	64,53
$N_{0,95}$	3,20	4,42	5,57
<i>B</i>	-0,94	-0,68	-0,54
<i>K</i>	9,08	8,81	6,20

$N_{0,95}$  — количество экстракций, необходимое для 95 %-го извлечения вещества из субстрата

чени (табл. 1, 2). Как видно из результатов анализа, наиболее медленный процесс перехода веществ в органическую фазу наблюдается при экстракции препарата из мочи (табл. 1). Для количественной оценки параметров фармакокинетики амиксина и его метаболитов при изучении процессов выделения из организма необходима 4 – 5 кратная экстракция радиоактивного материала из экскретов экспериментальных животных. Меньшее количество экстракций возможно при существенном увеличении объема экстрагента (табл. 2).

Таким образом, выполненное исследование кинетики извлечения радиоактивного амиксина и его метаболитов и учет статистических особенностей радиометрических методов определения позволяет обоснованно определить параметры двухфазной экстракции общего радиоактивного материала, то есть исходного соединения и его радиоактивных метаболитов.

## ЛИТЕРАТУРА

1. С. А. Борута, *Автореф. дис. канд. мед. наук*, Иваново (1999).
2. С. С. Григорян, Ф. И. Ершов, А. М. Поверенный и др., *Вопр. вирусол.*, № 1, 67 – 70 (1988).
3. Л. И. Величко, *Офтальмол. журн.*, № 6, 449 – 452 (1997).
4. В. Г. Зиньковский, Н. Я. Головенко, О. В. Жук, *Хим.-фарм. журн.*, 17(3), 62 – 68 (1983).

Поступила 15.04.02