

Величко Галина Павловна, преподаватель кафедры фармации Майкопского государственного технологического университета, т.: 8(8772)521994, e-mail: velicgalina2008@yandex.ru;

Карташов Владимир Антонович, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармации Майкопского государственного технологического университета, т.: 8(8772)521979, e-mail: kartashov_v@mail.ru;

Чернова Лариса Владимировна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармации Майкопского государственного технологического университета, т.: 8(8772)521994, e-mail: farmmgtu@mail.ru.

**ЗОПИКЛОН, ЗОЛПИДЕМ И ЗАЛЕПЛОН – КАК ОБЪЕКТЫ
ХИМИКО-ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ**
(рецензирована)

В статье представлен обзор и анализ специальной литературы, посвящённой химико-токсикологическому исследованию зопиклона, золпидема и залеплона. Данные литературы могут быть использованы для разработки эффективных методов изолирования из биологических объектов, очистки, идентификации и количественного определения исследуемых веществ и их основных метаболитов.

Ключевые слова: инсомния, зопиклон, золпидем, залеплон, отравления, химико-токсикологический анализ, метаболизм.

Velichko Galina Pavlovna, lecturer of the Department of Pharmacy, Maikop State Technological University, tel: 88772521994, e-mail: velicgalina2008@yandex.ru;

Kartashov Vladimir Antonovich, Doctor of Pharmacy, professor of the Department of Pharmacy, Maikop State Technological University, tel: 88772521979, e-mail: kartashov_v@mail.ru;

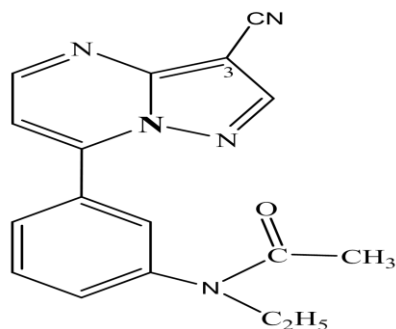
Chernova Larisa Vladimirovna, Candidate of Pharmacy, associate professor of the department of Pharmacy, Maikop State Technological University, tel: 88772521994, e-mail: farmmgtu@mail.ru.

**ZOPICLONE, ZOLPIDEM AND ZALEPLON - AS OBJECTS
OF CHEMICAL AND TOXICOLOGICAL STUDIES**
(reviewed)

This article provides an overview and analysis of the literature devoted to the chemical-toxicological analysis of zopiclone, zolpidem and zaleplon. The data can be used to develop effective methods of isolation of biological objects, purification, identification and quantification of the investigated compounds and their major metabolites.

Keywords: insomnia, zopiclone, zolpidem, zaleplon, poisoning, chemical and toxicological analysis, metabolism.

Инсомния, или бессонница продолжает сохранять своё медицинское и социальное значение. Под термином «инсомния» понимают нарушения продолжительности или качества сна. Некоторые авторы считают, что нарушениями сна страдают почти половина населения планеты, поэтому снотворные средства являются предметом постоянного внимания специалистов и врачей. Снотворные средства известны очень давно. Несмотря на все многообразие имеющихся снотворных препаратов, проблема нарушения сна остается актуальной. Препараты первого поколения – барбитураты – сегодня практически не применяются из-за токсичности. Снотворные средства другой группы – бензодиазепины – менее токсичны, однако они оказывают седативное действие и тем самым способствуют развитию дневной сонливости и когнитивных нарушений [1, 2]. Появление нового третьего поколения снотворных препаратов, стало значительным шагом в лечении инсомний. Одними из главных представителей этого класса являются зопиклон, золпидем и залеплон, которые широко и эффективно используют в медицинской практике за рубежом, а в последние годы и в России.

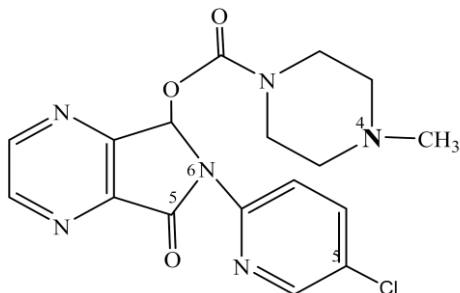


Зопиклон
(Zopiclone)

6-(5-Хлор-2-пиридил) - [(4-метилпи-перазин-1-ил)-карбонилокси]-5,6-дегидро-пирроло[3,4-б] пиразин-5-он, т.е. является производным пирроло-пиразина [8, 10, 16]. Зопиклон – белый или слегка окрашенный кристаллический порошок. Легко растворимый в хлороформе, метилхлориде, диметилформамиде и 0,1 моль/л растворе соляной кислоты, практически не растворим в воде, эфире и этаноле, мало в ацетоне, растворяется в разбавленных минеральных кислотах, $\log P = 1,54$ [4, 10, 14, 16].

Золпидем
(Zolpidem)

N,N,6-Триметил-2-(4-метилфенол) имидазо [1,2-а] пиридин-3-ацетамид (тарtrat), т.е. является производным имидазопиридина [7, 10, 13, 15, 18]. Золпидем – белый или почти белый кристаллический порошок. Практически нерастворим в метилхлориде, малов воде, умеренно в спирте и пропиленгликоле [10, 13, 15,], $pK_a = 6,2$, $\log P = 3,85$ [3].

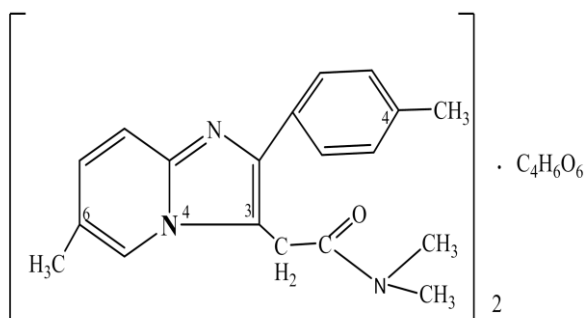


Залеплон

(Zaleplonum)

Анданте (Andante)

(N-[3-(цианопиразоло[1,5-а] пиридин-7-ил) фенил] – N-этилацетамид), т.е. является производным пиразолпиридина [11, 12, 16, 17]. Залеплон – белый или почти белый порошок, практически не растворим в воде, трудно в этаноле и пропиленгликоле, умеренно, а ацетоне, легко - в диметилформамиде, $\log P = 1,23$; $pH = 1-7$ [12, 17].



По химическому строению они являются, как видно из приведенных формул, веще-ствами основного характера, т.к. содержат атомы азота, обладающие основными свойствами, наибольшей основностью обладают атомы азота находящиеся в положении: 4 – у золпидема изопиклона и 3 – у залеплона, т.к. другие атомы азота находятся в сопряжении или рядом с атомом кислорода, который стягивает электронную плотность.

Вещества являются гидрофобными, т.к. содержат в своих структурах сложно-эфирные группы, атомы галогенов, циклы и др. гидрофобные фрагменты. Мерой гидрофобности служит величина $\log P$, т.е. логарифм отношения концентрации вещества в октаноле (эфире, хлороформе) к концентрации

его в водном растворе, имеющем $pH = 7,4$ при равновесии. Величины $\log P$ зопиклона, золпидема, залеплона находятся в области 1,23 – 3,85.

Можно предположить, что, обладая гидрофобными свойствами, исследуемые вещества в организме будут образовывать довольнопрочные соединения со структурными элементами тканей внутренних органов (главным образом с белками). Поэтому при выделении веществ из биологического материала необходимо учитывать их гидрофобные свойства.

По фармакологической классификации препараты относятся к группе снотворных средств третьего поколения [10, 17, 15, 16, 18].

Все современные снотворные препараты взаимодействуют с ω -бенздиазепиновыми рецептами α -субъединицы, поэтому данный протеин может считаться рецептором снотворного. К настоящему времени выявлена гетерогенность бенздиазепинового рецептора и определены локализация и функции его основных подтипов: $\omega 1$, $\omega 2$ и $\omega 5$. Подтип $\omega 1$ расположен преимущественно в вертикальной и субкортикальной областях и ответствен за появление собственно гипнотического действия, тогда как подтипы $\omega 2$ и $\omega 5$ локализируются главным образом в спинном мозге и периферических тканях и связаны с возникновением множества других эффектов. Таким образом, последнее поколение гипнотиков (Z-препараты: зопиклон, золпидем и залеплон) отличается наибольшей степенью селективности в отношении ω -бенздиазепинового рецептора; поскольку их биологическим «субстратом» действия являются подтипы $\omega 1$ и $\omega 2$ бенздиазепинового рецептора, которые в соответствии с современными представлениями непосредственно связаны с появлением «чистого» гипнотического эффекта [9].

Зопиклон – препарат средней продолжительности действия, ускоряет наступление сна и увеличивает его продолжительность, C_{max} – достигается за 1-3 ч, $T_{1/2}$ – около 6ч [4, 10, 16].

Золпидем – препарат короткой продолжительности действия, улучшает способность к засыпанию, увеличивает продолжительность и улучшает качество сна, $C_{\max}$ – достигает за 1,6 ч, $T_{1/2}$ – 1,4 – 4,5 ч [10, 13, 18, 19].

Залеплон – продлевает время сна, не вызывает изменений в соотношении различных фаз сна. $C_{\max}$ прямо пропорциональна дозе препарата и достигается через 1 ч, $T_{1/2}$ – около 1 ч. [11, 17].

Побочные действия препаратов: сонливость, вялость, утомляемость, головная боль, головокружение, раздражительность, спутанность сознания, подавленное настроение, депрессия, парадоксальные реакции (усиление бессонницы, ночные кошмары, возбуждение, агрессивность, приступы гнева, галлюцинации), нарушения поведения. А также развитие лекарственной зависимости и привыкания [1, 2, 8, 10, 17, 18, 19].

Не менее важным аспектом химико-токсикологических исследований является изучение и анализ метаболитов.

Зопиклон метаболизируется в печени с образованием N-оксида, обладающего незначительной фармакологической активностью и 2-х неактивных метаболитов. Интенсивно метаболизируется тремя основными путями: декарбоксилированием, окислением и деметилированием. С мочой зопиклон выводится до 80% в виде метаболитов, и менее 5% в неизменном виде [8, 10, 16].

В первичном метаболизме залеплон участвует фермент альдегид-оксидаза, за счет чего образуется 5-оксозалеплон. CYP3A4 также участвует в метаболизме залеплон с образованием дезэтил-залеплон, который в свою очередь под воздействием фермента альдегид-оксидазы превращается в 5-оксо-дезэтил-залеплон. В дальнейшем продукты окисления подвергаются конъюгации с глюкуроновой кислотой. Все метаболиты залеплон не обладают фармакологической активностью. Выделение осуществляется в форме неактивных метаболитов, главным образом с мочой (71%) и калом (17%) [11]. В отличие от запиклона залеплон в процессе биотрансформации в организме не образует активных метаболитов, это позволяет говорить о большей прогнозируемости лечения залеплон, меньшем риске развития побочных эффектов [9].

Золпидем метаболизируется в печени с образованием неактивных метаболитов и выводится с мочой (56%) и с фекалиями (37%). Следовые количества неизменного золпидема выявляются в моче и фекалиях [10, 19].

Имеются отечественные фармакопейные статьи и зарубежная нормативная документация на лекарственные формы зопиклона, золпидема и залеплон. Приведены физико-химические свойства препаратов, способность растворяться в гидрофильных, липофильных и амфи-фильных растворителях, химические и инструментальные методы идентификации и количественного определения зопиклона, золпидема и залеплон [12, 13, 14, 15, 16]. Так, зопиклон определяют методом газо-жидкостной (ГЖХ) и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для количественного определения золпидема используют титриметрический метод неводного титрования, для залеплон – УФ-спектро-фотометрический метод.

Исследование зопиклона, извлечённого из водной аммиачной среды и выделенного из органов отравленного лабораторного животного (мышь) было проведено Запольской Н.И. [4]. Кроме физико-химических методов анализа (ТСХ, УФ-спектрофотометрия, ВЭЖХ и ГЖХ) для идентификации зопиклона автор рекомендует проводить соляно-кислый и щелочной гидролиз. В первом случае образуется продукт желтого цвета, извлекаемый хлороформом, во-втором – пиридинкарбоновая кислота, которая с солями железа (II) образует соединение жёлтого цвета. На наш взгляд, проведение кислотного гидролиза экстрактов из биологических объектов может быть включено в схему химико-токсикологического анализа при разработке частной методики доказательства отравлений зопиклоном.

Авторы [19] описали методику выделения золпидема из водных растворов путём жидкостно-жидкостной (ЖЖЭ) и твёрдофазной экстракции (ТФЭ). Степень извлечения золпидема тем и другим способом оценивали с помощью метода ГХ-МС. Приведены хромато-масс-спектрометрические характеристики и параметры удерживания золпидема. Показано, что с помощью метода ТФЭ выход золпидема был значительно выше по сравнению с ЖЖЭ. Авторы рекомендуют приведённую методику использовать в химико-токсикологическом анализе, однако исследования, выполненные только на водных растворах, не всегда могут быть применимы для анализа биологических объектов.

Хомов Ю.А. и др. [7] провели исследование золпидема с помощью реакций осаждения и окрашивания, а также методом ТСХ в прямом и обращённо-фазном вариантах. При изучении реакций осаждения наиболее чувствительной оказалась реакция с реактивом Драгендорфа (1 мкг в пробе), а из реакций окрашивания наглядными и обладающими низким пределом обнаружения – реакции с реактивами Марки, Фреде и конц. серной кислотой. В методе ТСХ (в том и другом вариантах) использовали по 6 хроматографических систем с указанием величин R_f , детектировали золпидем по флюоресценции (сиреневые пятна) и с помощью реактива Драгендорфа. Авторы считают, что описанные методики могут быть включены в схемы химико-токсикологического анализа, хотя в работе биологические объекты исследованы не были.

Мусина М.Г. с соавт. [11] описали случай смертельного отравления залеплон и способы его определения в биологическом материале. Изолировали залеплон из содержимого желудка и печени подкисленным этанолом и подкисленной водой с последующей экстракцией при pH 10 смесью хлороформа и бутанола (9:1). Для идентификации применили методы ТСХ, УФ-спектрофотометрию и метод ГЖХ. Хроматографирование на пластинах Сорбфил ПТСХ-П-А-УФ проводили в 4-х системах растворителей, детектировали залеплон по флюоресценции при длине волны 365 нм (голубое свечение) и величинам R_f (в трёх системах величины R_f не

отличались между собой). Была предпринята попытка обнаружения залеplона на хроматограммах с помощью реакций окрашивания. Однако ни один из использованных реактивов не дал положительных результатов, в том числе и реактив Драгендорфа в модификации Мунье. При спектрофотометрировании в интервале 200-400 нм авторы наблюдали максимальное поглощение залеplона при 290 и 340 нм только в метаноле, в других растворителях (этаноле, в 0,1 н. растворах соляной кислоты и гидроксида натрия) максимумов не наблюдали. Однако, результаты наших предварительных экспериментов и данные других авторов показывают, что залеplон во всех названных растворителях имеет максимумы абсорбции. Описаны условия анализа залеplона, дереватизированного трифторуксусным ангидридом, методом ГЖХ и приведены параметры удерживания. Количественное определение залеplона проводили методом УФ-СФМ при 340 нм в метаноле (данные по количеству выделенного залеplона подкисленным этанолом и подкисленной водой не приведены). В результате проведённого анализа авторы рекомендуют для экстрагирования залеplона из биологического материала в качестве растворителя использовать подкисленный спирт.

Краснова Р.Р. с соавт. [8] описали случай отравления человека зопиклоном с летальным исходом. Изолирование зопиклона из крови, тканей печени, почки, стенки желудка проводили с помощью ацетонитрила при pH 9-9,5 с последующей очисткой эфиром из кислого раствора. Для идентификации зопиклона применили метод ТСХ в двух системах растворителей, детектировали зопиклон с помощью реактивов Драгендорфа, йодплатината, раствора чёрного прочного К. Приведены величины R_f и окрашивание пятен. Описаны условия анализа зопиклона методом ВЭЖХ и методом ГЖХ с масс-селективным детектором, с помощью которых подтверждали наличие зопиклона путём сравнения параметров удерживания выделенного вещества и стандартного образца зопиклона. Количественное определение проводили методом ВЭЖХ (предел определения 1-2 нг). Приведенные методики определения зопиклона в трупном материале могут быть использованы при разработке систематического метода химико-токсикологического анализа зопиклона.

Авторы [19] описали процедуру твёрдофазной экстракции из водных растворов золпидема и его продукта щелочного гидролиза с последующей количественной оценкой методом ГХ-МС. В результате было показано, что оба вещества, обладающие разными физико-химическими свойствами, эффективно экстрагируются при использовании ацетатного буферного раствора (pH 4,6). Кроме того, в работе приведены хромато-масс-спектральные характеристики производных продукта гидролиза золпидема. В заключении авторы рекомендуют описанную методику использовать в химико-токсикологическом анализе.

В работе Егоровой Е.И. [3], посвящённой исследованию золпидема в химико-токси-кологическом отношении, приведены схемы определения золпидема в трупном материале и биологических жидкостях. Изолирование из ткани печени проводили водой, подкисленной щавелевой кислотой до pH 2. После центрифугирования золпидем извлекали хлороформом из щелочной среды без предварительной экстракционной очистки. Из биологических жидкостей (крови и мочи) золпидем выделяли путём прямой экстракции метиленхлоридом (хлороформом) при pH 8-9. Выделенное вещество в том и другом случае идентифицировали с помощью реакций окрашивания (наиболее чувствительной из которых оказалась реакция с реактивом Марки), по флюоресценции в УФ-свете при 365 нм, а также с применением методов ТСХ (в нормальном и обращённо-фазном вариантах), УФ-СФМ, ВЭЖХ, ГХ, ГХ-МС. Количественное определение выполняли методом УФ-спектрофотометрии. Предварительно с использованием стандартного образца автором были изучены условия и установлены параметры качественного и количественного определения золпидема выше названными методами. Применимость разработанной методики была проверена при исследовании мочи волонтера, принявшего терапевтическую дозу золпидема. Изучена сохраняемость золпидема в моче при разных сроках и условиях хранения образцов.

Исследования Клименко Л.Ю. [6] посвящены разработке методик идентификации, количественного определения и изолирования зопиклона и его продуктов гидролиза – 2-амино-5-хлорпиридина из объектов биологического происхождения. Проведена сравнительная оценка общепринятых в химико-токсикологическом анализе методов изолирования по отношению к зопиклону. Предложен экспрессный частный метод выделения зопиклона из ткани печени с помощью хлороформа. Выход зопиклона при этом колебался от 60 до 80% в зависимости от того, применялись способы очистки или нет. Для идентификации зопиклона использованы методы УФ-СФМ, ТСХ и ВЭЖХ, разработаны методики количественного определения зопиклона и его продукта солянокислого гидролиза – 2-амино-5-хлорпиридина, пригодные для целей химико-токси-кологического анализа. Изучено поведение зопиклона и его продукта гидролиза в условиях общего ТСХ – скрининга токсических веществ основного характера, что позволяет обнаружить зопиклон при проведении ненаправленного исследования. Установлены распределение зопиклона в органах отравленных животных и сроки сохраняемости его в биологическом материале.

Обзор отечественной специальной литературы показал, что фармакологическому и клиническому изучению золпидема, зопиклона и залеplона, а также фармацевтическому анализу препаратов посвящена большая часть публикаций. Значительно меньше представлено работ по химико-токсикологическому анализу изучаемых веществ, исследованию трупной крови, тканей внутренних органов. Приведены отдельные публикации, касающиеся анализа биологических объектов при отравлениях зопиклоном, золпидемом, залеplоном, носящих, как правило, частный характер. Исследовательские работы проводились в большинстве случаев только на модельных образцах. Мало работ посвящено выделению веществ из биологических объектов и исследованию метаболитов. Некоторые методики, выполненные с использованием только растворов лекар-

ственных препаратов, рекомендуются в практику химико-токсикологических лабораторий без учета особенностей биологических объектов. Все названное делает актуальной разработку частных и общих методик изолирования, очистки, идентификации и количественного определения зопиклона, золпидема и залеплона при исследовании биологических объектов, содержащих как отдельные вещества, так и их смеси.

Литература:

1. Дадашева М.Н. Лечение инсомний препаратом залеплон // Журнал неврологии и психиатрии. 2008. Т. 108, №7. С. 82-83.
2. Дадашева М.Н. Применение препарата анданте (залеплона) при кратковременной инсомнии // Неврологический журнал. 2008. №6. С. 49-51.
3. Егорова Е.В. Исследование золпидема в химико-токсикологическом отношении: дис. ... канд. фармацевт. наук: 14.04.02. Пермь, 2011.
4. Запольская Н.И. К вопросу об идентификации имована // Теория и практика судебной медицины: тр. Петербургского научного общества судебных медиков. 2002. Вып. 6. С. 94-96.
5. Киреева А.В. Химико-токсикологическое исследование лекарственных веществ, применяемых в практике купирования абстинентного синдрома: дис. ... канд. фармацевт. наук: 15.00.02. СПб., 2008.
6. Клименко Л.Ю. Химико-токсикологические исследования зопиклона. Киев, 2007.
7. Исследования по обнаружению золпидема при химико-токсикологических анализах / Н.В. Кокшарова [и др.] // Вестн. перм. гос. фармацевт. акад. 2007. №2. С. 187-190.
8. Химико-токсикологический анализ имована в биологических объектах / Р.Р. Краснова [и др.] // Материалы VI Всерос. съезда судебных медиков «Перспективы развития и совершенствования судебно – медицинской науки и практики». 2005. С. 163-164.
9. Медицинский справочник [Электронный ресурс]. URL: http://doctorpb.ru/articles.php?article_id=1522.
10. Машковский М.Д. Лекарственные средства: в 2т. М.: Новая волна, 2000. Т. 1. С. 31-32.
11. Мусина М.Г., Килин В.В., Мингазов А.А. Смертельное отравление залеплоном // Проблемы экспертизы в медицине. 2010. №1-2. С. 45-46.
12. Нормативный документ – ЛРС-009924/08-111208 «Залеплон» (субстанция-порошок).
13. Фармакопейная статья – 42-11888-01 от 26.09.01 «Золпидема тартрат» (субстанция).
14. Фармакопейная статья предприятия – 42-0341404803 от 01.06.04 «Зопиклон таблетки 0,0075 г».
15. Нормативный документ «ZOLPIDEM TARTRATE» (anhydrous substance).
16. Нормативный документ «ZOPICLONE»(anhydrous substance).
17. Залеплон: инструкция, применение и формула [Электронный ресурс]. URL: http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_2195.htm.
18. Золпидем: инструкция, применение и формула [Электронный ресурс]. URL: http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_2195.htm.
19. Исследование экстракции золпидема из водных растворов / Е.А. Шилова [и др.] // Достижения и перспективы в области создания новых лекарственных средств: материалы науч.-практ. конф., посвящ. 70-летию ПГФА (27-28 ноября 2007 г., Пермь). Пермь, 2007. С. 236-241.

References:

1. Dadasheva M.N. Treatment of insomnia with zaleplon // Journal of Neurology and Psychiatry. 2008. Volume 108, № 7. P. 82 - 83.
2. Dadasheva M.N. Use of the drug andante (zaleplon) for short-term insomnia // Journal of Neurology. 2008. № 6. P. 49 - 51.
3. Egorova E.V. Investigation of zolpidem in the chemical – toxicological aspect. Diss. Perm, 2011.
4. Zapolskaya N.I. On the identification of imovan // Theory and practice of forensic medicine: Petersburg Scientific Society of Forensic Physicians. 2002. Vol. 6. P. 94-96.
5. Kireeva A.V. Chemical and toxicological investigation of drugs used in the practice of arresting withdrawal syndrome. Saint - Petersburg, 2008, p. 180.
6. Klimenko L.Y. Chemical and toxicological studies of zopiclone. Kiev, 2007.
7. Studies on the detection of zolpidem in the chemical - toxicological test / N.V.Koksharova [and otn.] // Bulletin of Perm State Pharmaceutical Academy. 2007. № 2. P. 187 - 190.
8. Chemical and toxicological test of imovan in biological objects / R.R. Krasnova // Proceedings of the VI All-Russian Congress of forensic physicians "Prospects for the development and improvement of forensic - medical science and practice." 2005. P. 163 - 164.
9. Medical Directory: [electronic resource]. Mode of access: http://doctorpb.ru/articles.php?article_id=1522.
10. Mashkovsky M. D. Medications: in 2 vol. M.: New Wave, 2000. V.1. P. 31-32.
11. Musina M.G., Kilin V.V., Mingazov A.A. Lethal poisoning by zaleplon // Problems of expertise in medicine. 2010. - № 1-2 - P. 45-46.
12. Normative document - LRS-009924/08-111208 "Zaleplon" (powder substance).
13. Pharmacopoeia article - 42-11888-01 from 26/09/01 "Zolpidem tartrate" (substance).
14. Pharmacopoeia article of the enterprise - 42-0341404803 from 01/06/04 "Zopiclone tablets 0.0075 g."

15. Normative document «ZOLPIDEM TARTRATE» (anhydrous substance).
16. Normative document «ZOPICLONE» (anhydrous substance).
17. Zaleplon: instruction, application and formula [electronic resource]. URL: http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_2195.htm.
18. Zolpidem: instruction, application and formula [electronic resource]. URL: http://www.rlsnet.ru/mnn_index_id_2195.htm.
19. Study of zolpidem extraction from aqueous solutions. / E.A. Shilova Zelenina // Achievements and Prospects in the field of creation new medicines: Mat. Scientific-Practical Conference Dedicated to 70th anniversary of PGFA (27 -28 November 2007, Perm): ... materials - Perm, 2007.-P. 236 - 241.