

# Изучение влияния анксиолитика ГМЛ-1 на активность изоформ цитохрома CYP2C9 и CYP1A2

Грибакина О.Г., Шевченко Р.В., Бочков П.О., Новицкий А.А., Литвин А.А.,  
Колыванов Г.Б., Жердев В.П.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Резюме.** Изучено влияние соединения ГМЛ-1 на активность изоформы цитохрома P450 CYP2C9 и CYP1A2 по маркерным препаратам лозартану и кофеину в экспериментах на крысах. Установлено, что ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг, в 10 раз превышающую максимальную эффективную анксиолитическую дозу 1 мг/кг (внутрижелудочное введение), не вызывает изменения активности исследуемых изоформ. Изучение влияния продолжительности введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг на изменение активности изофермента CYP2C9 показало, что введение ГМЛ-1 в течение 3 или 4 дней не оказывает ни ингибирующего, ни индуцирующего эффекта на изофермент CYP2C9.

**Ключевые слова:** ГМЛ-1; CYP2C9; CYP1A2; лозартан; кофеин; метаболическое отношение; межлекарственное взаимодействие

## Для цитирования:

Грибакина О.Г., Шевченко Р.В., Бочков П.О., Новицкий А.А., Литвин А.А., Колыванов Г.Б., Жердев В.П. Изучение влияния анксиолитика ГМЛ-1 на активность изоформ цитохрома CYP2C9 и CYP1A2 // *Фармакокинетика и фармакодинамика*. – 2019. – № 2. – С.36–40. DOI: 10.24411/2587-7836-2019-10045.

## Study of the effect of anxiolytic GML-1 on the activity of cytochrome CYP2C9 and CYP1A2 isoforms

Gribakina OG, Shevchenko RV, Bochkov PO, Novitskiy AA, Litvin AA,  
Kolyvanov GB, Zherdev VP

FSBI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

**Resume.** Effects of GML-1 compound on activity of isoforms CYP2C9 and CYP1A2 of cytochrome P450 using marker drugs losartane and caffeine in experiments on rats were studied. GML-1 in a dose 10 mg/kg of 10 times higher than the maximum effective anxiolytic dose 1 mg / kg (intraperitoneal administration) did not produce changes of the studied isoforms activity. Study of duration of GML-1 in a dose 10 mg/kg administration on the CYP2C9 activity changing was shown that 3 and 4 days administration of the drug did not affect neither inhibiting nor inducing effect of CYP2C9 isoform.

**Keywords:** GML-1; CYP2C9; CYP1A2; losartane; caffeine; metabolic ratio; drug-drug interaction

## For citations:

Gribakina OG, Shevchenko RV, Bochkov PO, Novitskiy AA, Litvin AA, Kolyvanov GB, Zherdev VP. Study of the effect of anxiolytic GML-1 on the activity of cytochrome CYP2C9 and CYP1A2 isoforms. *Farmakokinetika i farmakodinamika*. 2019;2:36–40. (In Russ). DOI: 10.24411/2588-0519-2019-10045.

## Введение

Цитохром P450 (CYP) является важной метаболизирующей ферментной системой в организме человека, которая отвечает за окислительный метаболизм многочисленных эндогенных веществ и ксенобиотиков [1]. Лекарства и ксенобиотики у людей в первую очередь метаболизируются изоферментами семейств CYP1, CYP2, CYP3 и CYP4 цитохрома P450 [2]. Многие лекарственные препараты могут влиять на активность изоформ цитохрома P450, являясь либо его ингибиторами, либо индукторами, что может лежать в основе межлекарственного взаимодействия [3].

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» было синтезировано новое биологически активное соединение ГМЛ-1 (лиганд транслокаторного белка (TSPO)), обладающего анксиолитической активностью [4]. Влияние новых соединений на активность изоформы цитохрома P450 необходимо оценивать уже на доклиническом этапе, поэтому целью настоящего исследования явилась оценка влияния соединения ГМЛ-1 на изменение активности изофермента CYP2C9 и CYP1A2 в дозе 10 мг/кг (в течение 4 дней, трёхкратно через каждые 3 ч). Для гарантированного выявления взаимодействия ГМЛ-1

и изоформы CYP2C9 использовали дозу 10 мг/кг, в 10 раз превышающую максимальную эффективную анксиолитическую дозу (1 мг/кг). Соединение ГМЛ-1 вводили крысам внутрижелудочно (в/ж). Изучено влияние длительности введения крысам ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг на возможный индуцирующий или ингибирующий эффекты CYP2C9 (3- и 4-дневное введение). Изучено влияние соединения ГМЛ-1 после его в/ж введения в дозе 10 мг/кг на возможный индуцирующий или ингибирующий эффекты изофермента CYP1A2.

## Материалы и методы

### *Изучение влияния соединения ГМЛ-1 на изменение активности изоформы CYP2C9 после его введения в дозе 10 мг/кг по данным экскреции с мочой*

В настоящем исследовании оценивали влияние ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг при введении препарата в течение 4 дней, трёхкратно через каждые 3 ч. Выбор дозы основывался на результатах ранее проведённых исследований анксиолитической активности и экспериментальных данных фармакокинетики ГМЛ-1 у крыс [5, 6].

Индуцирующий или ингибирующий эффект ГМЛ-1 оценивали по абсолютным величинам метаболических

отношений препарата-маркера. Под «метаболическим отношением» (МО) понимали отношение концентрации метаболита лозартана (Е-3174) и кофеина (теобромин и параксантин) к концентрации исходного соединения в суточной моче.

На данном этапе исследования определяли метаболические отношения (Е-3174/ лозартан) после введения лозартана без ГМЛ-1 (контроль; I) в сравнении с введением лозартана на фоне 4-дневного введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг (II).

Крысам вводили сначала внутривенно лозартан (контроль), затем по истечении 4 суток этим же животным вводили в/ж ГМЛ-1 в течение 4 дней, трёхкратно через каждые 3 ч (субхроническое введение). Лозартан животным вводили через 30 мин после последнего введения ГМЛ-1.

Препарат-маркер лозартан вводили в дозе 30 мг/кг. Крыс помещали в индивидуальные клетки со свободным доступом к воде. У каждой крысы собирали суточную мочу. Анализ проб мочи животных проводили с использованием ВЭЖХ. Методики экстракции и количественного определения исследуемых веществ подробно изложены в статье *Прошиной О.Г. и соавт.* [7].

Достоверность различий между величинами МО препарата-маркера после введения лозартана без ГМЛ-1 (контроль) и на фоне субхронического введения ГМЛ-1 оценивали с помощью парного t-критерия Стьюдента.

#### **Изучение влияния длительности введения крысам соединения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг на изменение активности изоформы CYP2C9 по данным экскреции с мочой**

Исследования проводили на 2 группах крыс. В каждую группу входило по 8 животных. Субхроническое 3-дневное введение ГМЛ-1 – группа I и субхроническое 4-дневное введение ГМЛ-1 – группа II. Крысам I группы сначала вводили в/ж лозартан (контроль), затем по истечении 3 суток этим же животным вводили в/ж ГМЛ-1 в течение 3 дней, трёхкратно через каждые 3 ч. Крысам II группы сначала вводили лозартан (контроль), затем по истечении 3 суток этим же животным вводили в/ж ГМЛ-1 в течение 4 дней, трёхкратно через каждые 3 ч. Лозартан животным обеих групп вводили через 30 мин после последнего введения ГМЛ-1. У каждой крысы собирали суточную мочу.

#### **Изучение влияния соединения ГМЛ-1 на изменение активности изофермента цитохрома P450 CYP1A2 по данным экскреции с мочой**

На данном этапе исследования определяли метаболические отношения (теобромин/кофеин и параксантин/кофеин) после введения кофеина без ГМЛ-1 (контроль; I) в сравнении с введением кофеина на фоне 4-дневного введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг (II).

Крысам вводили сначала в/ж кофеин (контроль), затем по истечении 4 суток этим же животным вводили в/ж ГМЛ-1 в течение 4 дней, трёхкратно через каждые 3 ч

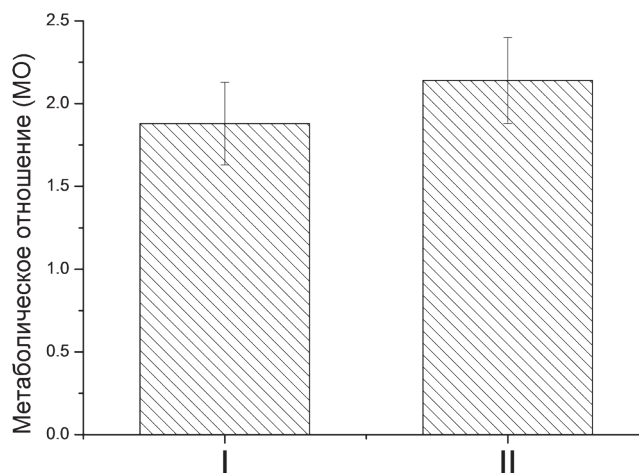
(субхроническое введение). Кофеин животным вводили одновременно с последним введением ГМЛ-1.

Препарат-маркер кофеин вводили животным в дозе 50 мг/кг. Крыс помещали в индивидуальные клетки со свободным доступом к воде. У каждой крысы собирали суточную мочу. Анализ проб мочи животных проводили с использованием ВЭЖХ. Методики экстракции и количественного определения исследуемых веществ подробно изложены в статье [8].

Достоверность различий между величинами МО препарата-маркера после введения кофеина без ГМЛ-1 (контроль) и на фоне субхронического введения ГМЛ-1 оценивали с помощью парного t-критерия Стьюдента.

### **Результаты и обсуждение**

На рис. 1 представлены метаболические отношения после введения крысам лозартана без ГМЛ-1 (контроль; I) и введения лозартана на фоне субхронического введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг (II). Так, после введения лозартана без ГМЛ-1 средняя величина МО составила  $1,88 \pm 0,25$ , а после введения лозартана на фоне субхронического введения ГМЛ-1 –  $2,14 \pm 0,26$ .



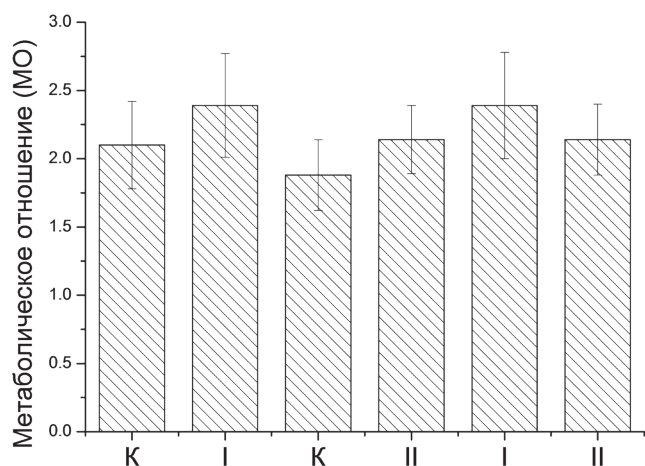
**Рис. 1.** Метаболические отношения (Е-3174/лозартан) после субхронического введения ГМЛ-1 крысам в дозе 10 мг/кг ( $n = 8$ ;  $\bar{x} \pm S_x$ )

*Примечание:* I – введение лозартана без ГМЛ-1 (контроль, I); II – введение лозартана на фоне 4-х дневного введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг (II)

При сравнении величин МО (Е-3174/лозартан) после введения лозартана без ГМЛ-1 (контрольная группа) и после введения лозартана на фоне 4-дневного введения ГМЛ-1 статистически значимые различия не выявлены ( $p < 0,05$ ).

На рис. 2 представлены средние величины МО в контрольных группах в сравнении с аналогичными параметрами, полученными после введения лозартана на фоне 3- и 4-дневного введения ГМЛ-1.

При сравнении величин МО не выявлены статистически значимые различия в контрольных группах в сравнении с введением лозартана на фоне 3- и 4-дневного введения ГМЛ-1 ( $p < 0,05$ ).



**Рис. 2.** Метаболические отношения (Е-3174/лозартан) после субхронического введения ГМЛ-1 крысам в дозе 10 мг/кг ( $n = 8$ ;  $\bar{x} \pm S_x$ )

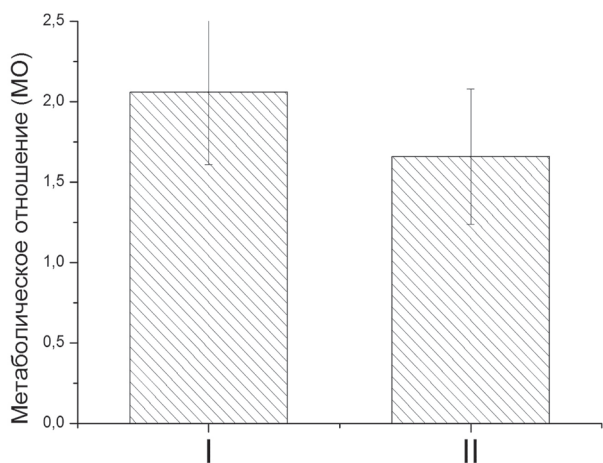
Примечание: К – введение лозартана в дозе 30 мг/кг без ГМЛ-1 (контрольные группы); I – введение лозартана в дозе 30 мг/кг на фоне 3-дневного введения ГМЛ-1 (группа I); II – введение лозартана в дозе 30 мг/кг на фоне 4-дневного введения ГМЛ-1 (группа II)

Средняя величина МО после субхронического 3-дневного введения ГМЛ-1 составила  $2,39 \pm 0,38$  и в контрольной группе –  $2,10 \pm 0,32$ . Среднее значение МО после субхронического 4-дневного введения ГМЛ-1 составило –  $2,14 \pm 0,26$  (контроль –  $1,88 \pm 0,25$ ). Таким образом, продолжительность в/ж введения ГМЛ-1 в течение 3 или 4 дней в дозе 10 мг/кг не оказывает ни ингибирующего, ни индуцирующего эффекта на изофермент CYP2C9.

Так же было установлено, что ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг не оказывал индуцирующего/ингибирующего эффекта на изофермент CYP1A2 ( $p < 0,05$ ).

На рис. 3 представлены величины МО метаболита кофеина – теобромина к неизменённому веществу после введения кофеина без ГМЛ-1 и на фоне 4-дневного в/ж введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг.

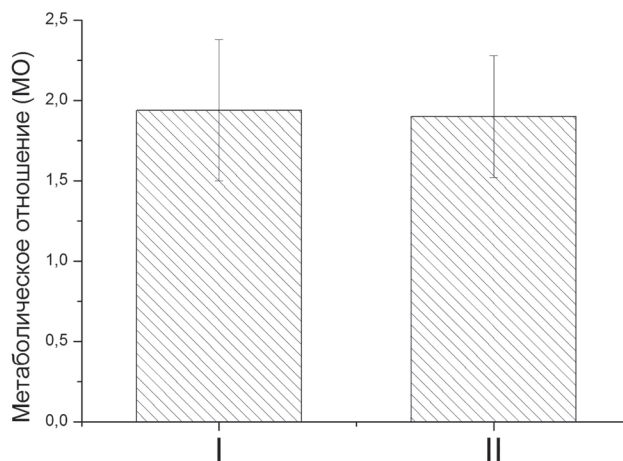
Среднее значение МО теобромона к неизменённому веществу после введения кофеина без ГМЛ-1



**Рис. 3.** МО теобромона к кофеину после введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг ( $n = 8$ ;  $\bar{x} \pm S_x$ ); I контроль; II – ГМЛ-1

составило  $2,06 \pm 0,45$ , а на фоне 4-дневного введения ГМЛ-1 –  $1,66 \pm 0,42$ .

На рис. 4 представлены величины МО метаболита кофеина – параксантина к неизменённому веществу после введения кофеина без ГМЛ-1 (I) и на фоне 4-дневного в/ж введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг (II).



**Рис. 4.** МО параксантина к кофеину после введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг

Примечания: I – контроль; II – ГМЛ-1

Статистический анализ не выявил достоверно значимых различий между величинами МО параксантина в суточной моче животных после введения кофеина без ГМЛ-1 (I) и на фоне субхронического введения ГМЛ-1 (II). Так, для крыс группы I этот параметр равнялся  $1,94 \pm 0,44$  и для крыс группы II –  $1,90 \pm 0,38$ , соответственно. То есть, введение кофеина на фоне 4-дневного в/ж введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг не вызвало изменения активности изофермента CYP1A2.

### Заключение

На крысах изучено влияние ГМЛ-1 на изменение активности изофермента цитохрома P450 CYP2C9 (маркерный субстрат – лозартан) и CYP1A2 (маркерный субстрат – кофеин). Изучение влияния дозы 10 мг/кг на изменение активности изоферментов CYP2C9 и CYP1A2 показало, что ГМЛ-1 после 4-дневного введения (3 раза в день) не вызывает изменения активности данных изоформ. Изучение влияния продолжительности введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг на изменение активности изофермента CYP2C9 показало, что введение ГМЛ-1 в течение 3 или 4 дней не оказывает ни ингибирующего, ни индуцирующего эффекта на изофермент CYP2C9.

Таким образом, после введения крысам ГМЛ-1 в дозе, в 10 раз превышающую максимальную эффективную, не было выявлено межлекарственного взаимодействия с изоформами CYP2C9 и CYP1A2. Введение ГМЛ-1 в эффективных анксиолитических дозах (0,1–1,0 мг/кг) гарантированно исключает развитие межлекарственных взаимодействий.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Грибакина Оксана Геннадьевна**

ORCID ID: 0000-0002-4604-4346

SPIN код: 6266-8161

к. б. н., н. с. лаборатории фармакокинетики  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Gribakina Oхana**

ORCID ID: 0000-0002-4604-4346

SPIN code: 6266-8161

Candidate of Biological Sciences, Research Officer  
of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov  
institute of Pharmacology», Moscow

**Шевченко Роман Владимирович**

ORCID ID: 0000-0003-4646-7733

SPIN код: 1844-6202

к. м. н., н. с. лаборатории фармакокинетики  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Shevchenko Roman**

ORCID ID: 0000-0003-4646-7733

SPIN code: 1844-6202

Candidate of Medical Sciences, Research Officer  
of laboratory pharmacokinetics FSBI «Zakusov  
institute of Pharmacology», Moscow

**Бочков Павел Олегович**

ORCID ID: 0000-0001-8555-5969

SPIN код: 5576-8174

к. б. н., с. н. с. лаборатории фармакокинетики  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Bochkov Pavel**

ORCID ID: 0000-0001-8555-5969

SPIN code: 5576-8174

Candidate of Biological Sciences, Senior Research  
Officer of laboratory pharmacokinetics FSBI  
«Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Новицкий Александр Александрович**

ORCID ID: 0000-0003-3188-6257

н. с. лаборатории фармакокинетики ФГБНУ  
«Научно-исследовательский институт  
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Novitsky Alexander**

ORCID ID: 0000-0003-3188-6257

Research Officer of laboratory pharmacokinetics  
FSBI «Zakusov institute of Pharmacology»,  
Moscow

**Литвин Александр Алексеевич**

ORCID ID: 0000-0002-2818-3457

SPIN код: 6193-5770

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Litvin Alexander**

ORCID ID: 0000-0002-2818-3457

SPIN code: 6193-5770

Doctor of Biological sciences, leading researcher  
of the laboratory of pharmacokinetics FSBI  
«Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Кольванов Геннадий Борисович**

ORCID ID: 0000-0002-2571-0047

SPIN код: 2538-8639

д. б. н., в. н. с. лаборатории фармакокинетики  
ФГБНУ «Научно-исследовательский институт  
фармакологии имени В.В. Закусова», Москва

**Kolyvanov Gennadiy**

ORCID ID: 0000-0002-2571-0047

SPIN code: 2538-8639

Doctor of Biological sciences, Leading researcher  
of the laboratory of pharmacokinetics FSBI  
«Zakusov institute of Pharmacology», Moscow

**Жердев Владимир Павлович**

*Автор, ответственный за переписку*

e-mail: zherdevpharm@mail.ru

ORCID ID: 0000-0003-2710-7134

SPIN код: 2213-9592

д. м. н., профессор, заведующий лабораторией  
фармакокинетики ФГБНУ «Научно-  
исследовательский институт фармакологии  
имени В.В. Закусова», Москва

**Zherdev Vladimir**

*Corresponding author*

e-mail: zherdevpharm@mail.ru

ORCID ID: 0000-0003-2710-7134

SPIN code: 2213-9592

MD, professor, Head of laboratory pharmaco-  
kinetics FSBI «Zakusov institute of Pharmacology»,  
Moscow

## Литература / References

1. Frye RF. Probing the world of cytochrome P-450 enzymes. *Mol Interv.* 2004;4(3):157–162. DOI: 10.1124/mi.4.3.5
2. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, et al. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther.* 1994;270(1):414–423.
3. Кукес В.Г., Грачев С.В., Сычев Д.А., Раменская Г.В. *Метаболизм лекарственных средств. Научные основы персонализированной медицины: руководство для врачей.* – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2008. 304 с. [Kukes VG, Grachev SV, Sychev DA, Ramenskaya GV. *Metabolizm lekarstvennykh sredstv. Nauchnye osnovy personalizirovannoy mediciny: rukovodstvo dlya vrachej.* Moscow: GEOTAR-Media. 2008;304 (In Russ).]
4. Яркова М.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., Середенин С.Б. Анксиолитическое действие оригинальных производных пирроло[1,2- $\alpha$ ] пиразина, лигандов TSPO, зависит от биосинтеза нейростероидов // *Хим.-фар. ж.* – 2016. – Т. 50. – № 8. – С. 3–6. [Yarkova MA, Mokrov GV, Gudasheva TA, Seredenin SB. Anksioliticheskoe dejstvie original'nykh proizvodnykh pirrolo[1,2- $\alpha$ ]pirazina, ligandov TSPO, zavisit ot biosinteza nejrosteroidov. *Khim.-farm. zh.* 2016;50(8):3–6. (In Russ).] DOI: 10.30906/0023-1134-2016-50-8-3-6
5. Ярков С.А., Мокров Г.В., Гудашева Т.А., и др. Фармакологическое изучение новых соединений – регуляторов 18 кДа транслокаторного белка // *Эксперим. и клин. фармакол.* – 2016. – Т. 79. – № 1. – С. 7–11. [Yarkov SA, Mokrov GV, Gudasheva TA, et al. Pharmacological study of new compounds acting as regulators of 18-kDa translocator protein ligands. *Exp. i klin. farmakol.* 2016;79(1):7–11 (In Russ).] DOI: 10.30906/0869-2092-2016-79-1-7-11
6. Новицкий А.А., Бочков П.О., Шевченко Р.В., и др. Фармакокинетика потенциального анксиолитика ГМЛ-1 у крыс // *Эксперим. и клин. фармакол.* – 2018. – Т. 81 – № 6. – С. 24–28. [Novitskiy AA, Bochkov PO, Shevchenko RV, et al. Farmakokinetika potencial'nogo anksiolitika GML-1 u krysv. *Exp. i klin. farmakol.* 2018;81(6):24–28 (In Russ).] DOI: 10.30906/0869-2092-2018-81-6-24-28
7. Пронина О.Г., Колыванов Г.Б., Виглинская А.О., и др. Количественное определение лозартана и его метаболита в моче крыс // *Вест. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия.* – 2012. – Т. 53. – № 3. – С. 194–197. [Pronina OG, Kolyvanov GB, Vigiinskaya AO, et al. Kolichestvennoe opredelenie lozartana i ego metabolita v moche krysv. *Vest. Mosk. Un-ta. Ser. 2. Himiya.* 2012;53(3):194–197. (In Russ).]
8. Новицкая Я.Г., Литвин А.А., Жердев В.П., и др. Количественный анализ кофеина и его метаболитов в плазме крови крыс с применением ВЭЖХ, как метод определения метаболических отношений // *Вест. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия.* – 2013. – Т. 54 – № 1. – С. 56–60. [Novitskaya YaG, Litvin AA, Zherdev VP, et al. Kolichestvennyj analiz kofeina i ego metabolitov v plazme krovi krysv s primeneniem VEZHKh, kak metod opredeleniya metabolicheskikh otnoshenij. *Vest. Mosk. Un-ta. Ser. 2. Himiya.* 2013;54(1):56–60. (In Russ).]