

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 – $2,14 \pm 0,26$.

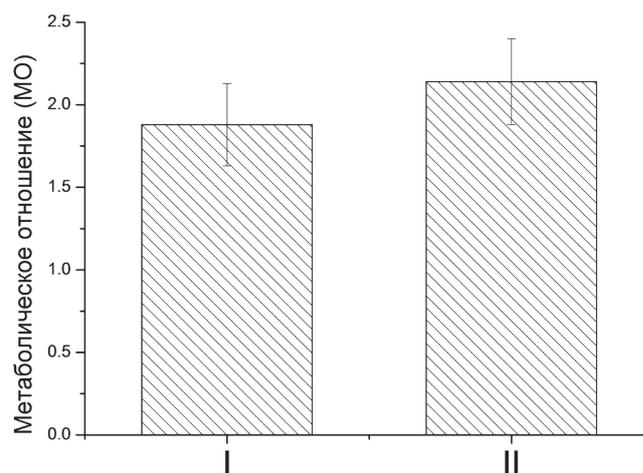


Рис. 1. Метаболические отношения (Е-3174/лозартан) после субхронического введения ГМЛ-1 крысам в дозе 10 мг/кг ($n = 8$; $\bar{x} \pm S_x$)

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 ($p < 0,05$).

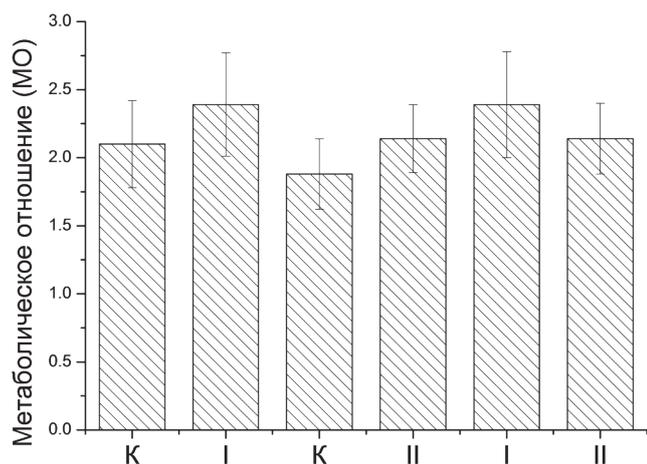


Рис. 2. Метаболические отношения (Е-3174/лозартан) после субхронического введения ГМЛ-1 крысам в дозе 10 мг/кг ($n = 8$; $\bar{x} \pm S_x$)

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

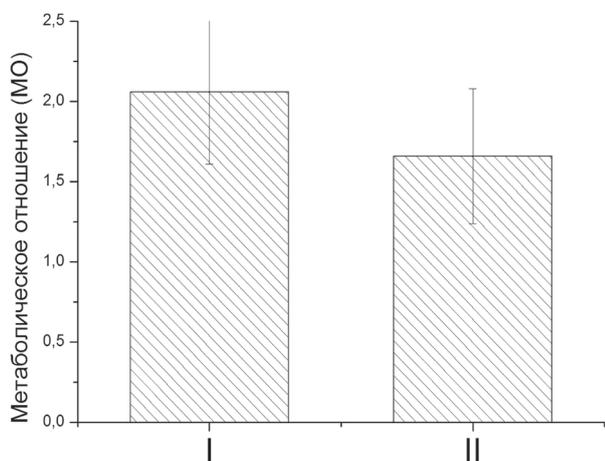


Рис. 3. МО теобромона к кофеину после введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг ($n = 8$; $\bar{x} \pm S_x$); I контроль; II – ГМЛ-1

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).

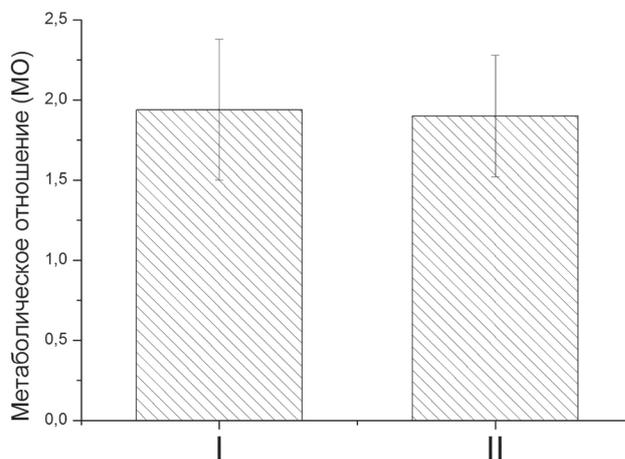


Рис. 4. МО параксантина к кофеину после введения ГМЛ-1 в дозе 10 мг/кг

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- α] 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- α]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).].