

ФАРМАКОКИНЕТИКА

ФАРМАКОКИНЕТИЧЕСКОЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АФОБАЗОЛА С ЛОЗАРТАНОМ — ПРЕПАРАТОМ-СУБСТРАТОМ ЦИТОХРОМА CYP2C9 В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

О. Г. Грибакина, Г. Б. Колыванов, А. А. Литвин, В. П. Жердев, С. Б. Середенин¹

На крысах изучено влияние афобазола на изофермент CYP2C9. Препаратом-маркером служил лозартан. Лозартан вводили однократно, внутрь без афобазола в дозе 30 мг/кг и однократно в дозе 30 мг/кг на фоне 3- и 4-дневного введения афобазола в дозах 5, 25, 75, 100 и 125 мг/кг. Установлено, что в дозе 5 мг/кг (эффективная доза по анксиолитическому эффекту) афобазол не вызывал индуцирующего/ингибирующего эффекта на изофермент CYP2C9. Многократное увеличение дозы афобазола привело к умеренному индуцирующему эффекту, максимум которого наблюдался в дозе 75 мг/кг. В дозах выше 75 мг/кг индуцирующий эффект афобазола менее выражен.

Ключевые слова: афобазол; лозартан; E-3174; CYP2C9; метаболическое отношение (МО)

ВВЕДЕНИЕ

Многие лекарственные препараты могут влиять на активность изоформ цитохрома P-450, являясь либо его ингибиторами, либо индукторами, что может лежать в основе межлекарственного взаимодействия и требует учета при сочетанной фармакотерапии [1].

В ФГБУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” РАМН создан оригинальный анксиолитик афобазол (5-этокси-2-[2-(морфолино)-этилтио] бензимидазола дигидрохлорид) [3]. Афобазол может применяться одновременно с другими средствами, метаболизируемыми системой CYPs, например, с нестероидными противовоспалительными, сердечно-сосудистыми средствами, что требует выяснения возможных межлекарственных взаимодействий. Из литературы известно, что широко применяемое другое производное бензимидазола — омепразол является умеренным конкурентным ингибитором CYP2C9 [6].

В настоящем исследовании представлены данные по влиянию афобазола на изофермент CYP2C9 с использованием маркера — лозартана [9].

Индуцирующий или ингибирующий эффект афобазола оценивали по абсолютным величинам метаболических отношений препарата-маркера. В настоящей работе под “метаболическим отношением” понимали отношение концентрации метаболита лозартана (E-3174) к концентрации исходного соединения.

Лозартан — (2-бутил-4-хлор-1-[[2'-(1H-тетразол-5-ил)-ил][1,1'-бифенил]-4-ил]-метил]-1H-имидазол-5-мета-

нол (в виде калиевой соли). Фармакологически активный метаболит лозартана — E-3174 (лозартановая кислота) — (2-бутил-4-хлор-1-[[2'-(1H-тетразол-5-ил)-[1,1'-бифенил]-4-ил]-метилимидазол-5-карбоновая кислота).

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили на белых беспородных крысах-самцах (масса тела 180 ± 20 г), полученных из питомника “Столбовая” РАМН. Животных содержали в стандартных условиях вивария НИИ фармакологии имени В. В. Закусова при 12-часовом световом режиме. За 12 ч до эксперимента животных лишали корма. Крыс содержали в индивидуальных метаболических камерах АЕ0906 (ООО “НПК Открытая наука”, Россия), обеспечивающих сбор суточной мочи и фекалий отдельно друг от друга. Для количественного определения препарата-маркера и его метаболита в моче животных была разработана методика количественного анализа на основе высокоэффективной жидкостной хроматографии с флуориметрическим детектированием [2]. Лозартан и его метаболит экстрагировали из мочи диэтиловым эфиром. Препарат-маркер вводили животным в дозе 30 мг/кг.

Эксперимент проводили в два этапа. На первом этапе оценивали влияние афобазола в анксиолитической дозе (5 мг/кг) в сравнении с многократным увеличением дозы (до 125 мг/кг) при одинаковом по длительности введении препарата в течение 4-х дней, трехкратно через каждые 3 ч. Выбор доз основывался на результатах ранее проведенных исследований анксиолитической активности и экспериментальных данных фармакокинетики афобазола у крыс [3, 4, 8] и характеристики токсичности афобазола (LD_{50} для крыс — 1,1 г/кг)

¹ Лаборатория фармакокинетики (руководитель — проф. В. П. Жердев) ФГБУ “НИИ фармакологии имени В. В. Закусова” РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8. E-mail:pron-ox@yandex.ru

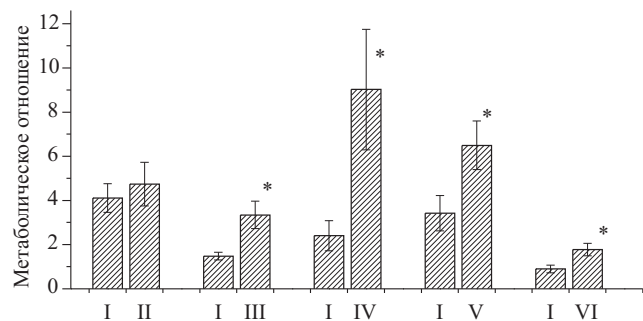


Рис. 1. Метаболические отношения (Е-3174/лозартан) после многократного введения афобазола крысам в дозах 5 – 125 мг/кг ($n = 8$; $\bar{x} \pm \sigma x$):

I — однократное введение лозартана в различных группах животных (30 мг/кг; контроль); II — однократное введение лозартана на фоне 4-дневного введения афобазола в дозе 5 мг/кг; (группа 1); III — однократное введение лозартана на фоне 4-дневного введения афобазола в дозе 25 мг/кг; (группа 2); IV — однократное введение лозартана на фоне 4-дневного введения афобазола в дозе 75 мг/кг; (группа 3); V — однократное введение лозартана на фоне 4-х дневного введения афобазола в дозе 100 мг/кг; (группа 4); VI — однократное введение лозартана на фоне 4-дневного введения афобазола в дозе 125 мг/кг; (группа 5). * — статистически значимые различия при $p = 0,05$.

[5]. На данном этапе исследования определяли метаболические отношения (Е-3174 /лозартан) после однократного введения лозартана внутрь (контроль; группа I) в сравнении с введением лозартана на фоне 4-дневного введения афобазола в различных дозах. Исследования проводили на 5 группах крыс. Афобазол в дозе 5 мг/кг — группа II, 25 мг/кг — группа III, 75 мг/кг — группа IV, 100 мг/кг — группа V, 125 мг/кг — группа VI.

На втором этапе оценивали метаболическое отношение (Е-3174/ лозартан) в зависимости от длительности введения афобазола в одной дозе — 25 мг/кг. Анализировали метаболические отношения после введения лозартана без афобазола (контроль) в сравнении с введением лозартана на фоне 3- и 4-дневного введения афобазола 3 раза в день через каждые 3 ч в дозе 25 мг/кг. Исследования проводили на двух группах крыс. Первая группа — крысы, которым вводили лозартан без афобазола в сравнении с введением лозартана на фоне 3-дневного введения афобазола. Вторая группа — крысы, которым вводили лозартан без афобазола в сравнении с введением лозартана на фоне 4-дневного введения анксиолитика.

На каждом этапе исследования в каждой группе использовали по 8 животных.

Результаты представлены в виде средней арифметической и соответствующей ей квадратической ошибки средней арифметической ($\bar{x} \pm \sigma x$). Достоверность различий оценивали с помощью t -критерия Стьюдента при $p \leq 0,05$.

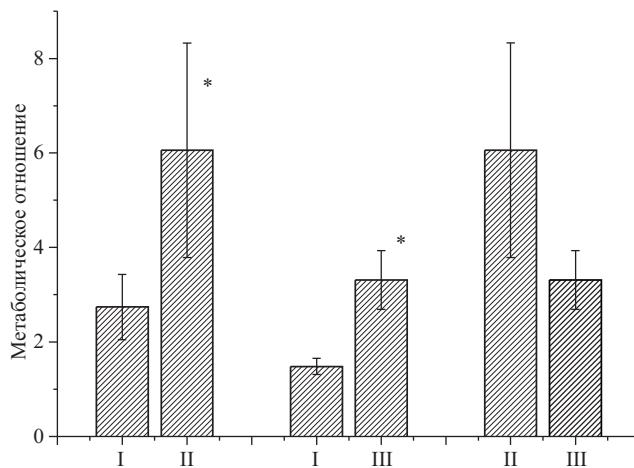


Рис. 2. Метаболические отношения (Е-3174/лозартан) после многократного введения афобазола крысам в дозе 25 мг/кг ($n = 8$; $\bar{x} \pm \sigma x$):

I — введение лозартана (30 мг/кг) (контрольная группа); II — введение лозартана (30 мг/кг) на фоне 3-дневного введения афобазола; III — введение лозартана (30 мг/кг) на фоне 4-дневного введения афобазола. * — статистически значимые различия при $p = 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В результате исследования выявлено, что афобазол в дозе 5 мг/кг не оказывал индуцирующего/ингибирующего эффекта на изофермент СУР2С9 (рис. 1).

При сравнении метаболических отношений лозартана после введения афобазола крысам в дозах, многократно превышающих эффективную (25, 75, 100 и 125 мг/кг), установлено, что афобазол оказывал умеренный индуцирующий эффект независимо от дозы (рис. 1).

На рис. 2 представлены метаболические отношения (Е-3174/лозартан) после 3- и 4-дневного введения афобазола 3 раза в день в дозе 25 мг/кг, пятикратно превышающей эффективную. При сравнении метаболических отношений выявлены статистически значимые различия после введения лозартана без афобазола (контрольная группа) в сравнении с введением лозартана на фоне 3- и 4-дневного введения афобазола.

Метаболическое отношение на фоне 3-дневного введения афобазола превышает аналогичный параметр лозартана без введения афобазола (контроль) в 2,7 раза. После 4-дневного введения анксиолитика данный параметр в сравнении с контрольной группой увеличился в 2,2 раза. При этом статистически достоверные различия не были выявлены. Таким образом, длительность введения афобазола не влияет на проявление индуцирующего эффекта препарата в дозе 25 мг/кг.

На фоне 4-дневного введения афобазола в дозе 75 мг/кг метаболическое отношение препарата-маркера увеличилось в 3,6 раза. Увеличение дозы анксиолитика до 100 и 125 мг/кг вело к снижению индукции.

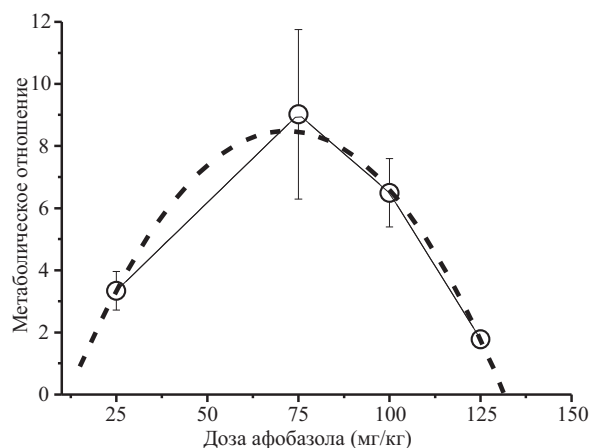


Рис. 3. Куполообразная кривая зависимости метаболического отношения (E-3174/лосартан) в зависимости от дозы афобазола ($n = 8$; $\bar{x} \pm \sigma x$).

Зависимость метаболического отношения препарата-маркера от дозы афобазола представлена на рис. 3. Из рис. 3 видно, что данную зависимость можно описать уравнением полинома следующего вида: $y = -3,660 + 0,339x - 0,002x^2$ ($r^2 = 0,9981$). Данная функция имеет максимум, которому соответствует доза 75 мг/кг. При последующем увеличении дозы афобазола индуцирующий эффект ослабевает, что отражается на нисходящей части кривой.

Снижение индуцирующего эффекта может быть объяснено насыщением активных центров изофермента молекулами афобазола. При увеличении дозы афобазола (выше 125 мг/кг) возможно дальнейшее снижение индуцирующего действия.

Из литературы известно, что к изоформам цитохромов, метаболизирующих производные бензимидазола, относят CYP3A4, CYP2D6, CYP2C9, CYP2C19, CYP1A1, CYP1A2, CYP2E1, CYP2C8, CYP2B1. При этом ведущая роль в метаболизме бензимидазолов принадлежит следующим изоформам: CYP3A4, CYP2C19, CYP2D6, CYP2C9. Различные производные

бензимидазола могут выступать в роли как индукторов, так и ингибиторов перечисленных изоформ [7]. В то же время в наших исследованиях показано, что афобазол в анксиолитической дозе (5 мг/кг, эквивалентна терапевтической дозе для человека) у крыс не вызывает ни ингибирующего, ни индуцирующего эффекта на CYP2C9.

ВЫВОДЫ

1. После субхронического введения внутрь крысам афобазола в дозе 5 мг/кг индуцирующий/ингибирующий эффект на CYP2C9 не выявлен.
2. При многократном увеличении эффективной дозы (в 5 – 25 раз) установлен умеренный индуцирующий эффект афобазола на CYP2C9.
3. Длительное введение афобазола в дозе 25 мг/кг не влияет на выраженность индуцирующего эффекта.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. Г. Кукес, С. В. Грачев, Д. А. Сычев, Г. В. Раменская, *Метаболизм лекарственных средств. Научные основы персонализированной медицины: руководство для врачей*, ГЭОТАР-Медиа, Москва (2008).
2. О. Г. Пронина, Г. Б. Колыванов, А. О. Виглинская и др., *Вест. моск. ун-та. Сер. 2. Химия*, **53**(3), 194 – 197 (2012).
3. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, Г. Г. Незнамов и др., *Вестн. РАМН*, № 11, 3 – 9 (1998).
4. С. Б. Середенин, А. О. Виглинская, Г. Б. Колыванов и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **70**(2), 59 – 64 (2007).
5. И. К. Соловьева, *Российский медицинский журнал*, **14**(5), 385 – 388 (2006).
6. J. W. Ko, N. Sukova, D. Thacker, et al., *Drug Metab. Dispos.*, **25**, 853 – 862 (1997).
7. R. H. Levy, K. E. Thummel, W. F. Tragger, *Metabolic drug interactions*, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2000).
8. S. B. Seredenin, *Psychopharmacol., Biol. Narcol.*, № 1 – 2 (3), 494 – 509 (2003).
9. B. Testa, S. D. Kramer, *The Biochemistry of drug metabolism: Principles, Redox Reactions, Hydrolyses*, WILEY-VCH, Weinheim (2008).

Поступила 04.12.12

IN VIVO STUDY OF THE PHARMACOKINETIC INTERACTION OF AFOBAZOLE AND LOSARTAN (CYTOCHROME CYP2C9 SUBSTRATE)

O. G. Gribakina, G. B. Kolyvanov, A. A. Litvin, V. P. Zherdev, and S. B. Seredenin

Laboratory of Pharmacokinetics, Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315, Russia

The influence of afobazole on isoenzyme CYP2C9 production in rats was studied using losartan as the marker drug. Single dose of losartan was administered orally without afobazole in a dose of 30 mg/kg and in the same single (30 mg/) on the background of 3- and 4-day administration of afobazole in a dose of 5, 25, 75, 100, and 125 mg/kg. At 5 mg/kg (effective dose for anxiolytic effect), afobazole did not cause any induction/inhibition effect on CYP2C9 isoenzyme. A multiple increase in afobazole dose was manifested by a moderate induction effect. The maximum induction effect of afobazole was achieved in a dose of 75 mg/kg. At doses above 75 mg/kg, the induction effect of afobazole was less pronounced.

Keywords: afobazole; losartan; E-3174; CYP2C9; metabolic ratio