

## РАЗНЫЕ АСПЕКТЫ

### ПОЛОВЫЕ РАЗЛИЧИЯ АНТИНОЦИЦЕПТИВНОГО ЭФФЕКТА НЕКОТОРЫХ НЕНАРКОТИЧЕСКИХ АНАЛЬГЕТИКОВ У КРЫС: РОЛЬ БИОТРАНСФОРМАЦИИ

Н. И. Волощук<sup>1</sup>, А. А. Пентюк<sup>1</sup>, А. Д. Дурнев<sup>2</sup>

У самок половозрелых крыс по сравнению с самцами регистрируется более выраженный и продолжительный анальгетический эффект диклофенака натрия, индометацина, напроксена, нимесулида, кеторолака и целебрекса (субстратов Р-4502С), что может быть связано с более медленной их элиминацией. В печени самок по сравнению с самцами выявлено более низкое содержание цитохрома Р-450, а также меньшая амидопирин-N-, индометацин-О- и напроксен-О-деметилазная активность. У мелоксикама и эторикоксиба (преимущественных субстратов СYP3A), а также у бензофуурокаина, амизона и ацетилсалициловой кислоты, половые различия фармакодинамики отсутствуют.

**Ключевые слова:** половой диморфизм, ненаркотические анальгетики, цитохром Р-450

#### ВВЕДЕНИЕ

В клинической практике наблюдаются половые различия в фармакологическом ответе на многие лекарственные вещества. Так, женщины имеют больший риск осложнений при лечении дигоксином, β-адреноблокаторами, блокаторами кальциевых каналов, некоторыми антиаритмическими и антигистаминными препаратами. Они также более чувствительны к действию опиоидных анальгетиков [9, 12].

Половой диморфизм фармакодинамики лекарств во многих случаях связан с пол-специфической экспрессией метаболизирующих ферментов [15]. Так, экспрессия ферментов подсемейства СYP2С у людей носит четко выраженный половой диморфизм. Эти ферменты, как правило, окисляют нестероидные противовоспалительные средства (НПВС) с образованием фармакологически неактивных метаболитов [16]. Однако влияние пола на их эффекты исследовано лишь в отношении немногих препаратов (индометацин, пироксикам, диклофенак, ибупрофен) и касается преимущественно их гастротоксичности. При этом данные литературы часто противоречивы [1, 3].

Целью исследования было определить наличие половых различий анальгезирующего действия ряда НПВС и некоторых других препаратов, имеющих в спектре своей активности такой эффект. Для выяснения механизмов половых различий проведены эксперименты по изучению особенностей фармакокинетики

препаратов у животных разного пола, а также исследованию пол-специфических различий активности некоторых изоформ цитохрома Р-450.

#### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на 484 половозрелых белых беспородных самцах и самках крыс. В опыт самок брали в фазе проэструса, которую определяли по вагинальным мазкам. Обезболивающее действие определяли на модели электрического раздражения слизистой оболочки прямой кишки. Препараты вводили однократно в желудок в дозах: диклофенак натрия — 10 мг/кг, индометацин — 7 мг/кг, напроксен — 100 мг/кг, нимесулид — 15 мг/кг, мелоксикам — 10 мг/кг, целекоксиб — 30 мг/кг, эторикоксиб — 30 мг/кг, амизон — 50 мг/кг, ацетилсалициловая кислота — 100 мг/кг соответственно, а также внутривентриально в дозах: кеторолак — 10 мг/кг, бензофуурокаин — 10 мг/кг. Это соответствовало средним терапевтическим дозам, приведенным в литературе или определенным эмпирически.

Концентрацию препаратов в плазме крови крыс исследовали через разные сроки после введения. Количественное определение диклофенака натрия, индометацина и нимесулида проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (хроматограф HP-1100 “Leonardo”) на колонке, заполненной твердой фазой Hypersil BDS C18. Параметры фармакокинетики рассчитывали при помощи двухчастевой модели [5]. Бензофуурокаин определяли флуориметрическим методом [4]. В микросомальной фракции печени определяли: амидопирин-N-, индометацин-О- и напроксен-О-деметилазную активность по образованию фор-

<sup>1</sup> Кафедра общей и биологической химии (зав. — проф. А. А. Пентюк) Винницкого национального медицинского университета им. Н. И. Пирогова, Украина, Винница, 21018, ул. Пирогова, 56.

<sup>2</sup> ГУ НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, Москва, ул. Балтийская, 8.

мальдегида [2]. Статистическую обработку данных проводили стандартными методами биометрии.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Данные, приведенные в табл. 1, свидетельствуют, что самки более чувствительны, чем самцы к действию диклофенака натрия, индометацина, напроксена, нимесулида, целекоксиба и кеторолака, причем различия между ними становились более заметными с увеличением срока исследования. Однако не выявлено существенных половых различий в отношении эффекта мелоксикама, эторикоксиба, бензофурокаина, амизона, ацетилсалициловой кислоты.

Отмеченные половые различия в величине анальгезирующего действия части препаратов могут быть

следствием различных причин. В частности, имеются данные о пол-специфическом характере экспрессии циклооксигеназы-2 [6], а также NMDA-рецепторов [13], которые имеют отношение к антиноцицептивному действию НПВС [7]. Известно, что мужчины и женщины значительно различаются по содержанию опиоидных рецепторов [11].

Еще одной причиной половых различий в фармакодинамике исследованных препаратов может быть неодинаковая скорость их элиминации из организма самок и самцов. Для ответа на этот вопрос изучили отдельно у самцов и самок фармакокинетику препаратов, для которых обнаруживаются половые различия на уровне фармакодинамики (диклофенак

Таблица 1. Изменение порога болевой чувствительности (мВ) у самцов и самок крыс под влиянием некоторых анальгезирующих средств при электрическом раздражении прямой кишки (% от исходного уровня),  $M \pm m$ ,  $n = 20$

Крысы	Время после введения препарата, ч			
	1	2	4	6
	<i>Диклофенак натрия (10 мг/кг)</i>			
Самцы	16,8 ± 4,29	29,2 ± 3,08	18,4 ± 2,42	7,44 ± 2,51
Самки	26,1 ± 2,99	38,9 ± 2,97*	36,8 ± 4,24*	21,0 ± 3,97*
	<i>Индометацин (7 мг/кг)</i>			
Самцы	14,6 ± 4,87	24,1 ± 3,88	10,11 ± 2,1	6,01 ± 2,48
Самки	26,1 ± 3,25	48,9 ± 4,81*	33,8 ± 4,33*	22,0 ± 4,28*
	<i>Напроксен (100 мг/кг)</i>			
Самцы	20,4 ± 2,49	32,7 ± 3,43	25,78 ± 3,01	19,24 ± 2,67
Самки	27,4 ± 3,80	42,1 ± 2,87*	34,7 ± 2,6*	29,5 ± 2,52*
	<i>Нимесулид (15 мг/кг)</i>			
Самцы	23,15 ± 2,9	23,15 ± 4,34	7,65 ± 2,24	2,92 ± 1,97
Самки	29,6 ± 4,86	43,1 ± 7,02*	23,3 ± 4,97*	10,2 ± 2,91*
	<i>Кеторолак (10 мг/кг)</i>			
Самцы	21,56 ± 3,15	27,2 ± 2,87	28,8 ± 2,94	9,1 ± 1,77
Самки	35,5 ± 4,62*	42,1 ± 4,41*	43,7 ± 5,05*	20,5 ± 3,49*
	<i>Мелоксикам (10 мг/кг)</i>			
Самцы	12,46 ± 3,41	17,31 ± 2,9	24,46 ± 3,61	24,13 ± 3,92
Самки	12,91 ± 3,93	23,67 ± 3,78	24,20 ± 4,51	24,41 ± 5,25
	<i>Целекоксиб (20 мг/кг)</i>			
Самцы	17,7 ± 2,61	29,4 ± 1,75	19,4 ± 5,73	10,2 ± 3,45
Самки	18,8 ± 2,92	44,8 ± 5,03*	33,9 ± 2,66*	23,9 ± 2,81*
	<i>Эторикоксиб (30 мг/кг)</i>			
Самцы	5,31 ± 2,76	20,2 ± 4,66	27,4 ± 7,87	15,8 ± 4,63
Самки	12,0 ± 3,77	24,9 ± 4,59	29,1 ± 5,1	18,6 ± 5,09
	<i>Бензофурокаин (10 мг/кг)</i>			
Самцы	13,6 ± 1,95	18,9 ± 2,30	17,5 ± 1,57	13,1 ± 2,92
Самки	12,7 ± 2,29	24,3 ± 2,18	23,7 ± 1,77	15,7 ± 2,26
	<i>Амизон (50 мг/кг)</i>			
Самцы	17,7 ± 4,61	21,2 ± 4,05	13,5 ± 3,51	5,1 ± 2,45
Самки	21,7 ± 3,8	19,7 ± 3,28	14,8 ± 4,38	6,0 ± 2,16
	<i>Кислота ацетилсалициловая (100 мг/кг)</i>			
Самцы	13,9 ± 2,79	23,6 ± 3,02	34,4 ± 5,4	13,6 ± 4,66
Самки	10,1 ± 2,55	21,2 ± 3,12	27,0 ± 3,46	12,1 ± 2,19

**Примечание.** Здесь и в табл. 2 и 3: \* — различия статистически достоверны между самцами и самками ( $p < 0,05$ ).

натрия, индометацин, нимесулид) и препарата, для которого таких различий не было (бензофуурокаин).

Выявлены достоверные различия между самцами и самками в динамике концентрации диклофенака натрия, индометацина и нимесулида, которые были более заметными в поздние сроки исследования. Так, через 4, 6 и 8 ч после введения диклофенака его концентрация в крови самок составляла  $2,14 \pm 0,11$ ;  $1,57 \pm 1,1$ ; и  $1,14 \pm 0,1$  мкг/мл, а у самцов —  $1,73 \pm 0,05$ ;  $1,1 \pm 0,11$  и  $0,7 \pm 0,06$  мкг/мл соответственно. Концентрация индометацина в крови самок крыс на 8-й и 12-й час исследования превышала аналогичные показатели самцов в 1,5 и 1,8 раз, а концентрация нимесулида в крови самок на 2-й и 4-й час в 1,2 и 1,4 раза превышала таковую у самцов. В то же время не выявлено достоверных различий между самцами и самками в динамике концентрации бензофуурокаина (уровень препарата в крови самок превышал таковой у самцов на уровне тенденции).

Расчет основных параметров фармакокинетики диклофенака натрия, индометацина и нимесулида (табл. 2) подтвердил наличие достоверных половых различий в скорости их метаболической элиминации. Так, период полувыведения исследуемых препаратов у самок крыс был соответственно в 1,39; 1,35 и 1,5 раза большим, а клиренс — в 1,3; 1,3 и 1,8 раза меньшим, чем у животных противоположного пола. Площадь под фармакокинетической кривой у самок превышала аналогичный показатель самцов в 1,4; 1,2; 1,7 раза соответственно. Среднее время нахождения препаратов в плазме (MRT) у самок крыс превышало показатели самцов в 1,45; 1,58; 1,56 раза соответственно. Для бензофуурокаина выявлены незначительные половые различия параметров фармакокинетики, и лишь время нахождения препарата в плазме крови у самок в 1,22 раза превышало таковое у самцов.

Таким образом, найден определенный параллелизм между более медленной элиминацией диклофенака

натрия, индометацина и нимесулида и более выраженным анальгетическим эффектом этих препаратов у самок по сравнению с самцами. С другой стороны, слабые половые различия в элиминации бензофуурокаина коррелируют с отсутствием статистически значимых различий в фармакодинамике.

Доказательство важной роли пол-специфических различий в элиминации исследованных препаратов дали исследования зависимой от цитохрома P-450 монооксигеназной активности печени крыс. Установлено (табл. 3), что у самцов количество цитохрома P-450 в микросомах печени в 1,47 раза превышает таковое у самок. Амидопирин-N-деметилязная (маркер CYP2C, 3A), индометацин-O- и напроксен-O-деметилязная (маркеры CYP2C) активность у самцов превышала таковые у самок в 2,65; 1,9; 1,88 раза соответственно.

Данные литературы свидетельствуют о ведущей роли ферментов подсемейства CYP2C в метаболизме диклофенака, индометацина, напроксена, нимесулида, целекоксиба [8, 17], однако метаболизм эторикоксиба и мелоксикама катализируется в значительной степени ферментами подсемейства CYP3A, [10, 14], для которых в меньшей степени характерен половой диморфизм. Можно предположить, что и бензофуурокаин, кислота ацетилсалициловая и амизон метаболизируются ферментами, для которых нет половых различий.

Таким образом, половые различия в фармакодинамике и фармакокинетики найдены не для всех исследованных препаратов. Более сильный и длительный обезболивающий эффект у самок крыс вызывают типичные представители НПВС — производные индолуксусной (индометацин), арилуксусной (диклофенак, нимесулид), арилпропионовой (напроксен) и гетероарилуксусной (кеторолак) кислот, которые являются субстратами CYP2C. Среди коксибов половой диморфизм четко выражен у целекоксиба, который также является субстратом CYP2C. Для эторикоксиба, отличающегося по химической структуре лишь наличием

Таблица 2. Параметры фармакокинетики индометацина, диклофенака натрия и нимесулида и бензофуурокаина у крыс обоего пола ( $M \pm m$ ),  $n = 56$

Крысы	Период полувыведения ( $t_{1/2\beta}$ ), мин	Клиренс (Cl), мл/мин	Площадь под фармакокинетической кривой (AUC), мкг · мин/мл	Среднее время нахождения в крови (MRT), мин
<i>Индометацин (7 мг/кг)</i>				
Самцы	250 ± 14	0,69 ± 0,02	10133 ± 335	206 ± 37
Самки	338 ± 12,4*	0,53 ± 0,05*	12414 ± 927*	326 ± 8*
<i>Диклофенак натрия (10 мг/кг)</i>				
Самцы	181 ± 11	8,07 ± 0,56	1078 ± 47	234 ± 18
Самки	252 ± 28*	6,10 ± 0,51*	1492 ± 128	340 ± 30*
<i>Нимесулид (15 мг/кг)</i>				
Самцы	247 ± 15,0	0,265 ± 0,037	12100 ± 1452	353 ± 23
Самки	385 ± 14,6*	0,148 ± 0,007*	20489 ± 1063*	551 ± 21*
<i>Бензофуурокаин (10 мг/кг)</i>				
Самцы	201 ± 12,4	5,40 ± 0,43	10033 ± 1002	234 ± 18
Самки	250 ± 19,6	4,38 ± 0,32	11846 ± 792	340 ± 30*

Таблица 3. Содержание цитохрома P-450 и монооксигеназная активность в микросомальной фракции печени самцов и самок крыс ( $M \pm m$ )

Маркерная активность, нмоль/мин/мг белка	Все животные, $n = 20$	Самцы, $n = 10$	Самки, $n = 10$
Цитохром P-450	$0,82 \pm 0,058$	$0,97 \pm 0,077$	$0,66 \pm 0,058^*$
Амидопирин-N-деметилаза	$6,14 \pm 0,67$	$8,91 \pm 0,41$	$3,36 \pm 0,18^*$
Индометацин-O-деметилаза	$0,77 \pm 0,06$	$1,01 \pm 0,06$	$0,53 \pm 0,02^*$
Напроксен-O-деметилаза	$1,21 \pm 0,16$	$1,58 \pm 0,12$	$0,84 \pm 0,06^*$

атома хлора, метаболизирующегося, главным образом, ферментами CYP3A, половых различий не было, как их не было в отношении мелоксикама, метаболизм которого осуществляется при участии CYP3A. Кислота ацетилсалициловая, метаболизм которой осуществляется преимущественно без участия цитохрома P-450, также не проявила разницы в анальгетическом действии у крыс обоего пола. Это же касается и препаратов принципиально иной химической структуры и механизма действия — бензофуорокаина и амизона.

## ВЫВОДЫ

1. Выявлены половые различия в анальгезирующем эффекте диклофенака натрия, индометацина, напроксена, нимесулида, кеторолака, цефекоксиба и отсутствие таковых для бензофуорокаина, мелоксикама, эторикоксиба, амизона и кислоты ацетилсалициловой.

2. Элиминация индометацина, напроксена, нимесулида из крови самцов происходит быстрее, чем из крови самок. Отсутствуют достоверные различия между самцами и самками в фармакокинетике бензофуорокаина.

3. Доказательством важной роли метаболической элиминации в половых различиях фармакодинамики исследуемых препаратов является половой диморфизм в содержании цитохрома P-450 в печени и маркерной активности ферментов подсемейства CYP2C. В печени самцов регистрируется более высокий уровень цитохрома P-450 и более высокая амидопирин-N-деметилазная, индометацин-O- и напроксен-O-деметилазная активность.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. Т. Ивашкин, А. А. Шептулин, М. Л. Макарянц, *Клин. мед.*, № 3, 4 – 7 (2001).
2. И. И. Карузина, А. И. Арчаков, *Современные методы в биохимии*, Медицина, Москва (1977), сс. 49 – 62.
3. Е. Л. Насонов, *Новые медицинские технологии*, № 1, 38 – 43 (2002).
4. А. А. Пентюк, Р. А. Мусин, Т. Л. Полеся и др., *Хим.-фарм. журн.*, **27**(7), 15 – 17 (1993).
5. Л. Е. Холодов, В. П. Яковлев, *Клиническая фармакокинетика*, Медицина, Москва (1985).
6. L. R. Ballou, R. M. Botting, S. Goorha, et al., *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, **97**(18), 10272 – 76, (2000).
7. R. Bjorkman, *Acta Anaesthesiol. Scand. Suppl.*, **103**, 1 – 44 (1995).
8. D. J. Carlile, N. Hakooz, M. K. Bayliss, and J. B. Houston, *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **47**(6), 625 – 35 (1999).
9. M. S. Cepeda, J. T. Farrar, M. Baumgarten, et al., *Clin. Pharmacol. Ther.*, **74**(2), 102 – 12 (2003).
10. C. Chesne, C. Guyomard, A. Guillouzo, et al., *Xenobiotica*, **28**(1) 1 – 13 (1998).
11. W. M. Davis and B. S. Pharm, *Drug topics*, 91 – 100 (1998).
12. A. Holdcroft, *Acta Anaesthesiol Belg.*, **53**(4), 299 – 303, (2002).
13. C. Hsu, Y. L. Hsieh, S. I. Lue, and H. K. Hsu, *Neurosci Lett*, **262**(2), 85 – 88 (1999).
14. K. Kassahun, I. S. McIntosh, M. Shou, et al., *Drug. Metab. Dispos.*, **29**(6), 813 – 20. (2001).
15. A. Mode, R. Ahlgren, and O. Lahuna, *Growth Horm IGF Res.*, Suppl B., 61 – 7 (1998).
16. M. L. Orme, *Agents Actions Suppl.*, No. 17, 151 – 155 (1985).
17. M. Sandberg, U. Yasar, P. Stromberg, et al., *Br. J. Clin Pharmacol.*, **54**(4), 423 – 429 (2002).

Поступила 12.03.04

## SEX-RELATED DIFFERENCES IN THE ANTINOCICEPTIVE EFFECT OF SOME NON-NARCOTIC ANALGETICS IN RATS: THE ROLE OF BIOTRANSFORMATION

N. I. Voloshchuk<sup>1</sup>, A. A. Pentyuk<sup>1</sup>, and A. D. Durnev<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Vinnitsa National Medical University, ul Pirogova 56, 21018 Vinnitsa, Ukraine;

<sup>2</sup> Zakusov Institute of Pharmacology, Russian Academy of Medical Sciences, Baltiiskaya ul. 8, Moscow, 125315 Russia

Non-narcotic analgetics sodium diclofenac, indomethacin, naproxen, nimesulid, ketorolac, and celebrex (cytochrome P-450<sup>2c</sup> substrates) produce more pronounced and prolonged analgesic effect in pubertate female rats than in males. This can be related to the slower elimination of drugs from the female organism. The liver of females is characterized by a lower content of cytochrome P-450 and by less pronounced activity of amidopyrine-N-, indomethacin-O-, and naproxen-O-demethylase activity. No sex-related differences in pharmacodynamics were observed for meloxicam, and ethoricoxib, benzofurocaine, and amison, and acetylsalicylic acid, which are the substrates predominantly for CYP3A.