

ВЛИЯНИЯ МЕКСИДОЛА НА СООТНОШЕНИЕ 6β-ГИДРОКСИКОРТИЗОЛ/СВОБОДНЫЙ КОРТИЗОЛ. ВОЗМОЖНАЯ ИНДУКЦИЯ CYP3A4

П. А. Баранов^{1, 2}, С. А. Апполонова¹, Г. М. Родченков¹, А. К. Сариев², В. П. Жердев²

Изучено влияние мексидола (2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат) после однократного приема внутрь на соотношение 6β-гидрооксикортизол (6β-ОНК)/свободный кортизол (К) в суточной моче человека. Выявлено, что в течение первых 24 ч под воздействием препарата соотношение 6β-ОНК/К возрастает в среднем в $2,96 \pm 0,76$ раза по сравнению с естественным уровнем. Анализ данных на второй и третий дни после приема препарата не выявил достоверного изменения соотношения 6β-ОНК/К.

Ключевые слова: CYP3A4, мексидол, 6β-гидрооксикортизол, кортизол

ВВЕДЕНИЕ

Мексидол (2-этил-6-метил-3-оксипиридина сукцинат) разработан в НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН. В настоящее время широко используется в медицинской практике [1, 2, 4]. Изучение экскреции 2-этил-6-метил-3-оксипиридина у человека показало, что соединение выводится с мочой преимущественно в виде конъюгированных продуктов превращения, тогда как у животных помимо конъюгатов выявлен фармакологически активный деметилированный метаболит I фазы — 2,6-диметил-3-оксипиридин [3]. Согласно литературным данным, в процессе деметилирования принимает участие CYP3A4 в системе цитохрома P-450 [8]. Продуктов I фазы биотрансформации у человека найдено не было. По нашему предположению отсутствие продуктов метаболизма I фазы не является свидетельством отсутствия влияния препарата на данные метаболические пути.

Целью работы было проведение пилотного скринингового исследования потенциального влияния мексидола на I фазу метаболизма, а именно на изоформу CYP3A4 цитохрома P-450.

Оценку активности CYP3A4 проводили на основании ВЭЖХ — МС анализа изменения уровня 6β-гидрооксикортизола (6β-ОНК) по отношению к свободному кортизолу (К) в суточной моче человека до и после приема мексидола.

Синтез 6β-ОНК у человека проходит при участии микросомальной системы цитохрома печени — CYP3A4 из эндогенного К (рисунок) [5]. В дальнейшем 6β-ОНК и К в свободном (не конъюгированном) виде выводятся с мочой [9]. Изменение соотношения 6β-ОНК/К позволяет судить об активности микросомальной системы печени CYP3A4 [6].

Таким образом, измерение концентраций эндогенных метаболитов 6β-ОНК и К, образуемых в основном под действием CYP3A4, является перспективным методом

ферментативной оценки активности CYP3A4 по сравнению с “классическими” тестами — эритромициновым дыхательным или MEGX, поскольку не только не требует введения сторонних лекарственных препаратов и маркерных субстратов, но и значительно упрощает сбор биологических образцов для последующих анализов [7].

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

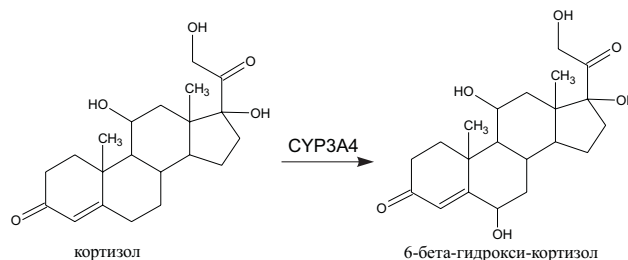
Исследование проводили на 6 здоровых добровольцах (трое женщин и трое мужчин) в возрасте $24,2 \pm 0,5$ лет и массой тела $68,65 \pm 2,42$ кг.

Добровольцы заранее были информированы о том, что за неделю до проведения исследования, а также во время исследования они должны соблюдать стандартный режим: не подвергаться физической и психической нагрузке, не употреблять алкоголь, не принимать другие лекарственные препараты и биологически активные добавки. В обязанности добровольцев входило сообщение о любых изменениях режима и самочувствия, как во время, так и после проведения исследования.

У добровольцев проводили сбор суточной мочи в течение 6 дней: 3 дня до приема мексидола и 3 дня после приема препарата однократно внутрь в дозе 750 мг.

Дополнительно в рамках исследования у добровольцев проводили измерения суточного уровня креатинина в биологических образцах с целью адекватной оценки фильтрационно-реабсорбционной функции почек.

Пробу мочи (5 мл) подщелачивали твердым буфером (смесь гидрокарбоната натрия с карбонатом калия 2:1) до pH 9,0, добавляли 5 мкл 100 нг/мл раствора внутреннего стандарта (флюоксиместерон), 2 г сульфата натрия, затем экстрагировали 5 мл смеси толуол — диэтиловый эфир



Биотрансформации кортизола в микросомальной системе печени человека при участии CYP3A4.

¹ Лаборатория конного допинга и новых методов анализа (зав. — С. А. Апполонова) ФГУП “Антидопинговый центр”, 105005, Москва, Елизаветинский переулок, 10.

² Лаборатория фармакокинетики (зав. — проф. В. П. Жердев) НИИ фармакологии им. В. В. Закусова РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, 8.

Соотношение 6 β -гидрокортизол / свободный кортизол у добровольцев до и после приема мексидола внутрь

Доброволец	До приема мексидола (естественный уровень)	После приема мексидола		
		1-й день	2-й день	3-й день
№ 1	6,72 – 10,74	17,07	9,99	13,66
№ 2	6,32 – 12,06	34,01	16,04	11,89
№ 3	4,16 – 5,74	16,63	6,88	18,22
№ 4	6,29 – 9,45	64,32	45,67	45,54
№ 5	24,96 – 42,12	78,95	22,48	84,46
№ 6	9,44 – 16,28	44,21	30,10	44,70

(50/50 об. %) в течение двух минут на экстракторе. Центрифугировали при 2500 об/мин в течение 5 мин, органический экстракт упаривали в токе азота досуха. Сухой остаток перерастворили в 50 мкл метанола, 5 мкл вводили в систему ВЭЖХ — МС.

Хромато-масс-спектрометрический анализ выполняли на высокоэффективном жидкостном хроматографе модели 1100 фирмы “Agilent Technologies” (США) с насосом высокого давления, оснащенный дегазатором. Масс-спектрометр в варианте “ионной ловушки” модели LC/MSD Trap SL фирмы “Agilent Technologies” (США) был оснащен внешним источником ионов с электрораспылительной ионизацией и работал при атмосферном давлении в режиме регистрации отрицательных ионов.

Оценку достоверности данных проводили на основании непараметрического метода по Вилкоксоу для зависимых выборок.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты измерения соотношения уровня 6 β -ОНК/К в суточной моче добровольцев представлены в таблице.

Для каждого из добровольцев естественный уровень активности СYP3A4 оценивали на основании диапазона значений соотношения 6 β -ОНК/К в суточной моче, полученного в течение трех дней до приема препарата. Влияние мексидола на активность СYP3A4 оценивали в течение последующих трех дней после приема препарата по изменению уровня 6 β -ОНК/К в сравнении с естественным уровнем также у каждого из добровольцев.

Анализ данных выявил достоверное ($p = 0,03$) увеличение соотношения 6 β -ОНК/К по сравнению с его естественным уровнем в первые 24 ч после приема мексидо-

ла (в среднем в $2,96 \pm 0,76$ раза). На вторые и третьи сутки после приема наблюдалось достоверное снижение соотношения 6 β -ОНК/К по сравнению с первыми сутками. При этом не было выявлено достоверных различий ($p = 0,21$) уровня 6 β -ОНК/К по сравнению с естественным до приема мексидола.

Полученные результаты коррелируют с данными по изучению экскреции 2-этил-6-метил-3-оксипиридина у человека, которые свидетельствуют о том, что более 65,5 % препарата выводится с мочой за первые 24 ч. Анализ мочи, полученной у добровольцев в ходе изучения экскреции, не выявил присутствия хотя бы следовых количеств самого неизмененного 2-этил-6-метил-3-оксипиридина и его метаболитов на вторые и третьи сутки после приема препарата.

Таким образом, предположительно индукция системы СYP3A4 под действием мексидола наблюдается лишь в момент активной его биотрансформации и экскреции и не сохраняется после полной элиминации соединения из организма человека.

ВЫВОДЫ

1. Для оценки влияния мексидола на активность СYP3A4 впервые применен метод измерения уровня эндогенного соотношения 6 β -ОНК/К в моче человека.

2. После приема мексидола (750 мг внутрь) в течение 24 ч наблюдается увеличение соотношения 6 β -ОНК/К в моче добровольцев.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. В. Вальдман, Т. А. Воронина, Л. Д. Смирнов, *Бюлл. exper. биол.*, № 1, 60 – 62 (1985).
2. Т. А. Воронина, *Психофармакол. и биол. наркол.*, № 1, 2 – 12 (2001).
3. А. К. Сариев, *Афтореф. дис. канд. мед. наук*, Москва (1987).
4. С. Б. Середенин, Т. А. Воронина, *Клинические исследования лекарственных средств в России*, № 2, 22 – 27 (2004).
5. S. Burstein, H. L. Kimball, E. L. Klaiber, et al., *J. Clin. Endocrinol.*, № 27, 491 – 499 (1967).
6. E. S. Eldesoky, H. O. Mohamed, W. M. Farghaly, et al., *Pharmacol. Res.*, № 51, 575 – 580 (2005).
7. M. M. Galteau and F. Shamsa, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, № 59, 713 – 733 (2003).
8. R. N. Levy, *Metabolic Drug Interactions*, Philadelphia (2000).
9. M. M. Lipman, F. H. Katz and J. W. Jailer, *J. Clin. Endocrinol.*, № 22, 71 – 77 (1962).

Поступила 12.05.09

EFFECT OF MEXIDOL ON 6 β /FREE HYDROXYCORTISOL RATIO. POSSIBILITY OF CYP3A4 ACTIVATION

P. A. Baranov^{1,2}, S. A. Apollonova², G. M. Rodchenkov², A. K. Sariev², and V. P. Zherdev²

¹ Federal Antidoping Center, Elizavetinskii per. 10, Moscow, 105005, Russia;

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

The influence of mexidol (2-ethyl-6-methyl-3-oxypyridine) after a single peroral administration on the levels of 6 β -hydroxycortisol (6 β -OHC) and free cortisol (FC) in human urine has been evaluated. The 6 β -OHC/FC ratio is increased (approximately 2.96 ± 0.76 times) against the basal 6 β -OHC/FC ratio during the first 24 hour after drug administration. Data analysis on the second and third day after mexidol administration did not show evident changes in 6 β -OHC/FC ratios. It is suggested that CYP3A4 activation after mexidol administration occurred only during active drug biotransformation and excretion and ceased after full excretion from the human body.

Key words: CYP3A4, Mexidol, 6 β -hydroxycortisol, cortisol