

16. ШПИГЕЛЬ, А.С, СЕРЕДАВИНА, Н.Ю. Антигомотоксическая фармакотерапия и оценка её эффективности при травмах и хирургических вмешательствах на ЛОР-органах. *Биологическая медицина*, 2001, №2, с. 33-41.

METOCLOPRAMIDA – MEDICAMENT ANTIEMETIC ȘI GASTROPROKINETIC , SUBSTRAT ȘI INHIBITOR AL CITOCROM P450 CYP 2D6

Tatiana Cotorobai, Tamara Cotelea

Catedra Chimie Farmaceutică și toxicologică a USMF "N.Testemițanu"

Summary

Metoclopramide –the gastroprokinetic and antiemetic drug, substrate and inhibitor of Cytochrome P450 2D6

Based on a study of selective sciens was characterized the farmacokinetics of metoclopramide monohydrochloride, the interaction between metoclopramide and Cytocrome P450, the ability of the substance to inhibit drug – metabolizing P450 CYP 2D6 and CYP 3A. There were made conclusions regarding the influence of isoform –specific inhibitors P450 drugs on the metabolism of metoclopramide and formation of monodeethylmetoclopramide, presumably causal factor of the toxic effects of this substances. These conclusions as a good basis for further research in vivo and for an effective pharmacotherapy to patients.

Rezumat

În baza studiului literaturii științifice, s-a analizat caracteristica farmacocinetică a clorhidratului de metoclopramidă, interacțiunea dintre metoclopramidă și sistemul citocromului P450, capacitatea substanței de analizat de a inhiba izoformele CYP 2D6 și CYP 3A a P450. S-au facut concluzii despre influența unor medicamente specific-inhibitoare de izoforme P450 asupra metabolismului metoclopramidei și formării metabolitului monodietilmetoclopramida, presupus factor cauzal al efectelor toxice ale acestei substante medicamentoase. Aceste concluzii servesc ca o bună bază pentru cercetările ulterioare in vivo și pentru o farmacoterapie eficientă a pacienților.

Actualitatea temei

Clorhidratul de metoclopramida [clorhidratul de 4-amino-5cloro-N-[(2-dietilamino)etil-2 metoxibenzamidă] este substanța medicamentoasă ce se utilizează în greață și vărsături după operații, iradiere, medicamente (digitalice, citostatice, antibiotice); în practica gastrenterologică și-a găsit utilizare în esofagita de reflux, dispepsie, sughiț, meteorism. Metoclopramida este un antivomitiv cu acțiune centrală, ce acționează prin creșterea tonusului sfincterului inferior al esofagului, prin stimularea peristaltismului gastric și relaxarea sfincterului piloric, favorizând astfel golirea stomacului.

În literatură sunt documentate cazuri de aritmie, bloc atrio-ventricular, hipertensiune, distonie și dereglări de oxidare ale hemoglobinei (methemoglobinemie, sulfhemoglobinemie). S-a presupus formarea unor metaboliți toxici care duc la apariția acestor efecte adverse severe. Pentru a elucida apariția acestor efecte adverse , în cadrul catedrei de Chimie Farmaceutică și Toxicologică a USMF "N.Testemițanu" s-a analizat izolarea și extragerea metoclopramidei din lichidele biologice „in vitro”, s-a studiat și literatura cu anumite cercetări farmacocinetice „in vitro” efectuate în SUA la catedra Farmacologie Clinică din Washington[1,3,5,7,].

Obiectivele lucrării

De a studia literatura de specialitate si a prezenta calea de metabolizare a metoclopramidei influențată de sistemul P450.

Materiale și metode de cercetare

Substanțele chimice utilizate a fost hidroclozura de metoclopramidă, hidrobromura de dextrometofan, clorzaxona, sulfatul de chinidină, dietilditiocarbamat, troleandomicina, acetatul de sodiu, EDTA, G-6-P, G-6-PDH și NADP.

Ca material biologic au fost utilizate preparatele a patru ficate inutile pentru transplantare, cu prepararea ulterioara a fracțiilor microsomale și resuspendarea lor în soluție tampon-fosfat. Procedura de obținere a celulelor microsomiale, precum și a citocromului P450 au fost descrise în lucrările unui șir de cercetători, în echipă cu Zeruesenay Desta, care e cercetat metabolismul hepatic al cisapridei și izoniazidei la nivel de izoformele P450. Fragmentele microsomale au fost resuspendate în soluție-tampon fosfat cu concentrația de proteine 10mg/ml și depozitate la -80°C până la utilizarea ulterioară. Următoarea etapă a fost incubarea metoclopramidei pentru analiza HPLC conform condițiilor optime stabilite anterior. Incubarea a fost făcută în prezența sistemului NADPH generatoare, celulelor microsomale la 37°C . Metoda HPLC în UV a fost efectuată pentru a verifica prezența metoclopramidei în incubatul de celule microsomale. Faza mobilă a fost compusă din acetat de sodiu acetonitril trietilamină 80:20:0.05, iar pH 7,0 a fost menținut de către acidul acetic. Temperatura camerei a fost aleasă ca fiind optimă, iar viteza de curgere 0.9 ml/min la lungimea de undă 274 nm. Cromatograma tipică obținută în urma analizei HPLC este prezentată în figura 1 [1,2,4].

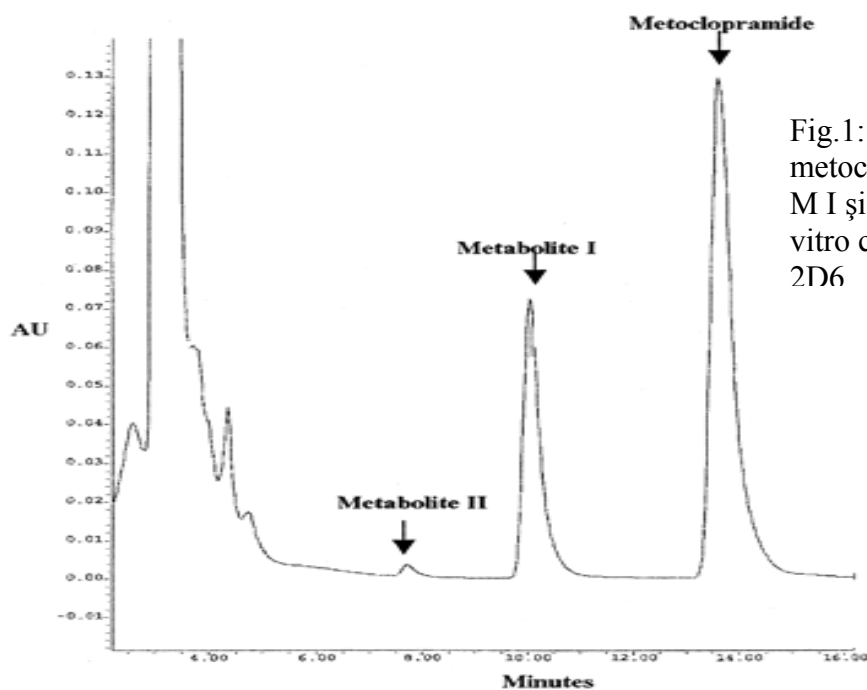


Fig.1: HPLC. Cromatograma metoclopramidei și metabolizilor M I și M II, în urma incubării in vitro cu citocrom recombinat CYP 2D6

Cu timpul de reținere a metabolizilor la 14 min, 10 min, fiind notate, respectiv: M I, M II. Pentru a identifica metabolitul M I se analizează incubatul de metoclopramidă prin metoda spectrofotometrică și se compară cu metabolizii moleculari ai metoclopramidei formați în urma metabolizării acestora în organismul uman și animal. Având ca bază analiza masei moleculare, concluzia este următoarea: M I corespunde metabolitului monodietilmetoclopramida, metabolit prezent în urina animalelor de laborator, dar neidentificat în organismul uman (fig.2).

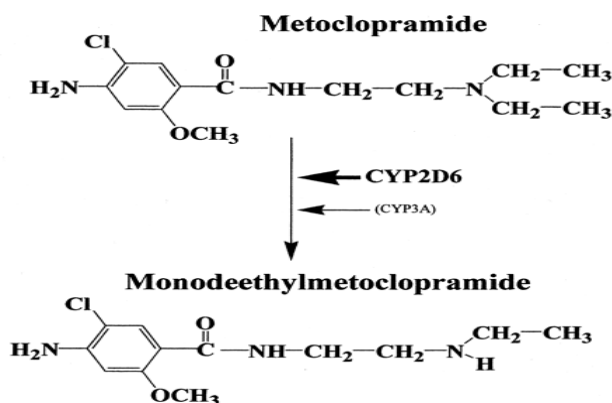


Fig. 2: Metabolizarea metoclopramidei în sistemul hepatic microsomial. Formarea monodietilmetoclopramidei sub influența CYP 2D6.

Experiențele ulterioare vin să determine izoforma P450 responsabilă pentru formarea M I. În urma efectuării analizelor asupra monodietilării metoclopramidei s-a constatat că metabolizarea se petrece cu ajutorul CYP2D6 în cea mai mare parte ($V=4.5 \pm 0.3 \text{ pmol/min/pmol}$) și foarte puțin cu CYP1A2 ($V=0.97 \pm 0.15 \text{ pmol/min/pmol}$). Rezultatul a fost prezentat schematic în diagramă (fig. 3). Alte forme de citocromi, ca CYP2A6, CYP2B6, CYP 2C9, CYP 2E1, nu contribuie procesului de monodietilare.

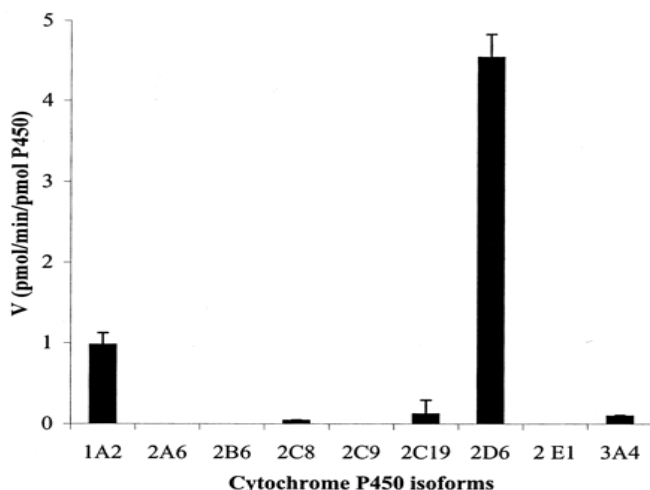


Fig.3: Influența izoformelor P450 asupra metabolizării metoclopramidei cu formarea monodietilmetoclopramidei.

O altă etapă în cercetarea in vitro a metabolismului metoclopramidei a avut drept scop evaluarea influenței asupra gradului de metabolizare a unui șir de medicamente luate în concentrații diferite, despre care se știe că sunt inhibitori ai sistemelor de enzime P450: furfulină pentru CYP1A2, troleandomicină pentru CYP 1A2, sulfafenazol pentru CYP2C9, omeprazol pentru CYP 2C19, chinidină pentru CYP 2D6, troleandomicina pentru CYP 3A, ketoconazol pentru CYP 3A. Cercetarea a fost efectuată pentru două ficate diferite, cu cod de identificare HL 161 și HL 09-14-99. Rezultatul obținut a fost prezentat în diagramă (fig.4). După cum observăm, chinidina cu concentrația de doar $1 \mu\text{M}$ inhibă în primul caz metabolismul cu 78,7%, în cazul al 2-lea cu 38%, ceea ce desemnează o dependență dintre rata inhibiției și starea funcțională a ficatelor. Troleandomicina cu concentrația $50 \mu\text{M}$ inhibă în primul caz metabolismul cu mai puțin de 4%, în cazul al 2-lea cu 22,8%. Această inhibiție e evidentă pentru chinidină și troleandomicină pentru că, cum am menționat mai sus, sunt inhibitori specfici ai CYP 2D6 și CYP 3A. Efectele inhibitoare ale chinidinei și troleandomicinei s-au studiat pe ficatul cu codul de identificare HL 09-14-99. Rezultatele sunt prezentate în graficele de mai jos. Acestea sugerează implicarea în metabolismul metoclopramidei cu 70%, și 30% respectiv CYP 2D6 și CYP 3A.

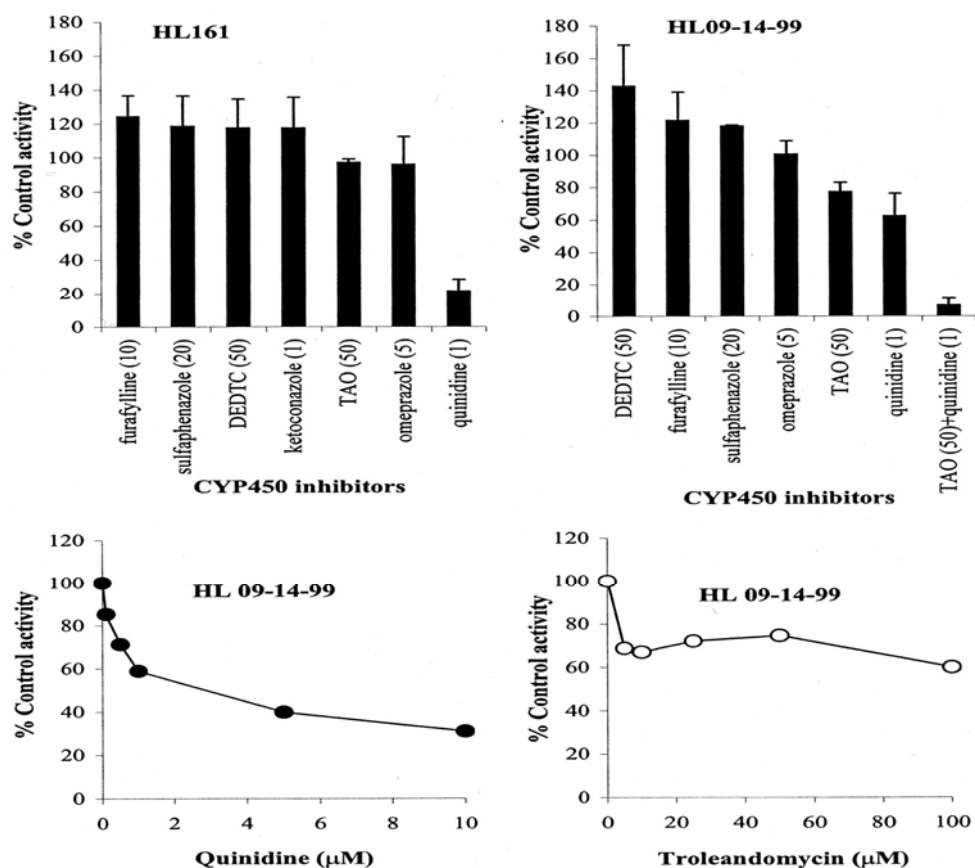


Fig.4 : Inhibiția monodietilării metoclopramidei în două sisteme hepatice microsomale(HL 161 și HL 09-14-99) de către inhibitori specifici ai izoformelor P450

În cursul cercetărilor in vitro s-a observat și fenomenul invers: efectul inhibitor al metoclopramidei asupra diferitor forme enzimatiche ale P450. Pentru aceasta s-au inhibat 25µM de metoclopramidă cu diferite straturi izoform-specifice: phenacetin (50 µM) pentru CYP1A2, flurbiprofen (5 µM) pentru CYP2C9, omeprazole (50 µM) pentru CYP2C19, dextromethorphan (25 µM) pentru CYP2D6, chlorzoxazone (25 µM) pentru CYP2E1 și midazolam (10 µM) pentru CYP3A4. Metoclopramida este un puternic inhibitor al CYP 2D6 în celulele hepatice microsomale, iar inhibarea ei cu sistemul microsomal după adăugarea anterioară a dextrometorfanului mărește inhibiția formării dextrorfanului pînă la 44% - 37% în primele 20-30 minute, ceea ce sugerează posibilitatea inhibiției totale (fig. 5)[2,3].

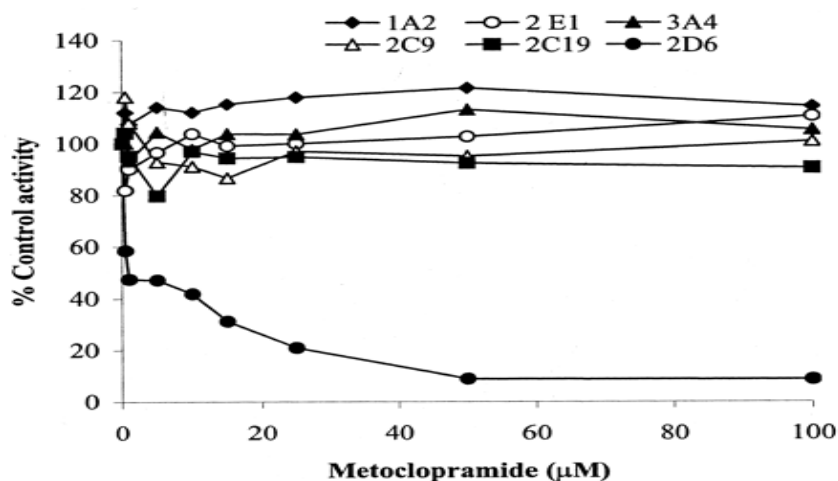


Fig.5: Inhibiția diferitor forme enzimatiche ale P450. Vitezele reacțiilor au fost exprimate în raport cu vitezele de control (fără adăugarea inhibitorului)

Concluzii

S- a efectuat un studiu de evaluare a cercetărilor „in vitro” în baza datelor din literatură despre interacțiunea metoclopramidei cu sistemul P450 unde se explică prezența unui nou metabolit al metoclopramidei- monodietilmetoclopramida care ne demonstrează că: CYP 2D6 este izoforma principală ce catalizează formarea metabolitului nou, avînd specificitate de funcționare hepatică; există medicamente care pot deregla formarea monodietilmetoclopramidei – metabolit toxic la toate tipurile de ficat; metoclopramida este însuși inhibitor al CYP 2D6.

Numărul pacienților cărora li se administrează metoclopramida este în continuă creștere, de aceea este importantă analiza efectelor adverse și interacțiunile medicamentoase ale acestui medicament. Rezultatele acestei cercetări necesită confirmare prin teste in vivo. Însă pînă atunci, e necesar de a recomanda medicilor și farmaciștilor-clinicieni să informeze pacienții despre apariția efectelor adverse posibile din cauza interacțiunilor medicamentoase la nivel microsomal sau din cauza unor modificări ereditare la nivel de sistem enzimatic CYP 2D6.

Bibliografie

1. M. Hangan, T.Cotelea, L.Soloviov Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică USMF N.Testemițanu Investigații chimico-toxicologice asupra metoclopramidei Anale științifice, vol.I, Probleme medico-biologice și farmaceutice. Chișinău, 2008, pag.301-304
2. Albibi R, McCallum RW(1983) Metoclopramide: pharmacology and clinical application. Ann Intern Med 98:86–95.
3. Baguley WA, Hay WT, Mackie KP, Cheney FW, Cullen BF(1997) Cardiac dysrhythmias associated with the intravenous administration of ondansetron and metoclopramide. Anesth Analg 84:1380–1381.
4. Desta Z, Soukhova N, Mahal SK, Flockhart DA(2000) Interaction of cisapride with human cytochrome P450 system: metabolism and inhibition studies. Drug Metab Dispos 28:789–800.
5. Машковский М.Д. Лекарственные средства Москва Новая волна 2008 -187с.
6. К.м.н. С.Н. Маммаев, Ю.О. Шульпекова, академик РАМН, профессор В.Т. Ивашкин
ММА имени И.М. Сеченова Метоклопрамид в лечении диспепсических расстройств med-lib.ru
7. ВИДАЛЬ 2006 «Лекарственные препараты в России»

STUDIUL DICLOFENACULUI ÎN CADRUL TESTULUI DE ANALIZĂ CHIMICO-TOXICOLOGICĂ

Tamara Cotelea¹, Marcela Panco¹, Efim Aramă²

¹Catedra Chimie farmaceutică și toxicologică USMF „N. Testemițanu”

²Catedra Biofizică, Informatică și Fiziologia omului

Summary

Diclofenac study in the biological liquids

We used Diclofenac and physico-chemical methods in the pure substance for its analysis in the blood plasma. The identification of Marquis and Liebermann reaction. Chromatography on the thin layer in the ethylacetate-methanol-ammonia 25 % (85:10:5) Was also used. FeCl₃ is used as an eluent, obtaining R_f = 0,12 cm. There was used UV spectrophotometric method in the hydroxide for identification and obtaining of maximum absorption on 275 nm.

The used methods were applied according to chemico-toxicological analysis conditions of Diclofenac in the biological liquids