

Фармакологическая регуляция активности изоферментов цитохромов P450 3A4 и P450 2C9 витаминами и природными соединениями

Е. В. Ших¹, А. А. Махова², В. В. Шумянцева³, О. А. Демидова¹

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 127051, Москва, Россия

² Государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации, 119991, Москва, Россия

³ Федеральное государственное бюджетное научное учреждение
«Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича», Москва, Россия

Статья поступила 24.08.2016 г. Принята к печати 21.11.2016 г.

Резюме: Проведено исследование влияния витаминов, обладающих антиоксидантными свойствами (витамины А, Е, С), витаминов группы В (В1, В2, В6), а также витаминоподобных веществ (коэнзим Q10, таурин и L-карнитин) на ферменты первой фазы метаболизма ксенобиотиков — цитохромы P450 3A4 и P450 2C9. В экспериментах с участием информированных добровольцев показано, что витамины группы В позволяют сократить длительность терапии нестероидным противовоспалительным препаратом диклофенак и снизить ежедневную потребность в нем. Показано также положительное влияние витаминов группы В на уменьшение болевого синдрома, позволяющее сократить длительность терапии и снизить ежедневную потребность в диклофенаке. Фармакодинамические и фармакокинетические данные подтверждены в экспериментах по исследованию электрокаталитической активности цитохрома P450 3A4 (CYP3A4) электрохимическими методами. Электрохимический подход для исследования каталитической активности цитохромов P450 и влияния витаминов и природных соединений на электрокатализ является чувствительным и эффективным сенсорным методом, позволяющим использовать низкие концентрации белка на электроде (до 10^{-15} моль/электрод), проводить анализ без участия белков-партнеров (цитохрома B5, НАДФН-зависимой редуктазы) и выявлять взаимодействие лекарственных препаратов в доклинических экспериментах. При сравнении влияния витаминов группы В (В1, В2, В6) в одинаковой концентрации (300 мкМ) по данным электрохимического анализа, рибофлавин (витамин В2) наиболее эффективно подавляет взаимодействие диклофенака с цитохромом P450 3A4. Витаминоподобное вещество таурин, обладающее антиоксидантными свойствами, и витамины-антиоксиданты стимулировали электрохимическое восстановление цитохромов P450 3A4 и P450 2C9. Полученные данные подтверждают возможность регуляции фармакокинетических параметров и выраженности фармакодинамического эффекта с помощью влияния витаминов на активность цитохромов P450 3A4 (CYP3A4) и P450 2C9 (CYP2C9).

Ключевые слова: цитохром P450 3A4; цитохром P450 2C9; диклофенак; антиоксиданты; электрохимия; ферментные электроды; витамины А, С, Е; витамины группы В; взаимодействие.

Библиографическое описание: Ших ЕВ, Махова АА, Шумянцева ВВ, Демидова ОА. Фармакологическая регуляция активности изоферментов цитохромов P450 3A4 и P450 2C9 витаминами и природными соединениями. Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения 2016; (4): 42–47.

Одним из важных методов в персонализированной медицине является контроль в курсе лечения коррекции дозы лекарственного препарата (ЛП) с учетом индивидуальных особенностей пациента. Фармакогенетические тесты позволяют выявлять риск побочных действий ряда ЛП (например, антикоагулянт варфарин), персонализированно менять, корректировать дозы лекарства. Индивидуальная реакция на данный ЛП обусловлена полиморфизмом генов, кодирующих цитохром CYP2C9, а также витамин К-эпоксиредуктазу (VKORC1) [1, 2]. Фирма «Roche» разработала генетические тесты на основе микроэррейной техники (Amplipchip CYP450) [3] для геномных прогнозирований.

Несмотря на информативность фармакогенетических тестов, их результаты не позволяют влиять на активность ферментов, метаболизирующих ЛП, поэтому необходимо развивать другой подход, основанный на регуляции активности ферментов с помощью биологически активных соединений. Ранее нами было показано, что витамины группы В влияют на

каталитическую активность цитохрома P450 3A4: тиамин (витамин В1) и рибофлавин (витамин В2) ингибируют, а пиридоксин (витамин В6) стимулирует электровосстановление этого гемопротеина, но также ингибирует метаболизм диклофенака [4, 5].

Цитохромы P450 играют огромную роль в метаболизме эндогенных соединений: этот класс ферментов метаболизирует приблизительно 75 % всех ЛП. Среди 57 цитохромов P450 человека 5 основных форм (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4/5) осуществляют приблизительно 95 % реакций биотрансформации [3, 6, 7]. Цитохромы P450 3A4 и P450 2C9 являются наиболее активными участниками метаболизма применяемых ЛП. Необходимость изучения индуцирующих свойств ранее не исследованных химических соединений определяется функциональной значимостью цитохромов P450 в детоксикации разнообразных ксенобиотиков. Исследование спектра соединений, которые могут индуцировать различные формы цитохромов P450, остается актуальным. Важно знать, как влияют на активность

цитохромов P450 те соединения, которые будут использовать в медицине в качестве лекарственных средств (ЛС), потому что в результате индукции или ингибирования цитохромов P450 могут изменяться фармакокинетические характеристики ЛС, развиваться нежелательные явления. Особый интерес представляют природные антиоксиданты, которые часто используют в составе комплексной терапии ряда заболеваний.

Регуляция каталитической активности ферментов может протекать по различным механизмам: встраивание в мембраны, взаимодействие с белками-партнерами, химическая модификация, аллостерические механизмы.

Целью работы являлось исследование влияния витаминов, обладающих антиоксидантными свойствами (витамины А, Е, С, коэнзим Q10, таурин, L-карнитин), и витаминов группы В на электрокаталитические свойства цитохромов P450 3A4 и P450 2C9.

Задачи исследования:

1) исследовать каталитическую активность цитохромов P450 3A4 и P450 2C9 в присутствии витаминов, обладающих антиоксидантными свойствами, витаминов группы В, а также витаминоподобных веществ при помощи электрохимических методов;

2) изучить субстратные свойства диклофенака по отношению к цитохромам P450 3A4 и P450 2C9 в присутствии витаминов-антиоксидантов, витаминоподобных веществ и витаминов группы В при помощи электрохимических методов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Электрохимические измерения проводили с помощью потенциостата PGSTAT12 Autolab («Eco Chemie», Нидерланды) с программным обеспечением GPES. В работе использовали трехконтактные электроды, полученные методом трафаретной печати (ООО НПП «АВТОКОМ», Россия); с графитовыми рабочим и вспомогательным электродами (графитовая паста для печати фирмы «Achison») и хлорсеребряным электродом сравнения. Диаметр рабочего электрода 2 мм. Все потенциалы приведены относительно хлорсеребряного Ag/AgCl электрода сравнения. Параметры, используемые при исследовании квадратно-волновой вольтамперометрии: КВВА, восстановление, аэробные условия, начальный потенциал — 100 мВ, конечный потенциал — 600 мВ, шаг потенциала 5 мВ, амплитуда 20 мВ, частота 10 Гц. Анализ каталитической активности и влияние витаминов и природных соединений на восстановительный ток цитохрома P450 3A4 проводили методом КВВА по регистрации максимальной высоты катодного пика с коррекцией по базовой линии.

Рекомбинантные цитохромы P450 3A4 (165 мкМ), P450 2C9 (175 мкМ) были любезно предоставлены профессором С. А. Усановым (Институт биоорганической химии, Минск, Республика Беларусь).

В работе использовали следующие реактивы: дидодецилдиметиламмоний бромид (DDAB), $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, боргидрид натрия, диклофенак натрия (субстанция) 50 мг/мл в ампулах, витамин А (ретинол ацетат, 0,1 М) и витамин Е (токоферол ацетат, 0,1 М), таурин. Тиамин, рибофлавин, пиридоксин. В электрохимических экспериментах использовали свежеприготовленные растворы 10 мМ диклофенака в воде, 0,28 М аскорбиновую кислоту, 0,1 М ретинол ацетат, 0,1 М токоферол ацетат. В работе были ис-

пользованы Кудесан (коэнзим Q10, 30 мг/мл и витамин Е 4,5 мг/мл), в водорастворимой форме, Элькар (300 мг/мл L-карнитина).

Гитагамп — оригинальный отечественный препарат, относится к фармакологической группе средств, влияющих на метаболические процессы.

В его состав входят: тиамина хлорид (витамин В1) — 25 мг; рибофлавин (витамин В2) — 25 мг; пиридоксин (витамин В6) — 25 мг; никотиновая кислота (витамин РР) — 25 мг; кальция пантотенат (витамин В5) — 25 мг; кислота фолиевая (витамин В9) — 50 мкг; цианкобаламин (витамин В12) — 25 мкг; никотиноил гамма-аминомасляной кислоты натриевая соль — 50 мг.

Для приготовления электродов на поверхность рабочего графитового электрода наносили 2 мкл 5 мМ коллоидного раствора золота в 0,1 М DDAB в хлороформе, после испарения хлороформа (10 мин) наносили 1 мкл исследуемого гемопротеина P450 3A4 или P450 2C9. Электроды оставляли на 12 ч при 4 °С во влажной камере, предотвращающей полное высыхание электродов [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ранее нами было показано влияние нагрузочных доз витаминов группы В на фармакокинетические параметры нестероидного противовоспалительного препарата диклофенака [4]. Прием витаминов группы В позволил сократить длительность терапии диклофенаком и снизить ежедневную потребность в диклофенаке. Показано также положительное влияние витаминов группы В на уменьшение болевого синдрома, позволяющее сократить длительность терапии и снизить ежедневную потребность в диклофенаке. Во всех трех схемах приема диклофенака (прием только диклофенака, прием препарата на фоне 2 таблеток Гитагампа и прием препарата на фоне 4 таблеток Гитагампа) величина значения максимальной концентрации диклофенака при однократном разовом приеме статистически достоверно ниже величины значения максимальной концентрации при приеме диклофенака на фоне курсового применения как 2, так и 4 таблеток Гитагампа ($t = 4,07$; $t = 14,4$ соответственно; $p < 0,001$) (рис. 1).

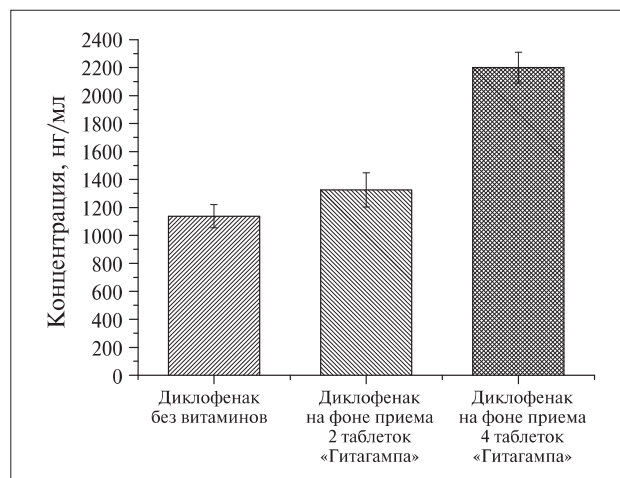


Рис. 1. Величина значения максимальной концентрации диклофенака в крови при однократном разовом приеме на фоне приема 2 и 4 таблеток Гитагампа

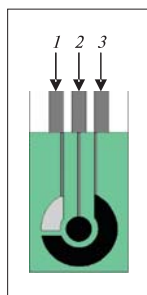


Рис. 2. Схема электрода, полученного методом трафаретной печати. 1 — хлорсеребряный электрод сравнения, 2 — графитовый рабочий электрод, 3 — вспомогательный электрод

Таким образом, нагрузочные дозы витаминов группы В оказывают статистически значимое влияние на величину значения максимальной концентрации диклофенака.

С целью валидации влияния исследованных ЛП на активность цитохромов P450 3A4 и P450 2C9 были проведены эксперименты в системах электрод/цитохром P450 3A4 и электрод/цитохром P450 2C9. Электрохимические подходы перспективны для исследования фермент-субстратных взаимодействий вследствие высокой чувствительности [9–12]. При проведении электрохимических экспериментов были использованы трехконтактные электроды, полученные методом трафаретной печати (рис. 2).

Такие печатные электроды имеют ряд преимуществ: миниатюризация, возможность работать в горизонтальном или вертикальном режиме, низкий базовый ток, широкий диапазон рабочих потенциалов, простота проведения модификации электродов для наноструктурирования или иммобилизации биологических объектов.

Особенностью электрохимических сенсоров на основе цитохромов P450 является использование наноструктурированных электродов с помощью наночастиц золота и мембраноподобного вещества дидецилдиметиламмоний бромида (DDAB) для повышения чувствительности анализа. При модификации поверхности печатных графитовых электродов 0,1 М DDAB/Au в хлороформе с последующим включением в мембраноподобную матрицу цитохрома P450 3A4 наблюдается прямой безмедиаторный перенос электронов между электродом и гемом. DDAB/Au/P450 электроды электроактивны при нанесении пикомолярных количеств фермента на электрод. Эффективность катализа и влияние активаторов/ингибиторов оценивали по электрохимической активности иммобилизованного на электроде фермента. Для этого регистрировали катодный ток восстановления цитохрома P450 3A4 или P450 2C9 в соответствии со схемой: $\text{Fe}^{+3} + 1e \rightarrow \text{Fe}^{+2}$.

Для исследования электроаналитических характеристик используют вольтамперные отклики электродов, регистрируемые с помощью цикловольтамперометрии и вольтамперометрического анализа (квадратно-волновой и дифференциальной импульсной вольтамперометрии). Субстраты соответствующих форм цитохромов P450 вызывают существенное повышение каталитического тока при контролируемом напряжении, а ингибиторы не изменяют или снижают максимальные амплитуды токов [8].

Было проведено сравнительное исследование влияния витаминов группы В (B1, B2 и B6) в концентрации 300 мкМ на электрохимическую реакцию диклофенака с цитохромом P450 3A4 (рис. 3).

Рибофлавин (витамин B2) наиболее эффективно подавляет взаимодействие диклофенака с цитохромом P450 3A4.

Направленная регуляция каталитического цикла цитохрома P450 может приводить как к снижению скорости метаболизма ЛП, так и к активации фер-

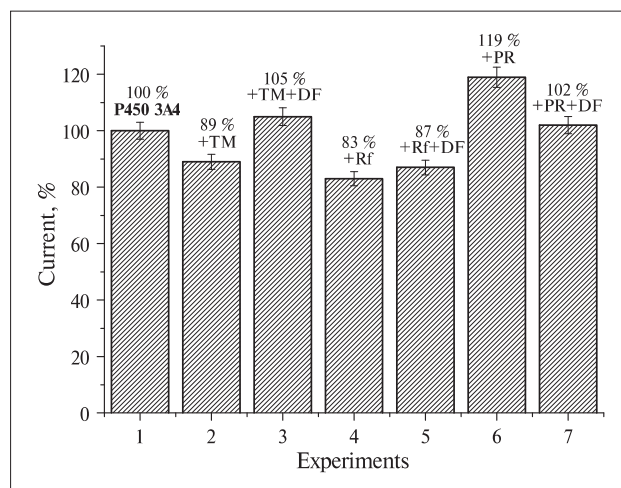


Рис. 3. Интенсивность пиков квадратно-волновых вольтамперограмм в аэробных условиях электродов: 1 — DDAB/Au/P450 3A4; 2 — DDAB/Au/P450 3A4 + тиамин, TM (0,3 мМ); 3 — DDAB/Au/P450 3A4 + TM (0,3 мМ), затем диклофенак DF; 4 — DDAB/Au/P450 3A4 + рибофлавин, Rf (0,3 мМ); 5 — DDAB/Au/P450 3A4 + Rf (0,3 мМ), затем DF; 6 — DDAB/Au/P450 3A4 + пиридоксин, PR (0,3 мМ); 7 — DDAB/Au/P450 3A4 + PR (0,3 мМ), затем DF. Значения амплитуд токов KBVA были скорректированы по базовой линии

ментативного гидроксирования субстратов. Это особенно важно в случае выявления пониженной экспрессии определенной формы цитохрома P450.

Проведено исследование влияния витаминов-антиоксидантов (витамин С, витамин А и витамин Е) на каталитическую активность цитохрома P450 3A4 [8, 13]. Так как восстановление гема цитохрома P450 является основной стадией в катализе и сопровождается генерированием АФК (АФК — активные формы кислорода) [14], вещества, проявляющие антиоксидантные свойства, могут влиять на каталитические функции этого гемопroteина. В электрохимических системах при восстановлении цитохромов P450 также генерируются активные формы кислорода, и можно ожидать влияния веществ-«ловушек» АФК на электрокатализ. Антиоксиданты снижают уровень АФК, так как являются ловушками кислородных радикалов. Было исследовано также влияние на электрохимическое восстановление цитохрома P450 3A4 витаминоподобного вещества таурина, витаминного комплекса Кудесан, содержащего коэнзим Q10 и витамин Е [15, 16].

В присутствии витаминов А, С, Е, таурина, Кудесана восстановление цитохрома P450 3A4 и P450 2C9 протекает более эффективно. Аскорбиновая кислота в диапазоне концентраций 0,03–1 мМ стимулирует катодный восстановительный пик (электрохимический сигнал) цитохрома P450 3A4. В присутствии диклофенака — типичного субстрата цитохрома P450 3A4 — также наблюдается рост каталитического тока, свидетельствующий об электрокатализе по отношению к диклофенаку и стимулирующем действии аскорбиновой кислоты: $135 \pm 10 \%$ и $155 \pm 7 \%$, соответственно. В системе только цитохром P450 3A4, диклофенак дает увеличение катодного каталитического тока на $128 \pm 10 \%$. Необходимо отметить концентрационно-зависимое влияние витаминов С, А и Е на цитохромы P450 [17].

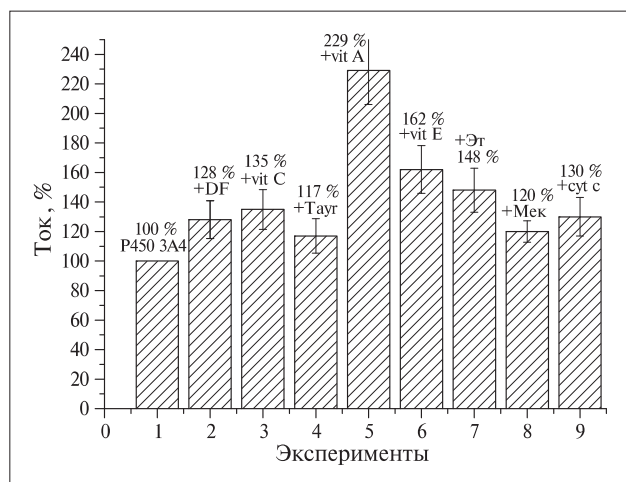


Рис. 4. Интенсивность пиков квадратно-волновых вольтамперограмм в аэробных условиях электродов: 1 — DDAB/Au/P450 3A4; 2 — DDAB/Au/P450 3A4 + диклофенак DF; 3 — DDAB/Au/P450 3A4 + витамин C (vit C, 0,3 мМ); 4 — DDAB/Au/P450 3A4 + таурин (Taur, 0,05 мМ); 5 — DDAB/Au/P450 3A4 + витамин A (vit A, 0,1 мМ); 6 — DDAB/Au/P450 3A4 + витамин E (vit E, 0,1 мМ). Значения амплитуд токов КВВА были скорректированы по базовой линии

Витамины-антиоксиданты не снижали эффективность электрокатализа цитохрома P450 3A4 и P450 2C9 по отношению к субстрату диклофенаку [8, 18].

Влияние веществ с антиоксидантными свойствами на электровосстановление цитохрома P450 3A4 представлено на рисунке 4.

L-карнитин, витаминоподобное вещество, активно используется в качестве биологически активной добавки для коррекции различных состояний. Исследованиями доказана эффективность L-карнитина в увеличении толерантности к стрессам и повышении адаптационных возможностей организма человека [19, 20]. Влияние L-карнитина на цитохром P450 3A4 исследовали также по регистрации электровосстановления цитохрома P450 3A4. В диапазоне концентраций 186–372 мкМ L-карнитин не оказывал влияния на катодный ток, соответствующий процессу $\text{Fe}^{3+} + 1e \rightarrow \text{Fe}^{2+}$. Необходимо отметить, что в присутствии L-карнитина (186 мкМ) диклофенак также проявляет субстратные свойства: регистрируется каталитический ток, сравнимый с экспериментальными без L-карнитина: $125 \pm 10\%$.

ВЫВОДЫ

В ряде экспериментальных и клинических исследований продемонстрирована возможность витаминов и природных соединений выступать в качестве средств регуляции скорости биотрансформации и выраженности фармакологического эффекта лекарственных средств путем изменения активности ферментов метаболизма ксенобиотиков, в том числе системы цитохромов P450. Биологически активные соединения, представленные как витаминами, так и такими веществами как таурин, коэнзим Q10, вследствие своей доступности, распространенности в природе, безопасности, достаточной изученности и сродству к организму человека наиболее часто включаются в состав комплексной терапии целого ряда заболеваний. Представленные в статье экспериментальные данные позволяют объяснить повышение эффектив-

ности комплексной терапии при включении в нее антиоксидантов за счет изменения метаболизма применяемых патогенетических ЛП путем влияния на активность изоферментов системы цитохрома P450. Целесообразным представляется изучение возможности влияния природных антиоксидантов на активность системы цитохромов P450 в клинике, что откроет перспективы более широкого использования этой группы ЛП.

ЛИТЕРАТУРА

- Дедов ИИ, Тюльпаков АН, Чехонин ВП, Баклаушев ВП, Арчаков АИ, Мошковский СА. Персонализированная медицина: современное состояние и перспективы. Вестник РАМН 2012; (12): 4–12.
- Zanger U, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. Pharmacol Ther. 2013; 138: 103–41.
- Baj-Rossi C, De Micheli G, Carrara S. P450-based nano-biosensors for personalized medicine. In: Serra A, ed. Biosensors for Health, Environment and Biosecurity. Vienna: InTech Publisher; 2011. P. 448–82.
- Makhova AA, Shumyantseva VV, Shich EV, Bulko TV, Kukes VG, Sizova OS, Ramenskaya GV, Usanov SA, Archakov AI. Electroanalysis of cytochrome P450 3A4 catalytic properties with nanostructured electrodes: The influence of vitamins B group on diclofenac metabolism. BioNanoScience 2011; (1): 46–52.
- Shumyantseva VV, Shich EV, Makhova AA, Bulko TV, Kukes VG, Sizova OS, Ramenskaya GV, Usanov SA, Archakov AI. The influence of B group vitamins on monooxygenase activity of cytochrome P450 3A4: pharmacokinetics and electro analysis of the catalytic properties. Biochemistry Supplement series B: Biomedical Chemistry 2012; (6): 87–93.
- Guengerich FP. Cytochrome P450 and Chemical Toxicology. Chem Rev Toxicol. 2008; 21: 194–204.
- Lewis DFV. Guide to Cytochrome P450. Structure and function. London and New York; 2001.
- Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Shich EV, Kukes VG, Usanov SA, Archakov AI. Role of antioxidants in electro catalysis of cytochrome P450 3A4. Biochemistry Supplement series B: Biomedical Chemistry 2013; (7): 159–63.
- Shumyantseva VV, Bulko TV, Rudakov YuO, Kuznetsova GP, Samenkova NF, Lisitsa AV, Karuzina II, Archakov AI. Electrochemical properties of cytochromes P450 using nanostructured electrodes: direct electron transfer and electrocatalysis. J Inorg Biochem 2007; 101: 859–65.
- Shumyantseva VV, Bulko TV, Suprun EV, Chalenko YaM, Vagin MYu, Rudakov YuO, Shatskaya MA, Archakov AI. Electrochemical investigations of cytochromes P450. Biochem Biophys Acta, Proteins and Proteomics 2011; 1814: 94–101.
- Shumyantseva VV, Suprun EV, Bulko TV, Dobrinina OV, Archakov AI. Sensor systems for medical application based on hemoproteins and nanocomposite materials. Biochemistry Supplement Series B: Biomedical Chemistry 2010; 41: 25–36.
- Shumyantseva VV, Bulko TV, Kuzikov AV, Shich EV, Makhova AA, Archakov AI. Cytochrome P450 enzymes and electrochemistry: crosstalk with electrodes as redox partners and electron sources. Advances in Experimental Medicine and Biology 2015; 851: 229–46.
- Шумянцева ВВ, Махова АА, Ших ЕВ, Булко ТА, Кузинов АВ, Кукес ВГ, Усанов СА, Арчаков АИ. Влияние антиоксидантов на электрокаталитическую активность цитохрома P450 3A4. Биомедицинская химия 2014; 60(2): 224–34.
- Archakov AI, Bachmanova GI. Cytochrome P450 and Active Oxygen. London: Taylor and Francis; 1990.
- Шумянцева ВВ, Ших ЕВ, Махова АА, Булко ТА, Бернхардт Р, Кузинов АВ, Кукес ВГ, Арчаков АИ. Таурин как модулятор каталитической активности цитохрома P450 3A4. Биохимия 2015; 80(3): 439–48.
- Шумянцева ВВ, Ших ЕВ, Махова АА, Булко ТА, Супрун ЕВ. Влияние Кудесана на цитохром P450 3A4: исследование электрохимическими методами. Врач 2013; (4): 40–4.

17. Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Kuzikov AV, Shich EV, Suprun EV, Kukes VG, Usanov SA, Archakov AI. The dose-dependent influence of antioxidant vitamins on electrochemically-driven cytochrome P450 catalysis. *Oxid Antioxid Med Sci*. 2013; (10): 413–5.
18. Shich EV, Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Kukes VG, Usanov SA, Archakov AI. Electrocatalytic cycle of P450 cytochromes: the protective and stimulating roles of antioxidants. *RSC Advances* 2015; 5: 71306–13.
19. Fillmore N, Lopaschuk GD. Targeting mitochondrial oxidative metabolism as an approach to treat heart failure. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833: 857–65.
20. Zambrano S, Blanca A, Ruiz-Armenta M, Miguel-Carrasco J, Arevalo M, Vazquez M, Mate A, Vazquez C. L-Carnitine protects against arterial hypertension-related cardiac fibrosis through modulation of PPAR-g expression. *Biochem Pharmacol*. 2013; 85: 937–44.

ОБ АВТОРАХ

Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 127051, Москва, Петровский бульвар, 8, стр. 2.
 Ших Евгения Валерьевна. Ведущий научный сотрудник Центра клинической фармакологии, д-р мед. наук, проф.
 Демидова Ольга Александровна. Научный сотрудник Центра клинической фармакологии, канд. фарм. наук.

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации. Российская Федерация, 119991, Москва, Трубецкая улица, 8, стр. 2.

Махова Анна Александровна. Ассистент кафедры клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней, канд. мед. наук.

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Научно-исследовательский институт биомедицинской химии им. В. Н. Ореховича». Российская Федерация, 119121, Москва, Погодинская улица, 10, стр. 8.

Шумянцева Виктория Васильевна. Заведующий лабораторией биоэлектрохимии, д-р биол. наук.

АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ

Демидова Ольга Александровна; olga.demidova25@mail.ru

PHARMACOLOGICAL REGULATION OF THE ACTIVITY OF CYTOCHROME P450 3A4 AND P450 2C9 ISOENZYMES BY VITAMINS AND NATURAL COMPOUNDS

E. V. Shikh¹, A. A. Makhova², V. V. Shumyantseva³, O. A. Demidova¹

¹ Federal State Budgetary Institution
 «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products»
 of the Ministry of Health of the Russian Federation, 127051, Moscow, Russia
² I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, 119991, Moscow, Russia
³ Federal State Budgetary Institution
 «V. N. Orekhovich Scientific Research Institute of Biomedical Chemistry»,
 119121, Moscow, Russia

Abstract: The influence of vitamins with antioxidant properties (vitamins A, E, C), B vitamins (B1, B2, B6) and vitamin-like substances (coenzyme Q10, taurine and L-carnitine) on the enzymes of the first phase of xenobiotic metabolism — cytochromes P450 3A4 and P450 2C9 has been studied. The experiments with informed volunteers have shown that B vitamins can shorten the duration of nonsteroidal anti-inflammatory drug diclofenac therapy and reduce the daily need for it. The positive effect of B vitamins in reducing the pain syndrome, shortening the duration of therapy and reducing the need for daily intake of diclofenac. Pharmacodynamic and pharmacokinetic data have been confirmed by electrochemical tests of electrocatalytic activity of cytochrome P450 3A4 (CYP3A4). Electrochemical approach to the study of catalytic activity of cytochrome P450 and the impact of vitamins and natural compounds on electrocatalysis is an accurate and effective touch-sensitive method allowing to use low concentrations of protein at an electrode (10–15 mol/electrode), to conduct the analysis without using protein pairs (cytochrome B5, NADPH-dependent reductase) and to identify the interaction of drugs in preclinical studies. When comparing the influence of B vitamins (B1, B2, B6) in the same concentration (300 μM) according to the electrochemical analysis, riboflavin (vitamin B2) is most effectively inhibits the interaction of diclofenac with cytochrome P450 3A4. Vitamin-like substance taurine with antioxidant properties and antioxidant vitamins stimulated electrochemical reduction of cytochromes P450 3A4 and P450 2C9. The obtained data confirm that it is possible that the influence of vitamins on cytochromes P450 3A4 (CYP3A4) и P450 2C9 (CYP2C9) allows to regulate pharmacokinetic parameters and the pharmacodynamic effect intensity.

Key words: cytochrome P450 2C9; cytochrome P450 3A4; diclofenac; antioxidants; electrochemistry; enzyme electrodes; A, C, E vitamins; B vitamins; interaction.

For citation: Shikh EV, Makhova AA, Shumyantseva VV, Demidova OA. Pharmacological regulation of the activity of cytochrome P450 3A4 and P450 2C9 isoenzymes by vitamins and natural compounds. *The Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products* 2016; (4): 42–47.

REFERENCES

1. Dedov II, Tyulpakov AN, Chekhonin VP, Baklaushev VP, Archakov AI, Moshkovsky SA. Personalized medicine: current situation and prospects. *Vestnik RAMN* 2012; (12): 4–12 (in Russian).
2. Zanger U, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: Regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*. 2013; 138: 103–41.
3. Baj-Rossi C, De Micheli G, Carrara S. P450-based nano-biosensors for personalized medicine. In: Serra A, ed. *Biosensors for Health, Environment and Biosecurity*. Vienna: InTech Publisher; 2011. P. 448–82.

4. Makhova AA, Shumyantseva VV, Shich EV, Bulko TV, Kukes VG, Sizova OS, Ramenskaya GV, Usanov SA, Archakov AI. Electro analysis of cytochrome P450 3A4 catalytic properties with nanostructured electrodes: The influence of vitamins B group on diclofenac metabolism. *BioNanoScience* 2011; (1): 46–52.
5. Shumyantseva VV, Shich EV, Makhova AA, Bulko TV, Kukes VG, Sizova OS, Ramenskaya GV, Usanov SA, Archakov AI. The influence of B group vitamins on monooxygenase activity of cytochrome P450 3A4: pharmacokinetics and electro analysis of the catalytic properties. *Biochemistry Supplement series B: Biomedical Chemistry* 2012; (6): 87–93.
6. Guengerich FP. Cytochrome P450 and Chemical Toxicology. *Chem Rev Toxicol*. 2008; 21: 194–204.
7. Lewis DFV. Guide to Cytochrome P450. Structure and function. London and New York; 2001.
8. Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Shich EV, Kukes VG, Usanov SA, Archakov AI. Role of antioxidants in electro catalysis of cytochrome P450 3A4. *Biochemistry Supplement series B: Biomedical Chemistry* 2013; (7): 159–63.
9. Shumyantseva VV, Bulko TV, Rudakov YuO, Kuznetsova GP, Samenkova NF, Lisitsa AV, Karuzina II, Archakov AI. Electrochemical properties of cytochromes P450 using nanostructured electrodes: direct electron transfer and electrocatalysis. *J Inorg Biochem* 2007; 101: 859–65.
10. Shumyantseva VV, Bulko TV, Suprun EV, Chalenko YaM, Vagin MYu, Rudakov YuO, Shatskaya MA, Archakov AI. Electrochemical investigations of cytochromes P450. *Biochem Biophys Acta, Proteins and Proteomics* 2011; 1814: 94–101.
11. Shumyantseva VV, Suprun EV, Bulko TV, Dobrinina OV, Archakov AI. Sensor systems for medical application based on hemoproteins and nanocomposite materials. *Biochemistry Supplement Series B: Biomedical Chemistry* 2010; 41: 25–36.
12. Shumyantseva VV, Bulko TV, Kuzikov AV, Shich EV, Makhova AA, Archakov AI. Cytochrome P450 enzymes and electrochemistry: crosstalk with electrodes as redox partners and electron sources. *Advances in Experimental Medicine and Biology* 2015; 851: 229–46.
13. Shumyantseva VV, Makhova AA, Shikh EV, Bulko TA, Kuzikov AV, Kukes VG, Usanov SA, Archakov AI. Effect of antioxidants on the electrocatalytic activity of cytochrome P450 3A4. *Biomeditsinskaya himiya* 2014; 60(2): 224–34 (in Russian).
14. Archakov AI, Bachmanova GI. Cytochrome P450 and Active Oxygen. London: Taylor and Francis; 1990.
15. Shumyantseva VV, Shikh EV, Makhova AA, Bulko TA, Bernhardt P, Kuzikov AV, Kukes VG, Archakov AI. Taurine as a modulator of the catalytic activity of cytochrome P450 3A4. *Biohimiya* 2015; 80(3): 439–48 (in Russian).
16. Shumyantseva VV, Shikh EV, Makhova AA, Bulko TA, Suprun EV. Influence of Kudesan on cytochrome P450 3A4: a study of electrochemical methods. *Vrach* 2013; (4): 40–4 (in Russian).
17. Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Kuzikov AV, Shich EV, Suprun EV, Kukes VG, Usanov SA, Archakov AI. The dose-dependent influence of antioxidant vitamins on electrochemically-driven cytochrome P450 catalysis. *Oxid Antioxid Med Sci*. 2013; (10): 413–5.
18. Shich EV, Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Kukes VG, Usanov SA, Archakov AI. Electrocatalytic cycle of P450 cytochromes: the protective and stimulating roles of antioxidants. *RSC Advances* 2015; 5: 71306–13.
19. Fillmore N, Lopaschuk GD. Targeting mitochondrial oxidative metabolism as an approach to treat heart failure. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833: 857–65.
20. Zambrano S, Blanca A, Ruiz-Armenta M, Miguel-Carrasco J, Arevalo M, Vazquez M, Mate A, Vazquez C. L-Carnitine protects against arterial hypertension-related cardiac fibrosis through modulation of PPAR-g expression. *Biochem Pharmacol*. 2013; 85: 937–44.

AUTHORS

Federal State Budgetary Institution «Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products» of the Ministry of Health of the Russian Federation, Petrovsky boulevard 8, bld. 2, Moscow 127051, Russian Federation.

Shikh EV. Leading researcher of Clinical Pharmacology Centre. Doctor of Medical Sciences, professor.

Demidova OA. Researcher of the Clinical Pharmacology Centre. Candidate of Pharmaceutical Sciences.

I. M. Sechenov First Moscow State Medical University, Trubetskaya street 8, bld. 2, Moscow 119991, Russian Federation.

Makhova AA. Assistant of the Department of Clinical Pharmacology and Internal Medicine Propaedeutics. Candidate of Medical Sciences.

Federal State Budgetary Scientific Institution «V. N. Orekhovich Scientific Research Institute of Biomedical Chemistry»,

Pogodinskaya street 10, bld. 8, Moscow 119121, Russian Federation.

Shumyantseva VV. Head of the Laboratory of bioelectrochemistry. Doctor of Biological Sciences.