

Влияние витаминов группы В на монооксигеназную активность цитохрома P450 3A4: электроанализ каталитических свойств

А.А.Махова¹, В.В.Шумянцева^{2*}, Е.В.Ших¹, Т.В.Булко², В.Г.Кукес¹,
О.С.Сизова¹, Г.В.Раменская¹, А.И.Арчаков²

¹ Московская медицинская академия им. И.М.Сеченова, Москва

² НИИ биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича РАМН, Москва

Цитохромы P450 являются наиболее активными участниками процесса метаболизма ксенобиотиков: лекарственных препаратов, пищевых добавок, химических соединений окружающей среды; участвуют в метаболизме эндогенных соединений: насыщенных и ненасыщенных жирных кислот, эйкозаноидов, стероидных гормонов, витамина D, ретиноидов, желчных кислот. В связи с этими свойствами цитохромов P450 высока их клиническая значимость. Электрохимические подходы позволяют миниатюризировать сенсорное устройство и в перспективе, иметь прототип «laboratory-on-a-chip» устройства, пригодного для использования в персонализированной медицине. Цель данной работы - разработать методы анализа вольтамперных характеристик электрохимических цитохром P450-содержащих систем с целью выявления субстратов и влияния витаминов группы В на каталитическую активность цитохрома P450 3A4.

Материалы и методы

Электрохимические исследования проводили с помощью потенциостата AUTOLAB («Eco Chemie» Нидерланды), снабженного программным обеспечением GPES. В работе использовали трех-контактные электроды, полученные ме-

тодом трафаретной печати (ООО НПП «ЭЛКОМ», Россия); с графитовыми рабочим и вспомогательным электродами (графит фирмы Achison), и хлорсеребряным электродом сравнения.

Результаты и их обсуждение

С целью валидации влияния исследованных лекарственных препаратов на активность цитохрома P450 3A4 были проведены эксперименты в системах электрод/цитохром P450 3A4. Цитохром P450 3A4 является наиболее функционально значимым среди цитохромов P450, т.к. метаболизирует 225 субстратов, из которых 191 вещество является лекарствами, а из 97 ингибиторов этой формы - 87 соединений являются лекарствами. Цитохром P450 3A4 участвует в метаболизме 74% применяемых лекарственных препаратов.

Каталитический ток, регистрируемый в присутствии этого лекарственного препарата, свидетельствует о протекании электрокаталитической реакции: диклофенак (ДК) проявляет субстратные свойства по отношению к цитохрому P450 3A4. Максимальные амплитуды токов КВВА, скорректированные по базовой линии, для ферментативных электродов в без субстрата и в присутствии субстрата диклофенака. Необходимо от-

метить, что субстратные свойства проявляли и фармакологические препараты диклофенак в таблетках (100 мг/таблетка), так и субстанция диклофенак. Электрохимическая константа Михаэлиса, рассчитанная по данным КВВА, составила 40 ± 10 мкМ.

Выводы

По результатам электрохимического анализа можно сделать вывод о влиянии витаминов группы В на метаболизм нестероидного противовоспалительно-го препарата диклофенака, катализируемого цитохромом P450 3A4. При сравнении витаминов группы В (B_1 , B_2 , B_6) в одинаковой концентрации (300 мкМ) по данным электрохимического анализа, рибофлавин (витамин B_2) наиболее эф-

фективно подавляет взаимодействие диклофенака с цитохромом P450 3A4. Полученные данные подтверждают возможность регуляции фармакокинетических параметров и выраженности фармакодинамического эффекта с помощью влияния нагрузочных витаминов на активность метаболизирующих ферментов системы цитохрома P450 3A4 (CYP3A4). В эксперименте подтверждена возможность изменения активности P450 3A4 при взаимодействии с витаминами группы В.

Работа выполнена при финансовой поддержке Федерального Агентства по науке и инновациям Министерства образования и науки РФ (государственный контракт № 02.740.11.0306) и Межведомственной Программы «Протеомика в медицине и биотехнологии».