

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ МЕЛЬДОНИЯ НА КАТАЛИТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ЦИТОХРОМА P450 3A4

А. В. Кузиков^{1,2}, Т. В. Булко¹, Р. А. Масамрех², А. А. Махова³, А. И. Арчаков^{1,2}, С. А. Усанов⁴, Е. В. Ших³, В. В. Шумянцова^{1,2}✉

¹ Лаборатория биоэлектрохимии, отдел персонализированной медицины, Научно-исследовательский институт биомедицинской химии имени В. Н. Ореховича, Москва

² Кафедра биохимии, медико-биологический факультет, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н. И. Пирогова, Москва

³ Кафедра клинической фармакологии и пропедевтики внутренних болезней, лечебный факультет, Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва

⁴ Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь

Исследовано влияние мельдония на каталитические функции цитохрома P450 3A4. Анализ каталитической активности проводили электрохимическими методами с использованием иммобилизованного на электроде цитохрома P450 3A4. В присутствии 50 мкМ мельдония в электрохимической системе не наблюдали увеличения электрокаталитической константы цитохром P450 3A4-зависимого N-деметилирования эритромицина. Электрокаталитические константы k_{cat} , рассчитанные по образованию продукта, составили $6,1 \pm 0,6 \text{ мин}^{-1}$ (P450 3A4 + эритромицин) и $5,5 \pm 1,4 \text{ мин}^{-1}$ (P450 3A4 + эритромицин + мельдоний). Таким образом, электроанализ каталитической активности цитохрома P450 3A4 показал возможность проведения безопасной и эффективной комплексной фармакотерапии с использованием мельдония при одновременном приеме макролидного антибиотика эритромицина.

Ключевые слова: цитохром P450 3A4, антигипоксанта средства, электроанализ, ферментные электроды, лекарственная интерференция, мельдоний

Финансирование: работа выполнена в рамках Программы фундаментальных научных исследований государственных академий наук на 2013–2020 гг.

✉ **Для корреспонденции:** Шумянцова Виктория Васильевна
ул. Погодинская, д. 10, г. Москва, 119121; v_shumyantseva@mail.ru

Статья получена: 28.11.2016 Статья принята к печати: 06.12.2016

ANALYSIS OF MILDRONATE EFFECT ON THE CATALYTIC ACTIVITY OF CYTOCHROME P450 3A4

Kuzikov AV^{1,2}, Bulko TV¹, Masamrekh RA², Makhova AA³, Archakov AI^{1,2}, Usanov SA⁴, Shikh EV³, Shumyantseva VV^{1,2}✉

¹ Laboratory of Bioelectrochemistry, Department of Personalized Medicine, Institute of Biomedical Chemistry, Moscow, Russia

² Department of Biochemistry, Biomedical Faculty, Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia

³ Department of Clinical Pharmacology and Propaedeutics of Internal Diseases, Faculty of General Medicine, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

⁴ Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences, Minsk, Republic of Belarus

In this work, we have studied the effect of mildronate on the catalytic properties of cytochrome P450 3A4. The analysis of the catalytic activity was carried out using electrochemical methods, with cytochrome P450 3A4 immobilized on the electrode surface. In the presence of 50 μM mildronate, no increase was observed in the turnover number of cytochrome P450 3A4-dependent N-demethylation of erythromycin. The values of the turnover number k_{cat} , calculated from the product formed by the reaction were $6.1 \pm 0.6 \text{ min}^{-1}$ (P450 3A4 + erythromycin) and $5.5 \pm 1.4 \text{ min}^{-1}$ (P450 3A4 + erythromycin + mildronate). Thus, electroanalysis of cytochrome P450 3A4 catalytic activity demonstrated the possibility of a safe and effective complex drug therapy with concurrent administration of mildronate and the macrolide (erythromycin).

Keywords: cytochrome P450 3A4, antihypoxic drugs, electroanalysis, enzyme electrodes, drug interference, mildronate

Funding: this work was conducted under the Federal Fundamental Scientific Research Program for 2013–2020.

✉ **Correspondence should be addressed:** Victoria Shumyantseva
ul. Pogodinskaya, d. 10, Moscow, Russia, 119121; v_shumyantseva@mail.ru

Received: 28.11.2016 Accepted: 06.12.2016

Трансляционная медицина — современное направление развития молекулярной медицины, предусматривающее тесную связь и трансляцию фундаментальных исследований в сферу практического применения в медицине. Изоферменты цитохрома P450 (CYP) — суперсемейство

гем-содержащих монооксигеназ, осуществляющих I фазу биотрансформации ксенобиотиков, в том числе около 75 % лекарственных препаратов, а также метаболизм эндогенных физиологически активных соединений [1, 2]. Цитохром P450-зависимый метаболизм лекарственных

препаратов — главная причина различий в фармакокинетике и индивидуальной реакции на фармакотерапию. Среди 57 изоферментов цитохрома P450 человека 5 основных форм (CYP1A2, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4/5) осуществляют примерно 95 % реакций биотрансформации [3–5]. Изоферменты цитохрома P450 катализируют различные химические реакции: гидроксирование, O-, S-, N-деалкилирование, эпоксирирование, сульфокисление, дезаминирование, дегалогенирование и др. Так как цитохромы P450 имеют широкую субстратную специфичность, исследование взаимодействия лекарственных препаратов в цитохром P450-системах имеет особую клиническую значимость [6–8]. Для доклинической оценки лекарственной интерференции и скорости биотрансформации лекарственных средств в системах *in vitro* разработаны методы электроанализа клинически значимых форм цитохромов P450 [9–12].

В каталитическом цикле цитохромов P450 участвуют белки редокс-партнеры цитохром P450 редуктаза, цитохром b_5 , а донором электронов является никотинамидадениндинуклеотидфосфат (НАДФН). Для проявления каталитической активности необходимо участие всех компонентов сложной цепи переноса электронов. Анализ каталитической активности цитохромов P450 электрохимическими методами не требует белков редокс-партнеров и доноров электронов НАДФН (рис. 1). Электроанализ цитохромов P450 является модельной неинвазивной системой в исследовании механизма биотрансформации ксенобиотиков, лекарственной интерференции. Электрохимические подходы перспективны для исследования фермент-субстратных взаимодействий вследствие высокой чувствительности [13]. В результате каталитической цитохром P450-зависимой реакции в электрохимической системе регистрируется катодный (восстановительный) ток, увеличение которого соответствует дополнительному потоку электронов к органическому субстрату (лекарственному препарату). Катодный ток (имеющий отрицательное значение в отличие от анодных процессов с положительным значением тока) является мерой электрокаталитической активности фермента. Исследование электроаналитических характеристик цитохромов P450 является важным этапом в поиске новых субстратов/ингибиторов этих гемопротеинов в качестве лекарственных препаратов, а также при изучении лекарственной интерференции [14, 15].

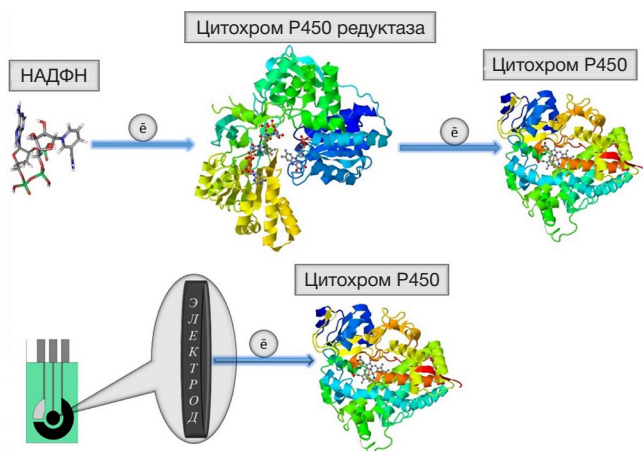


Рис. 1. Схема переноса электронов в монооксигеназной цитохром P450-содержащей системе (сверху) и в электрохимической системе (снизу) Структуры белков взяты из базы данных PDB [16], структура НАДФН — из PubChem [17].

Разработанный нами метод электроанализа каталитической активности цитохромов P450 позволяет использовать систему электрод/фермент на стадии доклинических испытаний как неинвазивный инструмент оценки каталитических функций цитохромов P450 с целью поиска новых субстратов, ингибиторов, модуляторов этих ферментов [18].

Несмотря на значительные достижения медицины в вопросах диагностики и лечения, сердечно-сосудистые заболевания (ССЗ) продолжают лидировать в структуре заболеваемости и смертности наиболее трудоспособной части населения большинства экономически развитых стран, в том числе и России. Разрабатываются новые стратегии лечения ССЗ. Когда была выявлена взаимосвязь свободных жирных кислот (ЖК) с риском смертности от сердечно-сосудистой патологии атеросклеротического генеза, начались исследования ингибиторов парциального β -окисления ЖК pFOX (partial fatty acid oxidation inhibitors) [19]. Метаболические средства, повышающие эффективность использования кислорода, переключаящие метаболизм на более экономные пути, защищающие ткани от последствий оксидативного стресса при реперфузии, должны обладать антиишемическим эффектом за счет влияния на обменные процессы в миокарде [20].

В середине 1970-х гг. в Институте органического синтеза Латвии был синтезирован триметилгидразиния пропионат (мельдоний), который ограничивает транспорт ЖК через мембраны [21]. Показано, что мельдоний способен обеспечить замедление скорости β -окисления ЖК в митохондриях и ограничение транспорта ЖК через клеточные мембраны, что актуально в условиях избыточного накопления ЖК [22]. Мельдоний обеспечивает процессы ишемического preconditionирования за счет снижения скорости трансмембранного транспорта ЖК, ацил-CoA и ацилкарнитина в клетке, уменьшения потребления кислорода, замедления β -окисления ЖК и повышения скорости биосинтеза γ -бутиробетинаина; индуцирует биосинтез NO в эндотелии кровеносных сосудов, уменьшая сопротивление периферических кровеносных сосудов и агрегацию тромбоцитов, увеличивает эластичность мембран эритроцитов; позволяет минимизировать метаболический ацидоз, развивающийся в результате активации анаэробного гликолиза и накопления молочной кислоты. Мельдоний используется в составе комплексной терапии сердечно-сосудистых заболеваний; при пониженной работоспособности, физическом перенапряжении, в послеоперационный период для ускорения реабилитации; при синдроме абстиненции при хроническом алкоголизме [23, 24].

Несмотря на активное использование мельдония в клинике как метаболического антигипоксанта средства в составе комбинированной терапии, его влияние на каталитические функции цитохромов P450 как основных ферментов I фазы биотрансформации ксенобиотиков не исследовалось. При проведении комбинированной фармакотерапии необходимо учитывать, что лекарственная интерференция может иметь как положительные, так и отрицательные последствия для пациента. В связи с этим особое значение приобретает информация о наличии субстратных свойств, возможности ингибирования или индукции изоферментов цитохрома P450 лекарственными средствами, которые используются преимущественно в составе комплексной терапии.

Ранее нами электрохимическими методами были исследованы витамин-антиоксиданты (витамины С, А и Е), а также витаминоподобные вещества (таурин и коэнзим Q),

которые обладали положительным влиянием на электрокаталитическую активность цитохрома P450 3A4 [18, 25]. В связи с этим цель работы состояла в изучении влияния мельдония на каталитические функции цитохрома P450 3A4 — изофермента, участвующего в биотрансформации более 50 % лекарственных препаратов.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Электрохимические исследования проводили с помощью потенциостата/гальваностата Autolab PGSTAT 12 (Metrohm Autolab, Нидерланды), снабженного программным обеспечением GPES (версия 4.9.7). Все измерения проводили при комнатной температуре. Электрохимические исследования цитохрома P450 3A4 проводили в 0,1 М калий-фосфатном буфере, содержащем 0,05 М NaCl, pH 7,4. В работе использовали трехконтактные электроды, полученные методом трафаретной печати (ООО «КолорЭлектроникс», Россия); с графитовыми рабочим и вспомогательным электродами и хлорсеребряным электродом сравнения. Диаметр рабочего электрода 2 мм. Все потенциалы приведены относительно хлорсеребряного Ag/AgCl электрода сравнения. Спектральные измерения проводили с помощью спектрофотометра Cary 100 UV-Vis (Agilent Technologies, США), снабженного программным обеспечением Cary WinUV.

Цикловольтамперограммы регистрировали при скорости развертки потенциала от 10 до 100 мВ/с. Параметры, используемые при исследовании катодной квадратно-волновой вольтамперометрии (КВВА): начальный потенциал +100 мВ, конечный потенциал -600 мВ, шаг потенциала 5 мВ, амплитуда 20 мВ, частота от 10 до 100 Гц.

В работе использовали следующие реактивы: дидодецилдиметиламмония бромид (ДДАБ) и эритромицин фирмы Sigma-Aldrich (США), мельдоний фирмы Grindeks (Латвия), уксусная кислота, аммония ацетат и ацетилацетон фирмы ООО «Спектр-Хим». Препарат рекомбинантного P450 3A4 человека (182 мкМ в 550 мМ калий-фосфатном буфере, pH 7,2, содержащем 0,2 % CHAPS, 1 мМ дитиотреитол и 20 % глицерин) был получен генно-инженерным способом, выделен и охарактеризован в Институте биоорганической химии (Минск, Беларусь). Концентрация фермента определялась спектрофотометрически по образованию комплекса восстановленной формы с углерода монооксидом, используя коэффициент поглощения $\epsilon_{450-490} = 91 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$ [26].

На поверхность рабочего графитового электрода наносили 1 мкл 0,1 М ДДАБ в хлороформе, после испарения хлороформа (10 мин) наносили 1 мкл 18,2 мкМ цитохрома P450 3A4. Электроды оставляли на 12 ч при +4 °С во влажной камере, предотвращающей полное высыхание электродов.

N-деметилазную электрокаталитическую активность цитохрома P450 3A4 по отношению к эритромицину определяли по накоплению одного из продуктов реакции — формальдегида, который образует окрашенное соединение с реактивом Nash (4 М ацетат аммония, 0,1 М ледяная уксусная кислота, 0,04 М ацетилацетон), коэффициент поглощения $\epsilon_{412} = 4 \text{ мМ}^{-1}\text{см}^{-1}$ [27, 28]. Ферментный электрод помещали в электрохимическую ячейку с 1 мл электролитного буфера, содержащего 100 мкМ эритромицина. Электролиз проводили в течение 20 мин при контролируемом потенциале рабочего электрода -0,5 В. После проведения электролиза инкубационную смесь смешивали в соотно-

шении 1 : 1 с реактивом Nash и инкубировали при +37 °С в течение 30 мин для развития окраски. Концентрацию формальдегида, образовавшегося в процессе электрокатализа, определяли спектрально.

На рисунках 3, 4 и в таблице приведены средние значения \pm стандартное отклонение из 3–5 независимых опытов.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Мельдоний относится к классу антигипоксантных средств и используется в составе комбинированной фармакотерапии для различных патологических состояний. Влияние мельдония на каталитические функции цитохрома P450 3A4, иммобилизованного на электроде, полученном методом трафаретной печати (ПГЭ), модифицированном дидодецилдиметиламмония бромидом (ПГЭ/ДДАБ), исследовали методом циклической вольтамперометрии, регистрируя максимальное значение катодного пика. Как следует из рис. 2, мельдоний не влияет на электрохимическое восстановление цитохрома P450 3A4, не вызывает увеличения или снижения восстановительного тока цитохрома P450 3A4, т. е. не проявляет как субстратных, так и ингибиторных свойств по отношению к ферменту. Кроме того, проведенный нами спектральный анализ связывания цитохрома P450 3A4 с мельдонием показал, что мельдоний не вызывает ни I (субстратного), ни II (ингибиторного) типов изменения дифференциального спектра цитохрома P450 3A4, что согласуется с данными, полученными с помощью электрохимической системы.

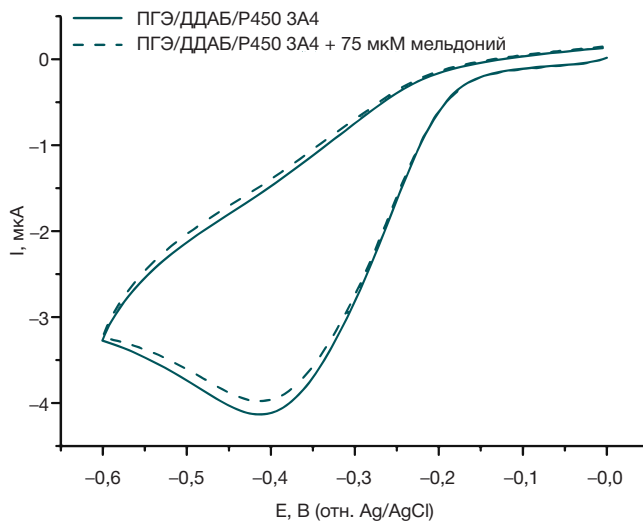


Рис. 2. Циклические вольтамперограммы цитохрома P450 3A4 (—) и в присутствии 75 мкМ мельдония (---)

Фермент был иммобилизован на электроде, модифицированном ДДАБ. Диапазон сканирования от 0 до -0,6 В (отн. Ag/AgCl), скорость развертки потенциала 0,05 В/с.

Таблица. Кинетические параметры P450 3A4-зависимой электрокаталитической N-деметилазной активности в отношении эритромицина

Электрохимическая система	k_{cat} , мин ⁻¹
P450 3A4 + эритромицин	6,1 \pm 0,6
P450 3A4 + мельдоний (50 мкМ) + эритромицин	5,5 \pm 1,4

Примечание. Электролиз проводился при контролируемом напряжении -0,5 В (отн. Ag/AgCl) в течение 20 мин в присутствии 100 мкМ эритромицина.

Исследование концентрационной зависимости мельдония в диапазоне концентраций 10–75 мкМ также подтвердило отсутствие влияния этого препарата на восстановление цитохрома P450 3A4 (рис. 3).

Влияние мельдония на цитохром P450 3A4-зависимую биотрансформацию эритромицина было исследовано при использовании 50 мкМ мельдония и 100 мкМ эритромицина. Реакцию N-деметилирования эритромицина, катализируемую цитохромом P450 3A4, регистрировали по образованию формальдегида. В результате реакции Ханша формальдегид образует окрашенное производное, которое регистрировали спектрально при 412 нм [26]. Как следует из таблицы, каталитические константы k_{cat} электрокаталитических цитохром P450-зависимых реакций имеют близкие значения.

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Эффективность катализа и лекарственную интерференцию оценивали по электрохимической активности иммобилизованного на электроде фермента цитохрома P450 3A4. Для исследования электроаналитических характеристик были использованы вольтамперные отклики электродов, регистрируемые с помощью циклической вольтамперометрии и квадратно-волновой вольтамперометрии. Субстраты соответствующих форм цитохромов P450 вызывают существенное повышение каталитического тока (рис. 4, опыты 2, 5), а ингибиторы не изменяют или снижают максимальные амплитуды токов [13]. Итраконазол, ингибитор цитохрома P450 3A4, не дает увеличение катодного тока при связывании с ферментом, так как не происходит дополнительных процессов переноса электронов в системе (рис. 4, опыт 3).

Ранее было изучено стимулирующее влияние метаболитических антиоксидантных препаратов на первую стадию каталитического цикла цитохромов P450 — восстановление иона железа гема [18]. Исследование лекарственной интерференции при одновременном взаимодействии субстрата цитохрома P450 3A4 диклофенака и таких лекарственных препаратов, как элькар (L-карнитин), антиоксидантное витаминоподобное вещество тиоктовая (альфа-липовая) кислота, показало, что эти препараты не

влияют на каталитический ток, регистрируемый при взаимодействии диклофенака с ферментом (рис. 4, опыты 6–8). Все лекарственные препараты были исследованы в диапазоне концентраций 10–400 мкМ. Такой диапазон рабочих концентраций был выбран на основе анализа данных по определению электрохимической константы Михаэлиса и из данных о концентрации лекарственных препаратов в плазме крови [29]. Направленная регуляция каталитического цикла цитохрома P450 может приводить как к снижению скорости метаболизма лекарственных препаратов, так и к активации биотрансформации субстратов [30–32].

В присутствии 50 мкМ липоевой кислоты в электрохимической системе не наблюдается увеличение электрокаталитической константы P450 3A4-зависимого N-деметилирования эритромицина. Сравнение кинетических параметров позволяет сделать выводы о возможности комбинированной терапии и отсутствии лекарственной интерференции для макролидного антибиотика эритромицина и антиоксидантного метаболитического препарата тиоктовой кислоты.

Препарат мельдоний, так же как и L-карнитин, липовая кислота, не оказывает влияния на электрокаталитическую активность цитохрома P450 3A4.

ВЫВОДЫ

С помощью электроанализа проведено исследование лекарственной интерференции типичных субстратов цитохрома P450 3A4 диклофенака и эритромицина с метаболитическими лекарственными препаратами, обладающими антиоксидантными свойствами, а также с антигипоксантами препаратом мельдонием. Препарат мельдоний, так же как и L-карнитин, липовая кислота, не оказывает влияния на электрокаталитическую активность цитохрома P450 3A4, в результате чего снижается вероятность возникновения межлекарственного взаимодействия на уровне метаболизма лекарственных препаратов при его использовании в составе комплексной фармакотерапии. Данную информацию необходимо учитывать врачам различного профиля при выборе оптимального препарата с антиоксидантными и антигипоксантами свойствами при назначении его в комплексной терапии коморбидных пациентов.

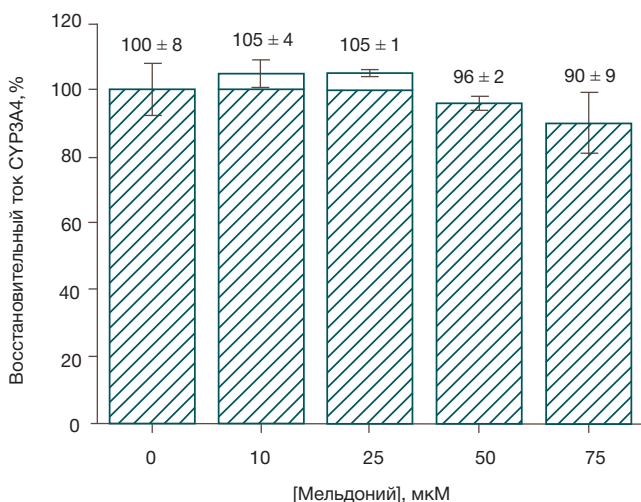


Рис. 3. Зависимость восстановительного тока P450 3A4 (%) от концентрации мельдония (мкМ)

Регистрация проводилась методом циклической вольтамперометрии. Диапазон сканирования от 0 до -0,6 В (отн. Ag/AgCl), скорость развертки потенциала 0,05 В/с.

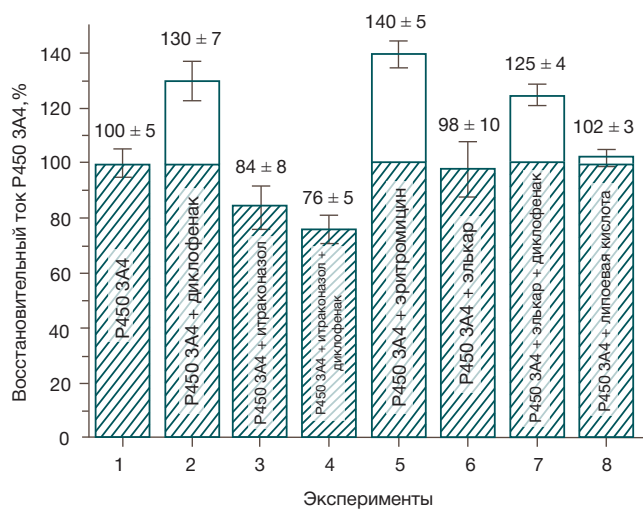


Рис. 4. Интенсивность пиков квадратно-волновых вольтамперограмм в аэробных условиях электродов: (1) P450 3A4; (2) P450 3A4 + диклофенак; (3) P450 3A4 + итраконазол; (4) P450 3A4 + итраконазол + диклофенак; (5) P450 3A4 + эритромицин; (6) P450 3A4 + элькар; (7) P450 3A4 + элькар + диклофенак; (8) P450 3A4 + липовая (тиоктовая) кислота. Значения амплитуд токов КВВА были скорректированы по базовой линии

Литература

- Guengerich FP. Human Cytochrome P450 Enzymes. In: Ortiz de Montellano PR, editor. *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry*. San Francisco: Springer; 2015. p. 523–785.
- Hrycay EG, Bandiera SM. Involvement of Cytochrome P450 in Reactive Oxygen Species Formation and Cancer. *Adv Pharmacol*. 2015; 74: 35–84.
- Hrycay EG, Bandiera SM. The monooxygenase, peroxidase, and peroxygenase properties of cytochrome P450. *Arch Biochem Biophys*. 2012 Jun 15; 522 (2): 71–89.
- Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*. 2013 Apr; 138 (1): 103–41.
- Nebert DW, Russel DW. Clinical importance of the cytochromes P450. *Lancet*. 2002 Oct 12; 360 (9340): 1155–62.
- Zhou SF, Xue CC, Yu XQ, Li C, Wang G. Clinically important drug interactions potentially involving mechanism-based inhibition of cytochrome P450 3A4 and the role of therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit*. 2007 Dec; 29 (6): 687–710.
- Hisaka A, Ohno Y, Yamamoto T, Suzuki H. Prediction of pharmacokinetic drug–drug interaction caused by changes in cytochrome P450 activity using in vivo information. *Pharmacol Ther*. 2010 Feb; 125 (2): 230–48.
- Zhang L, Reynolds KS, Zhao P, Huang SM. Drug interactions evaluation: an integrated part of risk assessment of therapeutics. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010 Mar; 243 (2): 134–45.
- Carrara S, Cavallini A, Erokhin V, De Micheli G. Multi-panel drugs detection in human serum for personalized therapy. *Biosens Bioelectron*. 2011 May 15; 26 (9): 3914–9.
- Schneider E, Clark DS. Cytochrome P450 (CYP) enzymes and the development of CYP biosensors. *Biosens Bioelectron*. 2013 Jan 15; 39 (1): 1–13.
- Rua F, Sadeghi SJ, Castrignanò S, Valetti F, Gilardi G. Electrochemistry of *Canis familiaris* cytochrome P450 2D15 with gold nanoparticles: An alternative to animal testing in drug discovery. *Bioelectrochemistry*. 2015 Oct; 105: 110–6.
- Panicco P, Dodhia VR, Fantuzzi A, Gilardi G. Enzyme-based amperometric platform to determine the polymorphic response in drug metabolism by cytochromes P450. *Anal Chem*. 2011 Mar 15; 83 (6): 2179–86.
- Shumyantseva VV, Bulko TV, Suprun EV, Chalenko YaM, Vagin MYu, Rudakov YuO, et al. Electrochemical investigations of cytochrome P450. *Biochem Biophys Acta*. 2011 Jan; 1814 (1): 94–101.
- Yarman A, Wollenberger U, Scheller FW. Sensors based on cytochrome P450 and CYP mimicking systems. *Electrochim Acta*. 2013; 110: 63–72.
- Fantuzzi A, Mak LH, Capria E, Dodhia V, Panicco P, Collins S, et al. A new standardized electrochemical array for drug metabolic profiling with human cytochromes P450. *Anal Chem*. 2011 May 15; 83 (10): 3831–9.
- The Protein Data Bank [база данных, Интернет]. Rutgers (NJ): the Research Collaboratory for Structural Bioinformatics; 2003– [процитировано 01.12.2016]. Доступно по: <http://www.rcsb.org/>
- PubChem [база данных, Интернет]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004– [процитировано 01.12.2016]. Доступно по: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
- Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Kuzikov AV, Shich EV, Kukes VG, et al. Electrocatalytic cycle of P450 cytochromes: the protective and stimulating roles of antioxidants. *RSC Adv*. 2015; 5: 71306–13.
- Задюченко В. С., Шехян Г. Г., Ялымов А. А., Асымбекова Э. У., Туреева Э. Ф., Шерстянникова О. М. Место мельдония в метаболической цитопротекции. *РМЖ*. 2013; (9): 448–52.
- Михин В. П., Поздняков Ю. М., Хлебодаров Ф. Е., Кольцова О. Н. Милдронат в кардиологической практике — итоги, новые направления, перспективы. *Кардиоваскул. тер. и профил.* 2012; 11 (1): 96–103.
- Стаценко М. Е., Туркина С. В. Метаболическая кардиопротекция мельдонием при ишемической болезни сердца: итоги и перспективы. *Леч. врач*. 2012; (7): 35–9.
- Садовникова И. И. Кардиопротекторы. Недооцененные возможности. *РМЖ*. 2009; (18): 1132–4.
- Самородская И. В. Мельдоний: обзор результатов исследований. *РМЖ*. 2013; (36): 1818–24.
- Сыркин А. Л., Добровольский А. В. Антиишемические препараты метаболического действия. *Consilium Medicum*. 2002; 4 (11): 572–5.
- Шумянцова В. В., Махова А. А., Булко Т. В., Бернхардт Р., Кузиков А. В., Ших Е. В. и др. Таурин как модулятор каталитической активности цитохрома P450 3A4. *Биохимия*. 2015; 80 (3): 439–48.
- Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification, and properties. *J Biol Chem*. 1964 Jul; 239: 2379–85.
- Nash T. The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *Biochem J*. 1953 Oct; 55 (3): 416–21.
- Sadeghi S, Ferrero S, Di Nardo G, Gilardi G. Drug–drug interactions and cooperative effects detected in electrochemically driven human cytochrome P450 3A4. *Bioelectrochemistry*. 2012 Aug; 86: 87–91.
- Baj-Rossi C, Müller C, von Mandach U, De Micheli G, Carrara S. Faradic Peaks Enhanced by Carbon Nanotubes in Microsomal Cytochrome P450 Electrodes. *Electroanalysis*. 2015; 27: 1507–15.
- Makhova AA, Shumyantseva VV, Shich EV, Bulko TV, Kukes VG, Sizova OS, et al. Electroanalysis of cytochrome P450 3A4 catalytic properties with nanostructured electrodes: The influence of vitamins B group on diclofenac metabolism. *BioNanoSci*. 2011; 1: 46–52.
- Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Shich EV, Kukes VG, Usanov SA, et al. The effect of antioxidants on electrocatalytic activity of cytochrome P450 3A4. *Biochem (Mosc) Suppl Ser B Biomed Chem*. 2013; 7: 160–4.
- Kimura Y, Ito H, Ohnishi R, Hatano T. Inhibitory effects of polyphenols on human cytochrome P450 3A4 and 2C9 activity. *Food Chem Toxicol*. 2010 Jan; 48 (1): 429–35.

References

- Guengerich FP. Human Cytochrome P450 Enzymes. In: Ortiz de Montellano PR, editor. *Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry*. San Francisco: Springer; 2015. p. 523–785.
- Hrycay EG, Bandiera SM. Involvement of Cytochrome P450 in Reactive Oxygen Species Formation and Cancer. *Adv Pharmacol*. 2015; 74: 35–84.
- Hrycay EG, Bandiera SM. The monooxygenase, peroxidase, and peroxygenase properties of cytochrome P450. *Arch Biochem Biophys*. 2012 Jun 15; 522 (2): 71–89.
- Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*. 2013 Apr; 138 (1): 103–41.
- Nebert DW, Russel DW. Clinical importance of the cytochromes P450. *Lancet*. 2002 Oct 12; 360 (9340): 1155–62.
- Zhou SF, Xue CC, Yu XQ, Li C, Wang G. Clinically important drug interactions potentially involving mechanism-based inhibition of cytochrome P450 3A4 and the role of therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit*. 2007 Dec; 29 (6): 687–710.
- Hisaka A, Ohno Y, Yamamoto T, Suzuki H. Prediction of pharmacokinetic drug–drug interaction caused by changes in cytochrome P450 activity using in vivo information. *Pharmacol Ther*. 2010 Feb; 125 (2): 230–48.
- Zhang L, Reynolds KS, Zhao P, Huang SM. Drug interactions evaluation: an integrated part of risk assessment of therapeutics. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2010 Mar; 243 (2): 134–45.

9. Carrara S, Cavallini A, Erokhin V, De Micheli G. Multi-panel drugs detection in human serum for personalized therapy. *Biosens Bioelectron.* 2011 May 15; 26 (9): 3914–9.
10. Schneider E, Clark DS. Cytochrome P450 (CYP) enzymes and the development of CYP biosensors. *Biosens Bioelectron.* 2013 Jan 15; 39 (1): 1–13.
11. Rua F, Sadeghi SJ, Castrignanò S, Valetti F, Gilardi G. Electrochemistry of *Canis familiaris* cytochrome P450 2D15 with gold nanoparticles: An alternative to animal testing in drug discovery. *Bioelectrochemistry.* 2015 Oct; 105: 110–6.
12. Panicco P, Dodhia VR, Fantuzzi A, Gilardi G. Enzyme-based amperometric platform to determine the polymorphic response in drug metabolism by cytochromes P450. *Anal Chem.* 2011 Mar 15; 83 (6): 2179–86.
13. Shumyantseva VV, Bulko TV, Suprun EV, Chalenko YaM, Vagin MYu, Rudakov YuO, et al. Electrochemical investigations of cytochrome P450. *Biochem Biophys Acta.* 2011 Jan; 1814 (1): 94–101.
14. Yarman A, Wollenberger U, Scheller FW. Sensors based on cytochrome P450 and CYP mimicking systems. *Electrochim Acta.* 2013; 110: 63–72.
15. Fantuzzi A, Mak LH, Capria E, Dodhia V, Panicco P, Collins S, et al. A new standardized electrochemical array for drug metabolic profiling with human cytochromes P450. *Anal Chem.* 2011 May 15; 83 (10): 3831–9.
16. The Protein Data Bank [database on the Internet]. Rutgers (NJ): the Research Collaboratory for Structural Bioinformatics; 2003– [cited 2016 Dec 1]. Available from: <http://www.rcsb.org/>
17. PubChem [database on the Internet]. Bethesda (MD): National Library of Medicine (US), National Center for Biotechnology Information; 2004– [cited 2016 Dec 1]. Available from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>
18. Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Kuzikov AV, Shich EV, Kukes VG, et al. Electrocatalytic cycle of P450 cytochromes: the protective and stimulating roles of antioxidants. *RSC Adv.* 2015; 5: 71306–13.
19. Zadionchenko VS, Shekhyan GG, Yalymov AA, Asymbekova EU, Tugeeva EF, Sherstyannikova OM. Mesto mel'doniya v metabolicheskoi tsitoprotektsii. *Russkii meditsinskii zhurnal.* 2013; (9): 448–52. Russian.
20. Mikhin VP, Pozdnyakov YuM, Khlebodarov FE, Koltsova ON. [Mildronate in cardiology practice — current evidence, ongoing research, and future perspectives]. *Kardiovaskulyarnaya terapiya i profilaktika.* 2012; 11 (1): 96–103. Russian.
21. Statsenko ME, Turkina SV. Metabolicheskaya kardioprotektsiya mel'doniem pri ishemicheskoi bolezni serdtsa: itogi i perspektivy. *Lechashchii vrach.* 2012; (7): 35–9. Russian.
22. Sadovnikova II. Kardioprotektory. *Nedootsenennyye vozmozhnosti. Russkii meditsinskii zhurnal.* 2009; (18): 1132–4. Russian.
23. Samorodskaya IV. Mel'donii: obzor rezul'tatov issledovaniy. *Russkii meditsinskii zhurnal.* 2013; (36): 1818–24. Russian.
24. Syrkin AL, Dobrovolskii AV. Antiishemicheskie preparaty metabolicheskogo deystviya. *Consilium Medicum.* 2002; 4 (11): 572–5. Russian.
25. Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Bernhardt R, Kuzikov AV, Shich EV, et al. Taurine modulates catalytic activity of cytochrome P450 3A4. *Biochemistry (Mosc).* 2015 Mar; 80 (3): 366–73.
26. Omura T, Sato R. The carbon monoxide-binding pigment of liver microsomes. II. Solubilization, purification, and properties. *J Biol Chem.* 1964 Jul; 239: 2379–85.
27. Nash T. The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch reaction. *Biochem J.* 1953 Oct; 55 (3): 416–21.
28. Sadeghi S, Ferrero S, Di Nardo G, Gilardi G. Drug–drug interactions and cooperative effects detected in electrochemically driven human cytochrome P450 3A4. *Bioelectrochemistry.* 2012 Aug; 86: 87–91.
29. Baj-Rossi C, Müller C, von Mandach U, De Micheli G, Carrara S. Faradic Peaks Enhanced by Carbon Nanotubes in Microsomal Cytochrome P450 Electrodes. *Electroanalysis.* 2015; 27: 1507–15.
30. Makhova AA, Shumyantseva VV, Shich EV, Bulko TV, Kukes VG, Sizova OS, et al. Electroanalysis of cytochrome P450 3A4 catalytic properties with nanostructured electrodes: The influence of vitamins B group on diclofenac metabolism. *BioNanoSci.* 2011; 1: 46–52.
31. Shumyantseva VV, Makhova AA, Bulko TV, Shich EV, Kukes VG, Usanov SA, et al. The effect of antioxidants on electrocatalytic activity of cytochrome P450 3A4. *Biochem (Mosc) Suppl Ser B Biomed Chem.* 2013; 7: 160–4.
32. Kimura Y, Ito H, Ohnishi R, Hatano T. Inhibitory effects of polyphenols on human cytochrome P450 3A4 and 2C9 activity. *Food Chem Toxicol.* 2010 Jan; 48 (1): 429–35.