

ISSN 1561-8323 (Print)

ISSN 2524-2431 (Online)

ХИМИЯ
CHEMISTRY

УДК 577.151.45

DOI: 10.29235/1561-8323-2018-62-2-170-177

Поступило в редакцию 26.01.2018

Received 26.01.2018

И. В. Гайдукевич, Т. А. Сушко, А. М. Тумилович, А. А. Гилеп,
член-корреспондент С. А. Усанов*Институт биоорганической химии Национальной академии наук Беларуси, Минск, Республика Беларусь***ОСОБЕННОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ АЗОЛСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ
С ПОЛИМОРФНЫМИ ИЗОФОРМАМИ CYP2C9**

Аннотация. Азолсодержащие соединения часто назначаются совместно с другими классами лекарственных средств, а также широко применяются в сельском хозяйстве в качестве пестицидов. Помимо целевого противогрибкового действия, данный класс соединений может непосредственно влиять на цитохромы P450 человека, ингибируя их активность, и тем самым замедляя метаболизм и выведение других лекарственных средств из организма, вызывая токсический эффект или полное отсутствие эффекта препарата. В условиях современной полифармации важно учитывать влияние генетического полиморфизма цитохромов P450 как на метаболизм отдельных лекарственных средств, так и на межлекарственные взаимодействия. В данной работе проведено комплексное сравнительное исследование по оценке взаимодействия различных пестицидов и противогрибковых лекарственных средств с активным центром CYP2C9*1, CYP2C9*2, CYP2C9*3 человека. Показано, что генетический полиморфизм значительно влияет на параметры связывания азолсодержащих соединений с активным центром CYP2C9. **Полученные данные** позволяют предсказывать межлекарственные взаимодействия, а также изменения метаболизма лекарственных средств в присутствии специфических ксенобиотиков.

Ключевые слова: CYP2C9, полиморфизм, противогрибковые средства, пестициды, ингибирование

Для цитирования: Особенности взаимодействия азолсодержащих соединений с полиморфными изоформами CYP2C9 / И. В. Гайдукевич [и др.] // Докл. Нац. акад. наук Беларуси. – 2018. – Т. 62, № 2. – С. 170–177. DOI: 10.29235/1561-8323-2018-62-2-170-177

Irina V. Haidukevich, Tatyana A. Sushko, Anastasia M. Tumilovich, Andrei A. Gilep,
Corresponding Member Sergei A. Usanov*Institute of Bioorganic Chemistry of National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***PECULIARITIES OF INTERACTION OF AZOLE-CONTAINING DRUGS AND PESTICIDES
WITH CYP2C9 POLYMORPHIC ISOFORMS**

Abstract. Azole-containing compounds are often co-administrated with different classes of medications, and are widely used as pesticides in agriculture. Besides the main action, azole-containing compounds can directly affect the human cytochrome P450 system, inhibiting the human CYP catalytic activity, and thereby leading to metabolism disturbances and the elimination of other drugs, causing the toxic effect or resulting in a complete absence of the effect of the drug used. In the context of polypharmacy, it is important to take into account the influence of the genetic polymorphism of CYP2C9 both on the metabolism of individual drugs and on drug-drug interactions. In this paper, a comprehensive comparative study was conducted to assess the binding of various pesticides and antifungal drugs to the active center of CYP2C9*1, CYP2C9*2, CYP2C9*3. We have shown significant differences in the azole affinity to CYP2C9*1, CYP2C9*2, and CYP2C9*3. The obtained findings allow us to predict drug-drug interactions, as well as changes in the metabolism of drugs in the presence of specific xenobiotics.

Keywords: CYP2C9, polymorphism, azole antifungal drugs, pesticides, inhibition

For citation: Haidukevich I. V., Sushko T. A., Tumilovich A. M., Gilep A. A., Usanov S. A. Peculiarities of interaction of azole-containing drugs and pesticides with CYP2C9 polymorphic isoforms. *Doklady Natsional'noi akademii nauk Belarusi = Doklady of the National Academy of Sciences of Belarus*, 2018, vol. 62, no. 2, pp. 170–177 (in Russian). DOI: 10.29235/1561-8323-2018-62-2-170-177

Введение. В настоящее время одновременное применение нескольких лекарственных средств (так называемая полифармация) является обычной медицинской практикой, однако при совместном назначении лекарственных средств необходимо учитывать нежелательные межлекарственные взаимодействия. Противогрибковые препараты азольного ряда являются одними из наиболее часто назначаемых лекарственных средств. Данный класс лекарственных средств включает в себя производные имидазола (например, кетоконазол, миконазол), триазолы (например, итраконазол, флуконазол), тиазолы (абафунгин). Противогрибковая активность данного класса веществ обусловлена ингибирующим действием на ланостерин-14 α -деметилазу (CYP51) – фермент, участвующий в биосинтезе эргостерола – главного компонента клеточной стенки грибов [1]. Ввиду межвидового структурного сходства цитохромов P450, азолы также могут взаимодействовать с цитохромами P450 человека, снижая их активность. Ингибирование каталитической активности цитохромов P450 человека азолсодержащими соединениями может замедлять метаболизм и выведение других лекарственных средств, вызывая токсический эффект или полное отсутствие эффекта применяемого лекарственного средства. Азолсодержащие пестициды и лекарственные средства могут также приводить к нарушению биосинтеза эндогенных соединений, изменяя метаболизм и приводя к токсическим эффектам.

Цитохром CYP2C9 является одним из важнейших представителей подсемейства CYP2C и участвует в биотрансформации более 100 лекарственных средств. В гене CYP2C9 выявлено 60 аллельных вариантов (<https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C9>). В европейской популяции наиболее часто встречаемыми аллельными вариантами, влияющими на каталитическую активность данного фермента, являются CYP2C9*2 (rs1799853) и CYP2C9*3 (rs1057910) (рис. 1).

При совместном назначении лекарственных средств важно учитывать влияние генетического полиморфизма CYP2C9 на межлекарственные взаимодействия, однако на сегодняшний день проведено несколько исследований, в которых сравнивается влияние лишь некоторых азолсодержащих противогрибковых соединений на каталитическую активность полиморфных изоформ CYP2C9 [2–4].

В данной работе нами проведено комплексное сравнительное исследование по оценке взаимодействия различных пестицидов и противогрибковых лекарственных средств с активным центром CYP2C9*1, CYP2C9*2, CYP2C9*3 человека.

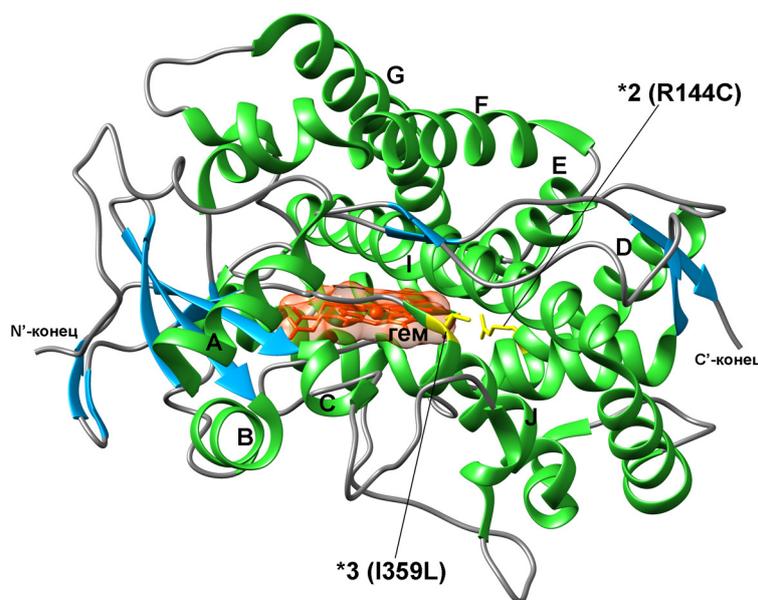


Рис. 1. Пространственная структура рекомбинантного тронкированного CYP2C9*1 (PDB ID: 5W0C). *2 (R144C) и *3 (I359L) обозначены аминокислотные замены, приводящие к образованию полиморфных изоформ CYP2C9*2 и CYP2C9*3 соответственно

Fig. 1. Spatial structure of recombinant truncated CYP2C9*1 (PDB ID: 5W0C). *2 (R144C) and *3 (I359L) denote amino acid substitutions leading to the formation of polymorphic isoforms CYP2C9*2 and CYP2C9*3

Материалы и методы исследования. В работе использовались следующие реактивы: NADPH, трис-основание, ацетонитрил, метанол, хлорная кислота, изоцитрат натрия, изоцитратдегидрогеназа, β -меркаптоэтанол, персульфат аммония, TEMED, диклофенак, миконазол, флуконазол, клотримазол, эконазол, кетоконазол, тебуконазол, эпоксиназол, пенконазол, диниконазол, дифеноконазол, пропиконазол, ципроконазол, триадимефон (Sigma, США); **ледяная уксусная кислота**, NaOH (Диа М, Россия); глицерин, динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА) (Acros organics, Германия).

Рекомбинантные белки. Клонирование, выделение и очистка рекомбинантных СУР2С9*1, СУР2С9*2 и СУР2С9*3, использованных в работе, осуществлялись по описанной нами ранее методике [5].

Спектрофотометрическое титрование. Спектрофотометрическое титрование СУР2С9 и его полиморфных форм потенциальными ингибиторами из группы противогрибковых препаратов проводили при комнатной температуре в 50 мМ калий-фосфатном буфере (рН 7,4). Для титрования использовали кварцевые кюветы с длиной оптического пути 1 см. Каждая кювета содержала 1 мкМ белка. В опытную кювету добавляли раствор лиганда, в контрольную – равный объем растворителя. Однократно вносимый объем раствора лиганда (или растворителя) должен быть не более 3 % от общего объема раствора белка в кювете (1–3 мкл). Далее с помощью спектрофотометра Shimadzu UV-3000 записывали спектр поглощения в диапазоне длин волн 350–500 нм. Детектировали максимум поглощения в диапазоне длин волн 425–430 нм, а минимум поглощения – при 390–410 нм.

Константу диссоциации (K_d) определяли с помощью программы Origin как параметр уравнения:

$$A = \Delta A_{\max} / (2E_i)((S + E_i + K_d) - ((S + E_i + K_d)^2 - (4SE_i))^{1/2}),$$

где S – концентрация лиганда; E_i – концентрация белка (цитохром Р450); A – наблюдаемая величина поглощения; ΔA_{\max} – максимальное изменение поглощения; K_d – константа диссоциации для комплекса белок–лиганд.

Структурные формулы тестируемых азол- и триазолсодержащих соединений, использованных в данной работе, представлены на рис. 2.

Диклофенак-4-гидроксилирующая активность СУР2С9 и его полиморфных форм. Определение диклофенак-4-гидроксилирующей активности СУР2С9 осуществляли в реконструированной *in vitro* системе, содержащей высокоочищенные рекомбинантные белки СУР2С9 (*H. sapience*) и CPR (NADPH-цитохром Р450 редуктазу) (*R. norvegicus*), при 37 °С в 50 мМ трис-НСl буфере, содержащем 10 мМ MgCl₂, рН 7,2. **Небольшие аликвоты концентрированных белковых препаратов СУР2С9 и CPR смешивали в соотношении 1 : 2 (0,5 мкМ СУР2С9 и 1 мкМ CPR), инкубировали** при комнатной температуре 5 мин. Субстрат диклофенак (Sigma) растворяли в этаноле, добавляли в реакционную смесь до конечной концентрации 100 мкМ и инкубировали на водяной бане 10 мин при 37 °С. Реакцию запускали добавлением NADPH-регенерирующей системы (0,25 мМ NADPH, 8 мМ изоцитрат натрия, 0,1 ед/мл изоцитрат-дегидрогеназы). Конечный объем реакционной смеси составлял 0,5 мл. Через 5 и 30 мин реакция гидроксилирования останавливалась путем добавления 4,5 мл хлористого метилена. Содержимое пробирок тщательно встряхивалось и центрифугировалось при 3000 об/мин 10 мин. Водную фазу аккуратно удаляли, а органическую фазу высушивали в струе аргона. Высушенные образцы перерастворяли в 50 мМ трис-НСl буфере, содержащем 10 мМ MgCl₂, рН 7,2. Затем 100 мкл полученной смеси наносили на хроматографическую колонку Eclipse Plus C18 (4,6 × 250 мм; размер частиц 5 мкм; Agilent). ВЭЖХ проводили на хроматографе Agilent 1200 Series, оснащенном УФ-детектором на диодной матрице. Элюция колонки осуществлялась при скорости потока 1 мл/мин в условиях линейного градиента от мобильной фазы А (9 % ацетонитрила, 70 % метанола, 0,6 мМ хлорной кислоты, 21 % деионизированной воды) до мобильной фазы Б (100 % метанол). **Элюат анализировался при длине волны 280 нм.** Температура колонки составляла 37 °С [6].

Каталитическая активность рассчитывалась исходя из количества образованного в ходе реакции продукта (нмоль) в единицу времени (мин) на 1 нмоль цитохрома Р450 и выражалась в мин⁻¹. Активность определяли по формуле

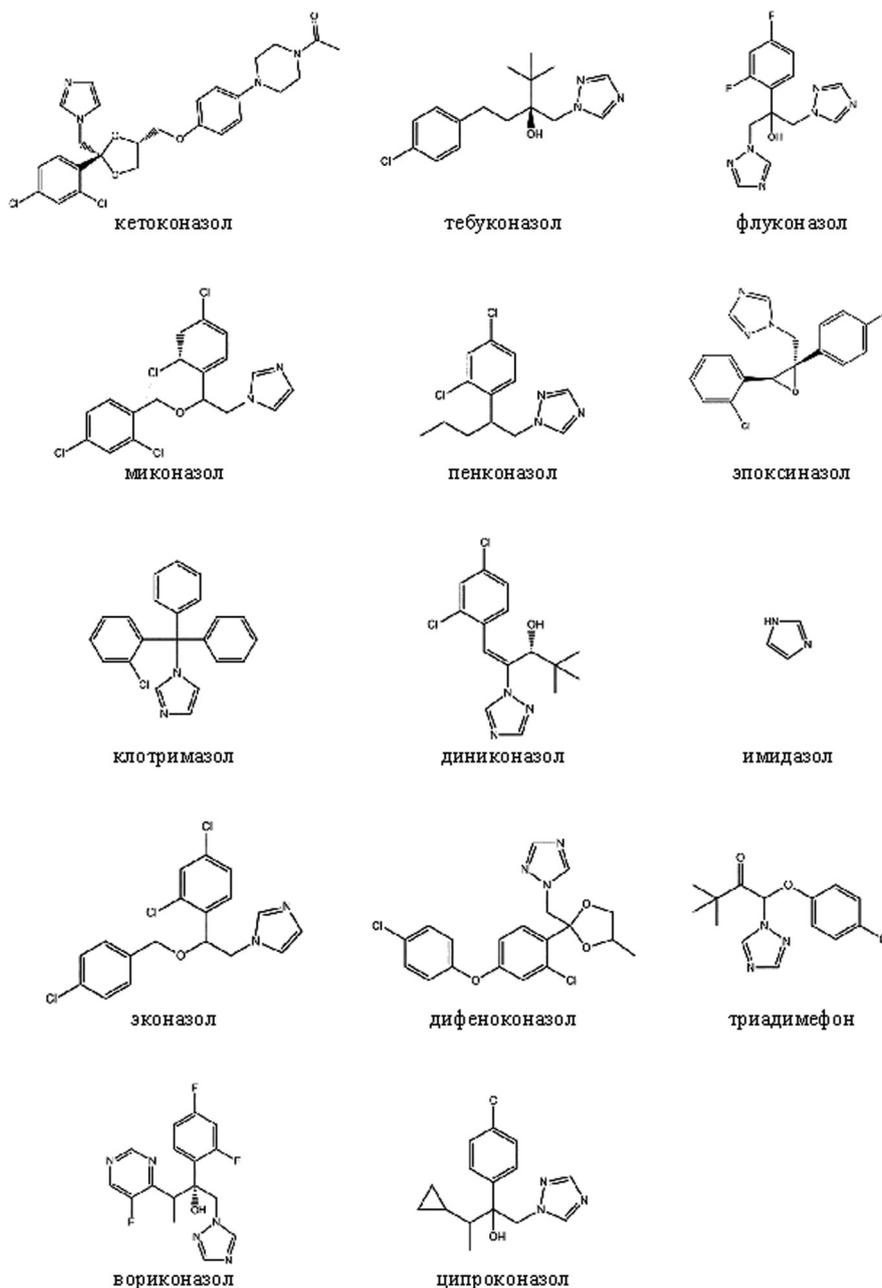


Рис. 2. Структурные формулы азол- и триазолсодержащих соединений, использованных при спектрофотометрическом титровании CYP2C9*1, CYP2C9*2, CYP2C9*3

Fig. 2. Azole-containing ligands that were used for spectroscopic titration of CYP2C9*1, CYP2C9*2, CYP2C9*3

$$a = k A_s c_s / A_p c_E t,$$

где k – поправочный множитель (в данном случае он равен 1, так как коэффициенты молярной экстинкции субстрата и продукта на длине волны детекции равны); A_s – площадь под хроматографическим пиком, соответствовавшим времени выхода субстрата; c_s – концентрация субстрата; A_p – площадь под хроматографическим пиком, соответствовавшим времени выхода продукта; c_E – концентрация фермента в реакционной смеси; t – время (минуты) с момента начала реакции до остановки.

Результаты и их обсуждение. Связывание азолсодержащего соединения с CYP2C9 приводит к замещению молекулы воды с дистальной стороны железа гема на атом азота, что приводит к возникновению спектральных изменений II типа (рис. 3).

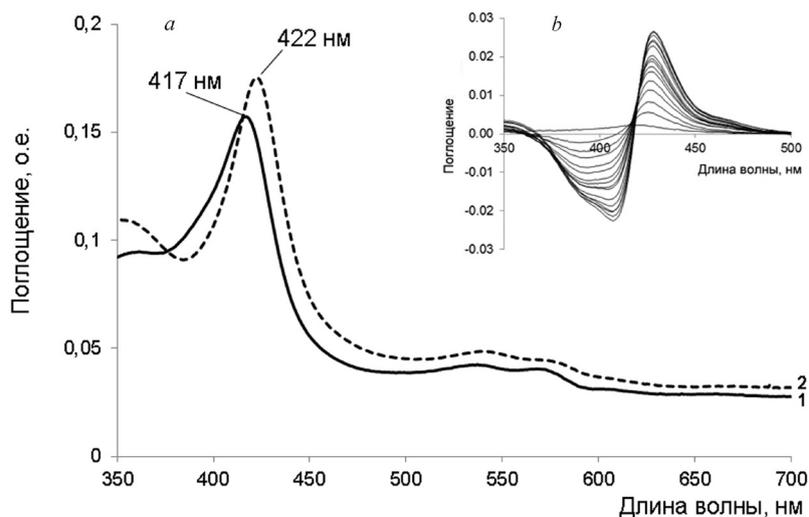


Рис. 3. Спектральные изменения, индуцируемые эконазолом в активном центре СУР2С9*1: *a* – абсолютный спектр СУР2С9*1 (1 – 1 мкМ белка в 50 мМ калий-фосфатном буфере; 2 – 1 мкМ белка в 50 мМ калий-фосфатном буфере при добавлении 40 мкМ эконазола); *b* – разностный спектр взаимодействия препарата рекомбинантного СУР2С9*1 с эконазолом

Fig. 3. Spectral changes, induced in active center of CYP2C9*1 by econazole: *a* – absolute spectra of CYP2C9*1 (1 – 1 μM of protein in 50 mM potassium-phosphat buffer (pH 7.4); 2 – 1 μM of protein in 50 mM potassium-phosphat buffer pH 7.4 with addition of econazole); *b* – difference spectra of interaction of recombinant CYP2C9*1 with econazole

Сравнение аффинности производных имидазола, наиболее часто используемых в медицинской практике, проводилось с использованием спектрофотометрического титрования. Значения K_d , полученные после обработки данных спектрофотометрического титрования, представлены в табл. 1.

Т а б л и ц а 1. Параметры, характеризующие взаимодействие противогрибковых азолсодержащих лекарственных средств с полиморфными изоформами СУР2С9

Table 1. Parameters characterizing the interaction of antifungal azoles with allelic variants of recombinant human CYP2C9

Азолсодержащее соединение Azole-containing compound	СУР2С9*1		СУР2С9*2		СУР2С9*3	
	$K_d \pm \sigma$, мкМ	$\Delta A_{\max} \pm \sigma$	$K_d \pm \sigma$, мкМ	$\Delta A_{\max} \pm \sigma$	$K_d \pm \sigma$, мкМ	$\Delta A_{\max} \pm \sigma$
Кетоконазол	$0,135 \pm 0,021$	$0,0125 \pm 0,0005$	$0,25 \pm 0,01$	$0,042 \pm 0,0025$	$0,29 \pm 0,04$	$0,025 \pm 0,001$
Миконазол	$0,205 \pm 0,063$	$0,038 \pm 0,010$	$0,27 \pm 0,10$	$0,041 \pm 0,001$	$0,58 \pm 0,03$	$0,033 \pm 0,001$
Клотримазол	$0,33 \pm 0,07$	$0,023 \pm 0,007$	$0,23 \pm 0,08$	$0,031 \pm 0,002$	$0,315 \pm 0,004$	$0,023 \pm 0,009$
Эконазол	$0,15 \pm 0,014$	$0,035 \pm 0,001$	$0,41 \pm 0,09$	$0,04 \pm 0,002$	$0,055 \pm 0,0075$	$0,045 \pm 0,0017$
Вориконазол	$11,85 \pm 2,89$	$0,01 \pm 0,0004$	$2,9 \pm 0,5$	$0,021 \pm 0,006$	$1180 \pm 229,8$	$0,013 \pm 0,001$
Имидазол	$142,81 \pm 6,18$	$0,037 \pm 0,002$	$65,98 \pm 28,53$	$0,047 \pm 0,002$	$88 \pm 5,65$	$0,033$
Флуконазол	–	–	–	–	–	–

П р и м е ч а н и я: σ – стандартное отклонение; K_d – константа диссоциации комплекса лиганд–белок; ΔA_{\max} – максимальное изменение поглощения.

Notes: σ – standard deviation; K_d – dissociation constant of the ligand–protein complex; ΔA_{\max} – maximum absorption change.

Полученные данные свидетельствуют, что из семи исследованных веществ, кетоконазол, миконазол, клотримазол и эконазол очень прочно связываются со всеми тремя изоформами СУР2С9. Значение K_d для кетоконазола увеличивается в ряду СУР2С9*1 > СУР2С9*2 > СУР2С9*3 ($0,135 > 0,25 > 0,29$ мкМ). Для миконазола значение K_d в 2,8 раза выше в системе с изоформой СУР2С9*3 по сравнению с диким типом СУР2С9*1 ($0,58 \pm 0,03$ против $0,205 \pm 0,063$ мкМ соответственно). Мы не наблюдали значительных различий в аффинности клотримазола к СУР2С9*1

и CYP2C9*3 изоформам; аффинность клотримазола по отношению к CYP2C9*2 оказалась слегка выше ($K_d = 0,23 \pm 0,08$ мкМ), чем к CYP2C9*1 ($0,33 \pm 0,07$ мкМ). Эконазол продемонстрировал высокую аффинность ко всем трем изоформам CYP2C9. Особенно интересно, что наибольшую аффинность эконазол имеет к CYP2C9*3 ($K_d = 0,055 \pm 0,006$ мкМ) по сравнению с CYP2C9*2 ($K_d = 0,41 \pm 0,09$ мкМ) и CYP2C9*1 ($K_d = 0,15 \pm 0,014$ мкМ). Вориконазол имеет низкую аффинность к полиморфным изоформам CYP2C9 по сравнению с кетоконазолом, миконазолом, клотримазолом и эконазолом. Мы наблюдали 10-кратное снижение аффинности вориконазола к CYP2C9*3 изоформе ($K_d = 1180 \pm 229,8$ мкМ) по сравнению с диким типом CYP2C9 ($11,85 \pm 2,89$ мкМ). Имидазол также характеризуется слабым связыванием с CYP2C9*1, CYP2C9*2 и CYP2C9*3 ($K_d = 142,81 \pm 6,18$; $65,98 \pm 28,53$ и $88,0 \pm 5,65$ мкМ соответственно).

При исследовании взаимодействия азолсодержащих пестицидов с полиморфными изоформами CYP2C9 в целом нами выявлена более низкая аффинность соединений данного класса к полиморфным изоформам CYP2C9 по сравнению с противогрибковыми лекарственными средствами (табл. 2).

Т а б л и ц а 2. Параметры, характеризующие взаимодействие пестицидов с изоформами CYP2C9

Table 2. Parameters characterizing the interaction of pesticides with allelic variants of recombinant human CYP2C9

Пестицид Pesticide	CYP2C9*1		CYP2C9*2		CYP2C9*3	
	$K_d \pm \sigma$, мкМ	$\Delta A_{\max} \pm \sigma$	$K_d \pm \sigma$, мкМ	$\Delta A_{\max} \pm \sigma$	$K_d \pm \sigma$, мкМ	$\Delta A_{\max} \pm \sigma$
Тебуконазол	$0,76 \pm 0,01$	$0,014 \pm 0,00045$	$0,66 \pm 0,02$	$0,028 \pm 0,00018$	$2,6 \pm 0,37$	$0,026 \pm 0,00011$
Пенконазол	$2,3 \pm 0,5$	$0,021 \pm 0,00092$	$0,48 \pm 0,085$	$0,033 \pm 0,0009$	$3,7 \pm 0,5$	$0,03 \pm 0,001$
Диниконазол	$1,79 \pm 0,6$	$0,013 \pm 0,00086$	$0,07 \pm 0,017$	$0,034 \pm 0,00043$	$2,3 \pm 0,69$	$0,021 \pm 0,001$
Дифеноконазол	$0,19 \pm 0,06$	$0,021 \pm 0,00077$	$0,08 \pm 0,017$	$0,034 \pm 0,00033$	$1 \pm 0,16$	$0,04 \pm 0,0015$
Ципроконазол	$1,85 \pm 0,23$	$0,033 \pm 0,00071$	$0,123 \pm 0,0099$	$0,043 \pm 0,00023$	$1 \pm 0,18$	$0,05 \pm 0,0019$
Триадимефон	$10,3 \pm 2,4$	$0,009 \pm 0,0006$	$4,62 \pm 0,33$	$0,024 \pm 0,00042$	$8,2 \pm 1,7$	$0,0099 \pm 0,00066$
Эпоксиназол	$18,4 \pm 2,3$	$0,014 \pm 0,00037$	$11 \pm 0,51$	$0,023 \pm 0,00032$	$15,3 \pm 1,22$	$0,016 \pm 0,00057$

Пр и м е ч а н и е: σ – стандартное отклонение; K_d – константа диссоциации комплекса лиганд–белок; ΔA_{\max} – максимальное изменение поглощения.

Note: σ – standard deviation; K_d – dissociation constant of the ligand–protein complex; ΔA_{\max} – maximum absorption change.

Тебуконазол демонстрирует относительно высокое сродство к изоформе CYP2C9*1 ($K_d = 0,76 \pm 0,01$ мкМ) и CYP2C9*2 ($K_d = 0,66 \pm 0,02$ мкМ). Мы также наблюдали 2,6-кратное увеличение K_d при связывании тебуконазола с CYP2C9*3 ($K_d = 2,6 \pm 0,37$ мкМ). Кроме того, нами выявлено, что пенконазол, диниконазол, дифеноконазол и ципроконазол характеризуются значительным повышением аффинности к CYP2C9*2 по сравнению с CYP2C9*1. Существенных различий между связывающей способностью CYP2C9*1 и CYP2C9*3 по отношению к пенконазолу, диниконазолу и ципроконазолу не наблюдалось, в отличие от дифеноконазола (K_d для связывания дифеноконазола с CYP2C9*3 в 5 раз выше чем с CYP2C9*1). Эпоксиназол и триадимефон обладают меньшей аффинностью к изоформам CYP2C9 по сравнению с остальными протестированными пестицидами. Для подтверждения данных спектрофотометрического титрования мы провели оценку влияния различных лигандов из числа азолсодержащих лекарственных средств (а именно эконазола, как наиболее аффинного, и вориконазола – как наименее аффинного лиганда) на диклофенак-4-гидроксилирующую активность полиморфных изоформ CYP2C9. Показано, что вориконазол в концентрации до 50 мкМ существенно не влияет на активность CYP2C9*1, CYP2C9*2 и CYP2C9*3 (рис. 4).

Эти данные согласуются с относительно низкой аффинностью вориконазола к CYP2C9*1, CYP2C9*2 и CYP2C9*3, которая была выявлена с помощью спектрофотометрического титрования (табл. 1).

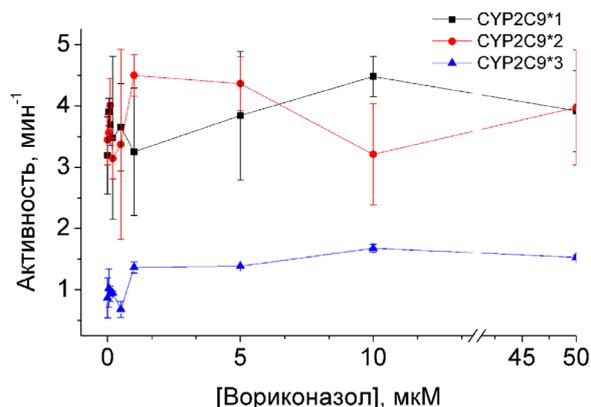


Рис. 4. График изменения диклофенак-4-гидроксилирующей активности полиморфных изоформ CYP2C9 при добавлении вориконазола в диапазоне концентраций 0,05–0,1–0,2–0,5–1–5–10–50 мкМ

Fig. 4. Diclofenac 4'-hydroxylation activity of CYP2C9*1, CYP2C9*2 and CYP2C9*3 in the presence of voriconazole in concentration range 0,05–0,1–0,2–0,5–1–5–10–50 μM

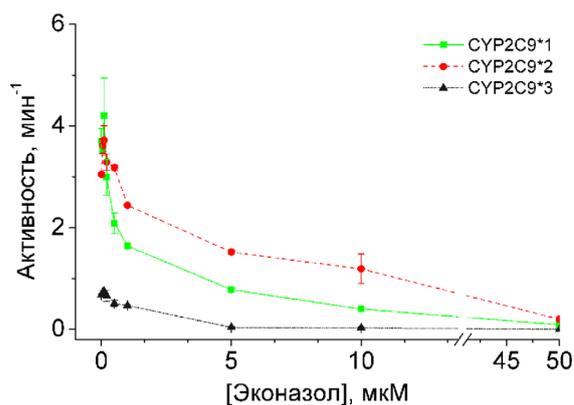


Рис. 5. График изменения диклофенак-4-гидроксилирующей активности полиморфных изоформ CYP2C9 при добавлении эконазола в диапазоне концентраций 0,05–0,1–0,2–0,5–1–5–10–50 мкМ

Fig. 5. Diclofenac 4'-hydroxylation activity of CYP2C9*1, CYP2C9*2 and CYP2C9*3 in the presence of econazole in concentration range 0,05–0,1–0,2–0,5–1–5–10–50 μM

При добавлении в реакционную смесь эконазола наблюдается прямо пропорциональное увеличению концентрации эконазола ингибирование диклофенак-4-гидроксилирующей активности полиморфных изоформ CYP2C9 (рис. 5).

CYP2C9*1 теряет 50 % своей каталитической активности при концентрации эконазола 0,5 мкМ; при концентрации эконазола 50 мкМ CYP2C9*1 активен всего лишь на 2 %. В случае CYP2C9*2 потеря 50 % активности наблюдается при концентрации эконазола 5 мкМ, что в 10 раз больше, чем у CYP2C9*1. При 50 мкМ эконазола CYP2C9*2 активен на 7 %. CYP2C9*3 теряет 50 % активности при концентрации эконазола 2 мкМ. Дальнейшее увеличение концентрации эконазола приводит к полному ингибированию активности CYP2C9*3. В результате проведенных экспериментов показано, что эконазол сильно ингибирует диклофенак-4-гидроксилирующую активность CYP2C9, а ингибирующий эффект наиболее выражен у изоформы CYP2C9*3, что согласуется с данными спектрофотометрического титрования (табл. 1).

Таким образом, нами проведена комплексная сравнительная оценка взаимодействия пестицидов и лекарственных препаратов, относящихся к группе азолов и триазолов, с активным центром полиморфных вариантов CYP2C9 человека. Показано, что генетический полиморфизм значительно влияет на параметры связывания соединений данных классов с активным центром CYP2C9. Полученные данные важны для предсказания межлекарственного взаимодействия с учетом генетического профиля пациента.

Список использованных источников

1. Heeres, J. Conazoles / J. Heeres, L. Meerpoel, P. Lewi // *Molecules*. – 2010. – Vol. 15, N 6. – P. 4129–4188. DOI: 10.3390/molecules15064129
2. Niwa, T. Effect of antifungal drugs on cytochrome P450 (CYP) 2C9, CYP2C19, and CYP3A4 activities in human liver microsomes / T. Niwa, T. Shiraga, A. Takagi // *Biol. Pharm. Bull.* – 2005. – Vol. 28, N 9. – P. 1805–1808. DOI: 10.1248/bpb.28.1805
3. Niwa, T. Substrate Specificity of Human Cytochrome P450 (CYP) 2C Subfamily and Effect of Azole Antifungal Agents on CYP2C8 / T. Niwa, Y. Imagawa // *J. Pharm. Pharm. Sci.* – 2016. – Vol. 19, N 4. – P. 423–429. DOI: 10.18433/j31s53
4. Niwa, T. The Effect of Genetic Polymorphism on the Inhibition of Azole Antifungal Agents Against CYP2C9-Mediated Metabolism / T. Niwa, T. Hata // *J. Pharm. Sci.* – 2016. – Vol. 105, N 3. – P. 1345–1348. DOI: 10.1016/j.xphs.2016.01.007
5. Crespi, C. L. Determination of CYP2C9-catalyzed diclofenac 4'-hydroxylation by high-performance liquid chromatography / C. L. Crespi, T. K. H. Chang, D. J. Waxman // *Cytochrome P450 Protocols. Methods in Molecular Biology* / eds. by I. R. Phillips, E. A. Shephard. – Totowa, NJ: Humana Press, 2006. – Vol. 320. – P. 109–114. DOI: 10.1385/1-59259-998-2:109
6. Клонирование, гетерологическая экспрессия, выделение и очистка рекомбинантных белков CYP2C9*1, CYP2C9*2 и CYP2C9*3 человека / И. В. Гайдукевич [и др.] // *Весці Нац. акад. навук Беларусі. Сер. хім. навук.* – 2012. – № 3. – С. 105–111.

References

1. Heeres J., Meerpoel L., Lewi P. Conazoles. *Molecules*, 2010, vol. 15, no. 6, pp. 4129–4188. DOI: 10.3390/molecules15064129
2. Niwa T., Shiraga T., Takagi A. Effect of antifungal drugs on cytochrome P450 (CYP) 2C9, CYP2C19, and CYP3A4 activities in human liver microsomes. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 2005, vol. 28, no. 9, pp. 1805–1808. DOI: 10.1248/bpb.28.1805
3. Niwa T., Imagawa Y. Substrate Specificity of Human Cytochrome P450 (CYP) 2C Subfamily and Effect of Azole Antifungal Agents on CYP2C8. *Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2016, vol. 19, no. 4, pp. 423–429. DOI: 10.18433/j31s53
4. Niwa T., Hata T. The Effect of Genetic Polymorphism on the Inhibition of Azole Antifungal Agents Against CYP2C9-Mediated Metabolism. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2016, vol. 105, no. 3, pp. 1345–1348. DOI: 10.1016/j.xphs.2016.01.007
5. Crespi C. L., Chang T. K. H., Waxman D. J. Determination of CYP2C9-Catalyzed Diclofenac 4'-Hydroxylation by High-Performance Liquid Chromatography. Phillips I. R., Shephard E. A. (eds.) *Cytochrome P450 Protocols. Methods in Molecular Biology*. Totowa, NJ, Humana Press, 2006, vol. 320, pp. 109–114. DOI: 10.1385/1-59259-998-2:109
6. Haidukevich I. V., Gilep A. A., Cherksova T. S., Usanov S. A. Cloning, heterologous expression, isolation and purification of the cytochrome human CYP2C9*1, CYP2C9*2 and CYP2C9* proteins. *Vestsi Natsyyanal'nai akademii navuk Belarusi. Seryya khimichnykh navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus, chemical series*, 2012, no. 3, pp. 105–111 (in Russian).

Информация об авторах

Гайдукевич Ирина Витальевна – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: haidukevich@iboch.bas-net.by.

Сушко Татьяна Алексеевна – канд. хим. наук, ст. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь).

Тумилович Анастасия Михайловна – науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: a.tumi34@gmail.com.

Гилеп Андрей Александрович – канд. хим. наук, вед. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: agilep@iboch.bas-net.by.

Усанов Сергей Александрович – член-корреспондент, д-р хим. наук, профессор, гл. науч. сотрудник. Институт биоорганической химии НАН Беларуси (ул. Купревича, 5/2, 220141, Минск, Республика Беларусь). E-mail: usanov@iboch.bas-net.by.

Information about the authors

Haidukevich Irina Vitaljevna – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: haidukevich@iboch.bas-net.by.

Sushko Tatyana Alekseevna – Ph. D. (Chemistry), Senior researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus).

Tumilovich Anastasia Mikhailovna – Researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: a.tumi34@gmail.com.

Gilep Andrei Aleksandrovich – Ph. D. (Chemistry), Leading researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: agilep@iboch.bas-net.by.

Usanov Sergei Aleksandrovich – Corresponding Member, D. Sc. (Chemistry), Professor, Chief researcher. Institute of Bioorganic Chemistry of the National Academy of Sciences of Belarus (5/2, Kuprevich Str., 220141, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: usanov@iboch.bas-net.by.