

10. Клетъчно-молекулярни механизми на окислителния метаболизъм – система на Цитохром P450: структура, функция, изоензими

Доц. д-р М. Мичева дм

10.1.

I Фаза – Цитохром P450

Цитохром P450 ензимна система (**CYP450**) – суперфамилия от изоформи – полисубстратна монооксигеназна система (оксидаза със смесена функция - FMO)

за ендогенни молекули и ксенобиотици (ММ 50 000)

• Локализиран в ендоплазматичния ретикулум (черен дроб, интестинум, бъбрек и др.)

• Мембранно свързана

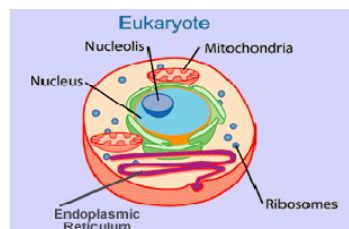
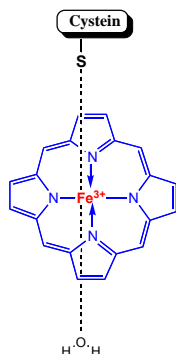
• Електронно транспортна система - окисление, моноокисление

• O_2 , e^- от NADPH, редуктаза

• Хем протеин- Fe^{3+} , флавопротеин

• Инхибира се от CO

• Детоксикира и биоактивира



CHEMICAL REVIEWS

Volume 104, Issue 9 (September 8, 2004)

3947-3980 Mechanism of Oxidation Reactions Catalyzed by Cytochrome P450 Enzymes

Bernard Meunier, Samuel P. de Visser, and Sason Shaik

<<http://dx.doi.org/10.1021/cr020443g>><http://dx.doi.org/10.1021/cr020443g>

10.2.

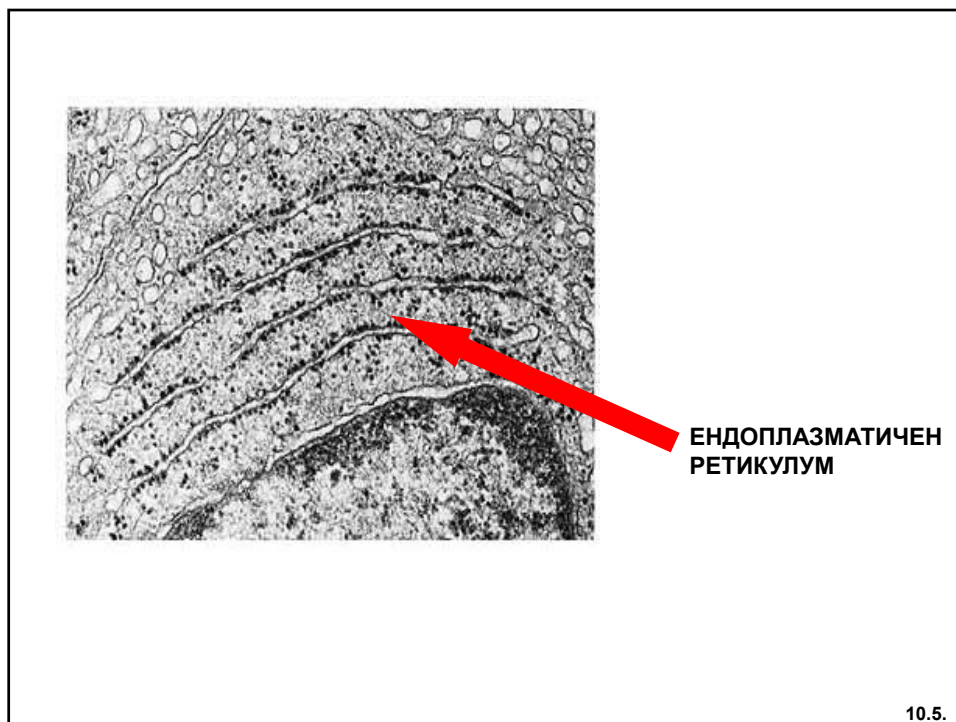
Цитохром Р450 MFO - характеристика

- Субстратна селективност
- Индуцируемост/инхибиране от различни агенти
- Локализация в различни клетки/тъкани
- Под определен генетичен контрол

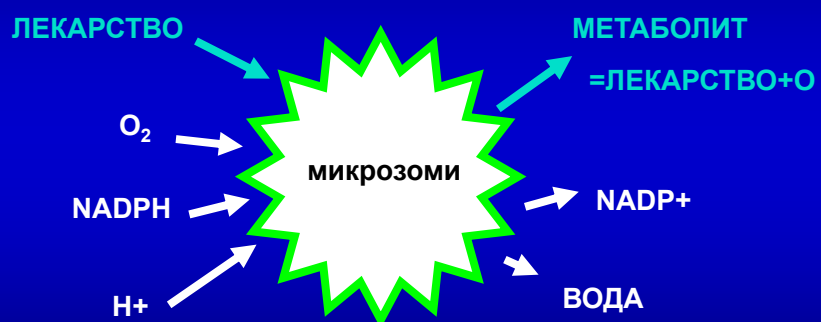
10.3.



10.4.

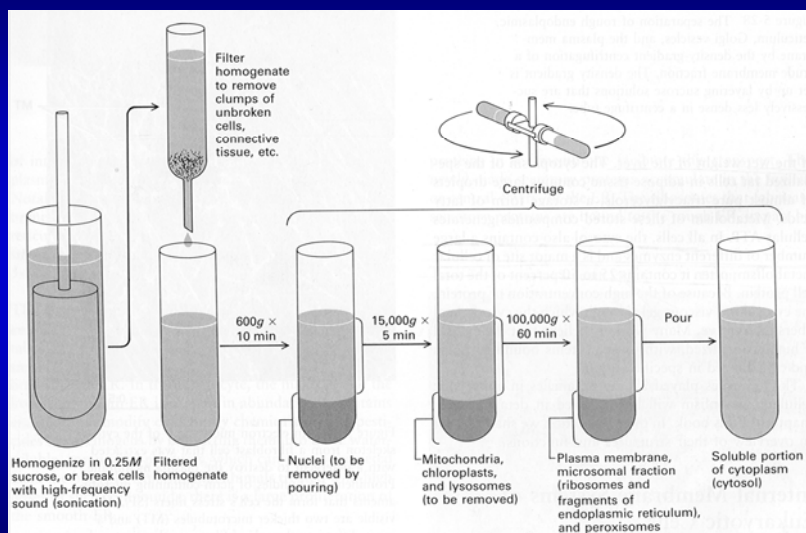


Цитохром Р450 зависима оксидаза със смесена функция



10.6.

Получаване на микрозоми



10.7.

Оксидаза със смесена функция (MFO-Mixed Function Oxidase)

Компоненти на MFO:

1. Цитохром P-450
2. NADPH-Цитохром P-450 редуктаза
3. Липидна обвивка

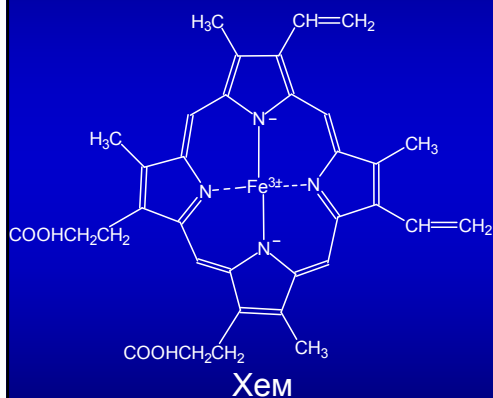
Основна реакция:



10.8.

1. Цитохром P450

Цитохромът е терминален компонент на електронно-транспортната верига на оксидазата в ендоплазматичния ретикулум

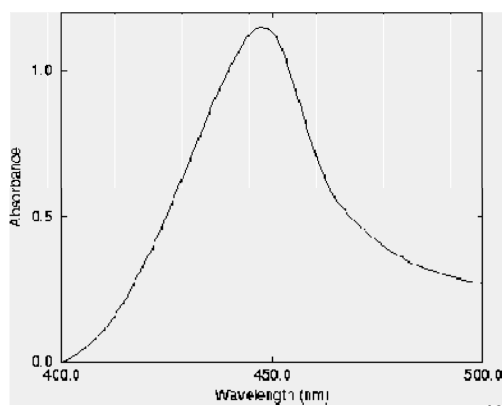


Cytochrome P-450

10.9.

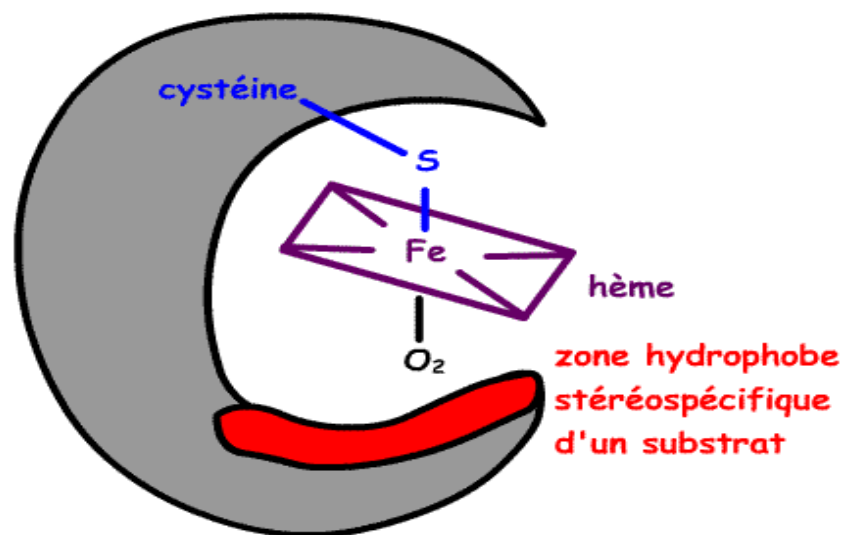
Диференциален спектър на Цитохром P450-CO комплекс при λ 450nm

Цитохром P450 в присъствието на CO, образува комплекс Cys-Fe-CO, който абсорбира на 450nm (-> CYP450)



10.10.

Цитохром Р 450



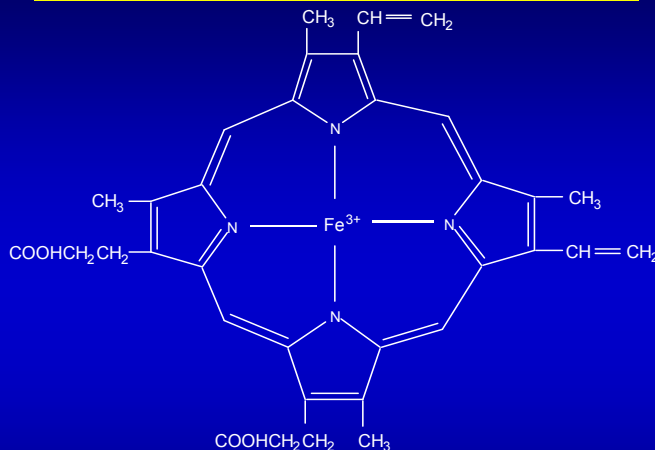
10.11.

Активно място на Цитохром Р450



10.12.

Структура на Fe^{3+} Протопорфирин IX

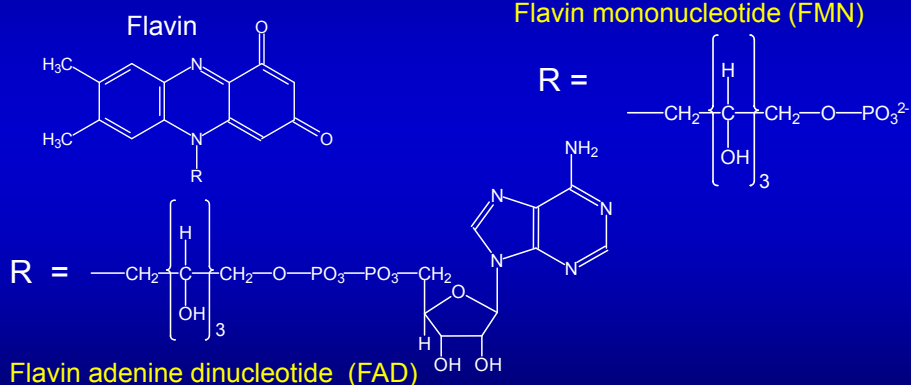


Fe^{3+} образува 6 координатни връзки
 4 с азотните атоми на порфириновите ядра
 1 с цистеина на протеина на сур450
 1 със субстрата

10.13.

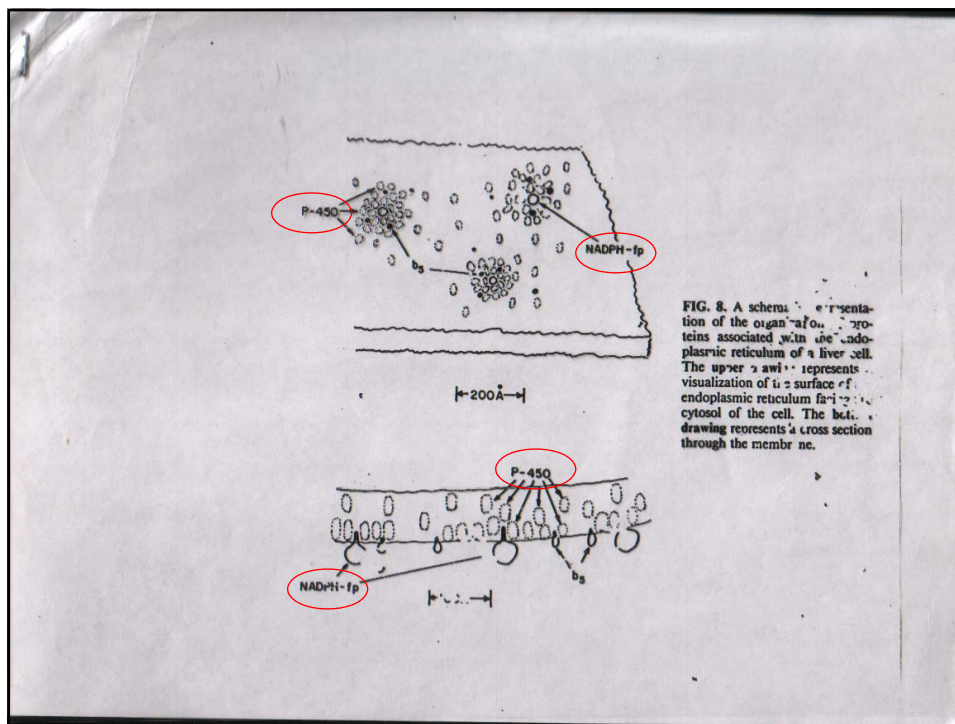
2. NADPH-цитохром P-450 редуктаза е:

Флавин-съдържащ ензим, съставен от 1 mole от flavin adenine dinucleotide (FAD) и 1 mole от flavin mononucleotide (FMN) на mole протеин



ММ 78000; свързан е с цитохром P-450 в ендоплазматичния ретикулум

10.14.



Функция на NADPH редуктазата

Действа като междинен агент за трансфер на електрони

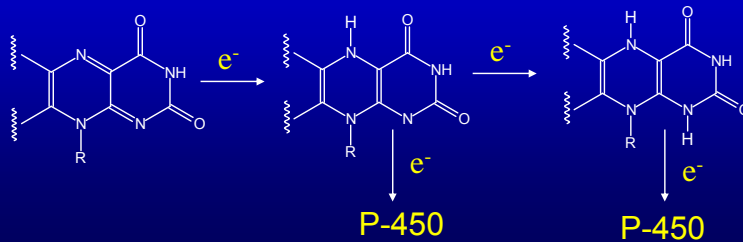
NADPH + H⁺ (донор на 2 електрона) към Цитохром P-450 (акцептор на 1 електрон)

т.е.

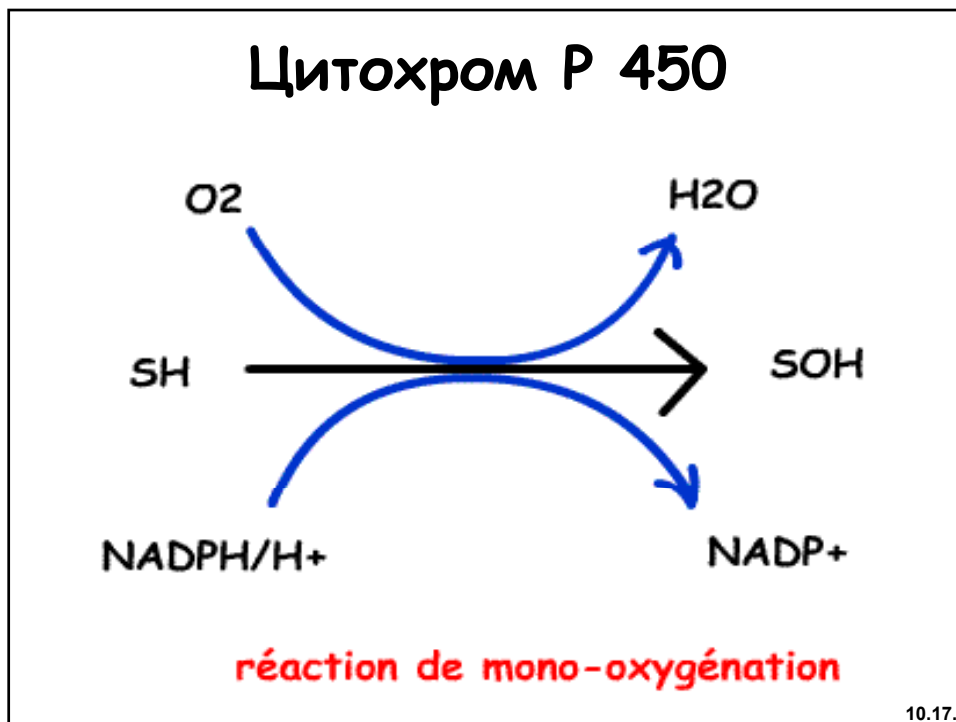


Цитохром P-450

Трансфер на електрони чрез молекулите на флавина



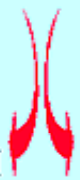
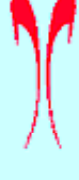
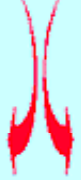



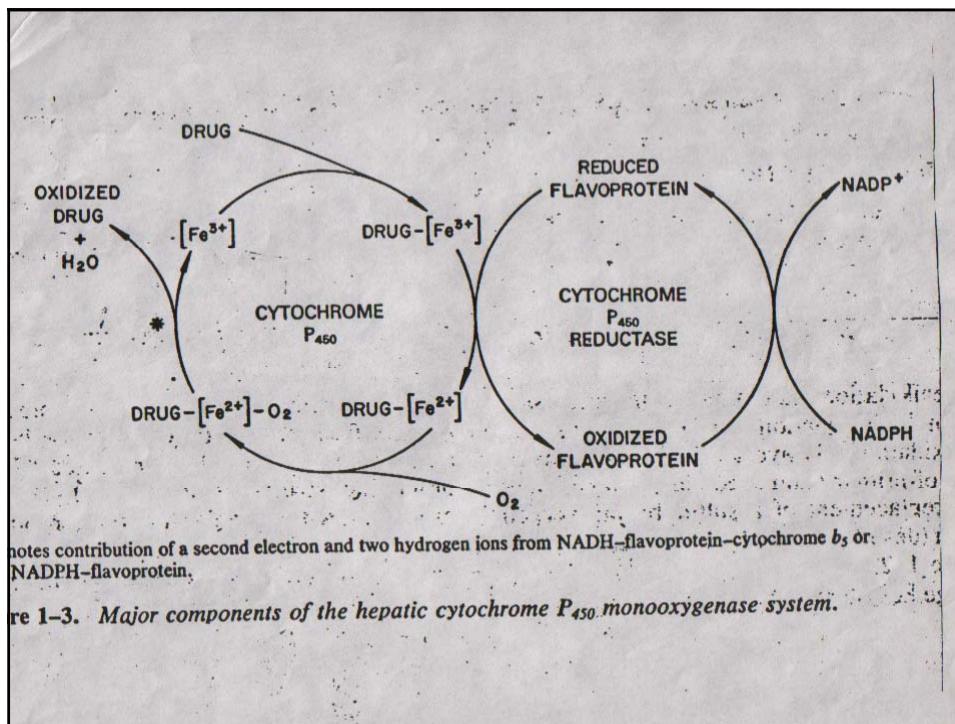
10.16.



Centers for Education & Research on Therapeutics™

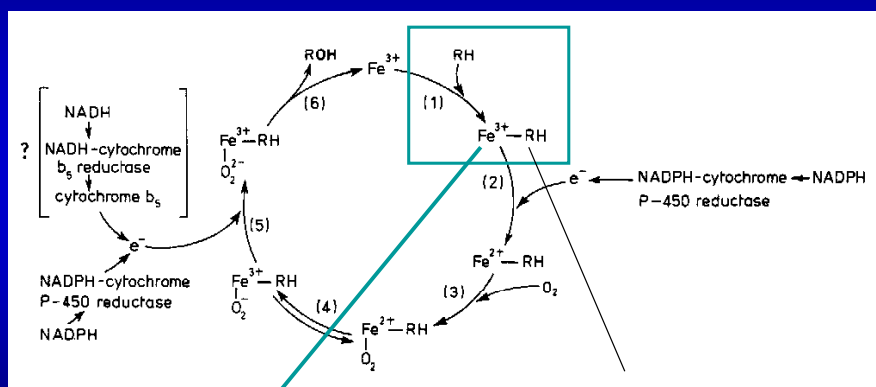
Phase I Drug Oxidation

NADP^+	Reduced  Reductase	Oxidized  P450	Drug + O_2
			
NADPH	Oxidized	Reduced	Drug-OH + H_2O



Каталитичен цикъл на Цитохром P-450

1 Ниво – Лекарството се свързва с окислената форма (Fe³⁺) на цитохром P450



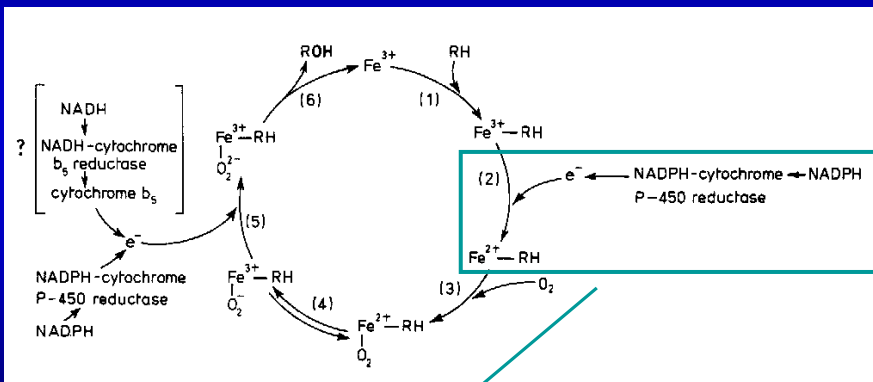
Свързване със субстрата

Fe³⁺

10.20.

Каталитичен цикъл на Цитохром P-450

2 Ниво – Първият електрон редуцира Fe^{3+} от комплекса субстрат- Fe^{3+} -цитохром P450 във Fe^{2+}

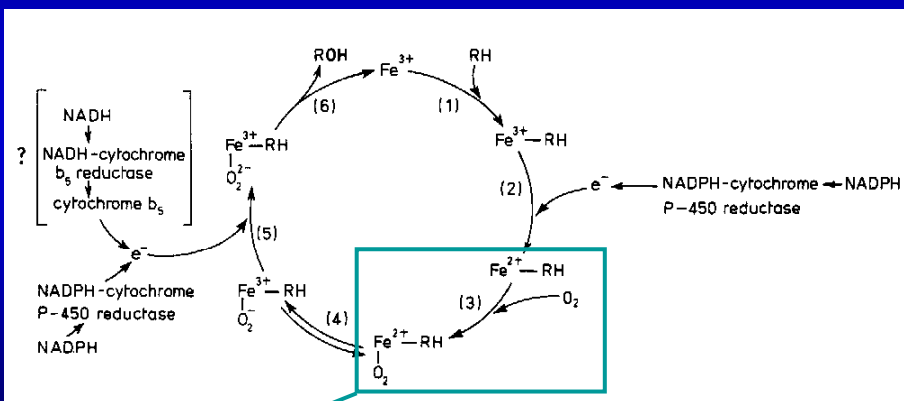


Електронът се доставя от NADPH чрез NADPH-цитохром P450-редуктаза и редуцира Fe^{3+} до Fe^{2+}

10.21.

Каталитичен цикъл на Цитохром P-450

3 Ниво – O_2 се свързва с Fe^{2+} -цитохром P450-субстрат



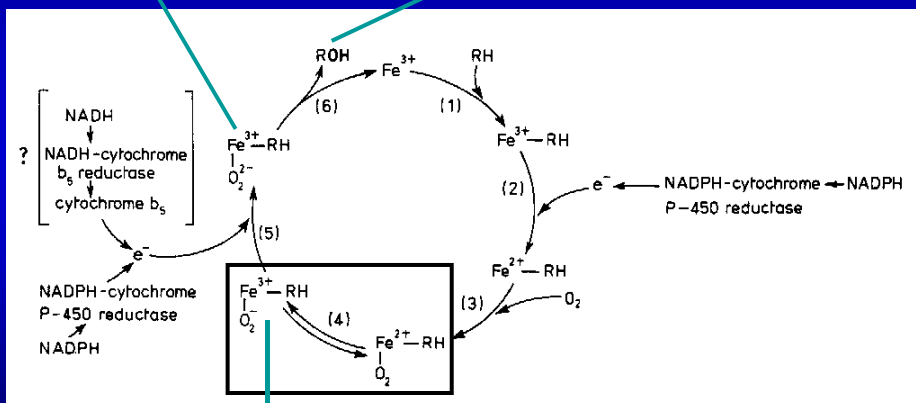
Окси- Fe^{2+} - цитохром субстрат е нестабилен

10.22.

Каталитичен цикъл на Цитохром P-450

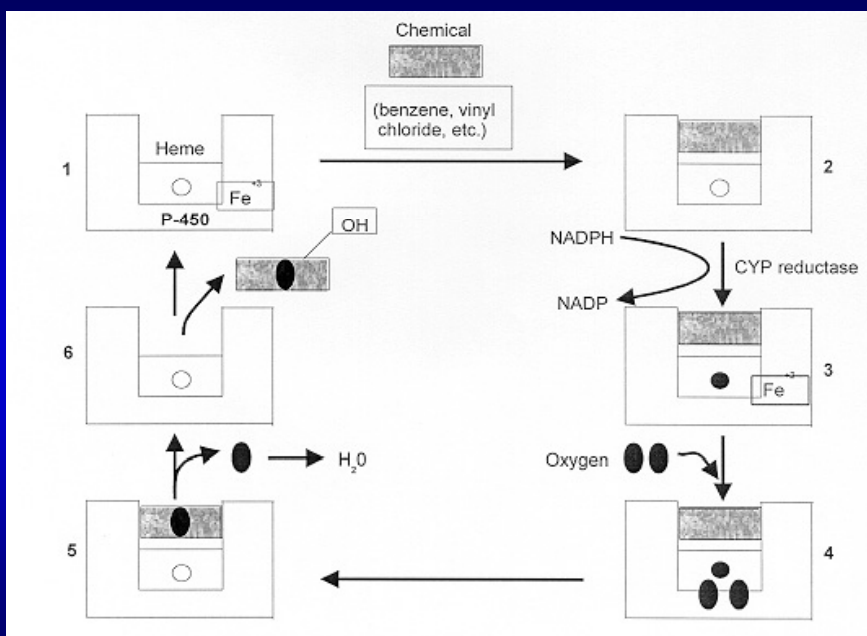
5 Ниво – въвеждане на втори електрон

6 Ниво – включване на кислорода в субстрата и освобождаване на метаболит



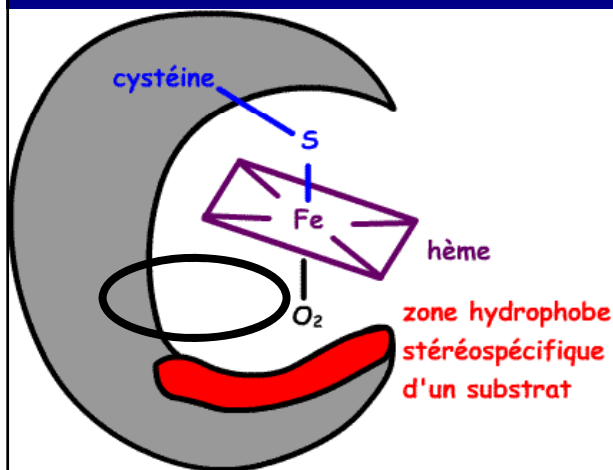
4 Ниво – електронно преразпределяне

10.23.



10.24.

Цитохром P450-номенклатура



субстрати,
-> множество изоформи,

Класификация:

Фамилия 1, 2, 3, ...

Суб-фамилия А, В,

Индивидуална форма 1,
2, 3,

Напр.: CYP 2D6

CYP 3A4

.....

10.25.

Цитохром P450-номенклатура

- Генетична фамилия – CYP фамилията съдържат гени, които имат най-малко 40% идентичност (последователна хомоложност). Те са най-малко 74, но около 17 са описани при човека. Отбелязва се с арабска цифра. Например: CYP2
- Генетична субфамилия – Членовете на субфамилията трябва да имат най-малко 55% идентичност. Около 30 субфамилии са охарактеризирани при човека. Отбелязва се с латинска буква. Например: CYP2D
- Индивидуална форма (специфичен ген) – отбелязва се с арабска цифра. Например: CYP2D6
- *C Italics* се отбелязва гена, регулиращ синтеза на съответната изоформа. Например: CYP2D6

10.26.

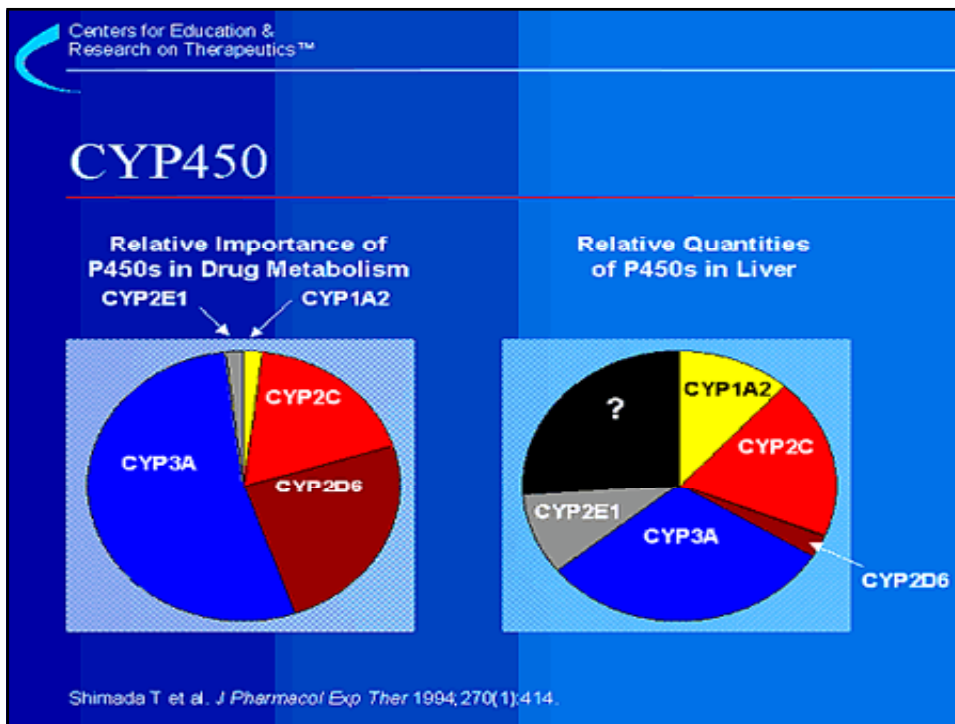
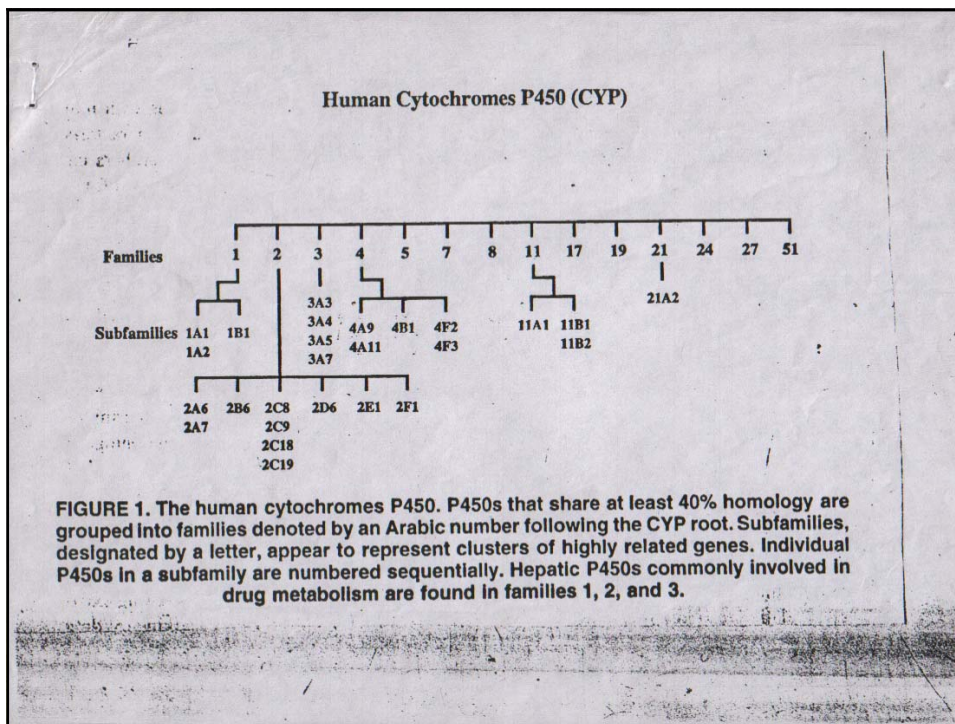
Cytochrome P450 enzyme system terminology

“CYP2C9 *1*2”

- “CYP” - P450 for all mammalian species
- “2” - family (17 - 14 human)
- “C” - subfamily (42 in humans)
- “9” - enzyme/gene (55 genes, 29 pseudogenes in humans)
- *1*2: -Allele pattern

СУР Фамилии

- Повечето от лекарство-метаболизиращите ензимни системи принадлежат към СУР 1, 2, и 3 фамилиите.
- СУРs са с Мм 45-60 kDa.
- Често две или повече изоформи могат да катализират един тип окислителна реакция, показвайки голяма субстратна специфичност.
- СУР3A4 изоформата участва в метаболизма на много лекарства; тя е налична и в ГИТ.



Nutrition	1A1;1A2;2E1; 3A3; 3A4,5
Smoking	1A1;1A2
Alcohol	2E1
Drugs	1A1,1A2; 2A6; 2B6; 2C; 2D6; 3A3, 3A4,5
Environment	1A1,1A2; 2A6; 1B; 2E1; 3A3, 3A4,5
Genetic Polymorphism	1A; 2A6; 2C9,19; 2D6; 2E1

10.31.

SUBSTRATES - 1						
1A2	2B6	2C19	2C9	2D6	2E1	3A4, 5, 7
amitriptyline caffeine clomipramine clozapine cyclobenzaprine (Flexeril®) estradiol fluvoxamine haloperidol imipramine N-DeMe mexiletine naproxen ondansetron phenacetin=> acetaminophen =>NAPQI propranolol riluzole ropivacaine tacrine theophylline verapamil (R)warfarin zileuton zolmitriptan	bupropion cyclophosphamide ifosfamide	Proton Pump Inhibitors: lansoprazole omeprazole pantoprazole E-3810 Anti-epileptics: diazepam=>Nor phenytoin(O) S-mephenytoin phenobarbitone amitriptyline citalopram clomipramine cyclophosphamide hexobarbital imipramine N-DeME indomethacin R-mephobarbital moclobemide	NSAIDs: diclofenac ibuprofen meloxicam S-naproxen=>Nor piroxicam suprofen Oral Hypoglycemic Agents: tolbutamide glipizide Angiotensin II Blockers: losartan irbesartan amitriptyline celecoxib fluoxetine fluvastatin glyburide phenytoin=>4-OH	Beta Blockers: carvedilol S-metoprolol propafenone timolol Antidepressants: amitriptyline clomipramine desipramine imipramine paroxetine Antipsychotics: haloperidol perphenazine risperidone=>9OH thioridazine alprenolol amphetamine bufuralol chlorpheniramine chlorpromazine	Anesthetics: enflurane halothane isoflurane methoxyflurane sevoflurane acetaminophen =>NAPQI aniline benzene chlorzoxazone ethanol N,N-dimethyl formamide theophylline =>8-OH	Macrolide antibiotics: clarithromycin erythromycin (not 3A5) NOT azithromycin Anti-arrhythmics: quinidine=>3-OH (not 3A5) Benzodiazepines: alprazolam diazepam=>3OH (not 3A5) midazolam triazolam Immune Modulators: cyclosporine tacrolimus (FK506)

SUBSTRATES - 2						
1A2	2B6	2C19	2C9	2D6	2E1	3A4, 5, 7
		nelfinavir nilutamide primidone progesterone proguanil propranolol teniposide R-warfarin=>8-OH	rosiglitazone tamoxifen torsemide S-warfarin	codeine (=>O-desMe) debrisoquine dexfenfluramine dextromethorphan encainide flecainide fluoxetine fluvoxamine lidocaine metoclopramide methoxyamphetamine mexiletine nortriptyline minaprine ondansetron perhexiline phenacetin phenformin propranolol (=>4OH) quinoxan sparteine tamoxifen tramadol venlafaxine		HIV Antivirals: indinavir nelfinavir ritonavir saquinavir Prokinetic: cisapride Antihistamines: astemizole chlorpheniramine terfenadine Calcium Channel Blockers: amlodipine diltiazem felodipine lercanidipine nifedipine nisoldipine nitrendipine verapamil

SUBSTRATES - 3						
1A2	2B6	2C19	2C9	2D6	2E1	3A4, 5, 7
						HMG CoA Reductase Inhibitors: atorvastatin cerivastatin lovastatin NOT pravastatin simvastatin Steroid 6beta-OH: estradiol hydrocortisone progesterone testosterone Miscellaneous: alfentanil buspirone caffeine=>TMU cocaine dapson=>N-OH codeine- N-demethylation dextromethorphan fentanyl finasteride haloperidol irinotecan LAAM lidocaine

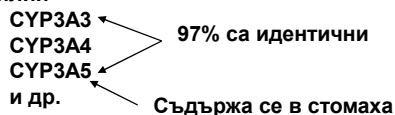
Cytochrome P450 3A

- Responsible for metabolism of:
 - Most calcium channel blockers
 - Most benzodiazepines
 - Most HIV protease inhibitors
 - Most HMG-CoA-reductase inhibitors
 - Cyclosporine
 - Most non-sedating antihistamines
 - Cisapride
- Present in GI tract and liver

СУР3А фамилия е 30% от цитохромите на черния дроб и 70% от тези в интестинума.

Метаболизира много повече екзогенни и ендогенни субстрати (хормони) от останалите CYPs.

субфамилии



10.35.

Cytochrome P450 2D6

- Absent in 7% of Caucasians, 1–2% non-Caucasians
- Hyperactive in up to 30% of East Africans
- Catalyzes primary metabolism of:
 - Codeine
 - Many β -blockers
 - Many tricyclic antidepressants
- Inhibited by:
 - Fluoxetine
 - Haloperidol
 - Paroxetine
 - Quinidine

Akhillu E et al. J Pharmacol Exp Ther. 1996;278(1):441–446

Cytochrome P450 2C9

- Absent in 1% Caucasians and African-Americans
- Primary metabolism of:
 - Most NSAIDs (including COX-2)
 - S-warfarin (the active form)
 - Phenytoin
- Inhibited by:
 - Fluconazole

10.36.

Cytochrome P450 2C19

- Absent in 20–30% of Asians, 3–5% Caucasians
- Primary metabolism of:
 - Diazepam
 - Phenytoin
 - Omeprazole
- Inhibited by:
 - Omeprazole
 - Isoniazid
 - Ketoconazole

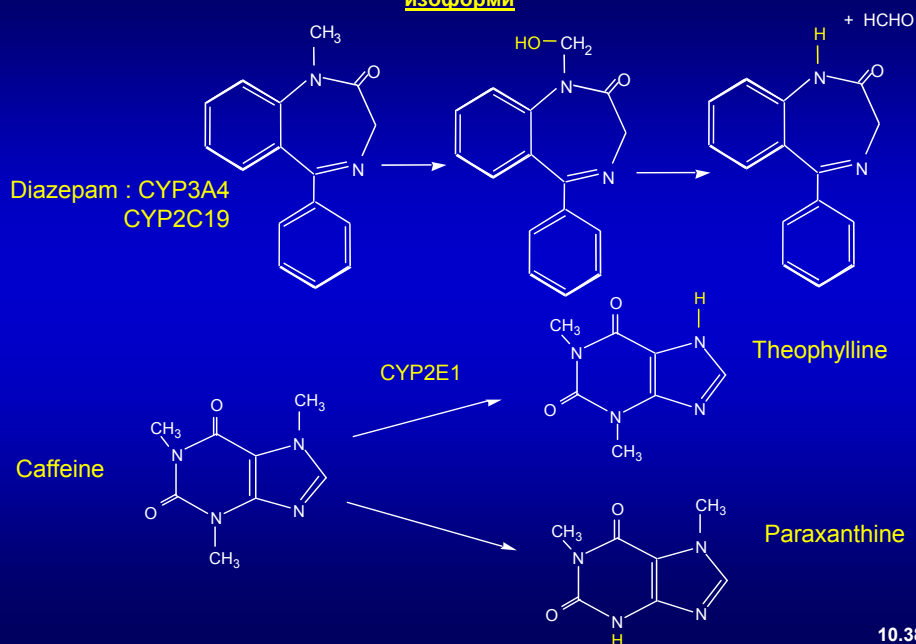
Cytochrome P450 1A2

- Induced by smoking tobacco
- Catalyzes primary metabolism of:
 - Theophylline also caffeine
 - Imipramine
 - Propranolol
 - Clozapine
- Inhibited by:
 - Many fluoroquinolone antibiotics
 - Fluvoxamine
 - Cimetidine

<http://medicine.iupui.edu/flockhart/clinlist.html>

10.37.

Деалкилиране, катализирано от MF0: N-Деалкилиране с участието на различни изоформи



10.38.

