

Фармакокинетические взаимодействия лекарственных веществ, метаболизируемых изоферментом цитохрома P450 CYP2C9

Грибакина О.Г., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., Виглинская А.О., Жердев В.П.
ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», г. Москва

Резюме. Описана роль цитохрома P450 и его изоформы CYP2C9 в метаболизме лозартана. Представлены данные о фармакокинетики лозартана у лабораторных животных и человека. Описаны примеры межлекарственного взаимодействия субстратного маркера CYP2C9 — лозартана с различными лекарственными веществами. Приведены результаты исследования влияния афобазола, индуктора (рифампицина) и ингибитора (флуконазола) в эффективных дозах на фармакокинетику лозартана.

Ключевые слова: цитохром P450, CYP2C9, лозартан, фармакокинетика, метаболизм, межлекарственное взаимодействие, афобазол, рифампицин, флуконазол

Pharmacokinetic interaction of drugs, the metabolisable cytochrome P450 isoenzyme CYP2C9

Gribakina, O.G., Kolyvanov G. B., Litvin A.A., Viglinskaya A.O., Zherdev V.P.
FSBSI «Zakusov Institute of Pharmacology», Moscow

Abstract. The role of cytochrome P450 isoforms CYP2C9 and in the metabolism of losartan described. Losartan pharmacokinetics data in humans and laboratory animals are presented. Examples of drug-drug interactions of substrate marker losartan of CYP2C9 of with different drugs are given. The results of studies of the effects of afobazole, an inducer (rifampicin) and inhibitors (fluconazole) in effective doses on the pharmacokinetics of losartan.

Keywords: cytochrome P450, CYP2C9, losartan, pharmacokinetics, metabolism, drug-drug interaction, afobazole, rifampicin, fluconazole

Автор, ответственный за переписку:

Жердев Владимир Павлович — д.м.н., профессор, заслуженный деятель наук РФ, зав. лабораторией фармакокинетики ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова», 125315, Москва, ул. Балтийская, 8; тел.: + 7 (495) 601-21-57; e-mail: zherdevpharm@mail.ru

Введение

Изофермент CYP2C9, как составная часть суперсемейства цитохрома P450

Одной из наиболее важных метаболизирующих ферментных систем в организме человека является система цитохрома P450 (CYP), которая отвечает за окислительный метаболизм многочисленных эндогенных веществ и ксенобиотиков [24]. В мембранах печёночной эндоплазматической сети обнаружена группа ферментов, входящая в состав монооксигеназной системы и, из-за необычного максимума поглощения СО-соединения при 450 нм, названная цитохромами P-450.

Цитохром P450 — суперсемейство ферментов, которые катализируют метаболизм большого числа эндогенных и экзогенных соединений. Он играет основную роль в биотрансформации ксенобиотиков и катализирует 70–80% реакций, протекающих во всех стадиях лекарственного метаболизма [12].

Изоферменты цитохрома P450 играют важную роль в биосинтезе стероидов, эйкозаноидов и других физиологически важных промежуточных продуктов. С другой стороны, они также очень важны для метаболизма жирных кислот и других липофильных эндогенных субстратов и для большинства лекарств и ксенобиотиков. Каталитическая функция цитохрома P450 является уникальным средством для включения полярных групп в системы, таких трудных для окисления, как насыщенные углеводороды. Включение гидроксильных групп особенно важно для метаболизма и выведения липофильных соединений, не содержащих их, поскольку полярные группы обеспечивают последующие реакции конъюгирования. С другой стороны, интенсивность окисления ферментов цитохрома P450 нередко превращает неактивный субстрат в химически реактивный, токсический метаболит [29].

Лекарства и ксенобиотики у людей в первую очередь метаболизируются изоферментами семейств CYP1, CYP2, CYP3 и CYP4 цитохрома P450. В организме человека, CYP3A4 является наиболее распростра-

нённой изоформой, и составляет в печени от общего количества изоферментов цитохрома P450 около 30%, в то время как *CYP1A2* составляет примерно 13%, *CYP2A6* примерно 4%, *CYP2C9* — 20%, *CYP2D6* — приблизительно 2% и *CYP2E1* — примерно 7% [59, 67]. Около 90% метаболической активности зависит от 6 изоферментов: *CYP1A2*, *CYP3A4*, *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6* и *CYP2E1* [79].

Изоферменты цитохрома P450 широко распространены в живых организмах: от бактерий до млекопитающих. Эти изоферменты известны разнообразием катализируемых ими реакций и огромным количеством отличных друг от друга субстратов, на которые они воздействуют [16]. Микросомальная система окисления в клетках печени осуществляет важнейшие функции биотрансформации эндогенных соединений и ксенобиотиков [9, 13–26]. Доказано существование многочисленных изоформ цитохрома P-450 [61]. Одним из наиболее важных достижений является выявленный в человеческой популяции полиморфизм системы цитохрома P-450, определяющий особенности процессов окисления ксенобиотиков, в частности, лекарственных средств [50]. Цитохромы P-450 млекопитающих разделяются на два основных класса:

1. Микросомальные формы, которые окисляют эндогенные соединения, лекарства и другие ксенобиотики;
2. Микросомальные и митохондриальные стероидогенные цитохромы P-450, участвующие в катализе специфических реакций, приводящих к синтезу стероидов. Эта группа ферментов присутствует в специализированных тканях и не метаболизирует лекарства и другие чужеродные соединения [26].

Цитохромы P-450 образуют обширное надсемейство генов (1182 гена без учёта аллельных вариантов, 800 выделенных белков) [23]. Номенклатура цитохромов P-450 разработана в 1987 г. и до настоящего времени не претерпела существенных изменений [56].

Эта система базируется на гомологии их аминокислотных последовательностей. Все суперсемейство цитохромов подразделяется на семейства, подсемейства и индивидуальные цитохромы P-450. С 1991 г. цитохромы P-450 (и кодирующие их гены) стали именовать как CYPs; аббревиатура CYP сопровождается арабской цифрой, обозначающей номер семейства, далее пишется заглавная буква, обозначающая подсемейство и, наконец, снова следует арабская цифра, уже обозначающая индивидуальный член семейства. Два цитохрома, которые обнаруживают не менее 40% сходства по аминокислотной последовательности, принадлежат к одному семейству. Члены подсемейства характеризуются более высокой степенью гомологии аминокислотной последовательности — 55 и более %. Между собой отдельные члены суперсемейства цитохромов по аминокислотной последовательности отличаются на 3 и более процентов [8].

Изоферменты подсемейства CYP2C у крыс

У крыс подсемейство *CYP2C* включает ряд изоформ: *CYP2C6*, *CYP2C7*, *CYP2C11*, *CYP2C12*, *CYP2C13*, *CYP2C22* и *CYP2C23* [57].

Это подсемейство наиболее богато изоформами, которые участвуют в окислении дигидропиридинов и афлотоксина В1, а также в гидроксировании стероидов. Имеется половой диморфизм в экспрессии генов *CYP2C* у крыс. Иммунологические тесты показали, что экспрессия *CYP2C12* выше у самок, чем в печени взрослых самцов, но такие различия отсутствуют у неполовозрелых и старых крыс. Изоформа *CYP2C7*, которая окисляет ретиновую кислоту, преобладает у самок [6, 53]. Изоформа *CYP2C11* преобладает у самцов, достигая в гепатоцитах печени 50% от общего количества CYP, а также синтезируется в малых количествах в экстрапечёночных тканях, таких как почки и кишечник [52].

Изофермент цитохрома P450 CYP2C9 у крыс

Некоторые авторы считают, что *CYP2C9* отсутствует у крыс [58, 71], в то же время существуют работы, в которых авторы определяют данный изофермент у крыс. Например, авторы *S. Zhang* и соавт. и *A. Soldner* и соавт. определяли *CYP2C9* в моче и плазме крови крыс. Первые по маркерному препарату толбутамид, а вторые по маркерному препарату лозартан [69, 87].

Наличие данного CYP у крыс продемонстрировали и другие авторы *Y. Liu* и соавт. определяли активность *CYP2C9* у крыс по маркерному препарату — толбутамид [45]. В работе *D. Lewis* показана гомологичность между некоторыми представителями подсемейства *CYP2C* крыс и людей. Так, *CYP2C8*, *CYP2C9* человека и *CYP2C13*, *CYP2C11* крыс гомологичны на 68 и 77%, соответственно [44].

Изоферменты подсемейства CYP2C у приматов

У обезьян подсемейство *CYP2C* представлено двумя изоформами, *CYP2C20* и *CYP2C43*. Эти изоформы экспрессируются в печени и демонстрируют совпадение между собой нуклеотидной и аминокислотной последовательности на 83 и 77%, соответственно. При сравнении изоформы *CYP2C43* с изоформами подсемейства *CYP2C* у человека установлено, что данная изоформа в большей степени совпадает с *CYP2C9* (95 и 92% в нуклеотидных и аминокислотных последовательностях, соответственно), а затем с *CYP2C19* (93 и 89%), с *CYP2C18* (86 и 80%) и с *CYP2C8* (84 и 78%). У обезьян *CYP2C43*, а не *CYP2C20*, метаболизирует S-мефенитоин, являющийся субстратом *CYP2C19* у человека. Напротив, *CYP2C43* не способен метаболизировать толбутамид, который является субстратом *CYP2C9* у человека. Поэтому, по всей видимости,

CYP2C43 у обезьян функционально связан с CYP2C19 человека, но не с CYP2C9, хотя N-терминальная последовательность (первые 18 остатков) совпали для CYP2C43 и CYP2C9 [48].

Изоферменты подсемейства CYP2C у человека

Существуют три основных представителя подсемейства CYP2C: CYP2C8, CYP2C9 и CYP2C19. Четвёртый представитель CYP2C18 был идентифицирован как копия мРНК, но по неизвестным причинам не эффективно транслируется в белок [47]. Все подсемейство CYP2C составляет около 30–40% от общего количества ферментов цитохрома P450 в печени, причём наиболее сильно выражена экспрессия у CYP2C9, затем у CYP2C8 и CYP2C19. Для трёх изоформ подсемейства CYP2C (CYP2C8, CYP2C9 и CYP2C19) выявлена высокая гомологичность — более 82% идентичных аминокислотных последовательностей [21, 22]. Наиболее важную функцию из изоформ подсемейства цитохрома P450 CYP2C играют CYP2C9 и CYP2C19. Подсемейство CYP2C отвечает за биотрансформацию около 16% лекарственных препаратов, представленных на мировом рынке [19]. Следовательно, изучение роли изоферментов подсемейства CYP2C в метаболизме ксенобиотиков занимает важное место при назначении лекарственных препаратов.

В человеческом организме основными изоформами подсемейства CYP2C являются CYP2C8 и CYP2C9, которые составляют 35 и 60% соответственно. Оставшиеся 5% составляют CYP2C18 — 4% и CYP2C19 — 1% [64]. Изоформы CYP2C8, CYP2C9 и CYP2C19 расположены, главным образом, в гепатоцитах печени, где на их долю приходится приблизительно 20% от общего содержания цитохрома P450 [86]. CYP2C8 обнаруживается в основном в гепатоцитах печени, но его мРНК была также обнаружена в почках, надпочечниках, мозге, матке, молочных железах, яичниках и двенадцатиперстной кишке [36]. CYP2C8 участвует в метаболизме ретинола и ретиноевой кислоты, арахидоновой кислоты, бензапирена и в окислении противоракового препарата паклитаксела [62].

CYP2C19 обнаружен в печени и двенадцатиперстной кишке и участвует в метаболизме S-мефенитоина, омепразола и других ингибиторов протонной помпы, некоторых трициклических антидепрессантов, таких как имипрамин, транквилизатора диазепам, некоторых барбитуратов и противомаларийных средств [7, 41]. Не было отмечено различий в изоформах подсемейства CYP2C у мужчин и женщин [63].

Изофермент цитохрома P450 CYP2C9 у человека

Изофермент CYP2C9 — белок, состоящий из 490 аминокислотных остатков. CYP2C9 находится в клетках различных органов, таких как: печень,

почки, предстательная железа, яичники и двенадцатиперстная кишка. Наибольшая метаболическая активность изофермента CYP2C9 наблюдается в гепатоцитах печени и клетках почек [79].

Следует отметить, что CYP2C9 стереоселективен и метаболизирует в основном S-стереоизомеры, например, S-варфарин и S-аценокумарол [75].

Изофермент CYP2C9 метаболизирует слабо кислые субстраты, имеющие водородную. Основными субстратами для CYP2C9 являются S-варфарин [88], толбутамид и многие нестероидные противовоспалительные препараты, такие как цецекоксиб, диклофенак, флурбипрофен, ибупрофен, индометацин, лорноксикам, мелоксикам, напроксен, пироксикам, супрофен, и теноксикам. Ингибиторами являются сульфаметоксазол, миконазол, флуконазол [89].

Фактически, первое сообщение о лекарственном взаимодействии с участием CYP2C9 было сделано в 1963 г., в котором описывалось одновременное применение сульфаметоксазола и толбутамида, приводящее к тяжёлой гипогликемии [15].

Генетический полиморфизм CYP2C9

Изоферменты обладают высоким полиморфизмом генов и ферментов, играющих ключевую роль в выведении большинства лекарств из организма человека. В настоящее время выявлено около 33 вариантов CYP2C9, расположенных в пределах кодирующей области [34, 77].

Аллели CYP2C9*2 и CYP2C9*3 присутствуют примерно у 25% представителей европеоидных расы, и менее распространены в негроидной и монголоидных расах [25].

При этом CYP2C9*4 аллель характерен только для японцев, а CYP2C9*5 и CYP2C9*6 аллели встречаются только среди афроамериканцев [66].

Некоторые аллели встречаются единично, преимущественно у жителей африканского континента. Имеются данные о «новых» аллелях CYP2C9*14 — CYP2C9*19, открытых у жителей Азии [17].

Определение полиморфизма изофермента цитохрома P450 CYP2C9 в различных этнических популяциях является важным для понимания различных клинических ответов на лекарственный препарат. В работе *E. Varshney* и соавт. исследователи определяли генетический полиморфизм CYP2C9 в Индийском национальном столичном округе и устанавливали соотношение фенотип-генотип. В результате проведённого исследования по генотипированию были обнаружены аллельные варианты CYP2C9 *1/*1, CYP2C9 *1/*2, CYP2C9 *2/*2. В то время как аллель CYP2C9 *3 не был обнаружен в исследовательской группе [74].

Исследования *in vitro* достоверно показали, что аллели *2 и *3 связаны со значимыми, но сильно колеблющимися падениями истинного клиренса в зависимости от отдельного субстрата [42]. Аллель *3

более сильно влияет на снижение клиренса, чем аллель *2 (до 90% для некоторых субстратов). Многочисленные исследования показали клиническую значимость полиморфизмов аллелей *2 и *3 для клиренса субстратных препаратов, назначенных перорально, и проявления нежелательных лекарственных реакций, таких как гипогликемия из-за приёма оральных противодиабетических препаратов, желудочно-кишечные кровотечения из-за приёма НПВС, и серьёзные кровотечения на фоне лечения варфарином [85].

Исследования *in vitro* показали, что ингибирование CYP2C9 зависит от генотипа. *V. Kumar и соавт.* сравнили степени ингибирования клиренсов флорбипрофена после перорального приёма с помощью прототипичного ингибитора флуконазолом у здоровых добровольцев с различными генотипами *1/*1, *1/*3 и *3/*3 [40].

Снижение кажущего клиренса флорбипрофена после совместного применения с флуконазолом зависело от дозы. Наблюдаемая степень межлекарственного взаимодействия снижалась вместе с метаболической активностью CYP2C9, вследствие большого количественного содержания аллелей CYP2C9*3 без изменения содержания аллелей *3/*3 у испытуемых. Эти результаты позволяют предположить, что вклад остаточной активности *3 аллеля (меньше 20–30%) в общий клиренс фторбипрофена слишком мал, чтобы ингибировать флуконазол.

Следует отметить, что лучше всего изучены однонуклеотидные полиморфизмы CYP2C9 — «медленные» аллельные варианты. У носителей аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 низкая активность CYP2C9, что приводит к снижению скорости биотрансформации ЛС, метаболизирующихся данным изоферментом и к повышению их концентрации в плазме крови. Гетерозиготные носители аллельных вариантов CYP2C9*1/*2, CYP2C9*1/*3 и гомозиготные носители аллельных вариантов CYP2C9*2/*2, CYP2C9*3/*3, CYP2C9*2/*3 — «медленные» метаболизаторы по CYP2C9. Именно у этой категории пациентов наиболее часто возникают НЛР при применении ЛС, метаболизирующихся CYP2C9, таких как непрямые антикоагулянты, НПВП, пероральные сахароснижающие ЛС (производные сульфонилмочевины). В связи с этим, для повышения безопасности терапии, пациентам, относящимся к «медленным» метаболизаторам по CYP2C9, необходимо либо выбрать другие ЛС, в метаболизме которого не принимает участие CYP2C9, либо назначить меньшую дозу ЛС — субстрата CYP2C9 [10, 20, 32, 90].

Есть данные о влиянии полиморфизма гена CYP2C9 на фармакокинетику лекарственных препаратов — субстратов CYP2C9. Наиболее хорошо изучено влияние аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3. В литературе описаны случаи, в которых показано влияние полиморфизма гена CYP2C9

на фармакокинетику лозартана (оценивается соотношение лозартана и его активного метаболита). В своем исследовании *K. Sekino* и соавт. показали, что у добровольцев с генотипом CYP2C9*1/*3 отношение концентрации E-3174 к концентрации лозартана через 6 ч после приёма лозартана внутрь в дозе 25 мг/кг было достоверно меньше, чем у лиц с генотипом CYP2C9*1/*1 [65].

U. Yasar и соавт. в своей работе показали, что у гетерозиготных и гомозиготных носителей аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 (генотипы CYP2C9*1/*3, CYP2C9*1/*2, CYP2C9*3/*3 и CYP2C9*2/*2) после перорального приёма лозартана максимальная концентрация E-3174 оказалась статистически значимо ниже ($p < 0,05$), чем у лиц, не несущих данные аллельные варианты. Кроме того, у гомозиготных носителей аллельного варианта CYP2C9*3 количество E-3174 в моче, которую собирали в течение 8 ч после приёма лозартана в 40 раз ниже ($p > 0,01$), чем у гомозиготных лиц с генотипом CYP2C9*1. Из полученных данных авторы делают вывод, что носительство аллельных вариантов CYP2C9*2 и CYP2C9*3 приводит к нарушению образования активного метаболита лозартана за счёт снижения активности CYP2C9. К одним из недочётов данного исследования можно отнести то, что в нём принимали участие только здоровые добровольцы, поэтому авторам не удалось найти связь между выявленными различиями в метаболизме лозартана и его гипотензивным действием. Из этого следует, что клиническое значение влияния генетического полиморфизма CYP2C9 на фармакокинетику лозартана может быть продемонстрировано только в исследованиях на больных с артериальной гипертензией [82].

Взаимодействие лекарственных веществ — субстратов CYP2C9 с пищей, лекарственными и фитопрепаратами

Лекарственные вещества могут вступать во взаимодействие с пищей, что может существенно влиять на эффективность и безопасность фармакотерапии. Компоненты некоторых продуктов влияют на метаболизм ЛС. Особенно много работ, посвящённых фруктовым сокам, в том числе и по влиянию на активность CYP2C9 [5]. В некоторых исследованиях обнаружено, что клюквенный сок влияет на фармакокинетику варфарина. Имеются данные о возникновении опасных для жизни кровотечений при совместном применении варфарина с клюквенным соком. Причиной данного взаимодействия является то, что клюквенный сок ингибирует CYP2C9 — главный изофермент биотрансформации варфарина [28, 49]. Так, клюквенный сок, являясь ингибитором CYP2C9, повышает концентрацию варфарина в крови и это приводит к чрезмерной гипокоагуля-

ции и, как следствие, к кровотечениям [51]. В своей работе *D. Pham u A. Pham* сообщают, что, хотя приём клюквенного сока совместно с варфарином увеличивал значение показателя системы свёртывания крови, однако нельзя однозначно утверждать, что единственной причиной этого могло стать употребление клюквенного сока [60]. Таким образом, для полной оценки взаимодействия клюквенного сока и варфарина недостаточно данных, и в тоже время необходимо сообщать пациентам о возможном клиническом взаимодействии клюквенного сока и варфарина при их совместном приёме.

Есть также работы, посвященные и другим субстратам цитохрома CYP2C9. *K. Ushijima* и соавт. показали, что хоть клюквенный сок и угнетает метаболизм диклофенака, но только в случае *in vitro* и практически не влияет на его фармакокинетику у здоровых добровольцев [73].

Имеются данные, показывающие влияние других соков на изоформу CYP2C9. Так, *M. Nagata* и соавт. в опытах *in vivo* на крысах изучили влияние гранатового сока на активность CYP2C9. Исследование проводили в два этапа. На первом этапе на микросомах печени было показано, что гранатовый сок является мощным ингибитором CYP2C9. Кроме этого, авторы исследовали эффект гранатового сока на фармакокинетику толбутамида, являющимся субстратом CYP2C9, у крыс. В результате экспериментов сделан вывод, что гранатовый сок ингибировал всасывание толбутамида в кишечнике крыс, не влияя на его метаболизм в печени [55].

Также имеются данные по влиянию ананасового сока на активность CYP2C9 *in vitro*. В результате проведённого исследования *M. Hidaka* и соавт. обнаружили ингибирующий эффект ананасового сока на активность CYP2C9 *in vitro*, которую оценивали по фармакокинетики диклофенака и толбутамида. Ингибирующий эффект сока достигался за счёт торможения гидроксирования диклофенака и толбутамида из-за цистеиновой протеазы — бромелаина, содержащейся в ананасовом соке [33].

В связи с этим возникает необходимость в повышении информирования врачей и пациентов об опасном влиянии фруктовых соков на концентрацию некоторых ЛС в крови при совместном их применении.

Помимо соков, на фармакокинетику препаратов могут влиять и компоненты пищи. Например, *G. Wang* и соавт. в своём исследовании оценили влияние соевого экстракта на фармакокинетику лозартана и его активного метаболита E-3174. Было показано, что соевый экстракт является индуктором CYP2C9 и CYP3A4 *in vitro*.

Для определения фармакокинетического взаимодействия между лозартаном и соевым экстрактом *in vivo* исследование проводили на здоровых женщинах-добровольцах. Восемнадцать здоровых

китайских женщин-добровольцев принимали лозартан в дозе 50 мг с соевым экстрактом и без него. Концентрации в плазме крови лозартана и E-3174 были определены с помощью жидкостной хроматографии с масс-спектрометрическим детектированием в течение 12 и 24 ч, соответственно. На 8-й день через 21 день исследования, после 7-дневного периода отмывки, каждый доброволец принимал две таблетки Генистеин Соевый комплекс 1000 мг внутрь после еды, дважды в день, в течение 14 дней. На 22-й день все добровольцы получали лозартан 50 мг, и снова отбирались образцы крови.

В результате величины метаболических отношений с приёмом и без приёма соевого экстракта составили $0,21 \pm 0,05$ и $0,23 \pm 0,05$, соответственно, где разница не была статистически значимой ($p=0,22$).

Из этого авторы делают вывод, что соевый экстракт не влияет на фармакокинетику лозартана [76].

Взаимодействие ЛС с лекарственными растениями, входящими в состав фитопрепаратов, в настоящий момент активно изучается. Лекарственные растения чаще всего применяются врачами у детей, пожилых людей, беременных женщин. Однако не всегда данные препараты назначаются лечащим врачом, часто пациент начинает приём самостоятельно. В связи с этим возрастает необходимость в клинических исследованиях, посвящённых изучению влияния лекарственных растений на фармакокинетику и фармакодинамику некоторых ЛС [30].

Взаимодействие ЛС с компонентами лекарственных растений может происходить на уровне всасывания, распределения, метаболизма и выведения. Но наибольшее значение имеет влияние компонентов на уровне всасывания и метаболизма ЛС. Фармакокинетическое взаимодействие ЛС с компонентами лекарственных растений может происходить по двум направлениям — индукция и ингибирования ферментов биотрансформации. Существует ряд работ, посвящённых данному виду взаимодействия.

В своём исследовании *Z. Wang* и соавт. продемонстрировали, что зверобой является мощным индуктором изофермента цитохрома P450 CYP3A4, при этом не оказывал никакого влияния на активность ферментов CYP1A2, CYP2C9 и CYP2D6 [78]. Однако в работе других авторов было показано, что гиперфорин, являющийся компонентом экстракта зверобоя, увеличивал активность CYP3A4 и CYP2C9, но также не оказывал никакого влияния на CYP1A2 и CYP2D6 [39].

J. Gorski и соавт. в своей работе показали способность эхинацеи ингибировать CYP1A2 и CYP2C9 в печени, CYP3A4 в стенке кишечника. Из этого авторы делают вывод о том, что эти свойства эхинацеи могут иметь клиническое значение при её совместном применении с ЛС — субстратами данных изоформ [27].

Маркерный препарат — субстрат изофермента CYP2C9-лозартан

Лозартан является первым пероральным антагонистом ангиотензивных рецепторов без свойств агониста [18].

После перорального приёма, лозартан быстро всасывается, достигая максимальной концентрации (C_{max}) через 1–2 ч. После приёма внутрь примерно 14% от дозы лозартана превращается в метаболит — лозартановую кислоту (E-3174), который в 10–49 раз активнее, чем исходное соединение, и его период полувыведения колеблется от 6 до 9 часов [68].

Биодоступность лозартана составляет 35%, вероятно это связано с «эффектом первого прохождения через печень». Лозартан и его фармакологически активный метаболит E-3174 имеют относительно небольшой объём распределения (Vd/F). Время полувыведения ($t_{1/2el}$) лозартана колеблется от 1,5 до 2,5 ч — это фаза, которая связана с распределением препарата в организме по внутренним органам. Затем наступает фаза элиминации, которая продолжается до 24 ч, для E-3174 $t_{1/2el}$ от 6 до 9 ч [46].

Фармакокинетика и межлекарственные взаимодействия лозартана у крыс

В работе S. Yang и соавт. провели исследование, в котором оценили эффект тиклопидина на биодоступность и фармакокинетику лозартана у крыс, чтобы изучить потенциальное межлекарственное взаимодействие двух лекарственных препаратов. Из источников литературы известно, что обычно фармакокинетику лозартана у крыс изучают после его орального введения в дозах 3–10 мг/кг. Поэтому в данном исследовании была использована доза лозартана 9 мг/кг. Из данных литературы также известно, что фармакокинетика лозартана схожа у крыс и у людей. В обоих случаях в плазме крови был обнаружен метаболит E-3174. Абсолютная биодоступность лозартана составляла 31,5–38,2% у крыс и 33% — у людей. Выведение с мочой лозартана в течение 24 ч после орального применения составляло примерно 0,3% от дозы у крыс и 5,0% — людей, что указывает на небольшой почечный клиренс относительно общего клиренса. Эти данные подтверждают, что крыса — подходящая модель для изучения фармакокинетики лозартана [81].

Тиклопидин (в дозе 10 мг/кг), введённый орально в сочетании с лозартаном, значительно увеличивал площадь под фармакокинетической кривой (AUC) последнего (до 65,0%), из чего следует, что тиклопидин может эффективно ингибировать метаболизм лозартана в кишечнике и/или печени. В то же время при совместном введении лозартана (в дозе 10 мг/кг) с тиклопидином AUC метаболита E-3174 также значительно увеличилась (до 41,8%). E-3174 выводится

почками (55% за счёт клиренса) и непочечным путём. Несмотря на то, что площадь под кривой метаболита после совместного применения с тиклопидином увеличилась, метаболическое отношение ($AUC_{E-3174}/AUC_{losartan}$) уменьшилось незначительно ($p > 0,05$) по сравнению с контрольной группой. После введения лозартана внутрь площадь под кривой метаболита была больше, чем у исходного соединения благодаря низкому значению клиренса метаболита [72]. Аналогичные результаты были получены ранее, где показано, что площадь под кривой и период полувыведения метаболита выше, чем у лозартана, как у крыс, так и у человека [46, 54]. Рекомбинантные формы изоферментов CYP2C9 и CYP3A4 в эксперименте были подвержены ингибирующему эффекту тиклопидина. Тиклопидин оказывал ингибирующий эффект на CYP2C9 и CYP3A4 с IC_{50} 26,0 и 32,3 $\mu\text{mol/L}$, соответственно. Полученные результаты показали, что AUC лозартана значительно увеличилась после его введения внутрь совместно с тиклопидином в дозе 10 мг/кг. В то же время в опытах *in vitro* ингибирование лозартана тиклопидином было слабо выражено. Хотя эксперименты *in vitro* полезны для изучения ингибиторных механизмов, они ограничены, потому что условия проведения эксперимента могут не точно соответствовать условиям *in vivo*. Таким образом, могут происходить некоторые расхождения между данными *in vivo* и *in vitro*. В исследовании, в котором использовались микросомы печени человека и рекомбинантные изоферменты человека, было показано что тиклопидин является мощным, конкурентным ингибитором и CYP2C19 и CYP2D6, но слабым ингибитором CYP2C9 и CYP3A4 [37].

Вероятно, существуют некоторые различия в активности изоферментов CYP2C9 и CYP3A4 у крыс и у людей [11].

Белковая гомология между CYP2C9 и CYP3A4 у крыс и людей очень сходна: 73 и 77%, соответственно [43].

Например, $AUC_{losartan}$ значительно увеличивались, а AUC_{E-3174} уменьшалась в случае введения буколома, ингибитора CYP2C9 и у крыс, и у людей [38].

Полученные результаты подтверждают, что изоформы крыс с очень похожими ферментативными свойствами на CYP2C9 человека могли бы быть вовлечены в метаболический клиренс лозартана, хотя у крыс (по мнению некоторых авторов) нет изоформ CYPs ортологичных человеческому CYP2C9. Из этого авторы делают выводы, что значительное увеличение AUC лозартана после перорального, сочетанного введения лозартана и тиклопидина (10 мг/кг) может быть объяснено ингибированием метаболизма лозартана в результате влияния тиклопидина на подсемейства CYP2C и CYP3A в тонком кишечнике и/или в печени [83, 84].

D. Choi и соавт. изучали влияние мироцетина, который является антиоксидантом, на фармакокинетику

лозартана и его метаболита у крыс при совместном их применении. Оказалось, что при одновременном введении этих препаратов мироцетин на 20% снижает соотношение E-3174/ лозартан, ингибируя CYP2C9 [14].

Метаболизм, фармакокинетика и межлекарственные взаимодействия лозартана у людей

Метаболизм лозартана

Лозартан в основном метаболизируется изоферментами цитохрома P450 CYP3A4, CYP2C9 и CYP2C10. В целом, лозартан имеет благоприятный межлекарственный профиль (drug-drug interaction profile), о чем свидетельствует отсутствие клинически значимых взаимодействий между этим препаратом и рядом ингибиторов и индукторов системы изоферментов цитохрома P450. Лозартан не вступает в межлекарственное взаимодействие с гидрохлортиазидом, варфарином и дигоксином [68].

На рис. 1 представлена схема метаболизма лозартана, отражающая три основных направления: окисление, гидроксилирование и глюкуронирование.

Превращение лозартана в метаболит происходит через окисление спирта в карбоновую кислоту. Биотрансформация катализируется с помощью изоферментов цитохрома P450 CYP3A4 и CYP2C9 с образованием E-3179 (промежуточного альдегида). Кроме промежуточного альдегида также может образоваться гидроксилированный неактивный метаболит P1. Исследования *in vitro* с гомогинатом печени человека показали, что кроме образования основного активного метаболита E-3174, лозартан интенсивно метаболизируется, превращается в пять других неосновных метаболитов, которые обладают гораздо меньшей активностью, чем исходное соединение (M1, M2, M4, M5, M7) [70].

В исследованиях *in vitro* и *in vivo* показано, что лозартан метаболизируется до E-3174 с помощью CYP3A4 и CYP2C9. Ферменты, катализирующие эти реакции идентифицировали, изучая метаболизм каждого субстрата в присутствии: 1) ингибиторов селективных по отношению к определенным изоформам CYP, 2) рекомбинантных CYPs, выделенных из печени человека и 3) антител, специфичных к определенным изоформам. Характеристика изоферментов, отвечающих за метаболизм лозартана *in vitro*, предоставила инфор-

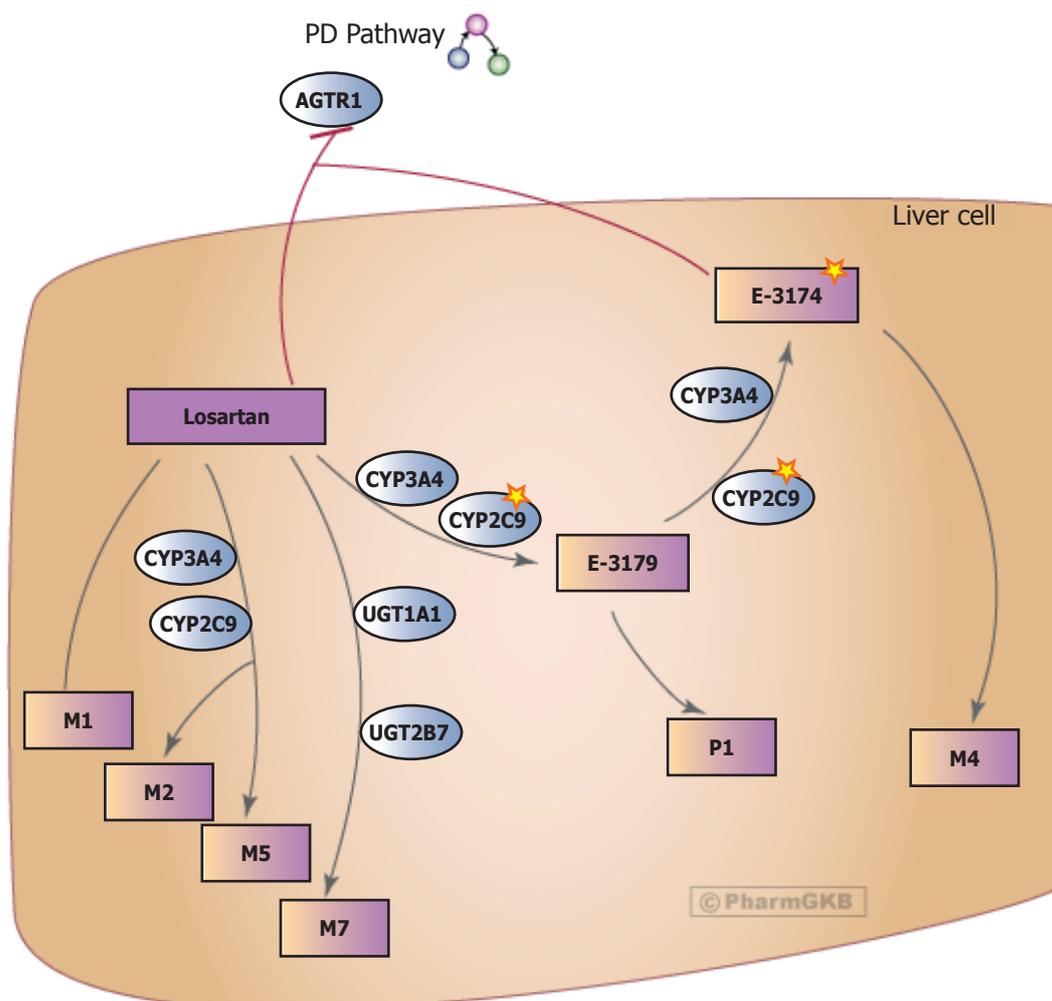


Рис. 1. Схема метаболизма лозартана у человека

мацию, необходимую для дизайна клинического исследования по оценке межлекарственных взаимодействий *in vivo* [70,84].

Фармакокинетика и межлекарственные взаимодействия лозартана

Фармакокинетика лозартана и метаболита E-3174 линейна, дозозависима и существенно не изменяется при повторных приемах. Нет никаких клинически значимых эффектов возраста, пола или расы на фармакокинетику лозартана. В то же время требуется корректировка доз у пациентов с умеренными нарушениями функции печени или почечной недостаточности. Лозартан и его метаболит не удаляются при гемодиализе.

Существует большое количество исследований, где описано влияние лекарственных препаратов на фармакокинетику лозартана (субстрат CYP2C9).

В 2007 г. *M. Kobayashi* и соавт. провели исследование, в котором оценили влияние буколома, ингибитора CYP2C9, на фармакокинетику лозартана и его метаболита E-3174 на добровольцах. Исследование проводили в двух группах добровольцев. В первой группе добровольцы принимали перорально однократно лозартан в дозе 25 мг/кг, а во второй лозартан в дозе 25 мг/кг давали после многократного перорального приема буколома в дозе 300 мг в течение 7 дней. В результате в первой группе C_{max} и AUC лозартана были значительно ниже, чем в группе, где давали лозартан после приема буколома [38]. Это свидетельствует об ингибирующем эффекте буколома на данную изоформу.

Y. Han и соавт. в своей работе показали влияние силимарина на фармакокинетику лозартана на добровольцах. Двенадцать здоровых мужчин с известным генотипом CYP2C9 (шесть CYP2C9*1/*1 и шесть CYP2C9*1/*3) были набраны в двухфазное рандомизированное перекрестное исследование. Фармакокинетику лозартана и E-3174 изучали до и после 14-дневного применения 140 мг силимарина три раза в день. В результате AUC лозартана значительно увеличилась после 14-дневного приема силимарина добровольцами с генотипом CYP2C9 *1/*1, но не с генотипом CYP2C9 *1/*3. А площадь под фармакокинетической кривой метаболита E-3174 значительно снизилась после предварительного приема силимарина в обоих случаях (CYP2C9*1/*1 и CYP2C9*1/*3). Метаболическое отношение (E-3174/лозартан) значительно снизилось после 14-дневного приема силимарина у пациентов с CYP2C9*1/*1 генотипом ($p < 0,05$), но не с генотипом CYP2C9*1/*3 ($p = 0,065$). Авторы делают вывод о том, что метаболизм лозартана до E-3174 ингибируется силимарином, а величина данного лекарственного взаимодействия у людей зависит от разных генотипов CYP2C9 [31].

Другими авторами было проведено исследование, в котором они оценивали эффект флувастатина —

ингибитора CYP2C9, на фармакокинетику лозартана. Лозартан метаболизируется двумя изоформами CYP2C9 и CYP3A4. Исследование взаимодействия с ингибиторами CYP3A4 не показало существенных изменений в фармакокинетике лозартана или его метаболита E-3174. Авторы оценили изменения в фармакокинетике лозартана и E-3174 при введении его отдельно и одновременно с флувастатином, ингибитором CYP2C9. Открытое, перекрестное исследование было проведено на 12 здоровых добровольцах, которые принимали только лозартан и лозартан в комбинации с флувастатином. Лозартан принимали в дозе 50 мг, флувастатин в дозе 40 мг. Авторы обнаружили, что флувастатин существенно не влияет на AUC_{0-24} или $t_{1/2el}$ лозартана и его метаболита E-3174. Ингибирование метаболизма лозартана возможно связано как с CYP2C9, так и CYP3A4 [49].

Наиболее широко применяемым индуктором лозартана является рифампицин. *K. Williamson* и соавт. в своей работе оценили влияние рифампицина и эритромицина на фармакокинетику лозартана. На 10 здоровых добровольцах было изучено влияние ингибирования CYP3A4 и неспецифической индукции изоферментов цитохрома P450 на фармакокинетику лозартана. Испытуемые подверглись трём однонедельным исследованиям. Каждое исследование было отделено от другого 6-дневным отмывочным периодом. В течение 1-й недели испытуемые получали однократно 50 мг лозартана (утром), в течение 2-й недели — 50 мг лозартана однократно и 500 мг эритромицина 4 раза в день, в течение 3-й недели — 50 мг лозартана однократно и 300 мг рифампицина дважды в день. На 8-й день каждого исследования в течение 32 ч у испытуемых отбирали пробы крови, определяли концентрации лозартана и E-3174 и рассчитывали фармакокинетические параметры исследуемых веществ. Как показали проведенные исследования, рифампицин уменьшал AUC_{0-24} лозартана на 35% и AUC_{0-24} его метаболита E-3174 на 40%. Клиренс (CL/F) лозартана увеличивался на 44% ($p = 0,0001$). Период полувыведения обоих соединений уменьшался на 50% ($p < 0,005$). В то же время эритромицин не оказывал существенного влияния на AUC_{0-24} или $t_{1/2el}$ лозартана и его метаболита E-3174. Авторы делают вывод, что рифампицин является мощным индуктором CYP2C9, метаболизирующего лозартан. Так как в случае приема эритромицина наблюдается минимальный ингибирующий эффект, авторы делают вывод, что CYP3A4 по-видимому играет незначительную роль в метаболизме лозартана до E-3174. Поэтому необходимы дальнейшие исследования, чтобы определить вклад других изоферментов, в частности CYP2C9, на фармакокинетику лозартана [80].

Одним из наиболее сильных ингибиторов CYP2C9 является флуконазол.

D. Kazierad и соавт. в своей работе показали влияние флуконазола на фармакокинетику эпросартана и лозартана. Исследование продолжалось 20 дней.

Шестнадцать здоровых мужчин (I группа) получали 300 мг эпросартана каждые 12 ч и шестнадцать здоровых мужчин (II группа) получали 100 мг лозартана каждые 24 ч во все дни исследования с 1-го до 20-го. Все 32 добровольца получали 200 мг флуконазола каждые 24 ч, начиная с 11 дня, вплоть по 20-й день. На 10-й и 20-й день у всех добровольцев в дискретные временные интервалы были отобраны образцы крови для измерения концентраций эпросартана, лозартана и E-3174. В результате не было обнаружено существенных различий в площадях под фармакокинетической кривой эпросартана при применении его самостоятельно и совместно с флуконазолом. Однако после одновременного приёма флуконазола и лозартана, AUC и C_{\max} последнего были значительно увеличены на 66 и 30%, соответственно, по сравнению со значениями лозартана без приёма флуконазола. AUC и C_{\max} для метаболита E-3174 были значительно снижены на 43 и 56%, соответственно, после приёма лозартана с флуконазолом. Авторы делают вывод о том, что флуконазол значительно увеличивает AUC лозартана и ингибирует образование его активного метаболита — E-3174. Но на фармакокинетику эпросартана флуконазол не оказывает никакого влияния [35].

В ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» проводятся исследования по межлекарственному взаимодействию.

Авторами была воспроизведена с некоторыми модификациями методика количественного определения лозартана и его метаболита в моче и плазме крови крыс методом высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрофлуориметрическим детектированием. Хроматографический анализ проводили на жидкостном хроматографе фирмы «Beckman Coulter» (США), оснащённый помпой — «Beckman System Gold 127 Solvent Module» и спектро-флуориметрическим детектором RF-10AXL Shimadzu (Япония). Аналитическая колонка — Luna CN 5 мкм, 250×4,6 мм, детектирование проводили при значениях экстинкции (длина волны поглощения) 250 нм и эмиссии (длина волны возбуждения) 375 нм. Подвижная фаза — фосфатный буфер (рН 1,9): ацетонитрил (315:195); скорость потока подвижной фазы — 1,0 мл/мин. Хроматографический анализ проводили при комнатной температуре (22–24°C). Перед хроматографированием подвижную фазу дегазировали на ультразвуковой бане и фильтровали. В этих условиях время удерживания лозартана в среднем составило 7,7±0,3 мин, а его метаболита — 5,8±0,2 мин. Коэкстрактивные вещества не мешали определению [4].

Авторами впервые изучена фармакокинетика субстратного маркера CYP2C9 — лозартана и его метаболита E-3174 при комбинированном введении с афобазолом.

В настоящем исследовании изучено влияние двух основных факторов на активность изоферментов цитохрома P450 CYP2C9: 1. Влияние величин вводимых

доз афобазола на возможное проявление индуцирующего или ингибирующего эффектов (эффективная, доза 5 мг/кг и доза, превышающая эффективную в 5, 15, 20 и 25 раз) при одинаковой длительности субхронического введения. Установлено, что после введения афобазола в течение 4 суток (по 3 раза в сутки через каждые 3 ч) в эффективной, анксиолитической дозе 5 мг/кг ни ингибирующий, ни индуцирующий эффекты на изоформу CYP2C9 не выявлены. Пятикратное увеличение дозы афобазола до 25 мг/кг при его субхроническом введении в течение 4 суток позволило выявить умеренный индуцирующий эффект. По результатам мочевой экскреции установлено, что афобазол в дозе 25 мг/кг в течение 3 и 4 суток (по 3 раза в сутки через каждые 3 часа) оказывает умеренный индуцирующий эффект на изофермент CYP2C9. При сравнении метаболических отношений после 3- и 4-дневного введения статистически значимые различия не были выявлены [1].

Также проведены исследования, посвящённые изучению влияния афобазола на фармакокинетику субстратного маркера CYP2C9 — лозартана и его метаболита (E-3174) в плазме крови крыс после различных режимов дозирования анксиолитика в эксперименте (5 и 25 мг/кг). Сделан вывод, что афобазол в эффективной дозе — 5 мг/кг не вызывает индукцию изофермента CYP2C9. Увеличение дозы в 5 раз при прочих равных условиях эксперимента приводит к достоверному изменению фармакокинетических параметров (MRT, $t_{1/2el}$, C_{\max} , AUC_{0-т}, CL/F), что указывает на индукцию афобазолом CYP2C9. Определены МО (E-3174/лозартан). После введения афобазола в течение 4 суток (трехкратно через каждые 3 ч) в эффективной, анксиолитической дозе 5 мг/кг ни ингибирующий, ни индуцирующий эффекты на изоформу CYP2C9 не выявлены. Увеличение дозы афобазола до 25 мг/кг в течение 4 суток после многократного введения препарата позволило выявить умеренный индуцирующий эффект. Значение МО на фоне 4-дневного введения афобазола в дозе 25 мг/кг превышает аналогичную величину в контроле в 7,2 раза, в то время как МО на фоне введения анксиолитика в дозе 5 мг/кг превышает аналогичную величину в контроле всего лишь в 1,2 раза [2].

В опытах на крысах изучено влияние афобазола, индуктора (рифампицина) и ингибитора (флуконазола) в эффективных дозах после субхронического перорального введения на метаболическое отношение препарата-маркера активности CYP2C9. Установлено, что афобазол не изменял МО соединения, метаболизируемого изучаемой изоформой цитохрома P450. После перорального введения стандартного индуктора и ингибитора выявлены статистически значимые разнонаправленные эффекты, демонстрирующие целесообразность применения комплекса отобранных соединений, маркера и модификаторов активности CYP2C9, для сравнительной оценки эффектов новых лекарств в опытах на крысах [3].

Литература

1. Грибакина О.Г., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., и др. Фармакокинетическое взаимодействие афобазола с лозартаном — препаратом-субстратом цитохрома CYP2C9 в эксперименте // Экспер. и клин. фармакол. 2013; 76: 3: 35—37.
2. Грибакина О.Г., Колыванов Г.Б., Литвин А.А., и др. Оценка фармакокинетического взаимодействия афобазола с препаратом-субстратом изофермента цитохрома P450 CYP2C9 // Экспер. и клин. фармакол. 2015; 78: 12: 18—22.
3. Новицкая Я.Г., Грибакина О.Г., Литвин А.А. и др. In vivo оценка метаболического отношения маркеров CYP2C9 и CYP1A2 после введения афобазола в сравнении со стандартными индукторами и ингибиторами цитохромов // Экспериментальная и клиническая фармакология. 2013; 76: 11: 36—39.
4. Пронина, О.Г. (Грибакина), Колыванов Г.Б., Виглинская А.О., Жердев В.П. Количественное определение лозартана и его метаболита в моче крыс // Вестник Московского Университета. Сер. 2. Химия. 2012; 53: 2: 194—197.
5. Сычёв Д.А., Аникин Г.С., Александрова Е.К., и др. Фармакокинетическое взаимодействие лекарственных средств с фруктовыми соками. Клиническое значение // Клиническая фармакология и фармакоэкономика. 2008; 1: 2: 57—67.
6. Agrawa A.K., Shapiro B.H. Gender, age and dose effects of neonatally administered aspartate on the sexually dimorphic plasma growth hormone profiles regulating expression of the rat sex-dependent hepatic CYP isoforms // Drug Metab. Dispos. 1997; 25: 11: 1249—1256.
7. Andersson T., Regardh C.G., Lou Y.C. et al. Polymorphic hydroxylation of S-mephenytoin and omeprazole metabolism in Caucasian and Chinese subjects // Pharmacogenetics. 1992; 2: 1: 25—31.
8. Anzenbacher P., Anzenbacherov? E. Cytochromes P450 and metabolism of xenobiotics // CMLS, Cell. Mol. Life Sci. 2001; 58: 5—6: 737—747.
9. Archakov A.I., Bachmanova G.I. Cytochrome P450 and active oxygen // London-New York-Philadelphia: Taylor & Francis, 1990; 435.
10. Brockmüller J., Kirchheiner J., Meisel C., Roots I. Pharmacogenetic diagnostics of cytochrome P450 polymorphisms in clinical drug development and in drug treatment // Pharmacogenomics. 2000; 1: 2: 125—51.
11. Cao X., Gibbs S., Fang L., et al. Why is it challenging to predict intestinal drug absorption and oral bioavailability in human using rat model // Pharm Res. 2006; 23: 8: 1675—1686.
12. Chang G.W., Kam P.C. The physiological roles of cytochrome P450 isoenzymes // Anaesthesia. 1999; 54: 1: 42.
13. Chen T.L., Lin C.J., Liu C.C. Cytochrome P-450-dependent monooxygenase system and anesthetics // Acta Anaesthesiol. Sin. 1995; 33: 3: 185—194.
14. Choi D.H., Li C., Choi J.S. Effects of myricetin, an antioxidant, on the pharmacokinetics of losartan and its active metabolite, EXP-3174, in rats: possible role of cytochrome P450 3A4, cytochrome P450 2C9 and P-glycoprotein inhibition by myricetin // Journal of Pharmacy and Pharmacology. 2010; 62: 7: 908—914.
15. Christensen L.K., Hansen J.M., Kristensen M. Sulphaphenazole-induced hypoglycaemic attacks in tolbutamide-treated diabetics // Lancet. 1963; 2: 7321: 1298—1301.
16. Danielson P.B. The cytochrome P450 superfamily: biochemistry, evolution and drug metabolism in humans // Curr. Drug Metab. 2002; 3: 6: 561—597.
17. DeLozier T.C., Lee S.C., Coulter S.J., et al. Functional characterization of novel allelic variants of CYP2C9 recently discovered in southeast // J Pharmacol Exp Ther. 2005; 315: 3: 1085—90.
18. Dickstein K., Timmermans P., Segal R. Losartan: a selective angiotensin II type 1 (AT1) receptor antagonist for the treatment of heart failure // Expert Opin Investig Drugs. 1998; 7: 11: 1897—1914.
19. Doherty M.M., Charman W.N. The mucosa of the small intestine: how clinically relevant as an organ of drug metabolism // Clin. Pharmacokinet. 2002; 41: 4: 235—253.
20. Donner K.M., Hiltunen T.P., Suonsyrjä et al. CYP2C9 genotype modifies activity of the renin-angiotensin-aldosterone system in hypertensive men // J Hypertens. 2009; 27: 10: 2001—2009.
21. Ferguson S.S., LeCluyse E.L., Negishi M. et al. Regulation of human CYP2C9 by the constitutive androstane receptor: discovery of a new distal binding site // Mol Pharmacol. 2002; 62: 3: 737—746.
22. Ferguson S.S., Chen Y., LeCluyse E.L. et al. Human CYP2C8 is transcriptionally regulated by the nuclear receptors constitutive androstane receptor, pregnane X receptor, glucocorticoid receptor, and hepatic nuclear factor 4alpha // Mol Pharmacol. 2005; 68: 3: 747—757.
23. Fischer M., Knoll M., Sirim D. The Cytochrome P450 Engineering Database: A Navigation and Prediction Tool for the Cytochrome P450 Protein Family // Bioinformatics. 2007; 23: 15: 2015—2017.
24. Frye R.F. Probing the world of cytochrome P450 enzymes // Mol Interv. 2004; 4: 3: 157—162.
25. García-Martín E., Martínez C., Ladero J., Agúndez J. Interethnic and intraethnic variability of CYP2C8 and CYP2C9 polymorphisms in healthy individuals // Mol Diagn Ther. 2006; 10: 1: 29—40.
26. Gonzalez F.J., Matsunaga T., Nagata K. Debrisoquine 4-hydroxylase: characterization of a new P-450 gene subfamily, regulation, chromosome mapping, and molecular analysis of the DA rat polymorphism // DNA. 1987; 6: 2: 149—161.
27. Gorski J.C., Huang S.M., Pinto A., et al. The effect of echinacea (Echinacea purpurea root) on cytochrome P450 activity in vivo // Clin Pharmacol Ther. 2004; 75: 1: 89—100.
28. Grant P. Warfarin and cranberry juice: an interaction // J Heart Valve Dis. 2004; 13: 1: 25—26.
29. Guengerich, F.P. Human cytochrome P450 enzymes. Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry // Kluwer Academic/Plenum Press, 2005; 377—531.
30. Gurley J., Gardner S.F., Hubbard M.A. et al. Cytochrome P450 phenotypic ratio for predicting herb-drug interaction in humans // Clinical pharmacology and therapeutics. 2002; 72: 3: 276—287.
31. Han Y., Guo D., Chen Y., et al. Effect of silymarin on the pharmacokinetics of losartan and its active metabolite E-3174 in healthy Chinese volunteers // Eur J Clin Pharmacol. 2009; 65: 6: 585—91.
32. He S.M., Zhou Z.W., Li X.T. et al. Clinical drugs undergoing polymorphic metabolism by human cytochrome P450 2C9 and the implication in drug development // Curr Med Chem. 2011; 18: 5: 667—713.

33. Hidaka M., Nagata M., Kawano Y. et al. Inhibitory effects of fruit juices on cytochrome P450 2C9 activity *in vitro* // Biosci Biotechnol Biochem. 2008; 72: 2: 406—11.
34. Ingelman-Sundberg, M, Daly A.K. and Nebert D.W. Home Page of the Human CytochromeP450 (CYP) Allele Nomenclature Committee, Available at. 2008. URL: <http://www.cypalleles.ki.se/>.
35. Kazierad D.J., Martin D.E., Blum R.A. et al. Effect of fluconazole on the pharmacokinetics of eprosartan and losartan in healthy male volunteers // Clin Pharmacol Ther. 1997; 62: 4: 417—25.
36. Klose T.S., Blaisdell J.A., Goldstein J.A. Gene structure of CYP2C8 and extrahepatic distribution of the human CYP2Cs // J Biochem Mol Toxicol. 1999; 13: 6: 289—295.
37. Ko J., Desta Z., Soukhova N. et al. In vitro inhibition of the cytochrome P450 (CYP450) system by the antiplatelet drug ticlopidine: potent effect on CYP2C19 and CYP2D6 // Br J Clin Pharmacol. 2000; 49: 4: 343—351.
38. Kobayashi M., Takagi M., Fukumoto K. et al. The effect of bucolome, a CYP2C9 inhibitor, on the pharmacokinetics of losartan // Drug Metab Pharmacokinet. 2008; 23: 2: 115—119.
39. Komoroski B.J., Zhang S., Cai H. et al. Induction and inhibition of cytochromes P450 by the St. John's wort constituent hyperforin in human hepatocyte cultures // Drug Metab Dispos. 2004; 32: 5: 512—518.
40. Kumar V., Brundage R.C., Oetting W.S. et al. Differential genotype dependent inhibition of CYP2C9 in humans // Drug Metab Dispos. 2008; 36: 1242—1248.
41. Lapple F., O. von Richter, Fromm M.F. et al. Differential expression and function of CYP2C isoforms in human intestine and liver // Pharmacogenetics. 2003; 13: 9: 565—575.
42. Lee C.R., Goldstein J., Pieper J. Cytochrome P450 2C9 polymorphisms: a comprehensive review of the in-vitro and human // Pharmacogenetics. 2002; 12: 3: 251—263.
43. Lewis D. Cytochrome P450. Substrate specificity and metabolism. In: Cytochromes P450: structure, function, and mechanism — Bristol: Taylor & Francis. 1996; 115—167.
44. Lewis D.F. Modi S., Dickins M. Structure-activity relationship for human cytochrome P450 substrates and inhibitors // Drug Metab Rev. 2002; 34: 1—2: 69—82.
45. Liu Y., Li X., Yang C. et al. UPLC-MS-MS method for simultaneous determination of caffeine, tolbutamide, metoprolol, and dapson in rat plasma and its application to cytochrome P450 activity study in rats // J Chromatogr Sci. 2013; 51: 1: 26—32.
46. Lo M.W., Goldberg M.R., McCrear J.B. et al. Pharmacokinetics of losartan, an angiotensin II receptor antagonist, and its active metabolite EXP3174 in humans // Clin Pharmacol Ther. 1995; 58: 6: 641—649.
47. Lofgren S., Baldwin R.M., Hiratsuka M. et al. Generation of mice transgenic for human CYP2C18 and CYP2C19: characterization of the sexually dimorphic gene and enzyme expression // Drug Metab Dispos. 2008; 36: 5: 955—962.
48. Matsunaga T., Ohmori S., Ishida M. et al. Molecular cloning of monkey CYP2C43 cDNA and expression in yeast // Drug Metab Pharmacokinet. 2002; 17: 2: 117—124.
49. Meadowcroft A.M., Williamson K.M., Patterson J.H. et al. The effects of fluvastatin, a CYP2C9 inhibitor, on losartan pharmacokinetics in healthy volunteers // J Clin Pharmacol. 1999; 39: 4: 418—424.
50. Meyer U.A., Skoda R.C., Zanger U.M. The genetic polymorphism of debrisoquine/sparteine metabolism-molecular mechanisms // Pharmacol Ther. 1990; 46: 2: 297—308.
51. Mergenhagen K.A., Sherman O. Elevated International Normalized Ratio after concurrent ingestion of cranberry sauce and warfarin // Am J Health Syst Pharm. 2008; 65: 22: 2113—2116.
52. Morgan E.T. Hormonal and developmental regulation of expression of the hepatic microsomal steroid 16 alpha-hydroxylase cytochrome P-450 apoprotein in the rat [Text] / E.T. Morgan, C. MacGeoch, J.A. Gustafsson // J Biol Chem. 1985; 260: 22: 11895—8.
53. Mugford C.A., Kedderis G.L. Sex-dependent metabolism of xenobiotics // Drug Metab Rev. 1998; 30: 3: 441—498.
54. Munafo A., Christen Y., Nussberger J. et al. Drug concentration response relationships in normal volunteers after oral administration of losartan, an angiotensin II receptor antagonist // Clin Pharmacol Ther. 1992; 51: 5: 513—521.
55. Nagata M., Hidaka M., Sekiya H. Effects of Pomegranate Juice on Human Cytochrome P450 2C9 and Tolbutamide Pharmacokinetics in // Drug metabolism and disposition. 2007; 35: 2: 302—305.
56. Nebert D.W., Gonzalez F.J. P-450 Genes: structure, evolution, and regulation // Ann. Rev. Biochem. 1987; 56: 945—993.
57. Nedelcheva V, Gut I. P450 in the rat and man: methods of investigation, substratespecificities and relevance to cancer // Xenobiotica. 1994; 24: 12: 1151—1175.
58. Nelson D.R., Kamataki T., Waxman D.J. et al. The P450 superfamily: update on newsequences, gene mapping, accession numbers, early trivial names of enzymes and nomenclature // DNA and Cell Biology. 1993; 12: 1: 1—51.
59. Pascussi J.M., Gerbal-Chaloin S., Drocourt L. et al. The expression of CYP2B6, CYP2C9 and CYP3A4 genes: a tangle of networks of nuclear and steroid receptors // Biochim Biophys Acta. 2003; 1619: 3: 243—253.
60. Pham D.Q., Pham A.Q. Interaction potential between cranberry juice and warfarin //Am J Health Syst Pharm. 2007; 64: 5: 490—494.
61. Porter T.D., Coon M.J. Cytochrome P-450 multiplicity of isoforms, substrates, and catalytic and regulatory mechanisms // J. Biol. Chem. 1991; 266: 21: 13469—13472.
62. Rahman A., Korzekwa R., Grogan J. et al. Selective biotransformation of taxol to 6 alpha-hydroxytaxol by human cytochrome P450 2C8 // Cancer Res. 1994; 54: 21: 5543—5546.
63. Reid J., Kuffel M.J., Ruben S.L. et al. Rat and human liver cytochrome P-450 isoform metabolism of ecteinascidin743 does not predict gender-dependent toxicity in humans // Clin Cancer Res. 2002; 8: 9: 2952—2962.
64. Romkes M.B., Faletto J.A., Blaisdell J.L. et al. Cloning and expression of complementary DNAs for multiple members of the human cytochrome P450IIC subfamily // Biochemistry. 1991; 30: 13: 3247—3255.

65. Sekino K., Kubota T., Okada Y. et al. Effect of the single CYP2C9*3 allele on pharmacokinetics and pharmacodynamics of losartan in healthy Japanese subjects // *Eur J Clin Pharmacol.* 2003; 59: 8–9: 589–592.
66. Schwarz U.I. Clinical relevance of genetic polymorphisms in the human CYP2C9 gene // *Eur J Clin Invest.* 2003; 33: 2: 23–30.
67. Shimada T., Yamazaki M., Mimura Y. et al. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians // *J. Pharmacol Exp Ther.* 1994; 270: 1: 414–423.
68. Sica D.A., Gehr T.W., Ghosh S. Clinical pharmacokinetics of losartan // *Clin Pharmacokinet.* 2005; 44: 8: 797–814.
69. Soldner A. HPLC assays to simultaneously determine the angiotensin-AT1 antagonist losartan as well as its main and active metabolite EXP 3174 in biological material of human and rats [Text] / A. Soldner, H. Spahn-Langguth, E. Mutschler // *J Pharm Biomed Anal.* 1998; 16: 5: 863–873.
70. Stearns R.A., Chakravarty P.K., Chen R., Chiu S.H. Biotransformation of losartan to its active carboxylic acid metabolite in human liver microsomes. Role of cytochrome P4502C and 3A subfamily // *Drug Metab Dispos.* 1995; 23: 2: 207–215.
71. Stearns R.A., Miller R.R., Doss G.A. et al. The metabolism of Dup 753, a nonpeptide angiotensin II receptor antagonist, by rat, monkey and human liver // *Drug Metab. Dispos.* 1992; 20: 2: 281–287.
72. Tamaki T., Nishiyama A., Kimura S. et al. EXP3174: the major active metabolite of losartan // *Cardiovasc Drug.* 1997; 15: 2: 122–136.
73. Ushijima K., Tsuruoka S., Tsuda H. et al. Cranberry juice suppressed the diclofenac metabolism by human liver microsomes, but not in healthy human subjects // *J Clin Pharmacol.* 2009; 68: 2: 194–200.
74. Varshney E., Saha N., Tandon M. et al. Genotype-phenotype correlation of cytochrome P450 2C9 polymorphism in Indian National Capital Region // *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 2013; 38: 4: 275–281.
75. Verhoef T.I., Redekop W.K., Daly A.K. et al. Pharmacogenetic-guided dosing of coumarin anticoagulants: algorithms for warfarin, acenocoumarol and phenprocoumon // *Br J Clin Pharmacol.* 2014; 77: 4: 626–641.
76. Wang G., Xiao C.Q., Li Z. Effect of soy extract administration on losartan pharmacokinetics in healthy female volunteers // *Ann Pharmacother.* 2009; 43: 6: 1045–1049.
77. Wang, S.L. Huang J., Lai M.D., Tsai J.J. Detection of CYP2C9 polymorphism based on the polymerase chain reaction in Chinese // *Pharmacogenetics.* 1995; 5: 1: 37–42.
78. Wang Z., Gorski J.C., Hamman M.A. et al. The effects of St John's wort (*Hypericum perforatum*) on human cytochrome P450 activity // *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 70: 4: 317–326.
79. Wijnen P.A., Buijsch R.A., Drent M. et al. Review article: the prevalence and clinical relevance of cytochrome P450 polymorphisms // *Aliment Pharmacol Ther.* 2007; 26: Suppl. 2: 211–219.
80. Williamson K.M., Patterson J.H., McQueen R.H. et al. Effects of erythromycin or rifampin on losartan pharmacokinetics in healthy // *Clin Pharmacol Ther.* 1998; 63: 3: 316–23.
81. Yang S., CHO Y., CHOI J. Effects of ticlopidine on pharmacokinetics of losartan and its main metabolite EXP-3174 in rats // *Acta Pharmacologica Sinica.* 2011; 32: 7: 967–972.
82. Yasar U., Dahl M.L., Christensen M., Eliasson E. Intra-individual variability in urinary losartan oxidation ratio, an in vivo marker of CYP2C9 activity // *J Clin Pharmacol.* 2002; 54: 2: 183–185.
83. Yoshitani T., Yagi H., Inotsume N. et al. Effect of experimental renal failure on the pharmacokinetics of losartan in rats // *Biol. Pharm. Bull.* 2002; 25: 8: 1077–1083.
84. Yun C.H., Lee H.S., Lee H. et al. Oxidation of the angiotensin II receptor antagonist losartan (DuP 753) in human liver microsomes. Role of cytochrome P4503A(4) in formation of the active metabolite EXP3174 // *Drug Metab Dispos.* 1995; 23: 2: 285–289.
85. Zanger U., Turpeinen M., Klein K., Schwab M. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation // *Anal Bioanal Chem.* 2008; 392: 6: 1093–1108.
86. Zaphiropoulos P.G. Exon skipping and circular RNA formation in transcripts of the human cytochrome P-450 2C18 gene in epidermis and of the rat androgen binding protein gene in testis // *Mol Cell Biol.* 1997; 17: 2985–2993.
87. Zhang S., Song N., Li Q. et al. Liquid chromatography/tandem mass spectrometry method for simultaneous evaluation of activities of five cytochrome P450s using a five-drug cocktail and application to cytochrome P450 phenotyping studies in rats // *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2008; 871: 1: 78–89.
88. Zhang Z.Y., Kerr J., Wexler R.S. et al. Warfarin analog inhibition of human CYP2C9-catalyzed S-warfarin 7-hydroxylation // *Thromb Res.* 1997; 88: 389–398.
89. Zhou S.F., Zhou Z.W., Yang L.P. et al. Substrates, inducers, inhibitors and structure-activity relationships of human Cytochrome P450 2C9 and implications in drug development // *Curr Med Chem.* 2009; 16: 27: 3480–3675.
90. Zhou S.F., Zhou Z.W., Huang M. Polymorphisms of human cytochrome P450 2C9 and the functional relevance // *Toxicology.* 2010; 278: 2: 165–88.