

Citokrom P450 i metabolizam lijekova - značenje i novosti

Lozić, Mirela; Rimac, Hrvoje; Bojić, Mirza

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2016, 72, 747 - 760**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:698895>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-09**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Citokrom P450 i metabolizam lijekova – značenje i novosti

MIRELA LOZIĆ¹, HRVOJE RIMAC², MIRZA BOJIĆ²

Sveučilište u Zagrebu, Farmaceutsko-biokemijski fakultet

¹Integrirani preddiplomski i diplomski studij farmacije

²Zavod za farmaceutsku kemiju

A. Kovačića 1, 10000 Zagreb

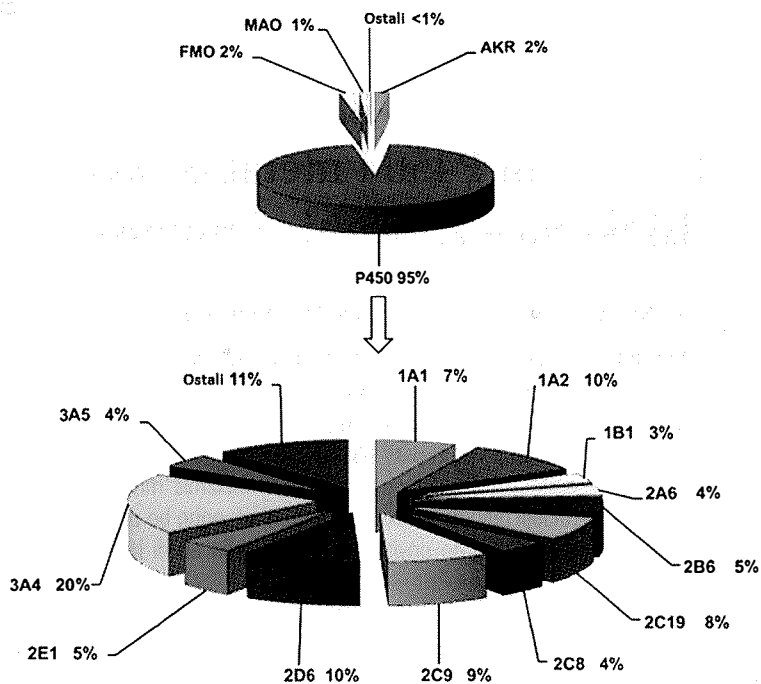
UVOD

Hrana je izvor energije i građevnih jedinica (ugljikohidrata, masti, bjelančevina) te nutrijenata neophodnih za normalno funkcioniranje organizma (vitamini i minerali). Prehranom se uz neophodne sastavnice unosi i niz tvari stranih organizmu – ksenobiotika (grč. *xenos* – stran, *bios* – život). Evolucijski se razvio čitav niz enzimskih sustava kojima je cilj te strane tvari prevesti (metabolizirati) u vodotopljiv oblik pogodan za izlučivanje. Dominantni enzimi u metabolizmu ksenobiotika, a time i lijekova, su citokromi P450*. Udio citokroma P450 u ukupnom metabolizmu lijekova je 74 %, nakon čega slijede uridin-difosfat-glukuronozil transferaze (UGT) s 15 % (1). P450 enzimi su najznačajniji enzimi u reakcijama I faze (oksidacije i redukcije), a UGT enzimi u reakcijama II faze (konjugacije). Visokom udjelu tih enzima u ukupnom metabolizmu pridonosi smještaj na membranama endoplazmatskog retikuluma pa tako produkt citokroma P450 postaje supstrat UGT-a.

Iz godine u godinu rastu spoznaje o metabolizmu, pa se tako i brojke o udjelu pojedinih enzima u ukupnom metabolizmu mijenjaju. Rendić i Guengerich (2015.) su u nedavnoj studiji metaboličkih reakcija ksenobiotika zaključili da citokromi P450 sudjeluju u 95 % reakcija oksidacija i redukcija (slika 1.). Zanimljivo je da se udio CYP3A potporodice smanjio (sa 46 % na 24 %), no i dalje P450 3A4 ostaje najznačajniji P450 enzim s udjelom od 20 % (2).

U ovom je radu dan pregled reakcija kataliziranih najznačajnijim citokromima P450, supstrata, inhibitora i induktora, s osvrtom na neuobičajene reakcije proučavane tijekom posljednjeg desetljeća. Posebno su istaknuti marker supstrati koji se

* P450 je skraćenica za citokrom P450.



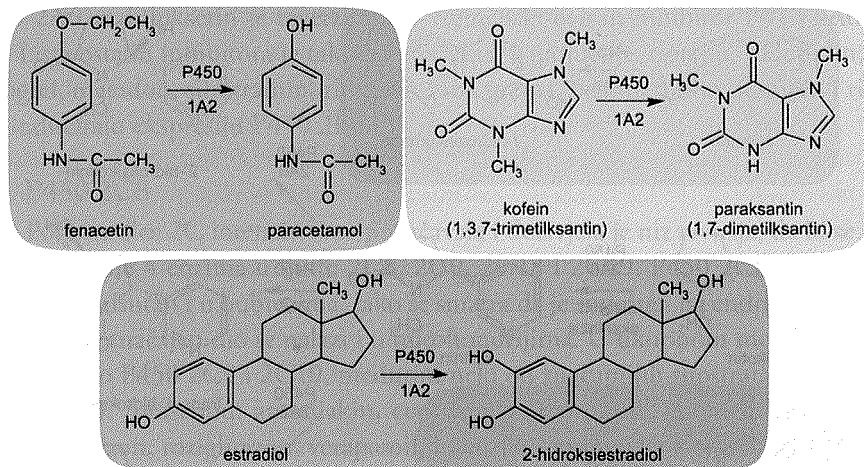
Slika 1. Udio citokroma P450 u reakcijama oksidacija i redukcija, temeljen na broju reakcija koje kataliziraju pojedini enzimi (Skrtaćenice: P450 – citokrom P450, AKR – aldo-keto reduktaze, FMO – flavinmonooksigenaze, MAO – monoaminoksidaze) (2).

gotovo isključivo metaboliziraju djelovanjem jednog citokroma P450. Stoga je biotransformacija marker supstrata odraz metaboličke aktivnosti isključivo jednog, promatranog enzima.

P450 1A2

Enzim P450 1A2 eksprimiran je primarno u jetri s udjelom od 6–12 % i visokom varijabilnošću do 40 puta. Lista supstrata je ekstenzivna te uključuje klozapin, ciklobenzaprin, duloksetin, fluvoksamin, haloperidol, imipramin, meksiletin, nabumeton, naproksen, olanzapin, riluzol, takrin, teofilin, tizanidin, triamteren, zileuton, zolmitriptan (3). Najčešće primjenjivani marker supstrati su kofein koji se *N*³-demetilacijom prevodi u paraksantin i fenacetin koji *O*-deetilacijom prelazi u aktivni oblik paracetamol (slika 2.). Endogeni supstrati ovog enzima su 17 β -estradiol i estron koji su podložni hidroksilaciji na položaju 2. P450 1A2 je uključen i u bioaktivaciju kancerogena kao što je aristolohična kiselina, čija se bioaktivacija povezuje s nefropatijama i urotelijalnim karcinomom (4).

Lijekovi inhibitori P450 1A2 obuhvaćaju, između ostalih, cimetidin, fluorokinolone, fluvoksamin i tiklopidin. U *in vitro* modelima se koriste i inhibitori furafilin te α -naftoflavon.



Slika 2. Odbrane reakcije P450 1A2: O-deetilacija fenacetina, N³-demetilacija kofeina i 2-hidroksilacija estradiola.

Pušenje inducira ekspresiju P450 1A2. Pojačana ekspresija ovog enzima povezuje se s povećanim rizikom raka debelog crijeva, no pojačana ekspresija P450 1A2 praćena je i povećanom aktivnošću N-acetiltransferaze (5). Primjer povezanosti aktivnosti s toksičnošću predstavlja fenacetin. Ukoliko je aktivnost P450 1A2 smanjena, reakcija deacetilacije postaje dominantna što rezultira nastankom kinonimina koji se povezuju s pojavom methemoglobinemije (6).

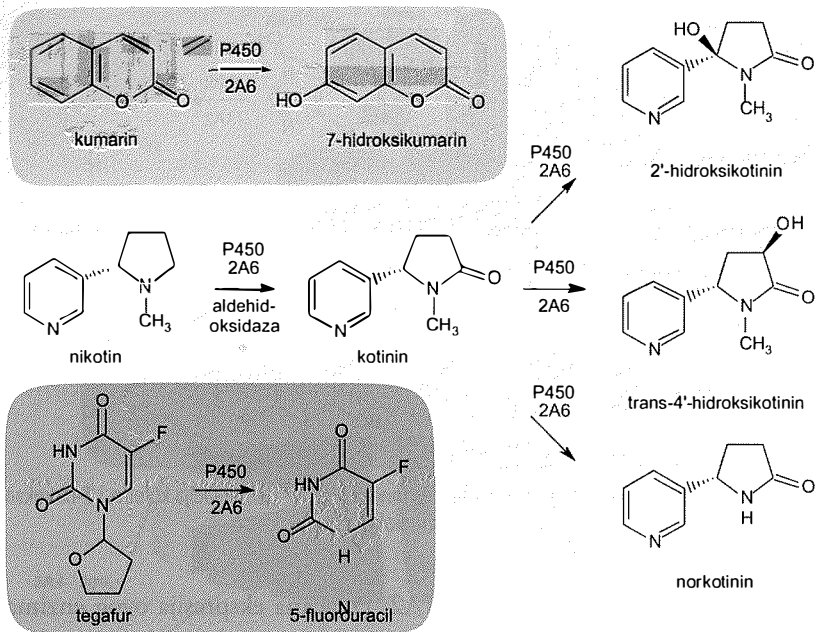
P450 2A6

Citokrom P450 2A6 eksprimiran je u jetri i podložan je visokoj varijabilnosti udjela u ukupnoj ekspresiji P450 (do 13 %) (7). Ovaj je enzim uključen u oksidaciju nikotina; prevodi nikotin u kotinin te katalizira hidroksilaciju nikotina na položaju 2' (slika 3.) (8). U osoba sa smanjenom aktivnošću P450 2A6 smanjen je metabolizam nikotina pa postoji manji rizik od nastanka karcinoma (9).

Marker reakcija ovog enzima je hidroksilacija kumarina na položaju 7 (slika 3.), a primjenjuje se i u *in vivo* dijagnostici (10). P450 2A6 prevodi paraksantin (glavni metabolit kofeina nastao djelovanjem P450 1A2) u 1,7-dimetilmokraćnu kiselinu te aktivira tegafur u 5-fluorouracil (slika 3.). Pilocarpin, bilirubin i metronidazol također predstavljaju supstrate P450 2A6.

Prirodni spojevi 8-metoksipsoralen i mentofuran te tuberkulostatik izonijazid su o metabolizmu ovisni inaktivatori P450 2A6. Od prirodnih spojeva značajan broj flavonoida inhibira P450 2A6.

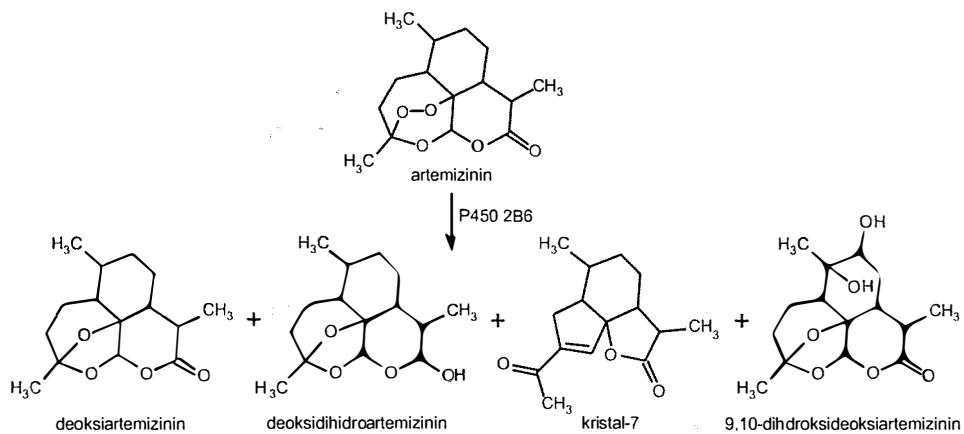
Toksičnost halotana povezuje se s nastankom slobodnih radikala djelovanjem P450 2A6 što za posljedicu ima peroksidaciju lipida (11). Ovaj je enzim također uključen u bioaktivaciju policikličkih aromatskih ugljikovodika i arilamina (12).



Slika 3. Neke reakcije citokroma P450 2A6: hidroksilacija kumarina, oksidacija nikotina i dealkijacija 5-fluorouracila.

P450 2B6

Citokrom P450 2B6 eksprimiran je u jetri, a manjim dijelom i u plućima (13). Supstrati uključuju artemizinin (slika 4.), bupropion, ciklofosamid, efavirenz, ifosamid i metadon, s tim da bupropion predstavlja marker supstrat *in vitro*, a efavirenz *in vivo* (14, 15). 17 α -etinilestradiol je ireverzibilni inhibitor koji se veže za apoprotein

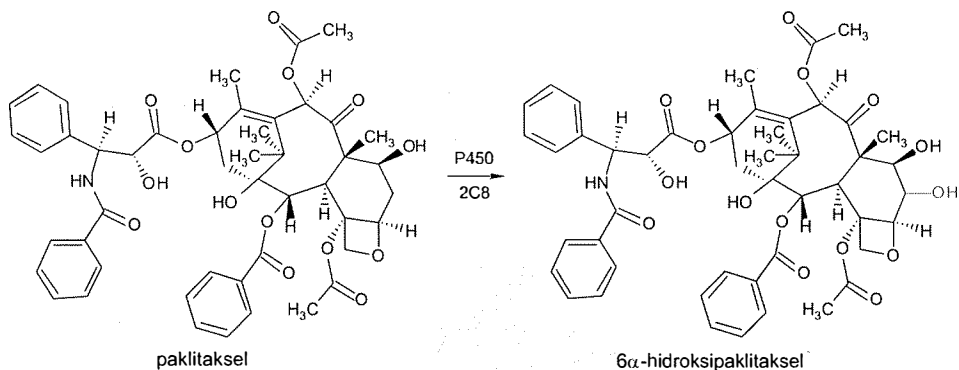


Slika 4. Produkti biotransformacije artemizinitina katalitičkim djelovanjem P450 2B6 (18).

P450 2A6, a duloksetin je reverzibilni i vremenski ovisan inhibitor P450 2A6 (16, 17). Lista ostalih inhibitora je također značajna, a uključuje: tiotepu, tiklopidin, klopidogrel, metadon, sibutramin, ritonavir i sok grejpa. Fenobarbiton, fenitoin i rifampin induciraju ekspresiju P450 2B6 (3).

P450 2C8

Potporodica 2C intenzivno se proučavala i doživjela je niz revizija, da bi se utvrdilo postojanje 4 enzima u ljudi: 2C8, 2C9, 2C18 i 2C19. P450 2C8 je izoliran iz jetre, ali je prisutan i u bubrežima. Iako se smatra da je smješten na endoplazmatskom retikulumu, značajan dio se nalazi i u mitohondrijima. U ukupnom metabolizmu ne sudjeluje kao P450 2C9 i 2C19, međutim neki od značajnijih supstrata su: paklitaksel (slika 5.), torasemid, amodiakin, cerivastatin, repaglinid, montelukast, troglitazon, pioglitazon, roziglitazon, verapamil, imatinib i retinoična kiselina (3, 19).



Slika 5. Hidroksilacija paklitaksela djelovanjem citokroma P450 2C8.

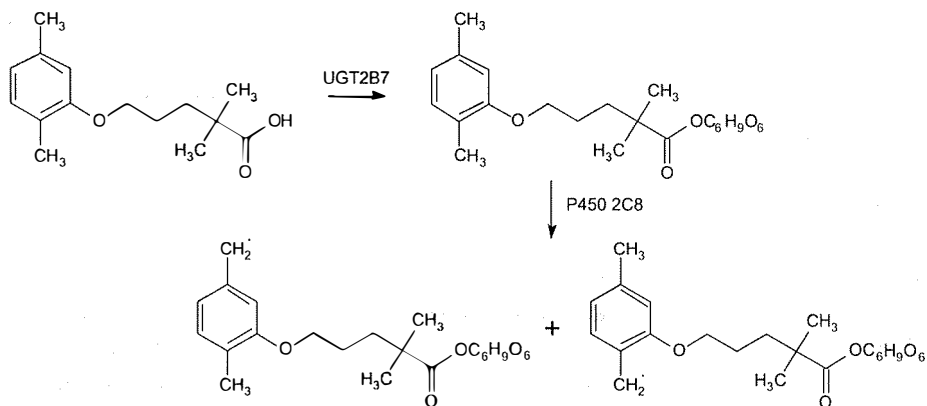
Neki flavonoidi (naringenin, kaempferol, kvercetin) i α -naftoflavon su pokazali inhibiciju metabolizma paklitaksela. Neki od inhibitora s kliničkom značajnošću su gemfibrozil (ireverzibilna inhibicija alkilacijom hema), montelukast i nilotinib.

Inhibicija gemfibrozilom je zanimljiva jer prethodi reakcija glukuronidacije (obrnuti redosljed reakcija I. i II. faze, slika 6.), a nastali slobodni radikali se kovalentno vežu na hem (20, 21).

Cerivastatin je s tržišta povučen zbog pojave rabdomiolize koja se povezala s genetskim varijacijama P450 2C8 i inhibicijom gemfibrozilom (22, 23).

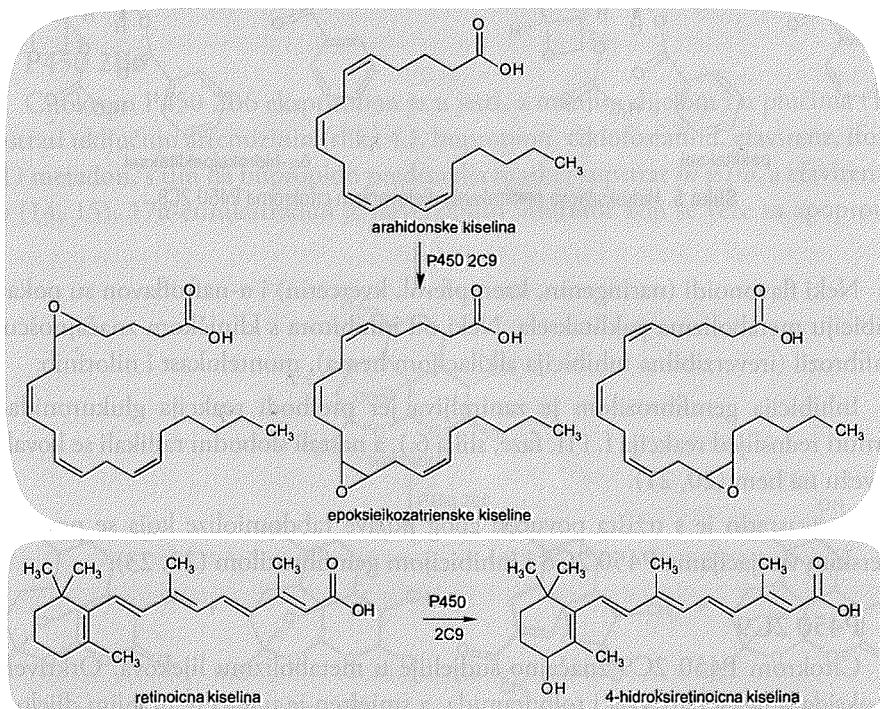
P450 2C9

Citokrom P450 2C9 značajno sudjeluje u metabolizmu lijekova. Otkriven je kao oksidaza heksobarbitala i tolbutamida, a smješten je u jetri te manjim dijelom u tankom crijevu, aorti i koronarnim arterijama, što upućuje na moguću uključenost u



Slika 6. Ireverzibilna inhibicija citokroma P450 2C8 gemfibrozilom.

pojavu hipertenzije i drugih kardiovaskularnih bolesti. Supstrati su mu: diklofenak, ibuprofen, piroksikam, tolbutamid, glipizid, losartan, irbesartan, celekoksib, fluvastatin, naproksen, fenitoin, roziglitazon, sulfametoksazol, tamoksifen, tolbutamid, torsemid i varfarin. P450 2C9 je uključen i u epoksidaciju arahidonske i linoleinske kiseline te hidroksilaciju *trans*-retinoične kiseline na položaju 4 (slika 7.). Najznačajniji

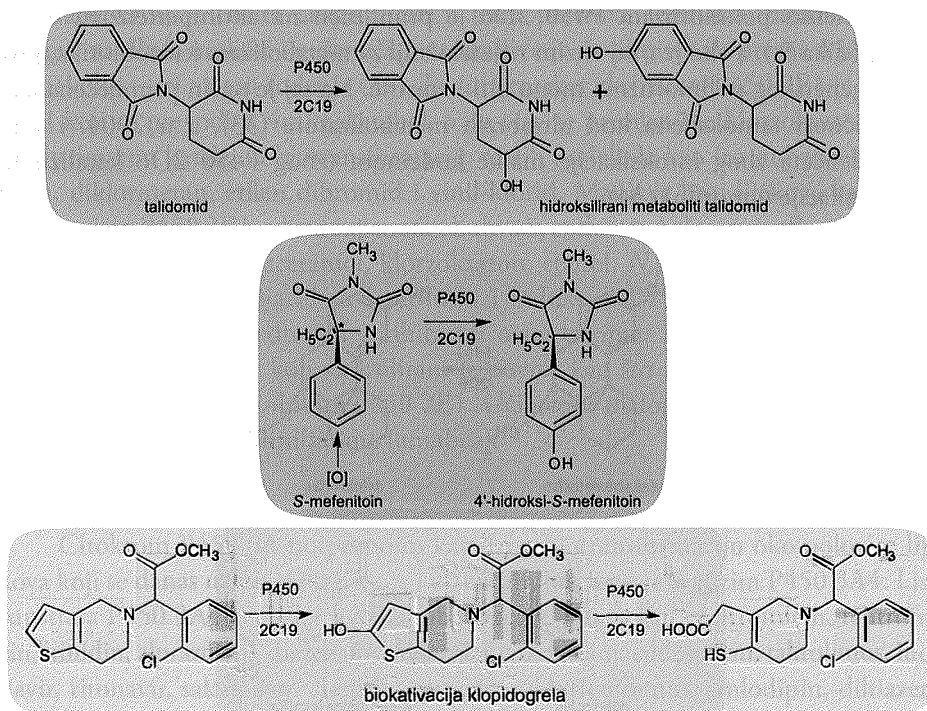


Slika 7. Oksidacije lipofilnih supstancija (arahidonske i retinoične kiseline) djelovanjem P450 2C9.

marker aktivnosti P450 2C9 je tolbutamin (i *in vivo* i *in vitro*). Ovaj enzim katalizira i hidroksilaciju oralnog kontraceptiva 17 α -etinilestradiola na položaju 2. Lijekovi inhibitori su flukonazol, amiodaron i izonijazid. Sulfafenazol je kompetitivni inhibitor, a tijenilinska kiselina ireverzibilni inaktivator. Smatra se da tijenilinska kiselina S-oksidacijom daje reaktivni intermedijer s P450 2C9 stvarajući neoantigen i uzrokujući produkciju protutijela i posljedično autoimunu reakciju (24, 25). Genetski polimorfizam ovog enzima povezuje se s potrebom individualizacije terapije varfarinom (26). Induktori ovog enzima su rifampin i sekobarbiton.

P450 2C19

Citokrom P450 2C19 eksprimiran je u jetri, s relativno malim udjelom do 5 %. Klasičan primjer reakcije katalizirane ovim enzimom je 4'-hidroksilacija S-mefenitoina (slika 8.). P450 2C19 metabolizira i inhibitore protonске crpke (izuzetak je esomeprazol); primijećeno je da pacijenti s niskom aktivnošću ovog enzima koji primjenjuju omeprazol pokazuju bolji odgovor na terapiju ulkusa (27, 28). Hidroksilacija R-varfarina na položaju 8' značajno pridonosi ukupnom metabolizmu lijeka i razlici u individualnom odgovoru na terapiju (29). Zloglasni talidomid danas doživljava uskrsnuće u istraživanjima antitumorskog potencijala, a P450 2C19 katalizira 5 i



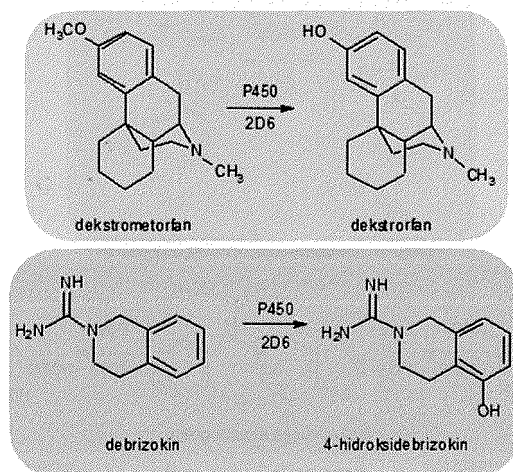
Slika 8. Reakcije katalizirane citokromom P450 2C19: hidroksilacija talidomida, hidroksilacija S-mefenitoina i oksidacija klopidoigrela.

5'-hidroksilaciju talidomida (30). P450 2C19 katalizira oksidaciju steroida progesterona (položaj 21) i testosterona (položaj 17). Jedan od najproučavanijih supstrata je klopidogrel koji se aktivira djelovanjem P450 2C19 (31). Iako su rezultati kliničkih ispitivanja oprečni, smatra se da je genotipizacija u slučaju terapije klopidogrelom opravdana (32). Ostali značajniji supstrati su lanzoprazol, pantoprazol, rabeprazol, diazepam, fenitoin, fenobarbiton, amitriptilin, klomipramin, ciklofosamid, vorikonazol i escitalopram. Aktivnost ovog enzima inhibiraju esomeprazol, fluoksetin, fluvoksamin, ketokonazol, lanzoprazol, omeprazol, tiklopidin, kanabinoidi i sok grejpa. Također se smatra da rifampicin može inducirati ekspresiju ovog enzima. Genetske varijacije P450 2C19 su učestale posebice u Azijata pa farmaceutske kompanije izbjegavaju razvoj supstrata ovog enzima.

P450 2D6

Citokrom P450 2D6 je nakon 3A4 jedan od najznačajnijih enzima uključenih u metabolizam lijekova, iako mu je udio oko 5 % od ukupno eksprimiranih citokroma P450. Osim u jetri značajna količina se nalazi i u plućima i mozgu. Premda je P450 2D6 izoliran iz mikrosoma (endoplazmatski retikulum), može se nalaziti i na membranama mitohondrija i te koristiti adrenodoksin kao izvor elektrona. Za razliku od ostalih citokroma P450 2D6 nije inducibilan.

Genetski polimorfizam P450 2D6 je primijećen na antihipertenzivu debri-zokinu (slika 9.), a ako je ovaj enzim najzaslužniji za metabolizam ksenobiotika, posljedice genetskog polimorfizma mogu biti i smrtné. Na taj je način primijećena kardiotoksičnost tamoksifena kod ultrabrzih metabolizatora (33), a u 2004. i smrt novorođenčeta zbog intoksikacije majke kodeinom (zbog P450 2D6 katalizirane O-demetilacije u morfin) (34).



Slika 9. Marker reakcije P450 2D6: O-demetilacija deksstrometorfana i hidroksilacija debrizokina.

Zanimljivo je da dio populacije nema funkcionalnog P450 2D6 bez značajnijih posljedica što upućuje na nepostojanje fiziološkog supstrata. Lijekovi supstrati P450 2D6 obuhvaćaju *S*-metoprolol, propafenon, timolol, amitriptilin, klomipramin, desipramin, imipramin, paroksetin, haloperidol, risperidon, tioridazin, aripiprazol, kodein, dekstrometorfan, duloksetin, flekainid, meksiletin, ondansetron, tamoksifen i venlafaksin.

Biljke su glavni izvor morfina, no već dugi niz godina poznato je da i sisavci produciraju opioide u subfarmakološkim koncentracijama. Njihova uloga u organizmu nije razjašnjena, no Kramlinger i sur. su pokazali da i ljudi mogu sintetizirati morfin (35). P450 2D6 katalizira pretvorbu *R*-retikulina u salutaridin, tebaina u oripavin i kodeina u morfin. Marker reakcija P450 2D6 je *O*-demetilacija dekstrometorfana.

Marker inhibitor P450 2D6 je kinidin (zanimljivo je da sam kinidin nije supstrat ovog enzima), a inhibicija je reverzibilna i kompetitivna. Značajniji inhibitori P450 2D6 su bupropion, fluoksetin, paroksetin, kinidin, duloksetin, amiodaron, cimetidin, klorfeniramin, doksepin, haloperidol, metadon, mibefradil i ritonavir.

P450 2E1

P450 2E1 je prvi put opisan kao mikrosomalna oksidaza etanola, iako sa skepticizmom jer je etanol hidrofilna tvar, a citokromi P450 načelno preferiraju hidrofobne supstrate. Ovaj je enzim eksprimiran u jetri, plućima, jednjaku, tankom crijevu, mozgu, nazalnoj mukози i gušterači, a zanimljivo je da njegova ekspresija u jetri počinje nekoliko sati nakon rođenja (36). *In vitro* marker aktivnosti P450 2E1 je 4-nitrofenol koji se prevodi u 4-nitrokatehol, a *in vivo* se primjenjuje klorzoksazon. P450 2E1 primarno katalizira biotransformacije malih molekula kao što su benzen, kloroform, diklormetan, etilen dibromid i vinil-klorid. Manji je broj lijekova kataliziran djelovanjem P450 2E1, a lista supstrata obuhvaća enfluran, halotan, izofluran, metoksifluran, sevofluran, paracetamol, klorzoksazon, etanol, *N,N*-dimetilformamid i teofilin (3). Etanol i izonijazid su i supstrati i induktori P450 2E1. Otapala koja su supstrati P450 2E1 ujedno su i inhibitori ovog enzima. Značajan broj spojeva sa sumporom u strukturi, koji su izolirani iz povrća kao što su češnjak, luk i biljke iz porodice Brassicaceae, inhibira P450 2E1. Učinak je analogan dietilditiokarbamatu, razgradnom produktu disulfirama (antabus).

P450 3A

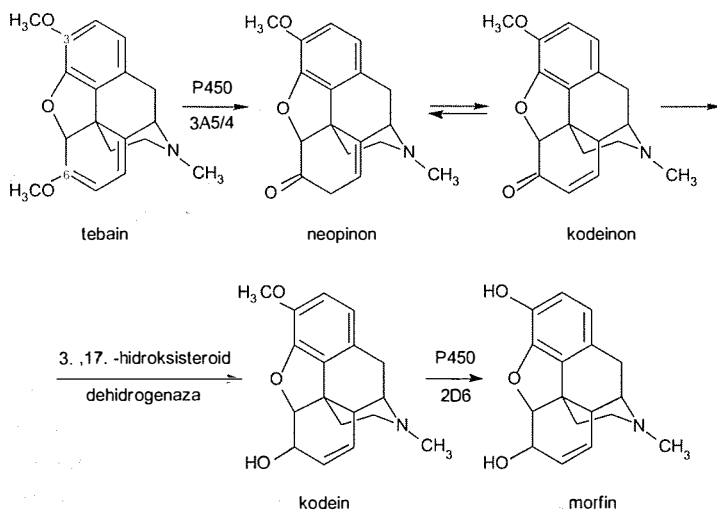
Citokrom P450 3A potporodica katalizira biotransformaciju oko polovice lijekova koji se danas nalaze na tržištu, a najznačajniju ulogu ima enzim P450 3A4. Lista supstrata P450 3A4 je ekstenzivna, a obuhvaća klaritromicin, eritromicin, telitromicin, kinidin, alprazolam, diazepam, midazolam, triazolam, ciklosporin, takrolimus, indinavir, ritonavir, sakvinavir, cisaprid, astemizol, klorfeniramin, amlodipin, diltiazem, felodipin, nifedipin, nisoldipin, nitrendipin, verapamil, atorvastatin, lovastatin, simvastatin, boceprevir, buspiron, imatinib, haloperidol, metadon, pimozid, kinin, sildenafil,

tamoksifen, telaprevir, trazodon i vinkristin (3). Marker reakcije citokroma P450 3A4 su oksidacija nifedipina, 6 β -hidroksilacija testosterona i 1'-hidroksilacija midazolama, a potonja se može primjenjivati i *in vivo*.

Kao što je i lista supstrata podugačka tako je i lista inhibitora značajna, a obuhvaća indinavir, nelfinavir, ritonavir, klaritromicin, itrakonazol, ketokonazol, nefazodon, eritromicin, verapamil, subokson, diltiazem, cimetidin, amiodaron, fluvoksamin, mibefradil i troleandomicin. Bergamotin i 6',7'-dihidroksibergamotin iz soka grejpa predstavljaju o mehanizmu ovisne inhibitore P450 3A4. U *in vitro* ispitivanjima inhibicija se najčešće postiže dodatkom makrolidnih antibiotika (eritromicin, troleandomicin) ili ketokonazola. Kontraceptivi koji sadrže acetilensku skupinu su ireverzibilni inhibitori citokroma P450 3A4, ali se njihov učinak inhibicije ne smatra značajnim jer se primjenjuju u malim dozama (37, 38). Ritonavir je jedan od najpotentnijih inhibitora P450 3A4 i primjenjuje se u kombinacijama s drugim inhibitorima proteaze u anti-HIV terapiji s ciljem smanjenja njihove doze, a posljedično i njihovih neželjenih učinaka (39).

Najznačajniji induktori P450 3A4 su karbamazepin, fenobarbiton, fenitoin, pioglitazon, rifabutin, rifampin, gospina trava i troglitazon. Primjena preparata na bazi gospine trave rezultirala je smanjenom djelotvornošću oralnih kontraceptiva i posljedičnim trudnoćama. Razlog je indukcija pregnanskog X-receptora glukokortikoida hipericinom i hiperforinom što za posljedicu ima pojačanu ekspresiju P450 3A4. Pojačana aktivnost P450 3A4 rezultira brзом eliminacijom 17 α -etinilestradiola (40).

Iako citokrom P450 3A5 nema toliko značajan udio u metabolizmu lijekova kao P450 3A4, njegov značaj nije ništa manji jer je podložan genetskom polimorfizmu i postoji mogućnost značajnijih kliničkih interakcija, što se povezuje s lapatinibom



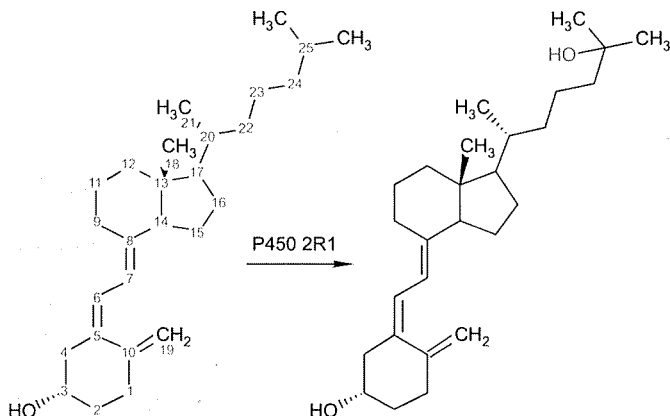
Slika 10. Novopotvrđeni koraci u biosintezi morfina u sisavaca.

(41). Iako se P450 3A5 i 3A4 preklapaju u pogledu supstrata, s desetak puta većom katalitičkom učinkovitošću 3A4, i tu postoje iznimke. U sklopu istraživanja biosintetskog puta morfina u ljudi pokazano je da P450 3A5 katalizira O^6 -demetilaciju tebaina sa 10 puta većom katalitičkom učinkovitošću u odnosu na P450 3A4 (slika 10.). Razlog »čekanja« s opisom biosintetskog puta je nemogućnost izolacije međuprodukta kodeinona i morfinona što je riješeno primjenom morfinon reductaze koja prevodi ove supstrate u stabilni hidrokodon i hidromorfon (35).

P450 3A7 se smatra glavnim enzimom odgovornim za metabolizam ksenobiotika u jetri fetusa. P450 3A43 je karakteriziran prije desetak godina, a na primjeru alprazolama je pokazano da ima veći značaj za metabolizam lijeka u mozgu nego P450 3A4 (1).

Zaključak

Citokromi P450 su neupitno najvažniji enzimi koji kataliziraju biotransformacije lijekova. Sekvenciranjem ljudskog genoma je otkriveno da u ljudi postoji 57 citokrom P450 enzima. Spoznaje o njihovoj ulozi rastu na dnevnoj bazi pa je nedavno utvrđeno da citokrom P450 2R1 predstavlja glavnu hidroksilazu vitamina D (slika 11.) (42–44). Područje biokemije i enzimologije citokroma P450 ostaje atraktivno, s mnogim otvorenim pitanjima na koja trebamo odgovoriti.



Slika 11. Hidroksilacija vitamina D₃.

Zahvala

Ovaj rad posvećujemo prof. dr. sc. F. P. Guengerichu, pioniru istraživanja humanih citokroma P450 pod čijim su vodstvom izolirani i okarakterizirani citokromi P450 2D6, 1A2, 2C8, 2C9, 3A4 i 2A6, a povodom 40-te obljetnice njegova znanstvenoistraživačkog rada. Ovaj je rad financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom UIP-2014-09-5704.

Cytochrome P450 in Drug Metabolism – Significance and Latest Advancements

M. Lozić, H. Rimac, M. Bojić

Abstract

Cytochrome P450 enzymes are the most important enzyme superfamily for metabolism of xenobiotics. In the last few years, knowledge on metabolism of xenobiotics has grown exponentially. In this paper cytochrome P450 1A2, 2A6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4 and 3A5 substrates, inhibitors and inducers are reviewed with special focus on marker reactions of individual P450s.

1. Guengerich FP. Human cytochrome P450 enzymes. U: Cytochrome P450: Structure, Mechanism, and Biochemistry, 3rd ed. New York: Ortiz de Montellano PR, urednik, Springer International Publishing, 2015.
2. Rendic S, Guengerich FP. Survey of Human Oxidoreductases and Cytochrome P450 Enzymes Involved in the Metabolism of Xenobiotic and Natural Chemicals. *Chem Res Toxicol.* 2015; 28: 38–42.
3. <http://medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/clinical-table>, datum pristupa: 11.5.2016.
4. Stiborova M, Levova K, Barta F, Shi Z, Frei E, Schmeiser HH, Nebert DW, Phillips DH, Arlt VM. Bioactivation versus detoxication of the urothelial carcinogen aristolochic acid I by human cytochrome P450 1A1 and 1A2. *Toxicol Sci.* 2012; 125: 345–358.
5. Lang NP, Butler MA, Massengill J, Lawson M, Stotts RC, Maurer-Jensen M, Kadlubar FF. Rapid metabolic phenotypes for acetyltransferase and cytochrome P4501A2 and putative exposure to food-borne heterocyclic amines increase the risk for colorectal cancer or polyps. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prevent.* 1994; 3: 675–682.
6. Fischbach T, Lenk W. Additional routes in the metabolism of phenacetin. *Xenobiotica* 15; 1985: 149–164.
7. Zhao B, Lei L, Kagawa N, Sundaramoorthy M, Banerjee S, Nagy LD, Guengerich FP, Waterman MR. Three-dimensional structure of steroid 21-hydroxylase (cytochrome P450 21A2) with two substrates reveals locations of disease-associated variants. *J Biol Chem.* 2012; 287: 10613–10622.
8. Rendić SP, Medić-Šarić M. Biokemija lijekova, Zagreb: Medicinska naklada, 2013.
9. Pianezza ML, Sellers EM, Tyndale RF. Nicotine metabolism defect reduces smoking. *Nature* 1998; 393: 750.
10. Rautio A, Kraul H, Kojo A, Salmela E, Pelkonen O. Interindividual variability of coumarin 7-hydroxylation in healthy volunteers. *Pharmacogenetics* 1992; 2: 227–233.
11. Minoda Y, Kharasch ED. Halothane-dependent lipid peroxidation in human liver microsomes is catalyzed by cytochrome P4502A6 (CYP2A6). *Anesthesiology* 2001; 95: 509–514.
12. Shimada T, Murayama N, Yamazaki H, Tanaka K, Takenaka S, Komori M, Kim D, Guengerich FP. Metabolic activation of polycyclic aromatic hydrocarbons and aryl and heterocyclic amines by human cytochromes P450 2A13 and 2A6. *Chem Res Toxicol.* 2013; 26: 529–537.
13. Hukkanen J, Pelkonen A, Hakkola J, Raunio H. Expression and regulation of xenobiotic-metabolizing cytochrome P450 (CYP) enzymes in human lung. *Crit Rev Toxicol.* 2002; 32: 391–411.

14. Ward BA, Gorski JC, Jones DR, Hall SD, Flockhart DA, Desta Z. The cytochrome P450 2B6 (CYP2B6) is the main catalyst of efavirenz primary and secondary metabolism: implication for HIV/AIDS therapy and utility of efavirenz as a substrate marker of CYP2B6 catalytic activity. *J Pharmacol Exp Ther.* 2003; 306: 287–300.
15. Gerin B, Dell'Aiera S, Richert L, Smith S, Chanteux H. Assessment of cytochrome P450 (1A2, 2B6, 2C9 and 3A4) induction in cryopreserved human hepatocytes cultured in 48-well plates using the cocktail strategy. *Xenobiotica* 2013; 43: 320–335.
16. Kent UM, Sridar C, Spahlinger G, Hollenberg PF. Modification of serine 360 by a reactive intermediate of 17 α -ethynylestradiol results in mechanism-based inactivation of cytochrome P450s 2B1 and 2B6. *Chem Res Toxicol.* 2008; 21: 1956–1963.
17. Chan CY, New LS, Ho HK, Chan EC. Reversible time-dependent inhibition of cytochrome P450 enzymes by duloxetine and inertness of its thiophene ring towards bioactivation. *Toxicol Lett.* 2011; 206: 314–324.
18. Kerb R, Fux R, Mörike K, Kreamsner PG, Gil JP, Gleiter CH, Schwab M. Pharmacogenetics of antimalarial drugs: effect on metabolism and transport. *Lancet Infect Dis.* 2009; 9: 760–774.
19. Leo MA, Lasker JM, Raucy JL, Kim CI, Black M, Lieber CS. Metabolism of retinol and retinoic acid by human liver cytochrome P450IIC8. *Arch Biochem Biophys.* 1998; 269: 305–312.
20. Baer BR, DeLisle RK, Allen A. Benzylic oxidation of gemfibrozil-1-O- β -glucuronide by P450 2C8 leads to heme alkylation and irreversible inhibition. *Chem Res Toxicol.* 2009; 22: 1298–1309.
21. Honkalammi J, Niemi M, Neuvonen PJ, Backman JT. Gemfibrozil is a strong inactivator of CYP2C8 in very small multiple doses. *Clin Pharmacol Ther.* 2012; 91: 846–855.
22. Ishikawa C, Ozaki H, Nakajima T, Ishii T, Kanai S, Anjo S, Shirai K, Inoue I. A frame-shift variant of CYP2C8 was identified in a patient who suffered from rhabdomyolysis after administration of cerivastatin. *J Human Genet.* 2004; 49: 582–585.
23. Kaspera R, Naraharisetti SB, Tamraz B, Sahele T, Cheesman MJ, Kwok PY, Marciante K, Heckbert SR, Psaty BM, Totah RA. Cerivastatin in vitro metabolism by CYP2C8 variants found in patients experiencing rhabdomyolysis. *Pharmacogenet. Genomics* 2010; 20: 619–629.
24. Beaune P, Dansette PM, Mansuy D, Kiffel L, Finck M, Amar C, Leroux JP, Homberg JC. Human anti-endoplasmic reticulum autoantibodies appearing in a drug-induced hepatitis are directed against a human liver cytochrome P-450 that hydroxylates the drug. *Proc. Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 551–555.
25. Dansette PM, Thang DC, El Amri H, Mansuy D. Evidence for thiophene-S-oxide as a primary reactive metabolite of thiophene in vivo: formation of a dihydrothiophene sulf-oxide mercapturic acid. *Biochem Biophys Res Commun.* 1992; 186: 1624–1630.
26. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM, Rettie AE. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *J Am Med Assoc.* 2002; 287: 1690–1698.
27. Chiba K, Kobayashi K, Manabe K, Tani M, Kamataki T, Ishizaki T. Oxidative metabolism of omeprazole in human liver microsomes: cosegregation with Smephenytoin 4-hydroxylation. *J Pharmacol Exp Ther.* 1993; 266: 52–59.
28. Karam WG, Goldstein JA, Lasker JM, Ghanayem BI. Human CYP2C19 is a major omeprazole 5-hydroxylase, as demonstrated with recombinant cytochrome P450 enzymes. *Drug Metab Dispos.* 1996; 24: 1081–1087.
29. Wienkers LC, Wurden CJ, Storch E, Kunze KL, Rettie AE, Trager WF. Formation of (R)-8-hydroxywarfarin in human liver microsomes: a new metabolic marker for

- the (S)-mephenytoin hydroxylase, P4502C19. *Drug Metab Dispos.* 1996; 24: 610–614.
30. Ando Y, Fuse E, Figg WD. Thalidomide metabolism by the CYP2C subfamily. *Clin Cancer Res.* 2002; 8: 1964–1973.
 31. Kazui M, Nishiya Y, Ishizuka T, Hagihara K, Farid NA, Okazaki O, Ikeda T, Kurihara A. Identification of the human cytochrome P450 enzymes involved in the two oxidative steps in the bioactivation of clopidogrel to its pharmacologically active metabolite. *Drug Metab Dispos.* 2010; 38: 92–99.
 32. Sorich MJ, Horowitz JD, Sorich W, Wiese MD, Pekarsky B, Karnon JD. Cost-effectiveness of using CYP2C19 genotype to guide selection of clopidogrel or ticagrelor in Australia. *Pharmacogenomics* 2013; 14: 2013–2021.
 33. Elkalioubie A, Allorge D, Robriquet L, Wiart JF, Garat A, Broly F, Fourrier F. Near-fatal tramadol cardiotoxicity in a CYP2D6 ultrarapid metabolizer. *Eur J Clin Pharmacol.* 2011; 67: 855–858.
 34. Gasche Y, Daali Y, Fathi M, Chiappe A, Cottini S, Dayer P, Desmeules J. Codeine intoxication associated with ultrarapid CYP2D6 metabolism. *New Engl J Med.* 2004; 351: 2827–2831.
 35. Kramlinger VM, Kanamori T, Alvarado-Rojas M, Guengerich FP. Cytochrome P450 3A enzymes catalyze the O⁶-demethylation of thebaine, a key step in endogenous mammalian morphine biosynthesis. *J Biol Chem.* 2015; 290: 20200–20210.
 36. Vieira I, Sonnier M, Cresteil T. Developmental expression of CYP2E1 in the human liver: hypermethylation control of gene expression during the neonatal period. *Eur J Biochem.* 1996; 238: 476–483.
 37. Balogh A, Gessinger S, Svarovsky U, Hippus M, Mellinger U, Klinger G, Hoffmann A, Oettel M. Can oral contraceptive steroids influence the elimination of nifedipine and its primary pyridine metabolite in humans? *Eur J Clin Pharmacol.* 1998; 54: 729–734.
 38. He K, Bornheim LM, Falick AM, Maltby D, Yin H, Correia MA. Identification of the heme-modified peptides from cumene hydroperoxide-inactivated cytochrome P450 3A4. *Biochemistry* 1998; 37: 17448–17457.
 39. Zhou S, Yung Chan S, Cher Goh B, Chan E, Duan W, Huang M, McLeod HL. Mechanism-based inhibition of cytochrome P450 3A4 by therapeutic drugs. *Clin Pharmacokinet.* 2005; 44: 279–304.
 40. Henderson L, Yue QY, Bergquist C, Gerden B, Arlett P. St John's wort (*Hypericum perforatum*): drug interactions and clinical outcomes. *Brit J Clin Pharmacol.* 2002; 54: 349–356.
 41. Hardy KD, Wahlin MD, Papageorgiou I, Unadkat JD, Rettie AE, Nelson SD. Studies on the role of metabolic activation in tyrosine kinase inhibitor-dependent hepatotoxicity: induction of CYP3A4 enhances the cytotoxicity of lapatinib in HepaRG cells. *Drug Metab Dispos.* 2014; 42: 162–171.
 42. Cheng JB, Motola DL, Mangelsdorf DJ, Russell DW. De-orphanization of cytochrome P450 2R1: a microsomal vitamin D 25-hydroxylase. *J Biol Chem.* 2003; 278: 38084–38093.
 43. Zhu JG, Ochalek JT, Kaufmann M, Jones G, Deluca HF. CYP2R1 is a major, but not exclusive, contributor to 25-hydroxyvitamin D production in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110: 15650–15655.
 44. Strushkevich N, Usanov SA, Plotnikov AN, Jones G, Park HW. Structural analysis of CYP2R1 in complex with vitamin D₃. *J Mol Biol.* 2008; 380: 95–106.