

МОДЕРНІЗАЦІЯ КЛАСИФІКАЦІЇ ЦИТОХРОМІВ P450 НА ОСНОВІ СТРУКТУРНО-ФУНКЦІОНАЛЬНОГО ПІДХОДУ

Вступ. Цитохроми P450 (CYP) є ключовими ензимами метаболізму ксенобіотиків та ендегених сполук. Традиційно їх класифікують за генетичним походженням, амінокислотною послідовністю та родинною належністю. Проте стрімкий розвиток структурної біоінформатики, фармакофорного моделювання та метаболоміки відкриває нову перспективу, де ферменти розглядаються як структурно-функціональні одиниці хімічного розпізнавання.

Мета дослідження – критичний аналіз оновленої класифікації CYP з урахуванням сучасних даних їх просторової організації, динамічних властивостей, які визначають специфічність взаємодії з лігандами, механізми каталітичної дії та варіабельність каналів транспорту субстратів і метаболітів.

Методи дослідження. Для підготовки дослідження проведено всебічний аналіз наукових публікацій, присвячених класифікації CYP, їх структурним особливостям та функціональним характеристикам. Джерелами інформації слугували рецензовані наукові статті з баз даних PubMed, Scopus, Web of Science, а також структурні дані з Protein Data Bank (PDB), патентні матеріали та відкриті хімічні й біологічні бази даних (ChEMBL, DrugBank).

Результати й обговорення. Підтверджена необхідність оновленої класифікації, де складником є функціональна система CYP, яка характеризує каталітичні реакції ферменту. Структурна частина цієї системи розподіляє CYP за архітектонікою молекули, її топологією, конформаційною гнучкістю, механізмами олігомеризації, взаємодією з мембранами, а також структурно зумовленими функціями.

Висновки. Наявні публікації та моделі свідчать про потенціал структурно-функціональної класифікації у покращенні інтеграції структурної, біохімічної та еволюційної інформації для створення більш об'єктивної та інформативної системи, яка виходить за межі традиційного послідовнісного аналізу CYP. Очікується, що вона може стати важливим інструментом у фармакології та персоналізованій медицині.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: цитохроми P450; класифікація; структурно-функціональний підхід; ліганди; специфічність; фармакологія; токсикологія; біотехнологія.

ВСТУП. Цитохроми P450 (CYP) – це велика та еволюційно консервативна родина гемвмісних монооксигеназ, присутніх у всіх доменах життя – від бактерій до людини [1]. Вони виконують критично важливу функцію в окисненні органічних молекул, як-от метаболізм гормонів, жирних кислот, вітамінів, а також широкого спектра ксенобіотиків, таких як лікарські препарати, токсини та канцерогени. Завдяки своїй ролі в метаболічних процесах, CYP мають велике значення для медицини, фармацевтики, токсикології та біотехнології [2].

Натепер класифікація CYP базується переважно на ступені гомології амінокислотних послідовностей. Такий підхід дозволяє групувати ензими за сімействами (≥ 40 % гомології) і підсімействами (≥ 55 % гомології), що спростило систематизацію великої

кількості відкритих генів [3]. Проте, як показали численні дослідження, така класифікація не завжди корелює з функціональними властивостями ферментів, зокрема з їхньою субстратною специфічністю, кінетикою каталізу, регуляторними механізмами та структурними особливостями активного центру. Навіть ферменти з високим ступенем послідовної гомології можуть демонструвати суттєво відмінні функціональні характеристики, а деякі структурно подібні білки мають дивергентні біологічні функції [4; 5]. Сучасний розвиток біоінформатики, структурної біології та протеоміки відкрив нові можливості для аналізу ферментів не лише на рівні первинної структури, а й з урахуванням третинної (3D) структури, конфігурації активного сайту, динаміки ліганд-зв'язування та функціональної взаємодії з іншими біомолекулами.

У зв'язку з цим постає нагальна потреба в удосконаленні існуючої класифікаційної

системи СУР. Використання структурно-функціонального підходу дозволяє створити більш точну, функціонально релевантну та прогностично ефективну класифікаційну модель.

Мета роботи – обґрунтувати концептуальні засади структурно-функціональної класифікації ферментів СУР шляхом аналізу існуючих підходів до побудови їхніх «образів» та оцінити науковий і прикладний потенціал системи, що інтегрує генетичні, структурні та функціональні характеристики ферментів.

МЕТОДОЛОГІЯ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для підготовки даного дослідження проведено всебічний аналіз наукових публікацій, присвячених класифікації СУР, їхнім структурним особливостям та функціональним характеристикам. Джерелами інформації слугували рецензовані наукові статті з баз даних PubMed, Scopus, Web of Science, а також структурні дані з Protein Data Bank (PDB), патентні матеріали та відкриті хімічні й біологічні бази даних (ChEMBL, DrugBank). З метою встановлення кореляцій між будовою СУР і їхньою функціональною активністю було використано комплекс методів комп'ютерного моделювання, структурного аналізу та хемоінформатики, що дозволяє системно дослідити взаємодію субстратів й інгібіторів із різними ізоформами СУР. У разі відсутності експериментальних структур використовувались передбачені тривимірні моделі, згенеровані за допомогою інструментів гомологічного моделювання (SWISS-MODEL) або алгоритмів на основі ШІ (AlphaFold).

Отримані результати були систематизовані для встановлення взаємозв'язку між структурними особливостями ізоформ СУР та селективністю лігандів, що дозволяє формувати узагальнені висновки про молекулярні механізми розпізнавання з метою систематизації інформації про ізоферменти СУР та формування класифікаційної системи.

Критичний аналіз сучасної класифікації цитохромів P450

У класичній біології ферменти та інші білки зазвичай класифікують за їхньою структурою, локалізацією в клітині або еволюційною спорідненістю. Проте сучасні біохімічні дослідження пропонують нову парадигму: класифікувати біомолекули за типами лігандів, які вони розпізнають. Такий підхід отримав назву реорганізації біології на

основі розпізнавання лігандів (*Reorganizing biology on the basis of ligand recognition*). Вона передбачає класифікацію біологічних процесів на основі молекул (лігандів), які їх запускають або модулюють, а не виключно на основі задіяних тканин чи органів. Це створює ієрархічну систему, де взаємодія між білками та лігандами формує основний організаційний принцип. Одним із найяскравіших прикладів для реалізації цього підходу є сімейство СУР [6].

Сучасна класифікація СУР базується на ступені гомології амінокислотних послідовностей, що дозволяє групувати ізоформи у сімейства та підсімейства. Однак, незважаючи на свою зручність, ця класифікація має низку обмежень: вона не враховує просторову структуру ферментів, варіативність активних центрів, субстратну специфічність та функціональну пластичність. Як наслідок, ензими з подібною послідовністю можуть демонструвати різні біологічні функції, а ферменти з різних підсімейств – подібну каталітичну активність.

З розвитком геноміки та біоінформатики виявлено тисячі раніше невідомих генів СУР у найрізноманітніших організмів (від бактерій до людини), тому існуюча система класифікації не завжди встигає адаптуватися до нових філогенетичних ліній або функціональних особливостей ферментів. Значна кількість СУР мають конвергентну еволюцію, через те подібні функції виникають у філогенетично далеких групах, тому існуюча класифікація не враховує повною мірою функціональну подібність або адаптивну еволюцію. Більш того, характерним є і функціональна гетерогенність, тому одна родина СУР може вмещувати ферменти, які взаємодіють із різними субстратами та мають іншу регуляцію. Це ускладнює інтерпретацію їхньої біохімічної або токсикологічної ролі та використання у біоремедіації, сільському господарстві і промисловій біотехнології.

Через те останнім часом науковці запропонували кілька альтернатив та доповнень до традиційної (еволюційної) класифікації СУР. 1. Філогенетична класифікація [7] являє собою еволюційне дерево, побудоване на основі множинного вирівнювання послідовностей, що дає змогу оцінити еволюційні зв'язки між ферментами різних організмів, але вимагає великої кількості добре охарактеризованих послідовностей. 2. Система «клан-класифікації» для вищих рівнів [8], яка об'єднує сімейства з монофілетичного походження у кластери, або «клани», тобто

вище родинного рівня. Спочатку застосовувалися в метазоях, а тепер і в грибах, рослинах, комах тощо. Вона краще адаптована до великої кількості послідовностей, збереження еволюційного контексту, але є менш чутливою до дрібних функціональних деталей. 3. Функціональна класифікація [9] є об'єднанням ферментів за типами реакцій, які вони каталізують (гідроксилювання, епоксидування тощо). Має практичне значення для фармакології та біотехнології, але одна й та сама функція може виконуватись різними ізоформами, що не завжди корелює з послідовностями. 4. Класифікація за субстратною специфічністю [10], де групування СУР здійснюється за типами лігандів, які вони метаболізують (лікарські засоби, стероїди, ксенобіотики). Вона дає уявлення про біологічну роль ферментів, але субстратна специфічність може бути широкою або перетинатись у різних ферментів. 5. Онтологічна класифікація [9], яка вміщує СУР у біологічні онтології (наприклад, GeneOntology), що описують їхню участь у біологічних процесах. Сприяє інтеграції даних із різних джерел (експресія, функції, зв'язок з хворобами тощо), але залежить від наявності анотованих даних.

Однією з перспективних альтернатив сучасній системі класифікації СУР є структурно-функціональна система. Її складником є функціональна система, яка класифікує СУР за біохімічною функцією, тобто за тим, які реакції вони каталізують та які субстрати метаболізують. Структурна частина цієї класифікаційної системи розподіляє СУР за архітектонікою молекули, її топологією, а також структурно зумовленими функціями. Основні рівні класифікації: первинна структура (послідовність амінокислот), топологія (розміщення доменів, гідрофобна кишеня, гем-сайт), третинна / четвиртинна структура (олігомеризація, взаємодії білок-білок), функціональна динаміка (відповідь на субстрати, гнучкість, індукція). Нові підходи, які поєднують філогенетику, функціональну біоінформатику та структурну біологію, мають стати основою оновленої системи.

Структурні складники класифікаційної системи СУР

Цитохроми P450 належать до білків гемопротеїнів [11], які мають загальний тривимірний склад, і їх молекулярна топологія характеризується такими основними структурними елементами:

1. Гемовмісний домен формує центральну частину білка, що містить гем (кофермент

з іоном заліза), який безпосередньо бере участь у каталізі окиснювальних реакцій. Він розташований у гідрофобному середовищі, що забезпечує стабільність гемового комплексу і доступ субстрату.

2. Гідрофобна кишеня є просторовою структурою, що утворена гідрофобними залишками білка. Вона оточує активний центр і приймає гідрофобні субстрати (наприклад, стероїди, ліки, жирні кислоти). Вміст і конфігурація цієї кишені відрізняється у різних ізоформах СУР, забезпечуючи селективність до субстратів. Об'єм кишені та основні неполярні (гідрофобні) залишки, що формують її в ізоформах СУР, є різними.

3. Альфа-спіралі і бета-структури мають консервативний каркас, сформований приблизно 12–14 α -спіралями та кількома β -листками, які утворюють оболонку активного центру. Зокрема, α -спіралі F і G формують гнучку «кришку» активного центру, що відповідає за допуск субстратів.

4. Мембранно-адгезивний сегмент вміщує N-кінцеву частину білка в α -спіралі, яка втоплена в мембрану ендоплазматичного ретикулума. Вона фіксує фермент у мембранному середовищі, визначаючи його локалізацію та взаємодію з партнерами.

5. Гнучкі петлі і конформаційна динаміка з'єднують структурні елементи, мають високу рухливість, що дозволяє адаптувати активний центр до різних субстратів. Така властивість називається конформаційною гнучкістю.

6. Поверхневі і внутрішні водневі зв'язки, гідрофобні взаємодії стабілізують структуру білка та підтримують специфічність взаємодії з субстратами та редуктазою.

Така унікальна молекулярна організація СУР є універсальною та тонко збалансованою структурно-функціональною архітектурою, яка забезпечує адаптивність до різноманітних субстратів.

Структурні мотиви та їхня роль у функціональній ідентифікації СУР

Однією з ключових умов для функціонування СУР є наявність консервативних структурних мотивів, які забезпечують зв'язування гема та формування активного центру ферменту [12; 13]. Гемоутримуючі мотиви СУР є особливою послідовністю амінокислот, які стабілізують і зв'язують гемову групу (Fe-протопорфірин IX) у структурі ферменту. Наявність цих мотивів є маркерною ознакою СУР, тому в структурно-функціональній класифікації вони допомагають відрізнити справжні СУР від схожих оксидаз,

передбачити каталітичну здатність (наприклад, на основі моделей AlphaFold) та групувати ферменти за активними сайтами та функціями.

Найбільш вивченими є 4 основні структурні мотиви СУР.

1. Гемоутримуючий мотив FxxGxxxСхG (СХG, Cysteine-X-Glycine), де: F – фенілаланін, С – консервативний цистеїн, який зв'язує гем через координацію з атомом заліза. Х – будь-яка амінокислота (залежить від ізоформи). G – гліцин, який забезпечує гнучкість і правильне згортання білка, знаходиться поблизу С-кінця білка (часто у спіралі L або поблизу нього). Входить у гем-зв'язуючу петлю, яка обгортає гемову групу і є критично важливим елементом для каталізу. Цистеїн діє як ліганд до атома Fe в гемі, що дозволяє ферменту переносити електрони. Якщо цистеїн у цьому мотиві замінити на іншу амінокислоту, фермент втрачає активність. У структурній біології цей мотив слугує «підписом» родини P450. Без цього мотиву білок не може каталізувати окиснення, тобто не є СУР [14].

2. EXXR є мотивом, що розміщується на I-спіралі, де: E – глутамат (негативно заряджений), R – аргінін (позитивно заряджений). Х – будь-які амінокислоти. Розташований мотив у середній частині ферменту спіралі K. Зазвичай він стабілізує спіралі K та L, які формують серцевину третинної структури, та формує сольові мости (електростатичні взаємодії) усередині білка. Підтримує просторову орієнтацію активного центру та впливає на формування субстратного каналу, тобто «вхід» молекули до активного центру. Він зберігається в усіх СУР, але може трохи варіюватися в контексті сусідніх амінокислот [15].

3. Стабілізаційний мотив PERF, де: P – пролін (обмежує обертання, жорсткий), E – глутамат, R – аргінін, F – фенілаланін. Знаходиться біля або всередині спіралі K та сприяє структурній підтримці оточення гема, часто поруч з EXXR. Виявлений у багатьох СУР, особливо в еукаріотичних.

4. WxxxR – варіативний мотив, де: W – триптофан, R – аргінін, Х – будь-яка амінокислота. Зустрічається не в усіх ізоформах, але часто у мікросомних СУР. Бере участь у позиціонуванні субстрату та утворенні гемоцентру. Створює додаткову гідрофобну кишеню, що стабілізує субстрат [16].

Усі ці мотиви разом формують активний центр ферменту та утримують гем у правильній просторовій орієнтації. Їх наявність

є критерієм функціональної активності СУР та використовується для класифікації у структурно-функціональній системі.

Структурні рівні СУР та формування активного центру

Первинна структура – це лінійна послідовність амінокислот у поліпептидному ланцюзі білка, яка визначає його подальшу тривимірну структуру і функціональні властивості. Зазвичай складається з 400–500 амінокислотних залишків, хоча розмір може варіюватися залежно від ізоформи та виду організму. У послідовності виявляються консервативні ділянки, які важливі для функції ферменту, як-от карман із цистеїном, що координаційно зв'язує іон заліза гему. Ділянка I-петлі містить консервативний амінокислотний мотив, пов'язаний з активацією кисню, та мотив EXXR, який підтримує стабільність структури білка [17]. Початкові N-кінцеві послідовності часто містять гідрофобний сегмент, який функціонує як мембранний анкер, тоді як інші ділянки є більш гідрофільними, забезпечуючи розчинність і взаємодію з партнерами. Ізоформи різних сімейств СУР мають значну різницю в амінокислотних послідовностях (іноді менше 40 % подібності), що визначає їхню субстратну специфічність та регуляторні властивості. Ця послідовність амінокислот слугує основою для формування вторинної, третинної та четвертинної структур, що забезпечують каталіз і регуляцію активності СУР.

Вторинна та третинна структура СУР формують унікальний активний центр із високою селективністю, гнучкістю та варіативністю, що є основою для їх структурно-функціональної класифікації. Вторинна структура є локальною структурою в межах поліпептидного ланцюга, сформована за рахунок водневих зв'язків між пептидними групами α -спіралі, які домінують у структурі (понад 50 % амінокислот). Спіралі D, E, I, L формують центральне ядро ферменту, тоді як J і K додають стабільності та беруть участь у формуванні активного центру. Ці структурні елементи є консервативними серед різних СУР і важливі для їхньої функції. Бета-шари (β -листи) представлені меншою кількістю, але вони формують важливі структурні елементи, зокрема поблизу активного центру. Петлі з'єднують α -спіралі та β -листи, що забезпечує гнучкість молекули та її взаємодію із субстратами [7].

Третинна структура – це просторове укладання всієї поліпептидної молекули, що створює функціонально активну форму, де

глобулярна форма є компактною й стабільною, що дозволяє взаємодіяти з мембраною ендоплазматичного ретикулуму або мітохондрій. Гемова група занурена глибоко в гідрофобну кишеню, яка має варіабельну форму залежно від ізоформи CYP, що пояснює широкий спектр субстратів [18]. Моделювання третинної структури дозволяє передбачити, як зміни в амінокислотній послідовності можуть вплинути на функцію ферменту. Її прогнозують за допомогою програм AlphaFold, Swiss-Model, Phyre2, I-TASSE, де вони використовують відомі білкові структури як шаблони (template-based modeling), або мотивами (CXG, EXXR) і вторинними структурами (наприклад, спіралі K, L), де комп'ютер вираховує найімовірнішу просторову конфігурацію білка.

Хоча основна архітектура ізоферментів CYP зберігається, відмінності у вторинній і третинній їхній структурі існують, і це є ключом до того, чому різні ізоферменти CYP мають різну специфічність до субстратів. Так, усі ізоферменти CYP мають спільне ядро з центральним гемовим доменом (протопорфірин IX + Fe) та подібне розташування альфа-спіралей (особливо I, L, C), а також схожий механізм електронного транспорту та каталізу. Незначні відмінності спостерігаються у вторинній структурі, але вони впливають на довжину або нахил окремих альфа-спіралей і петель та вміст β -листів в активному центрі. Так CYP3A4 має більший субстратний простір, оскільки петлі є гнучкішими, а CYP2C9 має більш компактну активну кишеню за рахунок коротшої петлі.

Відмінності у третинній структурі пов'язані з формою та об'ємом субстратної кишені (від ~200 Еі до >1500 Еі), гнучкістю білка (деякі ізоферменти мають високий ступінь рухливості окремих доменів) та положенням мембранозв'язувального домену [18]. Субстратна селективність ізоформ залежить від амінокислот, що вистилають активну кишеню. Наприклад, 2D6 розрахований на менші молекули (ліки типу кодеїну), тому має вузьку кишеню, а 3A4 має велику гнучку кишеню, тому може метаболізувати великі ліпофільні молекули (наприклад, циклоспорин).

Четвертинна структура є просторовим об'єднанням кількох поліпептидних ланцюгів (субодиниць) у функціональний білковий комплекс. У випадку CYP низка ізоформ можуть утворювати олімери: димери, тримери, тетрамери тощо [19]. Олігомеризація – це здатність молекул CYP взаємодіяти

одна з одною з утворенням мультибілкових комплексів. Вона впливає на ферментативну активність, стабільність та взаємодію з партнерами (наприклад, редуктазами). Існує кілька типів такої взаємодії:

1. Гомоолімеризація – це об'єднання декількох ідентичних молекул одного ізоферменту (CYP3A4–CYP3A4), змінює каталіз або проявляє кооперативність. Відомі також випадки негативної алостерії: одна субодиниця знижує активність іншої.

2. Гетероолімеризація – комплексування різних ізоформ CYP між собою. Так, 2C9 та 3A4 можуть формувати функціональні гетеродимери, які змінюють метаболізм ліків, а 1A2 – 2B6 виявляють синергічну взаємодію, що впливає на субстратну специфічність. Гетероолімери можуть проявляти сприятливу або інгібуючу взаємодію, змінюючи афінність до редуктази або субстрату. Вони також можуть перерозподіляти електрони, впливаючи на швидкість окиснення.

3. Мембранно-асоційована олігомеризація. Більшість CYP закріплені в мембрані ендоплазматичного ретикулуму (у печінці, нирках тощо), де вони можуть взаємодіяти один з одним опосередковано через ліпідне середовище, що сприяє створенню «мікродоменів». Взаємодії можуть бути динамічними та залежати від субстратів, рН йонів та ліпідів.

4. Тимчасові комплекси CYP з ферментами-партнерами (особливо NADPH-CYP редуктазою та цитохромом b). Такі комплекси зазвичай тимчасові, але можуть формуватися в стабільному режимі при високій локальній концентрації. Утворення мультиферментних комплексів може регулювати ефективність електронного транспорту [20].

Олігомеризація є властивістю багатьох ізоформ цитохрому P450 (CYP), і хоча ступінь, стабільність та функціональні наслідки цього процесу залежать від конкретної ізоформи, низка добре досліджених CYP демонструють здатність утворювати гомочи гетероолімери [21].

Механізми олігомеризації CYP базуються на фізико-хімічних взаємодіях, які забезпечують стабільне або динамічне об'єднання окремих молекул ферменту в комплекси (олімери). Вони відбуваються переважно в контексті мембрани ендоплазматичного ретикулуму або в умовах високої локальної концентрації CYP. Ось основні фізико-хімічні механізми олігомеризації [21; 22]:

1. Гідрофобна взаємодія є основним механізмом для CYP, який вбудований

у мембрану, де трансмембранні або навколомембранні домени мають гідрофобні залишки (Leu, Ile, Val, Phe). Гідрофобні ділянки білкових поверхонь прилягають одна до одної, знижуючи вільну енергію системи у водному середовищі. Такі взаємодії стабільні, але неспецифічні, що пояснює варіативність димерів / олімерів.

2. Водневі зв'язки можуть утворюватись між полярними амінокислотними залишками (Ser, Thr, Asn, Gln) на поверхні білка, що забезпечує специфічність взаємодії, особливо у випадку комплементарної геометрії контактуючих білкових доменів.

3. Електростатичні взаємодії можливі завдяки залишкам Glu⁻ або Asp⁻ (негативно заряджені) та Lys⁺, Arg⁺ (позитивно заряджені). Іонні пари стабілізують орієнтацію білкових субодиниць, особливо в регіонах, де вода обмежена (наприклад, у мембрані або на білкових інтерфейсах). Такі взаємодії можуть бути регульовані *pH* та йонним середовищем.

4. Ван дер Ваальсові сили необхідні для щільного прилягання білкових поверхонь при формуванні димерів або тетрамерів і часто мають місце у поєднанні з гідрофобними силами.

5. π - π взаємодії між ароматичними кільцями (Phe-Phe або Phe-Tyr) відбувається в центральних зонах димерів CYP, особливо поблизу гему, і приводить до утворення стабільних планарних контактів в межах білкових інтерфейсів.

6. Ковалентні зв'язки між залишками Cys-Cys рідко фіксуються між субодиницями CYP, але можуть виникати *invitro* за умов окиснення.

7. Ліпідно-опосередковане зближення може мати місце, коли мембранні фосфоліпіди сприяють утворенню мікродоменів молекул білків, сприяючи їх зближенню. Ліпідні рафти або ділянки з високою концентрацією CYP сприяють їхній тимчасовій або стабільній взаємодії.

Конформаційна гнучкість активного центру CYP і їх субстратів як ключовий чинник ефективності монооксигеназного каталізу

Цитохроми P450 є одними з найуніверсальніших ферментів, здатних каталізувати широкий спектр монооксигеназних реакцій, і їхня ефективність значною мірою зумовлена не лише хімічною природою активного центру, але і його структурною динамікою. Одним із критичних чинників, що визначає успішність взаємодії ферменту із субстратом,

є конформаційна гнучкість як самого активного центру, так і субстратних молекул. Така гнучкість забезпечує оптимальне позиціонування субстрату відносно реакційноздатного заліза гему, сприяє утворенню стабільних перехідних станів та ефективному перебігу каталітичного циклу. Важливу роль відіграють також механізми транспорту субстратів до активного центру крізь білкову матрицю, зокрема система каналів, яка забезпечує селективний і регульований доступ молекул до каталітичного ядра ферменту.

Показник гнучкості є ключовим критерієм у структурно-функціональній класифікації ізоформ CYP, оскільки безпосередньо впливає на каталітичну функцію, субстратну специфічність, адаптивність до різних молекул і навіть на фармакологічну значущість ферментів [23]. Ізоформи з високою гнучкістю, наприклад 3A4, можуть пристосовуватися до молекул різного розміру, форми і хімічної природи, тоді як жорсткі мають фіксовану специфічність. На основі гнучкості ізоформи можна умовно поділити на три структурно-функціональні класи [24]: 1. гнучкі, багатofункціональні (3A4, 2C8), які мають великий активний центр та широку змінну конформації, тому метаболізують широкий спектр ксенобіотиків. 2. помірно гнучкі, спеціалізовані (2C9, 2D6) із середнім об'ємом та деякою варіативністю, каталізують селективний метаболізм середніх молекул. 3. жорсткі, вузькоспеціалізовані (1A2, 2E1), які мають невеликий активний центр та стабільну структуру і беруть участь у метаболізмі малих, структурно схожих сполук.

Гнучкість дозволяє оптимізувати положення субстрату щодо гем-групи, що впливає на каталітичну швидкість і афінність. Надлишкова гнучкість може знижувати селективність, але підвищувати ефективність при змішаних субстратах.

Отже, гнучкість є структурно-функціональним маркером, який дозволяє класифікувати ізоформи за їхньою функціональною універсальністю, передбачати взаємодію з ліками, моделювати метаболічні шляхи, розуміти фармакологічну та токсикологічну поведінку цитохромів (Таблиця 1).

Механізм конформаційної гнучкості є комбінацією гнучких білкових елементів і здатності ферменту динамічно адаптуватися до різноманітних молекул за допомогою індукованої посадки. Це критично важливо для універсальності CYP у метаболізмі різних сполук.

Субстрат не є пасивним – він активно бере участь у процесі зв'язування, змінюючи свою

Таблиця 1 – Порівняння динамічної гнучкості активних центрів різних ізоформ CYP людини

Ізоформа CYP	Розмір активного центру (Ei)	Гнучкість активного центру	Основні амінокислотні залишки, що забезпечують гнучкість	Характеристика тунелю до активного центру	Вплив гнучкості на субстратну специфічність
3A4	~1385	Висока	Phe215, Arg212, Ser119	Широкий, декілька тунелів	Широка специфічність, здатен до метаболізму великих молекул
2D6	~540	Помірна	Phe120, Glu216	Вузький, обмежений	Висока стереоселективність, обмежений набір субстратів
2C9	~1050	Помірно висока	Arg108, Phe114	Відносно широкий	Метаболізує переважно кислі сполуки середнього розміру
1A2	~524	Низька	Phe226, Thr124	Дуже вузький	Висока специфічність до плоских ароматичних сполук
2E1	~440	Низька	Leu103, Ile115	Вузький, прямий	Метаболізує малі молекули, такі як етанол та кетони

Примітки: Розмір активного центру – приблизний об'єм вільного простору в активному центрі. Гнучкість відображає ступінь змін у конформації білка при зв'язуванні з лігандами або під час каталізу. Амінокислотні залишки є критичними залишками, що залучені у формуванні або зміні активного центру. Тунель або канал, яким субстрат досягає активного центру, ширина та конфігурація якого впливають на селективність.

форму і положення, щоб забезпечити максимальну комплементарність з ферментом [26]. Така взаємна адаптація є ключом до широкої субстратної специфічності CYP, і це явище називають двобічною адаптацією (*mutualinduced fit*). Багато субстратів CYP (особливо великі чи ліпофільні молекули) мають гнучкі ланцюги або кільця, які можуть змінювати просторову конфігурацію, щоб краще «вписатися» в активний центр ферменту. Одиначні зв'язки в субстраті можуть вільно обертатися, змінюючи положення функціональних груп для зручнішого розміщення у гідрофобній кишні ферменту. Субстрат може займати різні позиції в активному центрі (так зване *substrate reorientation*), щоб зорієнтувати реакційну ділянку (наприклад, атом вуглецю, який буде окиснено) максимально близько до атома заліза в гемі. У деяких випадках фермент вже перебуває в кількох станах і субстрат «обирає» той, у якому може найкраще зв'язатися, тобто сам субстрат підходить лише до певної форми ферменту.

У структурно-функціональній класифікації ферментів важливе місце займає не лише архітектура активного центру, а й механізми транспорту субстратів та продуктів реакції [27]. Сучасні дослідження свідчать про ключову роль внутрішніх каналів (тунелів) у забезпеченні специфічності, регуляції та ефективності ферментативних процесів. Зокрема, в системах управління репарацією,

де ферменти діють з високою вибірковістю та в умовах обмеженого простору, тунелі виконують функцію молекулярних фільтрів і динамічних регуляторів. Їхня гнучкість, здатність відкриватися або закриватися у відповідь на зв'язування лігандів, а також варіативність архітектури залежно від класу ферменту дозволяє інтегрувати структурні ознаки з функціональною активністю. Таким чином, тунелі транспорту субстратів є не пасивними каналами, а активними учасниками ферментативного каталізу, що потребує їхнього включення до класифікаційних схем і моделей ферментної дії.

Транспорт субстратів здійснюється тунелями (каналами) або порожнинами в структурі CYP, які забезпечують доступ молекул до активного центру ферменту, де відбувається хімічна реакція. Вони також можуть слугувати для евакуації продуктів реакції. Це тривимірні канали, один або декілька, що проходять крізь білкову матрицю, які можуть змінюватися при взаємодії ферменту з лігандами чи коферментами. Більшість із них мають гідрофобне внутрішнє середовище для транспорту ліпофільних субстратів. Пропускають канали лише молекули певного розміру, форми або хімічної природи та впливають на швидкість і специфічність реакцій ферменту.

Вони мають велике біологічне значення, оскільки забезпечують специфічність

і контроль над доступом молекул до активного центру. Можуть бути мішенями для інгібіторів або модифіковані для зміни ферментної активності. Використовуються при дизайні біокатализаторів і нових ліків.

У механізмах створення гнучкості тунелів [28] задіяні вторинна, третинна або четвертинна структури білка, які реагують на процес зв'язування субстрату, коферменту або ліганду. При цьому бокові ланцюги амінокислот (особливо гідрофобні або заряджені залишки) діють як «ворота», відкриваючи або блокуючи тунель. Субстрат або інгібітор може викликати локальні зміни структури білка, які відкривають або закривають тунель, але навіть без субстрату білок створює мікрорухи атомів / ланцюгів, що періодично відкриває канали. У багатьох ферментів є кілька потенційних шляхів доступу молекул, які «перемикаються» залежно від умов, що дозволяє динамічно регулювати цей процес. До структурних елементів, що беруть участь у гнучкості тунелів, належать петлі, які легко перебудовуються, α -спіралі, що можуть зсуватися, та рухомі бокові ланцюги амінокислот Phe, Tyr, Trp, які слугують «кришками» або «затворами». Для зміни тунелю можуть також утворюватись або рватися водневі зв'язки.

Лігандна система в структурно-функціональній організації цитохромів P450

Лігандна класифікація є невід'ємною частиною загальної структурно-функціональної системи CYP, оскільки саме через взаємодію з лігандами ці ферменти реалізують свою біологічну активність. Лігандна частина класифікації виконує інтегративну роль, поєднуючи структурні особливості ферменту з його функціональними проявами та системними ефектами, від метаболізму лікарських засобів до фармакогенетичних реакцій [29]. У лігандній системі CYP субстрати, інгібітори та індуктори розглядаються окремо, хоча іноді один і той самий ліганд може виконувати кілька функцій (наприклад, бути і субстратом, і інгібітором). Розмежування необхідне через принципово різний механізм дії, молекулярні цілі та функціональні наслідки кожного типу ліганду.

У межах структурно-функціональної класифікаційної системи CYP інгібітори й індуктори розглядаються крізь призму їх взаємодії з активними центрами різних ізоферментів, конформаційної гнучкості субстратної кишені та варіацій третинної структури. Аналіз цих взаємозв'язків дає змогу краще передбачати біохімічну поведінку ферментів і розробляти

більш безпечні стратегії медикаментозної терапії. Так, CYP-субстрати зазвичай мають конкретні функціональні групи, які фермент окиснює, а інгібітори ж можуть бути дуже різноманітними, і вони конкурують за активний центр (конкурентні інгібітори) та зв'язуються ковалентно або алостерично (неконкурентні, механізм-обумовлені інгібітори). Усе це ускладнює класифікацію за принципом «ліганд / функція».

Інгібітори та індуктори CYP450 не лише модулюють ферментативну активність, але й виступають ключовими інструментами для функціонального картування та класифікації ізоформ, доповнюючи структурні підходи інформацією про динамічну поведінку ферментів та механізмів реакцій метаболізму ксенобіотиків [31]. Зокрема, вони використовуються як функціональні зонди, які дозволяють виявляти відмінності в активності різних ізоферментів. Якщо інгібітор специфічно блокує CYP3A4, але не впливає на CYP2D6, це свідчить про структурно-функціональні відмінності активного центру.

Різна селективність інгібіторів / індукторів до ізоформ CYP відображає такі показники, як конформація субстратної кишені, гнучкість петель, заряд і гідрофобність активного центру. Ці особливості стали основою структурно-функціональної типізації CYP. Структурні дослідження з використанням механістичних інгібіторів дали змогу визначити ключові амінокислоти активного сайту, варіабельні петлі та структурні домени. Це сприяло створенню моделей просторової структури, що враховуються в класифікаційних системах. Ізоформи мають також відмінну здатність до індукції через ядерні рецептори (PXR, CAR), що дозволило класифікувати ферменти не лише за структурою, а й за регуляторними механізмами експресії.

Структурні та фізико-хімічні характеристики лігандів активно використовуються в побудові лігандної класифікації CYP, оскільки ці параметри допомагають передбачити, яким чином ліганд зв'язується з ферментом, чи є він субстратом, інгібітором або індуктором, його здатність викликати структурні зміни в активному центрі та імовірність метаболізму або інгібування. Зокрема, молекулярна маса впливає на здатність проникати в активний центр CYP, $\log P$ (ліпофільність), визначає міру зв'язування з гідрофобною кишенею активного центру, pK_a є показником іонізації та взаємодії з полярними/зарядженими амінокислотами. Полярна поверхнева площа (PSA) визначає

проникність і селективність до певних ізоформ CYP, а наявність атома азоту свідчать про координацію деяких інгібіторів із залізом гему (тип II інгібування). Об'єм / форма молекули характеризують просторову відповідність до активної кишені ферменту. Кількість водневих зв'язків свідчить про стабільність зв'язування та селективність ліганду. Конформаційна гнучкість визначає можливість ліганду налаштуватися до зміни активного центру.

Наприклад, субстрати CYP3A4 часто мають велику масу, високу ліпофільність і гнучку структуру, що дозволяє їм зайняти змінний активний центр. Інгібітори часто мають азотисту групу, яка координаційно зв'язується з Fe-гему, що викликає 2-й спектр. Індуктори зазвичай мають структури, які активують PXR або CAR-рецептори, часто це плоскі ароматичні молекули.

Інформаційна структурно-функціональна паспортизація цитохромів P450

У структурно-функціональній класифікації CYP назви ферментів залишаються незмінними, оскільки це обумовлено наявністю міжнародно стандартизованою номенклатурою цих ферментів (HUGO Gene Nomenclature Committee). Назви базуються на генетичній гомології, що залишається важливою для ідентифікації ферментів

у геномах різних видів. Структурно-функціональна система є додатковим рівнем анотації, і вона не змінює імен, а додає інформаційні доповнення, як-от: тип каналу входу, форма активного центру, типова гнучкість доменів, характер лігандів (за фізико-хімічними властивостями), тип метаболізму (гідроксильовання, деалкілювання тощо). Так само, як у медицині зберігаються стандартизовані діагнози (МКХ-10/11), але доповнюються клініко-функціональними шкалами (як NYHA, Child-Pugh, шкала болю тощо), так і тут. Таким чином, вона створює багатовимірну карту ферменту, яка корисна для прикладних цілей: від розробки ліків до моделювання метаболізму (Таблиця 2).

Таким чином, структурно-функціональна паспортизація CYP є інтегративною системою, що поєднує генетичну, структурну, функціональну та фармакологічну інформацію щодо кожного з ферментів. На відміну від традиційної номенклатурної класифікації, цей підхід дозволяє створювати так звані «функціональні паспорти», цифрові профілі кожного CYP, які можуть бути використані в системному моделюванні, предиктивній аналітиці та персоналізованій медицині.

Одним із найбільших недоліків структурно-функціональної класифікації є відсутність зручної, уніфікованої номенклатури, тобто

Таблиця 2 – Порівняльна таблиця функціональних паспортів ізоформ CYP

Параметр	CYP3A4	CYP2D6	CYP2C9
Тканинна експресія	Печінка, кишечник	Печінка, мозок	Печінка
Тип субстратів	Ліпофільні, великі молекули (стероїди, макроліди)	Ароматичні основи (антидепресанти, опіоїди)	Кислотні сполуки (варфарин, НПЗП)
Тип метаболізму	Гідроксильовання, деалкілювання, епоксидування	Деметилування, гідроксильовання	Гідроксильовання ароматичних кілець
Кількість каналів доступу	5+ (включаючи 2a, 2e, W, S)	1–2 (вузькі: 2a, 2f)	1–2 (2e, S)
Конформаційна гнучкість	Висока	Низька–середня	Помірна
Тип активного центру	Просторий, гідрофобний, мультисубстратний	Вузький, електростатично селективний	Середній, змішаної полярності
π–π Взаємодії	Помітні, для ароматичних сполук	Значущі для стабілізації	Обмежені
Інгібітори	Кетоконазол, ритонавір	Хінідин, флуоксетин	Флуконазол, аміодарон
Індуктори	Рифампіцин, фенobarбітал	Не індукується	Рифампіцин, карбамазепін
Маршрутизація лігандів	Через кілька каналів, динамічна	Один основний вхід, селективний	Передбачувана, стабільна маршрутизація
Фармакологічне значення	Метаболізує ~50% ліків	~25%, із поліморфізмами	~15%, має значення у варіабельності дозування
Особливості	Полісубстратність, алостеричність	Генетичний поліморфізм: PM, IM, EM, UM	Важливий для дозування критичних препаратів

немає коротких, загальноживаних назв на кшталт «CYP3A4», які одразу викликають у спеціаліста асоціації з функцією, розповсюдженням і ризиками. У функціональній класифікації ми маємо фрази типу «кластер лігандів ароматичних поліциклічних амінів з основним характером, які метаболізуються ліпофільними CYP-ізоформами», що є дуже незручним для повсякденного вжитку.

Існують спроби ввести функціональні ярлики або псевдокоди створення спрощених позначень (Таблиця 3). Такі системи зазвичай вводяться для внутрішнього користування у великих базах даних (PubChem, ChEMBL, Tox21).

Приклад комбінованого вживання буде таким: замість «Інгібітор CYP3A4» можна сказати «Інгібітор CYP3A4 (F-LAS група)».

Таблиця 3 – Використання абривіатури у структурно-функціональній класифікації

Функціональний кластер	Скорочення (пропозиція)	Приклади субстратів
Ліпофільні аміни + стероїди	F-LAS (Fatty Lipo Amine Steroid)	Тестостерон, циклоспорин, еритроміцин
Ароматичні аміни з основною групою	F-BPA (Basic Planar Aromatics)	Пропранолол, кодеїн
Нейтральні невеликі полярні молекули	F-SMN (Small Neutral Molecules)	Ацетон, етанол, парацетамол
Поліциклічні гідрофобні речовини (канцерогени)	F-PHA (Polycyclic Hydrophobic Agents)	Афлатоксин, бензпірен
Гетероароматичні кетони та азоли	F-HAC (Hetero Aromatic Carbonyls)	Омепразол, кетоконазол

Або для нових ліків: «Молекула належить до F-BPA групи з очікуваним метаболізмом через CYP2D6/CYP2C19».

До переваг коротких функціональних тегів слід віднести стандартизацію нової системи, краще використання в ШІ / МН моделях, фармакофорному пошуку та базах даних, збереження компактності для наукових публікацій, інструкцій та етикеток. Цей підхід створює також можливість переходу до інтегрованих карт типу KEGG (Київська енциклопедія генів і геномів), де ферменти згруповані не тільки за геном, а й за лігандною подібністю.

Представлена паспортизація ізоформ CYP дозволить більш ефективно вивчати тонкі механізми зв'язування лігандів, зокрема, через конформаційну гнучкість, π – π взаємодії, полярність активного центру та топологію

каналів доступу. Це сприятиме глибшому аналізу фармакокінетики, ідентифікації потенційних міжлікарських взаємодій та прогнозу токсичних ефектів. Поєднання структурно-функціональної інформації з генетичними варіантами (наприклад, алелями CYP2D6) дозволяє створювати персоналізовані профілі метаболічної активності. Паспорти CYP можуть використовуватись у молекулярному докінгу, фільтрації хітів, віртуальному скринінгу, QSPR- та AI-моделях. Інформаційна паспортизація сприяє побудові структурованих баз знань, що інтегруються у фармакологічні програми, біомедичні платформи та системи підтримки клінічних рішень. Паспортизація дозволить лікарям приймати обґрунтовані рішення щодо дозування та уникнення небезпечних комбінацій ліків.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Zanger U., Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther.* 2013. Vol. 138, № 1. P. 103–41. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.12.007.
2. Chang G., Kam P. The physiological and pharmacological roles of cytochrome P450 isoenzymes. *Anaesthesia.* 1999. Vol. 54, № 1. P. 42–50. DOI: org/10.1046/j.1365-2044.1999.00602.x.
3. Evolution of the cytochrome P450 superfamily: sequence alignments and pharmacogenetics/ D. F. Lewis, et al. *Mutat Res.* 1998. Vol. 410, № 3. P. 245–70. DOI: 10.1016/s1383-5742(97)00040-9.

4. Konrat R. The protein meta-structure: a novel concept for chemical and molecular biology. *Cell. Mol. Life Sci.* 2009. Vol. 66, № 22. P. 3625–3639. DOI: 10.1007/s00018-009-0117-0.
5. Modelling three-dimensional protein structures for applications in drug design / Schmidt T., et al. *Drug Discov. Today.* 2013. Vol. 9, № 7. P. 890–897. DOI: 10.1016/j.drudis.2013.10.027.
6. Gilani B., Cassagnol M. Biochemistry, Cytochrome P450 [Updated 2023 Apr 24]. *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557698/>.
7. Werck-Reichhart D., Feyereisen R. Cytochromes P450: a success story. *Genome Biol.* 2000.

Vol. 1, № 1. P. 303–305. DOI: 10.1186/gb-2000-1-6-reviews3003.

8. Fungal cytochrome P450 database / Park J., et al. *BMC Genomics*. 2008. Vol. 28, № 7. P. 402–410. DOI: 10.1186/1471-2164-9-402.

9. Manikandan P., Nagin S. Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review. *Curr. Drug Targets*. 2018. Vol. 19, № 1. P. 38–54. DOI: 10.2174/1389450118666170125144557.

10. Zhang T., Dai H., Liu L. A. Classification Models for Predicting Cytochrome P450 Enzyme-Substrate Selectivity. *Mol. Inform.* 2012. Vol. 31, № 1. P. 53–62. DOI: 10.1002/minf.201100052.

11. From closed to open: three dynamic states of membrane-bound cytochrome P450_{3A4} / Spanke V., et al. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 2025. Vol. 39, № 12. DOI: 10.1007/s10822-025-00589-1.

12. Abdelmonem B. H. Decoding the Role of CYP450 Enzymes in Metabolism and Disease: A Comprehensive Review. *Biomedicines*. 2024. Vol. 12, № 7. P. 14–67. DOI: 10.3390/biomedicines12071467.

13. The ins and outs of cytochrome P450s. / Cojocaru V., et al. *Biochim. Biophys. Acta*. 2007. Vol. 1770, № 3. P. 390–401. DOI: 10.1016/j.bbagen.2006.07.005.

14. Poulos T. L. Heme enzyme structure and function. *Chem. Rev.* 2014. Vol. 114, № 7. P. 3919–3962. DOI: 10.1021/cr400415k.

15. Werck-Reichhart D., Feyereisen R. Cytochromes P450: a success story. *Genome Biol.* 2000. Vol. 1, № 6. P. 303–309. DOI: 10.1186/gb-2000-1-6-reviews3003.

16. Nelson D. R. Cytochrome P450 diversity in the tree of life. *BBA Proteins Proteomics*. 2018. Vol. 866, № 1. P. 141–154. DOI: 10.1016/j.bbapap.2017.05.003.

17. Structure and Chemistry of Cytochrome P450 / Denisov I., et al. *Chem. Rev.* 2005. Vol. 105, № 6. P. 2253–2278. DOI: 10.1021/c0307143.

18. Structural characterization of human cytochrome P450 2C19: Active site differences between P450s 2C8, 2C9, and 2C19* / Reynald R., et al. *J. Biol. Chem.* 2012. Vol. 287, № 53. P. 44581–44591. DOI: 10.1074/jbc.M112.424895.

19. Interactions among cytochromes P450 in microsomal membranes: oligomerization of cytochromes P450 3A4, 3A5, and 2E1 and its functional consequences / Davydov D., et al. *J. Biol. Chem.* 2015. Vol. 290, № 6. P. 3850–3864. DOI: 10.1074/jbc.M114.615443.

20. Davydov D. Microsomal monooxygenase as a multienzyme system: the role of P450–P450 interactions.

Expert Opin. Drug Metab. Toxicol. 2011. Vol. 7, № 5. P. 543–558. DOI: 10.1517/17425255.2011.562194.

21. Reed R., Backe W. Formation of P450–P450 complexes and their effect on P450 function. *Pharmacol. Ther.* 2011. Vol. 133, № 3. P. 299–310. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2011.11.009.

22. Kandel S., Lampe J. Role of protein–protein interactions in cytochrome P450-mediated drug metabolism and toxicity. *Chem. Res. Toxicol.* 2014. Vol. 27, № 9. P. 1474–1486. DOI: 10.1021/tx500203s.

23. Flexibility of Human Cytochromes P450: Molecular Dynamics Reveals Differences between CYPs 3A4, 2C9, and 2A6, which correlate with their substrate preferences / Skopalnik J., et al. *J. Phys. Chem. B*. 2008. Vol. 112, № 27. P. 8165–8173. DOI: 10.1021/jp800311c.

24. Three dynamic states of membrane-bound cytochrome P450 3A4 / Spanke V., et al. *J. Comput. Aided Mol. Des.* 2025. Vol. 39, № 1. P. 12. DOI: 10.1007/s10822-025-00589-1.

25. Conformational Plasticity and Structure/Function Relationships in Cytochromes P450 / Pochapsky T., et al. *Antioxid. Redox Signal.* 2010. Vol. 13, № 8. P. 1273–1296. DOI: 10.1089/ars.2010.3109.

26. Prasad S., Mitra S. Role of Protein and Substrate Dynamics in Catalysis by *Pseudomonas putida* Cytochrome P450cam. *Biochemistry*. 2002. Vol. 41, № 49. P. 14499–14508. DOI: 10.1021/bi026379e.

27. Computational Analysis of Protein Tunnels and Channels / Brezovsky J., et al. *Methods Mol. Biol.* 2018. Vol. 1685. P. 25–42. DOI: 10.1007/978-1-4939-7366-8_3.

28. CAVER Analyst 2.0: analysis and visualization of channels and tunnels in protein structures and molecular dynamics trajectories / Jurcik A., et al. *Bioinformatics*. 2018. Vol. 34, № 20. P. 3586–3588. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty386.

29. Abdelmonem B. Decoding the Role of CYP450 Enzymes in Metabolism and Disease: A Comprehensive Review. *Biomedicines*. 2024. Vol. 12, № 7. P. 1467–1473. DOI: 10.3390/biomedicines12071467.

30. Головенко М. Я., Ларіонов В. Б. Спектральна характеристика цитохрому P450 при взаємодії з пропосазепамом та його метаболітом. *Медична та клінічна хімія*. 2023. Т. 25, № 2. С. 14–19. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2023.i2.13854.

31. Cytochrome P450 Enzymes and Drug Metabolism in Humans / Mingzhe Zhao, et al. *Int J Mol Sci.* 2021. Vol. 26, № 22 (23). P. 128–138. DOI: 10.3390/ijms222312808.

REFERENCES

1. Zanger, U., Schwab, M. (2013). Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther.* 138(1), 103–41. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2012.12.007.

2. Chang, G., Kam, P. (1999). The physiological and pharmacological roles of cytochrome P450 isoenzymes. *Anaesthesia*, 54(1), 42–50. DOI: 10.1046/j.1365-2044.1999.00602.x.

3. D. F. Lewis, et al. (1998). Evolution of the cytochrome P450 superfamily: sequence alignments and pharmacogenetics. *Mutat Res*, 410(3), 245–70. DOI: 10.1016/s1383-5742(97)00040-9.

4. Konrat, R. (2009). The protein meta-structure: a novel concept for chemical and molecular biology. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 66(22), 3625–3639. DOI: 10.1007/s00018-009-0117-0.

5. Schmidt, T., Bergner, A., & Schwede, T. (2013). Modelling three-dimensional protein structures for appli-

cations in drug design. *Drug Discovery Today*, 9(7), 890–897. DOI: 10.1016/j.drudis.2013.10.027.

6. Gilani, B., & Cassagnol, M. (2025). Biochemistry, Cytochrome P450. In StatPearls. StatPearls Publishing. Retrieved from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557698/>.

7. Werck-Reichhart, D., & Feyereisen, R. (2000). Cytochromes P450: A success story. *Genome Biology*, 1(6), 303–309. DOI: 10.1186/gb-2000-1-6-reviews3003.

8. Park, J., Lee, S., Choi, J., et al. (2008). Fungal cytochrome P450 database. *BMC Genomics*, 9(402). DOI: 10.1186/1471-2164-9-402.

9. Manikandan, P., & Nagin, S. (2018). Cytochrome P450 structure, function and clinical significance: A review. *Current Drug Targets*, 19(1), 38–54. DOI: 10.2174/1389450118666170125144557.

10. Zhang, T., Dai, H., & Liu, L. A. (2012). Classification models for predicting cytochrome P450 enzyme–substrate selectivity. *Molecular Informatics*, 31(1), 53–62. DOI: 10.1002/minf.201100052.

11. Spanke, V., Egger-Hoerschinger, V. (2025). From closed to open: Three dynamic states of membrane-bound cytochrome P450 3A4. *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 39(12). DOI: 10.1007/s10822-025-00589-1.

12. Abdelmonem, B. H. (2024). Decoding the role of CYP450 enzymes in metabolism and disease: A comprehensive review. *Biomedicines*, 12(7), 14–67. DOI: 10.3390/biomedicines12071467.

13. Cojocaru, V., Winn, P. (2007). The ins and outs of cytochrome P450s. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1770(3), 390–401. DOI: 10.1016/j.bbagen.2006.07.005.

14. Poulos, T. L. (2014). Heme enzyme structure and function. *Chemical Reviews*, 114(7), 3919–3962. DOI: 10.1021/cr400415k.

15. Werck-Reichhart D., Feyereisen, R. (2000). Cytochromes P450: a success story. *Genome Biol*, 1(6), 303–309. DOI: 10.1186/gb-2000-1-6-reviews3003.

16. Nelson, D. R. (2018). Cytochrome P450 diversity in the tree of life. *BBA – Proteins and Proteomics*, 1866(1), 141–154. DOI: 10.1016/j.bbapap.2017.05.003.

17. Denisov, I., Makris, T., & Sligar, S. (2005). Structure and chemistry of cytochrome P450. *Chemical Reviews*, 105(6), 2253–2278. DOI: 10.1021/c0307143.

18. Reynald, R., Sansen, S., & Stout, C. (2012). Structural characterization of human cytochrome P450 2C19: Active site differences between P450s 2C8, 2C9, and 2C19. *Journal of Biological Chemistry*, 287(53), 44581–44591. DOI: 10.1074/jbc.M112.424895.

19. Davydov, D., Davydova, N., & Sineva, E. (2015). Interactions among cytochromes P450 in microsomal membranes: Oligomerization and its functional consequences. *Journal of Biologi-*

cal Chemistry, 290(6), 3850–3864. DOI: 10.1074/jbc.M114.615443.

20. Davydov, D. (2011). Microsomal monooxygenase as a multienzyme system: The role of P450–P450 interactions. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 7(5), 543–558. DOI: 10.1517/17425255.2011.562194.

21. Reed, R., & Backe, W. (2011). Formation of P450–P450 complexes and their effect on P450 function. *Pharmacology & Therapeutics*, 133(3), 299–310. DOI: 10.1016/j.pharmthera.2011.11.009.

22. Kandel, S., & Lampe, J. (2014). Role of protein–protein interactions in cytochrome P450-mediated drug metabolism and toxicity. *Chemical Research in Toxicology*, 27(9), 1474–1486. DOI: 10.1021/tx500203s.

23. Skopalnik, J., Anzenbacher, P., & Otyepka, M. (2008). Flexibility of human cytochromes P450: Molecular dynamics reveals differences between CYPs 3A4, 2C9, and 2A6. *Journal of Physical Chemistry B*, 112(27), 8165–8173. DOI: 10.1021/jp800311c.

24. Spanke, V. (2025). Three dynamic states of membrane-bound cytochrome P450 3A4. *J. Comput. Aided Mol. Des.*, 39(1), 12. DOI: 10.1007/s10822-025-00589-1.

25. Pochapsky, T., Kazanis, S., & Dang, M. (2010). Conformational plasticity and structure/function relationships in cytochromes P450. *Antioxidants & Redox Signaling*, 13(8), 1273–1296. DOI: 10.1089/ars.2010.3109.

26. Prasad, S., & Mitra, S. (2002). Role of protein and substrate dynamics in catalysis by *Pseudomonas putida* cytochrome P450cam. *Biochemistry*, 41(49), 14499–14508. DOI: 10.1021/bi026379e.

27. Brezovsky, J., Kozlikova, B., & Damborsky, J. (2018). Computational analysis of protein tunnels and channels. In *Methods in Molecular Biology*, 16(85), 25–42. DOI: 10.1007/978-1-4939-7366-8_3.

28. Jurcik, A., Bednar, D., & Byska, J. (2018). CAVER Analyst 2.0: Analysis and visualization of channels and tunnels in protein structures and molecular dynamics trajectories. *Bioinformatics*, 34(20), 3586–3588. DOI: 10.1093/bioinformatics/bty386.

29. Abdelmonem, B. (2024). Decoding the Role of CYP450 Enzymes in Metabolism and Disease: A Comprehensive Review. *Biomedicines*, 12(7), 467–1473. DOI: 10.3390/biomedicines12071467.

30. Golovenko, M. Ya., Larionov, V. B., & Valivodz, I. P. (2023). Spektralna kharakterystyka tsytokhromu P450 pry vzaiemodii z propoksazepamom ta yoho metabolitom [Spectral characteristics of cytochrome P450 in interaction with propoxazepam and its metabolite]. *Medical and Clinical Chemistry*, 25(2), 14–19. DOI: 10.11603/mcch.2410-681X.2023.i2.13854.

31. Mingzhe, Zhao (2021). Cytochrome P450 Enzymes and Drug Metabolism in Humans. *Int J Mol Sci*, 22(23), 128–139. DOI: 10.3390/ijms222312808.

Адреса для листування: n.golovenko@gmail.com

MODERNIZATION OF CYTOCHROME P450 CLASSIFICATION BASED ON A STRUCTURE-FUNCTION APPROACH

Summary

Introduction. Cytochromes P450 (CYPs) are key enzymes involved in the metabolism of xenobiotics and endogenous compounds. Traditionally, they are classified according to genetic origin, amino acid sequence, and family affiliation. However, rapid advancements in structural bioinformatics, pharmacophore modeling, and metabolomics offer a new perspective in which enzymes are viewed as structure-functional units of chemical recognition.

Objective. To critically analyze the updated classification of CYPs, taking into account current data on their spatial organization and dynamic properties, which determine ligand interaction specificity, catalytic mechanisms, and the variability of substrate and metabolite transport channels.

Methods. A comprehensive analysis of scientific publications focused on CYP classification, structural features, and functional characteristics was conducted. Sources of information included peer-reviewed articles from databases such as PubMed, Scopus, and Web of Science, as well as structural data from the Protein Data Bank (PDB), patent literature, and open-access chemical and biological databases (ChEMBL, DrugBank).

Results and Discussion. The study confirms the necessity for an updated classification that incorporates a functional CYP system characterizing the enzyme's catalytic reactions. The structural component of this system categorizes CYPs based on molecular architecture, topology, conformational flexibility, oligomerization mechanisms, membrane interactions, and structure-determined functions.

Conclusions. Existing publications and models highlight the potential of a structure-function-based classification to enhance the integration of structural, biochemical, and evolutionary data, thereby creating a more objective and informative system that goes beyond traditional sequence-based analysis of CYPs. This approach is expected to become a valuable tool in pharmacology and personalized medicine.

KEY WORDS: cytochromes P450; classification; structure-function approach; ligands; specificity; pharmacology; toxicology; biotechnology.