



Osud xenobiotik v organismu Biotransformace

M. Balíková

JED-NOXA-DROGA-XENOBIOTIKUM

Látka, která po vstřebání do krve vyvolá chorobné změny v organismu

Toxické účinky:

- a) přechodné
- b) trvale poškozující
- c) fatální

Vzájemné působení jedu a organismu:

FARMAKODYNAMIKA - co dělá jed s organismem (účinky)

FARMAKOKINETIKA - co dělá organismus s jedem (toxikologické analýzy)

Osud drogy v organismu

Sekvence procesů - fází :

1) **Aplikace** - způsoby podání:

Inhalace - Šňupání - Injekce - Per os -
Dermální....

1a) Případné uvolňování vázané aktivní složky v léčivu

2) **Resorpce**. Vstřebání do krevního oběhu

3) **Distribuce** - mezi krví a tkáněmi a naopak

4) **Biotransformace** - přeměna chemické struktury,
tvorba metabolitů aktivních i inaktivních

5) **Eliminace**

Vylučovací cesty - souvislost s polaritou látky

Ledviny - Střevo - Kůže - Sliny - Plíce - Vlasy -
Nehty

Výskyt noxy/metabolitu v organismu, tj. dispozici ovlivňují procesy:

- Absorpce
- Distribuce
- Metabolismus - biotransformace
- Eliminace - exkrece

Absorpce noxy - pasivní difuzí nebo
aktivním transportem

Rychlost a absorbovaný podíl - způsob podání:

- Intravenózní - rychlé a úplné vstřebání (100%)
- Plicní inhalace - rychlé a redukované vstřebání
- Parentální podání - absorpce ze tkání - prokrvení
- Perorální - first pass efekt

Míra absorpce xenobiotik v zažívacím traktu

- 1) Vliv pH prostředí na absorpci noxy
- 2) Absorpce podle acidobázických vlastností noxy

Žaludek	pH 1 - 3	< 5 m ²	kyselé látky (aspirin)
Tenké střevo S ₁	pH 5 - 7	200 m ²	
Tenké střevo S ₂	pH 7 - 8	< 5 m ²	
Tlusté střevo	pH 7 - 8	< 5 m ²	baze (efedrin)

Absorbovaný podíl noxy - v souvislosti se způsobem aplikace

Biodostupnost - Bioavailability

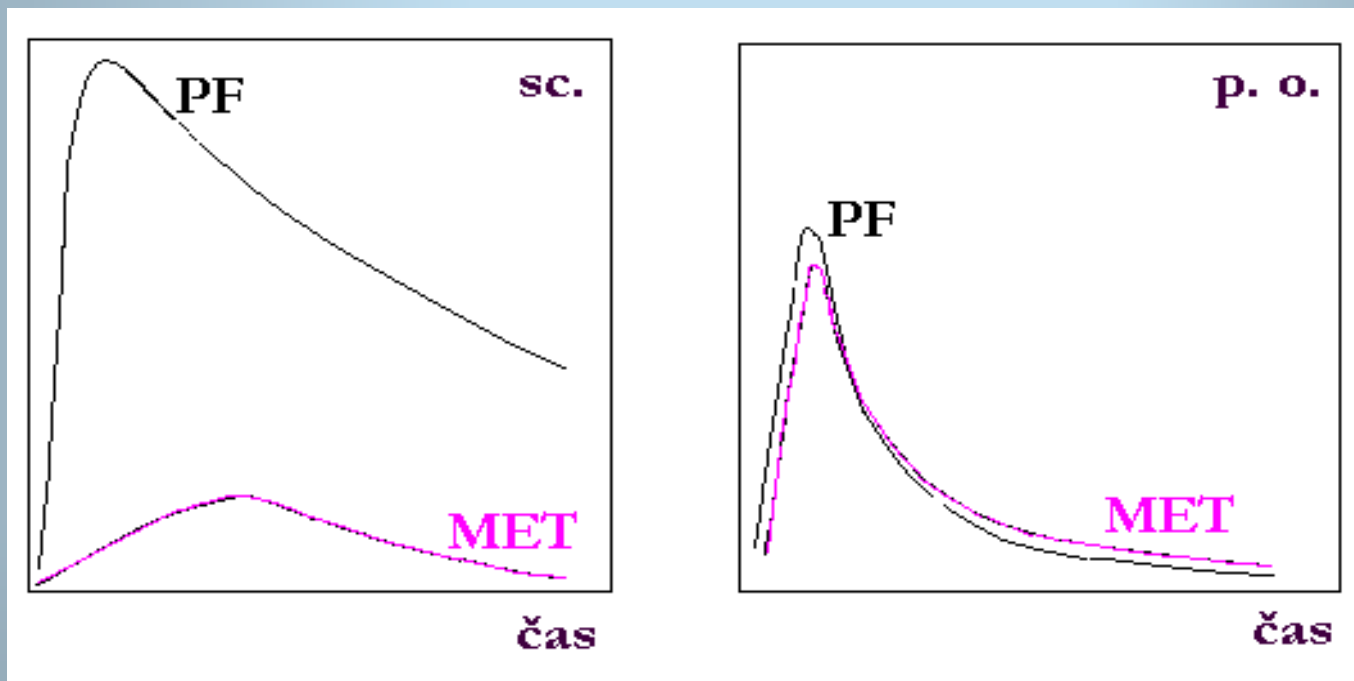
Podíl (%) absorbované noxy do krevního oběhu při určitém podání v nekonečném čase vzhledem k i. v. podání (100%)

„First pass metabolismus“ - „First pass effect“

Podíl noxy, který se dostane do jater dříve než do krevního oběhu a je metabolizován dříve, než vykáže farmakologický účinek - snížení biodostupnosti

„First pass metabolismus“ - „First pass effect“

Presystémová tvorba metabolitu při podání dávky p. o. ve srovnání se subkutánním podání (sc.)



Distribuce - 1

Model těla jako soubor kompartmentů

Distribuce závisí na:

- Polaritě a velikosti molekuly noxy
- Vazbě noxy a metabolitů na proteiny plazmy
- Stupni ionizace při pH plazmy
- Prokrvení tkání, transport noxy
- Rozdělení mezi krev a tkáň - obsah vody tkání

Např.

- *Alkohol proniká rovnoměrně do vody v celém těle*
- *Warfarin má silnou vazbu na bílkoviny plazmy a nachází se jen v plazmě a extracelulární tekutině*

TKÁŇ	% vody
sval	76
tuk	10
játra	68
ledviny	83
plíce	79
mozek	75

	Objem vody /těl. hmotnost (l/kg)
plazma	0,04
krev	0,08
extracelulární voda	0,20
celková tělesná voda	0,60
tuk	0,20-0,35

**Podíl celkové vody klesá
v průběhu vývoje jedince**

Distribuce- 2

Distribuční objem - hypotetická veličina po dosažení distribuční rovnováhy. Látky silně vázané na proteiny tkání mají vysoký V_d a sníženou plazmatickou koncentraci

$$V_d = D/c_0 \quad \text{nebo} \quad V_d = a/c$$

D - vstřebaná dávka léčiva, noxy (i. v. dávka)

c_0 - počáteční plazmatická koncentrace (po i. v. dávce)

(viz dále odečet ze semilogaritmické kinetické křivky)

a - momentální množství noxy v těle

c - momentální plazmatická koncentrace

Distribuční objem látek

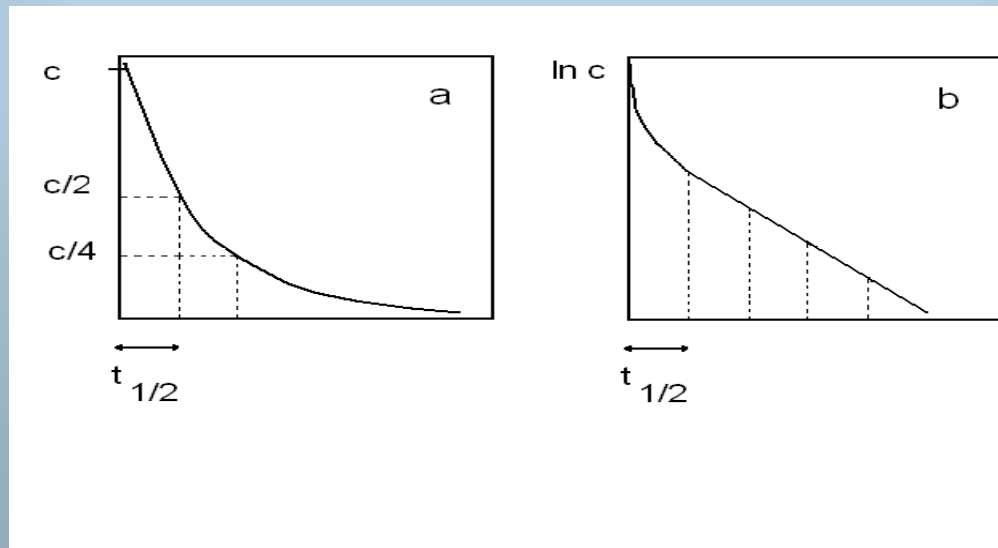
V_d (l/kg)	Místo výskytu léčiva
5	zůstává v plazmě
5-20	distribuce do extracelulárního prostoru
20-40	distribuce do všech tělních tekutin
>40	depo v periferních tkáních

Eliminace -1

Velká většina nox se metabolizuje v játrech a je vylučována močí. Ethanol se eliminuje podle 0. řádu. U léčiv se uplatňuje převážně kinetika 1. řádu:

$$- dc/dt = k_{el} \cdot c$$

Plazmatický eliminační poločas:



Eliminace -2

$$-dc/dt = k_{el} \cdot c$$

$$c = \exp(-k_{el} \cdot dt)$$

$$\ln c = -k_{el} \cdot t$$

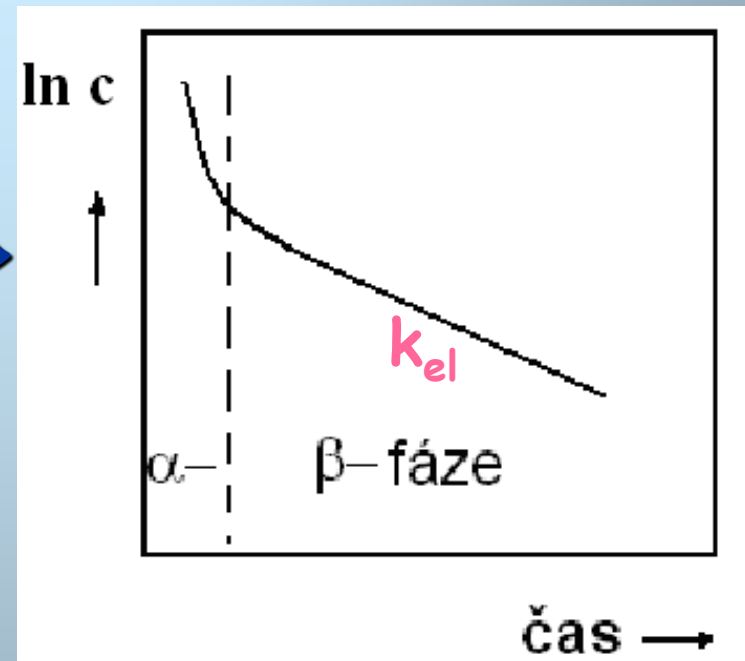
c_0 v čase 0 >>>

Poločas když, $c = \frac{1}{2} c_0$

$$\ln \frac{1}{2} = -k_{el} \cdot t_{1/2}$$

$$\ln 2 = k_{el} \cdot t_{1/2}$$

$$t_{1/2} = 0,693 / k_{el}$$



Obecně: po 5 poločasech je eliminováno 96,875% léčiva, tedy organismus je prakticky očištěn

Eliminace -3

Clearance - objem plazmy, ze které je noxa odstraněna za jednotku času

$$[Cl] = [\text{objem}/(\text{hmotnost} \cdot \text{čas})]$$

Celková clearance a clearance jednotlivých orgánů - závislost na zdravotním stavu jedince

Látky vázané ve tkáních s vysokým V_d jsou při dané clearanci dlouho eliminovány, mají dlouhý poločas

$$t_{1/2} = 0,693 \cdot V_d / Cl \text{ nebo } k_{el} = Cl / V_d$$

SOUHRN - Důležitá farmakokinetická data:

$$k_{el} ; t_{1/2} ; V_d ; Cl$$

Enterohepatální cirkulace

Noxy a metabolity vyloučené žlučí do střev jsou znovu resorbovány, znovu projdou játry do žluče, znovu do střev.....

Opakování tohoto cyklu se děje až do úplné eliminace

Cirkulace prodlužuje setrvání noxy v organismu a může prodlužovat či zpoždovat toxické projevy

Noxy vykazující e. c. jsou nalézány ve střevech i po parentálním podání (např. opiáty, benzodiazepiny)

Uvolňování ze tkání

Prokrvení tkání

Tuková tkáň - málo prokrvená

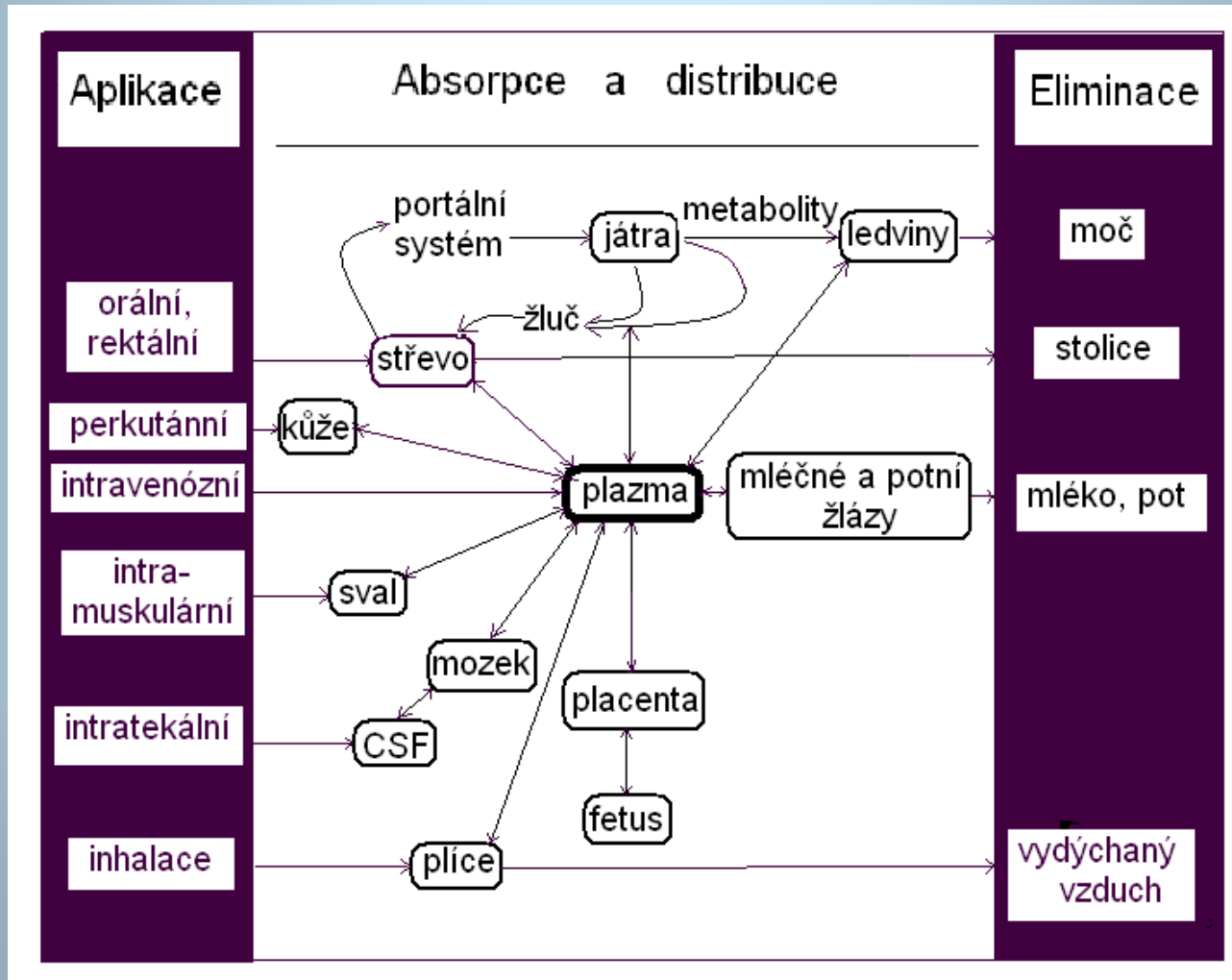
Pomalé zpětné uvolňování akumulovaných tox do krve

Prodloužená eliminace

Př.

Chronický abuzus marihuany - depo v tuku - dlouhodobé vylučování metabolitu

Souhrn - dispozice noxy v organismu



BIOTRANSFORMACE

změna chemické struktury látky působením živého organismu, katalýza biotransformace působením enzymů

- ✓ Většina enzymů vázána v hepatocytech
- ✓ Metabolity s různou farmakologickou potencí
- ✓ Metabolity inaktivní i aktivní - toxické
- ✓ Tvorba metabolitů v játrech, v gastrointestinálním ústrojí, ledvinách i plicích. Míra metabolismu záleží na způsobu aplikace.
- ✓ Játra umožňují „first pass metabolismus“, tj. předsystémovou biotransformaci nox.

Vliv polarity a ionizovatelnosti látek:

- ✓ **Hydrofilní**, polární či ionizovatelné látky jsou z velké části vylučovány ledvinami v původní formě
- ✓ **Lipofilní** noxy podléhají extenzivnímu metabolismu.
 - a) Jsou reabsorbovány z glomerulárního filtrátu ledvin do krve a transformovány na polárnější metabolity, aby tyto mohly být vyloučeny močí.
 - b) Lipofilní látky snadno podléhají enterohepatálnímu metabolismu a částečně se vylučují stolicí.

Biotransformační reakce a jejich klasifikace

- Reakce I. fáze, reakce nesyntetické
- Reakce II. fáze, reakce syntetické

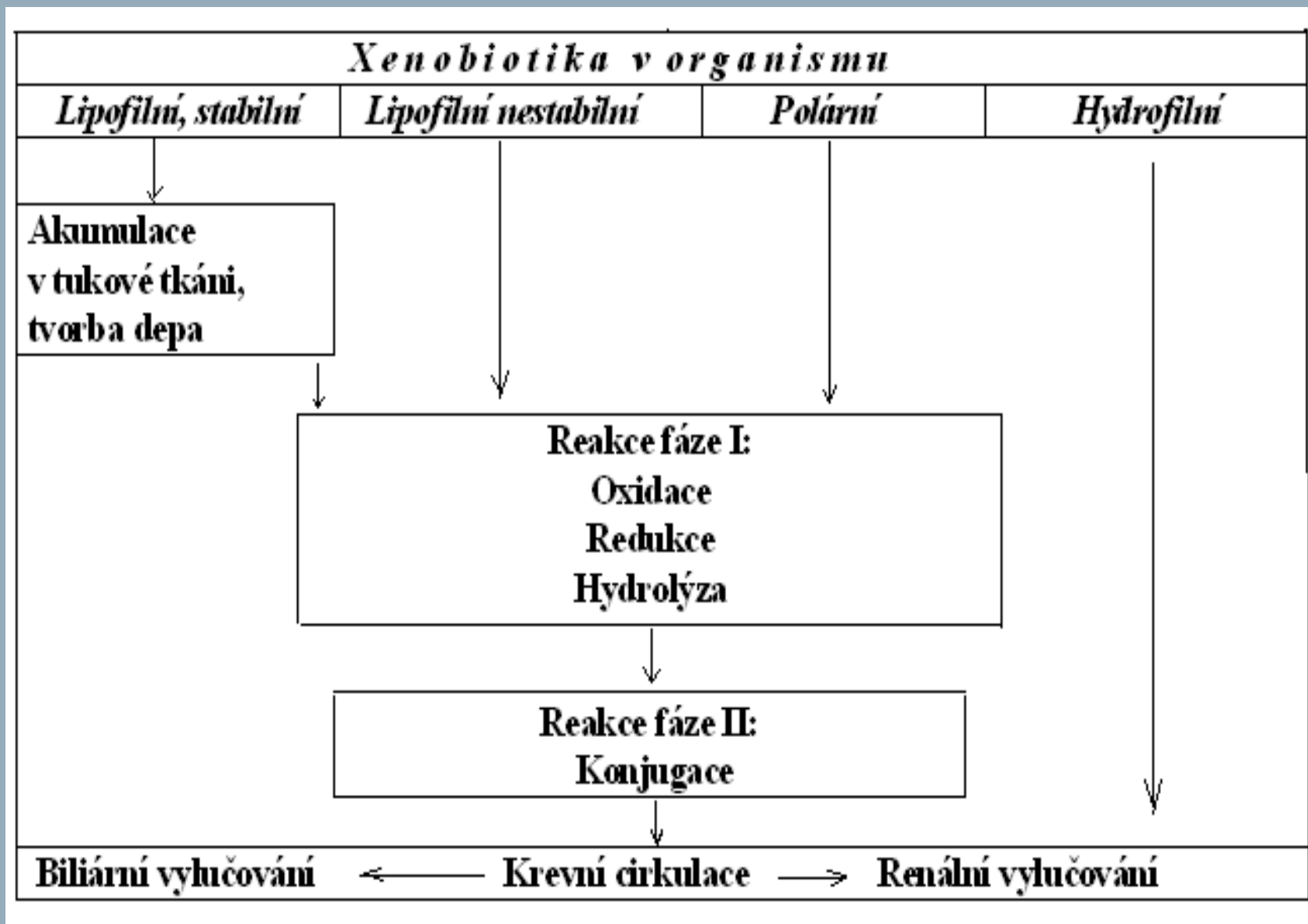
Reakce I. fáze, nesyntetické -
reakce oxidační, v menší míře reakce redukční a hydrolytické

Reakce II. fáze, syntetické -
reakce polárních funkčních skupin původních forem či metabolitů
I. fáze s endogenními substráty - např. s kyselinou glukuronovou,
sírovou, s glycinem, s glutathionem aj.

Možné jsou také acetylace aminů.

Reakcemi II. fáze se maskují funkční skupiny hydroxylové,
karboxylové, aminové aj.

Typická je konjugace glukuronové kyseliny se skupinami hydroxy či
karboxy za tvorby polárních glukosiduronátů-glukuronidů.



Klasifikace enzymů podle IUBMB

(International Union of Biochemistry and Molecular Biology)

Biotransformační reakce xenobiotik jsou katalyzovány různými enzymy. Nejdůležitější je oxidace na enzymatickém systému P450. Jsou popsány stovky různých enzymů v různých živočišných i rostlinných druzích.

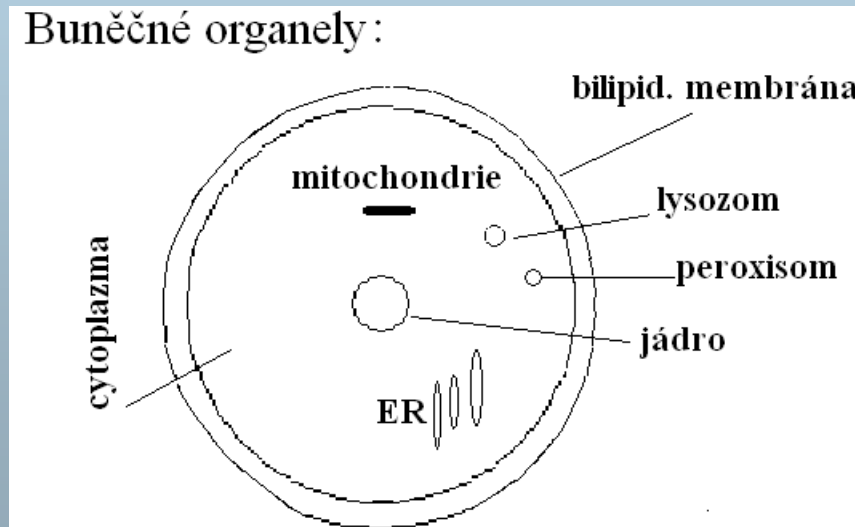
Hlavní skupina enzymů	Oxidoreduktázy	Hydrolázy	Isomerázy	Transferázy	Lyázy	Ligázy
Podskupiny	Dehydrogenázy Oxidázy Reduktázy Peroxidázy Katalázy Oxygenázy Hydroxylázy	Esterázy Glykosidázy Peptidázy Thiolázy Fosfatázy Amidázy Deaminázy Ribonukleázy	Racemázy Epimerázy Isomerázy Mutázy	Acetyl- Methyl- Glucosyl- Sulfo- Fosforyl- Transketolázy Transaldolázy	Dekarboxylázy Aldolázy Hydratázy Dehydratázy Syntházy Lyázy	Synthetázy Karboxylázy

Enzymatická katalýza biotransformací I. fáze

Nejdůležitější enzymy katalyzující reakce 1. fáze představují hemoproteiny vykazující charakteristické maximum při 450 nm -

cytochrom P450 - odpovídá za oxidaci asi 75% léčiv

Cytochrom P450, smíšený enzymový systém oxidázový, je lokalizován na membránách endoplazmatického retikula, mitochondrií či jádra, tj. na membránách mikrosomů - mikrozomální enzymy. Existují jako izoenzymy s různou sekvencí aminokyselin a s rozdílnou substrátovou specificitou
Volně rozpustné enzymy - lysoenzymy



Enzymatická katalýza biotransformací I. fáze

Tři hlavní genetické rodiny metabolizující léčiva v játrech jsou:

CYP 1; CYP 2; CYP 3

Desítky izoenzymů **P450**: např. CYP1A1; CYP1A2, CYP2C9.....

Specificita metabolismu - důležité subtypy P450 a příklady substrátů

P450	Převažující lokalizace	Příklady substrátů
CYP1A2	játra	Kofein, theofylin, paracetamol
CYP2C9	játra	Ibuprofen, warfarin
CYP2C19	játra	Diazepam
CYP2D6	Játra, mozek, plíce	Kodein, tricyklická antidepresiva
CYP2E1	Játra, plíce, CNS, srdce, kostní dřeň	Alkohol
CYP3A4	Játra, GI, ledviny, plíce, CNS, lymfocyty	Erythromycin, nifedipin

Některá xenobiotika vyvolávají zvýšenou enzymatickou aktivitu - indukci

Jiná xenobiotika naopak enzymatickou aktivitu tlumí - inhibují. Např. chronický abusus ethanolu vede k indukci CYP2E1 - rychlejší metabolismus léčiv

P450 a biologická variabilita u živočichů - význam výběru experimentálních zvířat pro testování toxicity nových léčiv pro humánní užití.

Interindividuální variabilita uvnitř druhu - genetický polymorfismus enzymů

- rychlí a pomalí metabolizéři - potencionální vznik nežádoucích účinků

Proměnlivost množství enzymu ve tkáních v průběhu života jedince

Enzymatická katalýza biotransformací I. fáze

Některé biotransformační reakce jsou na systému P450 nezávislé:

- ❖ Oxidativní deaminace řady nox (amfetamin) vyžaduje monoaminoxidázy (MAO). Nachází se uvnitř buněk vázané na povrch mitochondrií, v ER, v nervových zakončeních, v játrech, ve střevním epitelu.
- ❖ Ethanol je metabolizován rozpustným cytoplazmatickým enzymem alkoholdehydrogenázou vedle mikrosomální oxidázy CYP2E1
- ❖ Plazmatické esterázy způsobují hydrolýzu nox, jako jsou např. prokain či kokain. Nacházejí se v cytoplasmě v mnohých tkáních, v mikroflóře GI traktu.

Cytochrom P450 závislé procesy	Cytochrom P450 nezávislé procesy
alifatická hydroxylace	oxidace primárních, sekundárních, terciárních aminů
aromatická hydroxylace	oxidativní deaminace, desulfurace
epoxidace dvojné vazby	dehydrogenace (alkohol)
N, O, S - dealkylace	redukce azo, nitro, karbonylsloučenin
N, S, P - oxidace	hydrolýza amidů, esterů
deaminace	

Biotransformační reakce II. fáze

Reakce II. fáze - syntetické, konjugace nox či metabolitů s endogenními substráty - produkce velmi polárních metabolitů, schopných eliminace

Endogenní substráty : glycin, glutathion, kyselina glukuronová, kyselina octová, kyselina sírová

Konjugační enzymy:

- a) Glukuronidace - glukuronosyltransferáza (glukuronyltransferáza)
Enzym lokalizován v ER v blízkosti systému cytochromu P450
- b) Sulfatace - sulfotransferáza
- c) Glutathion-S-transferáza
- d) N-acetyltransferáza (cytozolový enzym v různých tkáních)
- e) Methyltransferázy - přenos methylu z S-adenosylmethioninu na vhodný substrát

Oxidace alkoholů

Xenobiotikum	Metabolit/y
$\text{CH}_3\text{-OH}$ methanol	$\begin{array}{c} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagup \\ \text{H} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{H} \\ \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagup \\ \text{OH} \end{array}$ formaldehyd kyselina mravenčí
$\begin{array}{l} \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \\ \text{C}-\text{H}-\text{OH} \\ \diagup \\ \text{H}_3\text{C} \end{array}$ isopropanol	$\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} \\ \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \diagup \\ \text{H}_3\text{C} \end{array}$ aceton
$\text{HO}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{OH}$ ethylenglykol	$\begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO}-\text{CH}_2-\text{C} \\ \diagup \\ \text{H} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{HO}-\text{CH}_2-\text{C} \\ \diagup \\ \text{OH} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}-\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \text{OH} \end{array} \longrightarrow \begin{array}{c} \text{O} \quad \text{O} \\ \diagdown \quad \diagup \\ \text{C}-\text{C} \\ \diagup \quad \diagdown \\ \text{HO} \quad \text{OH} \end{array}$ glykolaldehyd kyselina glykolová kyselina glyoxylová kyselina šťavelová

Ethylalkohol

- Hydrofilní látka, snadné vstřebávání (žaludek, střevo)
- Rozpustnost v tucích - narkotické účinky
- Individuelní projevy, muži-ženy, abstinenti - chroničtí alkoholici - adaptace CNS, tolerance
- Chronická toxicita - postižení CNS, srdce, játra, ledviny - poškození hepatocytů, zpomalená eliminace
- Endogenní tvorba bakteriální fermentací potravy ve střevě (tisíciny promile)
- Postmortální vznik alkoholu, hnilobné procesy

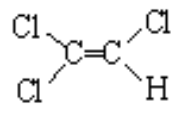
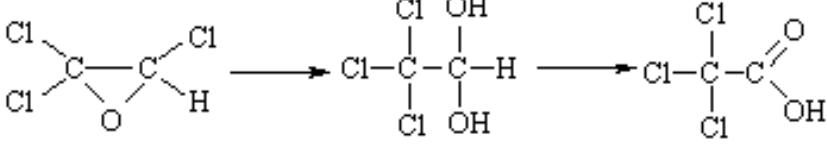
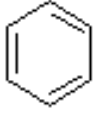
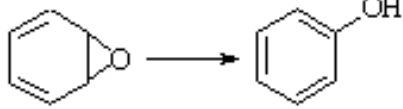
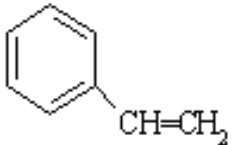
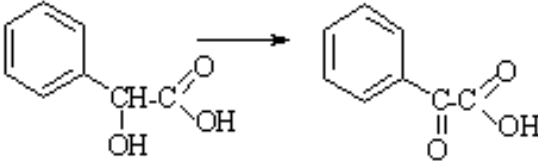
Kinetika: rychlost vstřebávání > rychlost eliminace

Eliminace kinetika 0. řádu, lineární kinetika

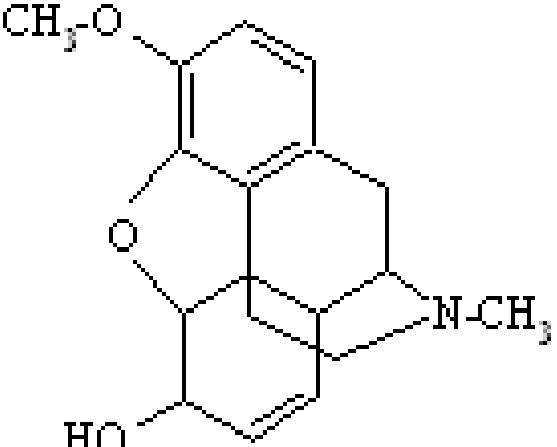
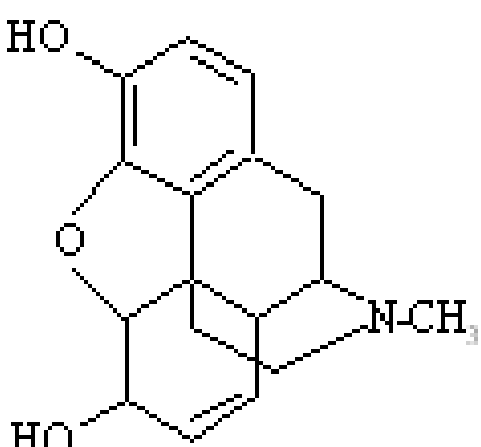
Metabolismus:

2-10% vstřebané dávky se vyloučí dechem a močí, většina se oxiduje v játrech - enzymy ADH (60-70%), MEOS

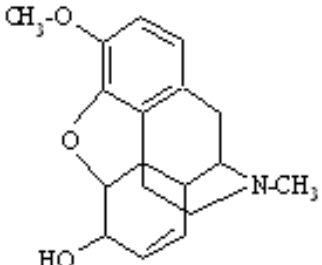
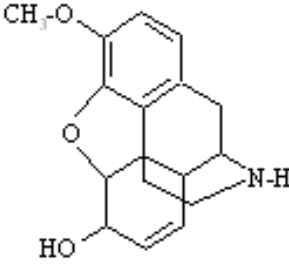
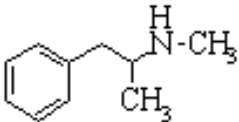
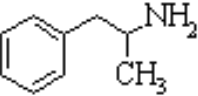
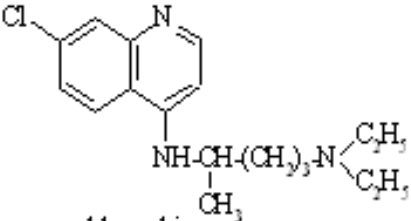
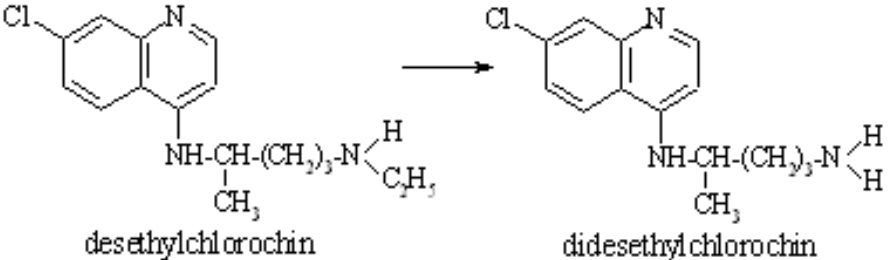
Oxidace nenasycených vazeb

Xenobiotikum	Metabolit/y
 <p>trichlorethylen</p>	 <p>epoxid → chloralhydrát → kyselina trichloroctová</p>
 <p>benzen</p>	 <p>benzen - epoxid → fenol</p>
 <p>styren</p>	 <p>kyselina mandlová → kyselina fenyglykolová</p>

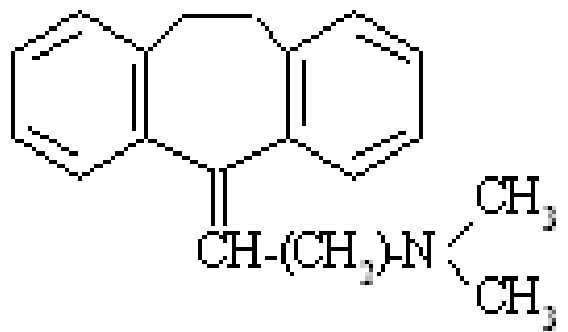
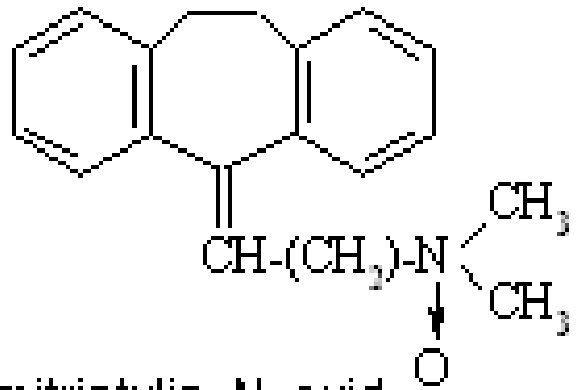
O-Dealkylace

Xenobiotikum	Metabolit
 <p>CH₃-O</p> <p>HO</p> <p>N-CH₃</p> <p>kodein</p>	 <p>HO</p> <p>HO</p> <p>N-CH₃</p> <p>morfin</p>

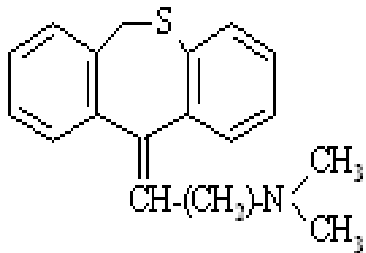
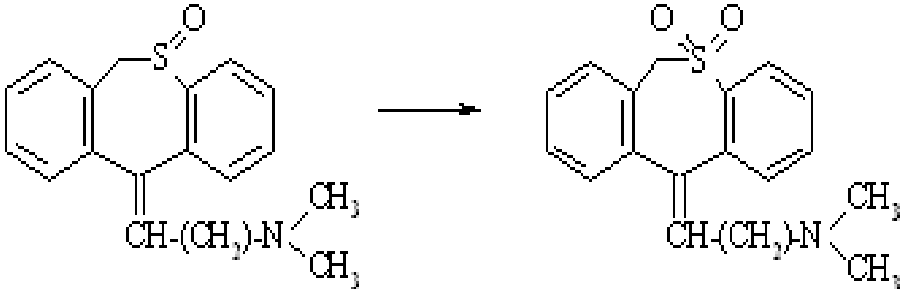
N-Dealkylace

Xenobiotikum	Metabolit/y
 <p>codein</p>	 <p>norkodein</p>
 <p>methamfetamin</p>	 <p>amfetamin</p>
 <p>chlorochin</p>	 <p>desethylchlorochin</p> <p>didesethylchlorochin</p>

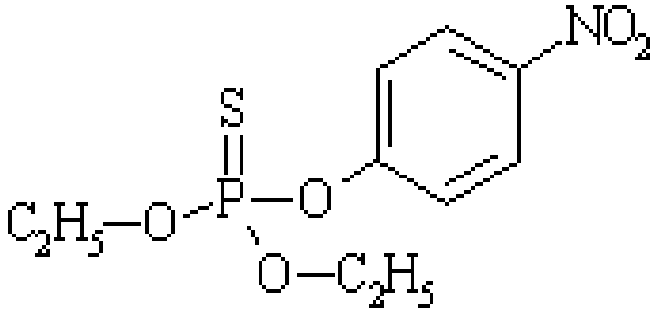
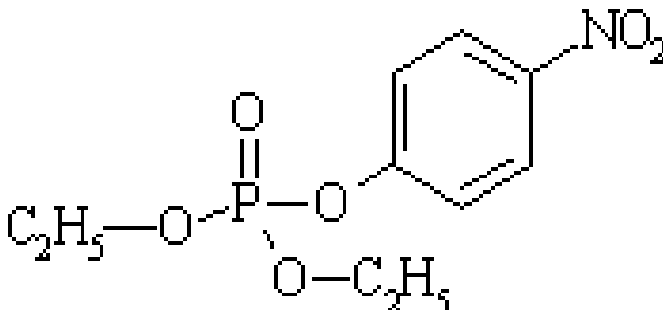
N-Oxidace

Xenobiotikum	Metabolit/y
 <p>amitriptylin</p>	 <p>amitriptylin-N-oxid</p>

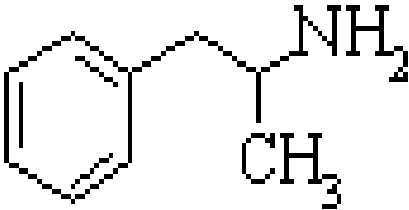
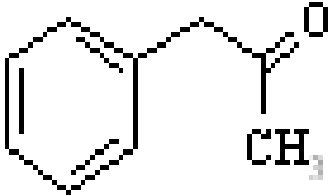
S-Oxidace

Xenobiotikum	Metabolit/y
 <p>dosulepin</p>	 <p>dosulepin - S - oxid (sulfoxid) dosulepin - S - dioxide</p>

Oxidační desulfurace

Xenobiotikum	Metabolit
 <p data-bbox="401 956 595 1006">parathion</p>	 <p data-bbox="1136 963 1329 1013">paraoxon</p>

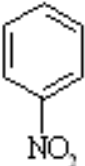
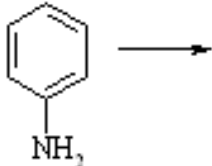
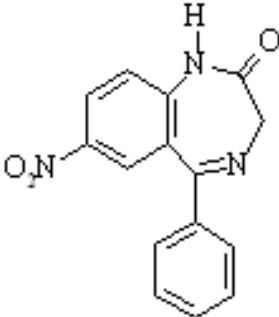
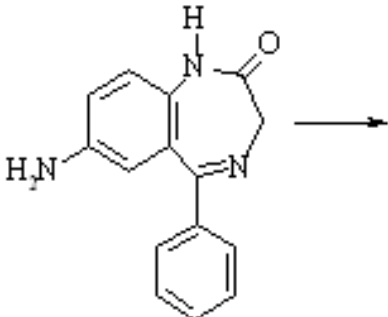
Oxidační deaminace

Xenobiotikum	Metabolit
 <p data-bbox="392 892 649 946">amfetamin</p>	 <p data-bbox="1207 901 1495 961">fenylaceton</p>

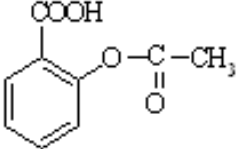
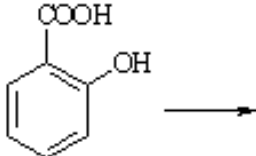
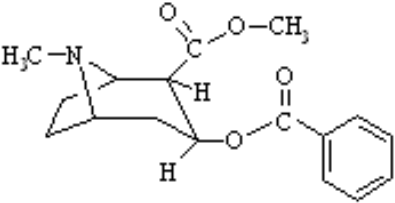
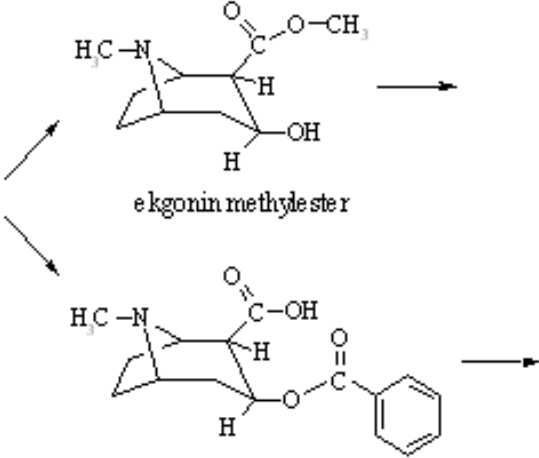
Redukce aldehydů a ketonů

Xenobiotikum	Metabolit/y
$\text{Cl}_3\text{C}-\text{CH}\begin{matrix} \text{OH} \\ \text{OH} \end{matrix}$ <p>chloralhydrát</p>	$\text{Cl}_3\text{C}-\text{C}\begin{matrix} \text{O} \\ \text{OH} \end{matrix} \longrightarrow \text{Cl}_3\text{C}-\text{CH}_2-\text{OH} \longrightarrow$ <p>trichlorethanol</p>
$\begin{matrix} \text{H}_3\text{C} \\ \text{H}_3\text{C} \end{matrix} \text{C}=\text{O}$ <p>aceton</p>	$\begin{matrix} \text{H}_3\text{C} \\ \text{H}_3\text{C} \end{matrix} \text{CH}-\text{OH}$ <p>isopropanol</p>

Redukce nitroskupin

Xenobiotikum	Metabolit/y
 <p>nitrobenzen</p>	 <p>anilin</p>
 <p>nitrazepam</p>	 <p>7 - aminonitrazepam</p>

Hydrolýza esterů

Xenobiotikum	Metabolit/y
 <p data-bbox="440 648 741 679">kyselina acetyl salicylová</p>	 <p data-bbox="871 648 1103 679">kyselina salicylová</p>
 <p data-bbox="556 1025 645 1053">kokain</p>	 <p data-bbox="1006 915 1228 943">ekgonin methylester</p> <p data-bbox="1045 1186 1209 1215">benzoylekgonin</p>

Hydrolytické štěpení cyklů

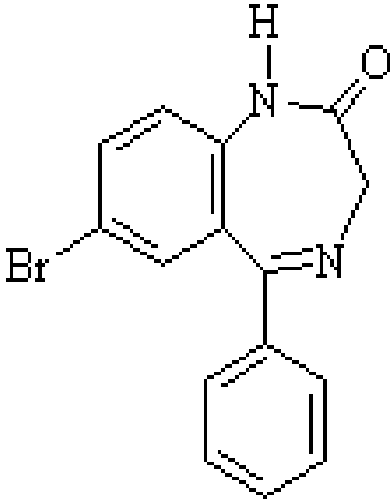
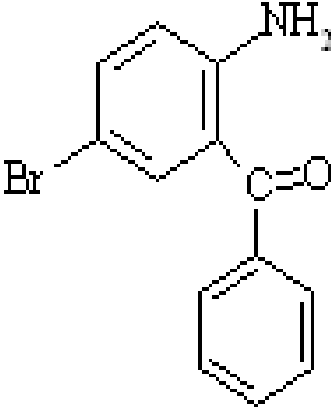
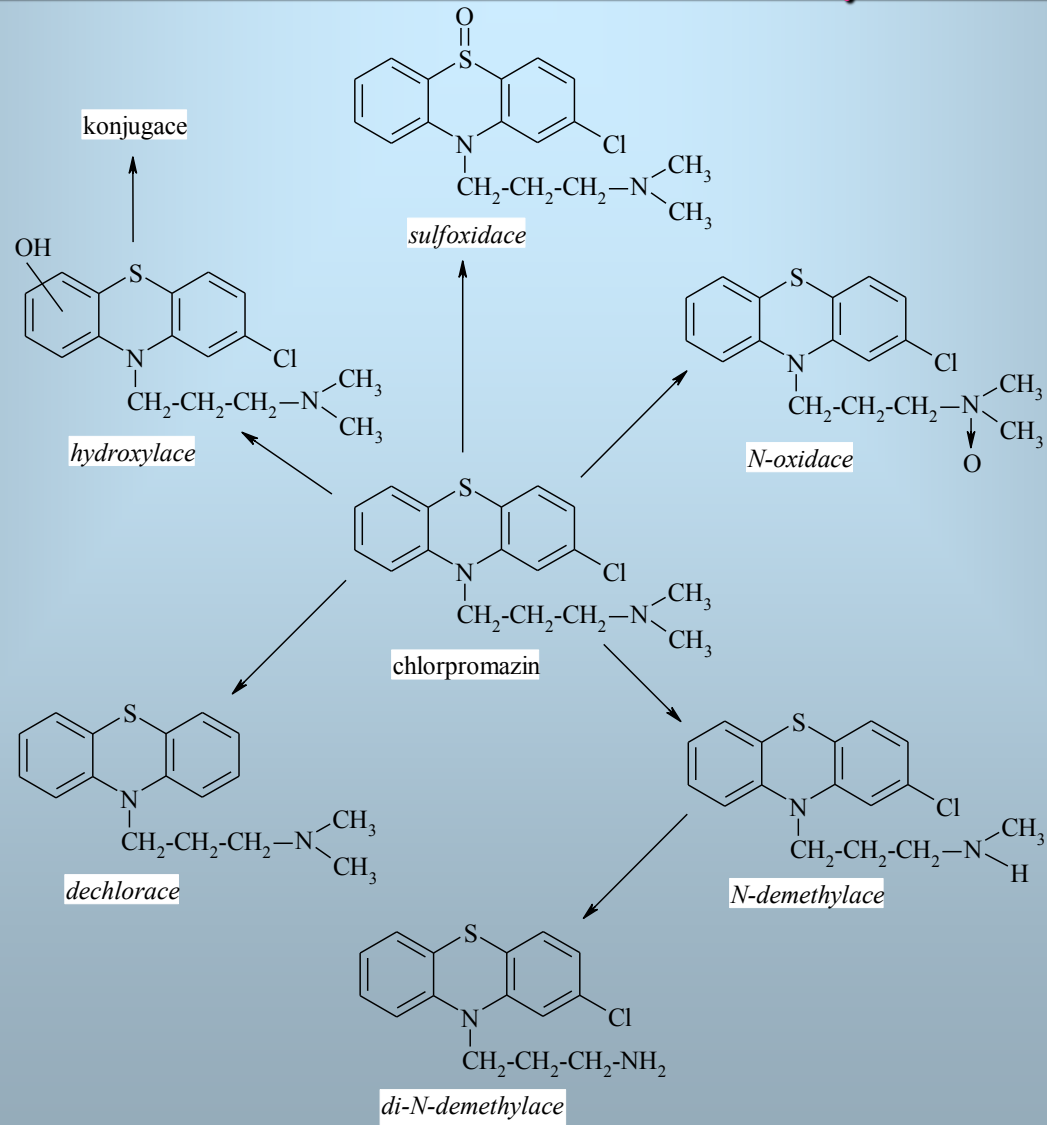
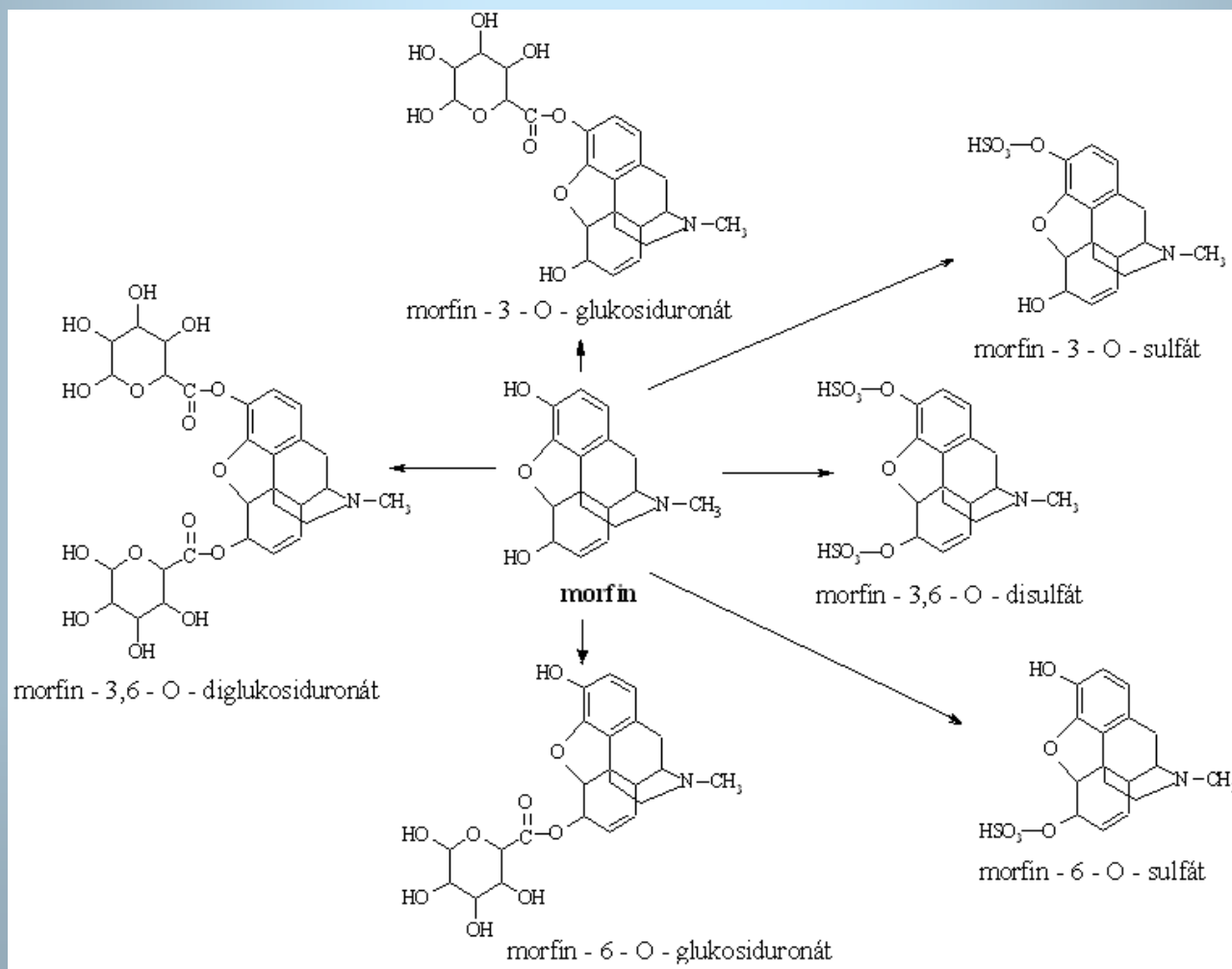
Xenobiotikum	Metabolit
 <p data-bbox="455 1053 710 1105">bromazepam</p>	 <p data-bbox="958 1048 1580 1093">2 - amino - 5 - bromobenzofenon</p>

Schéma biotransformace chlorpromazinu

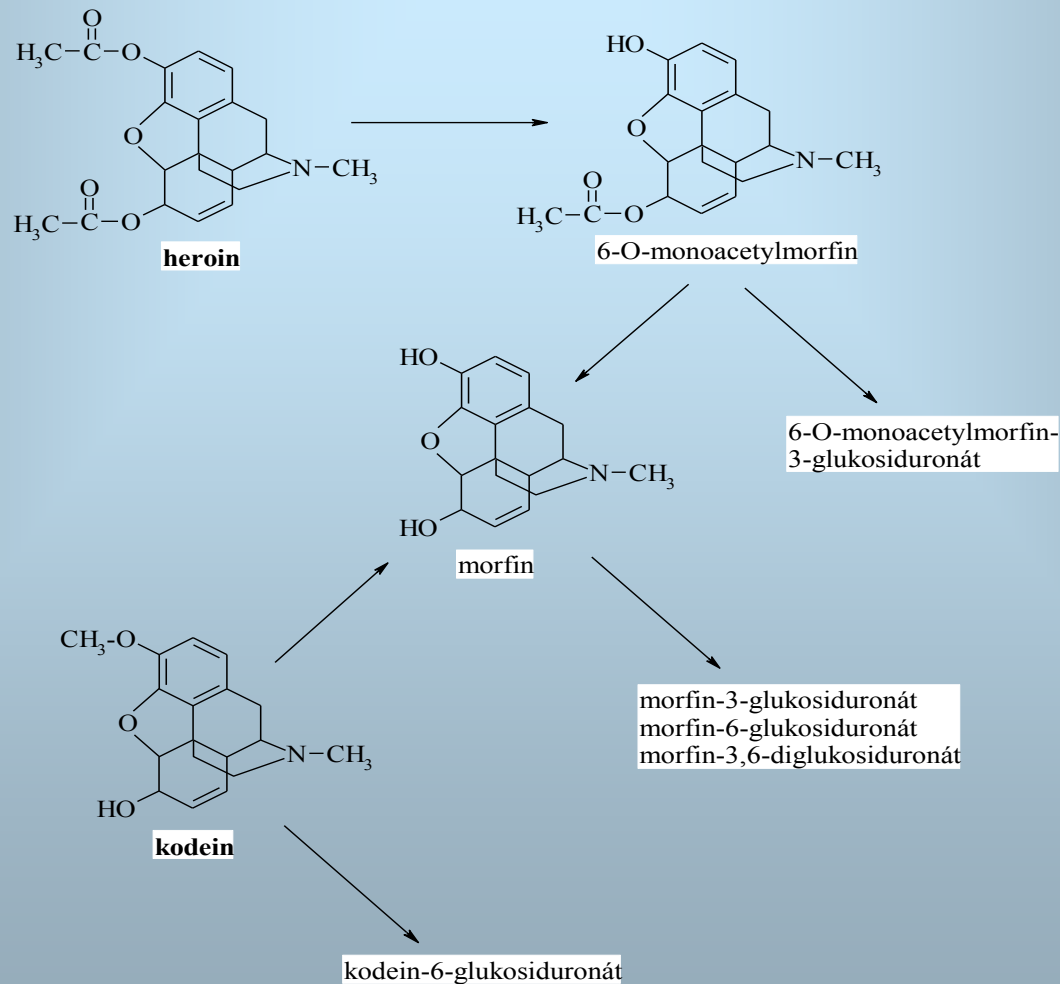


Biotransformace II. fáze

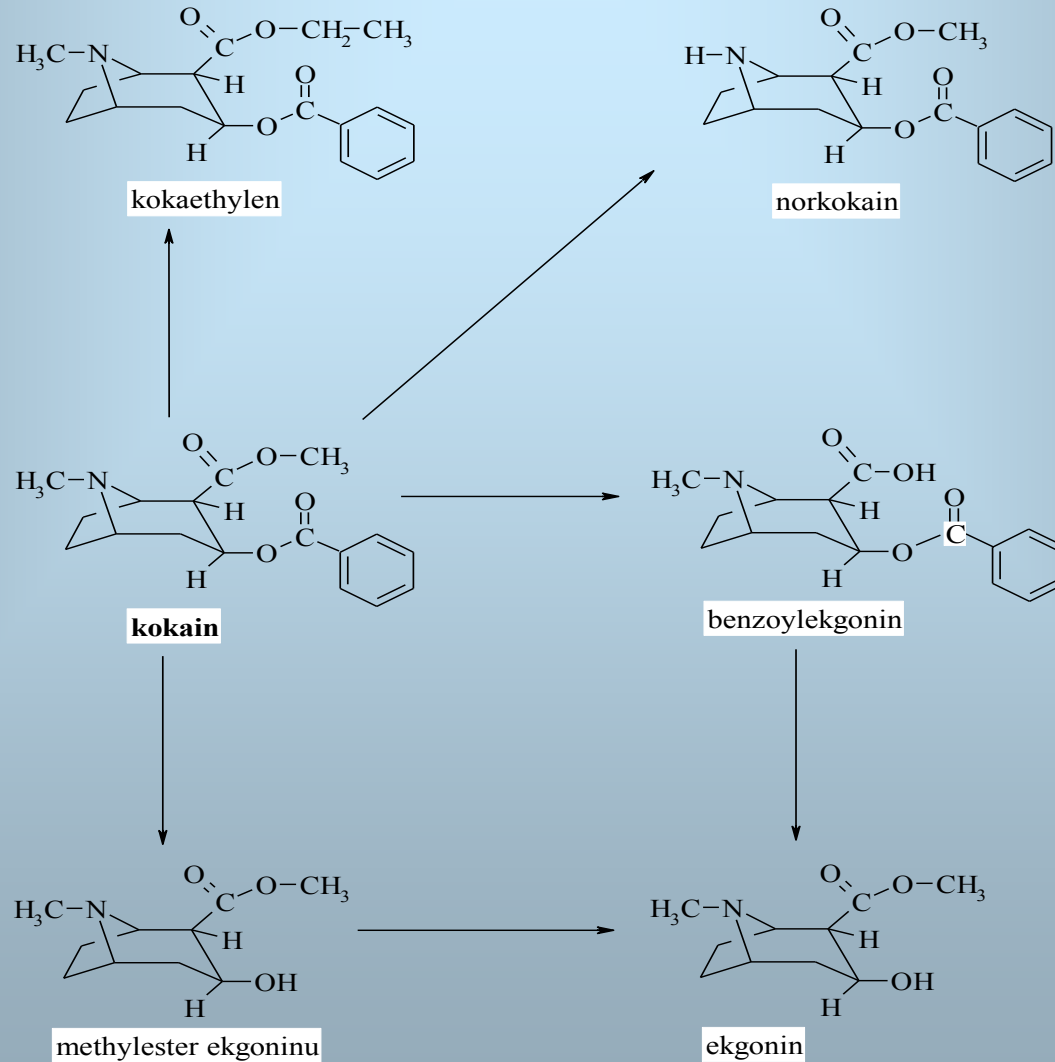
Konjugace morfinu



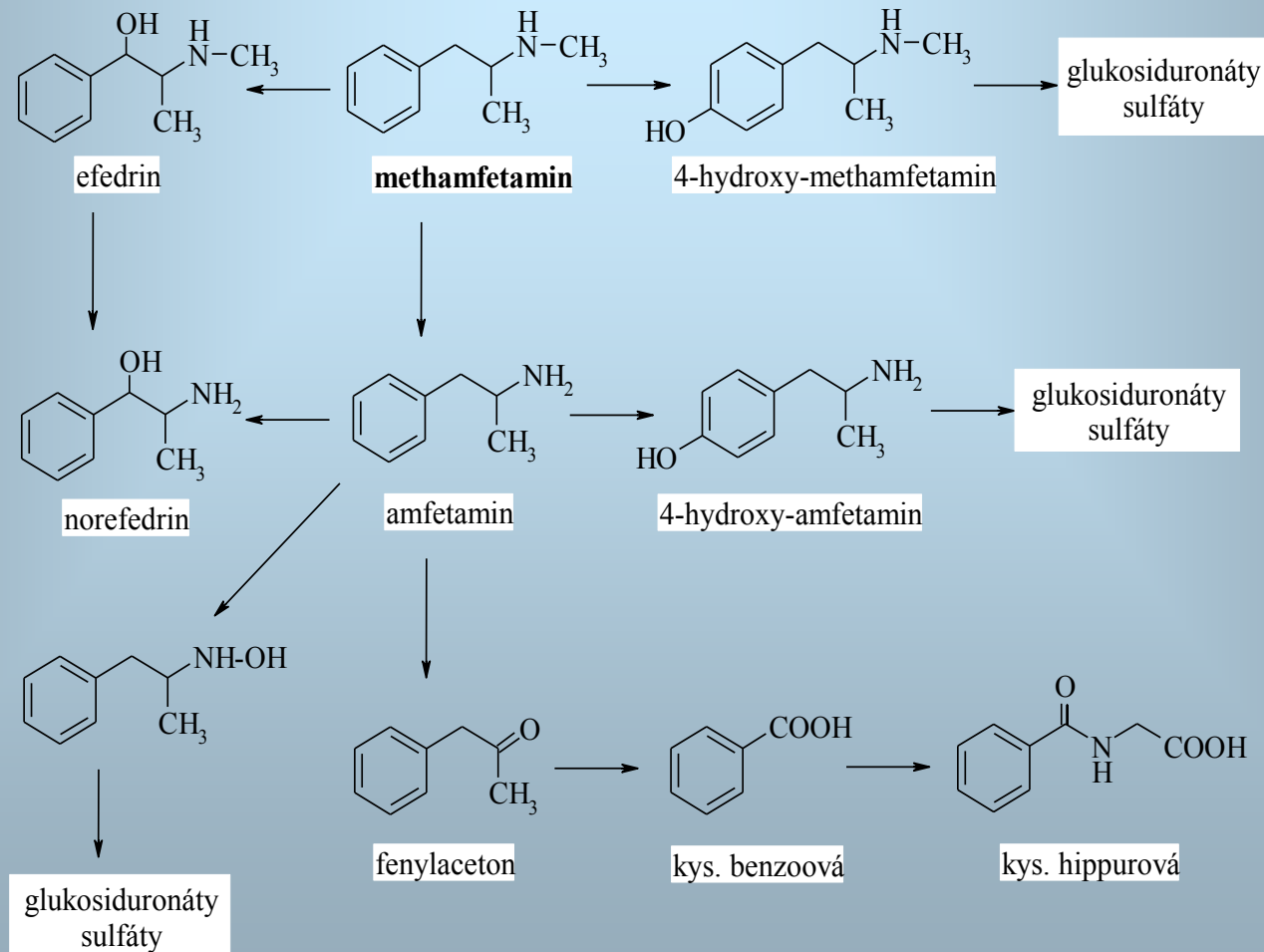
Biotransformace heroinu, kodeinu



Biotransformace kokainu

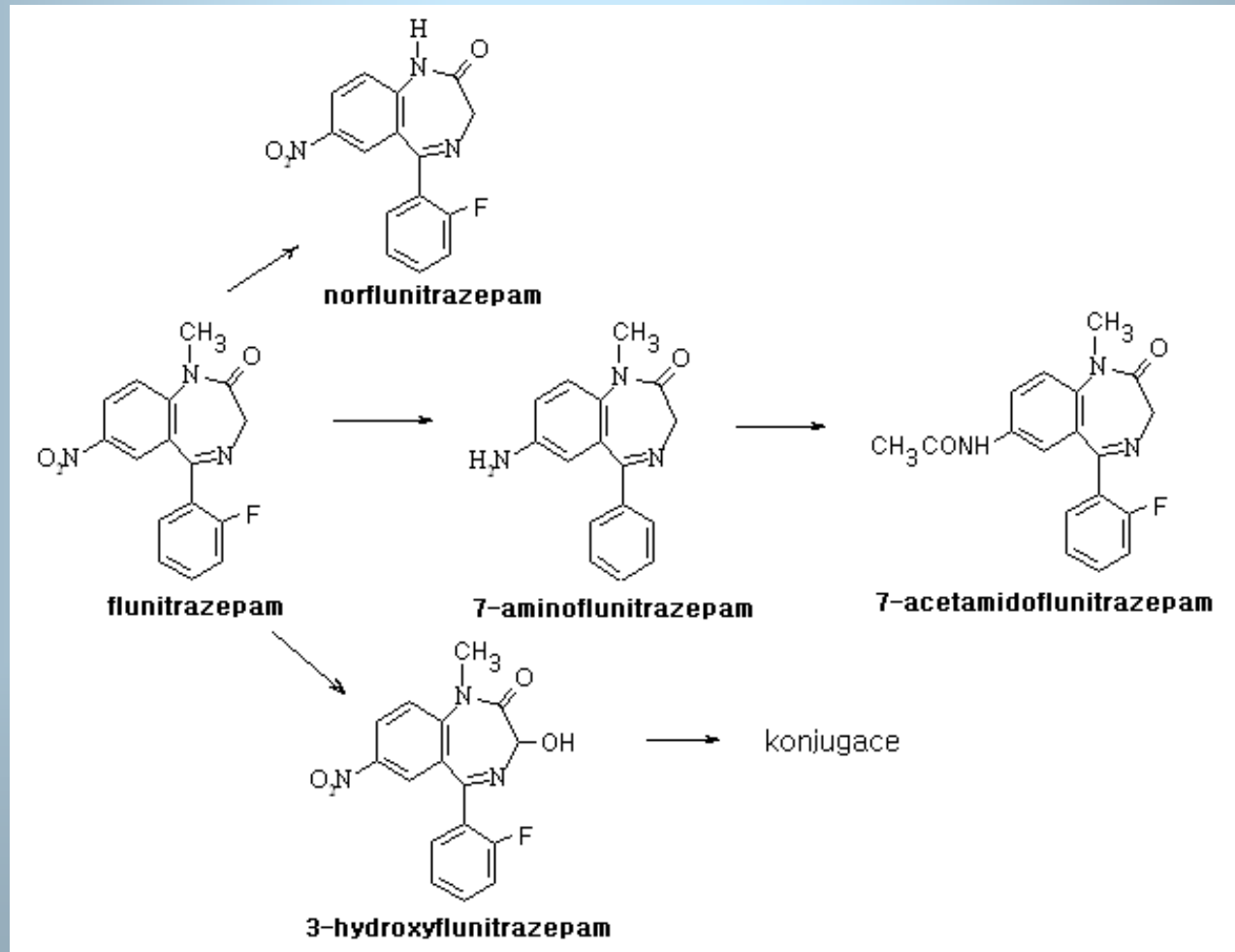


Biotransformace methamfetaminu

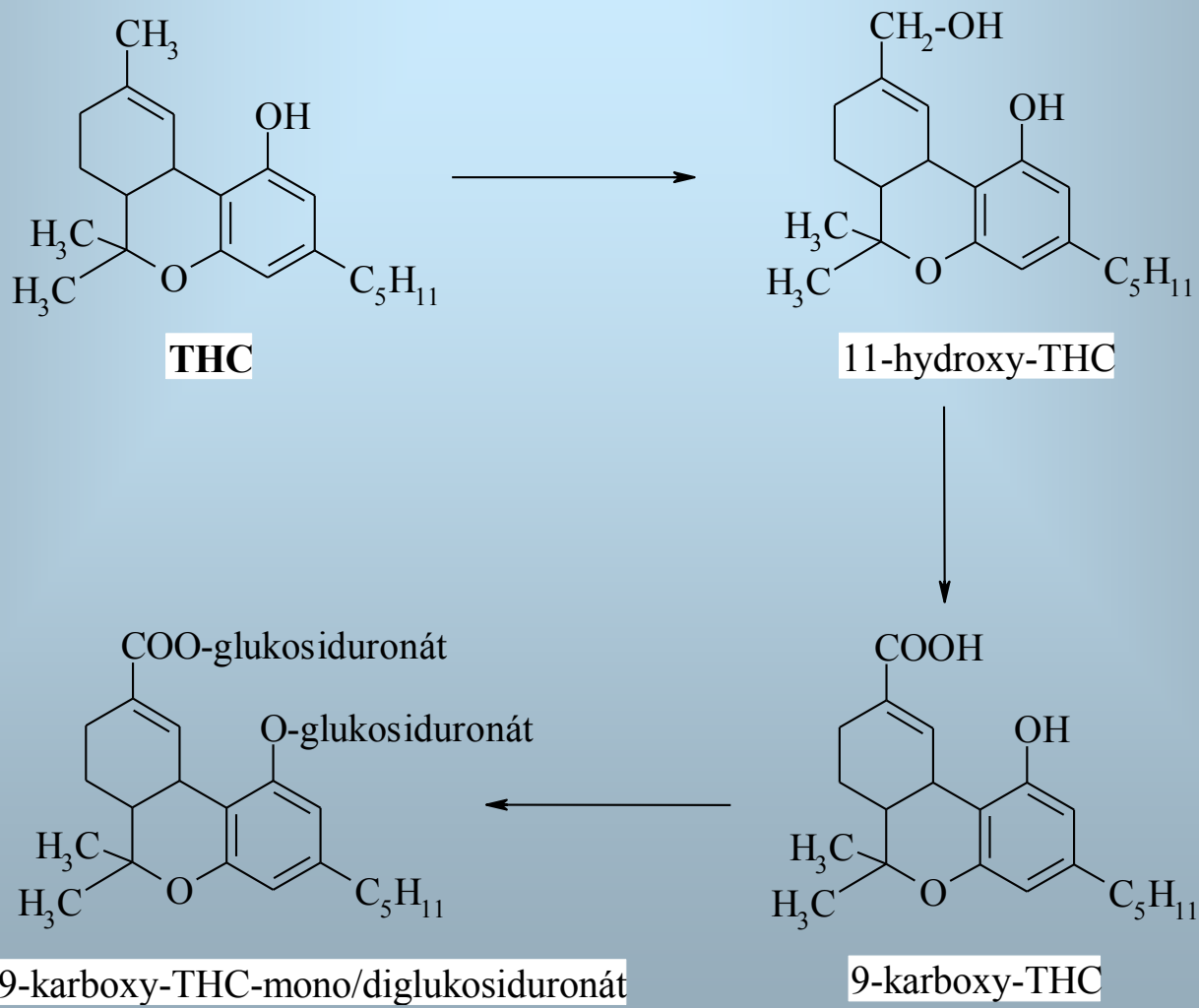


Biotransformace benzodiazepinů

Specifické metabolity flunitrazepamu

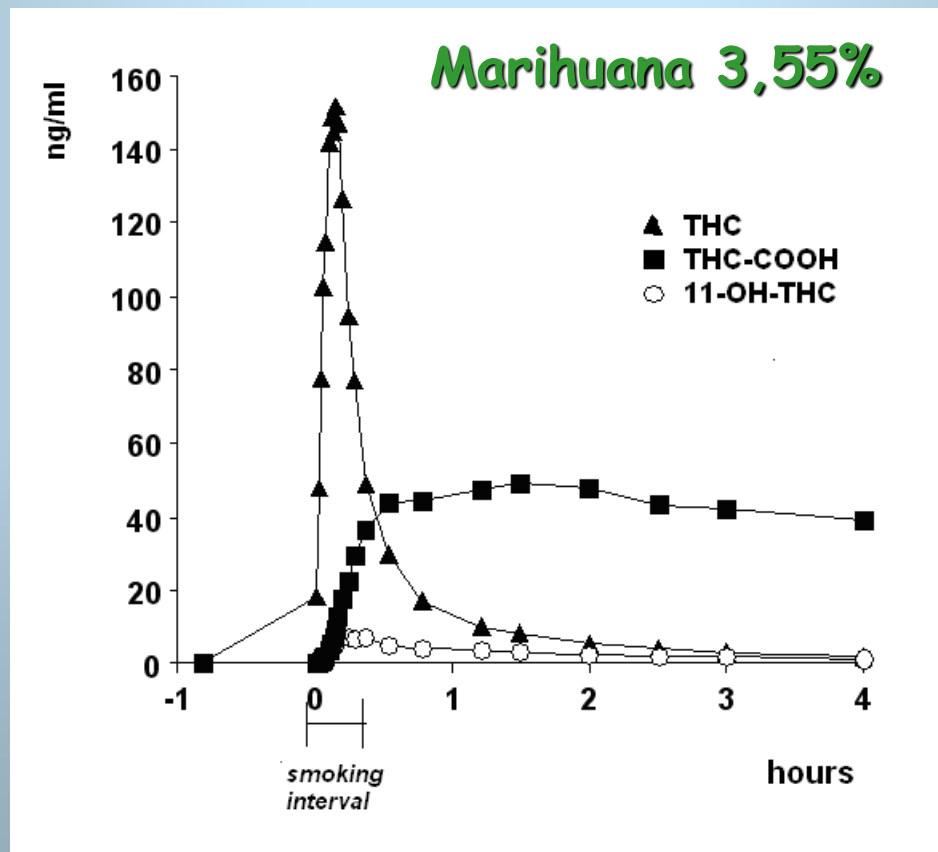


Biotransformace delta-9-THC



Kinetické aspekty biotransformace

Detekční okno metabolitů



Znalosti o biotransformaci:

- ✓ Vývoj a optimalizace toxikologické metody
- ✓ Interpretace toxikologických nálezů
- ✓ Poznání mechanismu působení xenobiotik pro účinnou léčbu chorob a intoxikací, omezení nežádoucích účinnů léčiv

Farmakokinetika i dynamika: **individuální odchylky** (genetický základ, zdravotní stav, věk, pohlaví)

Účinky ovlivňuje dávka, frekvence dávek, způsob aplikace, kombinace tox (inhibice či indukce enzymů) aj.
Neočekávané projevy - šokové, komatózní stavy

Posouzení toxikologických nálezů, interpretace - komplexní hledisko s ohledem na okolnosti případu