



Biotransformace xenobiotik

M. Balíková

BIOTRANSFORMACE:

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

- Většina enzymů vázána v hepatocytech
- Tvorba metabolitů s různou farmakologickou potencí či toxicitou
- Metabolity inaktivní i aktivní (např. metabolity methanolu, parathionu jsou více toxické než původní forma)
- Tvorba metabolitů v játrech, v gastrointestinálním ústrojí, ledvinách i plicích - záleží na způsobu aplikace. Játra umožňují „first pass metabolismus“, tj. předsystémovou biotransformaci nox. Usnadnění vylučování polárnějších produktů metabolismu.

Vliv polarity a ionizovatelnosti látek:

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

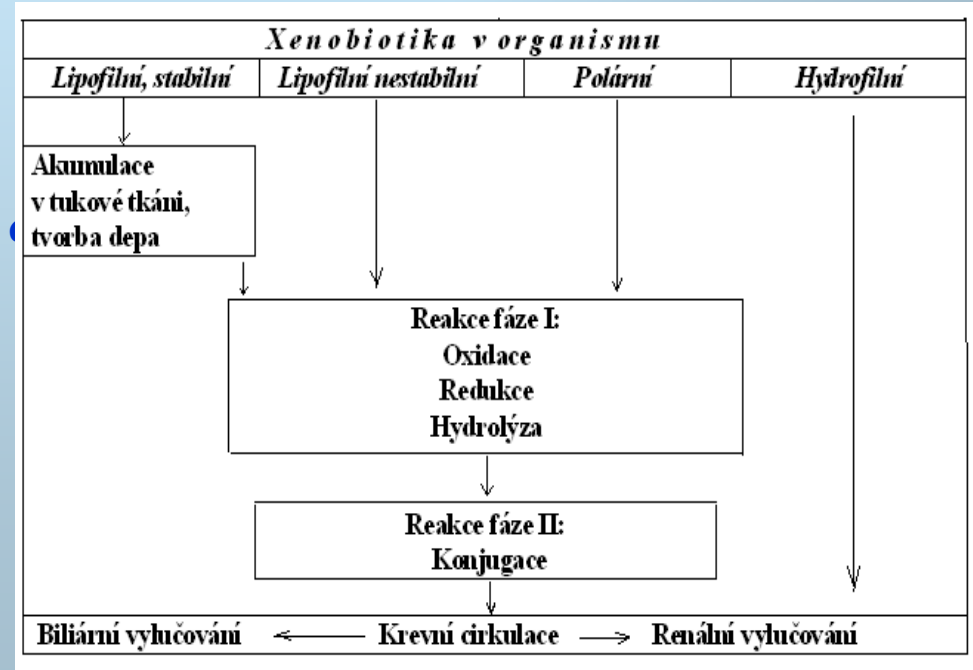
Biotransformační reakce a jejich konvenční dělení

- 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
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.

Možný osud xenobiotik v organismu



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

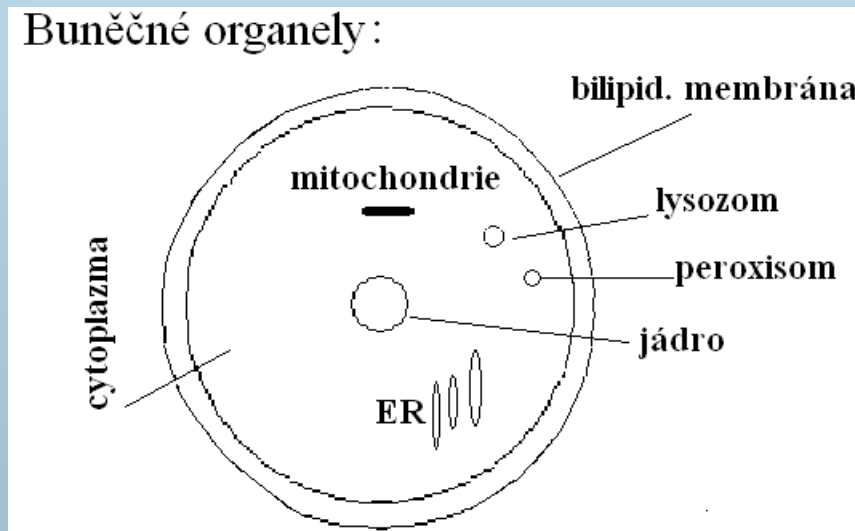
Enzymatická katalýza biotransformací I. fáze

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 abuzus 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 - potenciální 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 monoaminooxidázy (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 tox či metabolitů s endogenními substráty - produkce velmi polárních metabolitů, schopných eliminace

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

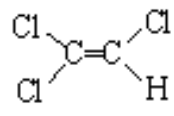
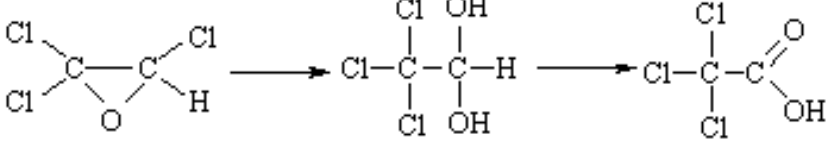
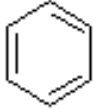
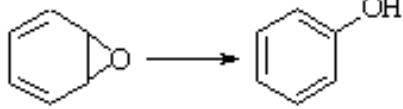
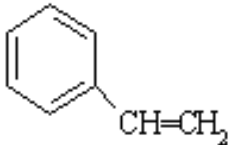
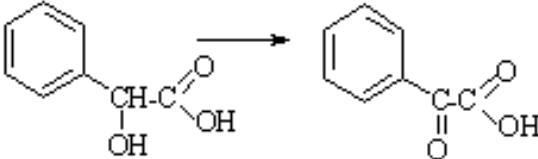
Konjugační enzymy:

- 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

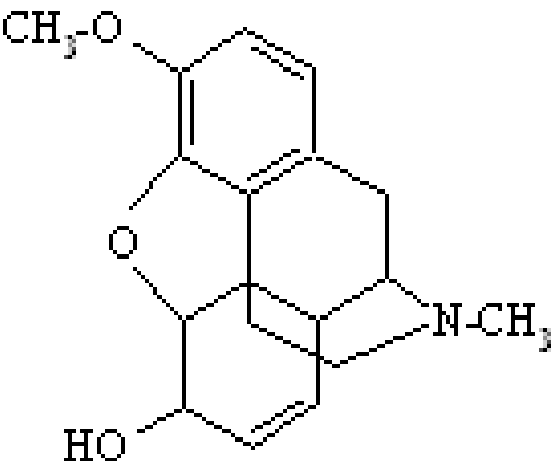
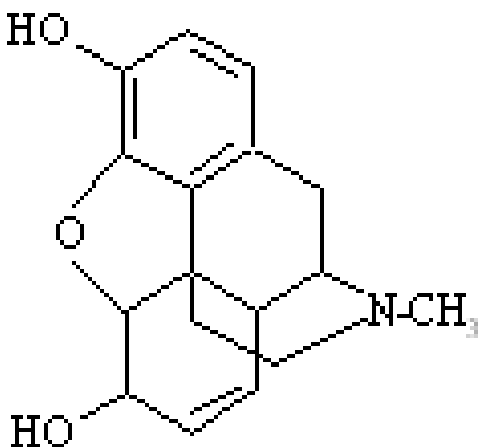
Oxidace alkoholů

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

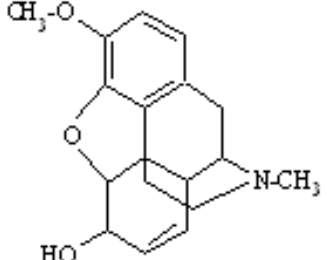
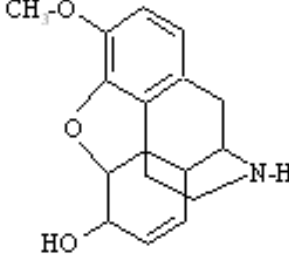
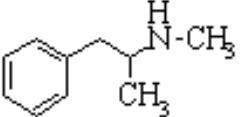
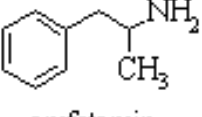
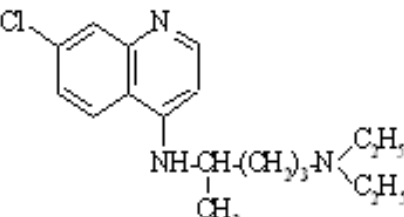
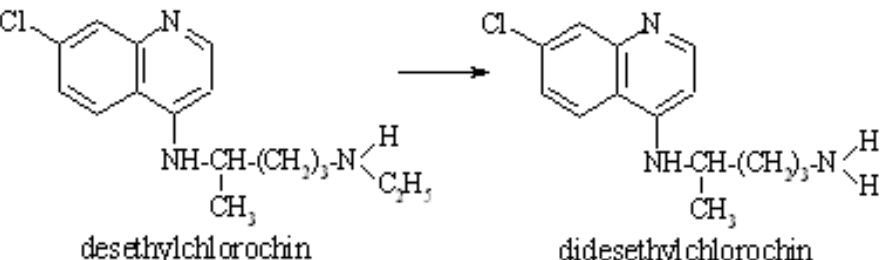
Oxidace nenasycených vazeb

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>

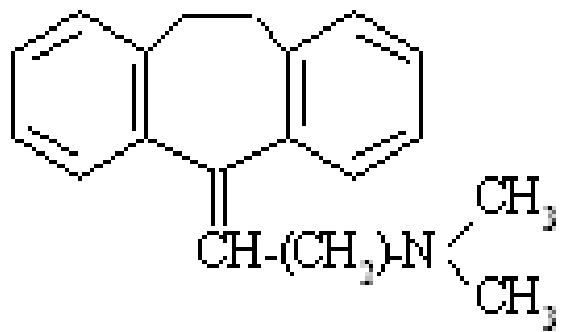
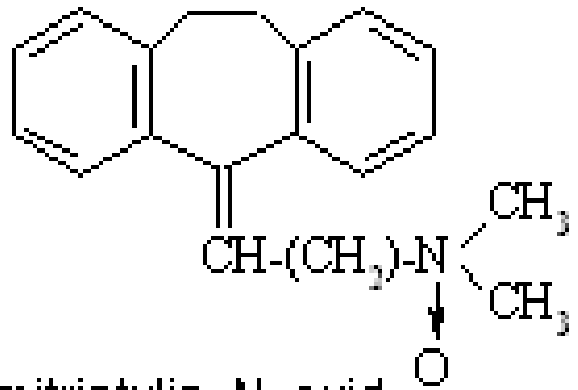
O-Dealkylace

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>

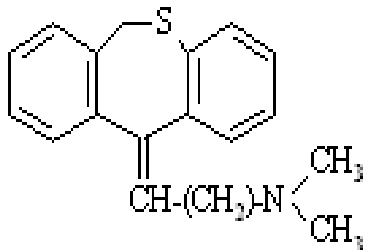
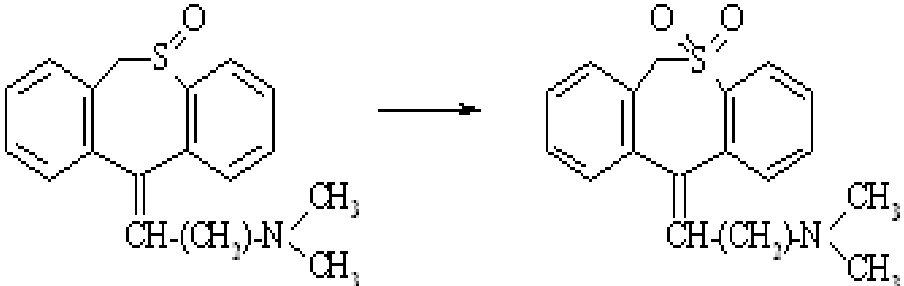
N-Dealkylace

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

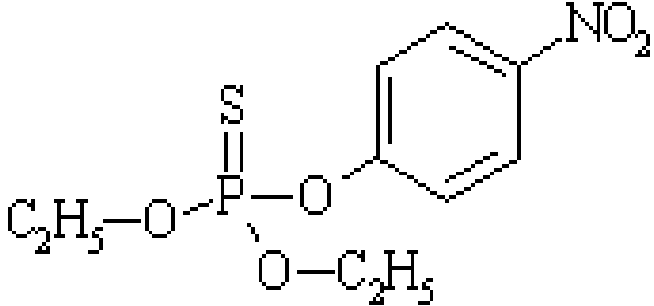
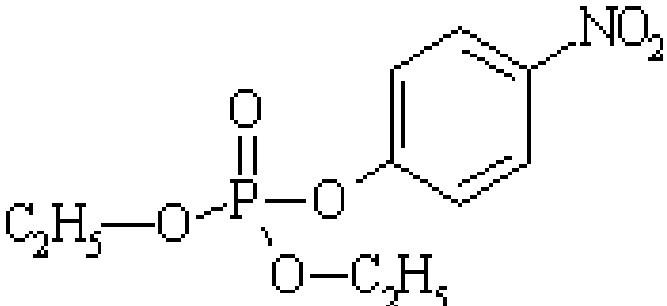
N-Oxidace

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

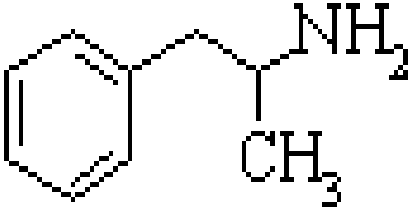
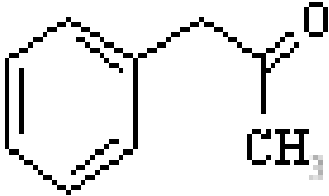
S-Oxidace

Xenobiotikum	Metabolit/y
 <p data-bbox="343 868 484 911">dosulepin</p>	 <p data-bbox="749 868 1174 911">dosulepin - S - oxid (sulfoxid)</p> <p data-bbox="1315 868 1624 911">dosulepin - S - dioxide</p>

Oxidační desulfurace

Xenobiotikum	Metabolit
 <p>parathion</p>	 <p>paraoxon</p>

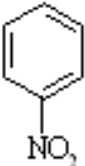
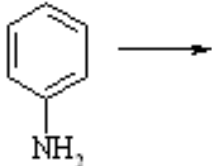
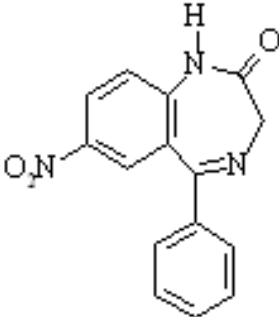
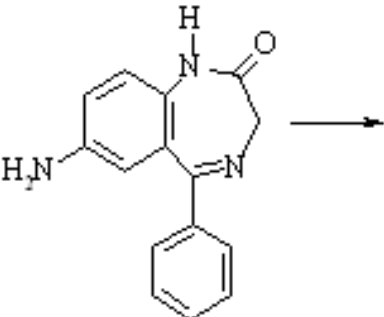
Oxidační deaminace

Xenobiotikum	Metabolit
 <p data-bbox="392 891 649 943">amfetamin</p>	 <p data-bbox="1205 901 1495 962">fenylaceton</p>

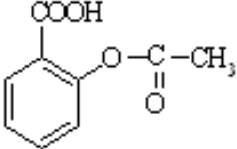
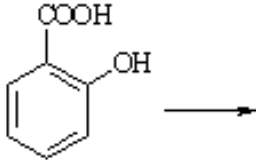
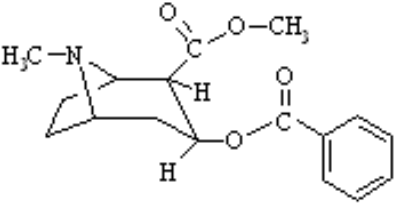
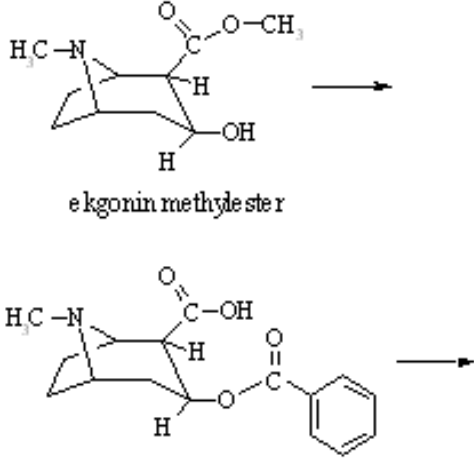
Redukce aldehydů a ketonů

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

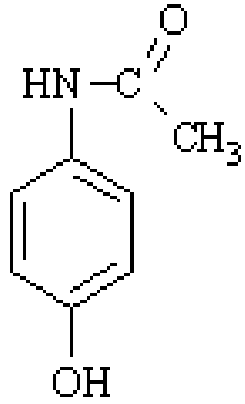
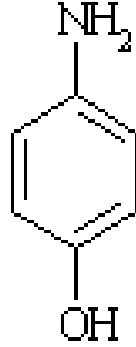
Redukce nitroskupin

Xenobiotikum	Metabolit/y
 <p data-bbox="533 696 687 732">nitrobenzen</p>	 <p data-bbox="1083 696 1161 732">anilin</p>
 <p data-bbox="577 1103 722 1139">nitrazepam</p>	 <p data-bbox="1029 1103 1296 1139">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 1232 943">ekgonin methylester</p> <p data-bbox="1045 1186 1213 1215">benzoylekgonin</p>

Hydrolýza amidů

Xenobiotikum	Metabolit
 <p data-bbox="401 963 627 1006">paracetamol</p>	 <p data-bbox="1039 963 1323 1006">p - aminofenol</p>

Hydrolytické štěpení cyklů

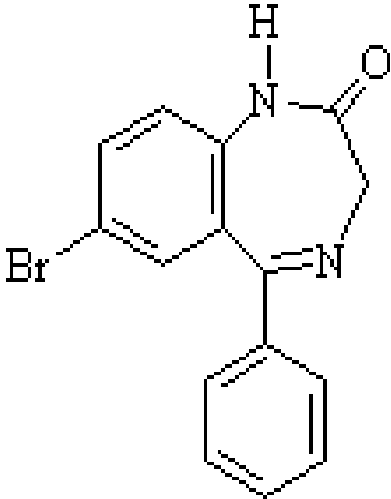
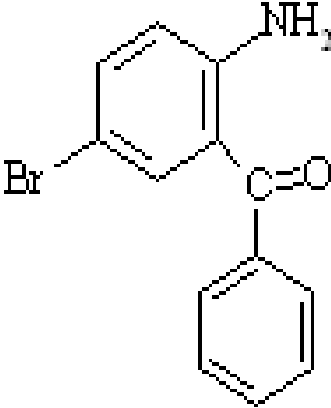
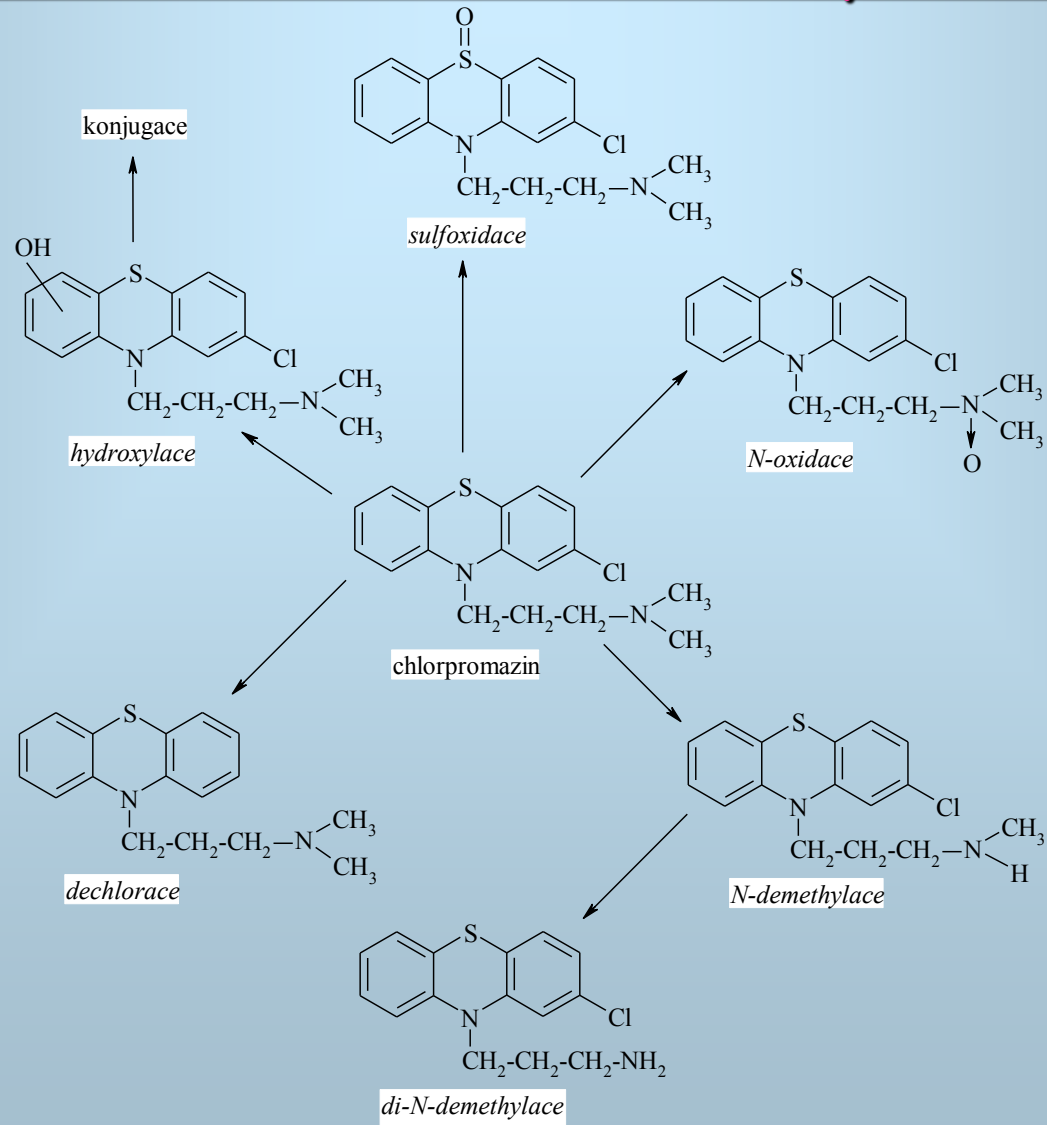
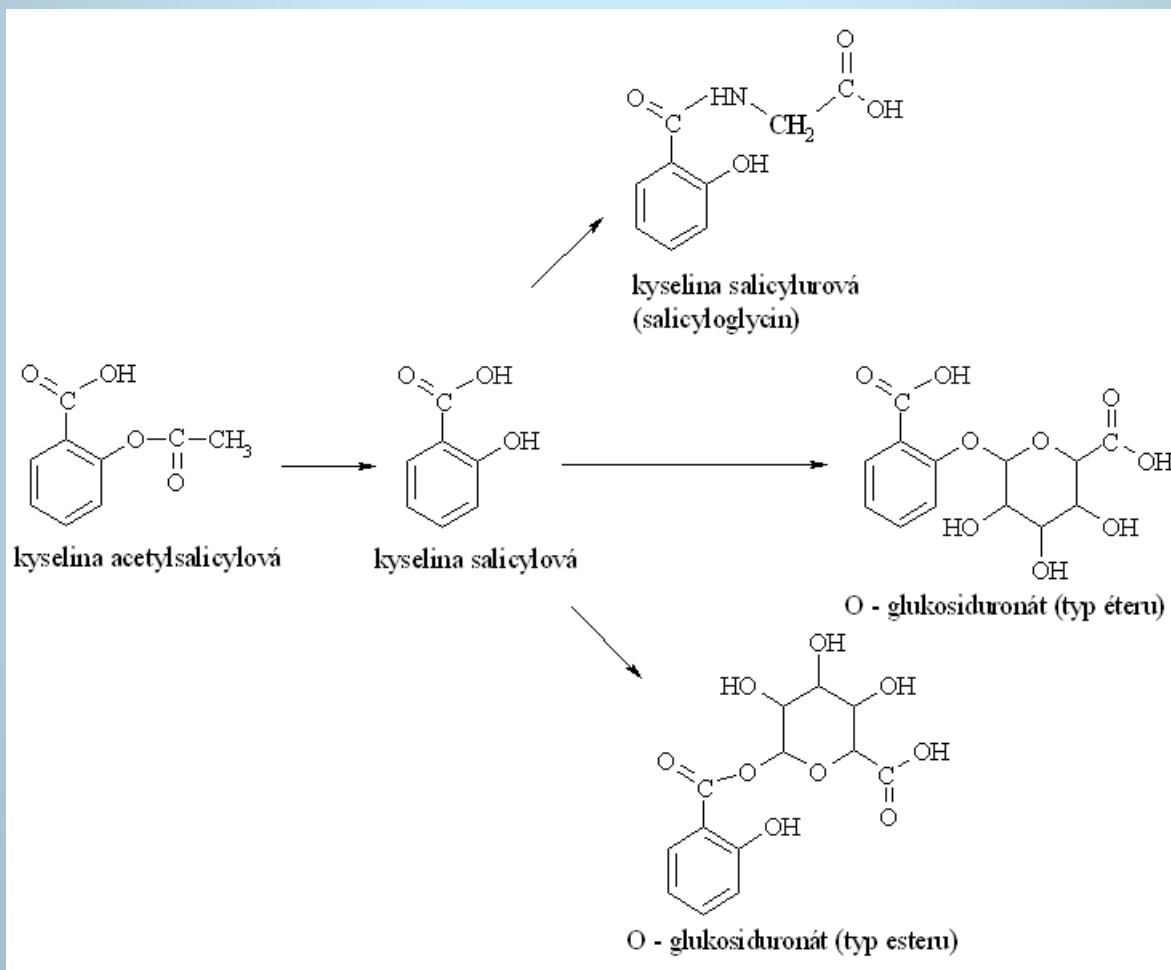
Xenobiotikum	Metabolit
 <p data-bbox="455 1053 710 1105">bromazepam</p>	 <p data-bbox="958 1048 1580 1093">2 - amino - 5 - bromobenzofenon</p>

Schéma biotransformace chlorpromazinu



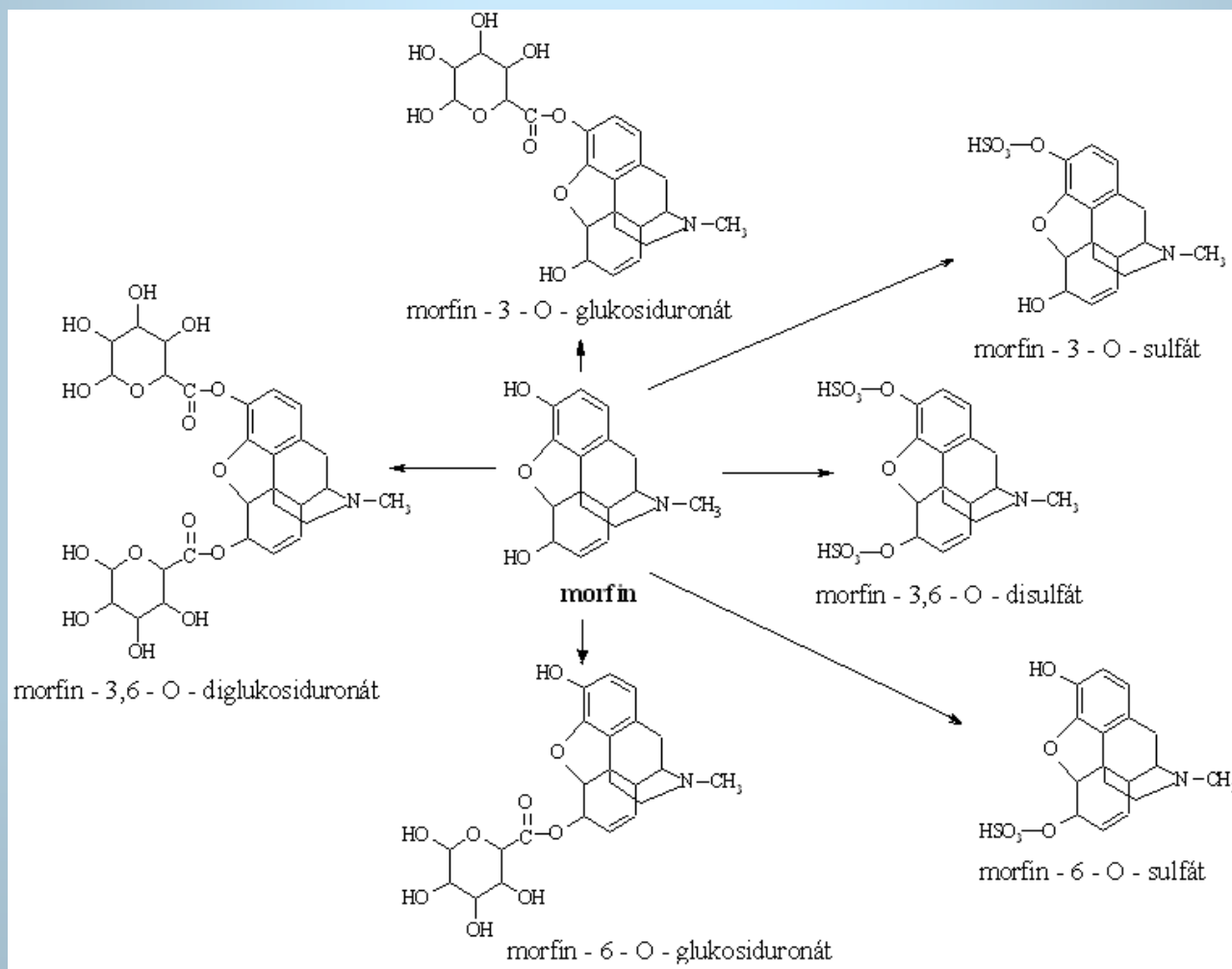
Biotransformace II. fáze

Konjugace kyseliny salicylové

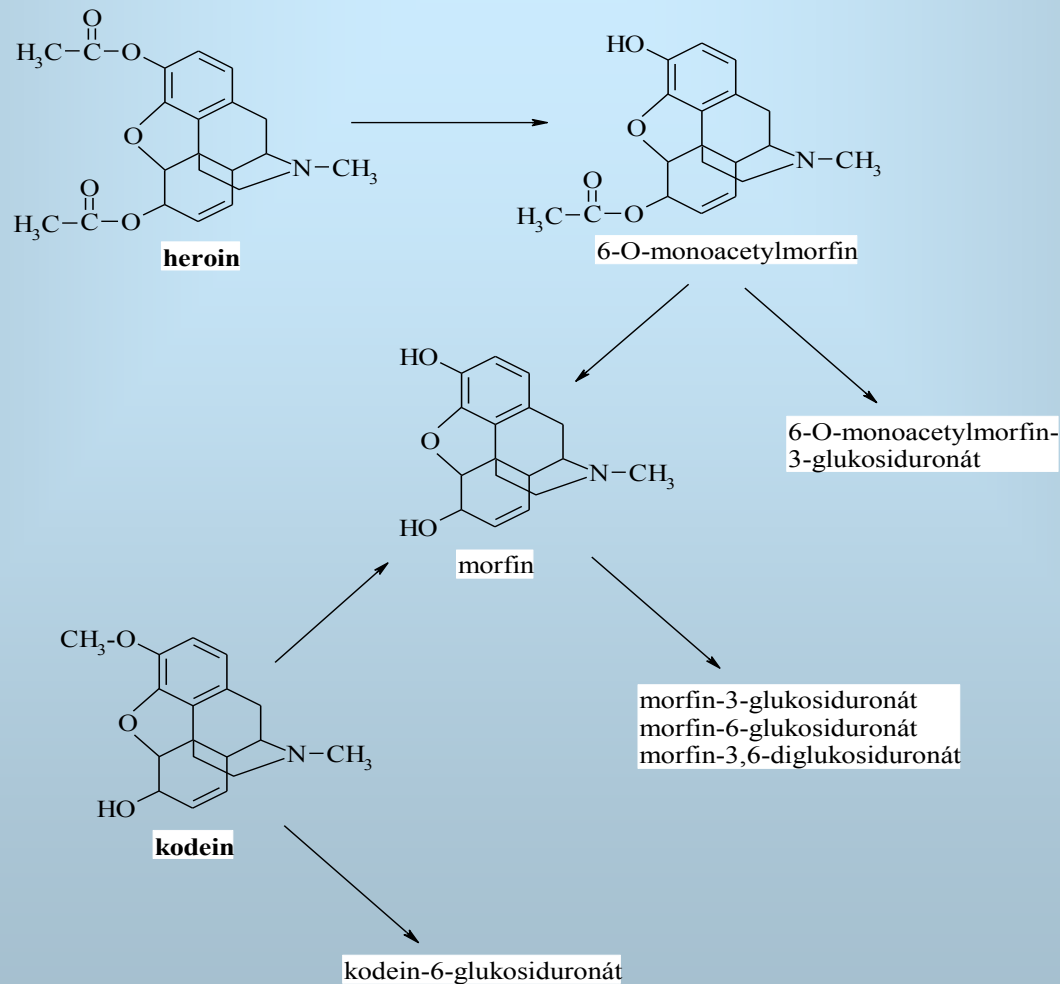


Biotransformace II. fáze

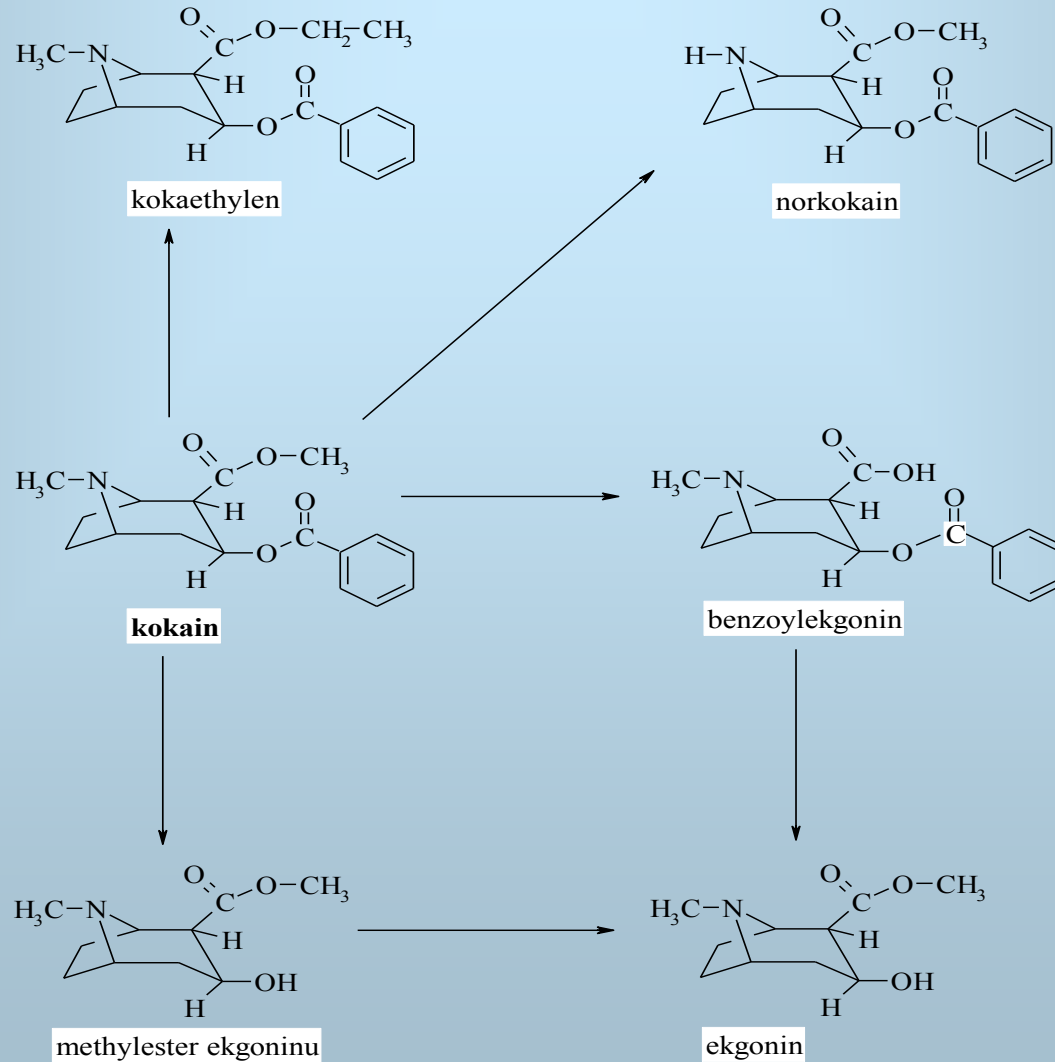
Konjugace morfinu



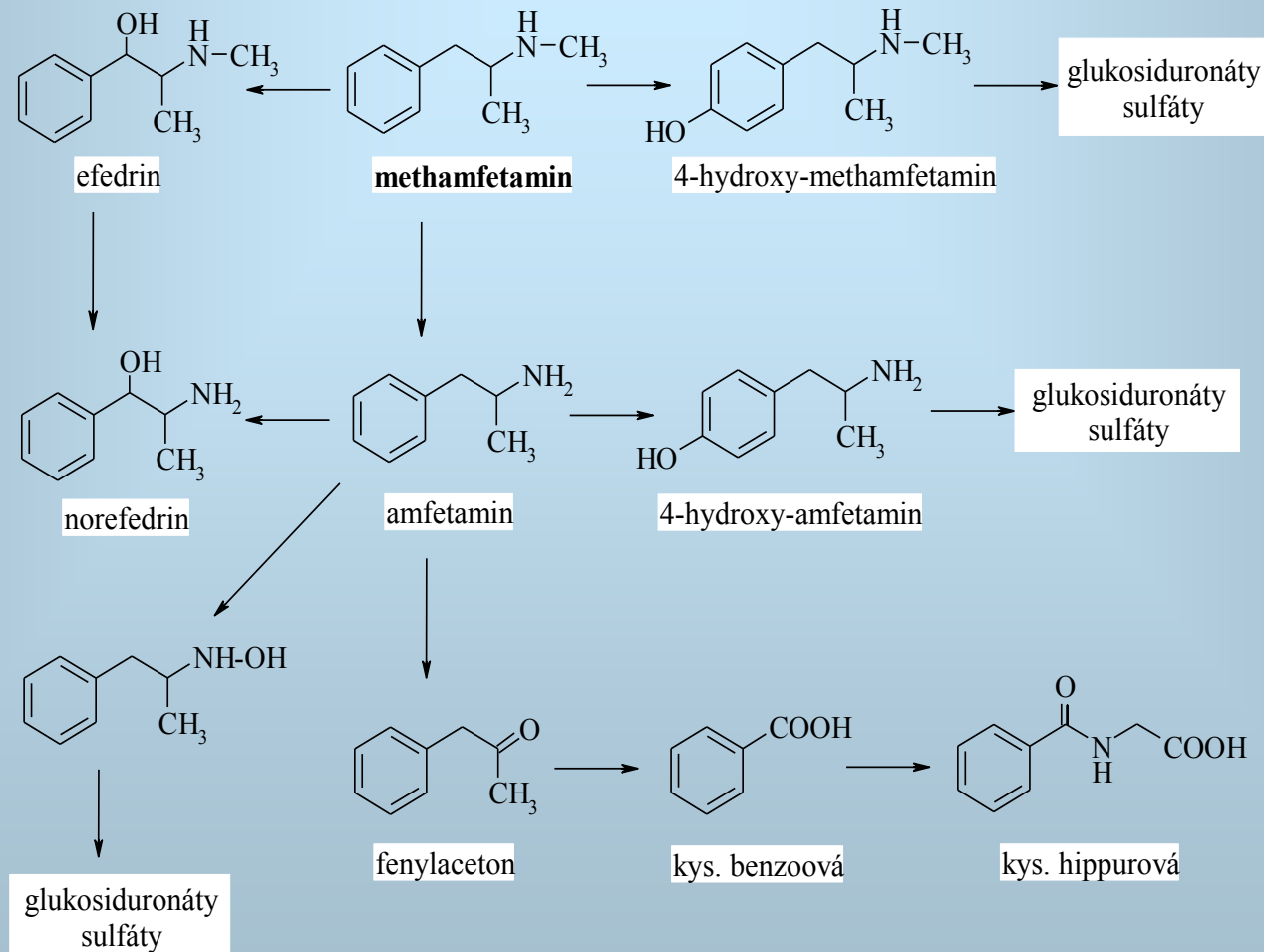
Biotransformace heroinu, kodeinu



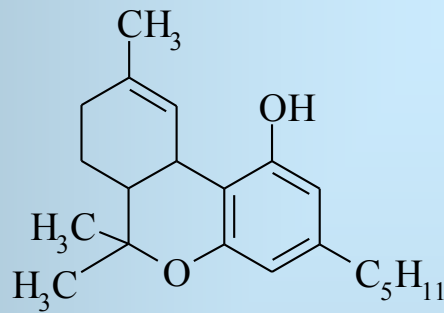
Biotransformace kokainu



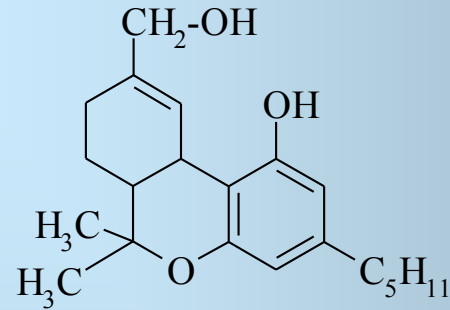
Biotransformace methamfetaminu



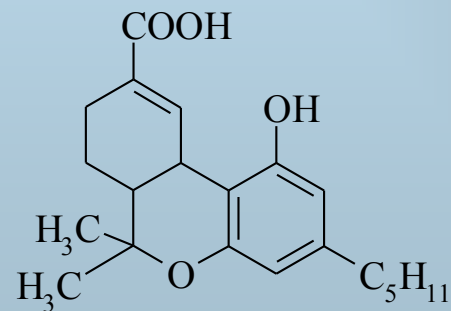
Biotransformace delta-9-THC



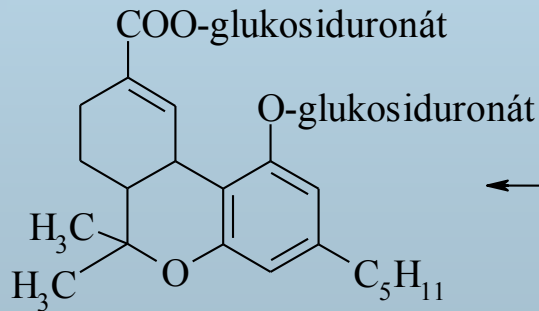
THC



11-hydroxy-THC



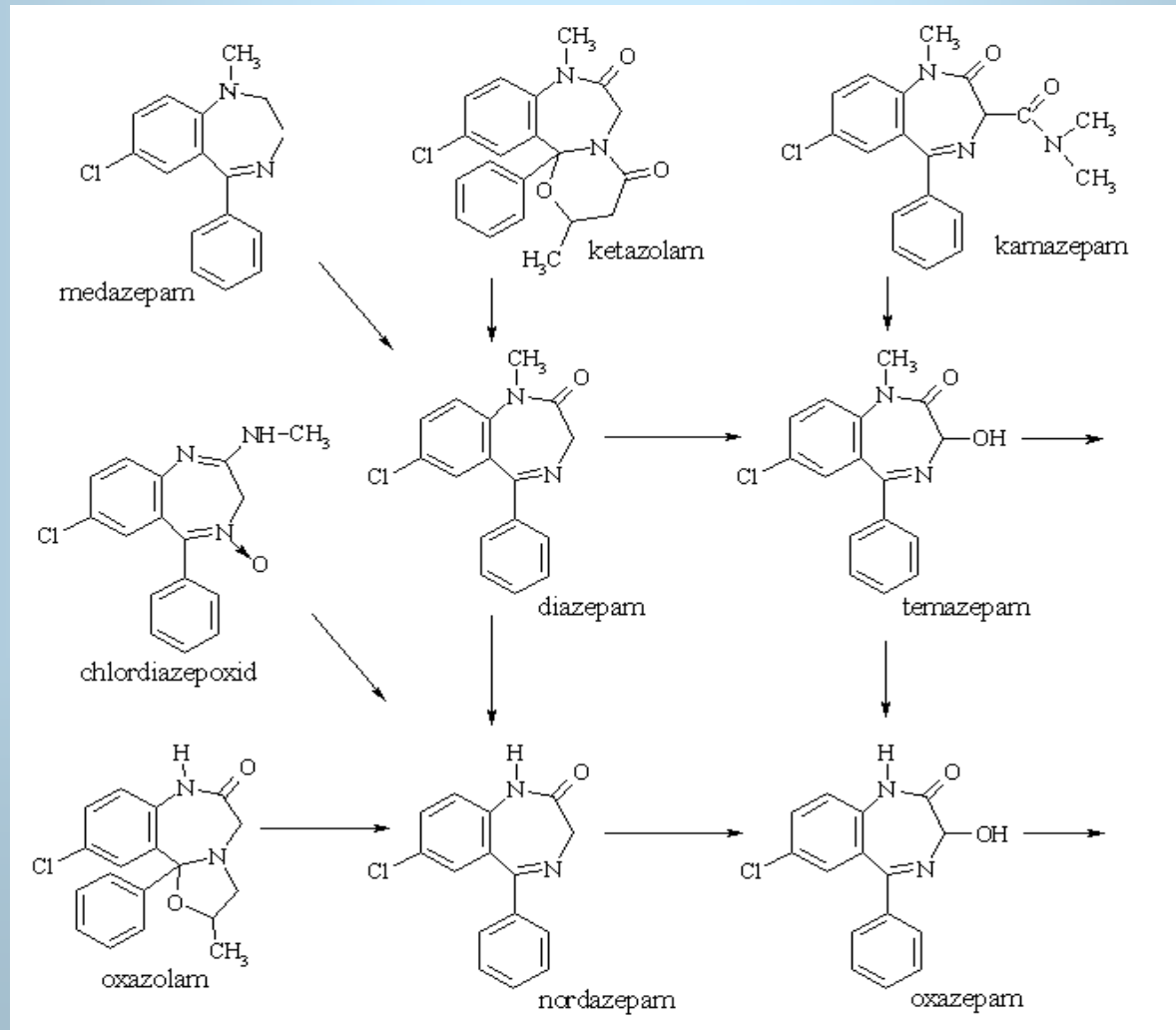
9-karboxy-THC



9-karboxy-THC-mono/diglukosiduronát

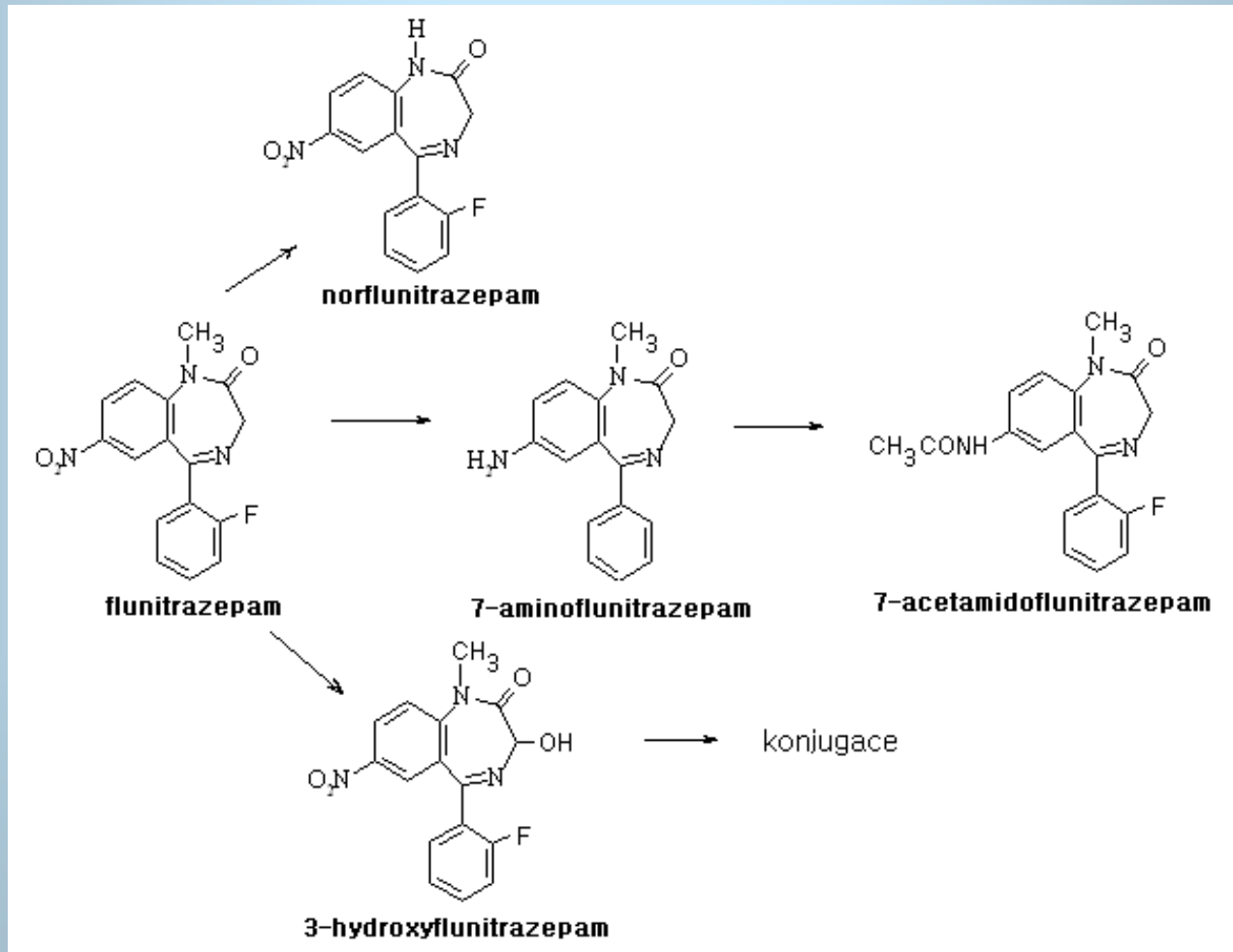
Biotransformace benzodiazepinů

Nespecifické metabolity diazepamů aj.



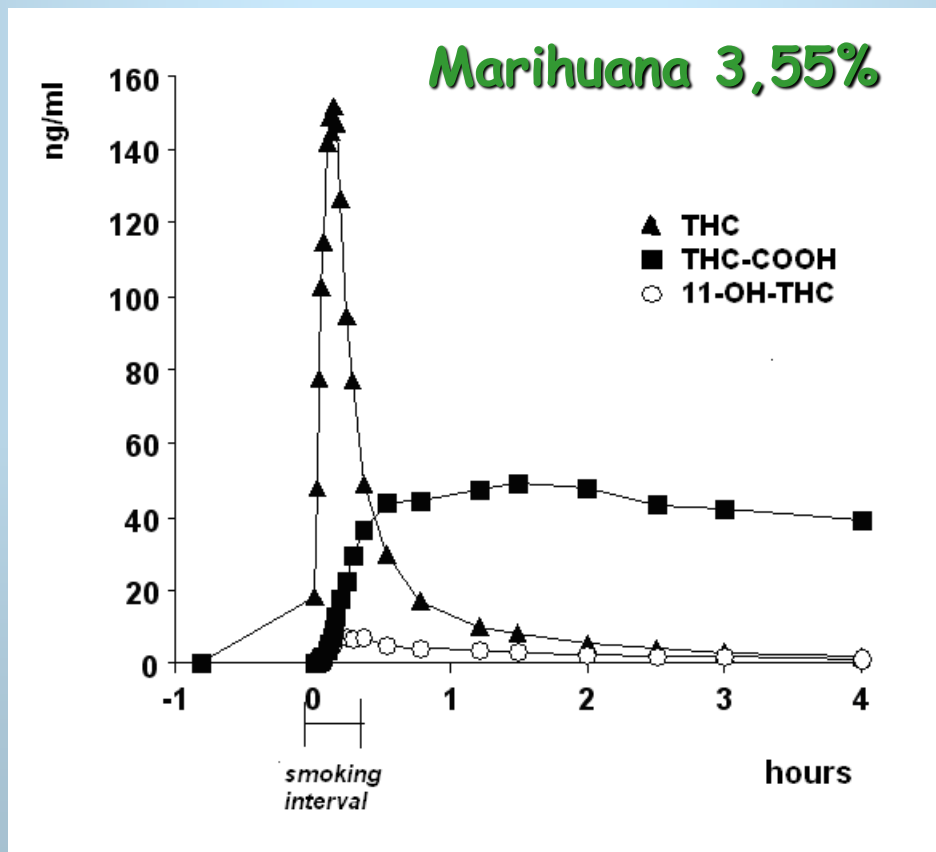
Biotransformace benzodiazepinů

Specifické metabolity flunitrazepamu



Kinetické aspekty biotransformace

Detekční okno metabolitů



SOUHRN - VÝZNAM ZNALOSTÍ O BIOTRANSFORMACI

- *vývoj a optimalizace toxikologické metody*
- *interpretace toxikologických nálezů*
- *počtení mechanismu působení nox*
- *správná léčba otrav*
- *účelná terapie chorob, omezení nežádoucích účinků léčiv*

Poznatky o biotransformaci, farmakokinetice, dispozici nox v organismu - interpretace nálezů v souboru vzorků vyšetřovaného případu - posouzení zastoupení původních forem a metabolitů s ohledem na:

- aplikovanou noxu, její identifikaci
- způsob aplikace
- dobu aplikace
- dávku

Individuelní odchylky dle genetické dispozice, stáří, zdravotního stavu aj.:

- ve farmakokinetice (tvorba metabolitů, jejich poměr v čase)
- ve farmakodynamice (odchylky účinků)

Pozor!!!

U stavů předávkování nebo u kombinovaných otrav, komatózní stavy - změny farmakokinetiky i farmakodynamiky, možné vysycení enzymů, možná inhibice i indukce, pozměněný metabolismus proti terapeutickému režimu