

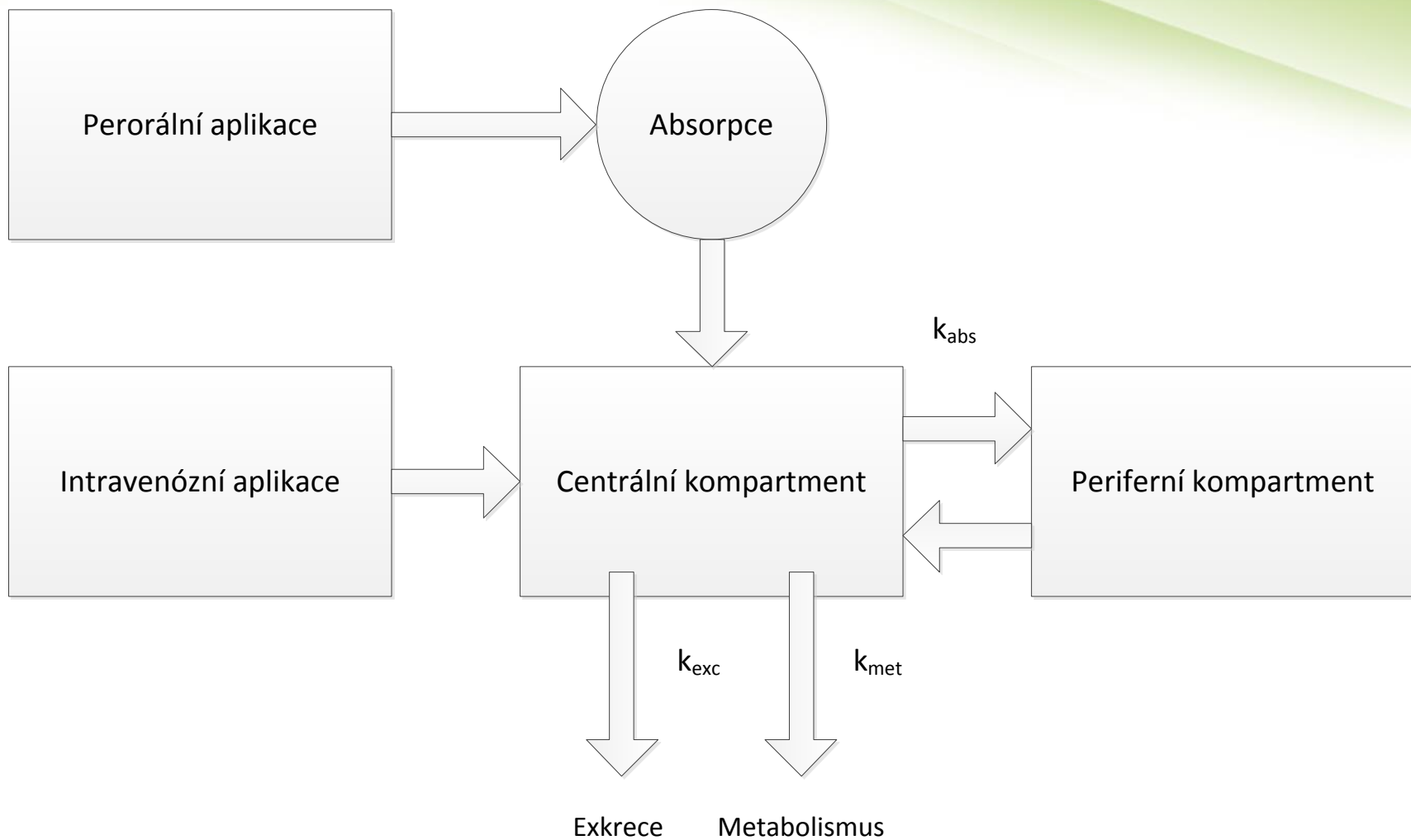
A decorative graphic at the top of the slide features a grid of light green squares on a slightly darker green background. The grid is partially obscured by a white, wavy shape that curves across the top and left sides of the image.

Úvod do metabolismu xenobiotik

Tomáš Pruša

Osud xenobiotik

- Vstup
 - Absorpce
- Distribuce
- Výstup (Eliminace)
 - Metabolizace (Biotransformace)
 - Vylučování (Exkrece)



Obecné zákonitosti

- Fyzikálně-chemické vlastnosti
 - lipofilní vs. hydrofilní, velikost, náboj ...
- Prostup léčiva biologickými membránami
 - lipofilní – pasivní difuze
 - hydrofilní – prostup přes póry
 - aktivní transport
- Vazba léčiva
 - receptor x transportní x depo
- Perfuze tkání
 - mozek, srdce, játra a ledviny
 - tuková tkáň

Absorpce

GIT – Tenké střevo

- Až 200 m²
- pH 4-5 (duodenum) -> 8 (ileum)
- Doba setrvání: 1–6 hodin
- Peyerovy plaky (prostup látek s vyšší mol. hmotností)
- Specifické receptory s endocytózovou akt.

GIT – Tenké střevo

- Prostá difúze, aktivní transport
 - Sacharidy – monosacharidy - duodenum, proximální jejunum (sekundární aktivní transport)
 - Lipidy – micely (žluč. kyseliny + monoacylglyceroly a MK)
 - MK o krátkém řetězci => do krve
 - MK o delším řetězci => resyntéza TAG a tvorba chylomiker => lymfa => krev
 - Proteiny – AMK (sekundární aktivní transport)

GIT – Tlusté střevo

- pH 5–7
- Doba setrvání: až 24 hodin
- Mikrobiota (ekosystém)
 - Anaeroby (anaerobní koky, klostridia, aktinomycety, lakobacily, fusobakterie)
 - Enterobakterie (*Escherichia coli*)
 - Enterokoky
 - *Entamoeba coli*

Absorpce – interakce

- Chemická interakce
 - Antacida
 - Sekvestranty žlučových kyselin
 - Tvorba chelátů
- Ovlivnění motility
- Pohlaví
- Biorytmy

Distribuce

Transport krví

- Lipofilní/hydrofilní látka
- Přenašeče
- Prostup přes membránu
- Receptory

ELIMINACE

Eliminace

- Eliminace znamená vyloučení z organismu.
- Rychlost eliminace je dána funkcí metabolismu i exkrece.
- je popisována farmakokinetickými parametry:
 - eliminační poločas ($T_{1/2}$)
 - systémová clearance (CL, ml.čas⁻¹)

Eliminace

- Metabolizace (Biotransformace)
- Vylučování (Exkrece)

BIOTRANSFORMACE

Biotransformace

- Procesy probíhající převážně v játrech, ale i v ledvinách a jiných tkáních těla.
- Enzymatické procesy

Při metabolismu xenobiotik může dojít k:

1. Zvýšení jejich toxicity
2. Snížení jejich toxicity
3. Jejich bioaktivaci
4. Zvýšení jejich rozpustnosti ve vodě

Výsledky biotransformace

1. Výrazně redukováná farmakologická aktivita
(biodegradace; pentobarbital)
2. Přibližně stejná aktivita
(metamfetamin → amfetamin,
diazepam → nordiazepam → oxazepam)
3. Výrazně potencionovaná aktivita
(bioaktivace; proléčiva; enalapril → enalaprilát)

Fáze biotransformace

- 1. fáze – nesyntetická
 - zahrnuje oxidace, redukce a hydrolýzu
 - je zachována liposolubilita
- 2. fáze – syntetická, konjugační
 - konjugace – navázání endogenní komponenty
 - některé látky vstupují přímo do II. fáze metabolisme, jiné mohou být exkretovány bez konjugace

1. fáze biotransformace MFO - P450

Monooxidázový systém – MFO – mixed function oxygenase

- na cytosolové straně endoplazmatického retikula
- JATERNÍ MFO:
 1. flavoprotein (NADPH cytochrom P450 reduktasa)
 2. hemoprotein (CYP 450)
 3. lipidové komponenty (fosfatidylcholin)

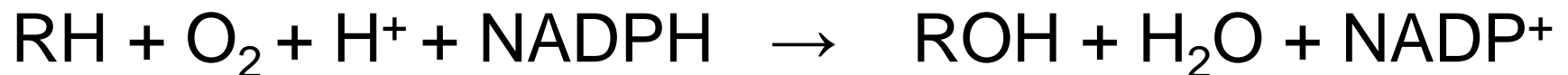
P450

- Hemové enzymy
- Prostetická skupina = hem b (Hb, myoglobin, peroxidázy)
- Celkově známo přes 2000 cytochromů
- Člověk více než 60 genů
- Mikrosomální enzymy jater, GIT, plic, mozku, srdce, placenty, kůže, erytrocytů
- **Zprostředkovávají 1.fázi biotransformace xenobiotik**

P450 - biotransformace

- Endogenní látky
 - Transfer vodíku H
- Xenobiotika
 - Inzerce kyslíku do substrátu
 - Nízká substrátová specifita
 - Indukovatelná metabolismus

2 molekuly kyslíku + xenob. → xenob.-OH + voda



P450 - biotransformace

- katalyzují:
 - vznik oxygenovaného produktu
(monooxygenázová fce)
 - vznik molekuly vody
(oxidázová aktivita)

→ oxygenáza se smíšenou funkcí

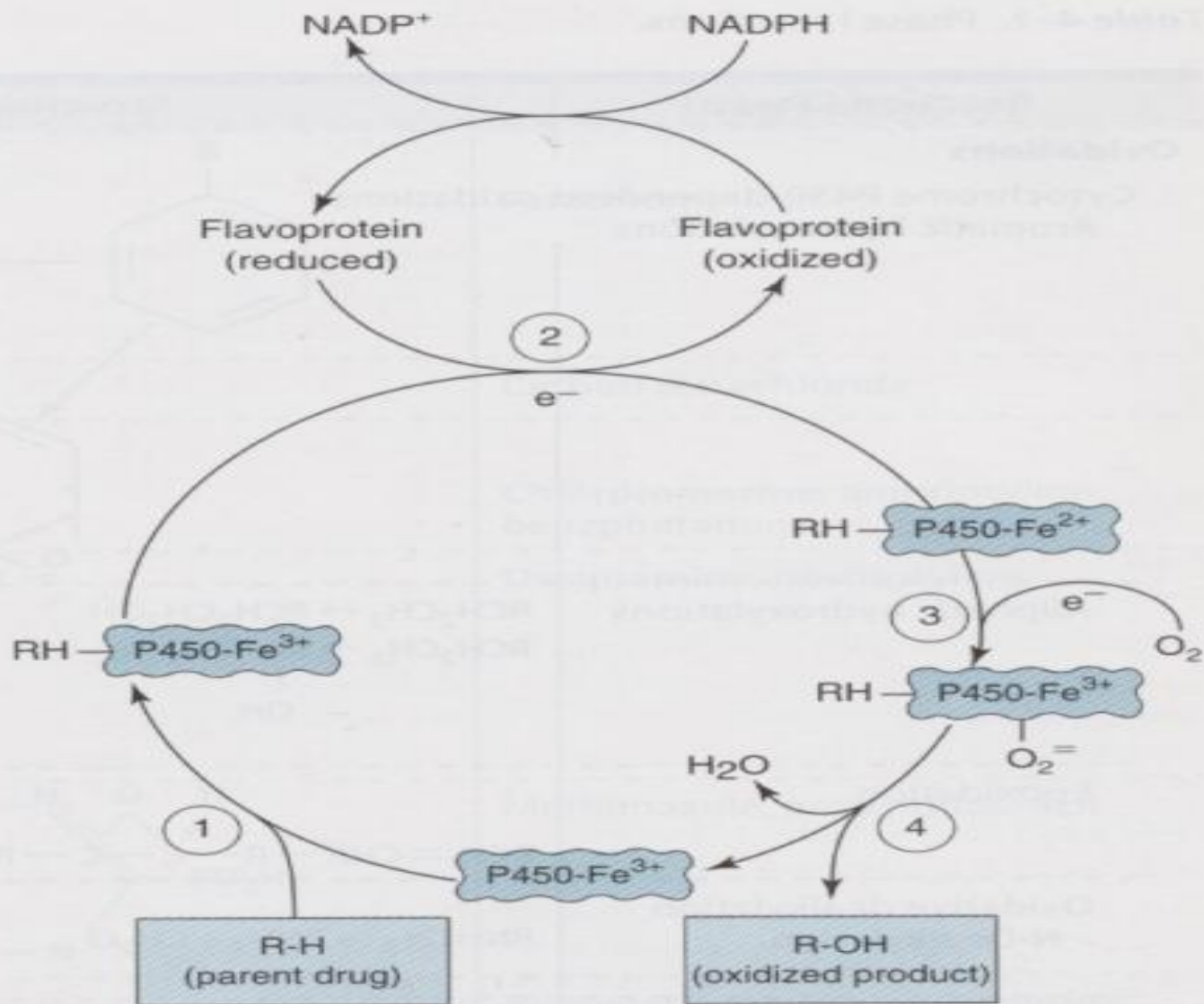


Figure 4-3. Cytochrome P450 cycle in drug oxidations. (R-H, parent drug; R-OH, oxidized metabolite; e⁻, electron.)

1. fáze

- zavedení polární funkční skupiny do molekuly léčiva (-OH, -NH₂, -COOH)
- ve většině případů katalyzovány monooxygenázovým systémem CYP 450
 - OXIDAČNÍ REAKCE:
 - hydroxylace (pentobarbital → hydroxypentob.)
 - O-dealkylace (kodein → morfin)
 - oxidace alif. alkoholů (ethanol → acetaldehyd → k.octová)
 - REDUKČNÍ REAKCE (azoredukce - prontosil)
 - HYDROLYTICKÉ REAKCE (hydrolýza esterů - valacyklovir)

Oxidace katalyzované CYP-450

1. Hydroxylace alifatického uhlovodíku
2. Hydroxylace jádra aromatického uhlovodíku
3. Hydroxylace postranního řetězce arom. uhlovodíku
4. Epoxidace dvojně vazby
5. N-hydroxylace aminů
6. Další:
 - Dehalogenace
 - O,N,S - dealkylace
 - Oxidativní deaminace

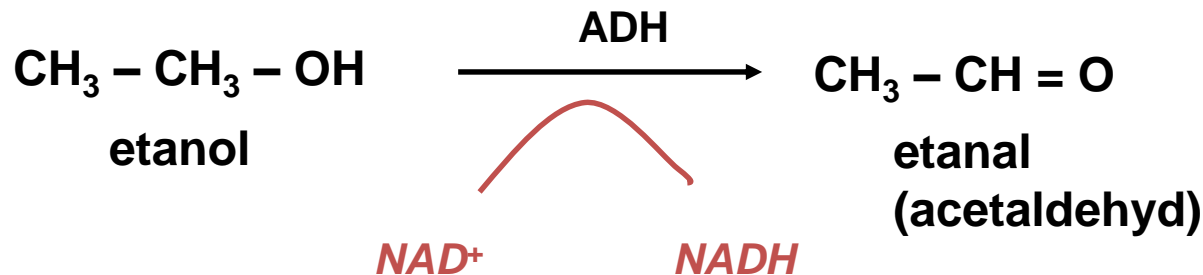
Etanol

Oxidace nekatalyzované CYP- 450

Dehydrogenace alkoholů a aldehydů

Alkohol dehydrogenáza (ADH)

- metaloenzym obsahující Zn^{2+} složený ze dvou bílkovinných podjednotek
- nachází se v cytosolu buněk - především v játrech, dále pak v žaludku, ledvinách, nosní sliznici a děloze
- je nespecifický - katalyzuje oxidace celé řady primárních a sekundárních alkoholů
- dětský plod nemá funkční ADH !!!
- genetický polymorfismus – geneticky podmíněná různá míra funkčnosti ADH

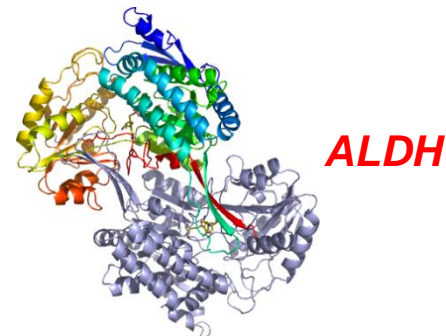
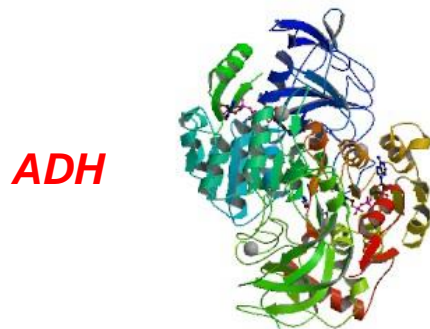
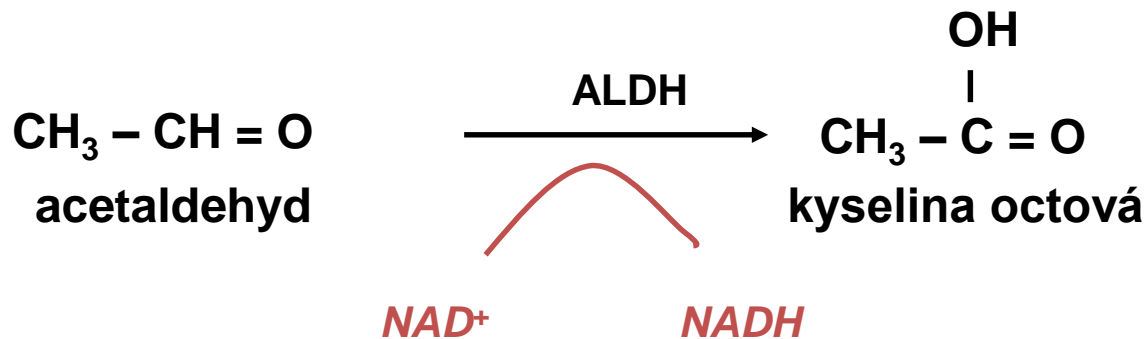


Oxidace nekatalyzované CYP- 450

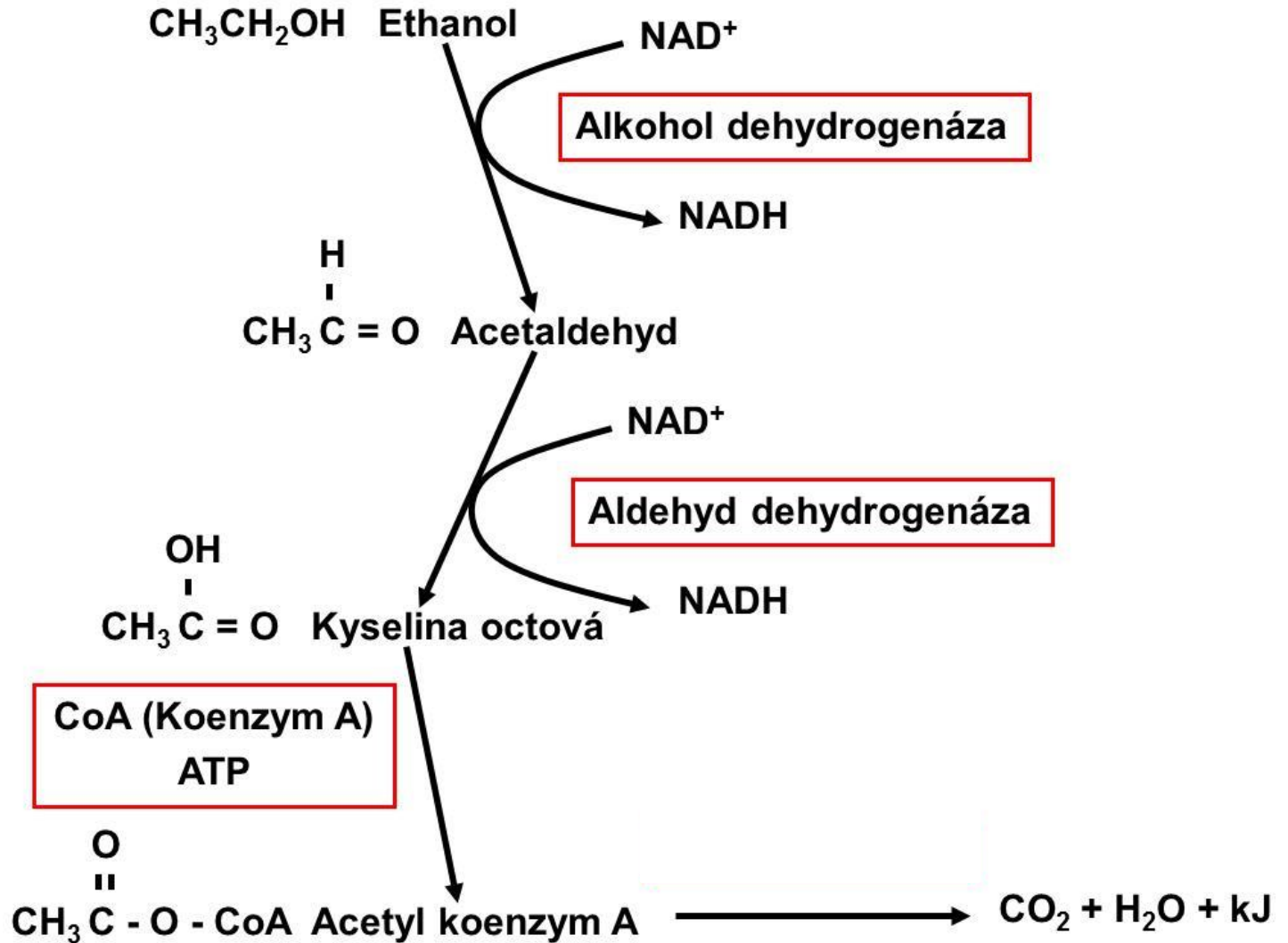
Dehydrogenace alkoholů a aldehydů

Aldehyd dehydrogenáza (ALDH)

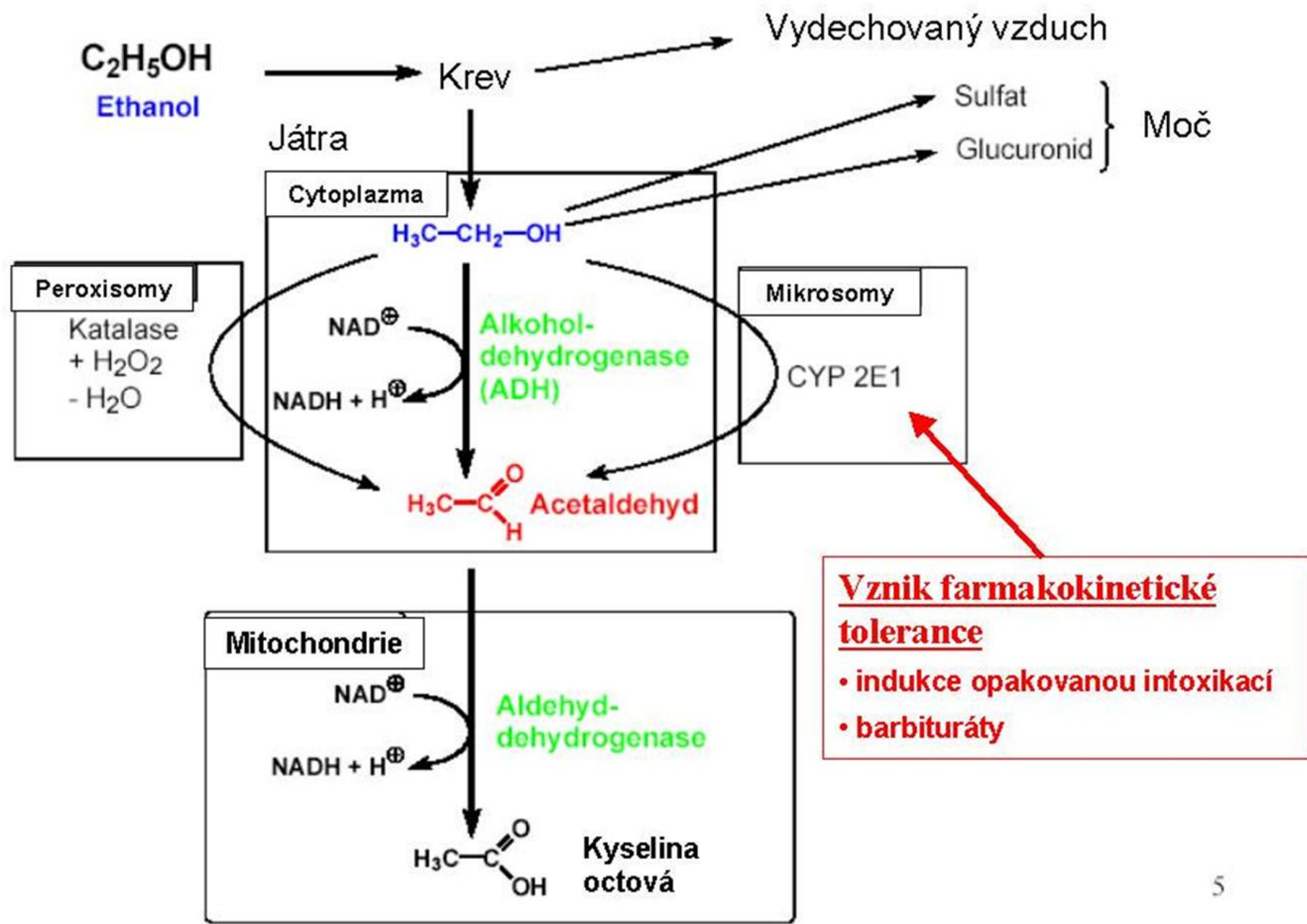
- enzym ADH 1 - cytosol, ADH 2 - mitochondrie - nejvíce jaterní buňky
- genetický polymorfismus



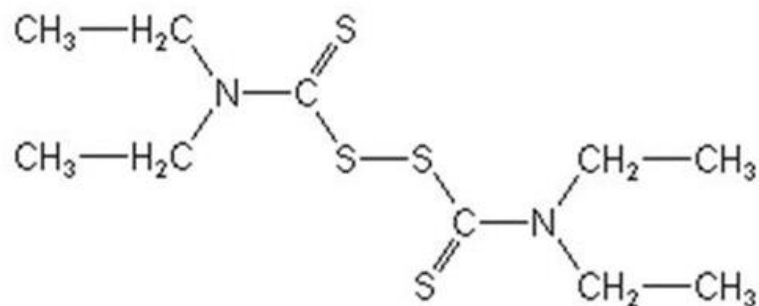
Metabolizmus ethanolu



Metabolismus a eliminace ethanolu

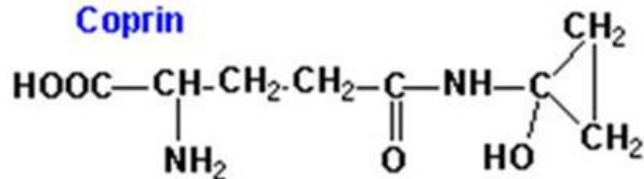


Látky blokující aldehyd-dehydrogenázu se dají použít k léčení alkoholizmu



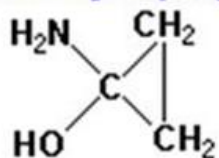
Disulfiram

Coprin

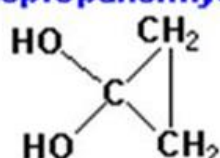


MTJ 26/9.00

1-Aminocyclopropanol

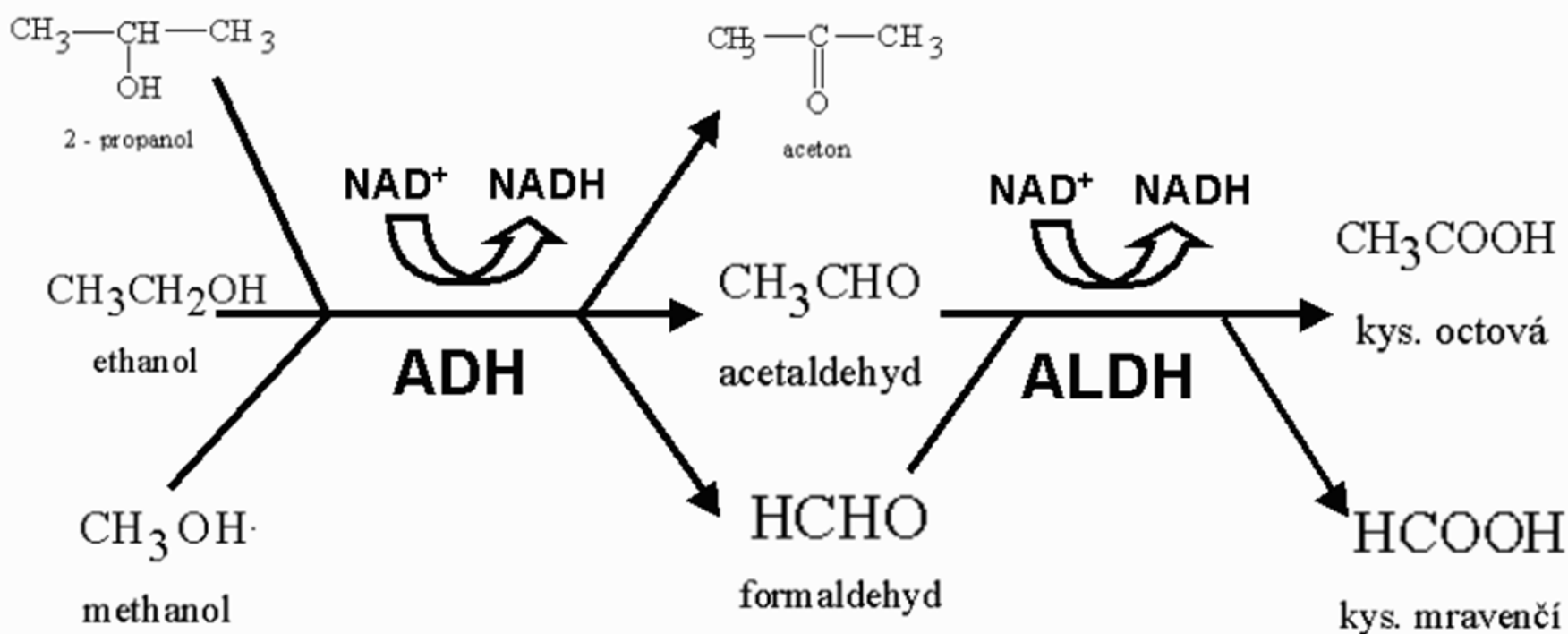


Cyclopropanonhydrat



**Hnojník nebo Hník inkoustový
(*Coprinus atramentarius*)**

Metabolismus alkoholů



- Afinita methanolu k ADH je mnohonásobně nižší, než afinita ethanolu
- Ve směsi se ethanol metabolizuje přednostně
- Ethanol lze proto použít jako antidotum při otravě methanolem

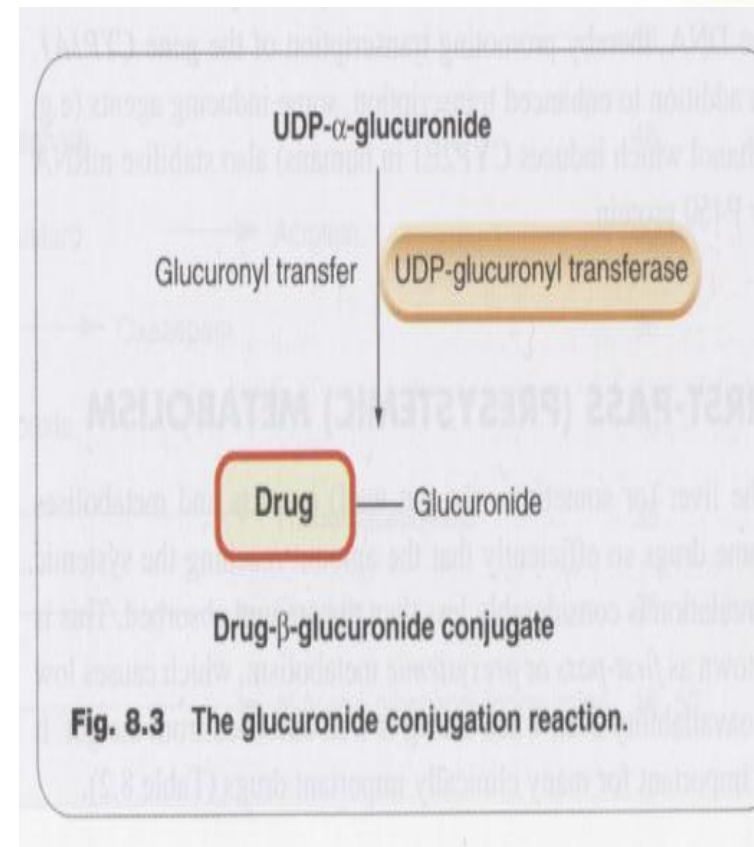
2. fáze biotransformace

2. fáze

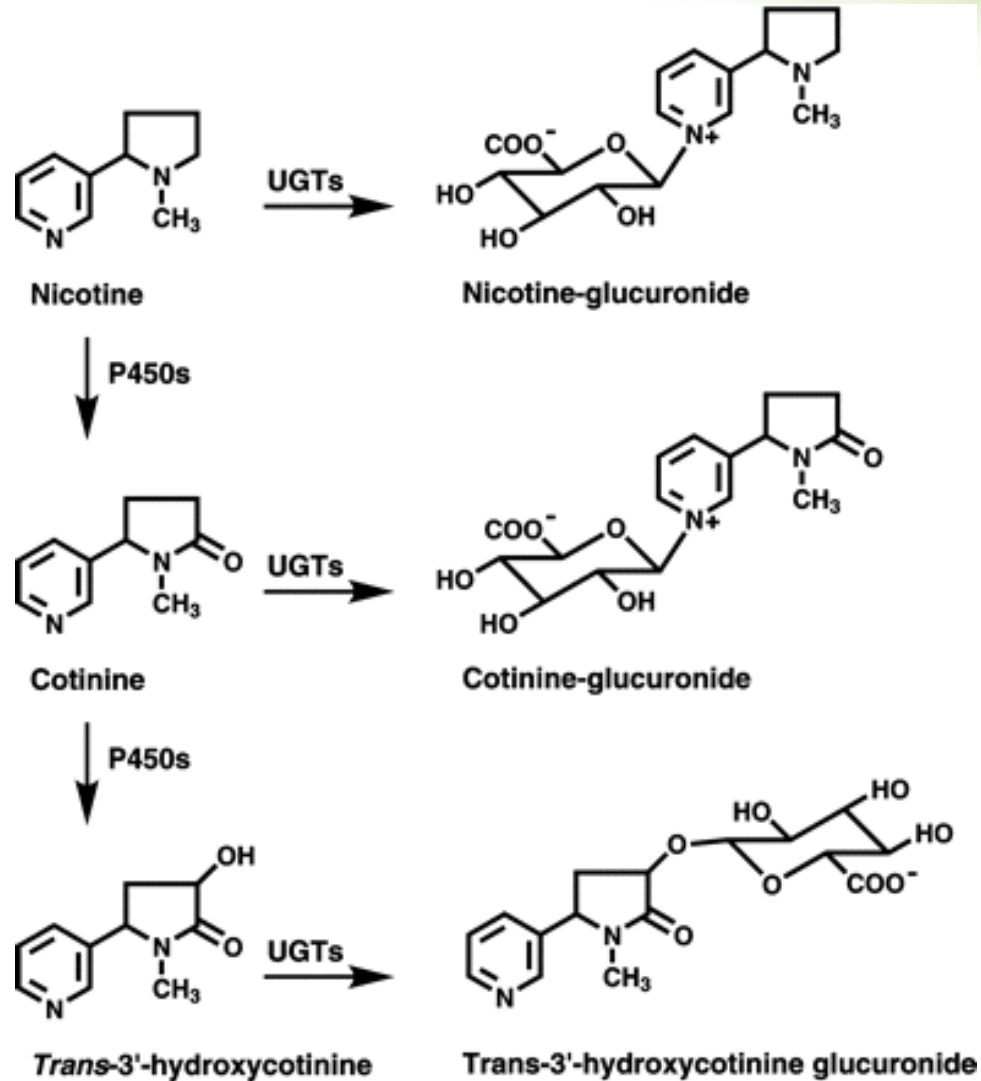
- Konjugace reaktivní skupiny s endogenní molekulou:
 - kyselina glukuronová
 - sulfát
 - glycin
 - acetát
 - glutathion
 - aminokyseliny
- Výsledek:
 - farmakologicky neaktivní hydrofilní metabolitu

Glukuronidová konjugace

- nejčastější metabolická reakce
- substráty obsahují –OH, –NH–, –COOH skupiny
- katalyzuje je *UDP-glukuronyltransferáza* – přítomná v játrech, ledvinách, střevě, plicích
- kofaktorem kys. glukuronová
- metabolity se exkretují do žluči a tenkého střeva odkud se mohou znovu resorbovat



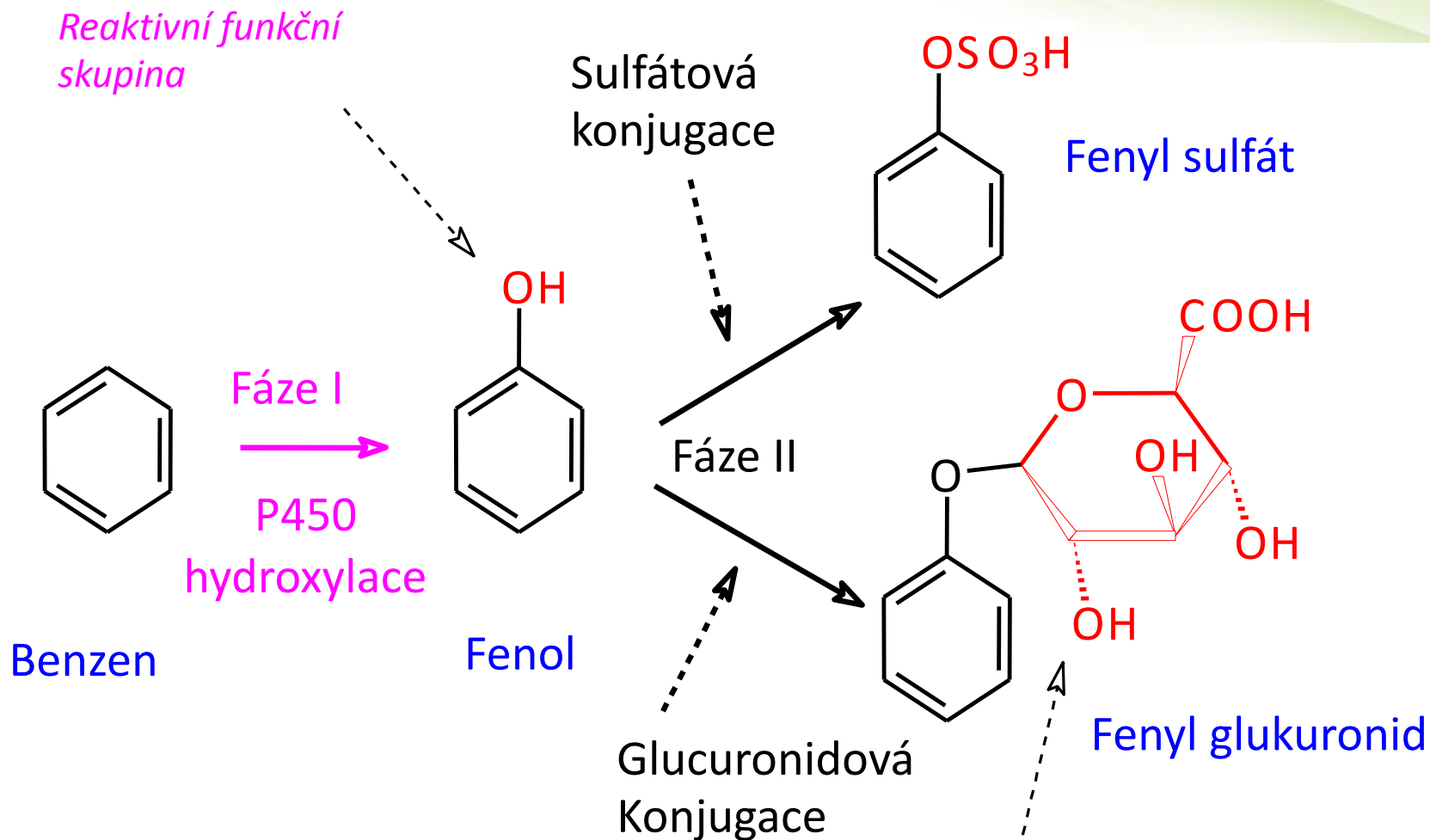
2. fáze



Sulfátová konjugace

- 2. nejdůležitější syntetická reakce
- v cytoplazmě enzym: *sulfotransferáza*
- kofaktorem je 3-fosdoadenosin-5-fosfosulfát (PAPS)
- např. ASA, steroidy, methyldopa

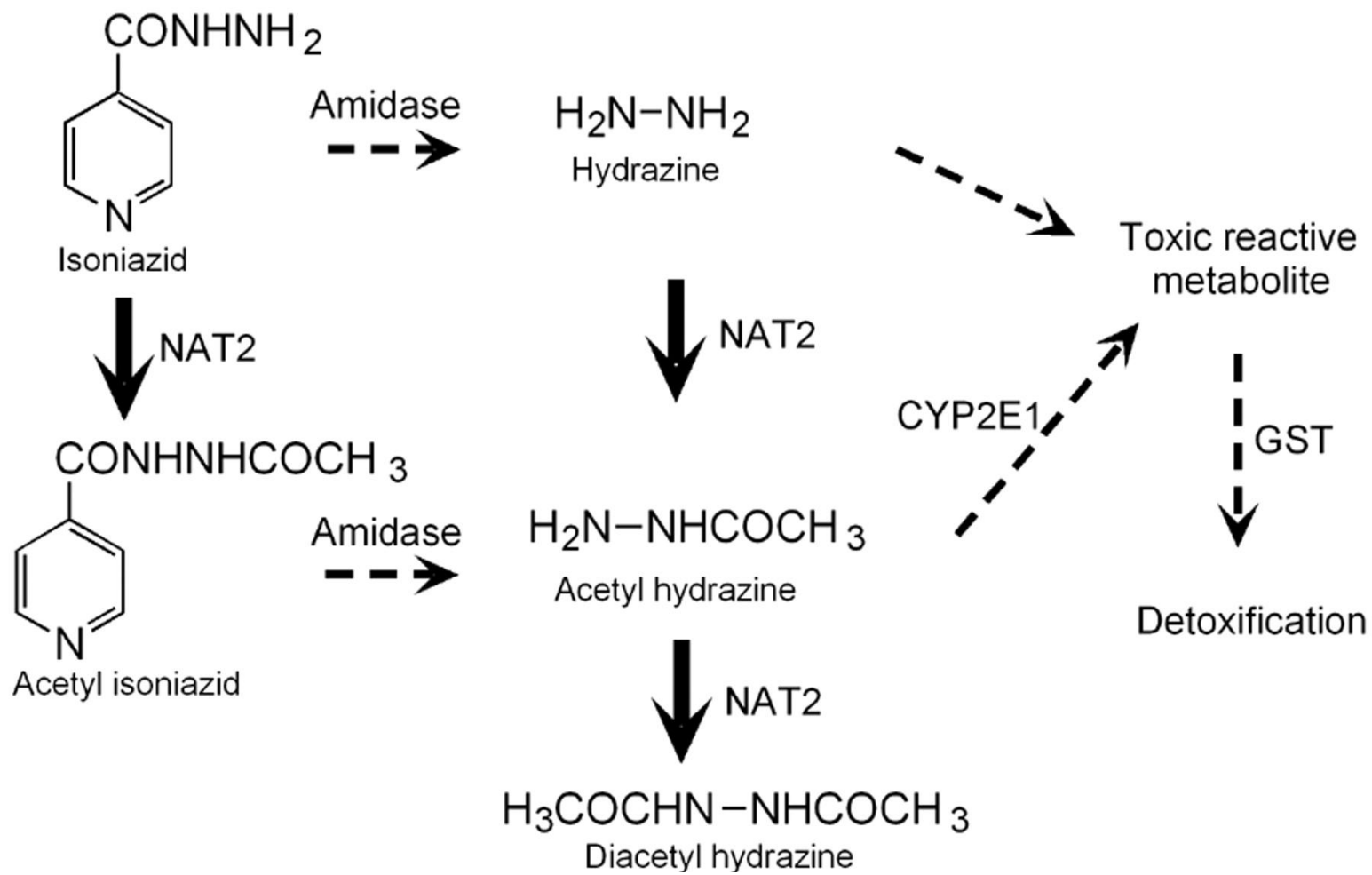
Sulfátová konjugace



Molekulová hmotnost a polarita vzrůstá

N-acetylace

- enzym *N-acetyltransferáza* – přítomná v cytoplasmě mnoha tkání (játra, střevo, ledviny, plíce, placenta)
- kofaktorem je acetyl-CoA
- polymorfismus: rychlí a pomalí metabolizátoři isoniazidu
- acetylderiváty sulfonamidů → nízká rozpustnost ve vodě → precipitace a krystalurie (prevencí dostatečný příjem tekutin)



Methylace, konjugace s glutathionem, aminokyselinami

- METHYLACE: enzym *methyltransferasa* – v cytosolu a ER mnoha orgánů; kofaktorem S-adenosylmethionin; různé N-, O-, S-methyl deriváty tvořeny různými methyltransferázami (COMT)
- GLUTATHIONOVÁ KONJUGACE: typické pro aromatické sloučeniny; N-acetylcysteinové deriváty → exkrece močí
- AMINOKYSELINOVÁ KONJUGACE: zejm. karboxylové kyseliny; konjugace s glycinem, taurinem, glutaminem, ornithinem

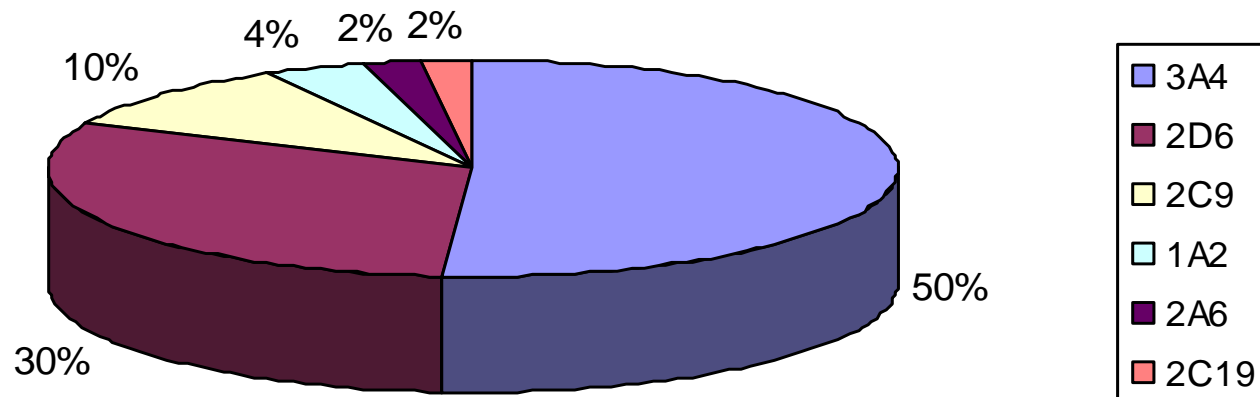
Rodiny P450

- Superrodina cytochromů = CYP
- Rodina (40% shody primární sekvence) – čísla 1 – 118
- Podrodina (55% shody) – písmena A – Q
- Příklad: vlastní protein – číslo: např. CYP 1A1

Metabolismus na cytochromu P450 je indukovatelný.

Rodiny P450

- Jednotlivé cytochromy se podílejí na metabolismu xenobiotik různou měrou
- Asi 50% látek, jejichž metabolismus je znám, přeměňuje CYP 3A4



CYP 3A4

- Nejdůležitější jaterní cytochrom:
 - největší zastoupení
 - metabolizuje nejvíce léčiv:
 - cyklosporin A
 - erythromycin
 - ethinylestradiol
 - testosteron
- Indukce → až selhání léčby, např. orálních kontraceptiv

CYP 3A4

- Existují 3 formy CYP 3A (3A4, 3A5, 3A7)
- Místa: játra, ledvina, tlusté střevo, dvanáctník
- Formy se v průběhu vývoje mění, ale celkový obsah CYP 3A4 je stále stejný
- Ve střevě ve styku s požitými látkami → dva substráty mohou kompetovat → koncentrace jednoho z nich může silně vzrůst

Participation of the CYP Enzymes in Metabolism of Some Clinically Important Drugs

CYP Enzyme	Examples of substrates
1A1	Caffeine, Testosterone, R-Warfarin
1A2	Acetaminophen, Caffeine, Phenacetin, R-Warfarin
2A6	17 β -Estradiol, Testosterone
2B6	Cyclophosphamide, Erythromycin, Testosterone
2C-family	Acetaminophen, Tolbutamide (2C9); Hexobarbital, S-Warfarin (2C9,19); Phenytoin, Testosterone, R-Warfarin, Zidovudine (2C8,9,19);
2E1	Acetaminophen, Caffeine, Chlorzoxazone, Halothane
2D6	Acetaminophen, Codeine, Debrisoquine
3A4	Acetaminophen, Caffeine, Carbamazepine, Codeine, Cortisol, Erythromycin, Cyclophosphamide, S- and R-Warfarin, Phenytoin, Testosterone, Halothane, Zidovudine

Adapted from: *S. Rendic Drug Metab Rev 34: 83-448, 2002*

Factors Influencing Activity and Level of CYP Enzymes

Nutrition	1A1;1A2; 1B1, 2A6, 2B6, 2C8,9,19; 2D6, 3A4,5
Smoking	1A1;1A2, 2E1
Alcohol	2E1
Drugs	1A1,1A2; 2A6; 2B6; 2C; 2D6; 3A3, 3A4,5
Environment	1A1,1A2; 2A6; 1B; 2E1; 3A3, 3A4,5
Genetic Polymorphism	1A; 2A6; 2C9,19; 2D6; 2E1

Red indicates enzymes important in drug metabolism

Adapted from: *S. Rendic Drug Metab Rev 34: 83-448, 2002*

EXKRECE

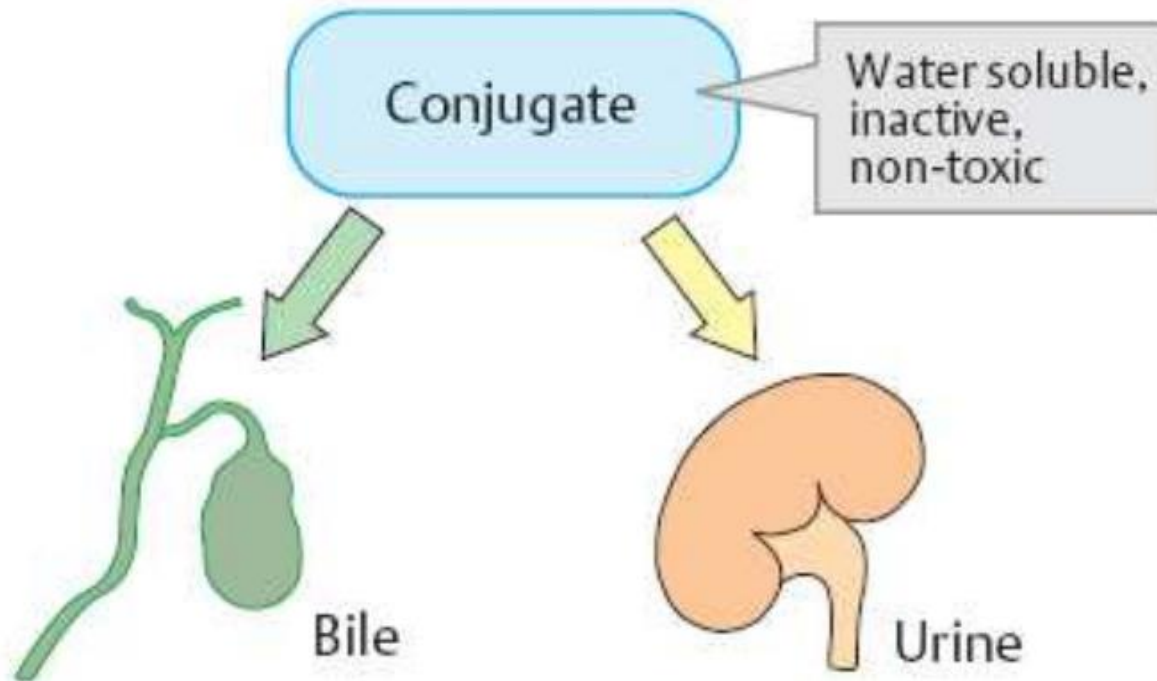
Exkrece

- Probíhá podle obecných zákonitostí přechodu látek přes biologické membrány.
- Exkretční orgány:
 - Ledviny
 - Žluč
 - Sliznice střev
 - Plíce
 - Mateřské mléko
 - Sliny, slzy, potem

endogenní konjugační složka



aktivovaná konjugační složka



Ledviny

- 4 procesy renální exkrece léků:
 1. glomerulární filtrace
 2. aktivní tubulární sekrece
 3. pasivní tubulární reabsorpce
 4. aktivní tubulární reabsorpce

Glomerulární filtrace

- Určující faktory:
 - velikost molekuly (do 20 000 D)
 - vazba na plazmatické proteiny
 - Albumin (68 000 D) → látky na něj vázané neprojdou

Pasivní tubulární reabsorbce

- Vysoce lipofilní léčiva – dobrý prostup, až z 99% **reabsorbována** pasivní difúzí → vylučována ledvinami velmi pomalu
- Vysoce polární léčiva (digoxin, aminoglykosidová atb) prostupují tubuly minimálně → významná renální **exkrece**
- Slabé kyseliny či baze → ionizace a prostupnost tubuly závisí na pH moče (alkalizace moči NaHCO_3 ↑ v elimin. barb., ASA)

Aktivní tubulární reabsorbce

- Ionty, aminokyseliny, glukóza
- kyselina močová – podléhá v proximálním tubulu aktivní sekreci i aktivní reabsorpci

Játra

- Léčiva s menší Mr než albumin snadno dosahují extracelulárního prostoru (endotel jaterních sinusoidů velmi porózní)
- Do hepatocytů pronikají léčiva aktivním transportem a lipidovou difúzí

Enterohepatální oběh

- Některé látky sekretované do žluče se pasivně reabsorbují v tenkém střevě
- Význam - šetření endogenních látek (ŽK, vit. D, B₁₂, k. listovou, estrogeny) a prodlužuje účinek léčiv (morfin, fenytoin, TTC)

Mateřské mléko

- Nejvýznamnější lipidová difúze látek
- pH mateřské mléka cca 7,0 → kumulování slabých bazí (morfin, beta blokátory...)
- Rovněž aktivní transport (ranitidin)
- Kojení může bránit vzniku „abstinenčního syndromu“ u novorozenců matek léčených např. fenobarbitalem

Děkuji za pozornost