

Biotransformace

Tento pojem shrnuje veškeré pochody, které přispívají k odstranění **účinné** formy farmaka z organismu.

Vylučování rozdílnými orgány

- V **moči** a **stolici** se objevuje **největší** množství podané látky anebo jejího metabolitu (do stolice se dostanou vylučováním **žlučí** nebo **střevní** sliznicí)

Ledviny

- Látky **dobře** rozpustné v tucích se špatně vylučují ledvinami - **zpětně** difundují
- Vysoká vazba na bílkoviny způsobuje **pomalou** glomerulární filtraci
- **Poruchy** renální funkce způsobují **zvýšenou** hladinu léčiv v krvi

Vylučování **jinými** cestami

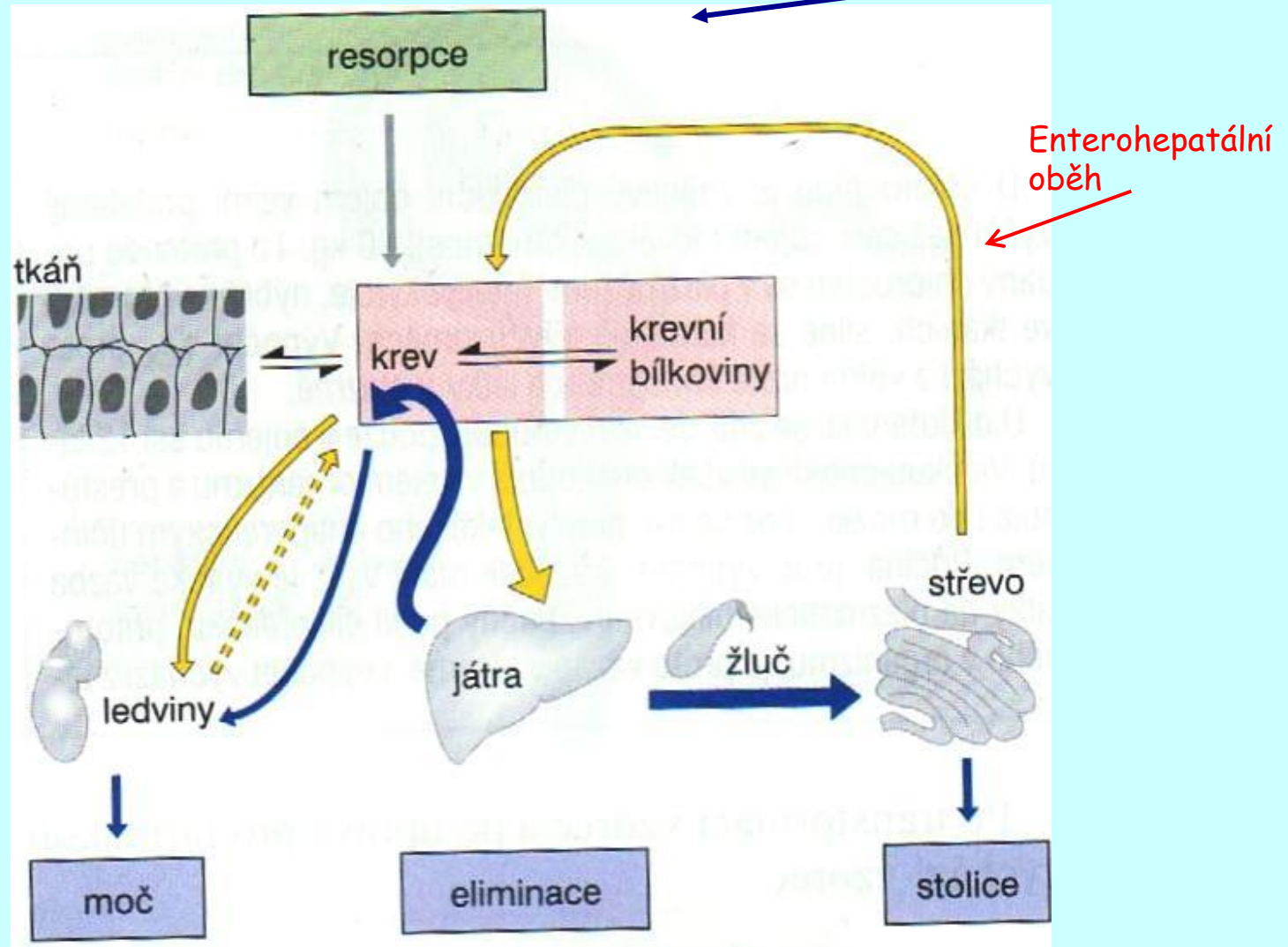
- potem, slinami nebo mlékem nemá zásadní význam

Distribuce a eliminace léčiv

Enterální resorpce



Parenterální podání



Biotransformace léčiv

- Při biotransformaci léčiv a jiných cizorodých látek se tvoří **hydrofilnější**, polárnější metabolity.
- Eliminace léčiv **beze změny**, nebo částečně podléhají **metabolickým** přeměnám a jsou vylučované ve formě metabolitů.
- Biotransformaci **nepodléhají** léčivá polárního charakteru napr.: kyseliny a zásady pokud nejsou silně lipofilní.
- **Biodeaktivace** - vytvořený metabolit nebo konjugát **nemá** žádný farmakologický účinek nebo jen nepatrný.
- **Bioaktivace** - původní léčivo se mění na farmakologicky **aktivní** metabolit, nebo na metabolit **toxický**.

Biotransformační reakce lze rozdělit na dvě fáze:

Reakce I. Fáze

- **mění** se struktura léčiva (např. oxidace, redukce, hydrolýza)

Reakce II. fáze

- **konjugační** reakce, jako např. vazba na kyselinu glukuronovou, kyselinu sírovou nebo na glycín

Enzymy I. fáze biotransformace

Výskyt: v játrech a to v endoplazmatickém retikulu a cytosolu
(mitochondrie, plazmatická membrána)

Oxidasy

- **monooxygenasy** - obsahující cytochromu P-450 - hemoprotein
- flavinové **monooxygenasy** (závislé na NADPH, obsahují FAD)
- **peroxidasy** (glutathionperoxidasy, myeloperoxidasa)

Další enzymy

- alkoholdehydrogenasy (koenzym NADH, oxidace prim. a sek. alkohol ů),
- aldehyddehydrogenasy (oxidace= detoxikace aldehyd ů a ketonů),
- aldoketoreduktasy - AKR (redukce aldehydů a ketonů na alkoholy za účasti NADPH).
- hydrolasy (štěpení substrátu za účasti vody; acetylcholinesterasy, karboxyesterasy, epoxidhydrolasy)

Cytochrom P450 (zkratka **CYP**) označuje rozsáhlou skupinu **hemoproteinových enzymů**, které nesou hemovou prosthetickou skupinu (změnou mocenství Fe katalyzuje oxidoredukční děje)

Název cytochrom P450 - **redukováná** forma enzymu v komplexu s oxidem uhelnatým vykazuje silné absorpční maximum v UV-VIS spektru při 450 nm (tzv. Soretův pík).

Výskyt: ve všech říších životních forem tj. u bakterií, hub, rostlin a živočichů

Mikrosomální enzymy jater, GIT, plic, mozku, placenty, kůže, erytrocytů aj.

Význam u člověka

- Metabolismus některých **endogenních** substrátů ale zejména při metabolismu **cizorodých** látek, tzv. xenobiotik (např. léčiv).
- Primárním úkolem - **oxidace** substrátů a **zvýšení jejich rozpustnosti** (následně dochází k tvorbě konjugátů nebo se vyloučí z organismu).
- Metabolismus více nežli **50 % léčiv**, často jsou také zodpovědné za tzv. lékové interakce.

Metabolicky nejvýznamnější **lidské CYP:**

- **3A4** (metabolizuje např. amiodaron, diazepam),
- **2C9** (metabolizuje ibuprofen)
- **2D6** (tricyklická antidepresiva, kodein).

Cytochromy P450 - názvosloví

Cytochromy P450 se vyskytují v různých formách - izoformách, izoenzýmech.

- Superrodina cytochromů = **CYP**
- Rodina (40% shoda primární sekvence) - **označení číslem 1 - 118**
- Subrodina (55% shody) - písmena **A - Q**
- Vlastní protein - **číslo: např. CYP 1A1**
- Asi **50% látek**, jejichž metabolismus je znám, **přeměňuje CYP 3A4**

Monoxygenasový systém s cytochromem P450

(oxidoreduktasy katalyzují vstup **1 atomu kyslíku** do substrátu)

K redukci cytochromu P450 jsou nutné dva elektrony z hydrogenovaného nikotinamid adenindinukleotid fosfátu NADPH.

Ve tkáních savců nacházíme dva typy elektronových transportních systémů:

1. Mikrosomální typ cytochromu P450 - skládá ze dvou na membránu vázaných komponent:

- **Cytochromu a**

- **NADPH-cytochrom P-450 oxidoreduktázy (CPR- flavoprotein lokalizovaný v membráně ER)**

- má dvě domény - flavin adenin dinukleotid (FAD) doménu a flavin adenin mononukleotid (FMN) doménu.
- FAD přijímá dva elektrony nutné k redukci cytochromu P450 z NADPH a přes FMN je přenáší na enzymatický systém cytochromu P450

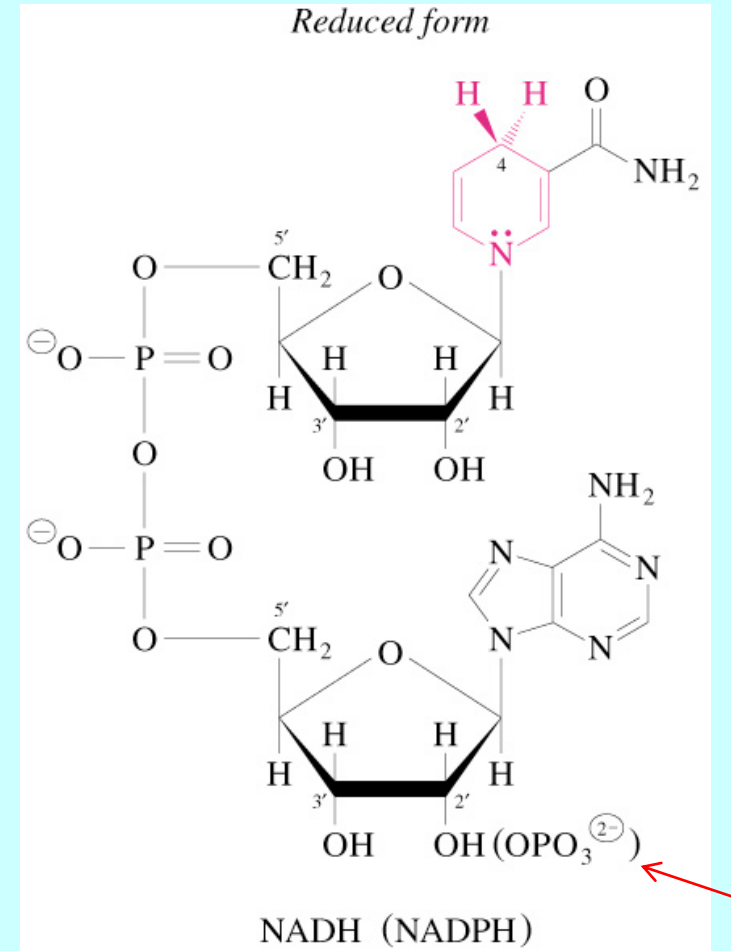
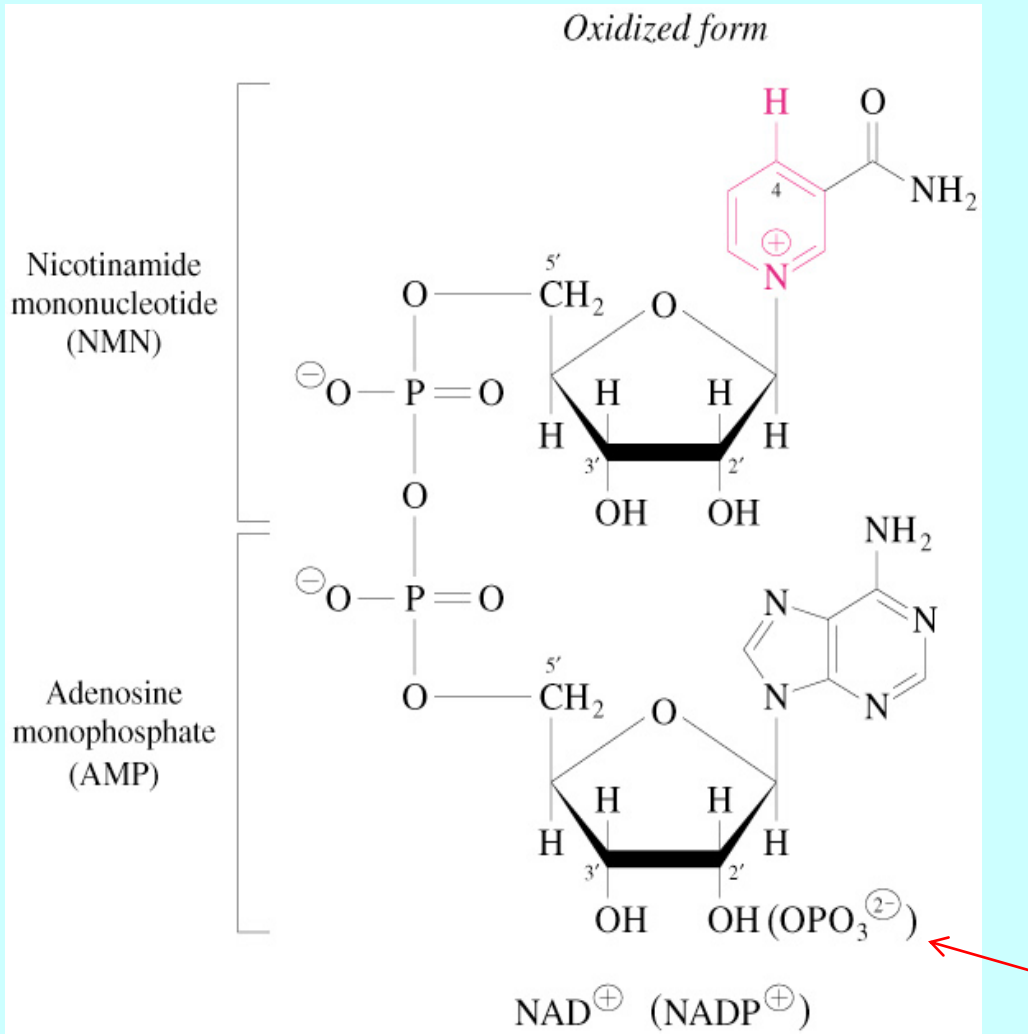
(Mikrosomy vznikají z EPR po homogenizaci - mikrosomy **hrubé** se věnují syntéze bílkovin, **hladké** mikrosomy jsou bohaté na enzymy odpovědné za metabolismus léčiv)

2. Typ nacházíme v mitochondriích

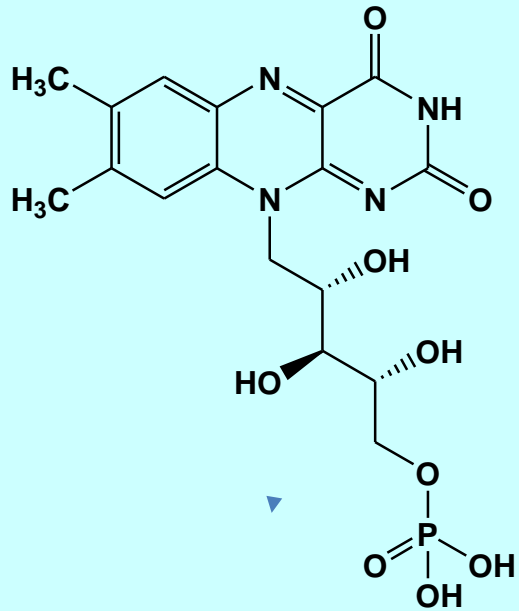
Transferu elektronů na mitochondriální cytochrom P450 pomáhají dvě **rozpustné** sloučeniny:

- **flavoprotein** spojený s **NADPH**,
- a protein **ferredoxinového** typu, s atomy síry a železa, nazvaný **ferredoxin**.

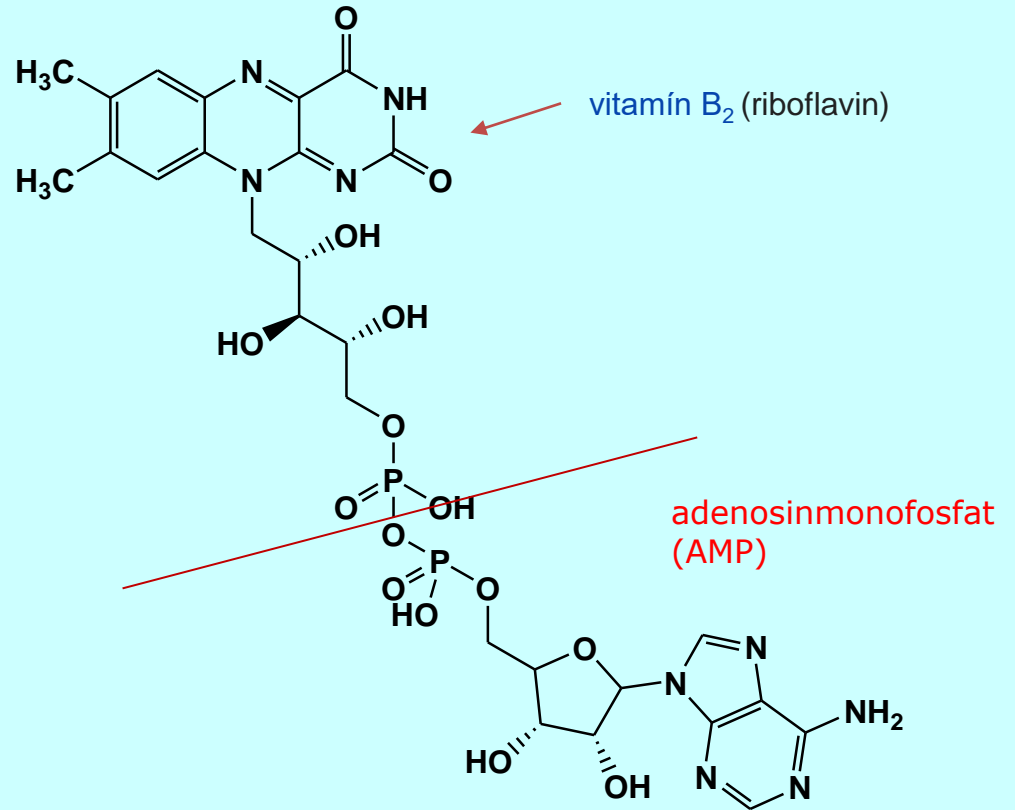
NAD⁺, NADP⁺, NADH, NADPH



FMN



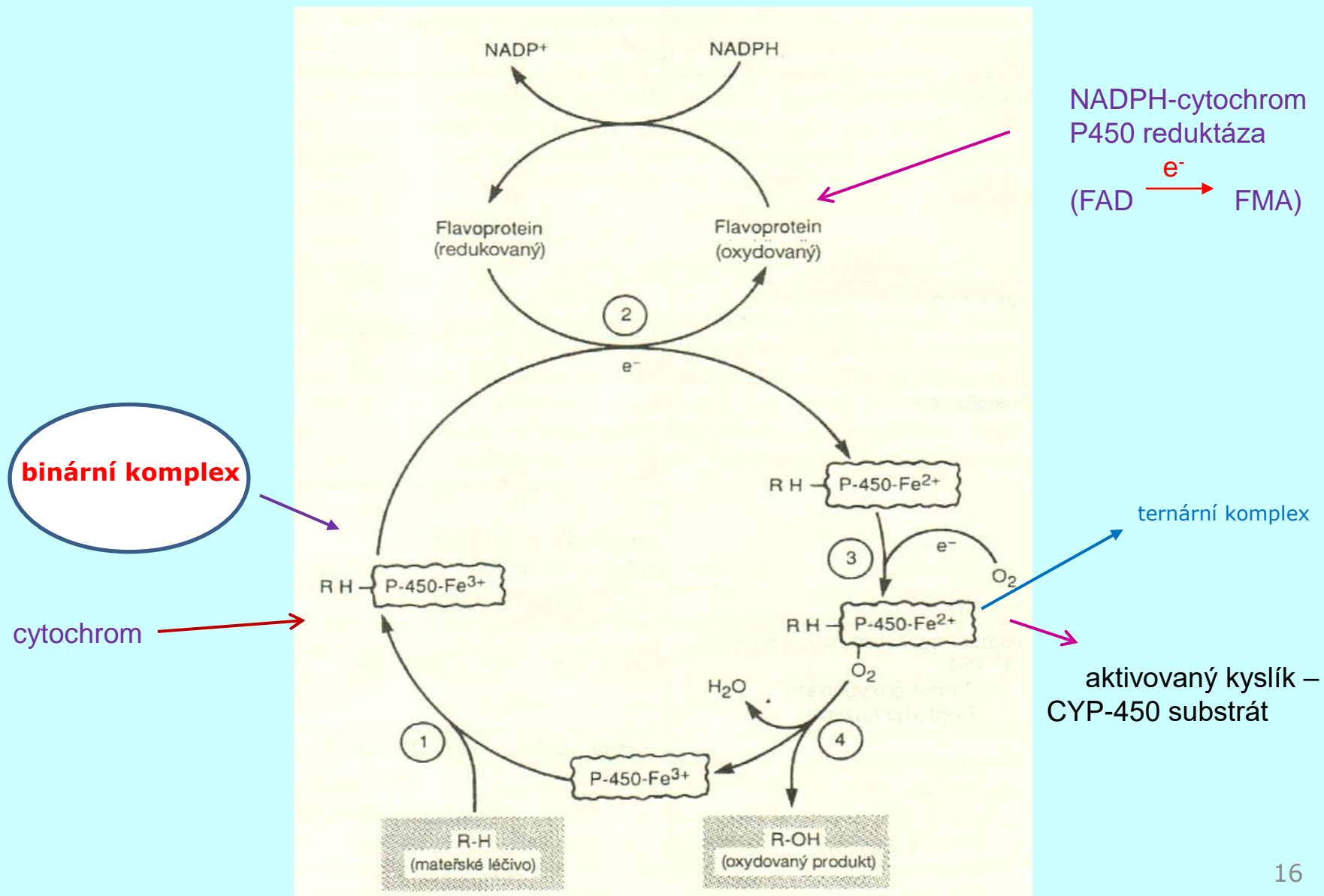
FAD



Oxidativní cyklus

1. Oxidovaný (Fe^{3+}) cytochrom P-450 se **naváže** na substrát-léčivo za vzniku binárního komplexu.
2. NADPH **dodává** elektron flavoprotein reduktáze (**NADPH-cytochrom P450 reduktáza**), která **redukuje** komplex oxidovaného cytochromu P-450 a léčiva.
3. **Druhý** elektron z NADPH pomocí téže flavoprotein-reduktázy **redukuje** molekulární kyslík a vytvoří se komplex „**aktivovaný kyslík**“-cytochrom P-450-substrát.
4. V tomto komplexu se pak „aktivovaný“ kyslík **převádí** na substrát a vzniká **oxidovaný** produkt.

Cyklus cytochromu P450 při oxidacích léčiv

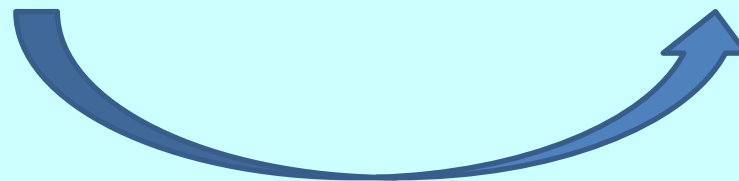


Hydroxylace - cytochrom P450



oxidovaný
cytochrom P450

redukováný
cytochrom P450

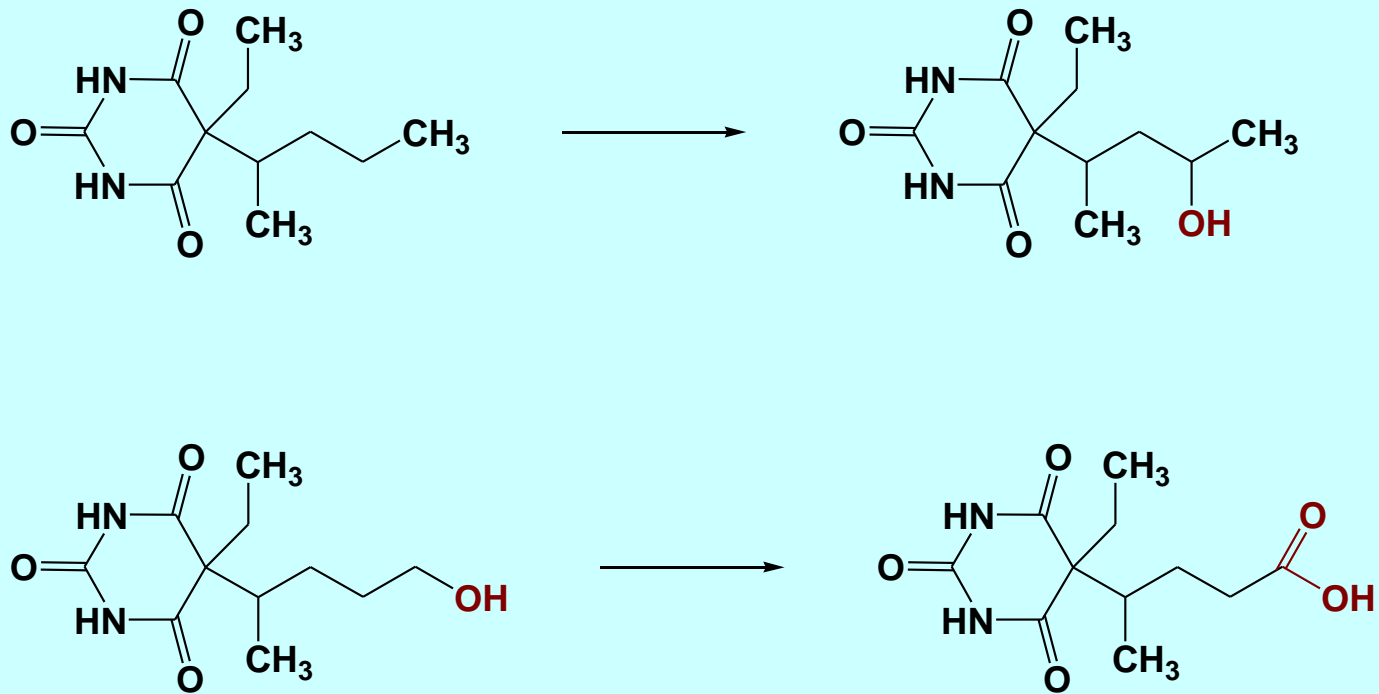


Oxidace

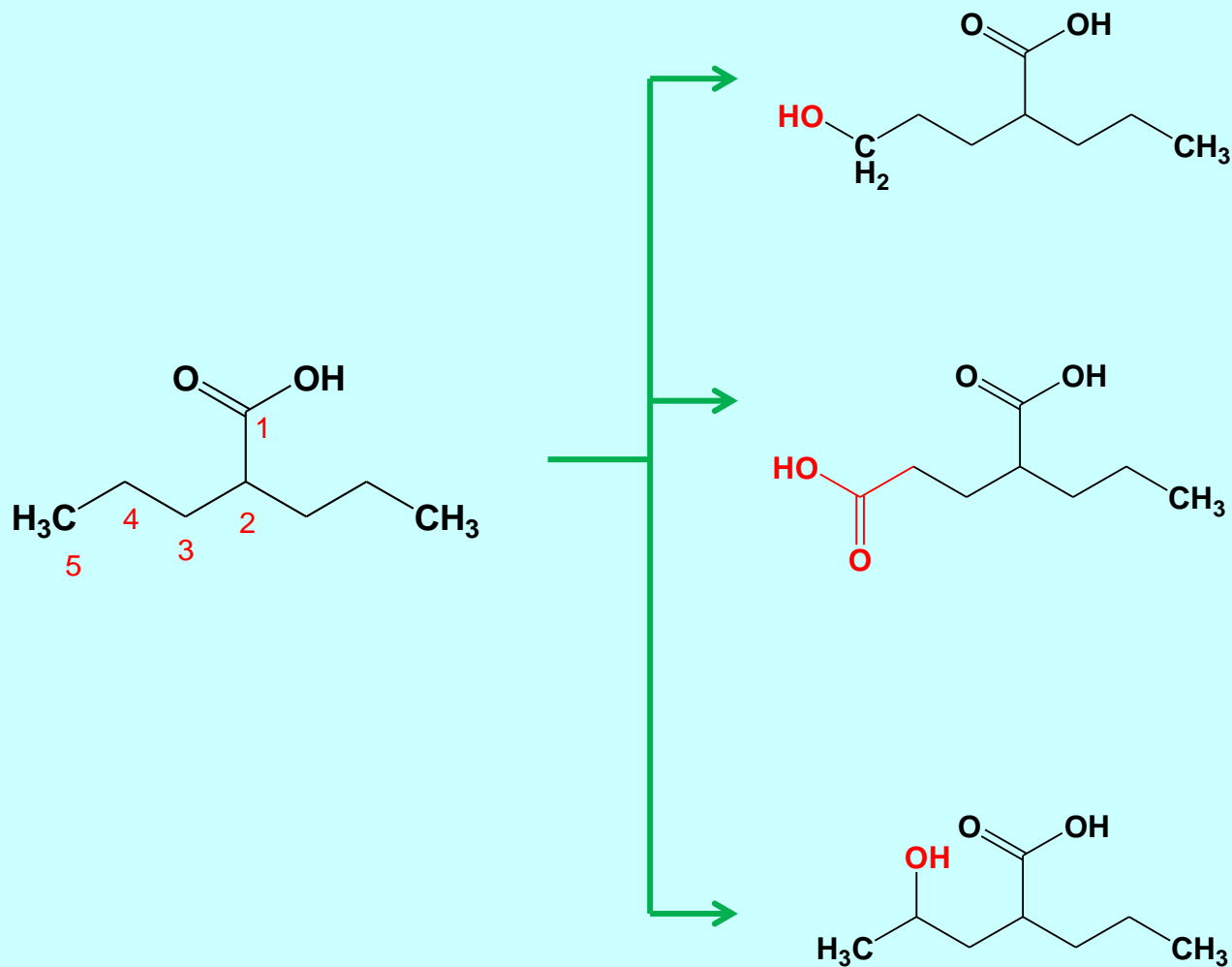
1) Oxidace alkylsloučenin

- Oxidace v **postranním** alkylovém řetězci (sloučeniny alifatického aromatického nebo heterocyklického typu).
- Látka s **nerozvětveným** řetězcem se oxiduje snadno, schopnost oxidace ↓ s **rozvětvením** alkylového řetězce.
- Oxidace zpravidla začíná na **posledním** atomu C a přes **hydroxysloučeninu** postupuje až na **kyselinu**

Pentobarbital



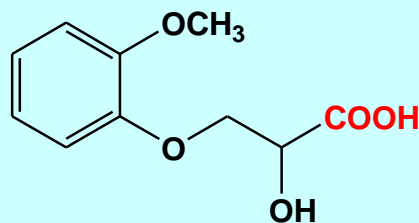
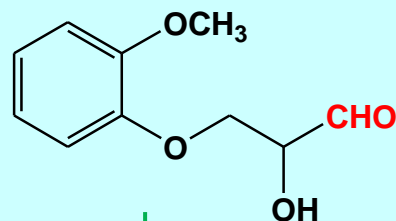
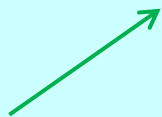
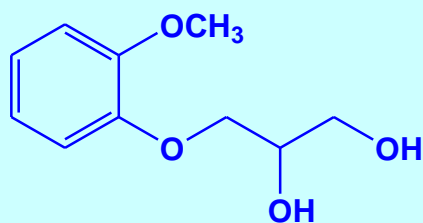
Valproová kyselina - blokuje v CNS NMDA, iontové kanály Ca^{2+} , Na^+ a K^+)



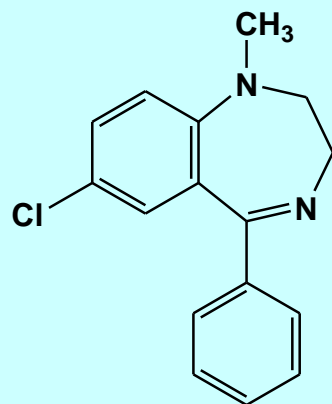
2) Oxidace hydroxysloučenin

- Oxidace přes aldehydy až na kyseliny (-CHO, -COOH)
- Terciární alkoholy **nepodléhají** metabolismu - **přímá** tvorba glukuronových konjugátů

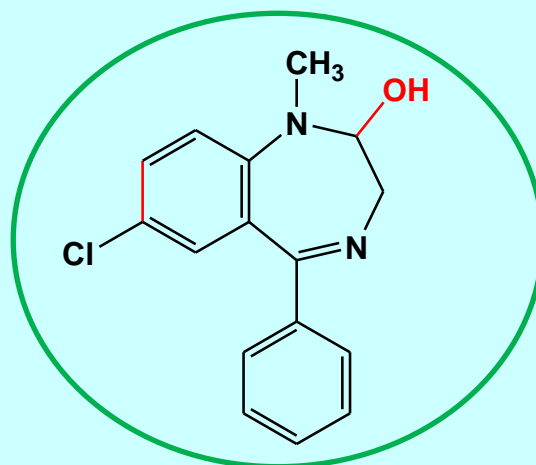
guaifenesin



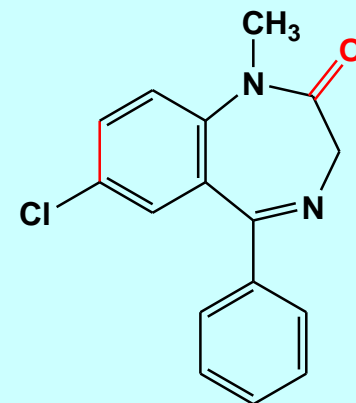
Medazepam



2-hydroxymedazepam



Diazepam

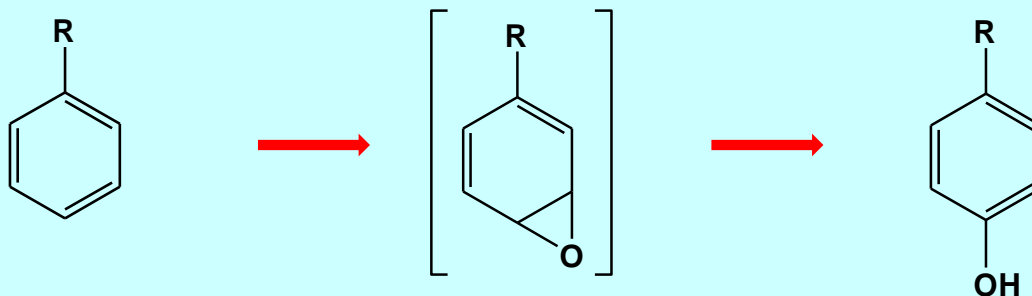


MÚ: agonistický efekt na receptorový podtyp $GABA_A$, alostericky zvyšuje účinnost $GABA$, zvyšuje transmembránový vstup Cl^- iontů do příslušné buňky - **hyperpolarizace**

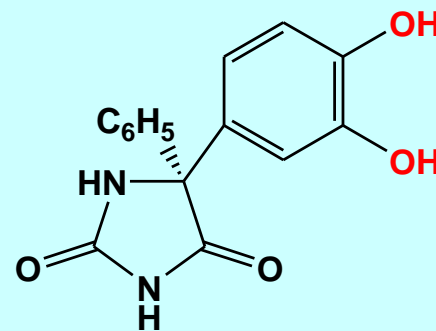
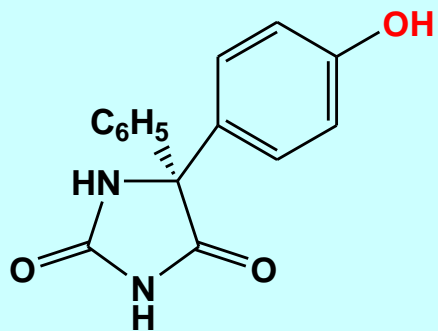
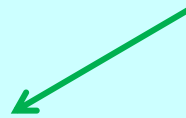
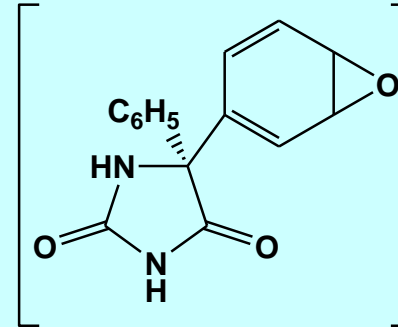
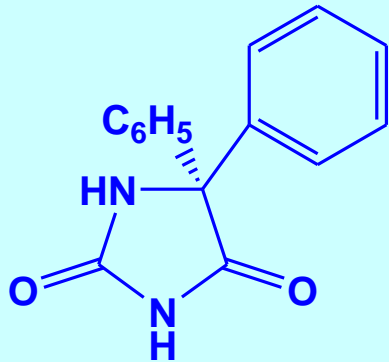
Indikace: anxiolytika, poruchy spánku

3) Oxidativní hydroxylace aromatických kruhů a heterocyklických sloučenin

- Vznikají látky **fenolického** charakteru za přítomnosti různých hydroláz.
- Hydroxysloučeniny se eliminují jako **konjugáty** s kyselinou glukuronovou nebo sírovou - jsou dobře rozpustné ve vodě



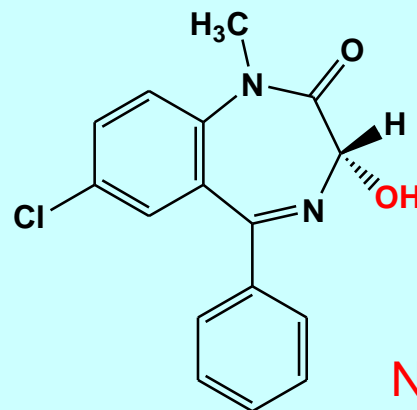
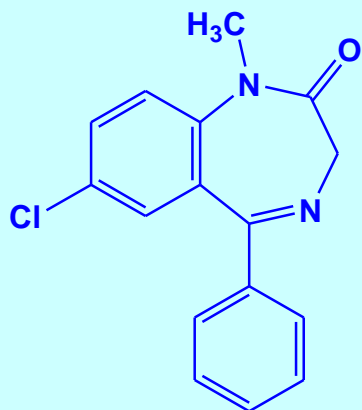
Fenytoin - antiepileptikum



4-hydroxyfenytoin

katechol metabolit

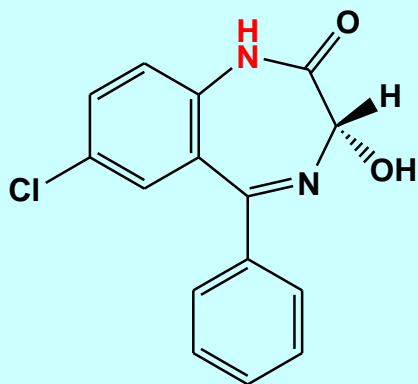
Diazepam - sedativum, hypnotikum, anxiolytikum



N-methyloxazepam



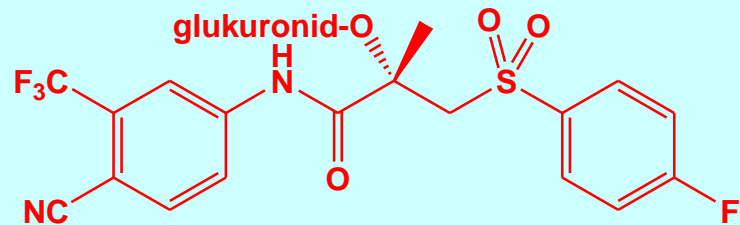
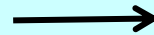
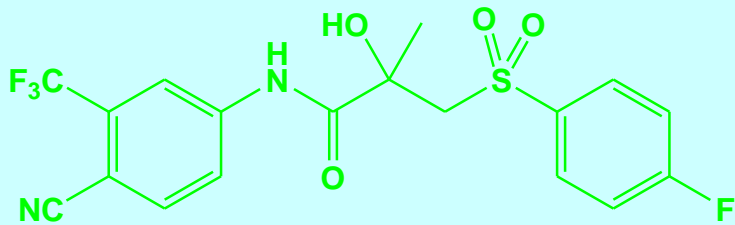
Stereoselektivní N-demethylace



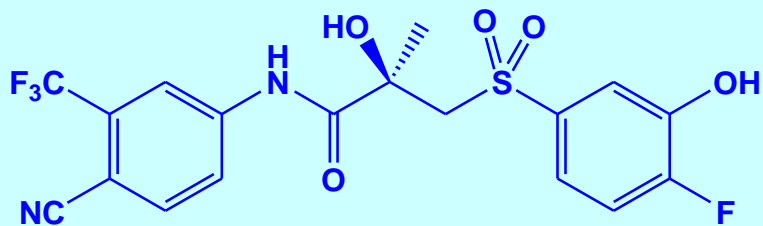
(S)-(+)-oxazepam (úzkost, nespavost, myorelaxace)

Biotransformace diazepamů probíhá s 90% **stereoselektivitou**

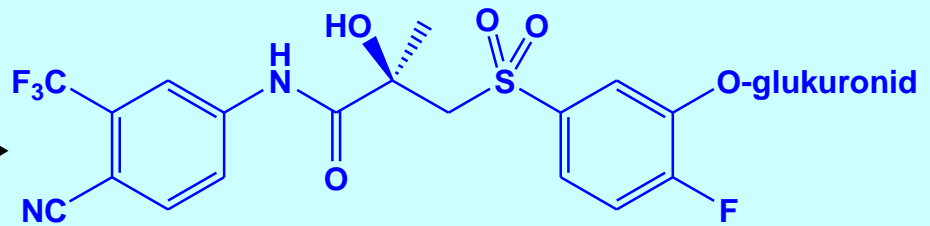
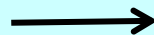
Bikalutamid (\pm)



(S)-Bikalutamid glukuronid



(R)-Hydroxybikalutamid



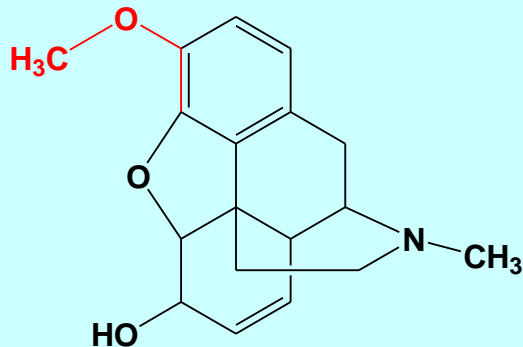
(R)-Hydroxybikalutamid glukuronid

Indikace: antiandrogen, terapie karcinomu prostaty

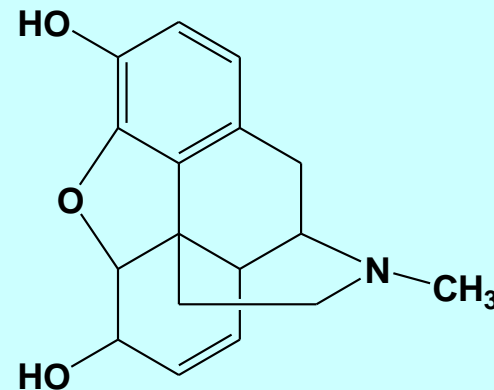
4) Oxidace zahrnující systém C-heteroatom

- Oxidativní O- dealkylace
- Ethers - poměrně stabilní sloučeniny, jednoduché látky se vylučují beze změny.

Kodein

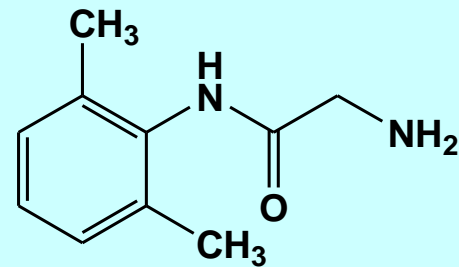
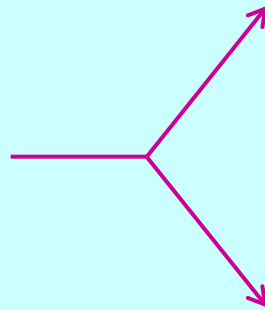
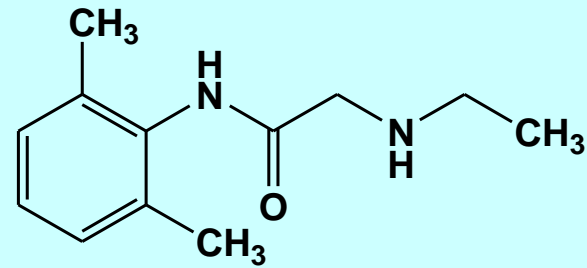
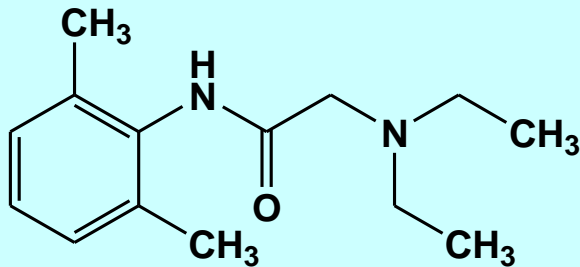


Morfin

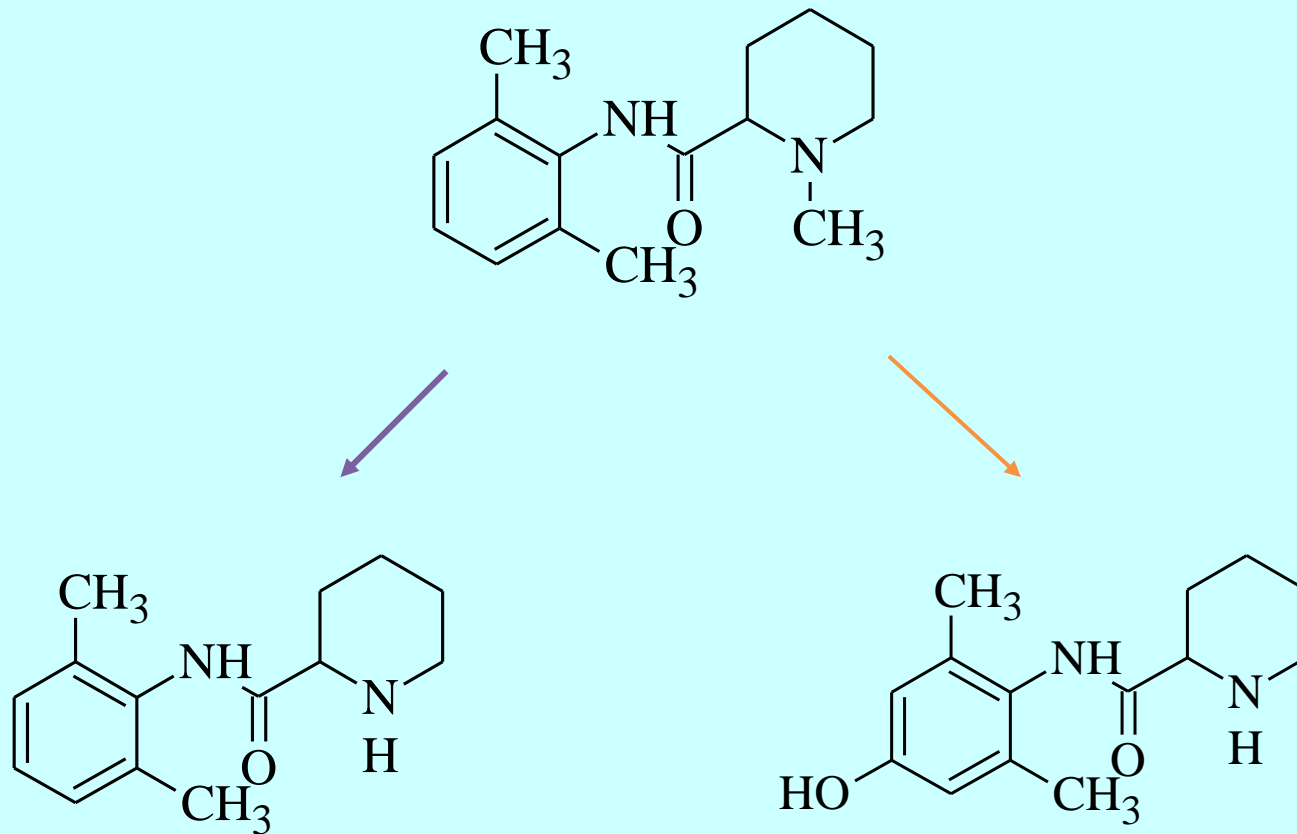


Oxidativní N-dealkylace terciárních alifatických a alicyklických aminů

Lidokain



Mepivikain



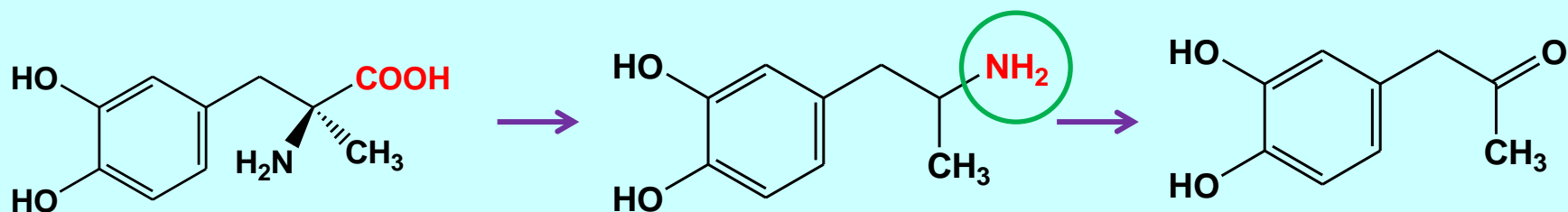
Oxidativní deaminace primárních aminů nebo N-oxidace

- **Specifický enzym MAO** (endogenní neurotransmitery nebo podobné syntetické sloučeniny).

(S)-(-)-methyldopa

(S)-(+)-methyldopamin

3,4-dihydroxyfenylaceton

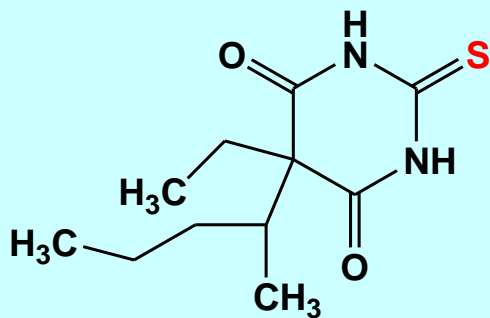


Indikace: terapie hypertenze (např. v graviditě).

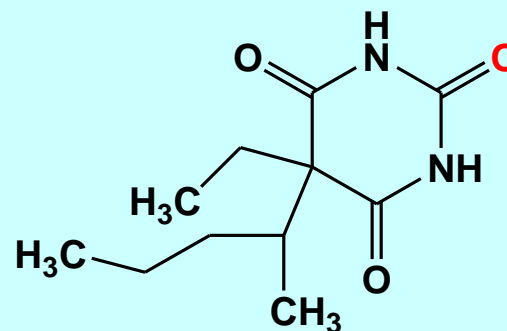
Oxidace zahrnující systém C-S

Oxidativní desulfurace - dochází k náhradě atomu **S** za **O** v molekule léčiva

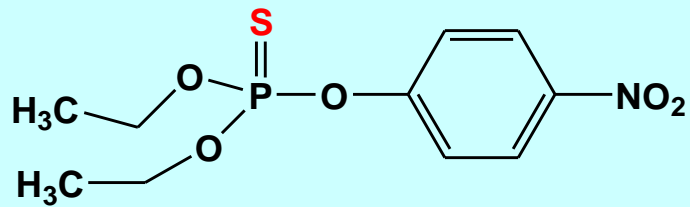
Thiopental



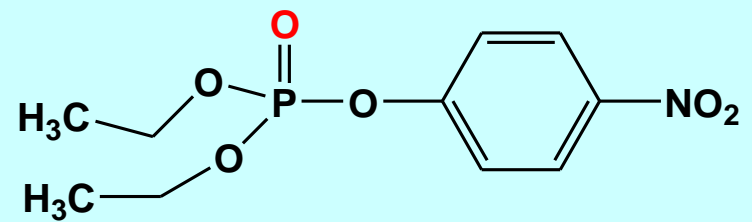
Pentobarbital



Parathion



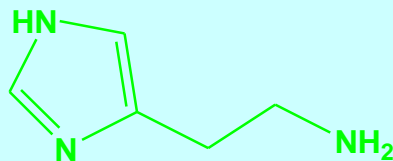
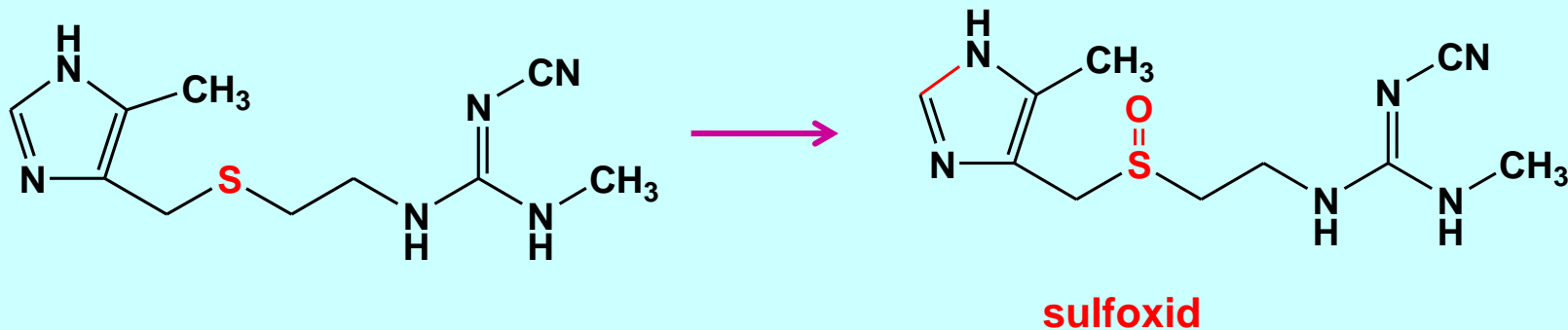
Paraoxon



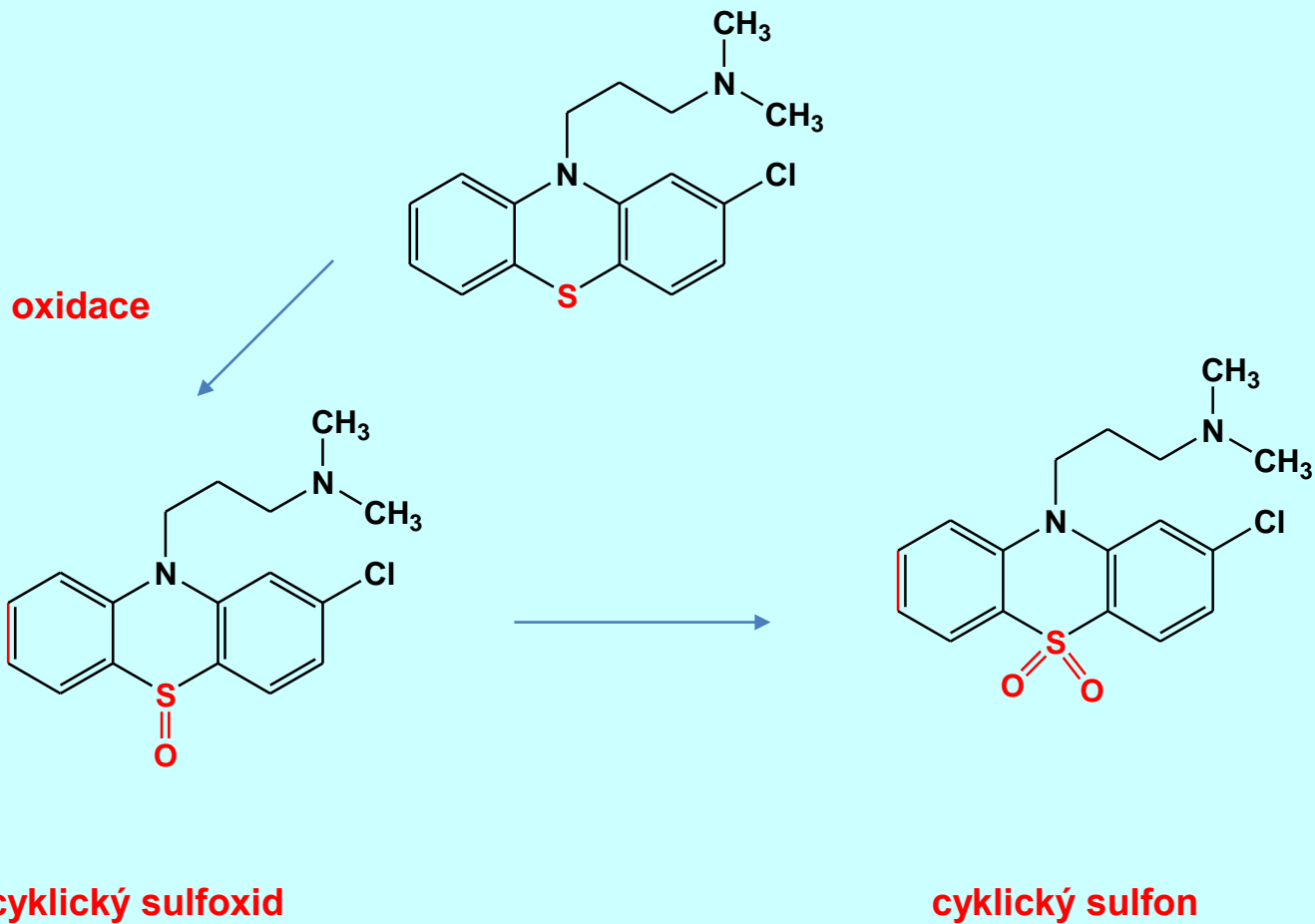
Indikace: insekticida, paraoxon v terapii glaukomu

Oxidace sulfidů na sulfoxidy

Cimetidin - H₂-antihistaminikum



Chlorpromazin – antipsychotikum



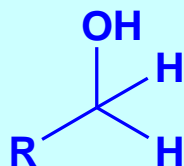
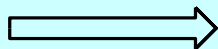
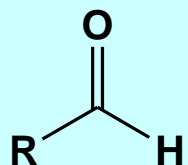
Redukční reakce

- Redukční procesy mají **významné** postavení v metabolisme sloučenin obsahujících: **karbonyl-**, **nitro-** a **azo-funkční skupiny**.
- Patří sem i **méně** časté redukce *N-oxidů* na terciární aminy a redukce **sulfoxidů** na **sulfidy**

Redukce aldehydů a ketonů

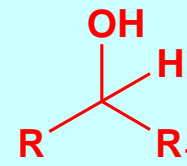
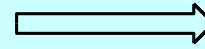
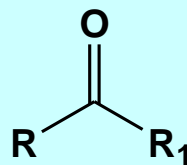
aldehyd

primární alkohol

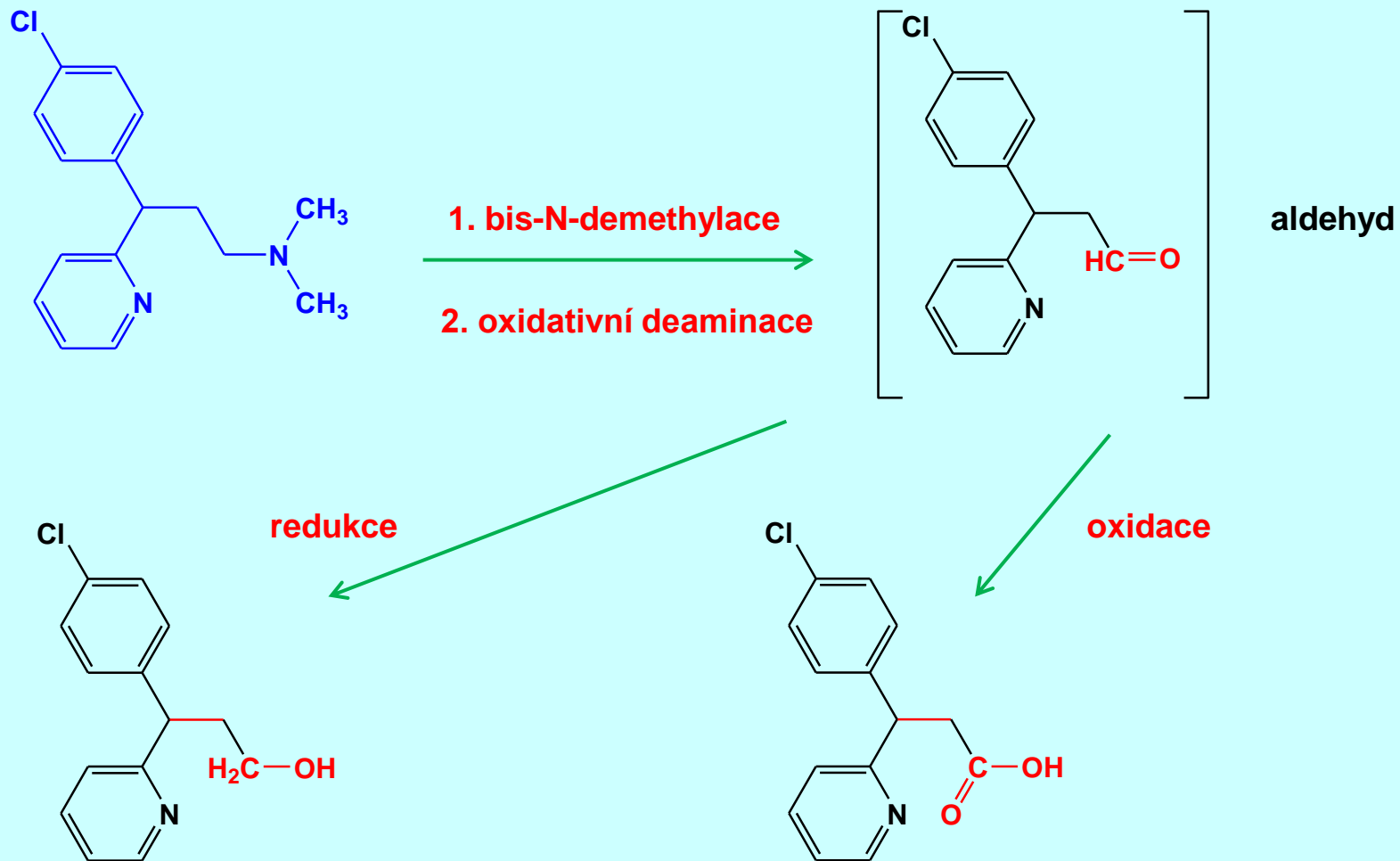


keton

sekundární alkohol

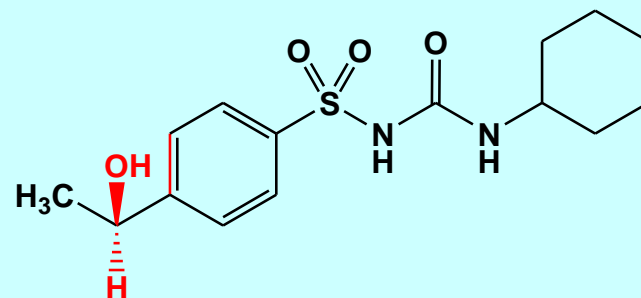
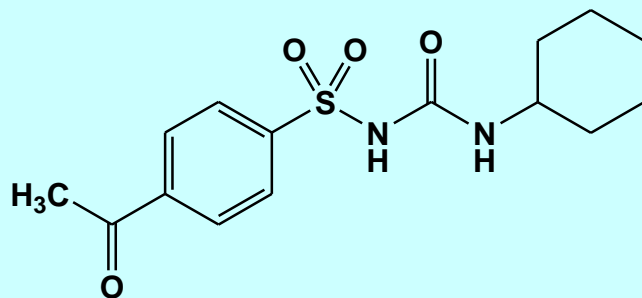


Chlorfeniramin - H₁-antihistaminika



Stereoselektivita redukce keto sloučenin

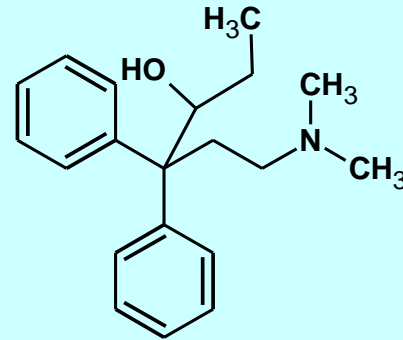
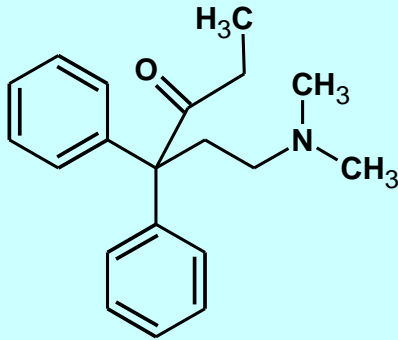
Acetohexamid - antidiabetikum II typu



(S)-(-)-hydroxyhexamid

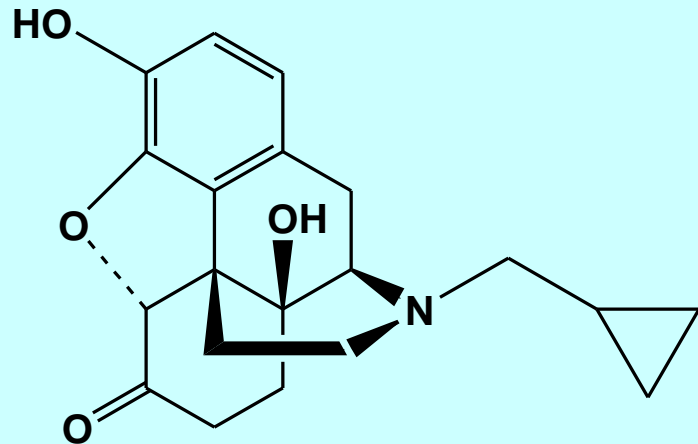
Metabolit je stejně účinný jako mateřská látka

Methadon (levotočivý izomer je účinnější)

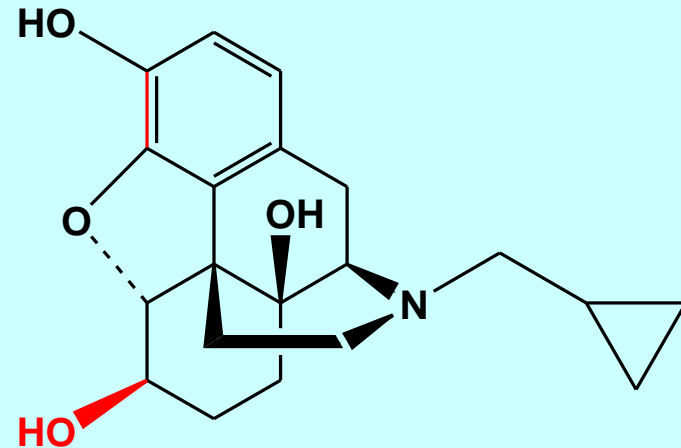


Indikace: je méně návykové analgetikum než morfinany, používá se k potlačení abstinenčních příznaků při odvykací léčbě u morfinistů

Naltrexon



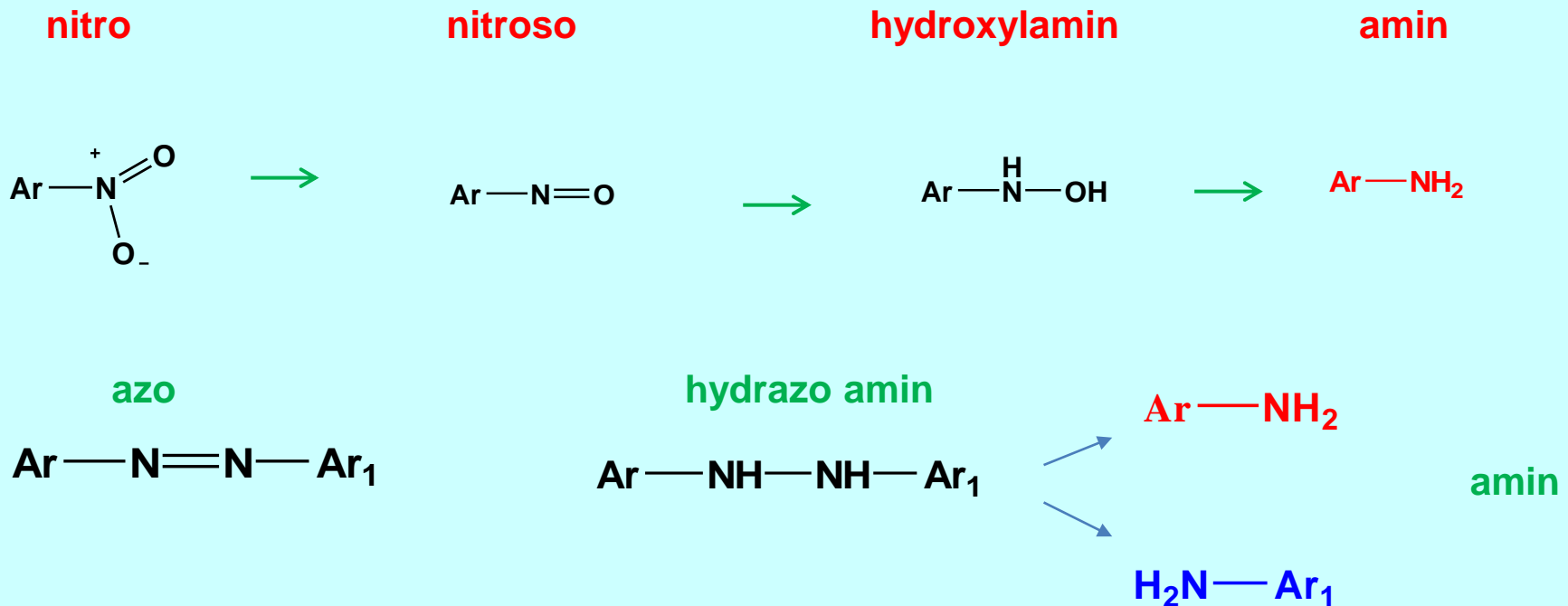
6 α -Naltrexol



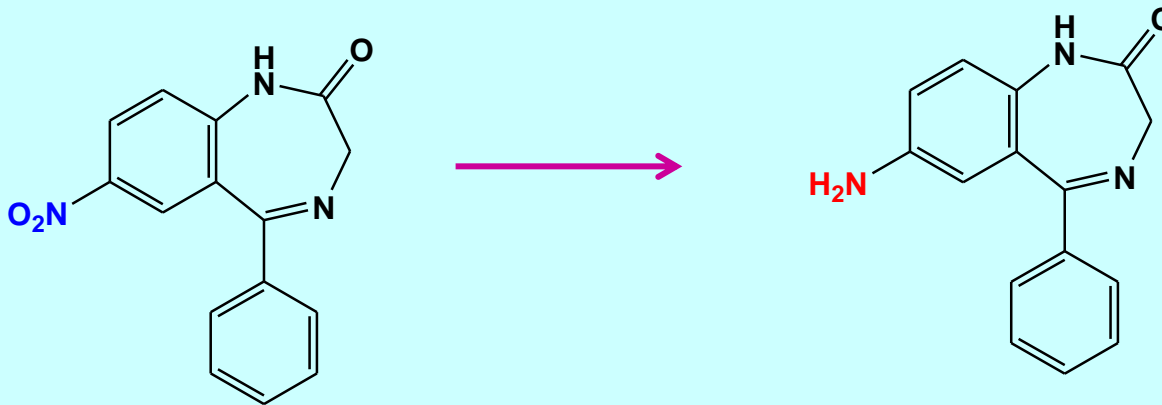
Naltrexol: byl testovaný na obstipační aktivitu jako antagonist, ale studie se zastavili

Redukce nitro a azosloučenin

- zabezpečují nitro **reduktasy**, jsou závislé od NADPH a jsou přítomny v jaterních mikrozomech



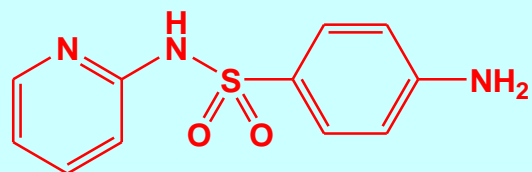
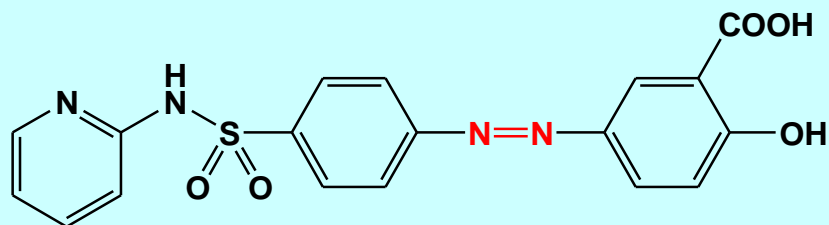
Nitrazepam (II. generace)



MÚ: interakce s $GABA_A$ -receptory chloridových kanálů - **hyperpolarizace**.

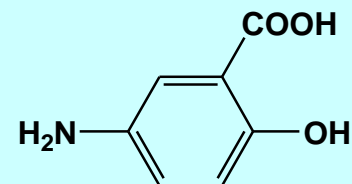
Indikace: hypnotika, sedativa, anxiolytika, některé vykazují významné myorelaxační a antikonvulsivní účinky.

Sulfasalazin - antibakteriální chemoterapeutikum



Sulfapyridin

+



Indikace: zánětlivé chronické onemocnění: ulcerózní kolitida a Crohnová nemoc a revmatoidní artritida

Hydrolýza esterů a amidů

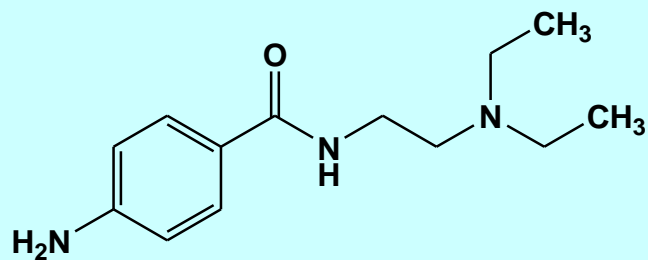
Hydrolytické reakce jsou **nejčastější** reakce k **další** detoxikaci xenobiotik.

Zabezpečují **nespecifické** esterasy, amidasy (v játrech, ledvinách a střevě), jakož i pseudocholinesterasy přítomné v plazmě.

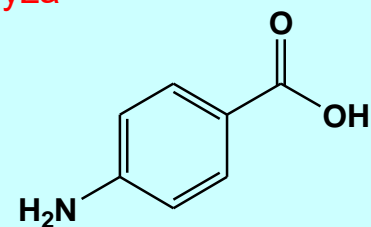
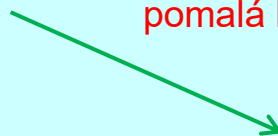
Metabolické produkty:

karboxylové kyseliny, alkoholy, fenoly a aminy - jsou **polárnější** sloučeniny, jsou **citlivější** na konjugační reakce.

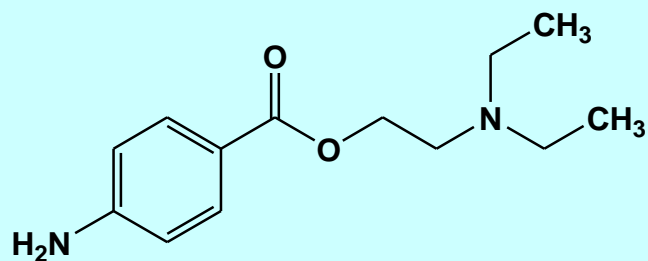
Prokainamid



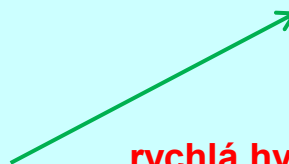
pomalá hydrolýza



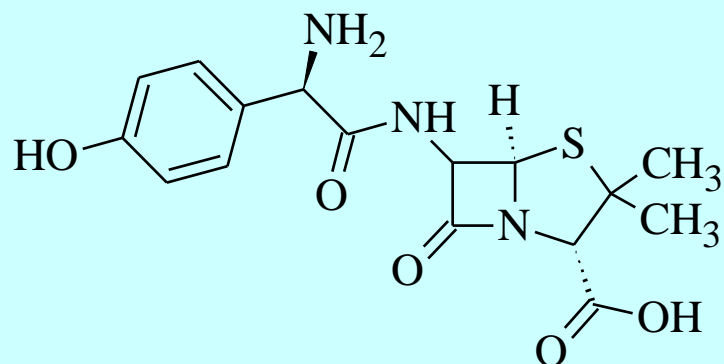
Prokain



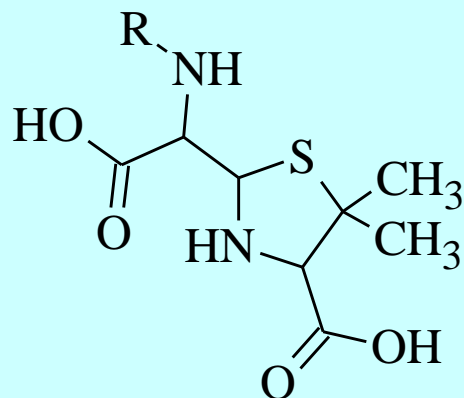
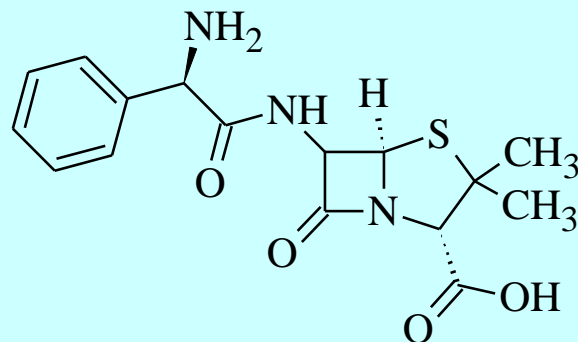
rychlá hydrolýza



Amoxicilin

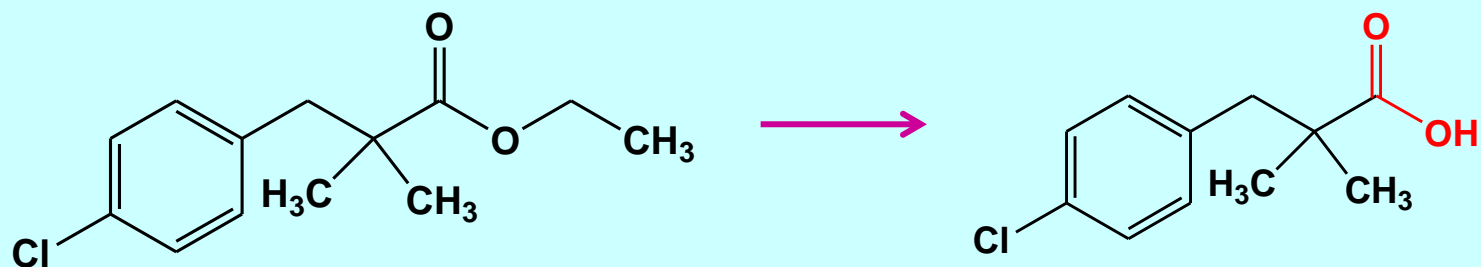


Ampicilin

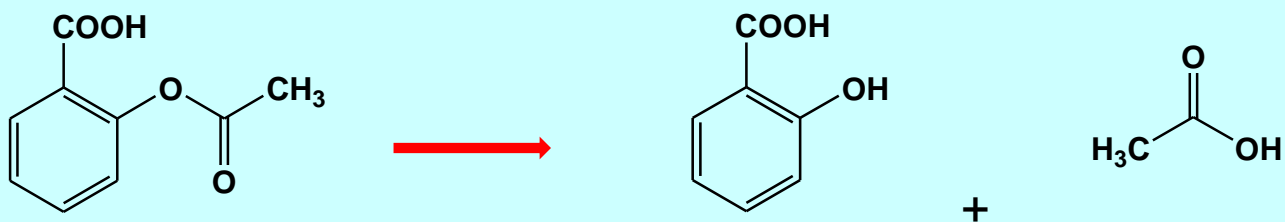


Indikace: širokospektrální antibiotikum, perorální aplikace (záněty v dýchacích cestách, záněty močového ústrojí, zánět středního ucha aj.

Klofibrát - terapie hyperlipoproteinemie (snižuje hladinu VLDL -TG)



Kyselina acetylsalicylová - analgetikum, antipyretikum, na dosažení antiflogistického účinku jsou potřebné vyšší dávky



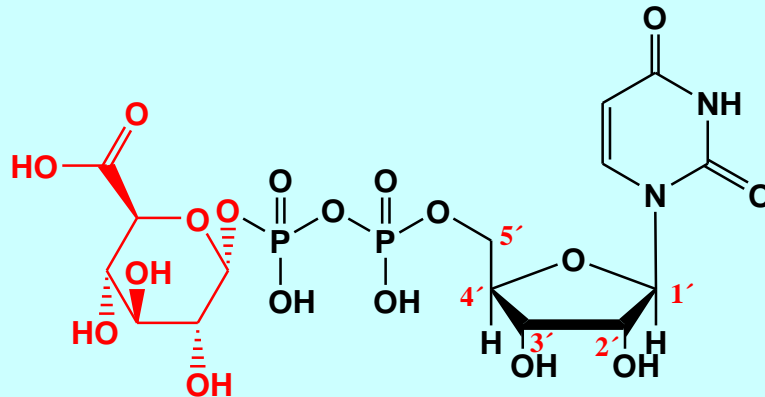
Reakce II. fáze - konjugace

- **Fáze I** - **nevznikají** vždy polární, hydrofilní nebo farmakologické inaktivní sloučeniny.
- **Fáze II** - konjugační produkty jsou **nové** látky s vyšší molekulovou hmotností, **podstatně** rozpustnější ve vodě, snáze vylučovány a většinou látky **neaktivní**.
- Enzymy katalyzující **konjugační** reakce jsou **transferasy** (*methyltransferasy, kinasy, aminotransferasy*)

Konjugace s kyselinou glukuronovou

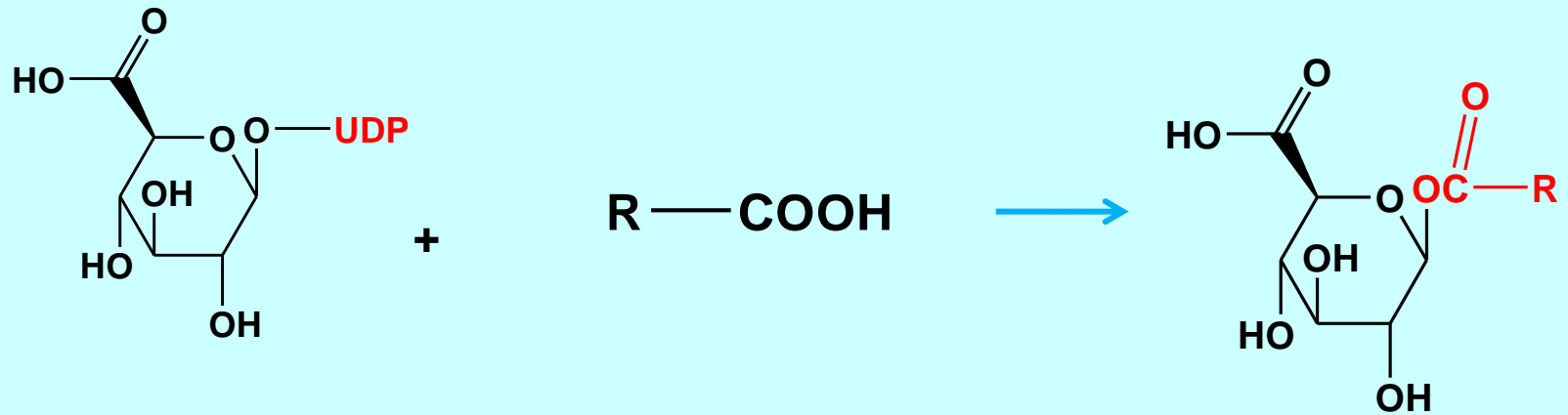
Glukuronidace

- reakce s uridin 5'-difosfoglukuronovou kyselinou (UDPGA)
- Katalýza - UDP-glukuronosyl transferasa - mikrozomy **jater**, ledvin, střeva

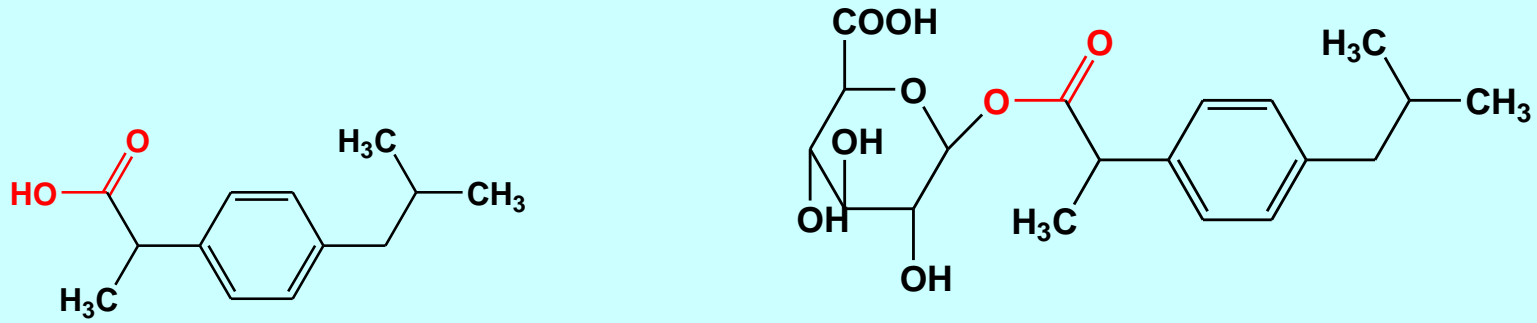


- Uridin je nukleosid složený z nukleové báze uracilu a cukru ribózy

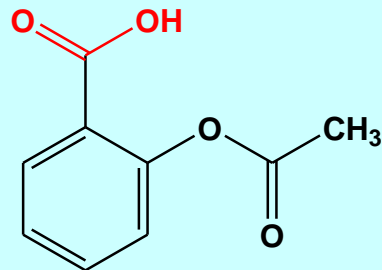
Ester glukuronidy - karboxylové sloučeniny - aromatické, arylalkánové kyseliny



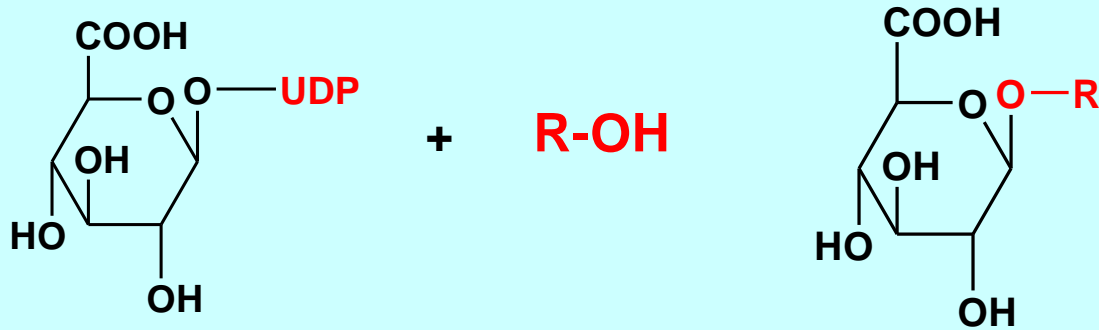
Ibuprofen



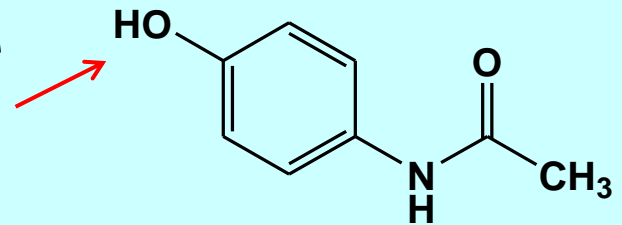
kyselina acetylsalicylová



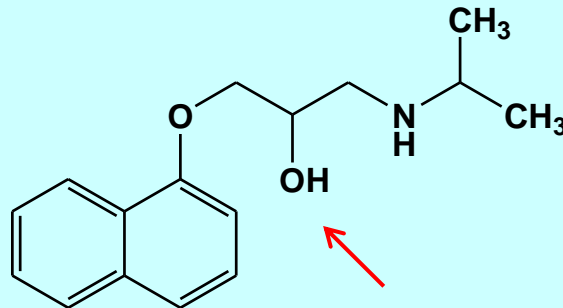
Ether glukuronidy - fenoly, alkoholy



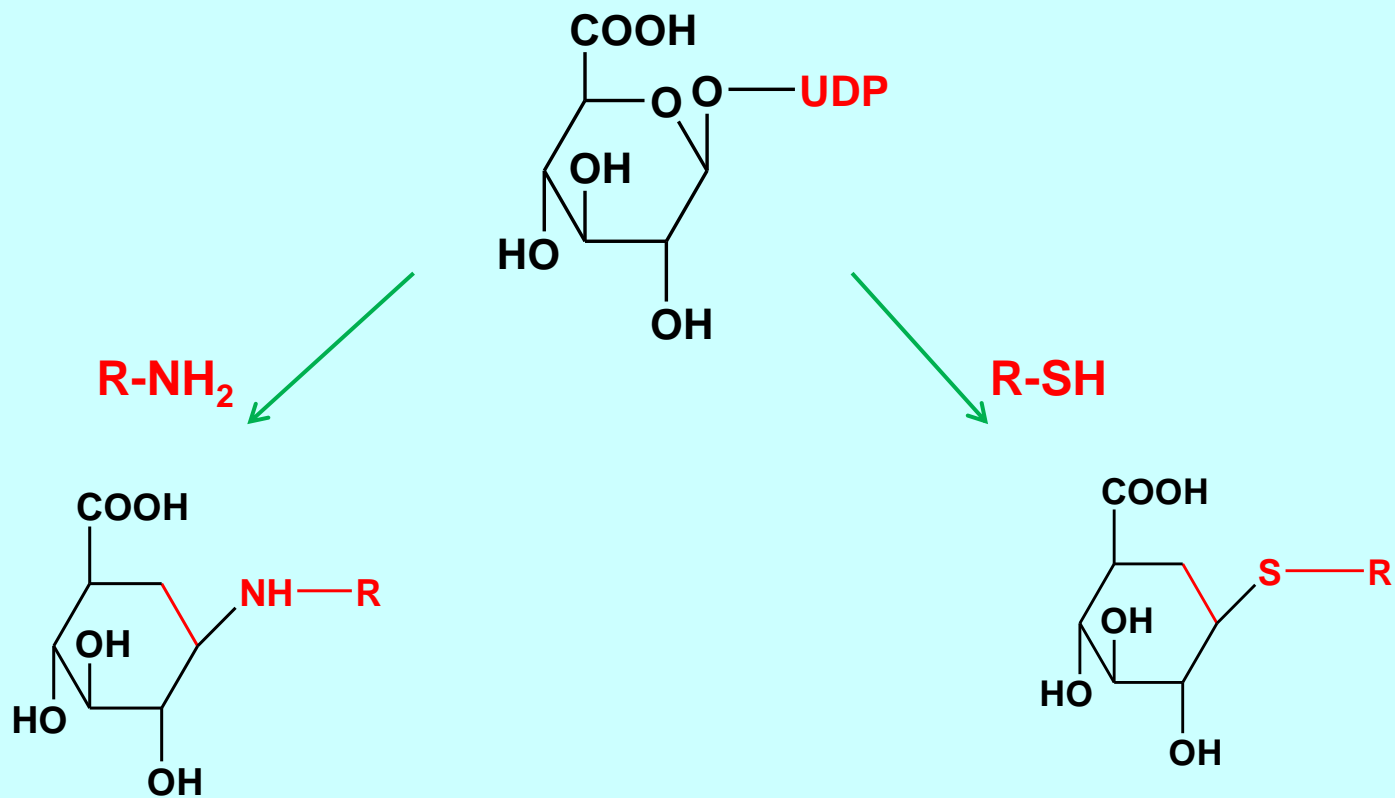
Paracetamol - antipyretikum, analgetikum



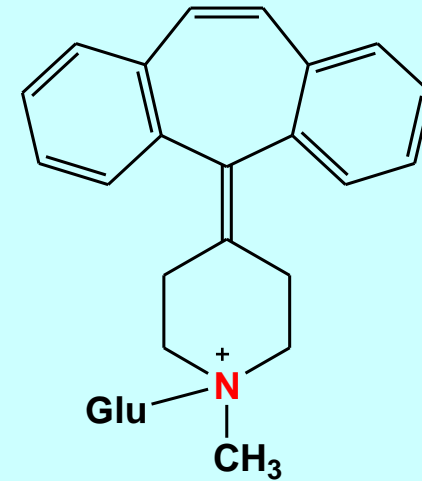
Propranolol - β -blokátor



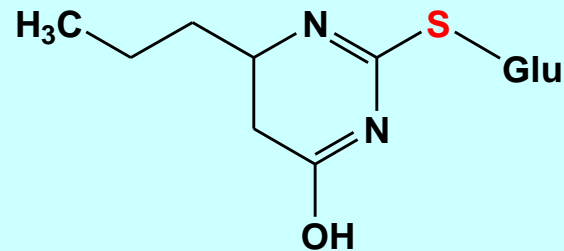
N- a S- glukuronidy - arylaminy, alkylaminy, amidy, sulfonamidy,
terciární aminy



Cyproheptadin - H₁-antihistaminikum

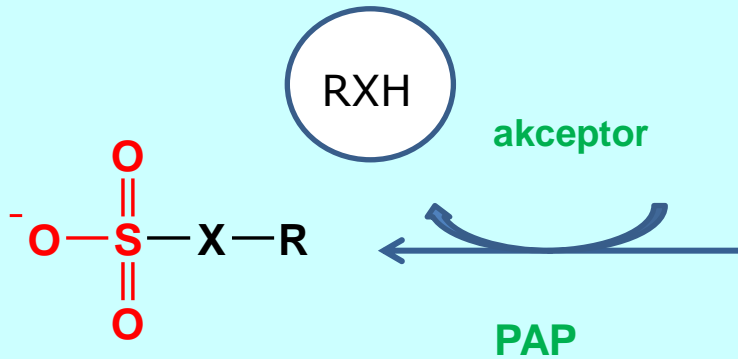


Propylthiouracyl – hyperfunkce štítné žlázy (Basedovná nemoc (hubnutí, dušnost, zvýšení srdeční činnosti))

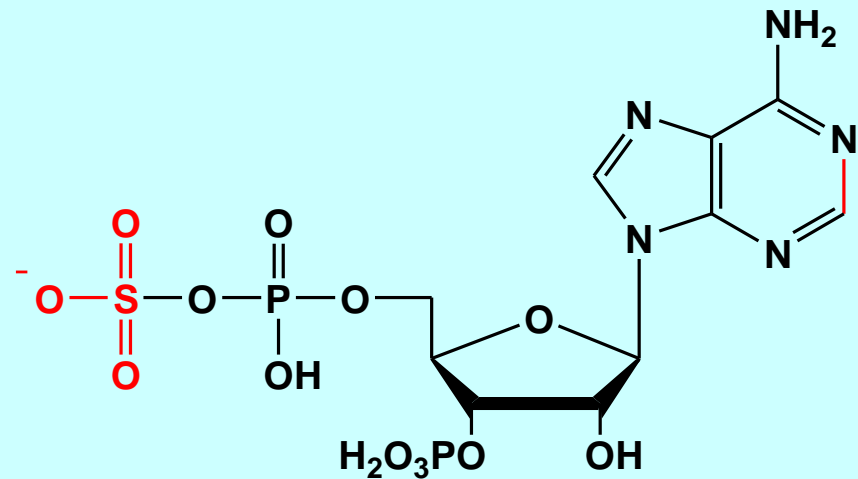


Konjugace sulfátová

- alkoholy a fenoly (sulfát), aromatické aminosloučeniny (sulfamáty), vlastní proces **probíhá** v játrech, ledvinách a dalších tkáních

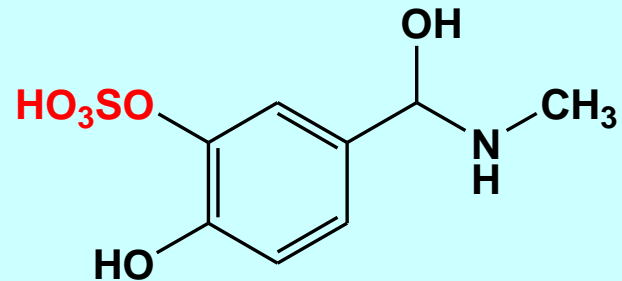


Sulfotransferáza

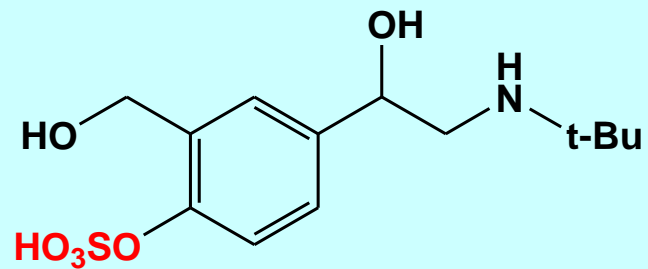


3'-fosfoadenosin-5'-fosfosulfát (PAPS)

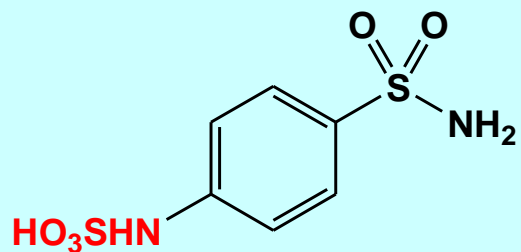
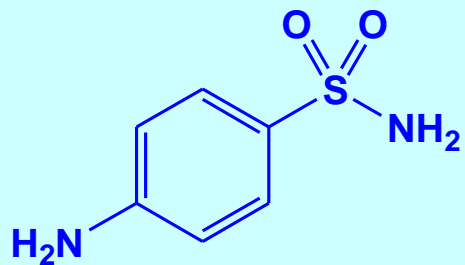
Adrenalin – α -adrenergika



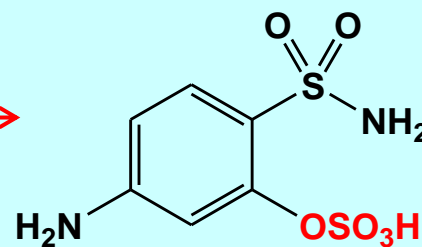
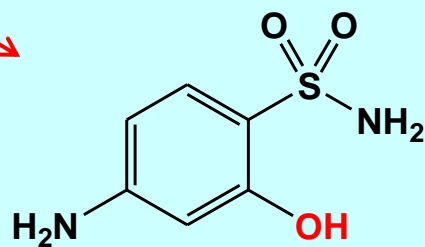
Salbutamol – β_2 -adrenergika



Sulfanilamid

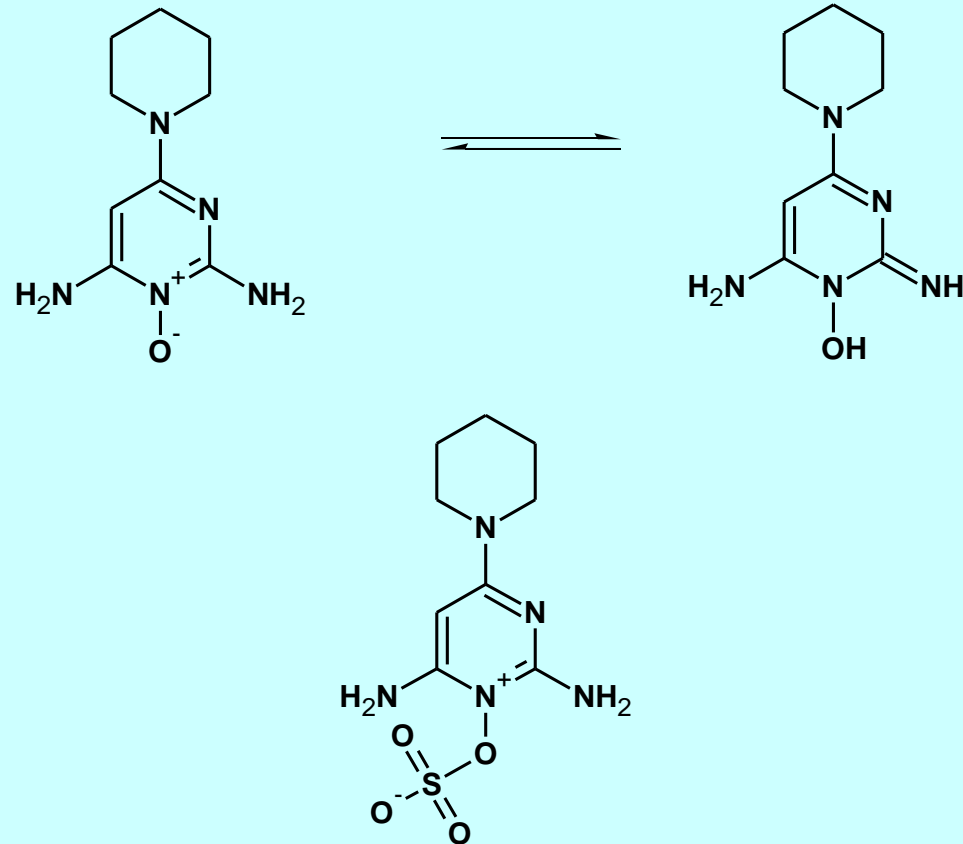


sulfamát



sulfát

minoxidil

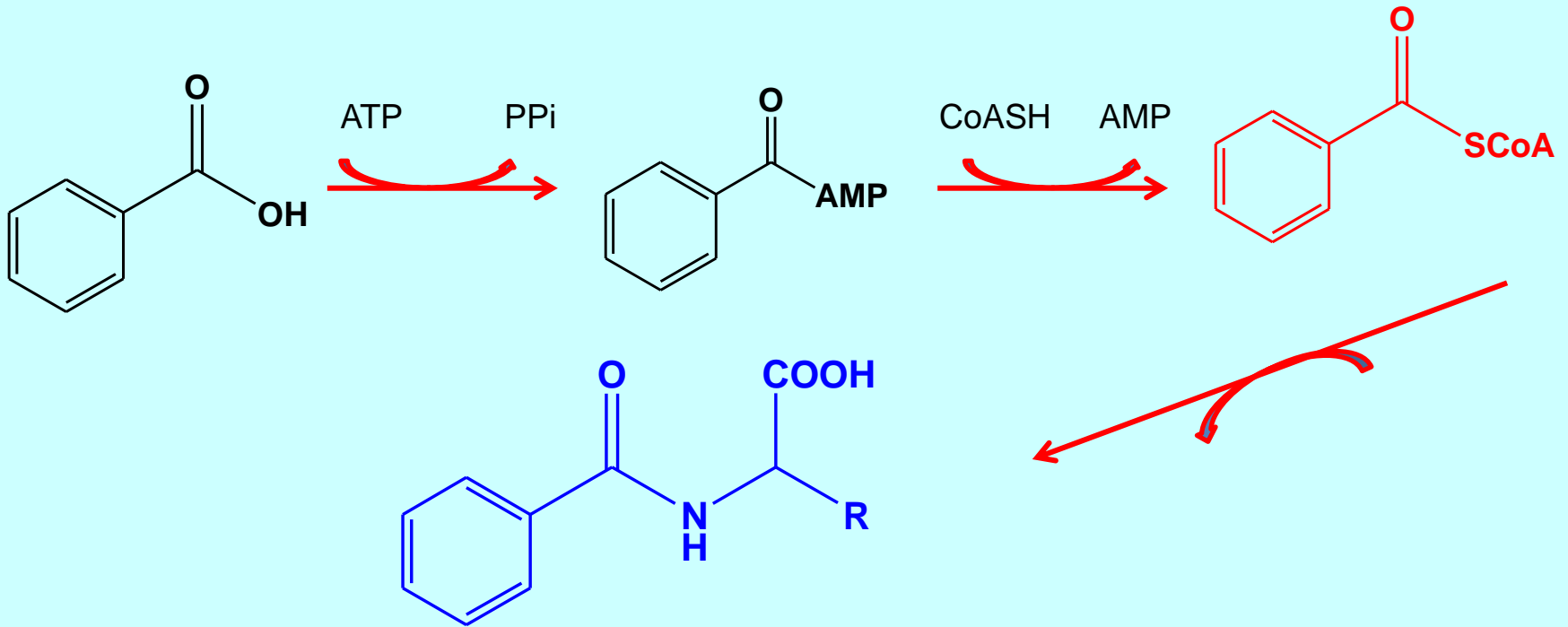


Indikace: antihypertenzivum, vypadávání vlasů, otevírá K-ATP kanály - hyperpolarizace

Konjugace s glycinem, glutaminem nebo jiným aminokyselinami

- Oproti glukuronové a sulfátové konjugaci, **glycin a glutamin není transformován na aktivní koenzym.**
- Podléhají **aromatické** nebo **arylalkánové** kyseliny
- Biotransformace probíhá v **jaterních a ledvinových buňkách.**

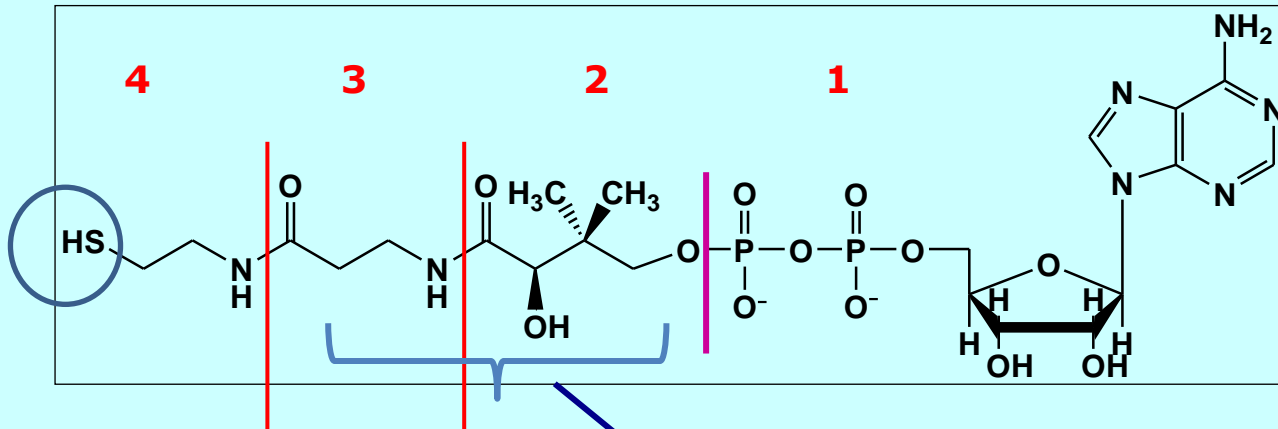
Konjugace s glycinem, glutaminem nebo jiným aminokyselinami



glycin konjugát $\text{R} = \text{H}$

glutamin konjugát $\text{R} = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CONH}_2$

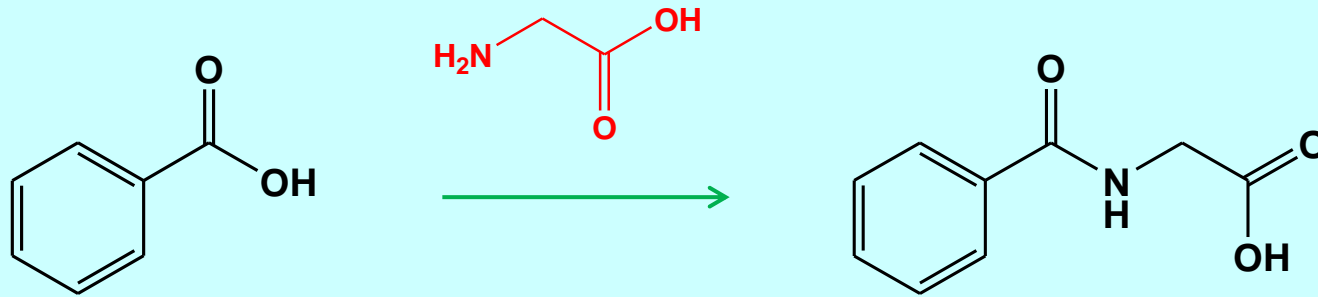
Koenzym A (zkratka CoA či CoA-SH) CH_3C



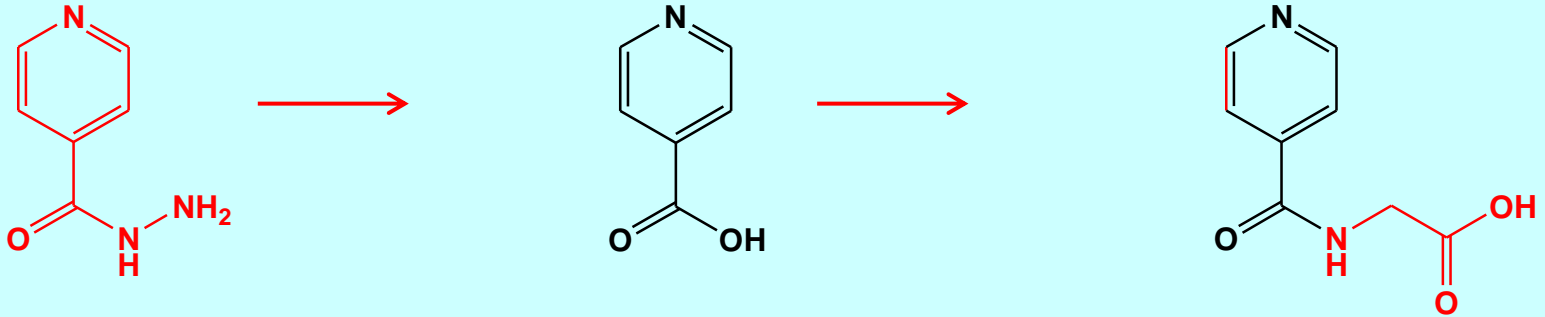
1. Adenosindifosfát
2. Kyselina pantoová
3. Beta-alanin
4. cysteamin

Kyselina pantothenová
(vitamin B₅)

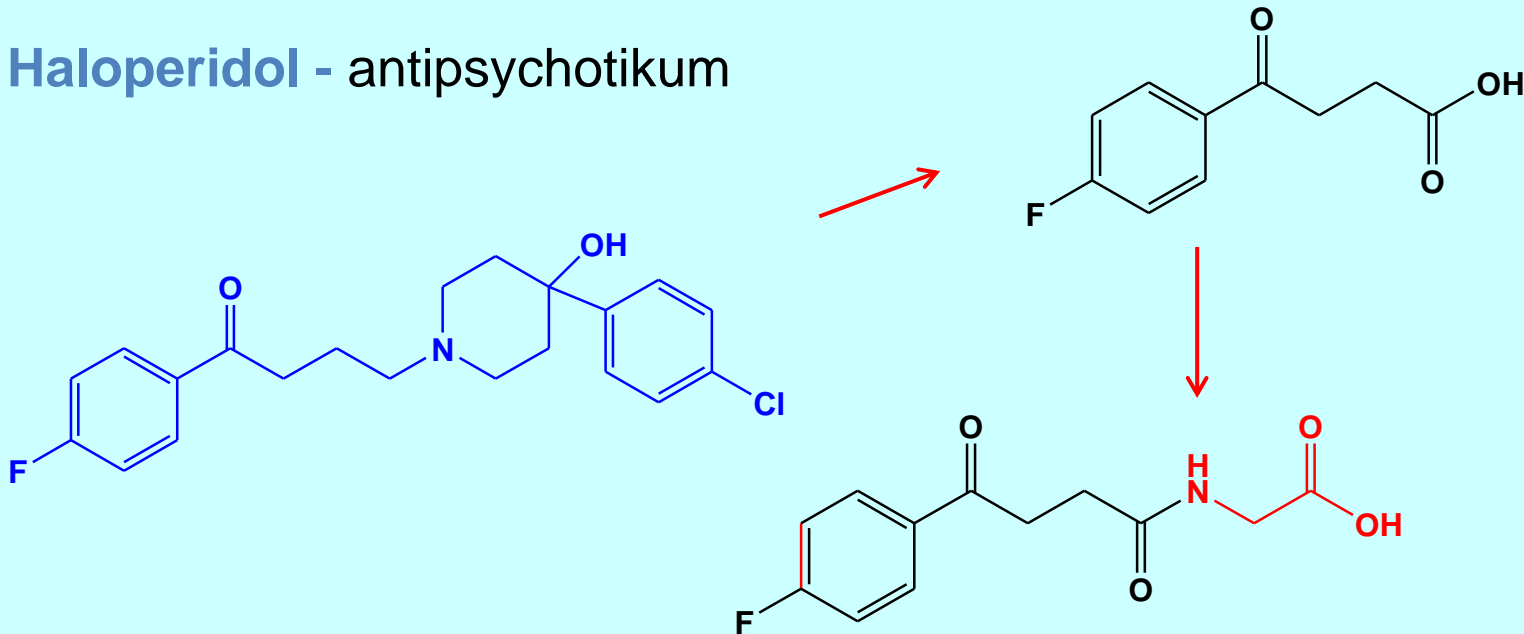
Kyselina hippurová - historický význam , Liebig 1829



Isoniazid - antituberkulotikum



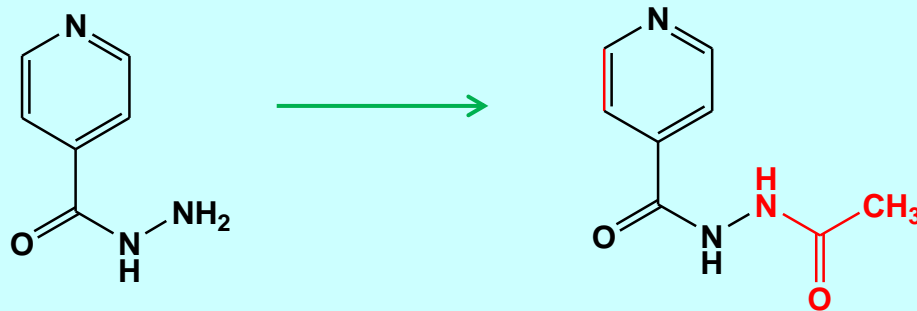
Haloperidol - antipsychotikum



Acetylace – CH₃-CO-S- CoA

- Primární aminy (ArNH₂), sulfonamidy, hydraziny (-NHNH₂), hydrazidy (-CONHNH₂) a primární alifatické aminy.
- Vzniklé amidické deriváty jsou **neúčinné** a **netoxické**.

Isoniazid - antituberkulotikum

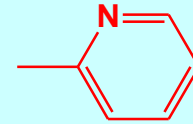
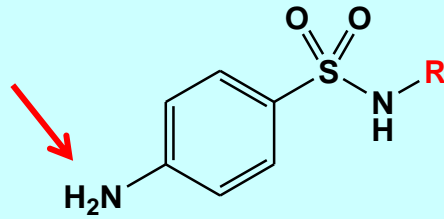


Sulfonamidy

Sulfanilamid



Sulfapyridin



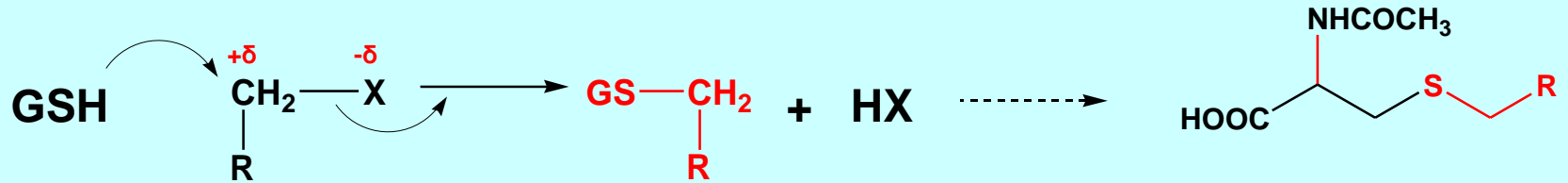
Sulfisoxazol



Glutathion konjugáty

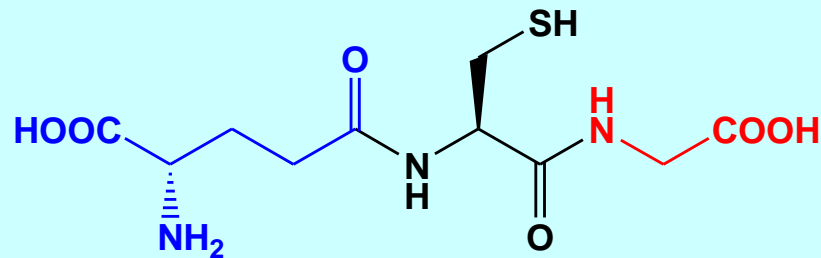
- Konjugace **elektrofilního** substrátu s glutathionem (GSH)
- **Elektrofilní** látky se vážou na **nukleofilní** skupinu -SH glutathionu, reakce je katalyzovaná **glutathion-S-transferázami**
- Buněčná ochrana před **oxidačním** stresem
- Významná detoxikace reaktivních **elektrofilních** sloučenin, které působí kancerogenně
- **Distribuce** GSH - játra, ledviny, mozek

Průběh



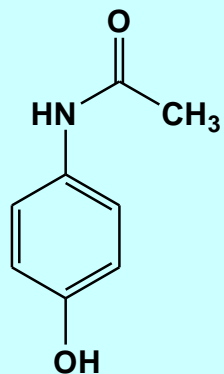
R = alkyl, aryl, benzyl

X = Br, Cl, OSO_3 , NO_2

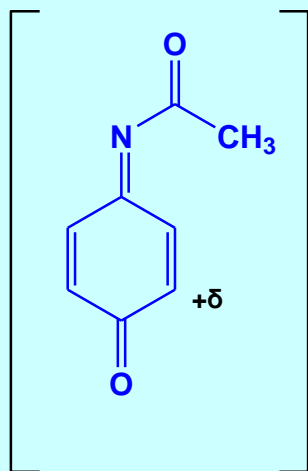


Glutathion - GSH (silný antioxidant, detoxikace xenobiotik, odstraňování reaktivních forem kyslíku)

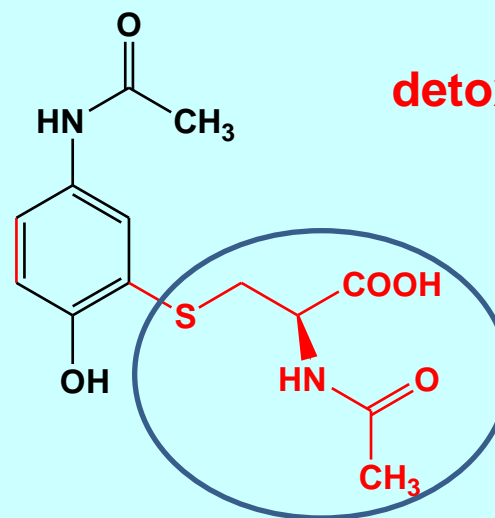
Paracetamol



konjugace s kyselinou
sírovou, glukuronovou



glutathion

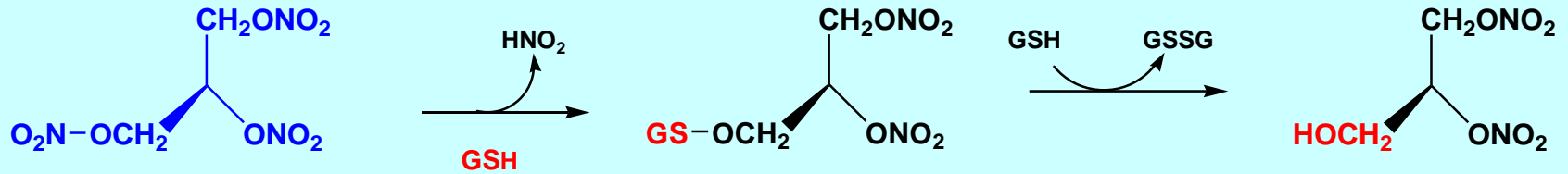


detoxikace

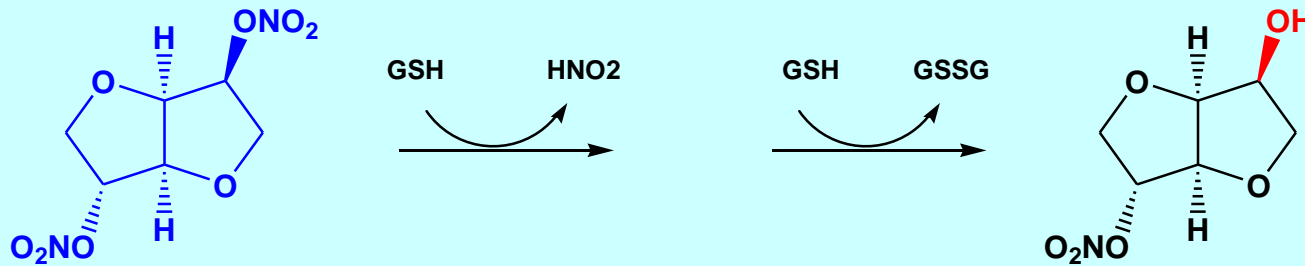
**N-acetyl-4-benzochinonimin
(ireverzibilně poškozuje játra)**

merkapturova kyselina

Nitroglycerin



Isosorbid dinitrát

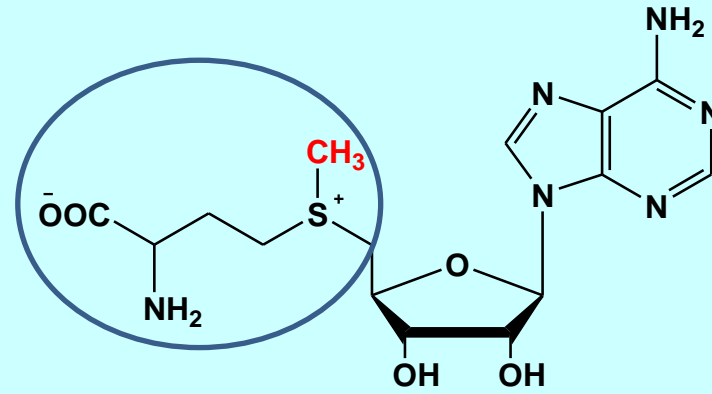


Indikace: terapie záchvatu anginy pectoris a k profylaxi záchvatu, dilatují hladké svalstvo

Methylace

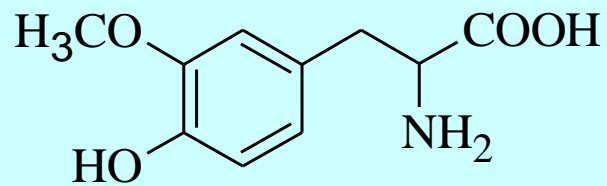
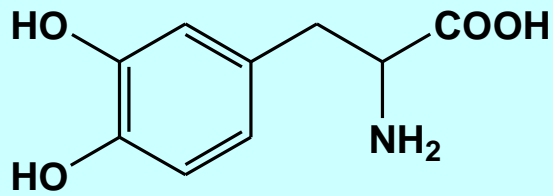
- Má významnou úlohu při **biosyntéze** endogenních sloučenin (epinefrin, melatonin aj.).
- Při **biotransformaci** fyziologických biogenních aminů (norepinefrin, dopamin, serotonin a histamin).
- Představuje však **menší** část konjugačních reakcí.
- **Nevznikají** polárnější sloučeniny, kromě **kvarterních** derivátů.
- Většinou vznikají farmakologicky **neúčinné** látky.

S-adenosylmethionin (SAM)

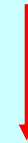


- Koenzym methylace je *S*-adenosylmethionin (SAM) - donor methylu
- Transfer **aktivované** methylové skupiny katalyzují **cytoplazmatické** a **mikrozomální** methyltransferázy (COMT, fenol-*O*-methyltransferáza a nespecifické N-methyltransferázy a S-methyltransferázy).

(S)-(-)-DOPA (levodopa) – antiparkinsonikum



Merkaptopurin – cytostatikum



Enzymové induktory

- Farmaka při opakovaném podávání vyvolají **zmnožení** enzymů (CYP-450) (fenobarbital, karbamazepin, tolbutamid, rifampicin).
- Je **urychlená** nejen biotransformace léčiva, ale i tělu **vlastních** substancí a současně podávaných **jiných** léčiv.
- V případě, že léčiva se transformují na **aktivní** metabolity - tkáňová toxicita.

Inhibice enzymů

- Léčiva obsahující **imidazol** (cimetidin, ketokonazol) - **pevně** se vážou na železo hemu v cytochromu P-450.
- Další látky: ethinylestradiol, norethisteron, propylthiouracil, barbituráty aj.
- **Snižují** metabolismus **endogenních** substrátů (testosteron) nebo jiných **současně** podávaných léčiv.

Farmakogenetika

Genetické rozdíly metabolismu četných farmak - *genetický polymorfismus* biotransformací

- Nejznámější příklad z farmakogenetiky je **N-acetylace** různých farmak, zejména **antituberkulotika** izoniazidu (**polovina** populace metabolizuje izoniazid rychle, **druhá** pomalu, korelace s enzymem N-acetyltransferasou v cytosolu).
- Dochází ke **kumulaci** léčiva a následně častěji k periferní neuropatii (nezánětlivé onemocnění nervu).
- **Jiné** látky: sulfonamidy, prokainamid, klonazepam, nitrazepam aj.

Genetické rozdíly metabolismu farmak oxidázami se smíšenou funkcí

- Izoenzym cytochromu P-450, tzv. **CYP2 D6** - způsobuje oxidací a hydroxylací farmaka zlepšuje rozpustnost látky ve vodě.
- Asi u **8% evropské populace chybí**, postižené osoby označujeme jako „**špatné metabolizátory**“
- Léčiva: metoprolol, flekainid, propafenon (zvýšená mortalita pacientů).
- Je **zpomalený** metabolismus - **snížení** dávky

Vliv věku

- U dětí není k dispozici **vybavení** jater jednotlivými enzymy.
- **Kumulace** léčiv - není předcházející dávka ještě eliminována.
- **Vyšší** věk - eliminace farmaka může být snížena (je nutné upravit dávkování).