



Faculty
of Science

Palacký University
Olomouc

XENOPROTEKCE I.

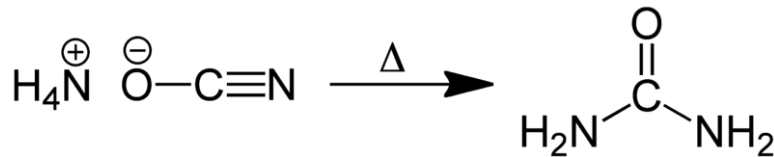
Prof. RNDr. Zdeněk DVOŘÁK, DrSc., PhD
Katedra buněčné biologie a genetiky

Buněčná biologie II. (KBB/BB2)

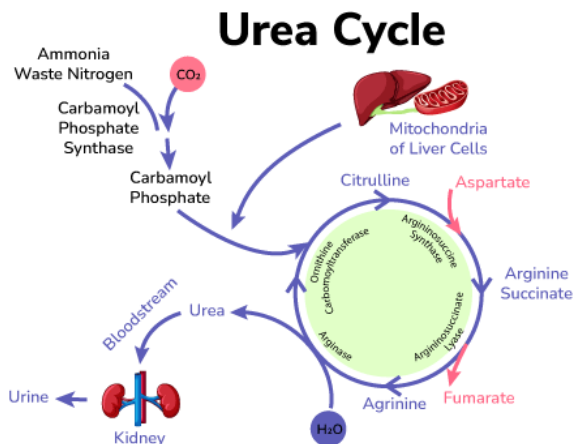
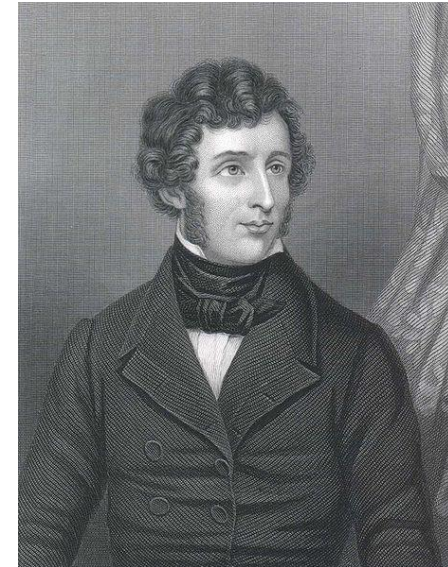
„ZROZENÍ METABOLISMU“

- počátkem 18. století panovalo přesvědčení, že složení lidského těla a všech živých věcí je výsledkem tzv. „životní síly - vital force - vis vitalis“ nebo „vnitřního plamene - internal flame“. (vitalismus)
- v roce 1828 syntetizoval Friedrich Woehler močovinu, jako jednu z odpadních sloučenin vylučovanou močí a poslal Berzeliovi následující vzkaz:

"I must tell you that I can prepare urea without requiring a kidney of an animal, either man or dog"



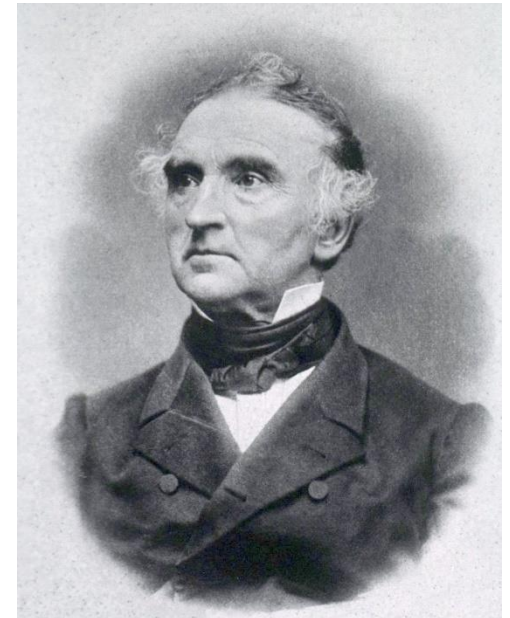
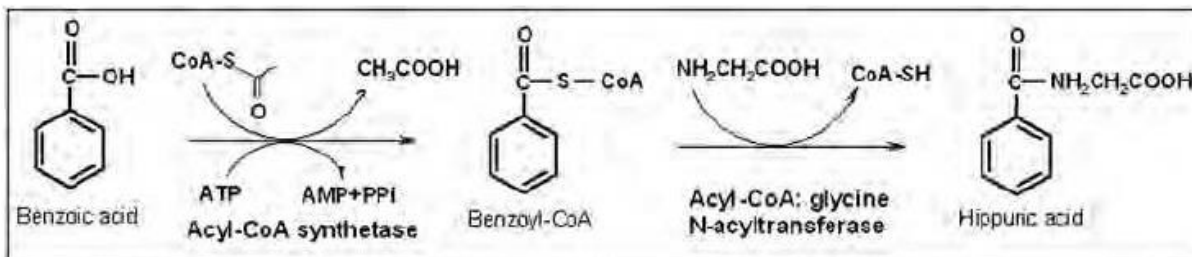
Syntéza močoviny zahříváním kyanatanu amonného



„ZROZENÍ METABOLISMU“

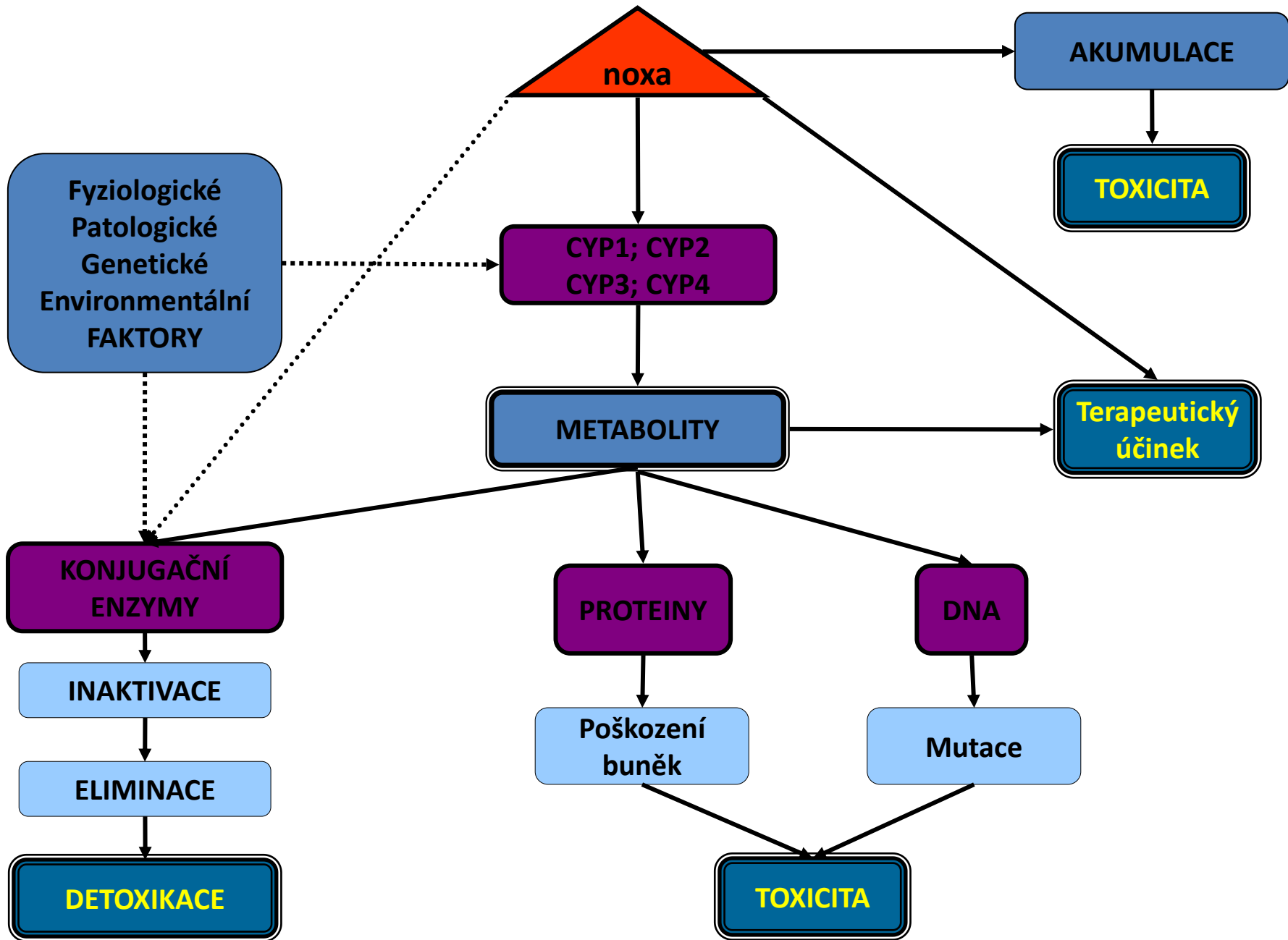
„In the evening, shortly before going to bed, I ingested 2 grams (about 32 grains) of benzoic acid in a sugar syrup. During the night I started sweating, which could be an effect of this acid, since I otherwise very rarely sweat profusely. I experienced no other obvious effect, even over the course of the following days when I took the same dose, and neither did the sweating reoccur. In the urine eliminated the next morning was found to be unusually acidic, even after being allowed to stand 12 hours after evaporation...after the residue was mixed with hydrochloric acid and allowed to stand, a large amount of long prismatic brown crystals was formed, which did look like benzoic acid. Another portion, which had been concentrated to a sirupy thickness, formed a magma of crystalline plates after being mixed with hydrochloric acid. ...Long, colorless prismatic crystals were then isolated. These crystals consisted of pure hippuric acid. ... As long as I continued to ingest benzoic acid, I could very easily continue to produce quantities of hippuric acid, without any apparent unhealthy effects, so it would be quite easy to produce in such a way great quantities of hippuric acid. One could keep a subject on hand for weeks, in order to continue this method of production“.

Justus von Liebig, 1829

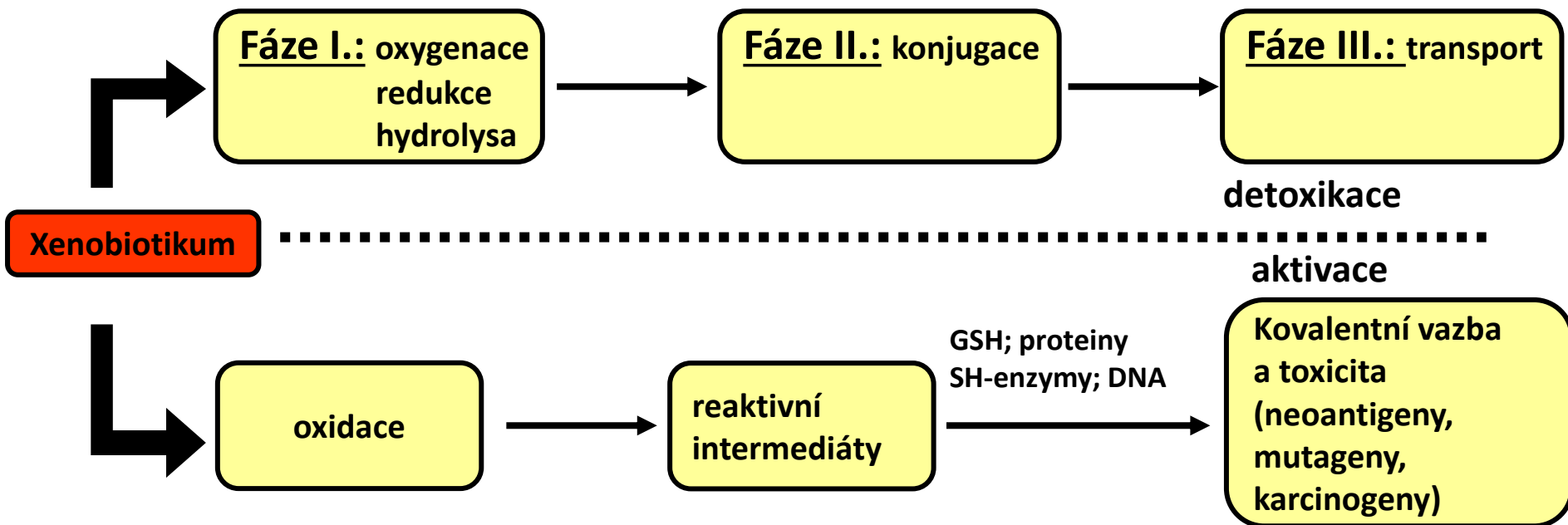


BIOTRANSFORMACE XENOBIOTIK

- **Biotransformační enzymy:** enzymy účastníci se metabolismu xenobiotik
- **Xenobiotikum:** látka cizí lidskému organismu
 - léčiva
 - drogy (opiáty, kanabinoidy, amfetaminy)
 - environmentální polutanty (cigaretový kouř, nátěrové hmoty, dioxiny)
 - agrochemikálie (pesticidy, konzervanty, růstové stimulanty, hnojiva)
 - potravní aditiva (barviva, ochucovadla, stabilizátory)
- **Metabolismus xenobiotik u člověka**
 - játra, placenta, plíce, kůže, střevo, ledviny
- **Koncept boje těla s xenobiotiky**
 - Záměr:** Přeměnit lipofilní látky na hydrofilní → zvýšit polaritu
Usnadnit exkreci
 - Důsledky:** Změny ve farmakokinetice látky
Detoxikace
Metabolická aktivace
- **PD = farmakodynamika; působení léčiva (xenobiotika) na organismus**
- **PK = farmakokinetika; působení organismu na léčivo (xenobiotikum)**
A.D.M.E.: Absorbce-Distribuce-Metabolismus-Eliminace



BIOTRANSFORMACE: DETOXIKACE vs. AKTIVACE



Fáze I biotransformace xenobiotik

- oxidoredukční a hydrolytické reakce
- vnesení polární skupiny do molekuly (např. hydroxylace)
- přeměna méně polární skupiny na polárnější (např. redukce nitroskupiny)
- „odkrytí“ polární skupiny (např. štěpení esterů a amidů)

- **HYDROLÝZA**
 - karboxyesterasy (valacyclovir, midodrin)
 - peptidasy (insulin)
 - epoxidhydrólasy (karbamazepin)

- **REDUKCE**
 - redukce azo skupiny (prontosil → sulfanilamid)
 - redukce nitro skupiny (benzodiazepiny)
 - redukce karbonylu (chloralhydrát → trichloroethanol)
 - redukce disulfidu (disulfiram)
 - redukce sulfoxidu (aktivace sulindacu)
 - redukce chinonu (aktivace paraquat, doxorubicinu)

- **DEHALOGENACE**
 - reduktivní (zvýšena toxicita CCl_4)
 - oxidativní (hepatotoxicita halotanu)

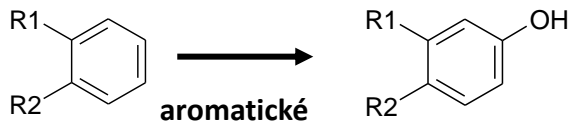
- **DEHYDROGENACE**
 - alkoholdehydrogenasa (inh. cimetidin)
 - aldehyddehydrogenasa (inh. disulfiram)

- **OXIDACE**
(monooxygenasy)

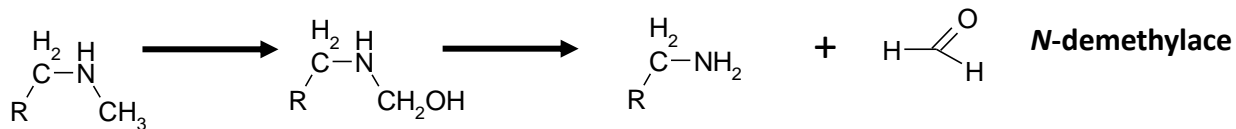
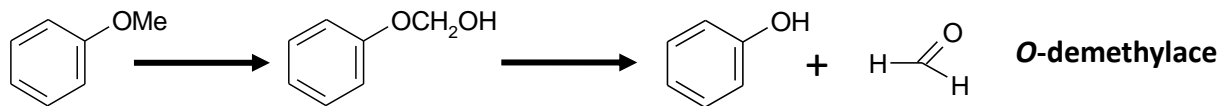
(cytochrom P450)
 - monoaminoxidas (primaquin, haloperidol)
 - peroxidasy (aflatoxiny, benzen)
 - flavinové (nikotin, chloropromazin, imipramin)
 - alifatická hydroxylace (mefenytol); aromatická hydroxylace (benzo[b]pyren); epoxidace dvojně vazby (karbamazepin); oxygenace heteroatomu (omeprazol); O-dealkylace (dextromethorphan); N-dealkylace (theofylin); přenos skupiny (halotan); štěpení esteru (loratidin); dehydrogenace (paracetamol)

Fáze I biotransformace xenobiotik

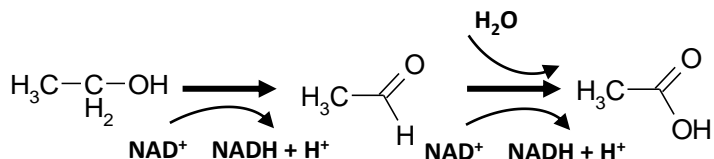
1. Oxygenace – hydroxylace (monooxygenasy)



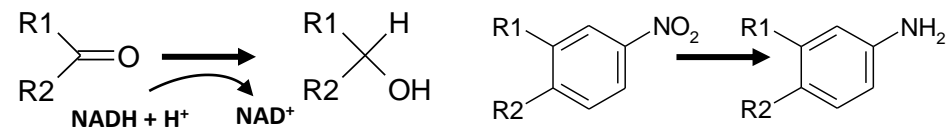
2. Oxidativní demethylace (monooxygenasy)



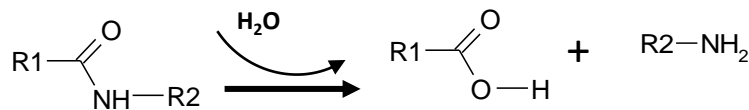
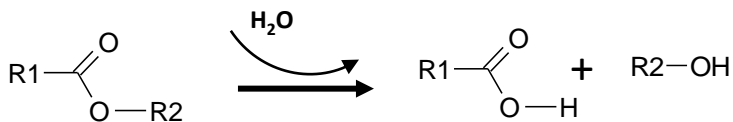
3. Oxidace – (dehydrogenasy)



4. Redukce – (dehydrogenasy; reduktasy)

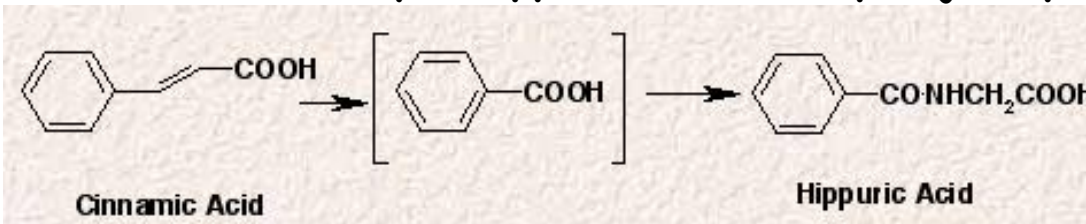


5. Hydrolýsa – (hydrolasy; esterasy; amidhydrolasy)

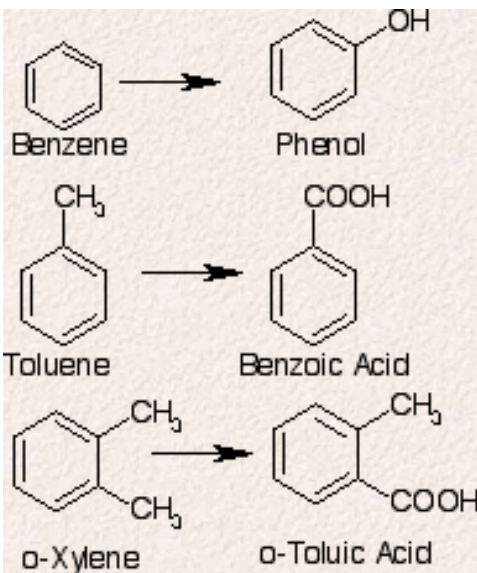


Fáze I biotransformace xenobiotik: OXIDACE

- Ure, Erdmann, Marchand pozorovali, že oxidace jiných kyselin než benzoové vede k vylučování kys. hippurové v moči → hypotéza o intermediárního produktu oxidace
- Podávali kys. skořicovou dobrovolníkům, a z moči izolovali látku, o které se domnívali, že je to kys. hippurová
- Hypotézu o oxidaci kys. skořicové na kys. benzoovou potvrdili Woehler a Frerichs, kteří izolovali kys. hippurovou z moči psů jimž podávali kys. skořicovou



Friedrich Theodor von Frerichs



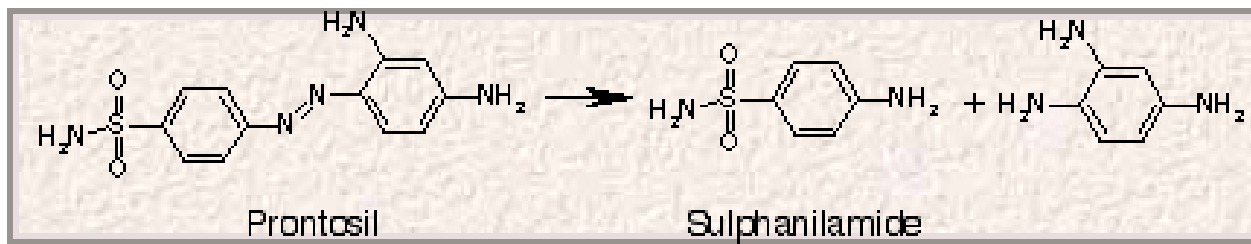
- Bernard Naunyn (z laboratoře Frerichse) pozoroval, že když podával pacientům benzen, tito vylučovali fenol; jeho zkušenější kolega, chemik Schultzen pak prokázal, že benzenu-příbuzné uhlovodíky toluen a xylen jsou oxidovány na karboxylové kyseliny
- jejich práce „*The behavior of benzene-derived hydrocarbons in the animal organism*„ (1867)“ odhalila nečekanou schopnost lidského těla uskutečňovat takové chemické reakce, kterých nebyli v té době chemici schopni!!!



Bernard Naunyn

Fáze I biotransformace xenobiotik: REDUKCE

- Gerhard Domagk (1932) prováděl sérii experimentů se sulfonamidovými sloučeninami, kdy hledal agens pro léčbu streptokokových infekcí
- myši, které dostaly po infekci dávku Prontosilu přežily, zatímco kontrolní myši uhynuly
- jednalo se o první úspěšnou léčbu bakteriální infekce
- (Domagk; Nobelova cena za fyziologii a medicínu 1939)
- Fuller přinesl analytický důkaz o přítomnosti aminobenzenesulfonamidu v moči a krvi myši po dávkování Prontosilu → reductivní reakce v metabolismu léčiva

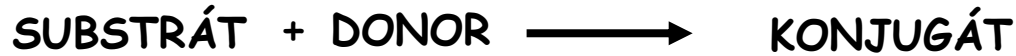


- Felix Hoppe-Seyler izoloval indoxylsulfát po podání ortho-nitrofenylpropionové kyseliny
- prvním reakčním krokem v této konverzi byla redukce nitroskupiny na primární amin



Fáze II biotransformace xenobiotik: GLUKURONIDACE

- konjugace - spojení noxy s polární molekulou



- DONOR: UDP-GA = Uridine-DiPhospho-Glucuronic-Acid

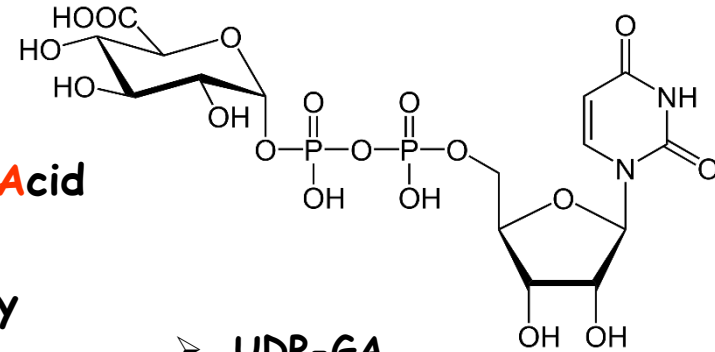
➤ SUBSTRÁTY

- alkoholy; fenoly; aminy; thioly; karboxylové kyseliny
- morfin, metadon, kyselina valproová, dextrophan

➤ ENZYM

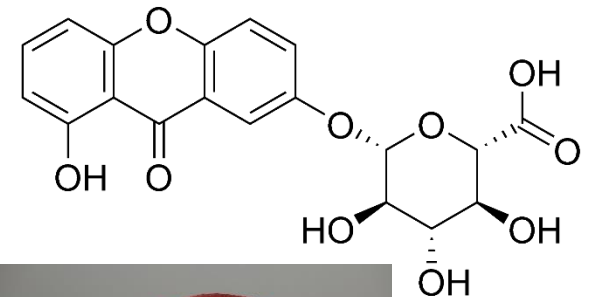
- UDP-glukuronyltransferasy (UGTs)
- katalyzují tvorbu O-; N-; S- a C- esterů GA

- PRODUKTY: glukuronidy $\text{R-OH} + \text{UDP-GA} \rightarrow \text{R-O-GA} + \text{UDP}$



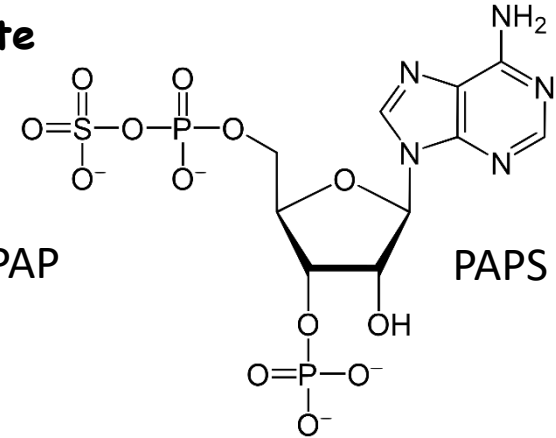
- UDP-GA
- 1953, Dutton and Storey

- první sloučenina charakterizovaná jako cukerný konjugát byla kys. euxantová - hlavní složka Indické žluti (byla izolována z moči krav krmených mangovými listy)
- roku 1855 pozoroval Schmid, že euxantová kys. je vylučována močí velbloudů krmených plody manga
- Erdmann pozoroval, že hydrolýzu euxantové kys. na žlutý produkt - aglykon
- Baeyer charakterizoval aglykon euxantové kys. a určil, že cukerná složka je oxidovaný derivát glukosy

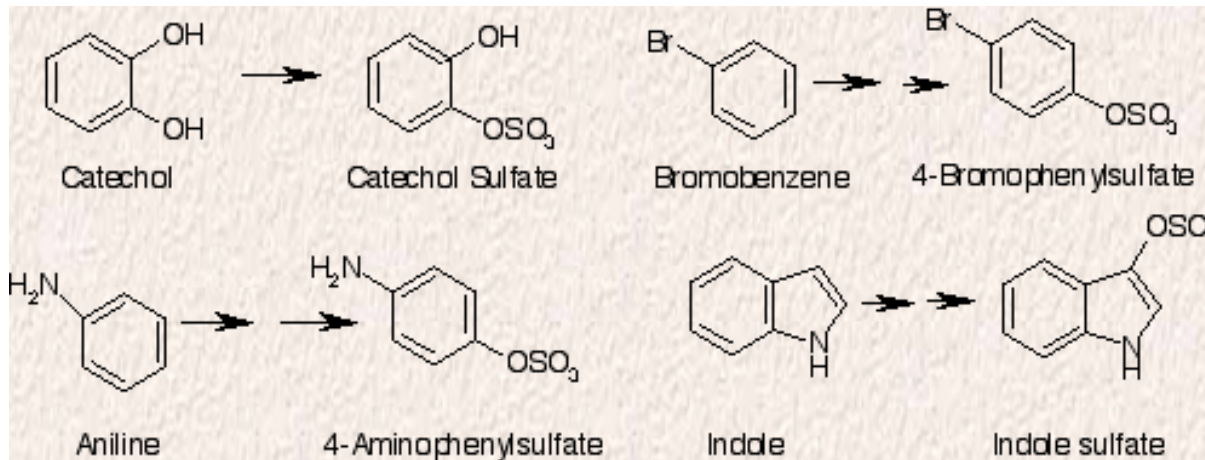


Fáze II biotransformace xenobiotik: SULFATAČE

- DONOR: PAPS = 3-PhosphoAdenosine-5'-PhosphoSulphate
- SUBSTRÁTY: alkoholy; fenoly; katecholy; arylaminy
- ENZYM: sulfotransferasy (SULTs), cytosolické
- PRODUKTY: sulfáty (sírany) $R-OH + PAPS \rightarrow R-O-SO_3 + PAP$



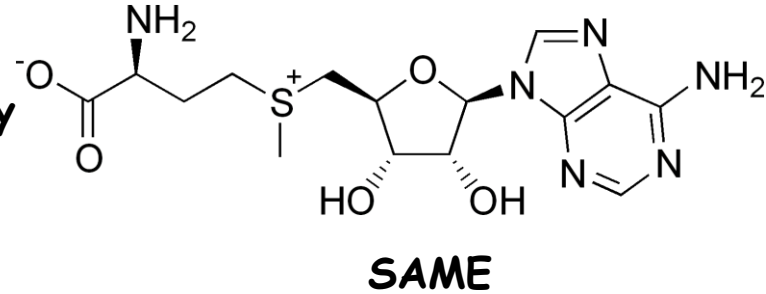
- Baumann izoloval a charakterizoval fenol sulfát z moči pacientů, kteří byli léčeni fenolem jako antiseptikem
- Dále prokázal, že mnoho látek může být vylučováno močí formou sulfátů, např. katechol, bromobenzen, indol a anilín



**Eugen
Baumann**

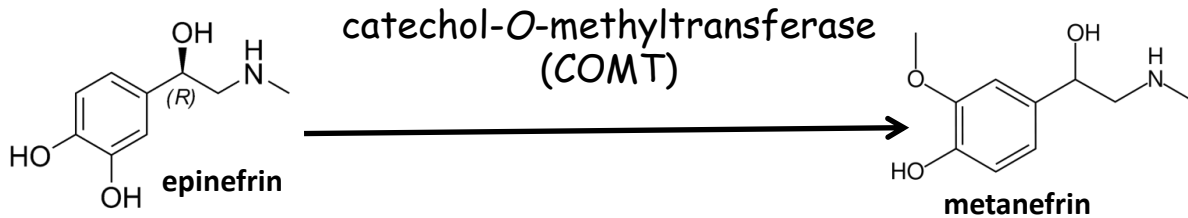
Fáze II biotransformace xenobiotik: METHYLACE

- DONOR: PAPS = **S**-Adenosyl-**M**ethionine (SAME)
- SUBSTRÁTY: fenoly, katecholy, aminy, těžké kovy
- ENZYM: methyltransferasy - přenos CH_3 skupiny
- PRODUKTY: $-\text{OCH}_3$; $-\text{SCH}_3$; $-\text{NCH}_3$; $-\text{CCH}_3$
-není vzrůst polarity; detoxikační funkce



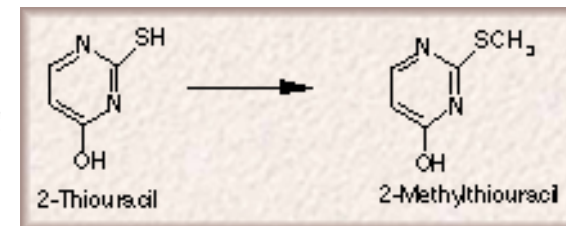
(O)-METHYLACE

- 1957; Axelrod, Armstrong, McMillan → O-methylace adrenalinu a noradrenalinu



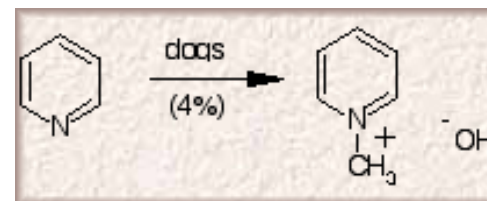
(S)-METHYLACE

- 1958; Edward, Sarcione, Sokal → S-methylace thiouracylu



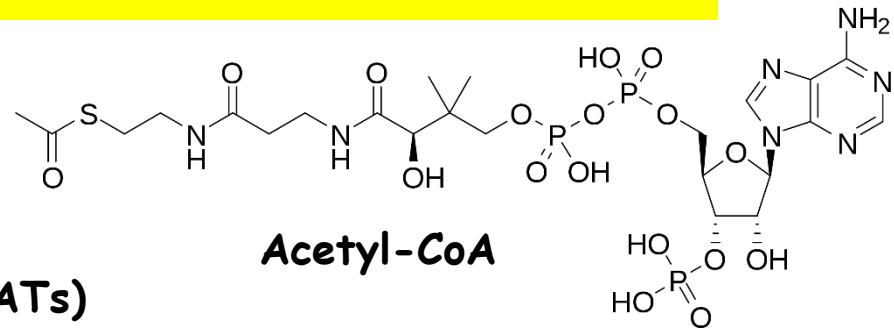
(N)-METHYLACE

- 1887; Wilhelm His → N-methylace pyridinu

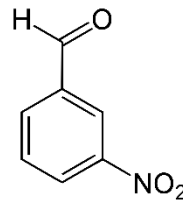


Fáze II biotransformace xenobiotik: ACETYLACE

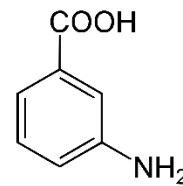
- DONOR: Acetyl-CoA
- SUBSTRÁTY: - aryl amines
- isoniazide, dapsona
- ENZYM: - *N*-acetyltransferases (NATs)
- polymorfismy
- PRODUKTY: -N-CO-CH₃



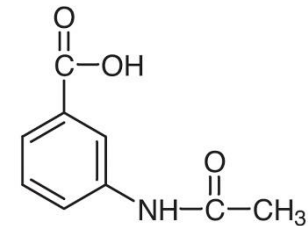
- 1893; Cohn: metabolismus *m*-nitrobenzaldehydu u králíků; v moči našel metabolit *N*-acetylaminobenzoovou kyselinu



m-nitrobenzaldehyd

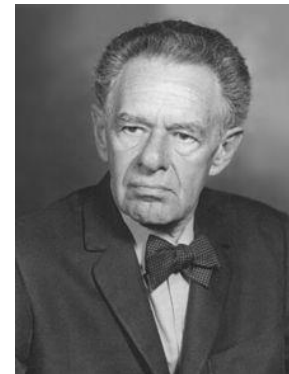


m-aminobenzoic acid



N-acetyl-*m*-aminobenzoic acid

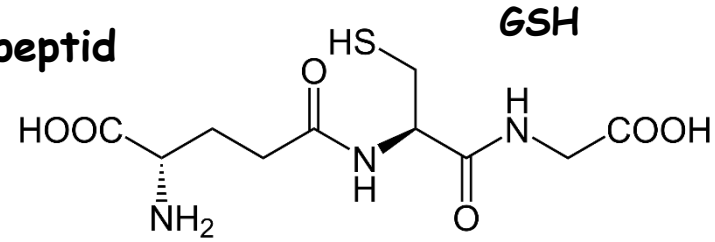
- Fritz A. Lipmann
 - acetyl koenzym A, acetylační reakce
 - Nobelova cena za Fyziologii a medicínu 1953



Fáze II biotransformace xenobiotik: GLUTATHION

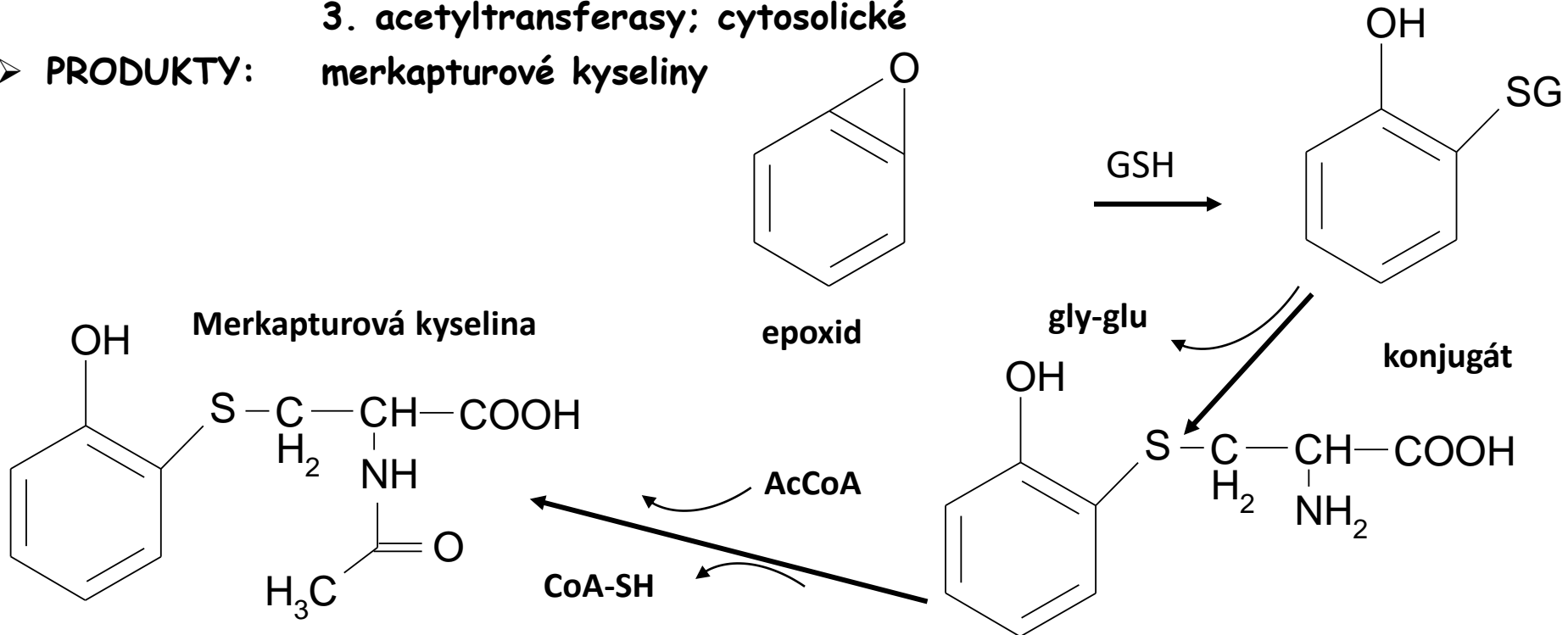
➤ DONOR: glutathion; γ -glutamyl-cysteinyl-glycin; tripeptid

➤ SUBSTRÁTY: aromatické uhlovodíky a heterocykly;
halogenderiváty; epoxidy; atd.
detoxikace NAPQI (paracetamol)



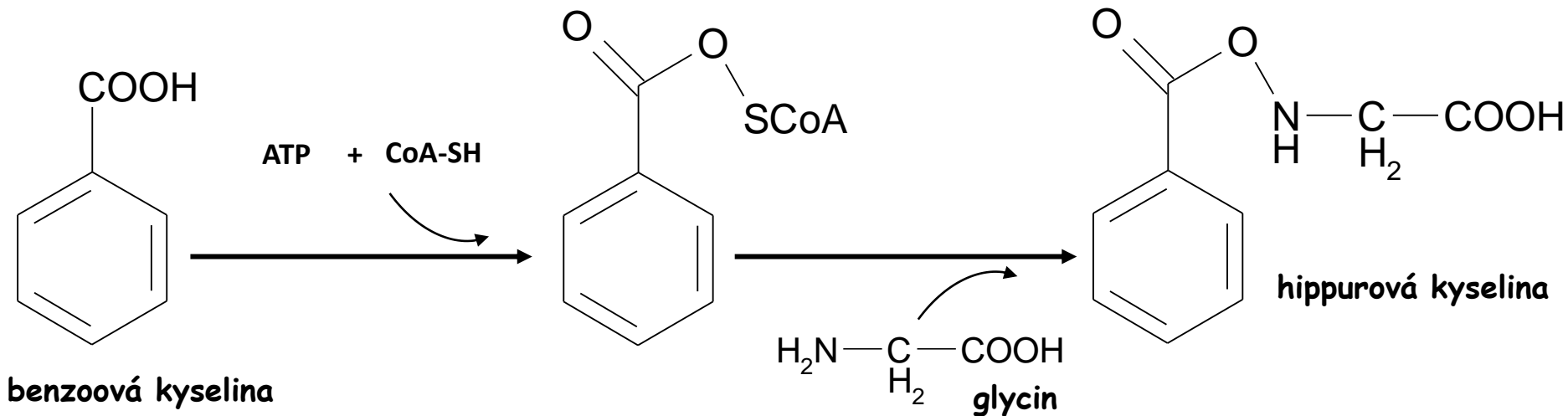
➤ ENZYMY: 1. GSH-S-transferasy; cytosolické; konjugát zůstává v buňce
2. γ -glutamyltranspeptidasa; v plasmatické membráně
3. acetyltransferasy; cytosolické

➤ PRODUKTY: merkapturové kyseliny



Fáze II biotransformace xenobiotik: AMINOKYSELINY

- DONOR: glycin, glutamin
- SUBSTRÁTY: karboxylové kyseliny (AcylCoA)
- ENZYMY: 1. glycin-*N*-acyltransferasa; mitochondrie
2. glutamin-*N*-acyltransferasa; mitochondrie
- PRODUKTY: *N*-acylglycin; *N*-acylglutamin



- první metabolit objevený v lidské moči
- monitoring zneužívání toluenu

Fáze 0 & III biotransformace xenobiotik: TRANSPORT

TRANSPORTÉRY

- membránové proteiny řídící import (uptake) / export (efflux) xenobiotik z buněk
- EFFLUX
 - P-gp = P-glykoprotein (Multidrug Resistance Protein 1)
 - MRP1/2 = Multidrug Resistance-associated Protein 1/2
 - BCRP = Breast Cancer Resistance Protein
 - MATE1/2-K = Multidrug And Toxin Extrusion protein 1/2-K
- UPTAKE
 - OAT1/2/3 = Organic Anion Transporter 1/2/3
 - OCT1/2 = Organic Cation Transporter 1/2
 - OATPs = Organic Anions Transporting Proteins
- Ovlivnění PD/PK:
 - polymorfismy, mutace
 - inhibice, upregulace

