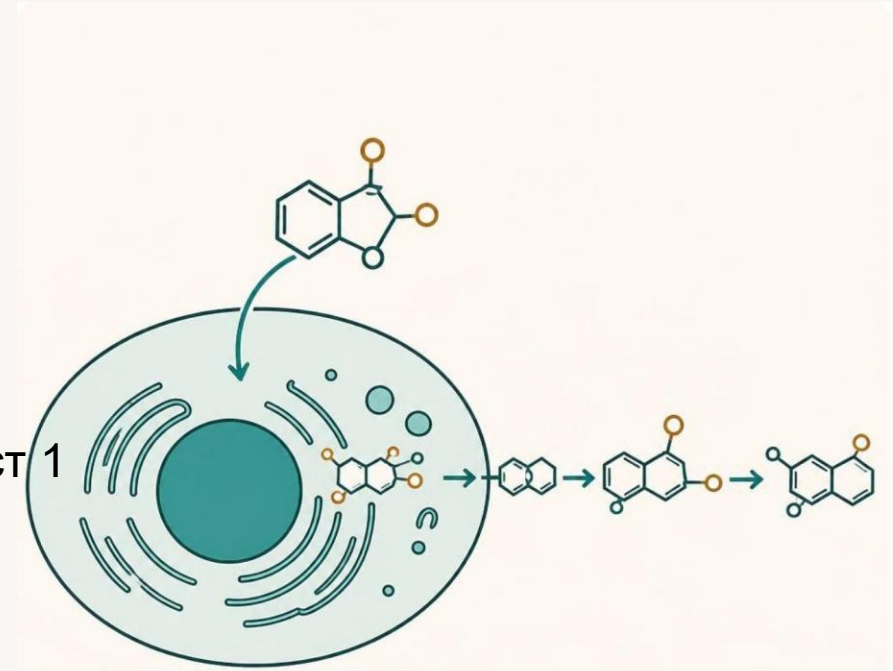
Биотрансформация и метаболизм ксенобиотиков

Здесь ваш текст 1



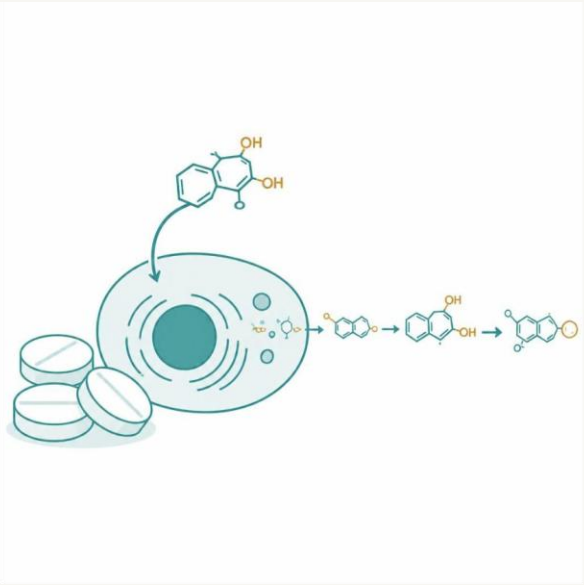
Лектор: к.х.н., ассоциированный профессор Литвиненко Ю.А.

Организм защищается от чужеродных веществ

Ксенобиотики — чужеродные организму химические соединения: лекарства, пестициды, добавки (синтетические консерванты и красители), токсины и загрязнители окружающей среды.

Фармакологическая судьба: скорость метаболизма определяет биодоступность, период полувыведения ($T_{1/2}$) и терапевтическое окно; судьба препарата в организме определяет дозу и безопасность.

Токсикологический барьер: пресистемный клиренс предотвращает неконтролируемое накопление гидрофобных молекул в органах и липидных депо.



Ксенобиотики требуют направленной ферментной нейтрализации

Путь ксенобиотика: от поступления до выведения

Четыре ключевых этапа фармакокинетического профиля (ADME)

01 Всасывание *(Absorption)*

Проникновение через мембраны ЖКТ, кожи или дыхательных путей.

02 Распределение *(Distribution)*

Кровоток, связывание с альбуминами и диффузия в ткани.

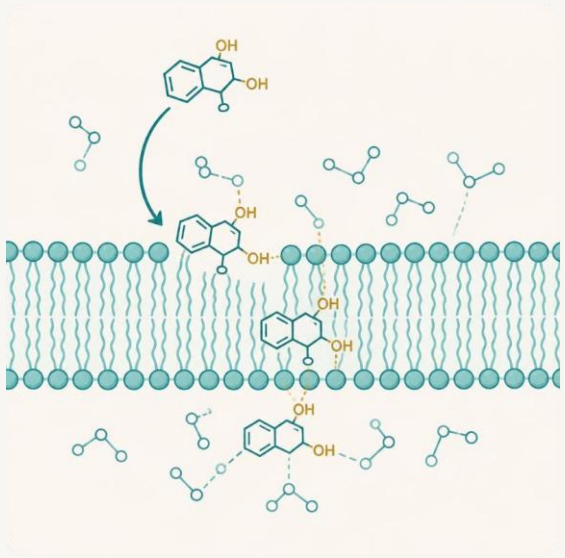
03 Метаболизм *(Metabolism)*

Преимущественно в печени: образование гидрофильных метаболитов.

04 Выведение *(Excretion)*

Метаболиты и неизменённое вещество: с мочой, желчью или выдыхаемым воздухом.

Цель биотрансформации: сделать вещество водорастворимым



Полярность определяет возможность почечной фильтрации

ИСХОДНОЕ СОСТОЯНИЕ

Липофильные соединения

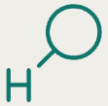
Проникают и задерживаются в мембранах и жировой ткани; реабсорбируются в почечных канальцах.

РЕЗУЛЬТАТ МЕТАБОЛИЗМА

Гидрофильные метаболиты

Полярные молекулы хуже проходят через мембраны и легче выводятся с мочой или желчью.

Две фазы метаболизма и их роль



ФАЗА I · ФУНКЦИОНАЛИЗАЦИЯ

Введение или демаскировка полярных групп

Модификация: присоединение групп -OH, -NH_2, -SH, -COOH.

Основные механизмы: окисление, восстановление, гидролиз.

Эффект: незначительный рост гидрофильности; подготовка субстрата для второй фазы.



ФАЗА II · КОНЪЮГАЦИЯ (СИНТЕЗ)

Присоединение эндогенных молекул

Ковалентное связывание с глюкуроновой кислотой, сульфатом, глутатионом или аминокислотами.

Основные ферменты: трансферазы (UGT, SULT, GST, NAT).

Эффект: резкое увеличение водорастворимости и полная инактивация большинства соединений.

Печень — главный орган биотрансформации

В гепатоцитах — максимальная плотность ферментных систем детоксикации в организме.

Эндоплазматический ретикулум

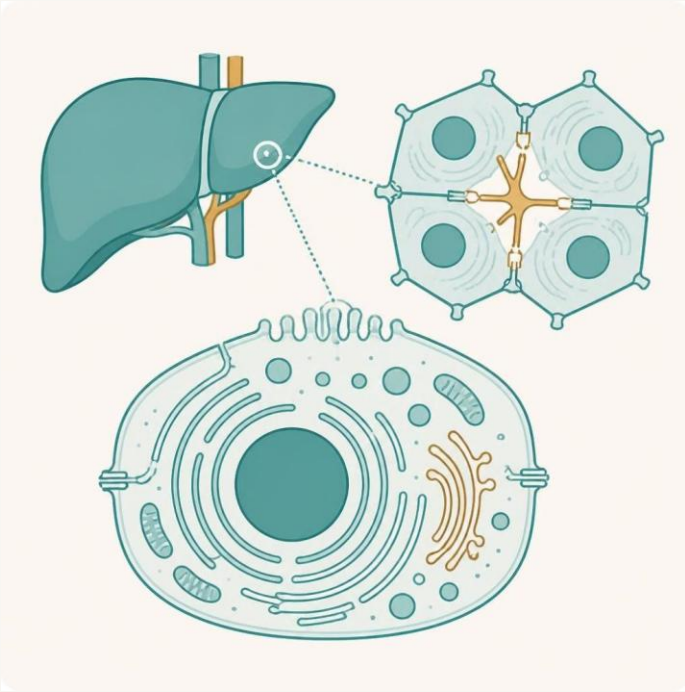
Микросомальная фракция: цитохром P450, FMO и UGT.

Цитозоль гепатоцитов

Ферменты конъюгации: сульфотрансферазы (SULT), GST, ацетилтрансферазы (NAT).

Экстрагепатический метаболизм

Стенка кишечника (пресистемный барьер), почки, лёгкие, плазма крови и кожа.



Свыше 70% перорально принятых ксенобиотиков трансформируются в печени

Реакции фазы I

Три пути модификации исходной структуры

Путь	Реакции	Ферменты
Окисление Монооксигеназные реакции	Алифатическое и ароматическое гидроксилирование; N- и O-деалкилирование; эпоксидирование и сульфоксидирование	CYP450, FMO, алкогольдегидрогеназа
Восстановление Редуктазные пути	Нитрогруппы (\mathrm{-NO_2 \rightarrow -NH_2}), азосоединения (\mathrm{-N=N-}); карбонильное восстановление кетонов	Нитро- и азоредуктазы, альдокеторедуктазы
Гидролиз Расщепление связей	Сложные эфиры (эстеразы), амидные связи (амидазы); гидратация эпоксидов (эпоксидгидролазы)	Карбоксилэстеразы плазмы и печени

Цитохром P450: основной фермент фазы I

Суперсемейство железосодержащих гемопротеинов микросом

$$\mathrm{RH} + \mathrm{O_2} + \mathrm{NADPH} + \mathrm{H^+} \xrightarrow{\mathrm{CYP450}} \mathrm{ROH} + \mathrm{H_2O} + \mathrm{NADP^+}$$

RH — липофильный ксенобиотик; **ROH** — окисленный полярный метаболит.

O_2: 1 атом включается в субстрат, 1 — в воду. **NADPH** — источник электронов через редуктазу.

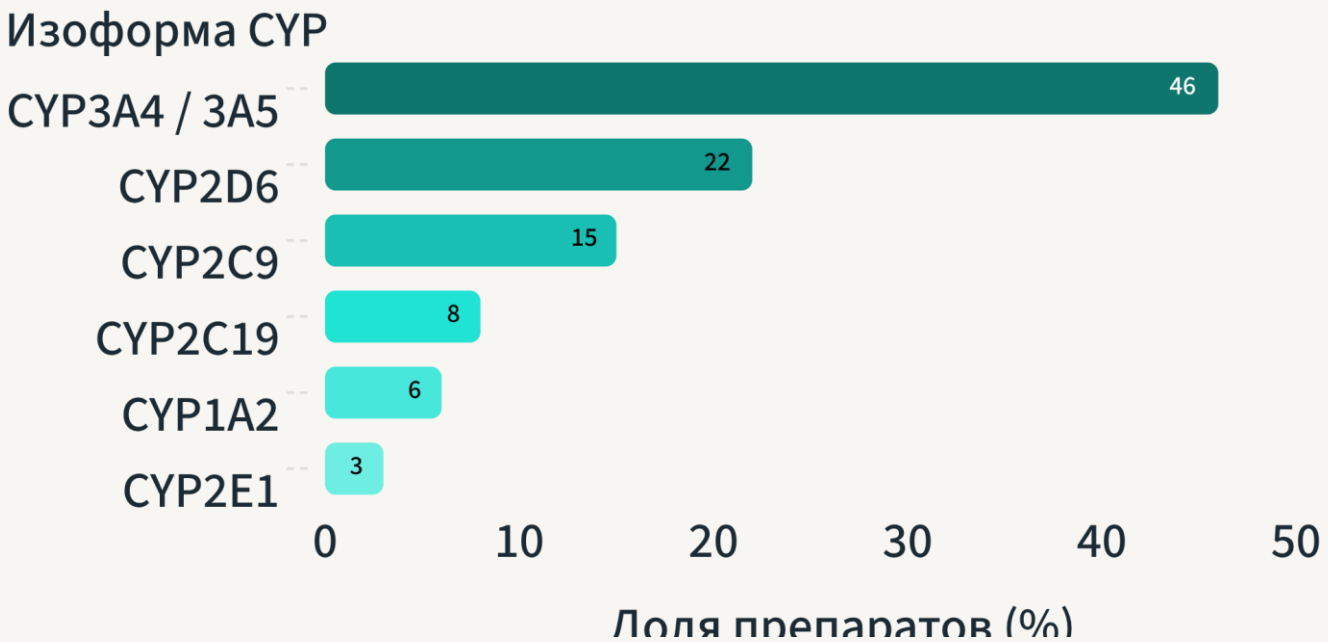
Спектральное свойство

Название P450 обусловлено максимумом поглощения комплекса восстановленного гема с монооксидом углерода (CO) при длине волны **450 нм**.

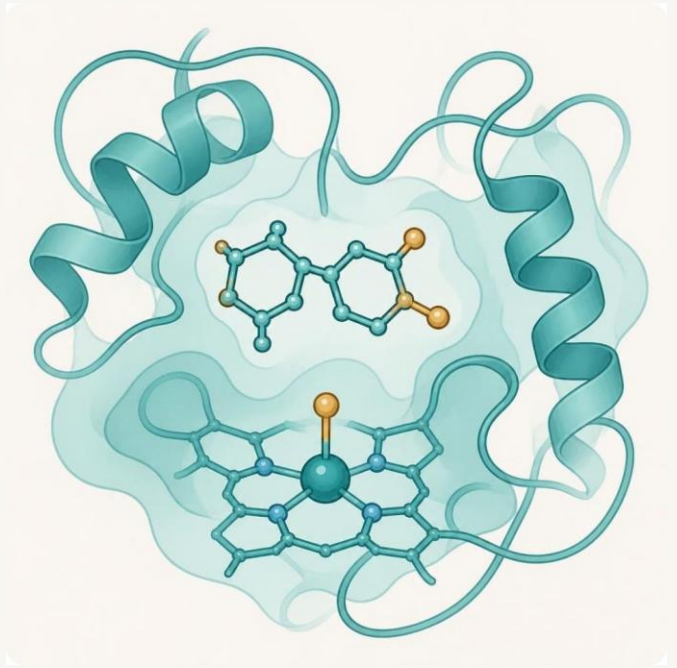
Локализован в мембране гладкого эндоплазматического ретикулума гепатоцитов.

Ключевые изоформы CYP и их субстраты

Ориентировочная доля лекарственных препаратов, метаболизируемых изоформами CYP (%)



CYP3A4 — универсальный метаболизатор половины современного реестра ЛС.



CYP2D6 и CYP2C9 отличаются высоким полиморфизмом в популяции

Другие ферменты фазы I

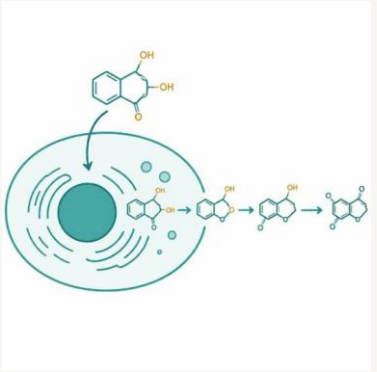
Микросомальные и немикросомальные системы помимо цитохрома P450

Флавинсодержащие монооксигеназы (FMO) — микросомальные; окисляют нуклеофильные атомы азота, серы и фосфора (никотин, циметидин); не индуцируются ксенобиотиками.

Алкоголь- и альдегиддегидрогеназы (ADH / ALDH) — цитозольные; окисляют алифатические и ароматические спирты до альдегидов и далее до карбоновых кислот (этанол, метанол).

Моноаминоксидазы (MAO-A, MAO-B) — митохондриальные; окислительное дезаминирование эндогенных нейромедиаторов и экзогенных аминов.

Карбоксилэстеразы и амидазы — в плазме, печени и тканях; важны для быстрого гидролиза эфирных пролекарств.



FMO и эстеразы не зависят от индукторов CYP450

Реакции фазы II: конъюгация

Трансферазные реакции присоединения гидрофильных эндогенных кофакторов

Глюкуронирование

Фермент: УДФ-глюкуронозилтрансфераза (UGT)

Донор: УДФ-глюкуроновая кислота (UDP-GA)

Субстраты: морфин, парацетамол, билирубин

Сульфатирование

Фермент: сульфотрансфераза (SULT)

Донор: фосфоаденозинфосфосульфат (PAPS)

Субстраты: стероиды, фенолы, метилдопа

Глутатионирование

Фермент: глутатион-S-трансфераза (GST)

Донор: восстановленный глутатион (GSH)

Субстраты: электрофилы, NAPQI, эпоксиды

Ацетилирование

Фермент: N-ацетилтрансфераза (NAT1, NAT2)

Донор: ацетил-КоА

Субстраты: изониазид, сульфаниламиды

Метилирование

Фермент: метилтрансферазы (COMT, TPMT)

Донор: S-аденозилметионин (SAM)

Субстраты: катехоламины, тиопурины

Глутатион защищает клетку от NAPQI

ПАРАЦЕТАМОЛ (АЦЕТАМИНОФЕН): ПУТИ МЕТАБОЛИЗМА

ОСНОВНОЙ ПУТЬ (90–95%)

Прямая конъюгация через **UGT** и **SULT**: нетоксичные глюкурониды и сульфаты выводятся почками.

МИНОРНЫЙ ПУТЬ (5–10%)

Окисление через **CYP2E1** образует высокореактивный электрофильный токсин **NAPQI** (N-ацетил-p-бензохинонимин), атакующий тиоловые группы белков.

ЗАЩИТНЫЙ БАРЬЕР

Глутатион (**GSH**) связывает NAPQI через **GST**. При передозировке пул GSH истощается (>70%), вызывая массивный некроз печени.

АНТИДОТНАЯ ТЕРАПИЯ

N-ацетилцистеин (NAC) стимулирует синтез эндогенного глутатиона и напрямую инактивирует свободный NAPQI.

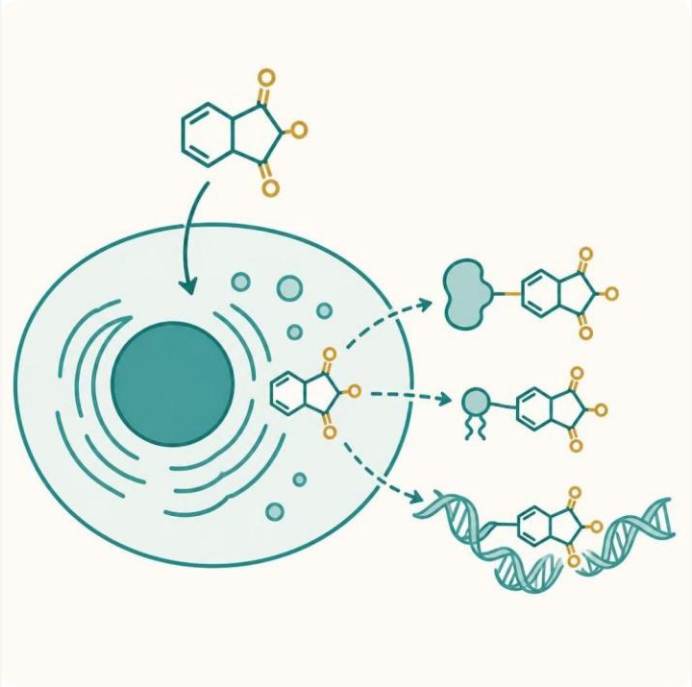
Метаболизм иногда повышает токсичность

Метаболическая активация (летальный синтез) превращает малотоксичное исходное соединение в цитотоксин, мутаген или канцероген.

Электрофилы: эпоксиды, хиноны и диазосоединения с дефицитом электронов атакуют нуклеофильные центры.

ДНК: ковалентное связывание и образование ДНК-аддуктов (бензо[a]пирен, афлатоксин B1) приводят к мутациям и онкогенезу.

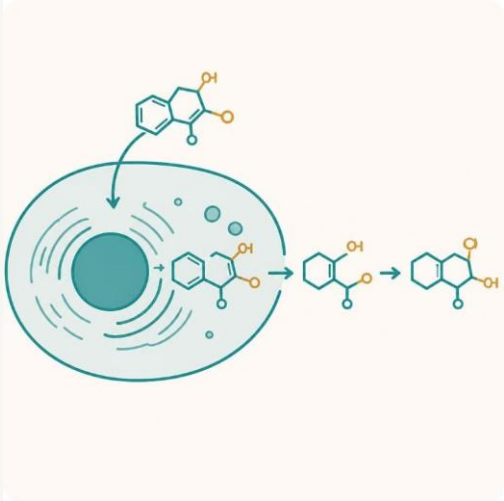
Белки и окислительный стресс: связывание с митохондриальными белками, инактивация ферментов и истощение пула антиоксидантов.



Метаболическая активация проканцерогенов ферментами фазы I

Пролекарства активируются метаболизмом

Пролекарство (prodrug) — неактивная форма, высвобождающая активный агент при биотрансформации в организме.



Дизайн пролекарств оптимизирует липофильность и биодоступность

КОДЕИН → МОРФИН

О-деметилирование через CYP2D6. Кодеин обладает слабым анальгетическим действием; около 10% дозы превращается в морфин изоформой CYP2D6.

ЭНАЛАПРИЛ → ЭНАЛАПРИЛАТ

Эстеразный гидролиз. Полярный эналаприлат плохо всасывается в ЖКТ; этиловый эфир эналаприл легко проходит эпителий и гидролизуется карбоксилэстеразами печени.

Индукция и ингибирование ферментов меняют действие препаратов

Итог: фармакокинетические межлекарственные взаимодействия (DDI).

ИНДУКЦИЯ · ↑ СИНТЕЗА

Ускорение метаболизма: активация PXR, CAR, AhR повышает экспрессию белков цитохрома.

Индукторы: рифампицин, карбамазепин, фенобарбитал, зверобой.

Эффект: концентрация сопутствующего ЛС падает ниже терапевтического уровня; терапия неэффективна.

ИНГИБИРОВАНИЕ · ↓ АКТИВНОСТИ

Замедление клиренса: конкурентное связывание в активном центре или необратимая инактивация фермента.

Ингибиторы: кетоконазол, кларитромицин, сок грейпфрута (фуранокумарины).

Эффект: резкий рост AUC и Cmax, накопление препарата и тяжёлая токсичность.

На метаболизм влияют генетика, возраст и болезни

Факторы межиндивидуальной вариабельности фармакокинетики

Генетический полиморфизм

4

Мутации CYP2D6, CYP2C19, CYP2C9 и NAT2 формируют 4 фенотипа: медленные (PM), промежуточные (IM), быстрые (EM) и сверхбыстрые (UM).

Возрастные особенности

Новорождённые: незрелость UGT; риск «серого синдрома» при назначении хлорамфеникола.

Пожилые: снижение печёночного кровотока, массы органа и активности фазы I на 20–40%.

Заболевания органов

Цирроз и гепатит: снижен клиренс препаратов с высоким печёночным захватом.

Сердечная недостаточность: венозный застой в печени замедляет метаболизм веществ с перфузионно-зависимым клиренсом.

Что это даёт технологу фармпроизводства

Лекарственные формы. Трансдермальные системы (ТТС), сублингвальные таблетки, назальные спреи и ректальные формы позволяют обойти пресистемный метаболизм и первичный печёночный клиренс.

Дизайн пролекарств. Гидролизуемые эфирные связи или пептидные спейсеры повышают кишечную проницаемость и обеспечивают селективную органную активацию.

Метаболическая стабильность и безопасность. Метаболиты изучают *in vitro* на микросомах печени человека (HLM) при раннем скрининге активных фармацевтических субстанций.



Рациональный дизайн готовых лекарственных форм (ГЛФ)

Главное: две фазы — один результат

Модификация (Фаза I)

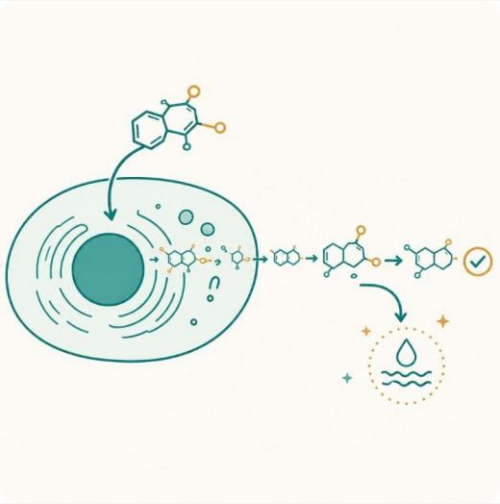
Окисление, восстановление и гидролиз (преимущественно CYP450) создают полярную функциональную группу.

Конъюгация (Фаза II)

Связывание с глюкуронатом, сульфатом или глутатионом резко повышает гидрофильность и обеспечивает выведение.

Прикладной итог

Метаболизм определяет биодоступность, режим дозирования, межлекарственные взаимодействия и токсичность лекарств.



Безопасная и эффективная фармакотерапия