

9. Биотрансформационни процеси, реакции, ензими, субстрати, включени във II фаза

Доц. д-р М. Мичева дм

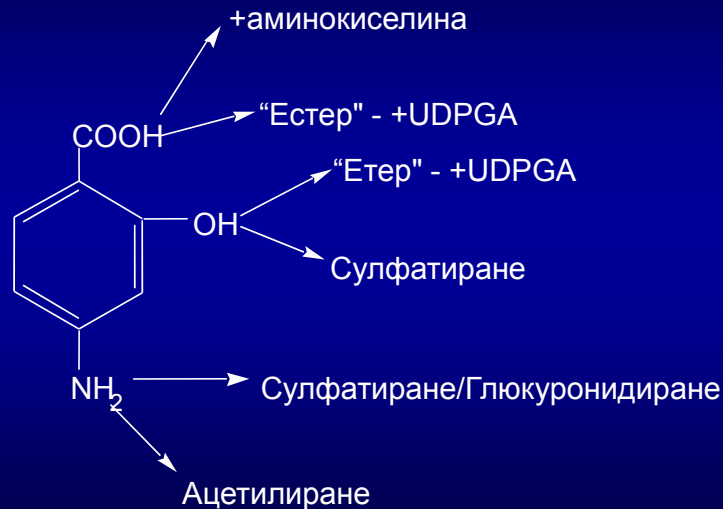
9.1.

II Фаза: реакции на конюгиране

Реакция	Кофактор	Място на конюгиране
1. Глюкурониране	Уридин-дифосфо- -глюкуронова киселина (UDPGA)	ОН, NH ₂ , COOH, SH
2. Глюкозидация	UDP-глюкоза	ОН, COOH, SH
3. Сулфатиране	3'-фосфоаденозин- 5'-фосфосулфат (PAPS)	ОН, NH ₂
4. Глутатионово конюгиране	Глутатион	електрофили
5. Метилиране	S-аденозилметионин (SAM)	ОН, NH ₂
6. Ацетилиране	Ацетил CoA	ОН, NH ₂ , SH
7. Конюгиране с аминокиселини	Ацетил CoA, Аминокиселина	COOH

9.2.

p-Аминосалицилова киселина – пътища на конюгиране



9.3.

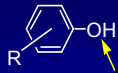
1. Глюкуронидиране...

- **Основен метаболитен път на II-та фаза.**
Процес с висок капацитет и със слаб субстратен афинитет
Локализация – микрозомни (черен дроб и др. тъкани)
- **Ензим - UDP-глюкуронил трансфераза (UDPGT) образува глюкурониди от съединения (агликони) при O-, N-, S-, C-атом в присъствието на UDPGA ;**
Съществуват 6 форми UDPGT в черния дроб при човека.
 - **Кофактор:** UDPGA (Уридин-дифосфо-глюкуронова киселина)
 - **Индуктори:** фенобарбитал, индоли, 3-метилхолантрен, цигарен дим
 - **Субстрати:** метадон, морфин, p-нитрофенол, валпроена киселина, нестероидни противовъзпалителни, стероидни хормони, билирубин, хлорамфеникол, Diazepam, парацетамол и др.

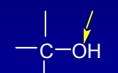
9.4.

Реакции на глюкуронидиране

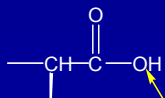
O-glucuronides



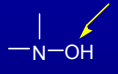
Phenols



Alcohols

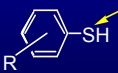


Carboxylic acid

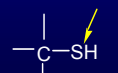


Hydroxylamine

S-glucuronides



Thiophenols

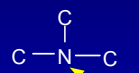


Thiols

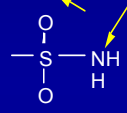
N-glucuronides



Aromatic amine

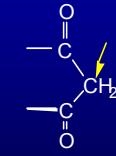


Tertiary amines



Sulfonamides

C-glucuronides



1,3-Dicarbonyl compound

9.5.

Глюкуронидиране & глюкуронидаза

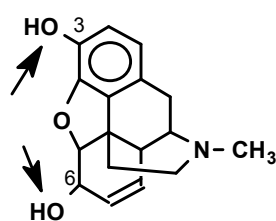
- Конюгатите се екскретират чрез жлъчката или урината (ММ)
- Ензим – глюкуронидаза, намираща се в микрофлората на ГИТ, отцепва глюкуроновата киселина
- Агликонът може да бъде реабсорбиран & претърпява enteroхепатален цикъл (морфинови глюкурониди)

9.6.

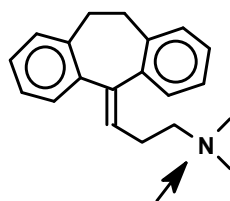
Глюкурониране & глюкуронидаза

- **Метаболитно биоактивиране на 2, 6-динитротолуен от глюкуронидзата**
 - глюкуронидазата отделя глюкуроновата киселина от N-глюкуронида
 - нитро групата се редуцира от микробналната N-редуктаза
 - в резултат хепатокарциногенът **2, 6-динитротолуен** се реабсорбира

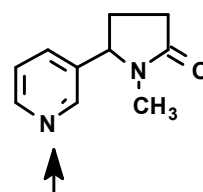
9.7.



Morphine



Amitriptyline



Cotinine

Конюгиране с глюкуронова киселина – феноли,
третични и ароматни амини

9.8.

2. Сулфатиране...

- Сулфотрансферазите са широко представени ензими, участващи в II фаза на биотрансформацията
- Локализация: цитозол на черен дроб, ГИТ мукоза, бъбреци
- Кофактор: 3'-фосфоаденозин-5'-фосфосулфат (PAPS) (сулфатен донор)
- Продукти: водоразтворими конюгати, елиминирани чрез урина и жлъчка
- Субстрати: ксенобиотици & ендogenous съединения – алифатни алкохоли, феноли, ароматни амини, катехоламини, стероиди, въглехидроци, парацетамол, метилдопа)

9.9.

Сулфатиране...

- Процес, с висок афинитет и нисък капацитет, определящ се от ниските нива на PAPS
 - Парацетамол претърпява сулфатиране и глюкуронидиране
 - В ниски дози – сулфатиране
 - Във високи дози - глюкурониране

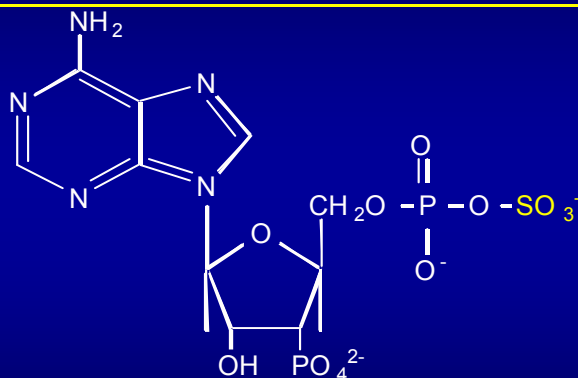
9.10.

Сульфатиране...

- 4 сулфотрансферази в цитозола на човешки черен дроб
- В ГИТ микрофлора – арил сульфатази отделят сулфатни групи – иницира се ентерохепатален цикъл
- Обикновено се намалява фармакологичен и/или токсичен ефект
- При химически нестабилен конюгат се активира до **карциноген**
 - Сульфати на хидроксиламина са нестабилни (2-AAF)

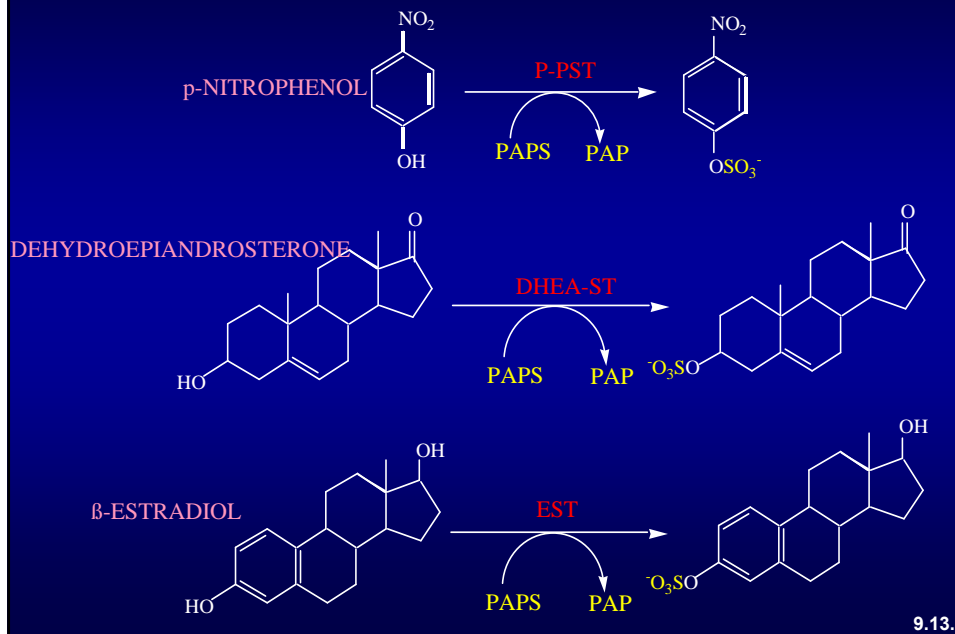
9.11.

Кофактор при сульфатиране: 3'-Фосфоаденозин 5'-Фосфосульфат (PAPS)

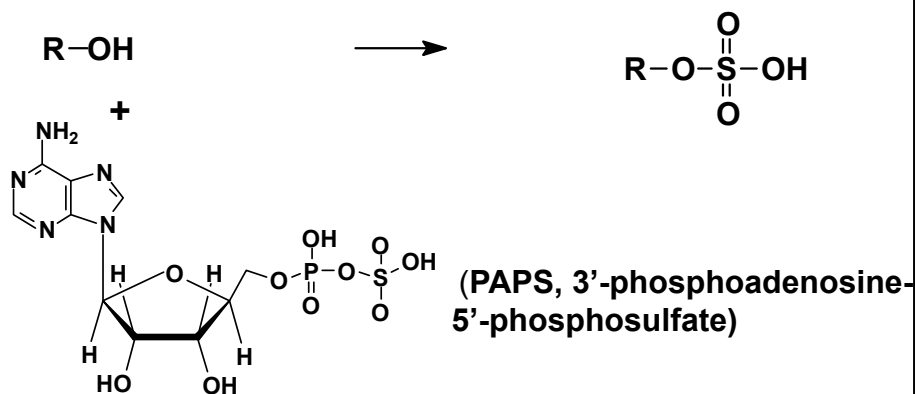


9.12.

Реакции чрез сулфотрансферази



Сульфатиране



Примери: етанол, p-хидроксиацетанилд, 3-хидроксикумарин

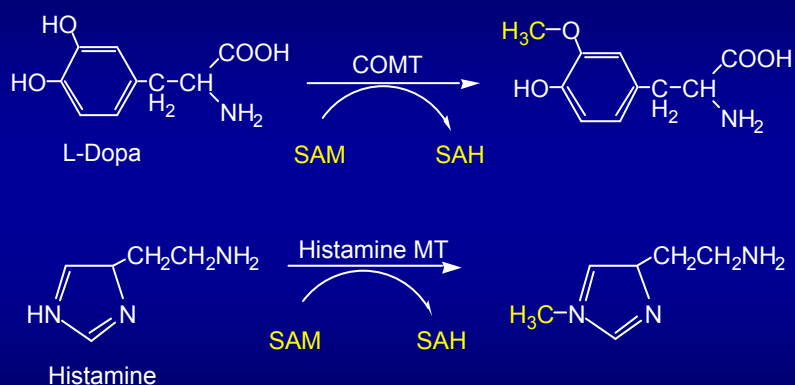
9.14.

3. Метилиране...

- Второстепенен път на метаболизиране
- Локализация: цитозол, ендоплазматичен ретикулум?
- Метилтрансфераза
 - Кофактор: *S*-аденозилметионин (SAM)
 - $-CH_3$ трансфер към *O*, *N*, *S*, *C*
- Субстрати – много ендогенни и екзогенни: феноли, катехоламини, тежки метали (Hg, As, Se, Pb, Ta)

9.15.

Реакции на метилиране



9.16.

Метилиране & генетичен полиморфизъм

- Няколко типа метилтрансферази се намират в човешките тъкани
 - Фенол *O*-метилтрансфераза
 - Катехол *O*-метилтрансфераза - екзогенни и ендогенни катехоли
 - *N*-метилтрансфераза
 - Тиол-*S*-метилтрансфераза (микрозоми на черен дроб, бял дроб, бъбрек)

9.17.

4. Ацетилиране...

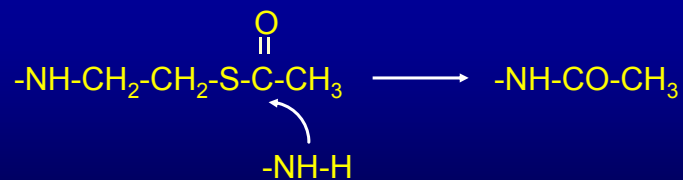
- Основен път за биотрансформация на ароматни амини и хидразини.
- Локализация: митохондрии, цитозол на черен дроб и др. тъкани
- Основно намалява водоразтворимостта
- *N*-ацетилтрансфераза (NAT)
 - Кофактор: AcetylCoenzyme A
- При човека – 2 форми – **NAT1** и **NAT2** (предимно в черния дроб и ГИТ)
- Субстрати: сулфаниламид, изониазид, дапзон, клоназепам

9.18.

Реакция с ацетилтрансфераза



Кофактор: асetyl соензиме А (продукт на основния метаболизъм)



9.19.

Ацетилтрансфераза & Генетичен полиморфизъм

Европа: 40 % бързи ацетилатори
 60 % бавни ацетилатори

Азия: 80 % бързи ацетилатори

Ескимоси: 96 % бързи ацетилатори

9.20.

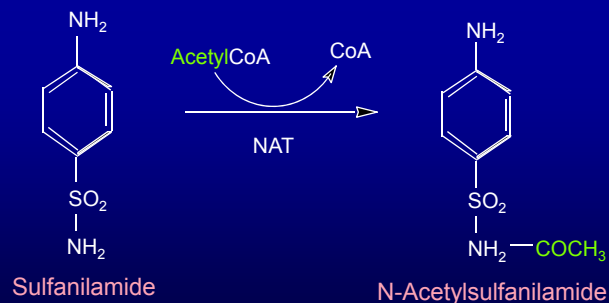
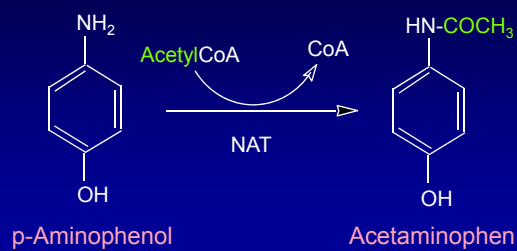
Ацетиране & Генетичен полиморфизъм

- Бързи и бавни ацетилатори
 - Лекарствена токсичност при бавните ацетилатори – периферна невропатия

Рак на пикочния мехур при пушачи поради повишени нива на хидроксиламини

9.21.

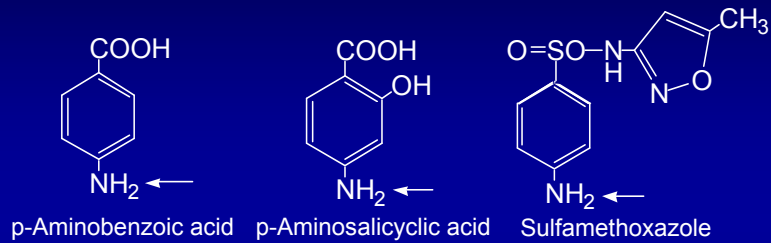
Ацетиране



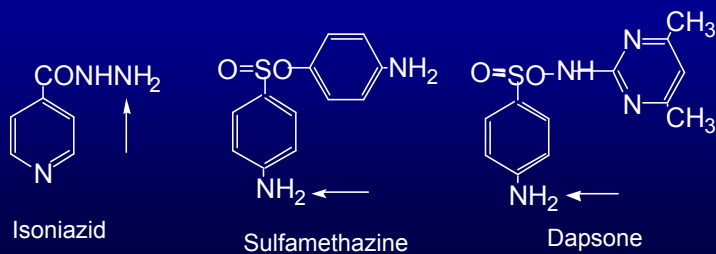
9.22.

АЦЕТИРАНЕ – NAT1 И NAT2

N-Acetyltransferase 1 Substrates

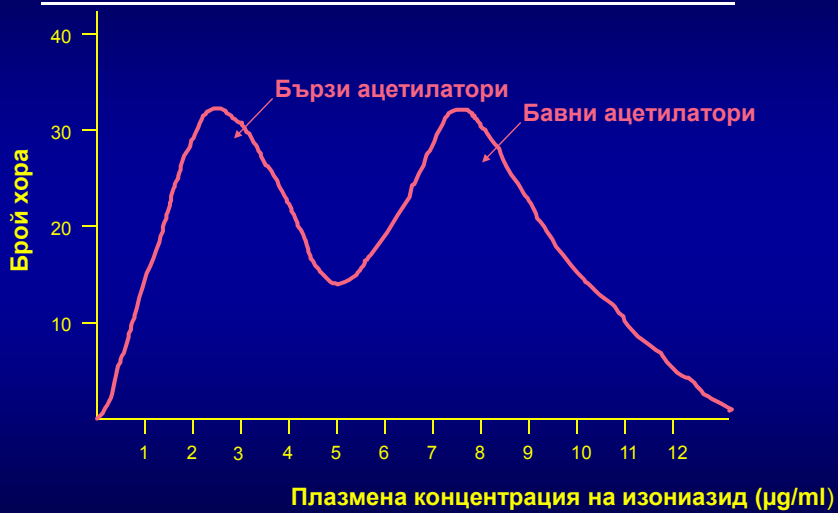


N-Acetyltransferase 2 Substrates



9.23.

Бифазно разпределение на изониазидното ацелиране от NAT2



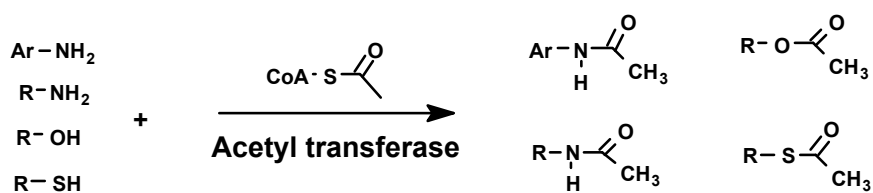
9.24.

Полиморфизъм при ацетирането: NAT1 and NAT2

Ензим	Алел	Честота на алелите		
		Кавказка раса	Афро-Американци	Азиатска раса
NAT1	1*3	2.5	4.0	3.2
	1*4	75	54	56
	1*10	20	42	42
	1*14	2.5	0	0
	1*15	1.0	0	0
	1*17	1.5	0	0
NAT2	2*4	25	39	68
	2*5	45	30	6.0
	2*6	29	19	27
	2*7	2.0	3.0	14
	2*12	2.0	----	----
	2*14	0.2	8.5	0.5

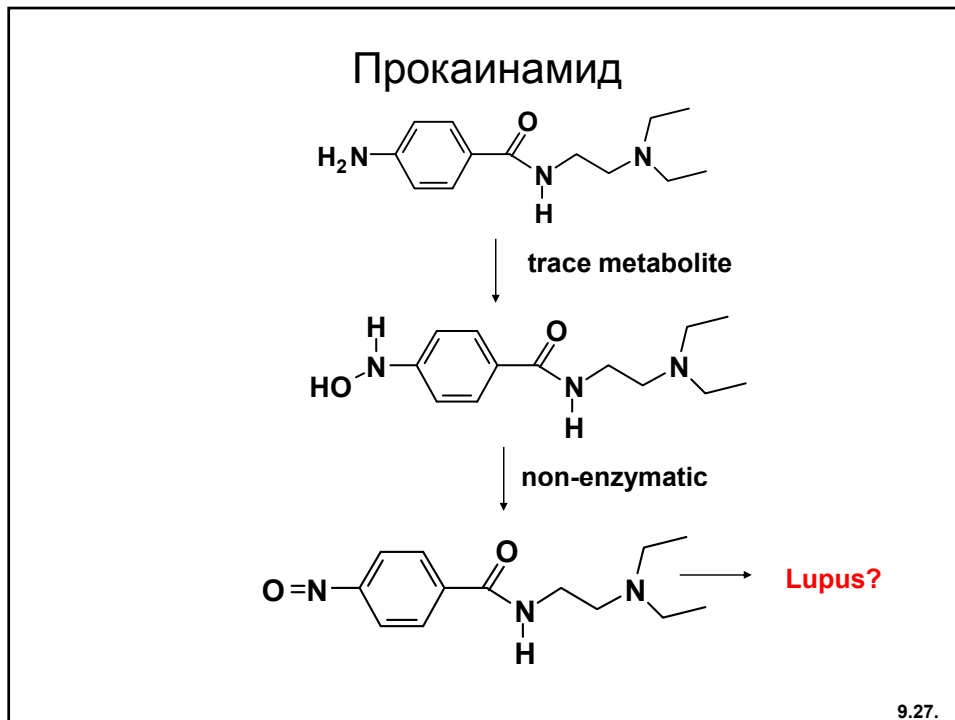
9.25.

Ацетиране



Субстрати: прокаинамид, изониазид, хистамин

9.26.



5. Конюгиране с аминокиселини...

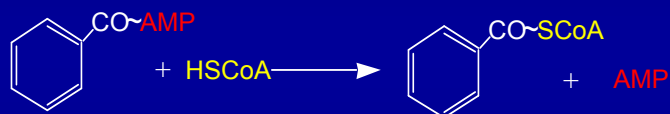
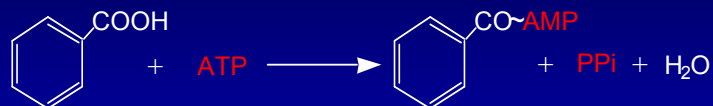
- Алтернативен път на глюкуронидирането
- Локализация: митохондрии, микрозоми
- 2 основни пътя
 - -COOH група от субстрата се конюгира с -NH₂ от глицин, серин, глутамат и изисква АТФ и активиране на CoA
 - Ароматна -NH₂ група или NHOH се конюгира с -COOH група от серин, пролин, изисква АТФ активиране

Например: конюгиране на бензоена киселина с глицин и образуване на хипурова киселина

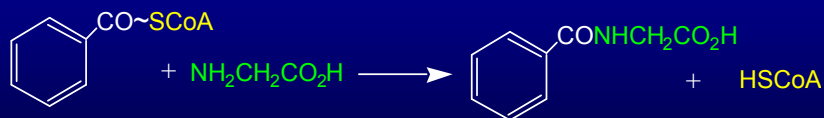
9.28.

Механизъм на конюгиране с аминокиселини

Acyl CoA Synthetase



Acyl CoA:Amino Acid N-Acyltransferase



9.29.

Конюгиране с аминокиселини

- Субстрати: жлъчни киселини, NSAIDs
- Видова специфичност за аминокиселините
 - бозайници: глицин (бензоена киселина)
 - птици: орнитин (бензоена киселина)
 - кучета, котки: таурин (жлъчни киселини)
 - примати: глутамин
- **Метаболитно активиране**
 - Серин или пролин *N*-естери на хидроксиламина са нестабилни и се разпадат на токсични метаболити – реактивни електрофили

9.30.

6. Конюгиране с глутатион

ОСНОВНА ХАРАКТЕРИСТИКА

1. GSH е трипептид, съдържащ глутаминова киселина (GLU), цистеин (CYS) & глицин (GLY) – свързани чрез пептидна връзка. **Една от най-важните молекули в клетъчната защита срещу токсичните съединения.**
2. Ензими, участващи в синтеза на глутатиона: глутамилцистеин синтетаза и глутатион синтетаза.
3. Намира се в най-голямо количество в хепатоцита, където достига до концентрация и повече от 5mM (бозайници).
Локализация: микрозомни, цитозол.
4. **GSH действа като нуклеофил** за спонтанно свързване с електрофили. Основно значение има -SH групата при CYS, която е нуклеофилна и така GSH реагира като тиолатен йон (GS^-) с електрофила.

9.31.

5. Скоростта и специфичността на **реакцията на свързване на GSH със съответния субстрат** зависи от съответния изоензим на фамилията **глутатион S-трансферази (GSTs)**. Съществува генетичен полиморфизъм (най-малко 6 изоензимни форми).
6. GST са локализирани в цитозола и микрозомалната фракция на: черен дроб, бъбрек, ГИТ, тестиси и адренални жлези.
7. Свързването с глутатиона може да бъде и неензимно.
8. GSH конюгати се екскретират обикновено чрез жлъчката, порядко с урината.

9.32.

9. GSH конюгати могат да бъдат и **метаболизирани (разградени)**

Този процес включва няколко нива:

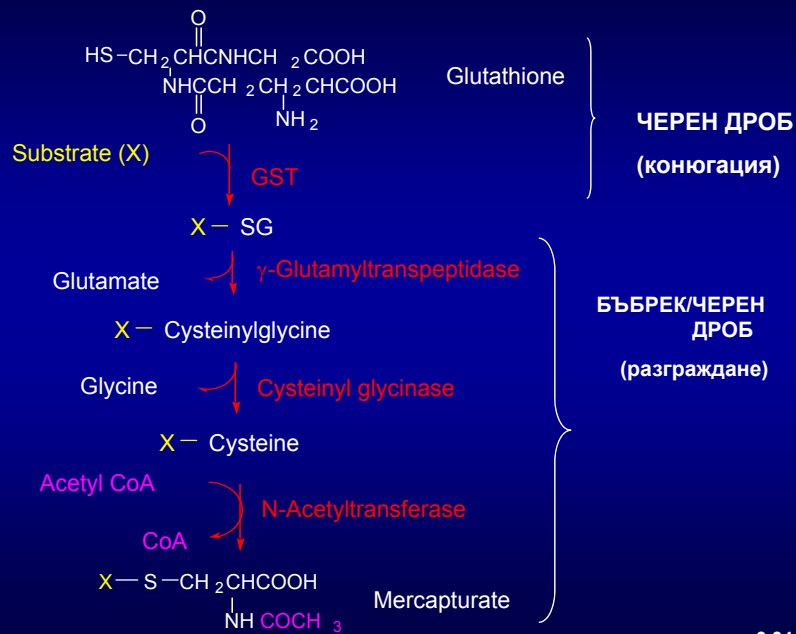
- отстраняване на **GLU** и **GLY** чрез
γ-глутамилтранспептидаза и
цистеинилглициназа

- ацетиране на амино групата на **CYS** до
получаване на меркаптурат (**N-ацетил-CYS**) чрез
N-ацетилтрансфераза

(вж. Схема "Механизъм на конюгиране с GSH и разграждане")

9.33.

Механизъм на конюгиране с GSH и разграждане



9.34.

Субстрати за конюгация с GSH

- GSH се свързва с *N*-ацетил-*p*-бензохинон имин (NAPQI) (реактивен метаболит на парацетамола) и го деактивира.
- GSH се свързва с тринитроглицерин и се образува:
 - окислен глутатион (GSSG), динитроглицерин, NO (вазодилатор)
- GSH редуцира хидропероксиди (продукти на простагландиновия метаболизъм) с участието на GST (глутатион-S-трансфераза).

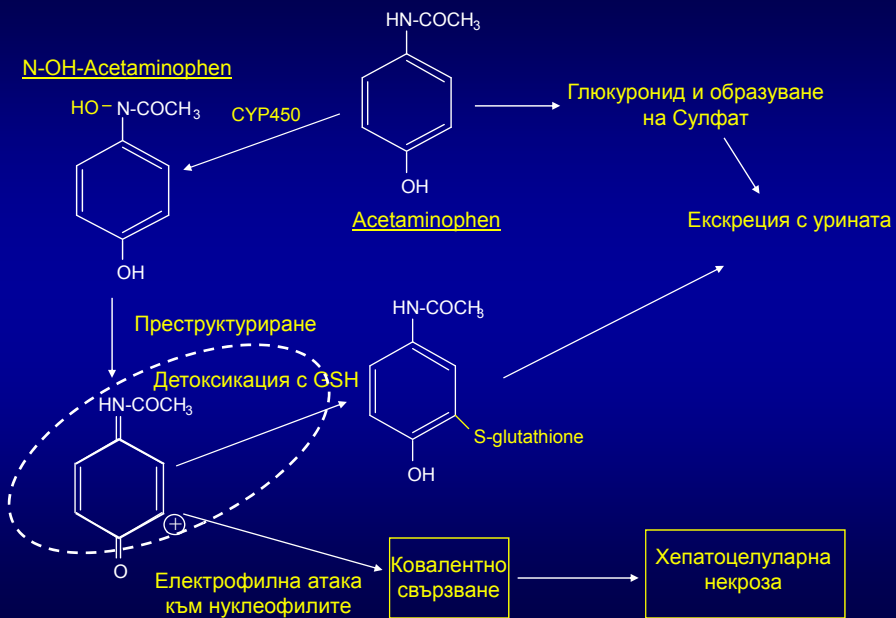
9.35.

Субстрати за конюгация с GSH

- Ароматни, алифатни, хетероциклени и алициклени **епоксиди**
- **Халогенирани** алифатни и ароматни съединения
- Ароматни **нитросъединения**
- **Ненаситени** алифатни съединения

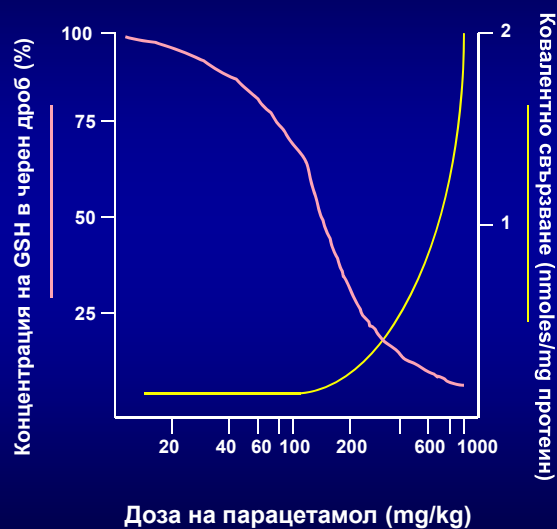
9.36.

Метаболизъм на Парацетамол (Acetaminophen)



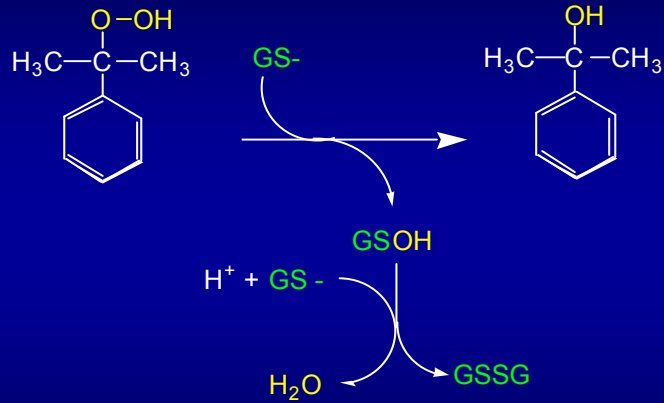
9.37.

Връзка между нивото на GSH и ковалентното свързване с парацетамол



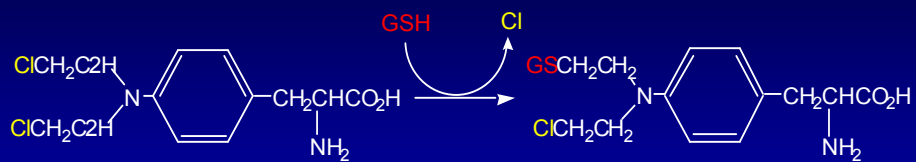
9.38.

GSH редуцира образувани хидропероксиди чрез GST

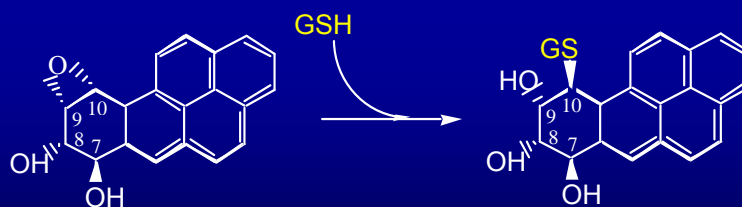


9.39.

Реакции на свързване с GSH



Нуклеофилно изместване на халогенен атом от GSH



Свързване на GSH с метаболити, съдържащи епоксидна връзка

9.40.