

METABOLISMO

I farmaci introdotti nell'organismo vengono trasformati prevalentemente enzimaticamente in uno o più derivati (metaboliti)

Organi e tessuti coinvolti nel metabolismo

- **fegato**
- stomaco e intestino
- reni
- polmoni
- tessuto nervoso
- plasma
- cute

Ruolo fisiologico della metabolizzazione

Le biotrasformazioni hanno il ruolo di neutralizzare:

- la potenziale tossicità delle sostanze introdotte con la dieta (xenobiotici)
- l'attività biologica di sostanze endogene quali neurotrasmettitori, ormoni, nucleosidi, etc...

Questo spiega la bassa specificità degli enzimi metabolizzanti per i loro substrati

Il metabolismo porta generalmente a prodotti più **idrofil**i che vengono **più rapidamente escreti per via renale** perché sono:

- **meno legati alle proteine plasmatiche**
- **meno riassorbiti a livello tubulare**

Attività biologica dei metaboliti

- scompare l'attività del farmaco
- viene mantenuta la stessa attività
- compare un'attività diversa che può essere utile o causa di effetti indesiderati
- compare l'azione desiderata
(**profarmaci**)

Reazioni metaboliche dei farmaci

➤ Reazioni di fase I o di funzionalizzazione

Viene introdotto nella molecola un nuovo gruppo funzionale o viene modificato un gruppo già presente

- **ossidazione**
- **riduzione**
- **idrolisi**

Reazioni metaboliche dei farmaci

➤ Reazioni di fase II o di coniugazione

Il farmaco o un suo metabolita della fase I viene condensato con un substrato endogeno (coniugante) per dare un glicoside, un estere, un'amide, un etere, etc (coniugato).

- **glicuranzione**
- **solfoconiugazione**
- **coniugazione ippurica**
- **mercapturazione**
- **acetilazione**
- **metilazione**

Nelle reazioni di fase I il farmaco viene convertito in un metabolita:

- di solito più idrofilo rispetto al farmaco
- contenente un gruppo funzionale che può servire come punto d'attacco per una coniugazione di fase II
- più attivo o meno attivo, con attività diversa o completamente inattivo rispetto al farmaco

Nelle reazioni di fase II il farmaco viene convertito in un metabolita:

- di solito più idrofilo rispetto al farmaco (più lipofilo nel caso di acetilazione e metilazione)
- spesso totalmente inattivo

Reazioni di fase I o di funzionalizzazione: ossidazione

1a) Reazioni di ossidazione microsomiali

enzimi localizzati nel *reticolo endoplasmatico liscio*
soprattutto degli **epatociti**

1b) Reazioni di ossidazione non microsomiali

enzimi localizzati nel *citosol* e nei *mitocondri*

Reazioni di fase I o di funzionalizzazione: ossidazione

1a) Reazioni di ossidazione microsomiali

- **Ossidazione di atomi di carbonio**
 - saturo
 - carboni esposti
 - attivati dalla vicinanza ad un carbonio sp^2 o sp
 - in α ad un eteroatomo
 - insaturo
- **Ossidazione di atomi di azoto**
- **Ossidazione di atomi di zolfo**
- **Ossidazione di atomi di fosforo**

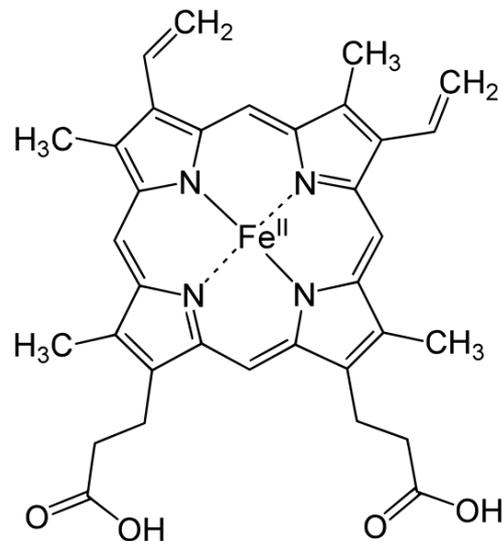
1b) Reazioni di ossidazione non microsomiali

- **Ossidazioni di alcoli ad opera della alcol deidrogenasi**
- **Ossidazioni di aldeidi ad opera aldeide deidrogenasi**
- **Deaminazione ossidativa ad opera della MAO**

1. Ossidazioni

1a) Reazioni di ossidazione microsomiali

- Catalizzate da **citocromi P450** (CYP450), monoossigenasi presenti nel sistema microsomiale epatico, intestinale, renale, polmonare e di altri tessuti.
- il sistema microsomiale è costituito dall'insieme di vescicole che si forma dalla frammentazione del reticolo endoplasmatico a seguito dell'omogenizzazione

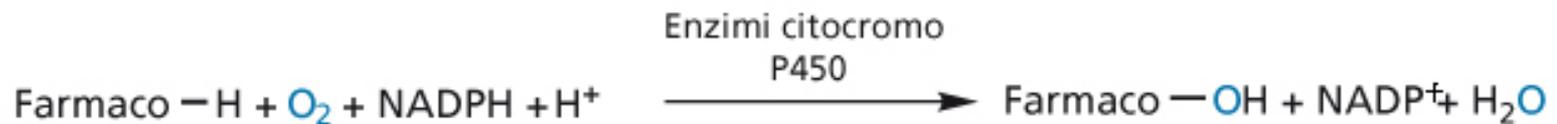


Ferroprotoporfirina IX

- Sono eme proteine
- Il Fe oscilla tra +2 e +3

- Utilizzano ossigeno molecolare come ossidante
- Sono accoppiati ad una reduttasi flavinica che utilizza il NADPH come riducente (CYP450 reduttasi)

Schema generale di una reazione di ossidazione catalizzata da un citocromo P450:

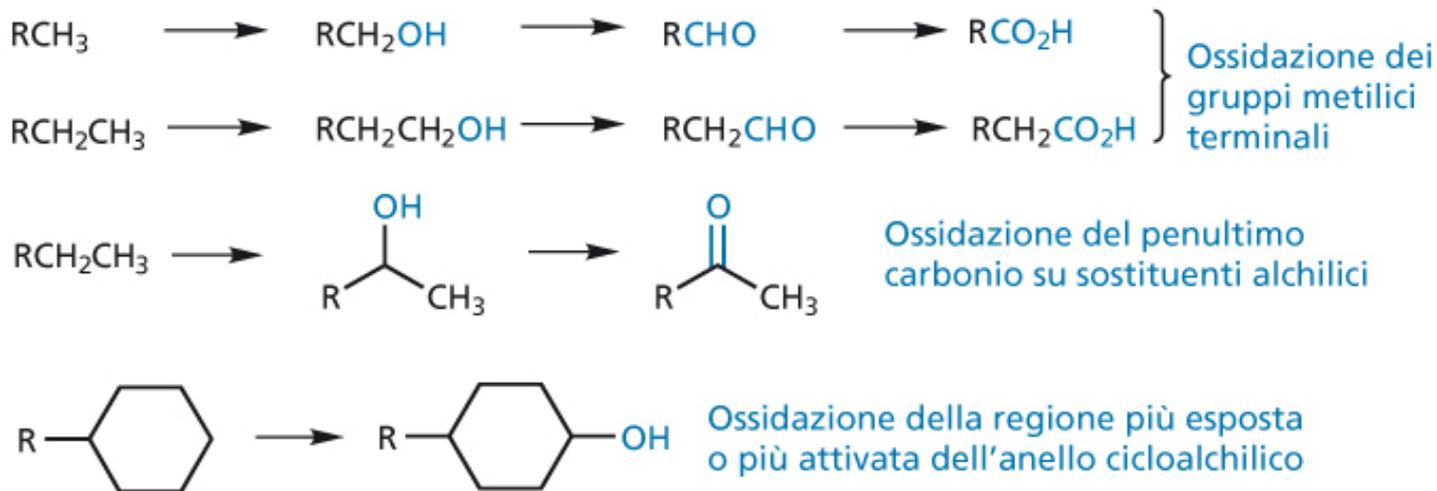


- Il nome è dovuto al fatto che sono enzimi intracellulari e che il complesso della forma ferrosa con il monossido di carbonio ha **colore rosa (pink)** ed un massimo d'assorbimento a 450 nm
- Almeno 33 diversi citocromi P450 raggruppati in 4 famiglie, designate con un numero (CYP1-4), sottofamiglie, designate da una lettera, e isoforme, designate da un altro numero
- CYP3A4 è responsabile del metabolismo di molti farmaci (circa 40%)
- l'attività dei CYP varia nelle diverse popolazioni, ma anche da individuo ad individuo. Alcuni individui possono anche essere privi di particolari isoforme enzimatiche

Reazioni di ossidazione catalizzate da CYP450 su carboni saturi

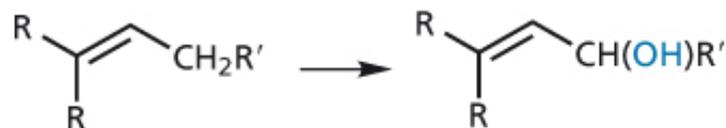
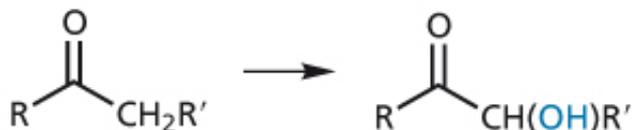
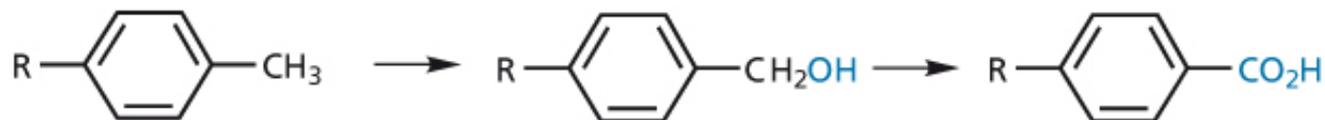
Vengono ossidati gli atomi di carbonio esposti, attivati dalla vicinanza ad un carbonio sp^2 o sp^1 , in α ad un eteroatomo

•Ossidazione di carboni saturi esposti



Ossidazione di gruppi alchilici esposti e regioni esposte di anelli cicloalchilici

• **Ossidazione di carboni saturi attivati dalla vicinanza ad un carbonio sp^2 o sp^1**



Ossidazione dei centri di carbonio attivati e prossimi a carboni sp e sp^2

• Ossidazione di carboni saturi in α ad un eteroatomo

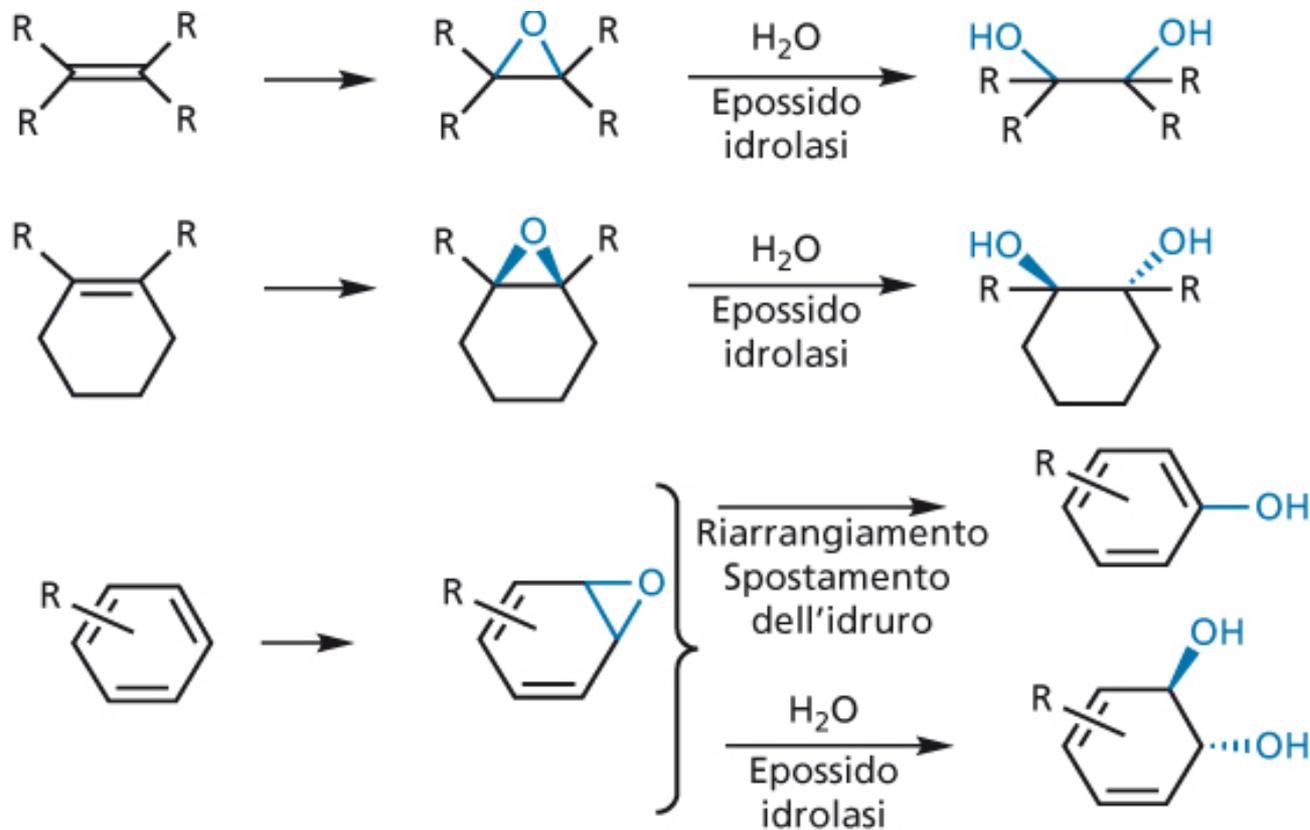


Dealchilazione di ammine, eteri e tioteri via ossidazione del carbonio attivato (incluso demetilazione R=H)



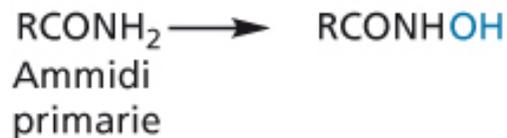
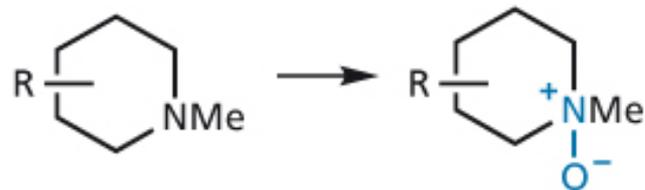
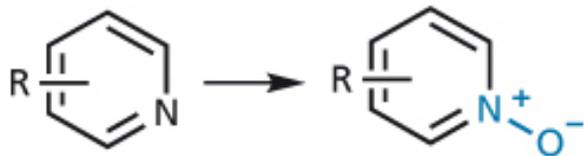
Dealogenazione di alogenuri alchilici

Reazioni di ossidazione catalizzate da CYP450 su carboni insaturi



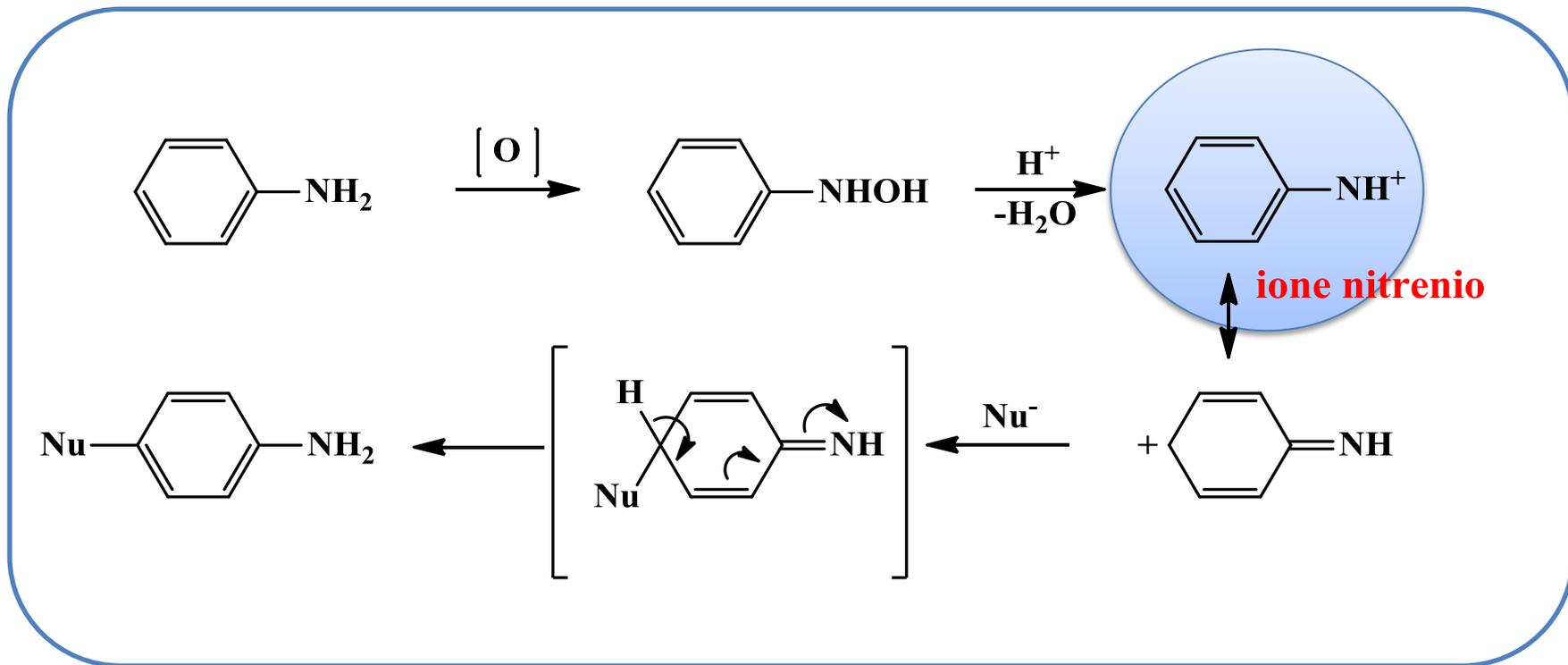
Ossidazione di alcheni ed anelli aromatici

Reazioni di ossidazione microsomiale catalizzate da CYP450 su atomi di azoto

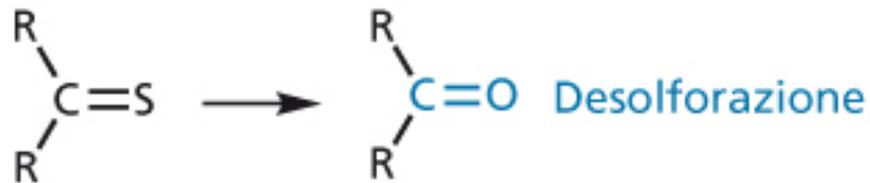
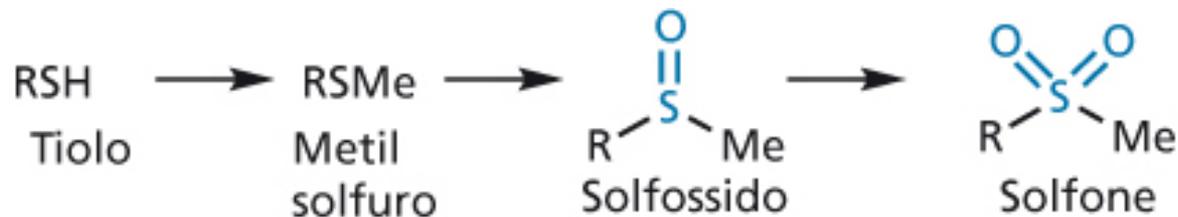


Ossidazione di gruppi funzionali contenenti azoto

Possibile tossicità delle amine primarie aromatiche



Reazioni di ossidazione catalizzate da CYP450 su atomi di zolfo e fosforo



Ossidazione di gruppi funzionali contenenti zolfo



Ossidazione di gruppi funzionali contenenti fosforo

Reazioni di fase I o di funzionalizzazione: ossidazione

1a) Reazioni di ossidazione microsomiali

- **Ossidazione di atomi di carbonio**
 - saturo
 - carboni esposti
 - attivati dalla vicinanza ad un carbonio sp^2 o sp
 - in α ad un eteroatomo
 - insaturo
- **Ossidazione di atomi di azoto**
- **Ossidazione di atomi di zolfo**
- **Ossidazione di atomi di fosforo**

1b) Reazioni di ossidazione non microsomiali

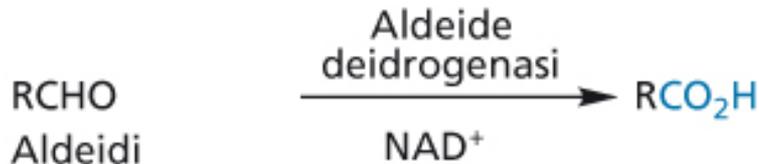
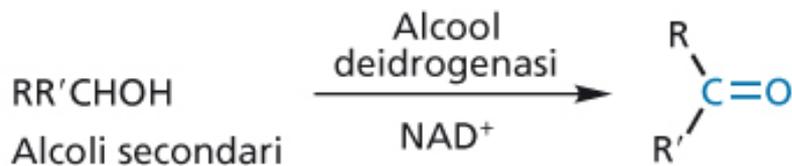
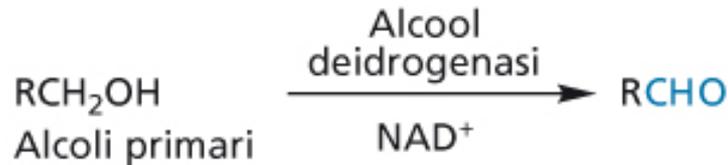
- **Ossidazioni di alcoli ad opera della alcol deidrogenasi**
- **Ossidazioni di aldeidi ad opera aldeide deidrogenasi**
- **Deaminazione ossidativa ad opera della MAO**

1b) Ossidazioni non microsomiali

Catalizzate da ossidasi mitocondriali e citosoliche

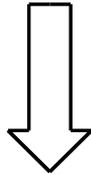
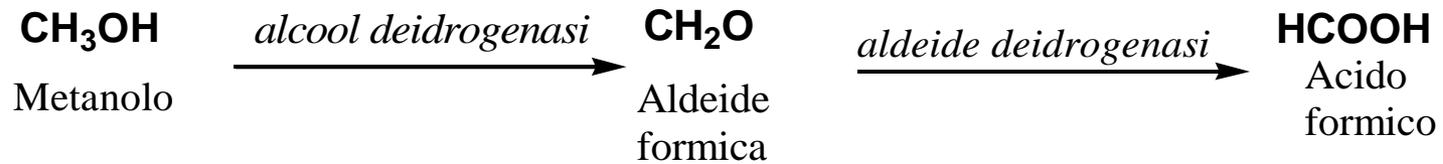
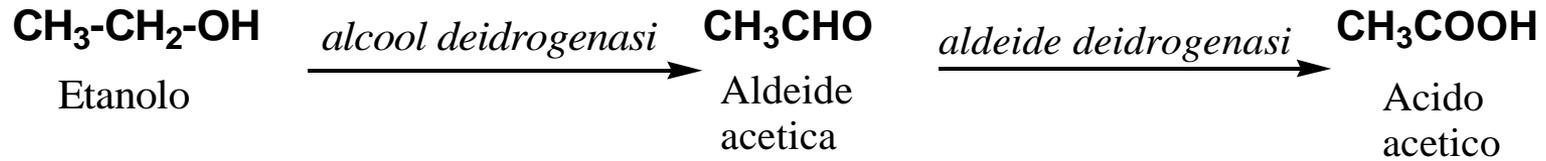
- **Ossidazioni di alcoli ed aldeidi ad opera di alcol deidrogenasi e di aldeide deidrogenasi**

Enzimi che utilizzano il NAD^+ o $NADP^+$ come agente ossidante piuttosto che O_2



Ossida la maggior parte degli alcoli primari

Ossida solo alcuni alcoli secondari

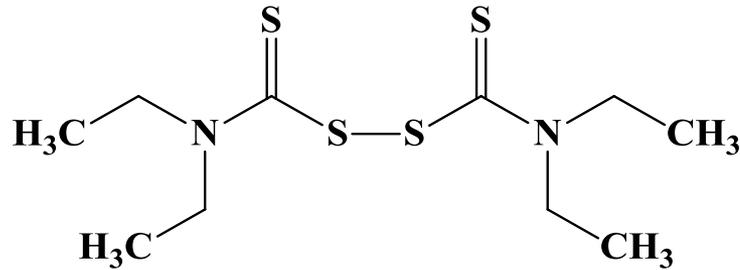


TOSSICO

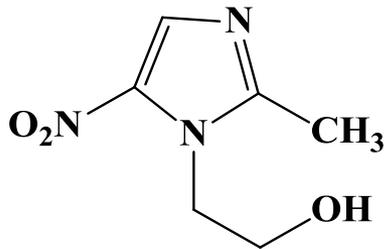


TOSSICO

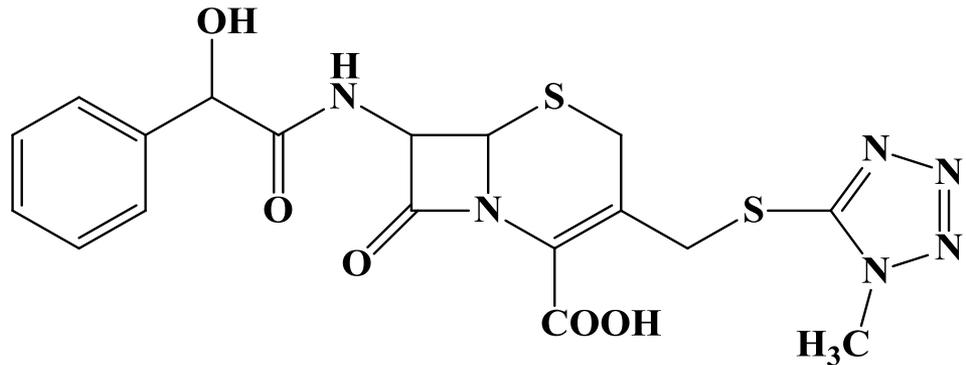
Inibitori dell'aldeide deidrogenasi



DISULFIRAN



METRONIDAZOLO



CEFAMANDOLO

Reazioni di fase I o di funzionalizzazione: ossidazione

1a) Reazioni di ossidazione microsomiali

- **Ossidazione di atomi di carbonio**
 - saturi**
 - carboni esposti
 - attivati dalla vicinanza ad un carbonio sp^2 o sp
 - in α ad un eteroatomo
 - insaturi**
- **Ossidazione di atomi di azoto**
- **Ossidazione di atomi di zolfo**
- **Ossidazione di atomi di fosforo**

1b) Reazioni di ossidazione non microsomiali

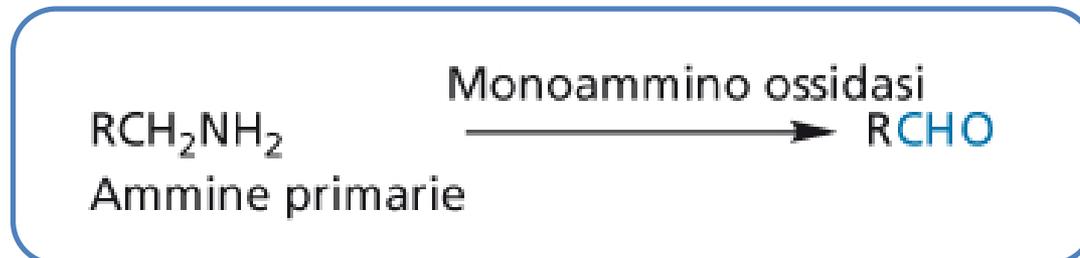
- **Ossidazioni di alcoli ad opera della alcol deidrogenasi**
- **Ossidazioni di aldeidi ad opera aldeide deidrogenasi**
- **Deaminazione ossidativa ad opera della MAO**

- **Deaminazione ossidativa ad opera delle monoamino ossidasi (MAO)**

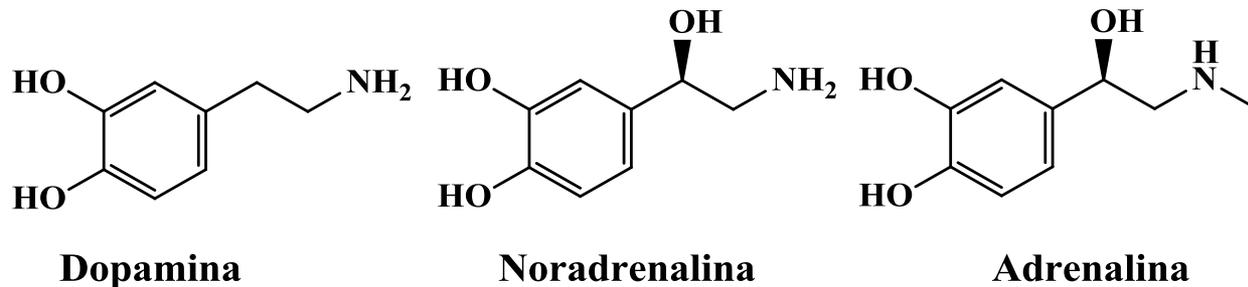
- Le **MAO** sono enzimi mitocondriali che utilizzano O_2 come ossidante e possiedono un gruppo prostetico flavinico

- Sono localizzate nei mitocondri di neuroni, fegato, mucosa intestinale e piastrine

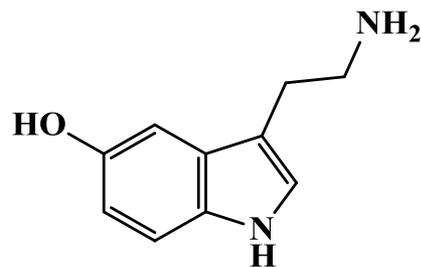
- Catalizzano la **deaminazione ossidativa** di amine primarie senza sostituenti sul carbonio in α (RCH_2NH_2) e di amine secondarie N-metil sostituite (RCH_2NHCH_3)



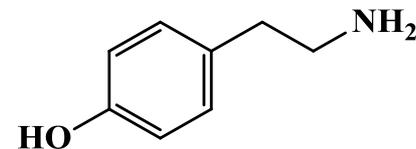
- Le **MAO** sono coinvolte nella deaminazione di neurotrasmettitori (catecolamine, serotonina) ma anche di ammine introdotte con la dieta (tiramina) o farmaci.



CATECOLAMINE



Serotonina



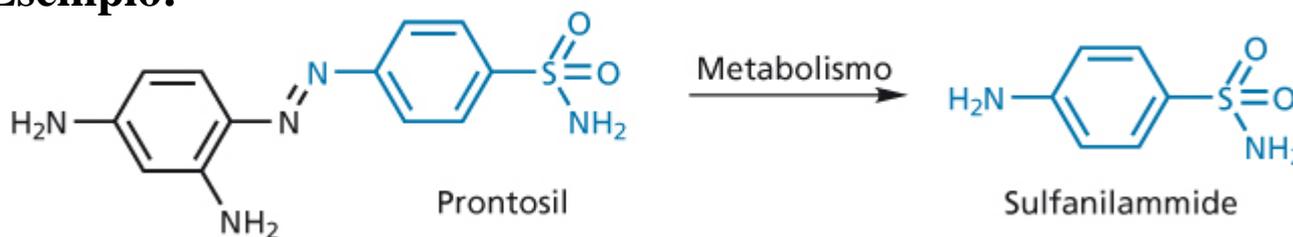
Tiramina

2) Reazioni di riduzione

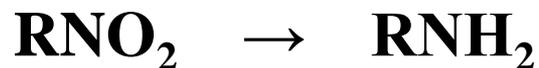
- Meno comuni delle reazioni di ossidazione
- Catalizzate da enzimi microsomiali o citosolici
- **Riduzione dei composti azoici ad ammine primarie**



Esempio:

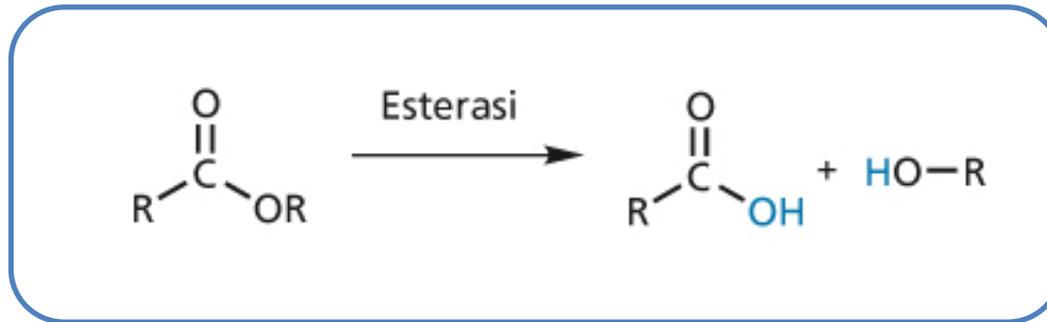


- **Riduzione dei nitro derivati ad ammine primarie**

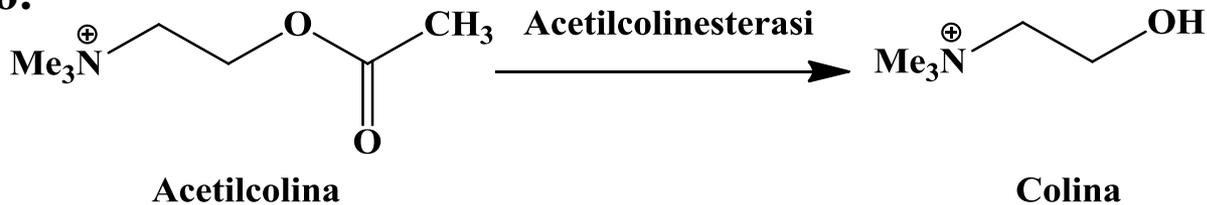


2) Reazioni d'idrolisi

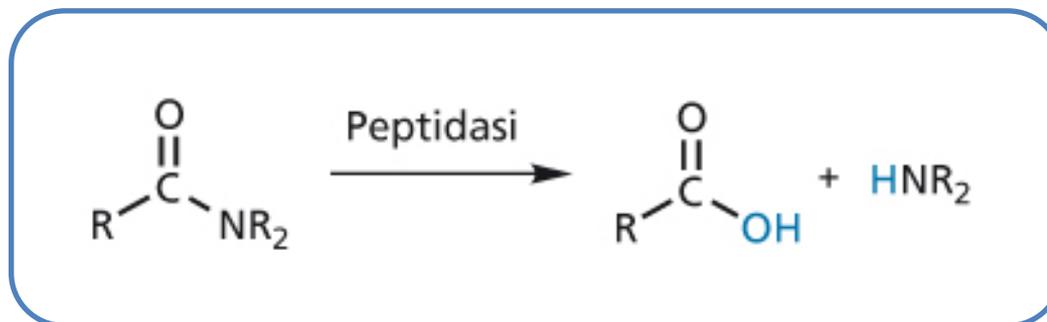
- Idrolisi di esteri catalizzata da esterasi



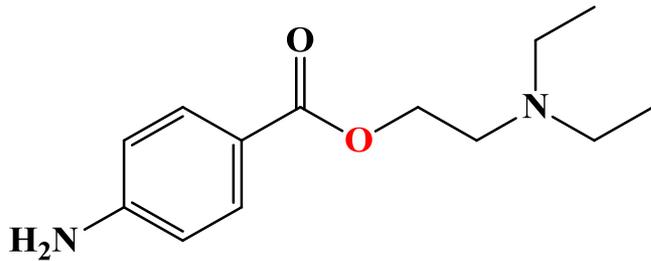
Esempio:



- Idrolisi di ammidi catalizzata da peptidasi

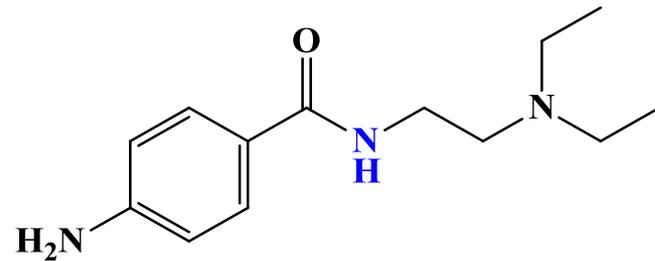


Le ammidi sono più stabili all'idrolisi rispetto agli esteri



procaina

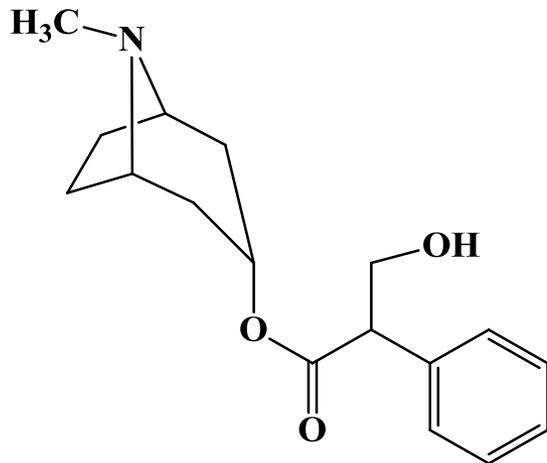
Anestetico locale a breve durata d'azione



procainamide

Antiaritmico

Gli esteri stericamente impediti vengono idrolizzati più lentamente e vengono eliminati in alta percentuale come esteri



Atropina

L'**atropina** è un alcaloide del tropano presente in diverse piante della famiglia delle Solanaceae. Circa il 50% dell'atropina viene eliminata come tale, il restante è costituito da metaboliti non idrolizzati

Reazioni di fase II o di coniugazione

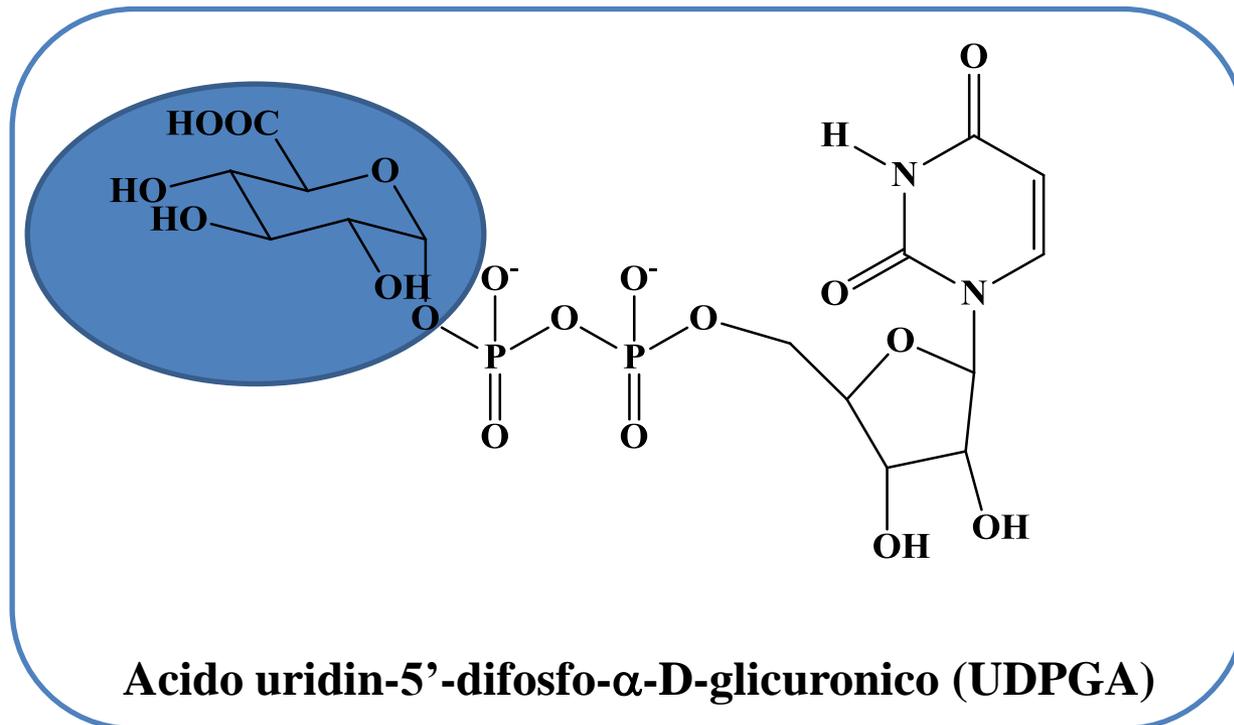
- Il farmaco o un suo metabolita della fase I viene condensato con un substrato endogeno (coniugante) per dare un coniugato
- Le funzioni che più comunemente vengono utilizzate per la coniugazione sono OH, SH, NH₂, COOH per dare un glicoside, un estere, un'ammide, un etere, etc..
- I coniugati sono di solito più idrofili rispetto al farmaco (l'acetilazione e la metilazione portano ad aumento di lipofilia) e sono facilmente escreti per via renale
- I coniugati sono spesso sono inattivi
- Le reazioni di coniugazione sono catalizzate da **transferasi** localizzate nei microsomi e nel citosol in diversi tessuti (fegato, polmoni, tratto gastrointestinale, SN, reni...)
- Le diverse transferasi possono competere per la stessa funzione e quindi si possono originare diversi coniugati da ciascun farmaco

Reazioni di coniugazione

1. Glicuranzione
2. Solfoconiugazione
3. Coniugazione con amminoacidi
(coniugazione ippurica)
4. Mercapturazione
5. Acetilazione
6. Metilazione

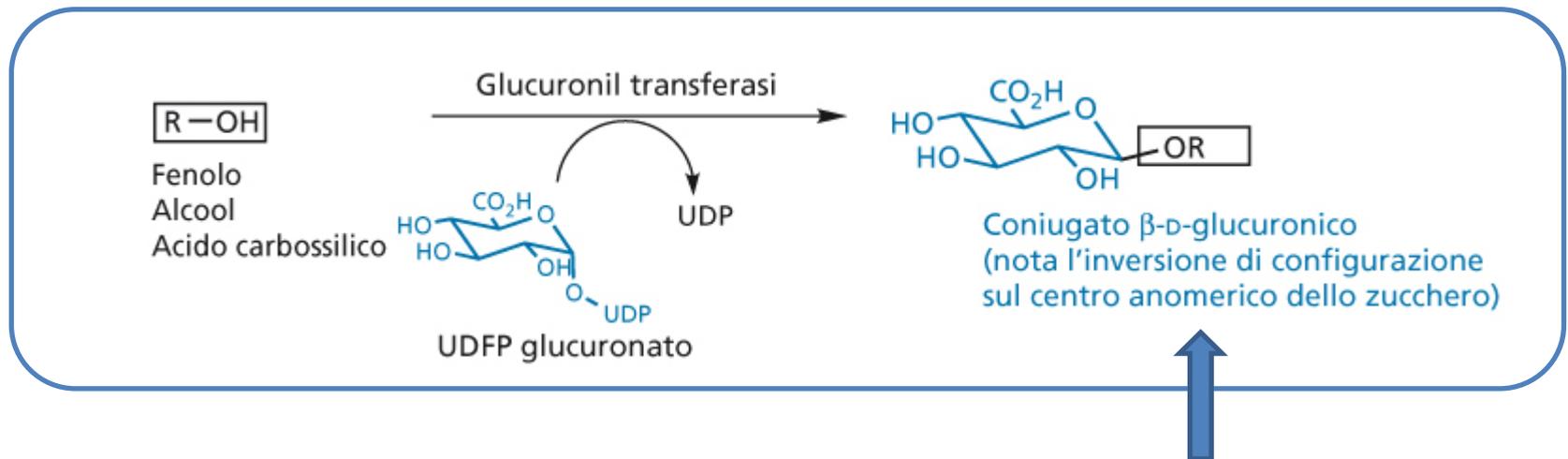
1. Glicuronazione

- Consiste nel trasferimento di una molecola di acido glucuronico dall'**UDPGA** all'acceptore
- La più comune delle reazioni di coniugazione catalizzata dalle **UDP-glucoronil transferasi (UGT)**, enzimi microsomiali presenti soprattutto nel fegato

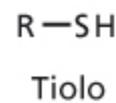
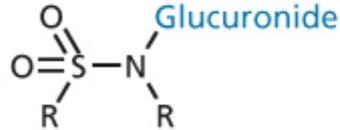
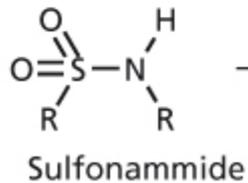
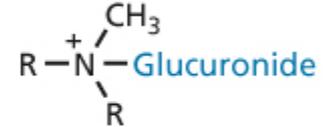
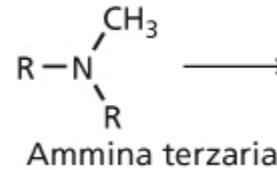
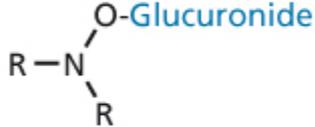
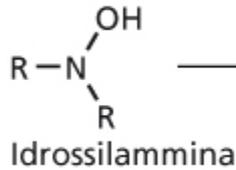
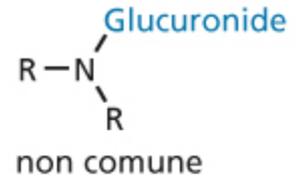
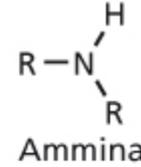
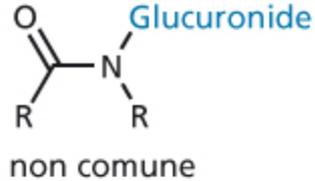
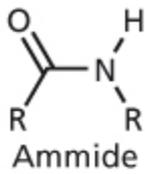


- Possono essere coniugati gruppi OH, COOH, NHOH per dare O-glucuronidi, ma anche gruppi NH₂, CONH₂, SO₂NH₂ e SH per dare N-glucuronidi e S-glucuronidi

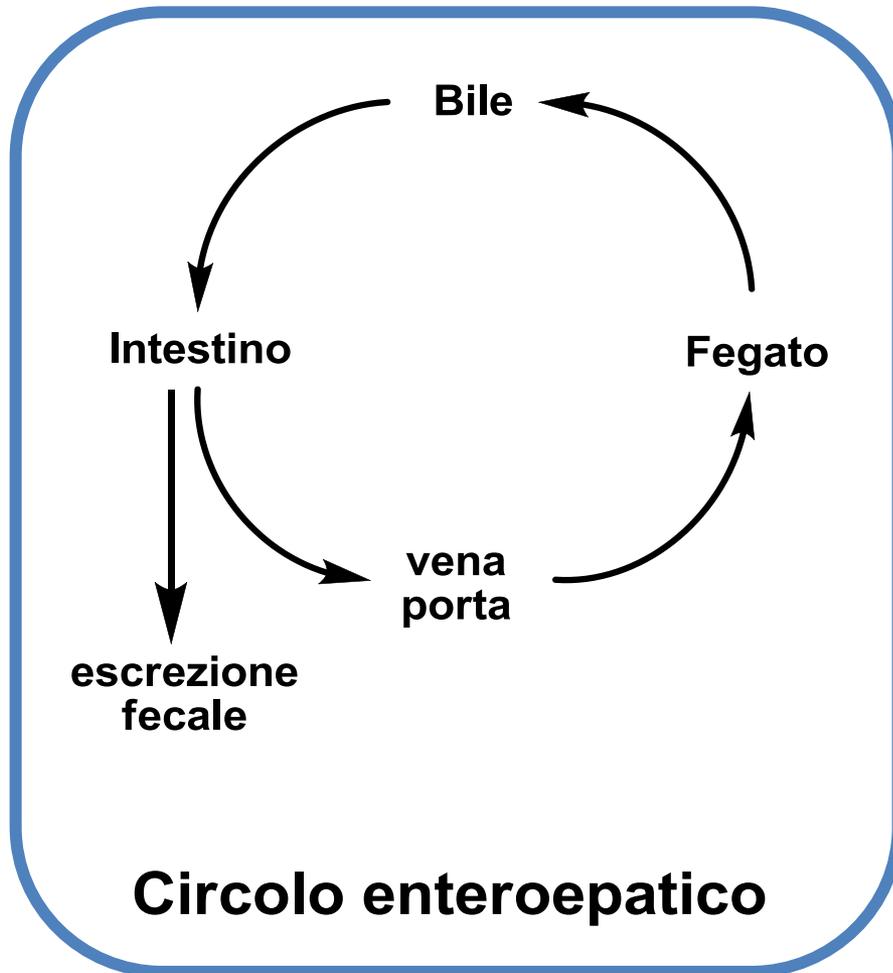
Glucuronazione di alcoli, fenoli, acidi carbossilici



Gluronazione di ammine, ammidi, solfonammidi, idrossilammine e tioli



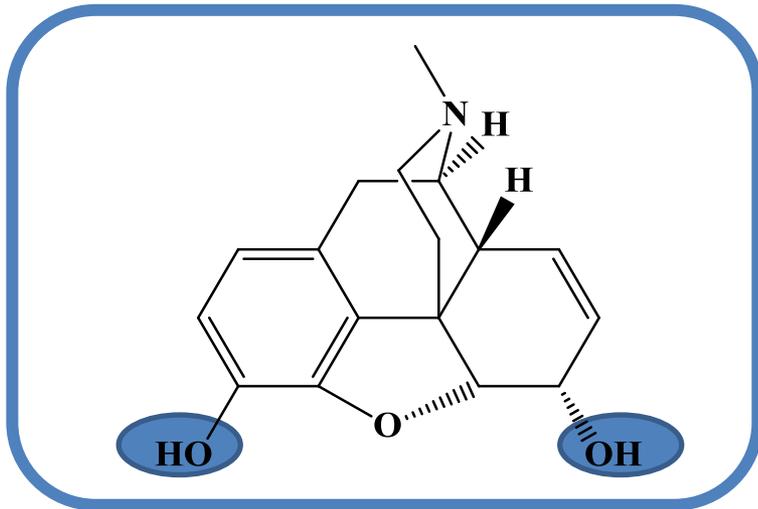
- i glucuronidi sono notevolmente più idrofili dei coniuganti di partenza
- vengono generalmente eliminati attraverso le urine



- possono essere secreti con la bile nell'intestino (PM > 300). In questo caso, le **β -glicuronidasi** intestinali possono idrolizzarli e il farmaco libero può essere riassorbito

- generalmente i glicuronidi sono inattivi

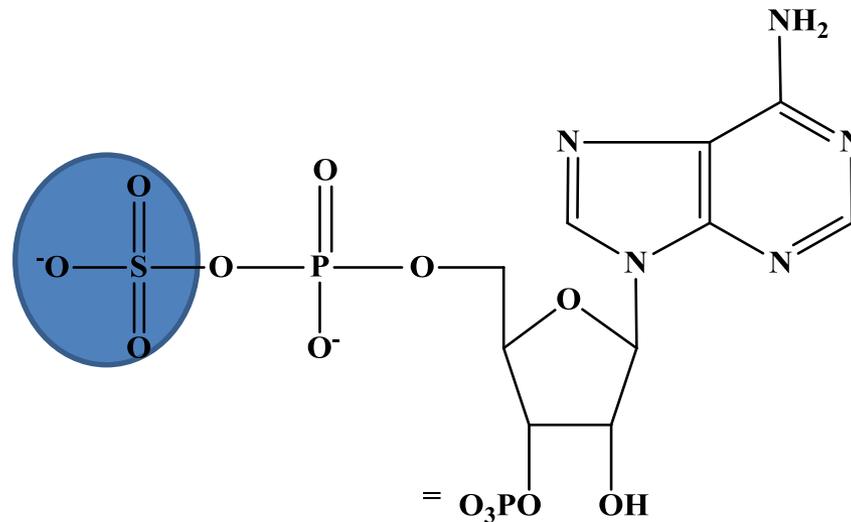
Eccezione: **morfina**



2 glucuronidi per reazione dell'OH fenolico in posizione 3 o di quello alcolico in 6. Quest'ultimo ha attività analgesica superiore a quella della morfina stessa

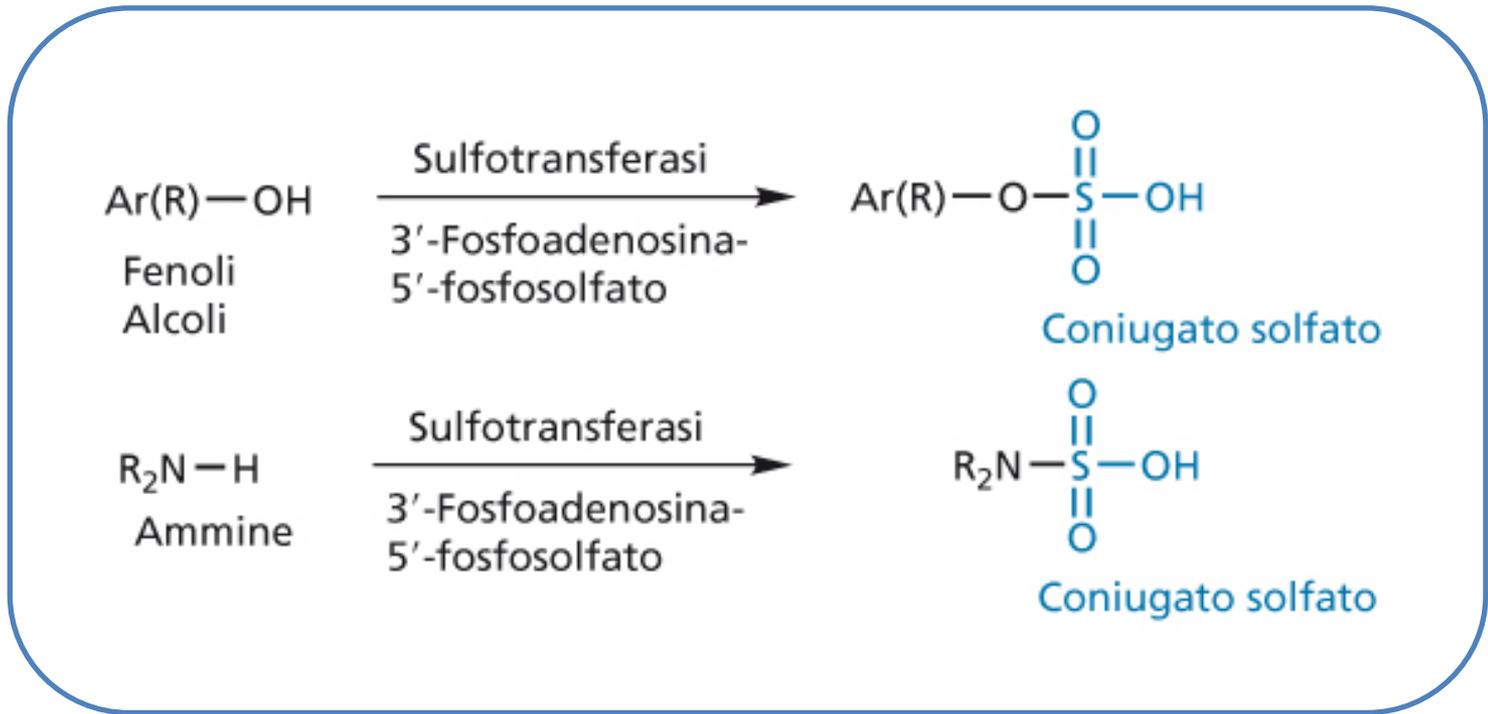
2. Solfoconiugazione

- Consiste nel trasferimento del gruppo SO_3^- dalla **3'-fosfoadenosina-5'-fosfosolfato (PAPS)** all'acceptore
- Meno comune della glucuronazione
- Catalizzata dalle **solfotransferasi**, enzimi citosolici presenti soprattutto nel fegato



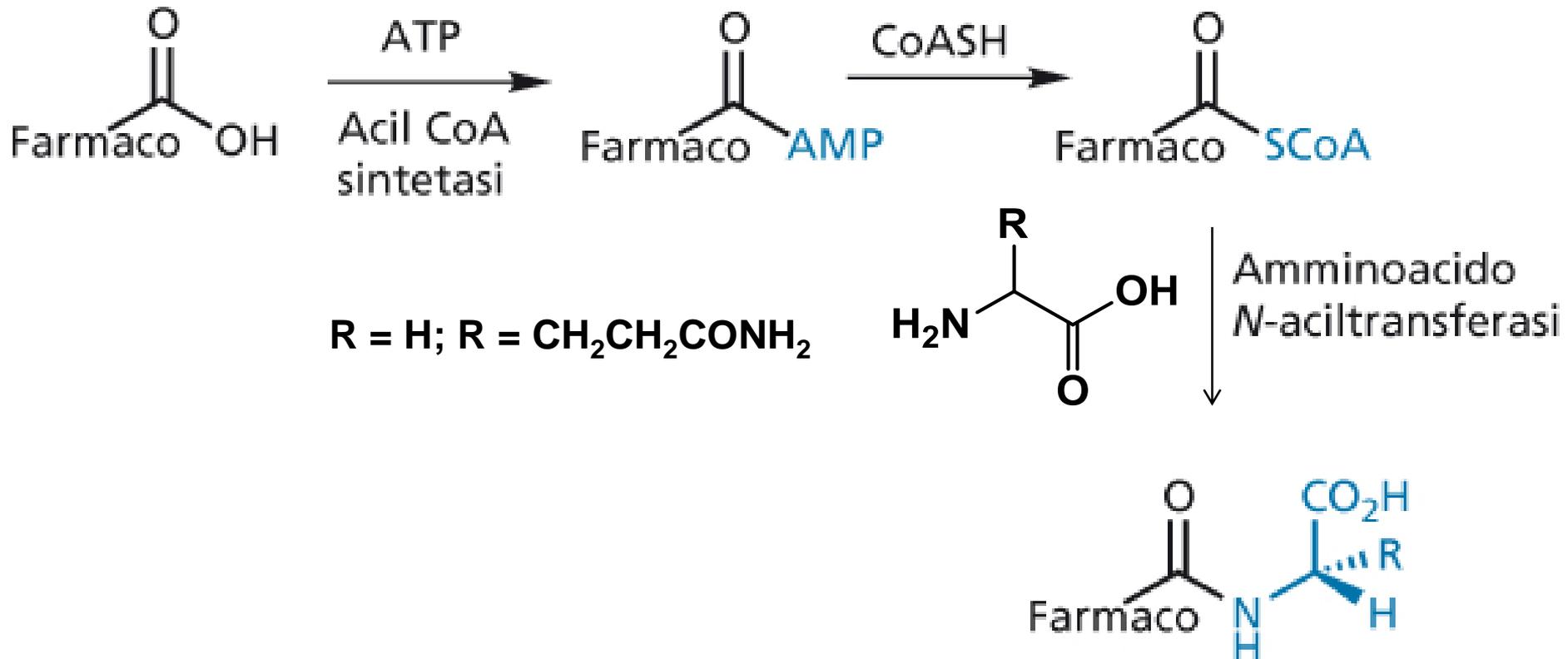
3'-fosfoadenosina-5'-fosfosolfato (PAPS)

- Vengono solfoconiugati soprattutto gruppi OH per dare **solfat** ionizzati a pH fisiologico (ROSO_3^-), ma anche gruppi amminici primari e secondari, e SH per dare **solfammati** ($\text{RR}'\text{NSO}_3^-$) e **tiosolfati** (RSSO_3^-)

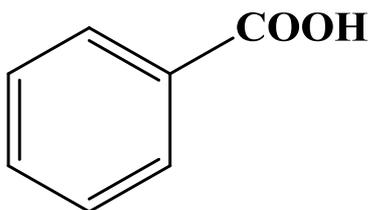


3. Coniugazione con aminoacidi (coniugazione ippurica)

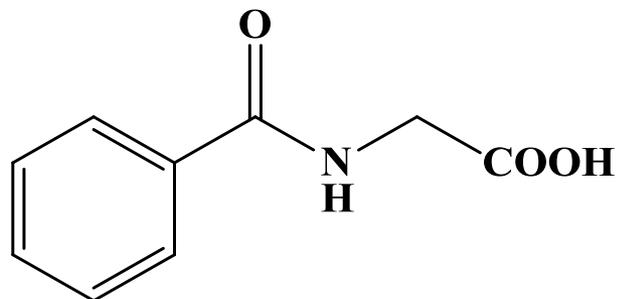
Gli acidi carbossilici possono essere coniugati con aminoacidi come **glicina** e **glutamina** ad opera di enzimi mitocondriali



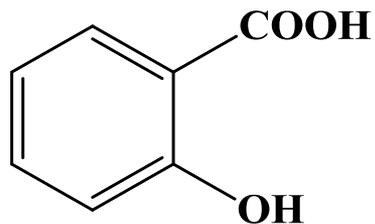
Esempi



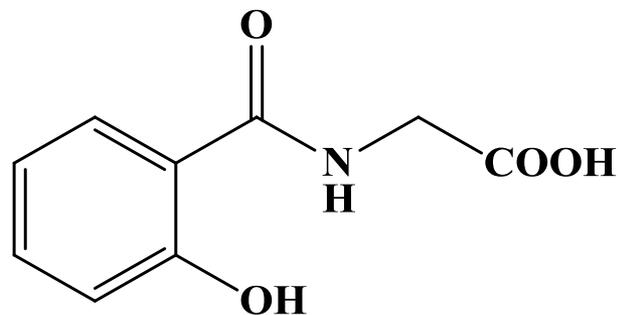
Acido benzoico



**Acido ippurico
(N-benzoilglicina)**

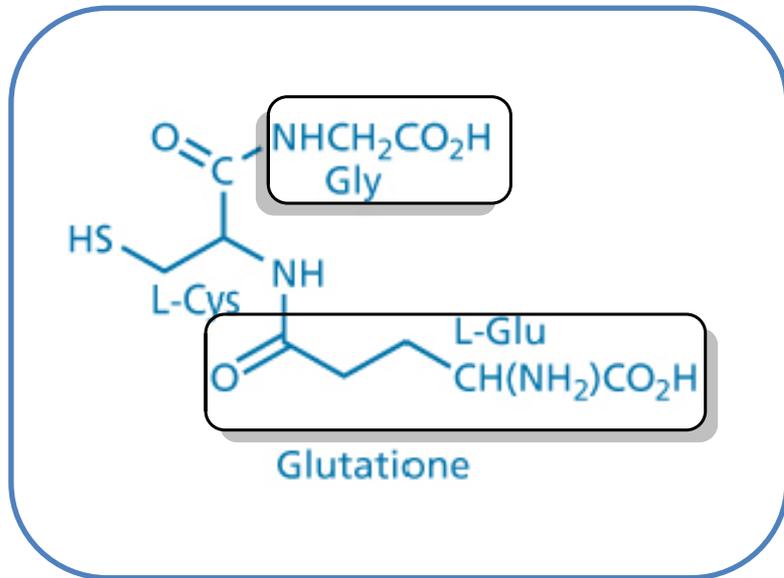


Acido salicilico



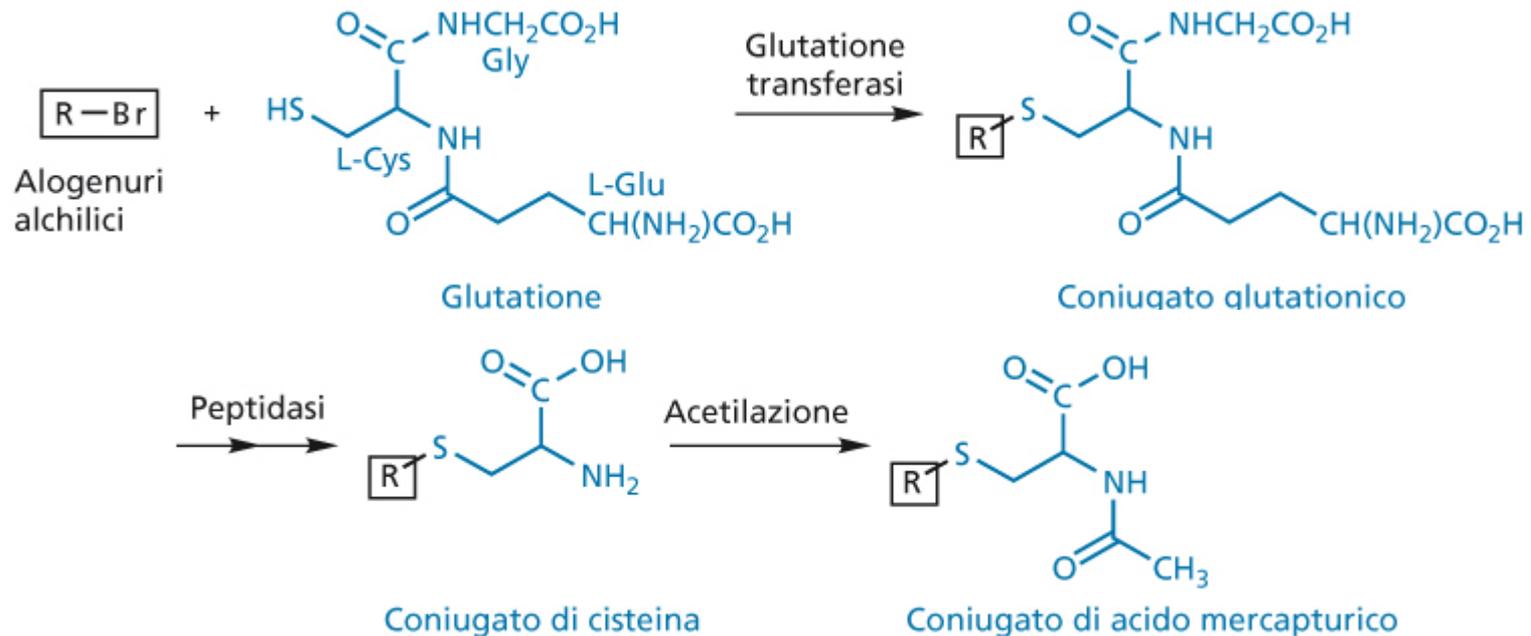
Acido salicilurico

4. Mercapturazione (coniugazione con il glutatione)

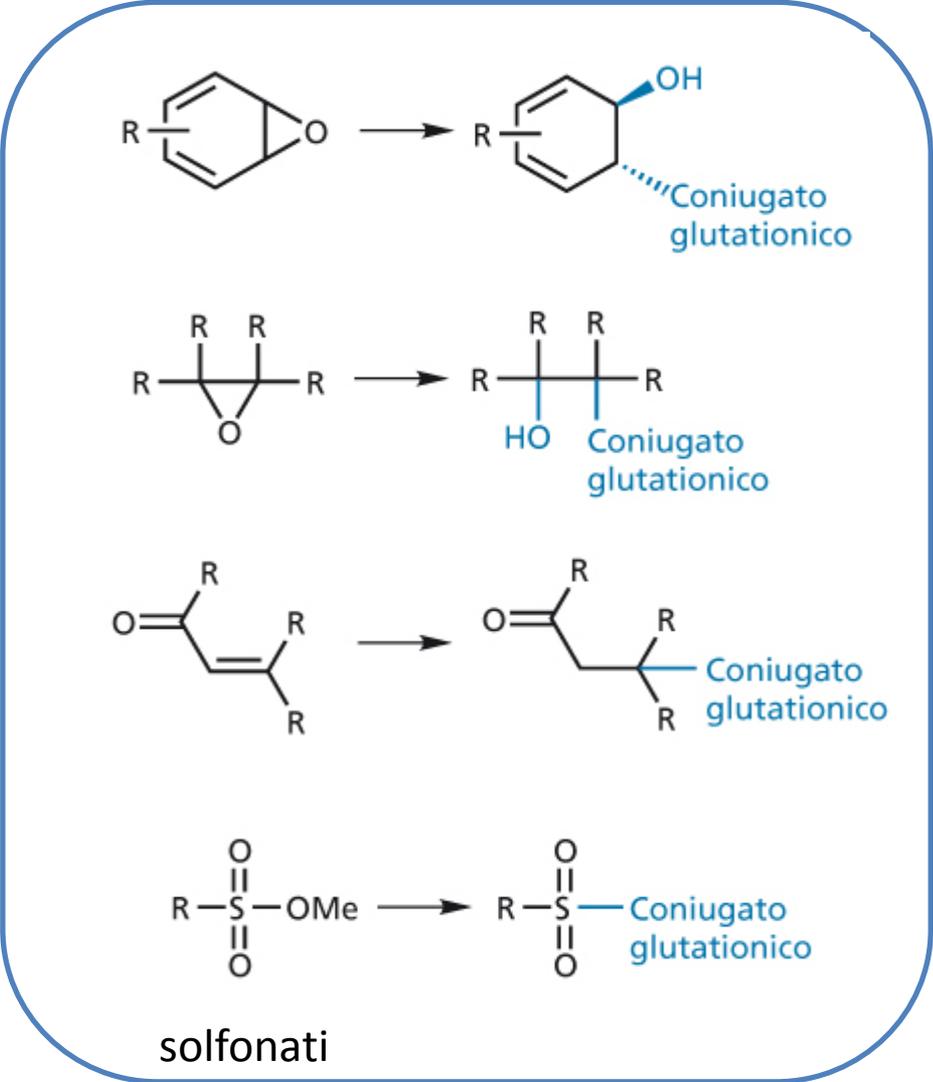


- Il glutatione (γ -L-glutamyl-L-cisteinilglicina, GSH) è un tripeptide
- E' un buon agente coniugante grazie alle proprietà nucleofile del suo gruppo SH
- Può intervenire anche in reazioni di ossidoriduzione in dipendenza del suo stato redox (GSH o GSSG)

- La coniugazione con GSH avviene prevalentemente nel fegato e nel rene ed è catalizzata dall'enzima citosolico **glutazione S-transferasi**
- Il **coniugato glutationico** viene generalmente trasformato in **acido mercapturico** tramite due **peptidasi** (glutamil transferasi e cisteinil glicinasi) e successiva acetilazione del gruppo amminico ad opera di una **N-acetil transferasi**

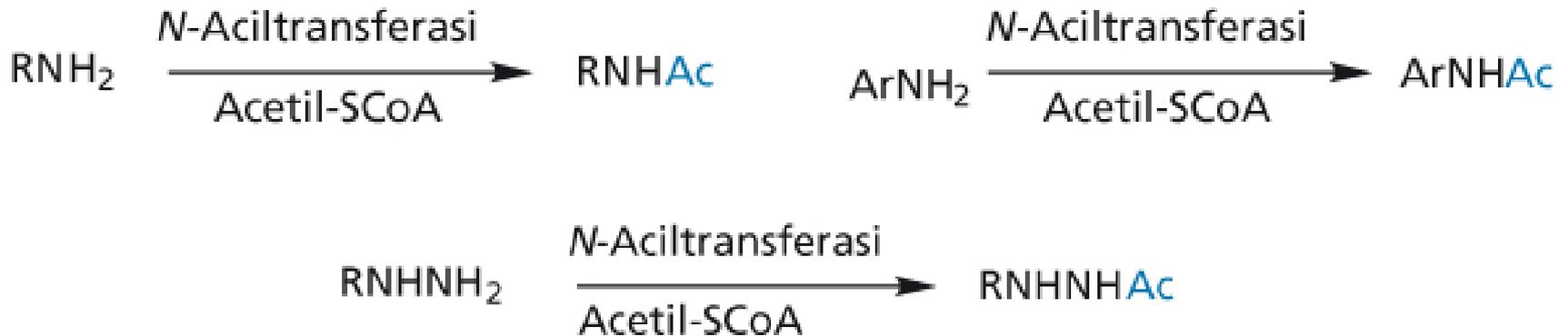


Formazione di coniugati tra glutazione e specie elettrofile

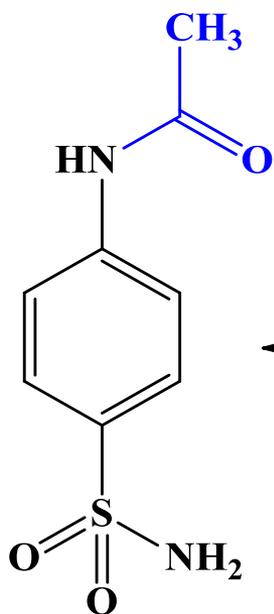


5. Acetilazione

- Catalizzata da **N-acetiltransferasi** che utilizzano l'**acetil-S-CoA**
- Vengono acetilati gruppi NH_2 di ammine primarie alifatiche e aromatiche ma anche di idrazine (RNHNH_2), idrazidi (RCONHNH_2) e solfonammidi (RSO_2NH_2)
- il coniugato che si forma è meno idrofilo del prodotto di partenza

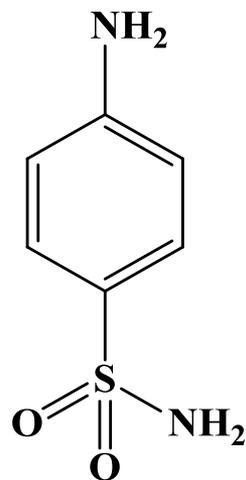


N-Acetil metaboliti della sulfanilamide



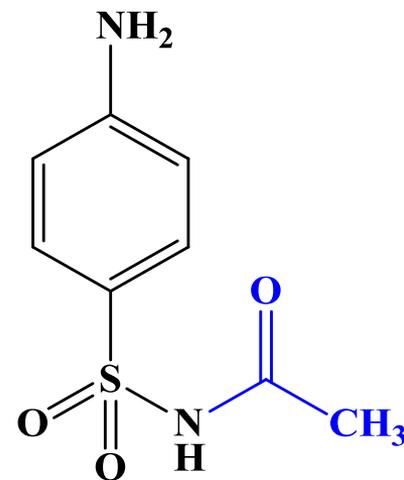
N⁴-acetilsulfanilamide

logP = 0



sulfanilamide

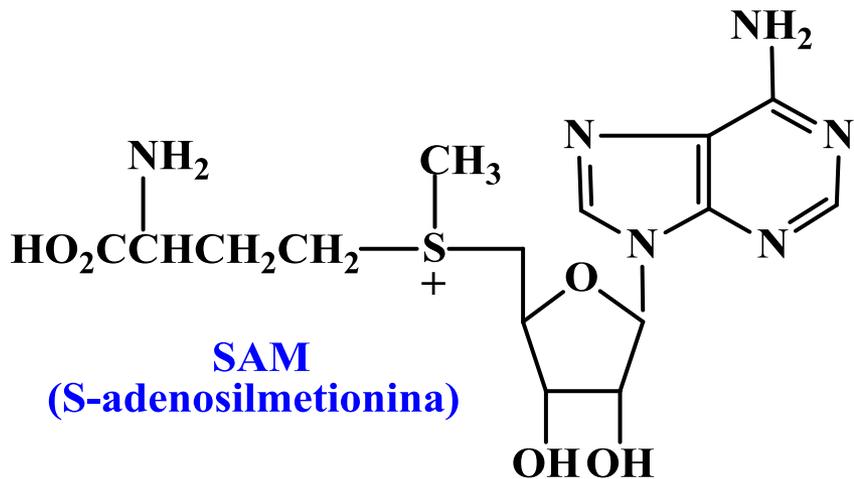
logP = - 0.62



N¹-acetilsulfanilamide

logP = - 0.96

6. Metilazione



Metiltransferasi



- Catalizzata da **metiltransferasi** che utilizzano come agente metilante la **S-adenosilmetionina (SAM)**
- Vengono metilate ammine primarie, secondarie e terziarie, eterociclici azotati, fenoli, tioli e tiofenoli.
- La metilazione diminuisce la polarità del farmaco a meno che non si formino sali quaternari

Reazioni di metilazione di ammine, tioli e fenoli

