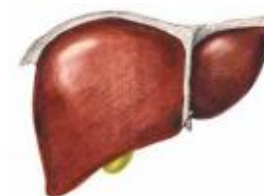


# METABOLISMO

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)**

# Reazione metaboliche dei Farmaci

Processi di trasformazione enzimatica e non in vari organi e tessuti

Il metabolismo può essere influenzato da vari fattori: genetici, fisiologici (età, sesso, razza), fattori farmacocinetici e farmacodinamici (dose, frequenza e via di somministrazione) e ambientali (interazione con altri farmaci ed altre sostanze)

La sede principale è il fegato

# 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
  - saturi
    - carboni esposti
    - attivati dalla vicinanza ad un carbonio  $sp^2$  o  $sp$
    - in  $\alpha$  ad un eteroatomo
  - insaturi
- Ossidazione di atomi di azoto
- Ossidazione di atomi di zolfo
- Ossidazione di atomi di fosforo

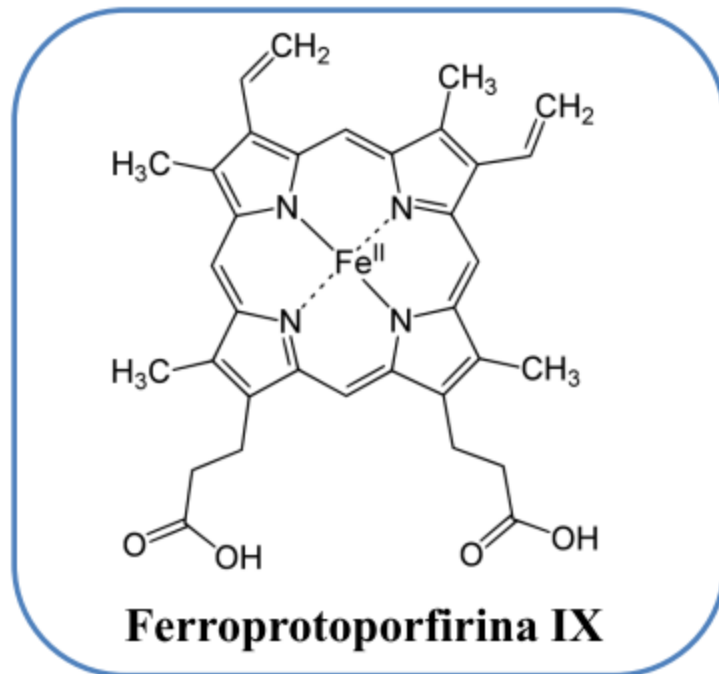
### 1b) Reazioni di ossidazione non microsomiali

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

# 1. Ossidazioni

## 1a) Reazioni di ossidazione microsomiali

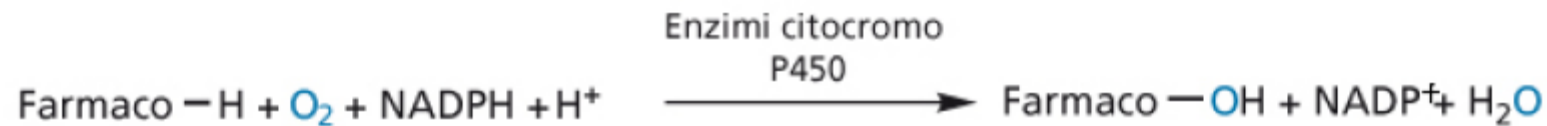
- Catalizzate da **citocromi P450** (CYP450), monoossigenasi presenti nel sistema microsomiale epatico, intestinale, renale, polmonare e di altri tessuti.
- il sistema microsomiale è costituito dall'insieme di vescicole che si forma dalla frammentazione del reticolo endoplasmatico a seguito dell'omogenizzazione

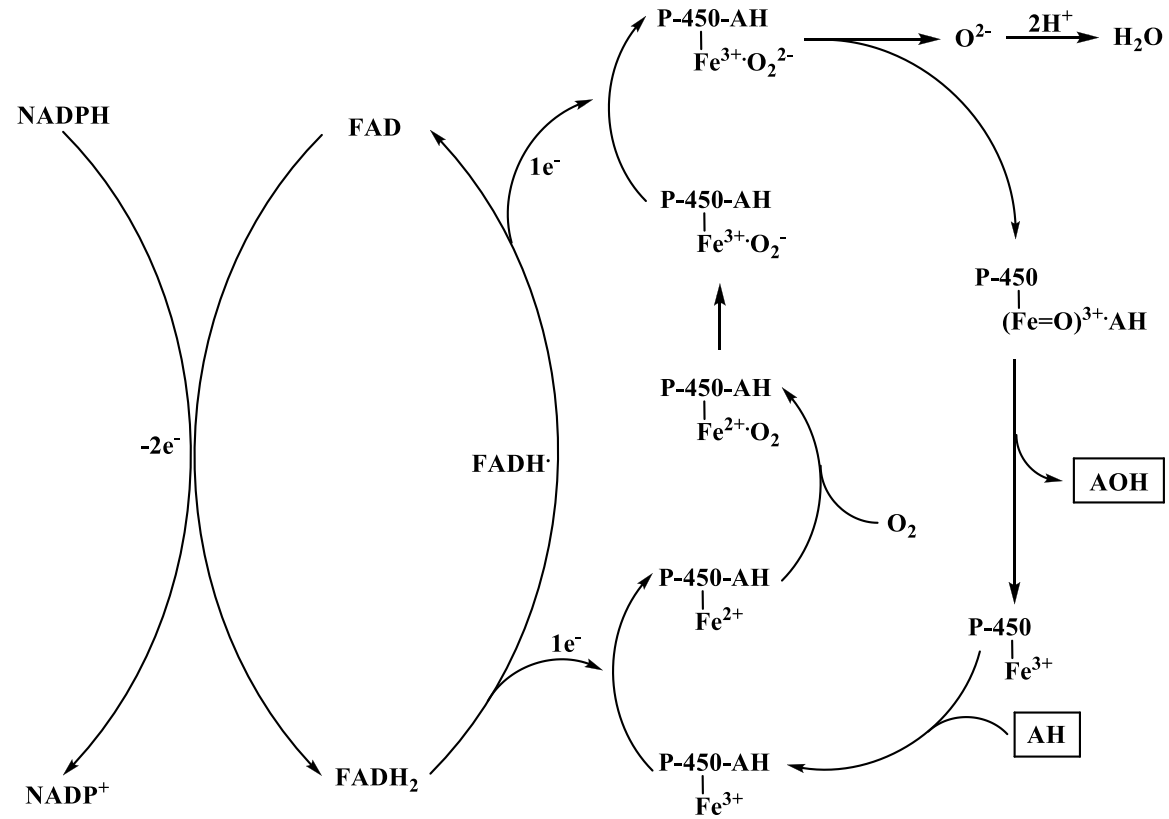
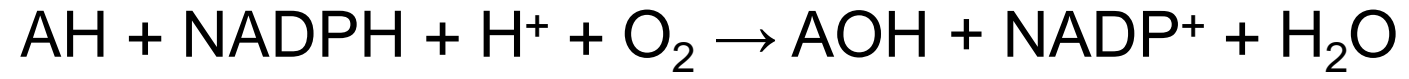


- Sono eme proteine
- Il Fe oscilla tra +2 e +3

- 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:

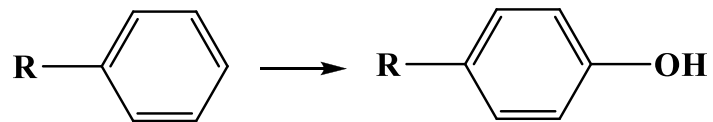




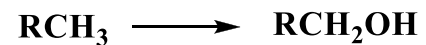
- Il nome è dovuto al fatto che sono enzimi intracellulari e che il complesso della forma ferrosa con il monossido di carbonio ha **colore rosa (pink)** ed un massimo d'assorbimento a 450 nm
- Almeno 33 diversi citocromi P450 raggruppati in 4 famiglie, designate con un numero (CYP1-4), sottofamiglie, 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

## OSSIDAZIONI MICROSOMIALI

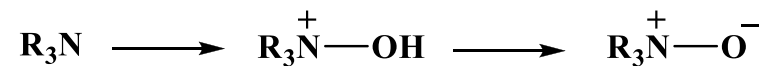
### Ossidrilazione Aromatica



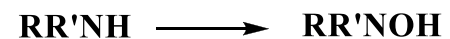
### Ossidrilazione Alifatica



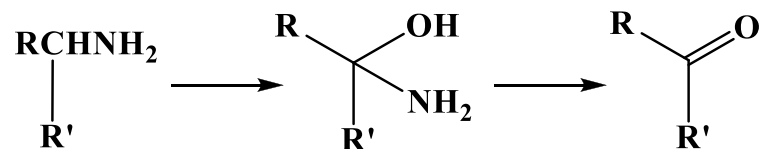
### N-Ossidazione (di Ammine Terziarie)



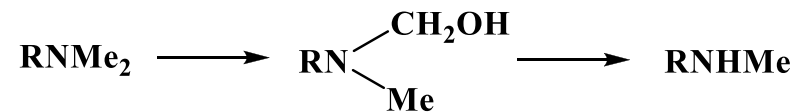
### N-Ossidrilazione (di Ammine Primarie e Secondarie)



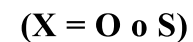
### Deaminazione (di Ammine Primarie a-Sostituite)



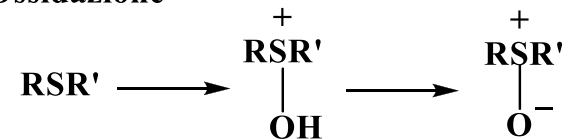
### N-Dealchilazione (di Ammine Terziarie e Secondarie)



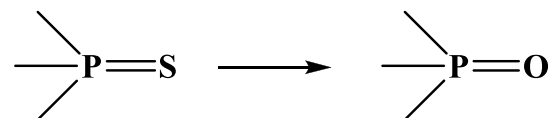
### O- ed S-Dealchilazione



### S-Ossidazione



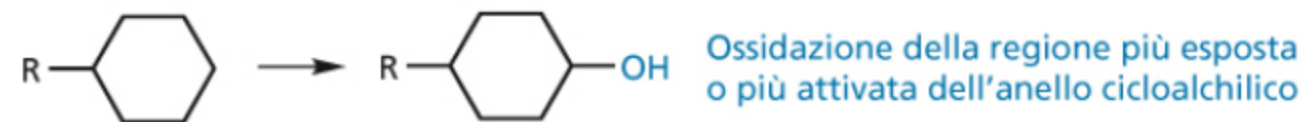
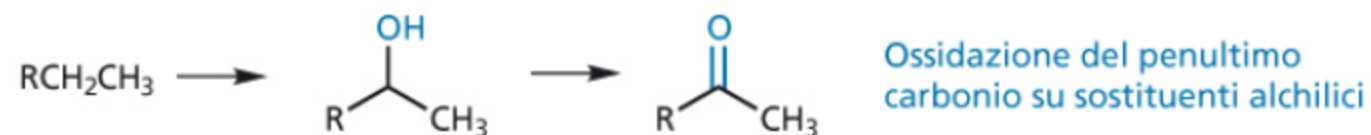
### Desolfurazione (di Esteri Organotiofosforici)



## 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  $\alpha$  ad un eteroatomo

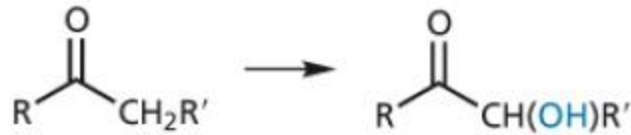
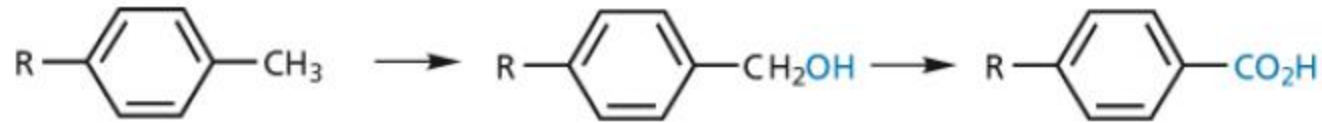
### •Ossidazione di carboni saturi esposti



Ossidazione di gruppi alchilici esposti e regioni esposte di anelli cicloalchilici



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

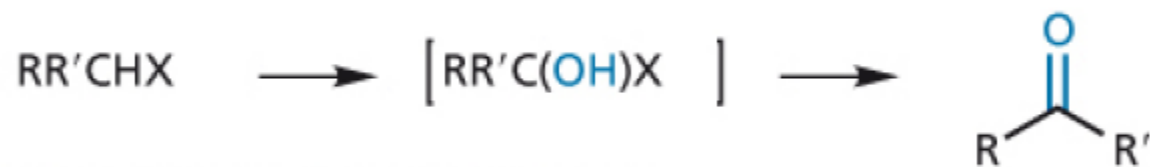


Ossidazione dei centri di carbonio attivati e prossimi a carboni  $sp$  e  $sp^2$

• **Ossidazione di carboni saturi in  $\alpha$  ad un eteroatomo**

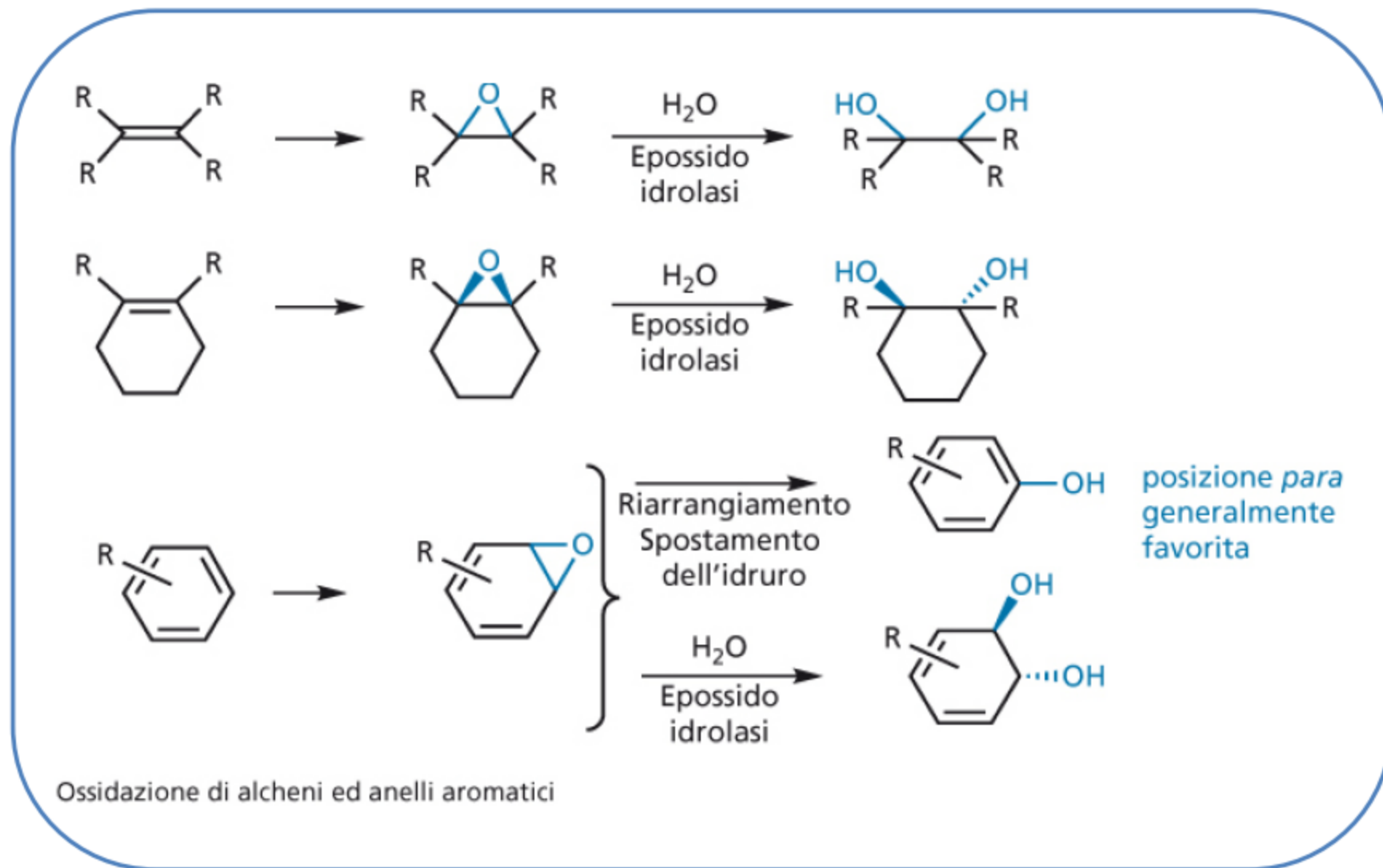


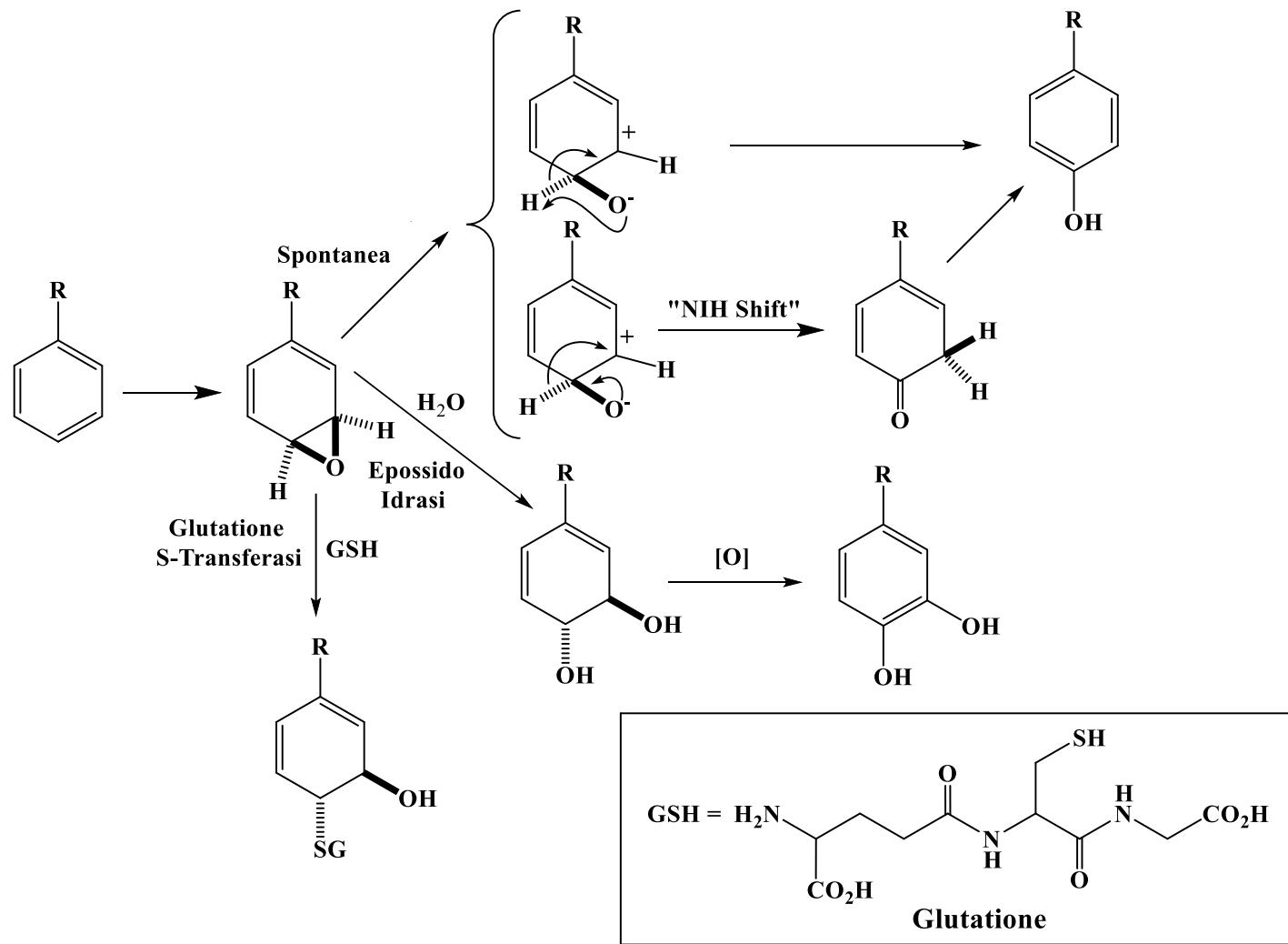
Dealchilazione di ammine, eteri e tioteri via ossidazione del carbonio attivato (incluso demetilazione R=H)



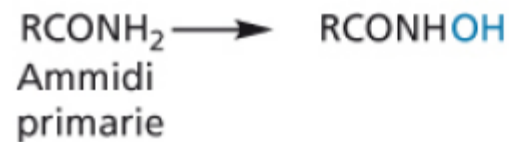
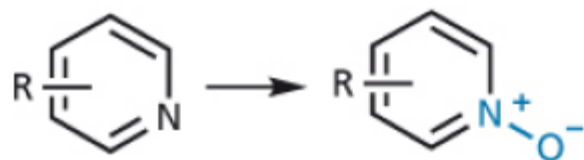
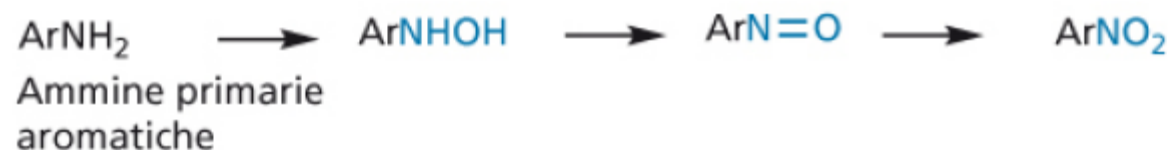
Dealogenazione di alogenuri alchilici

## Reazioni di ossidazione catalizzate da CYP450 su carboni insaturi



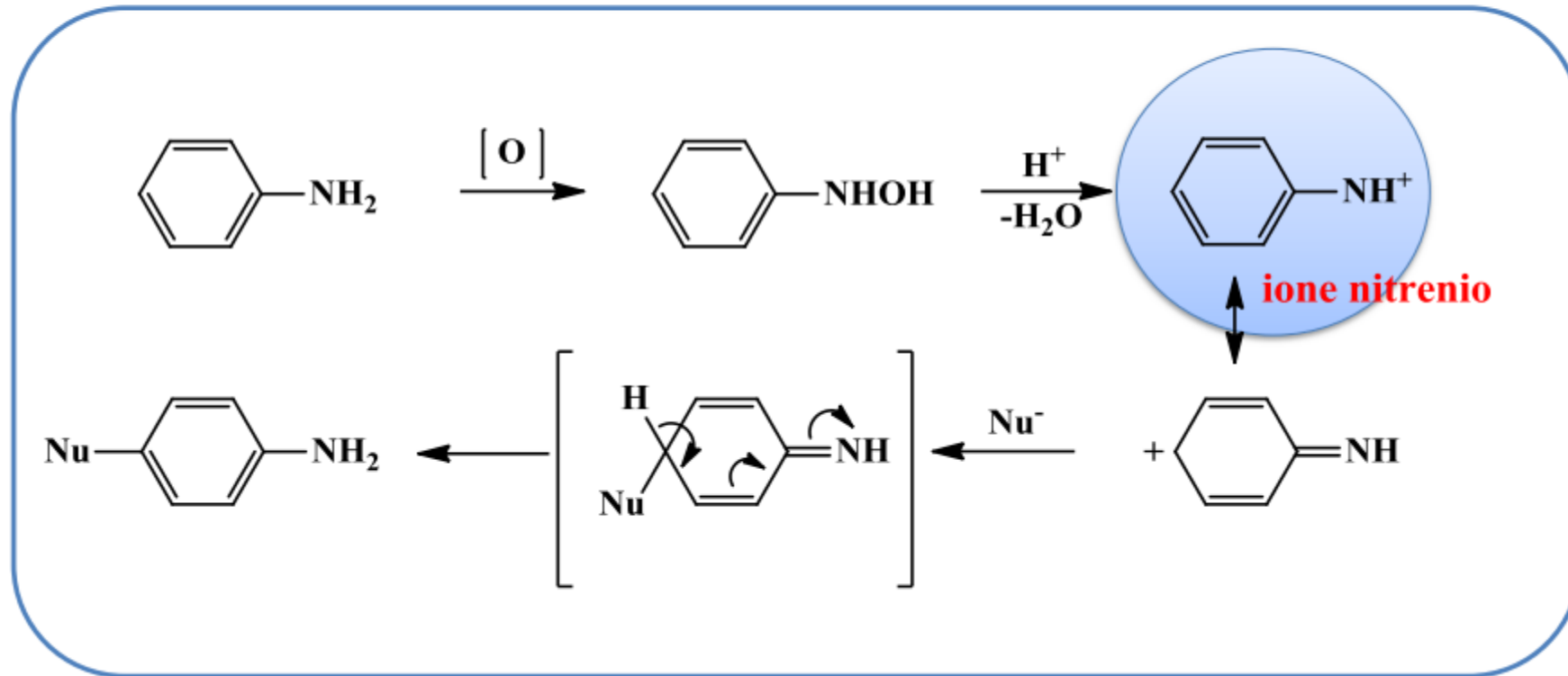


## Reazioni di ossidazione microsomiale catalizzate da CYP450 su atomi di azoto

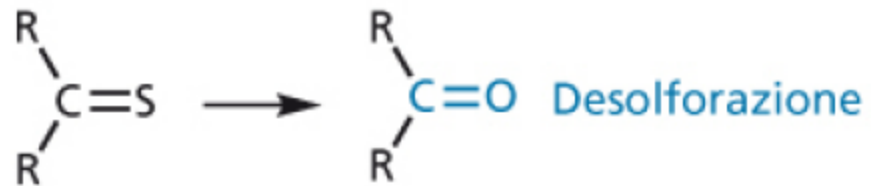
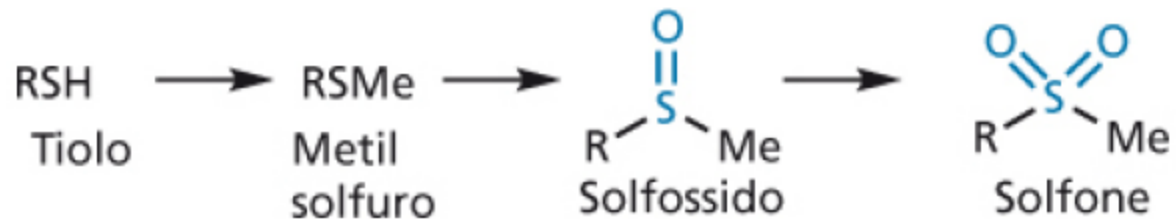
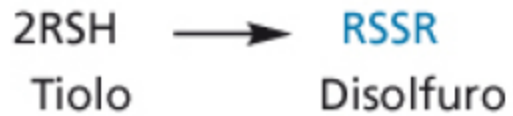


Ossidazione di gruppi funzionali contenenti azoto

## 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**
  - insaturi
  - saturi
    - carboni esposti
    - attivati dalla vicinanza ad un carbonio  $sp^2$  o  $sp$
    - in  $\alpha$  ad un eteroatomo
- **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**

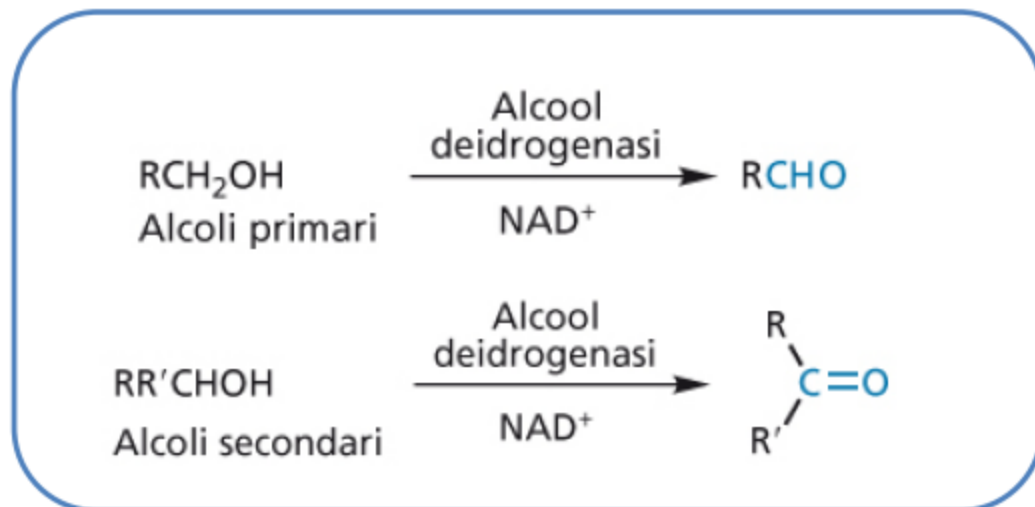


## 1b) Ossidazioni non microsomiali

Catalizzate da ossidasi mitocondriali e citosoliche

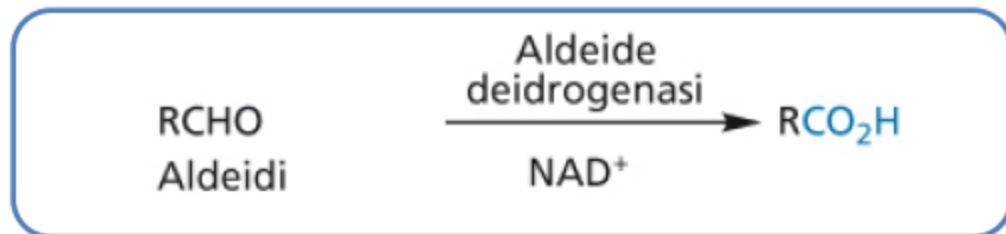
- **Ossidazioni di alcoli ed aldeidi ad opera di alcol deidrogenasi e di aldeide deidrogenasi**

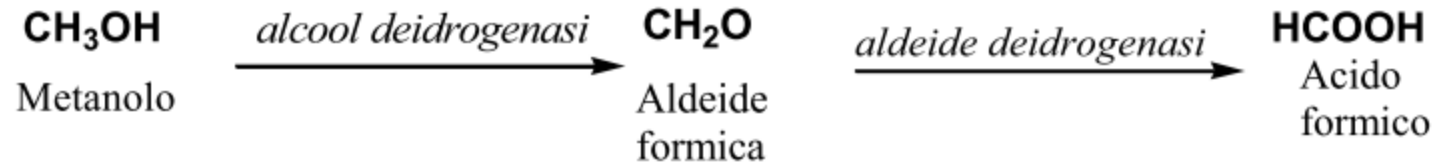
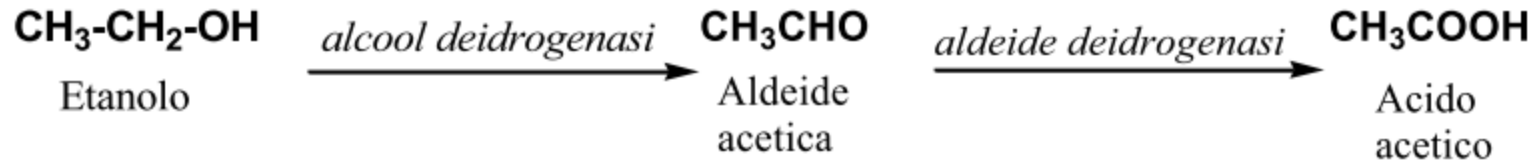
*Enzimi che utilizzano il  $NAD^+$  o  $NADP^+$  come agente ossidante piuttosto che  $O_2$*



**Ossida la maggior parte degli alcoli primari**

**Ossida solo alcuni alcoli secondari**



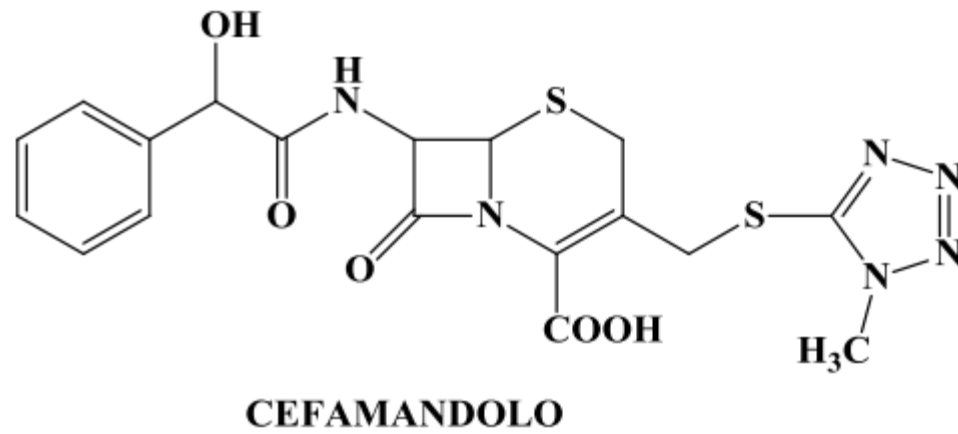
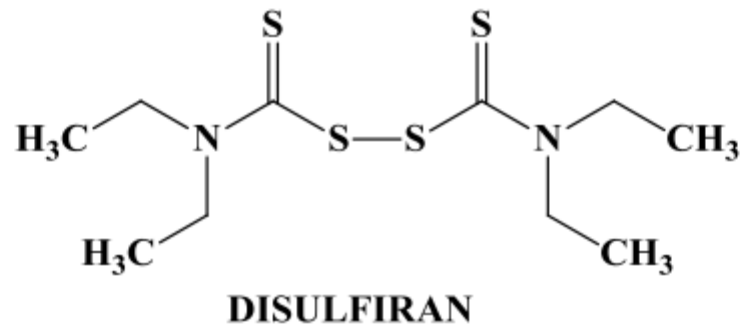


**TOSSICO**



**TOSSICO**

# Inibitori dell'aldeide deidrogenasi



## Reazioni di fase I o di funzionalizzazione: ossidazione

### 1a) Reazioni di ossidazione microsomiali

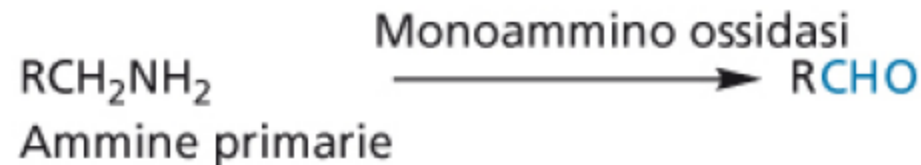
- **Ossidazione di atomi di carbonio**
  - saturi
    - carboni esposti
    - attivati dalla vicinanza ad un carbonio  $sp^2$  o  $sp$
    - in  $\alpha$  ad un eteroatomo
  - insaturi
- **Ossidazione di atomi di azoto**
- **Ossidazione di atomi di zolfo**
- **Ossidazione di atomi di fosforo**

### 1b) Reazioni di ossidazione non microsomiali

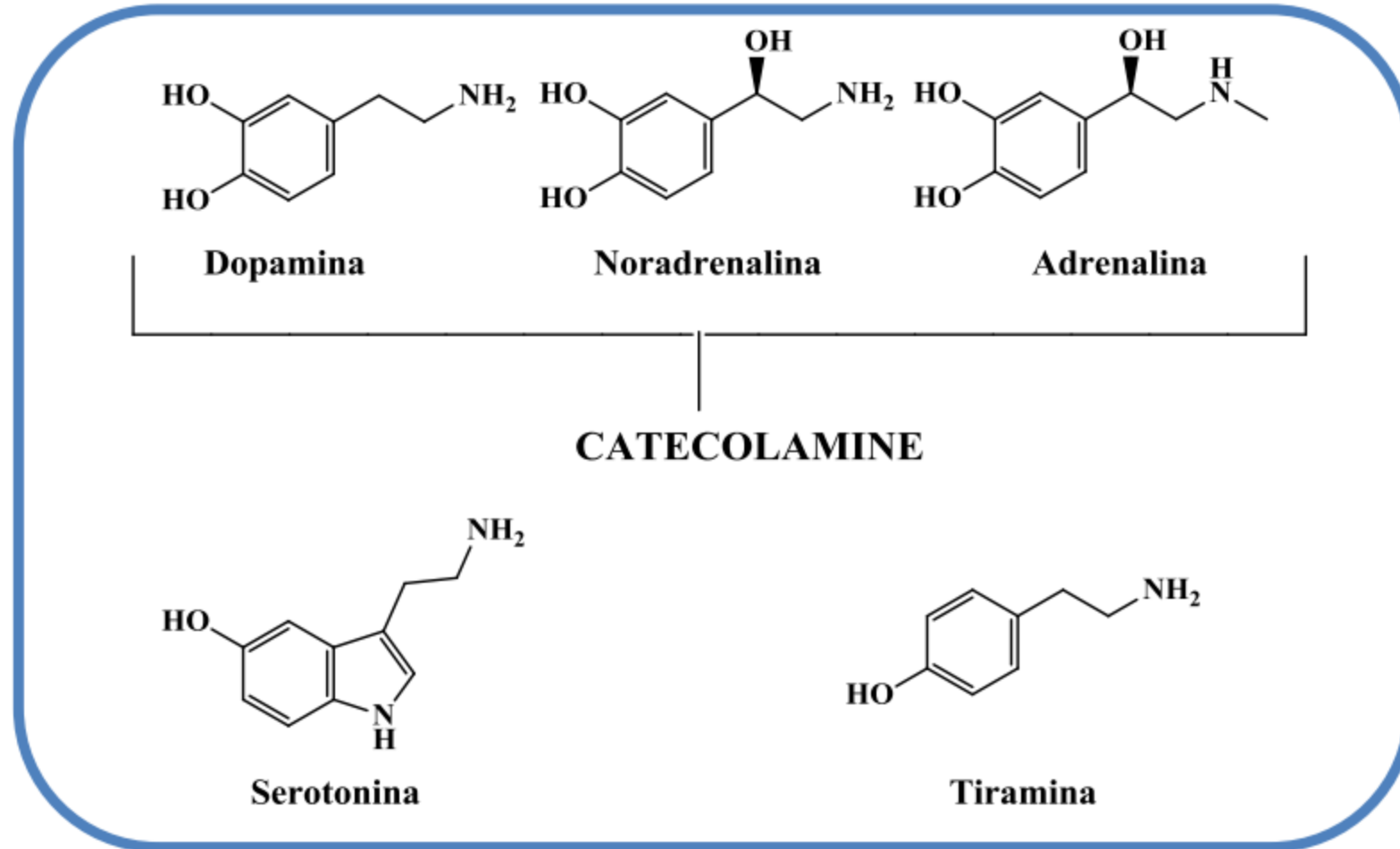
- **Ossidazioni di alcoli ad opera della alcol deidrogenasi**
- **Ossidazioni di aldeidi ad opera aldeide deidrogenasi**
- **Deaminazione ossidativa ad opera della MAO**

- **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  $\alpha$  ( $RCH_2NH_2$ ) 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.

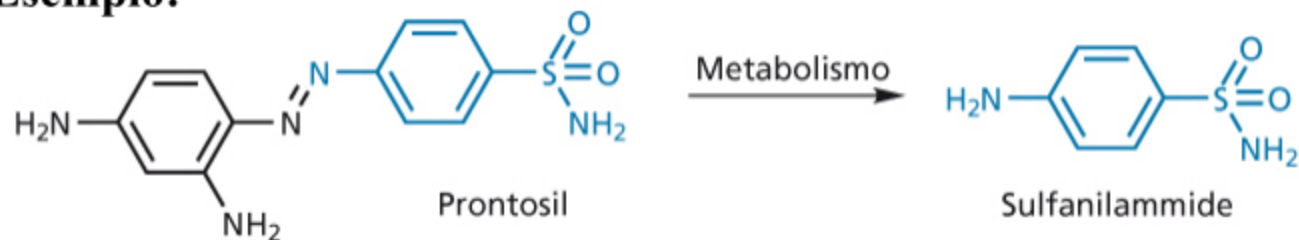


## 2) Reazioni di riduzione

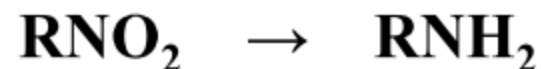
- Meno comuni delle reazioni di ossidazione
- Catalizzate da enzimi microsomiali o citosolici
- **Riduzione dei composti azoici ad ammine primarie**



**Esempio:**



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

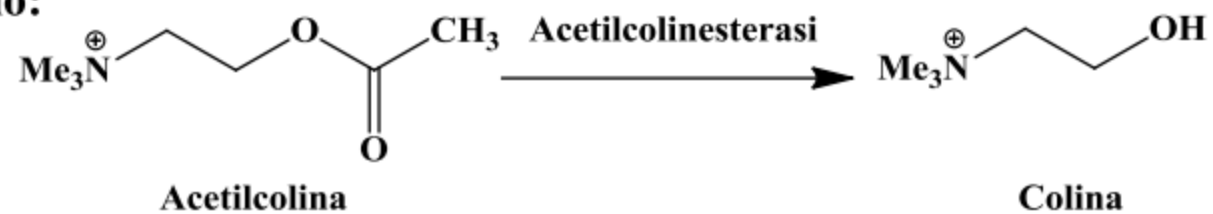


## 2) Reazioni d'idrolisi

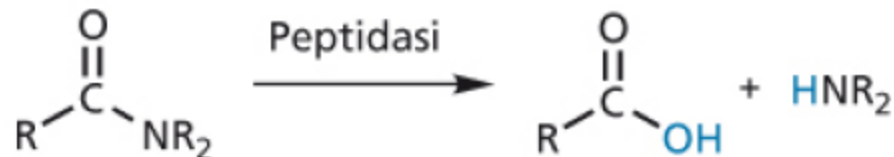
- Idrolisi di esteri catalizzata da esterasi



**Esempio:**

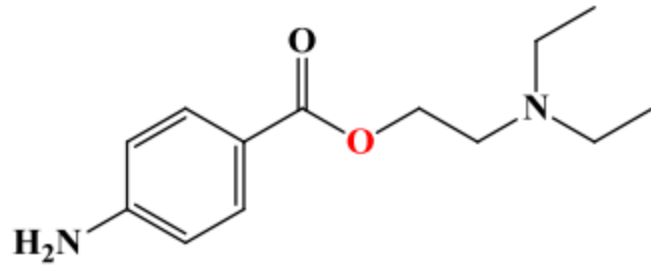


- Idrolisi di ammidi catalizzata da peptidasi



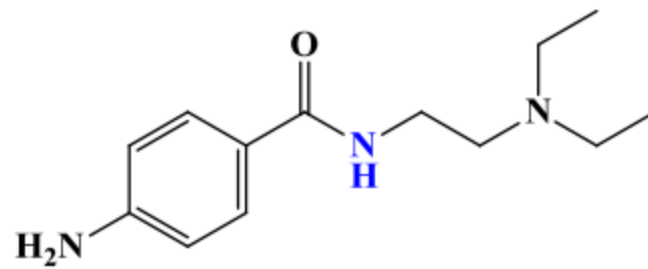


Le ammidi sono più stabili all'idrolisi rispetto agli esteri



**procaina**

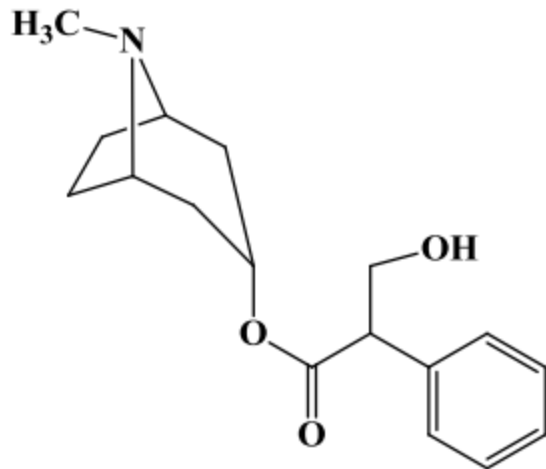
Anestetico locale a breve durata d'azione



**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

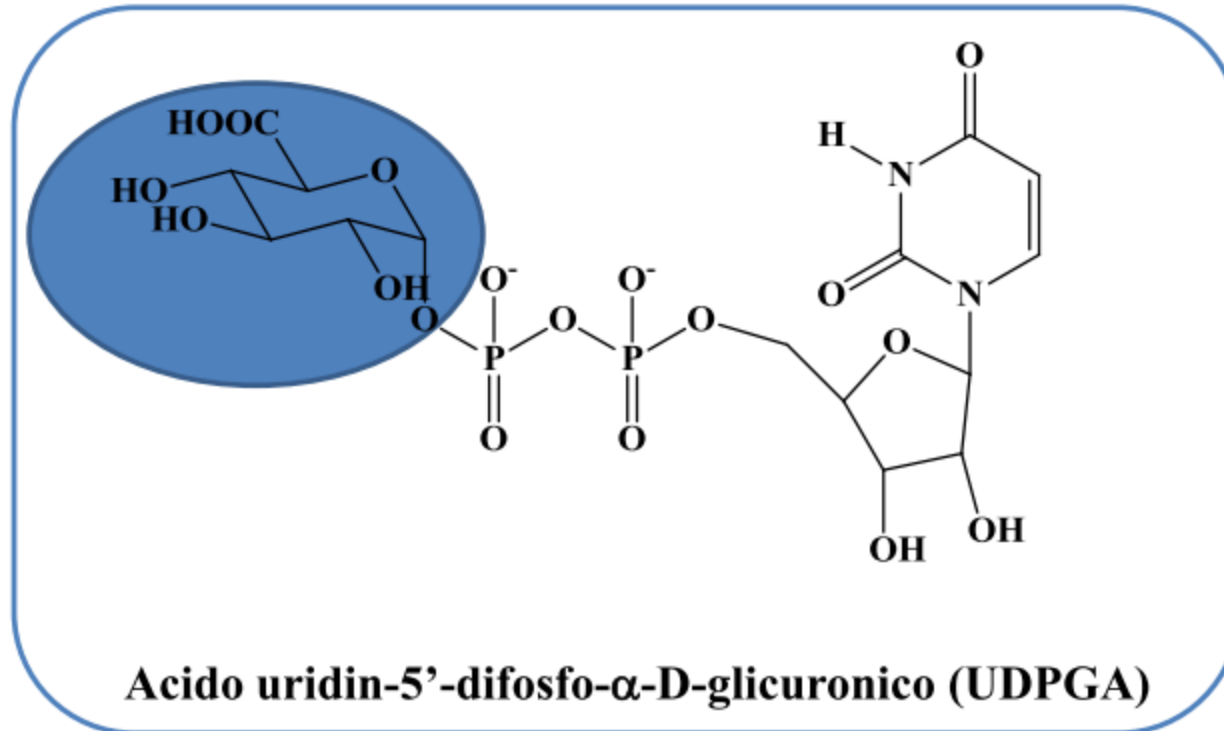
- Il farmaco o un suo metabolita della fase I viene condensato con un substrato endogeno (coniugante) per dare un coniugato
- Le funzioni che più comunemente vengono utilizzate per la coniugazione sono OH, SH, NH<sub>2</sub>, COOH per dare un glicoside, un estere, un'amide, un etere, etc..
- I coniugati 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. Glicuranazione
2. Solfoconiugazione
3. Coniugazione con amminoacidi  
(coniugazione ippurica)
4. Mercapturazione
5. Acetilazione
6. Metilazione

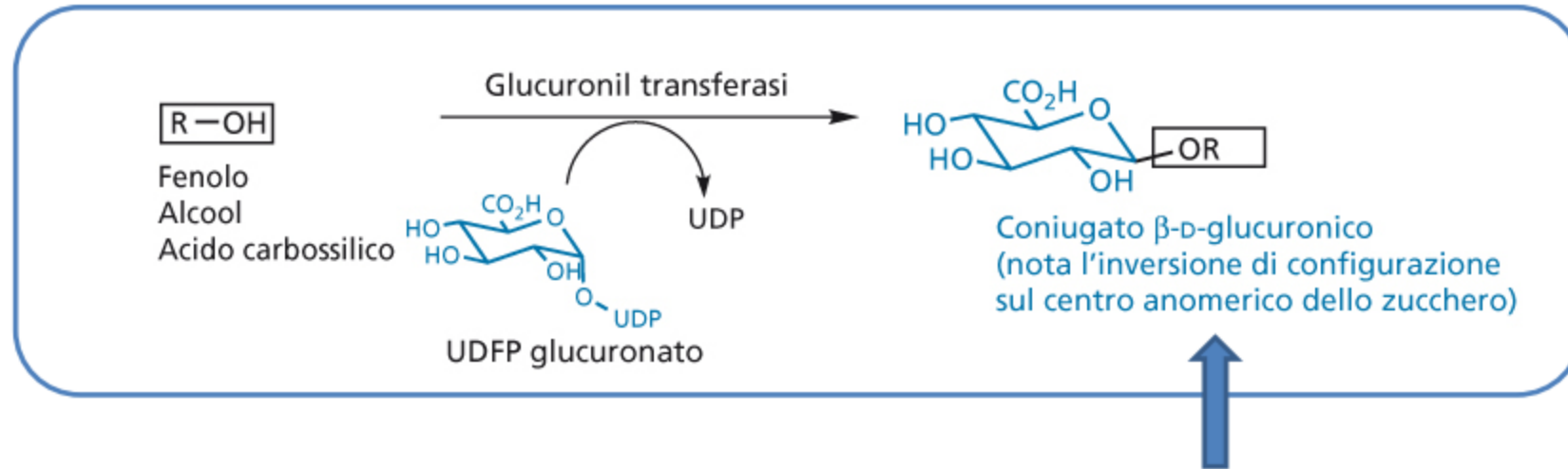
# 1. Glicuronazione

- 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

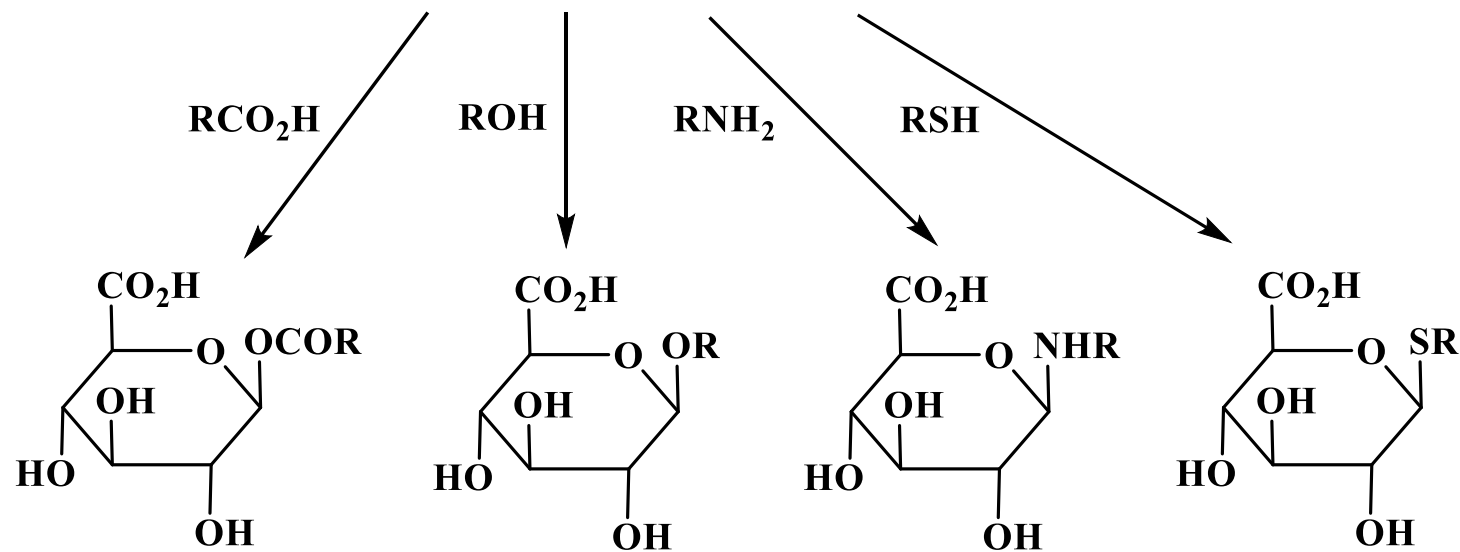
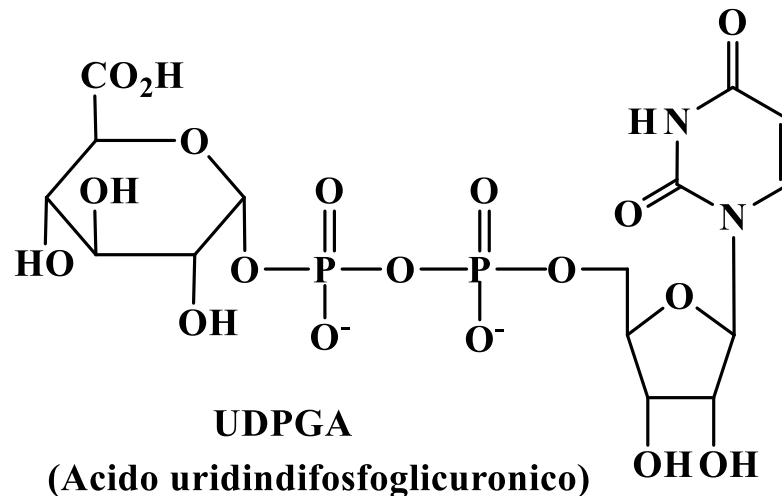


- Possono essere coniugati gruppi OH, COOH, NHOH per dare O-glucuronidi, ma anche gruppi NH<sub>2</sub>, CONH<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub> e SH per dare N-glucuronidi e S-glucuronidi

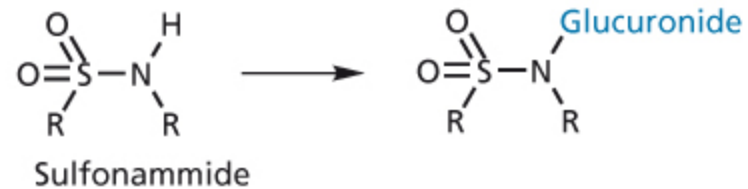
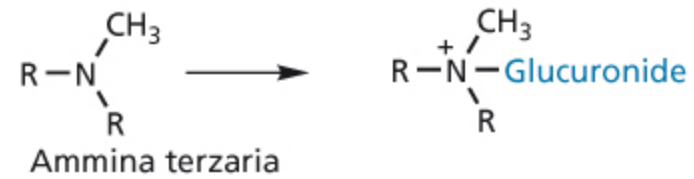
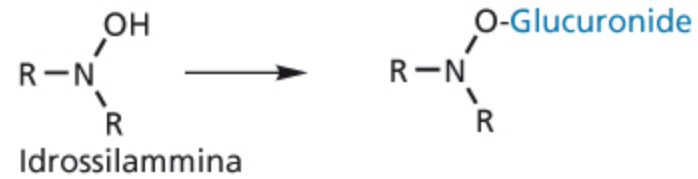
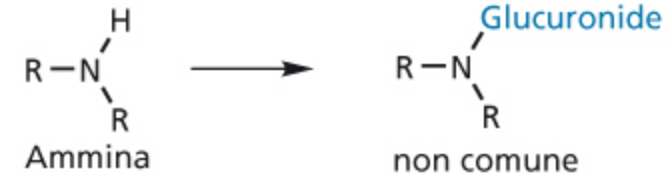
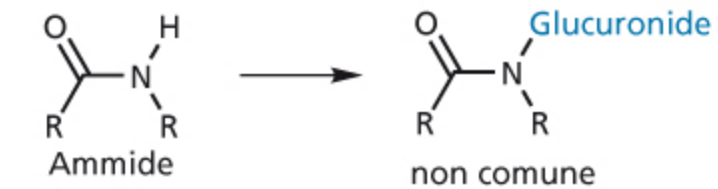
## Glucuronazione di alcoli, fenoli, acidi carbossilici



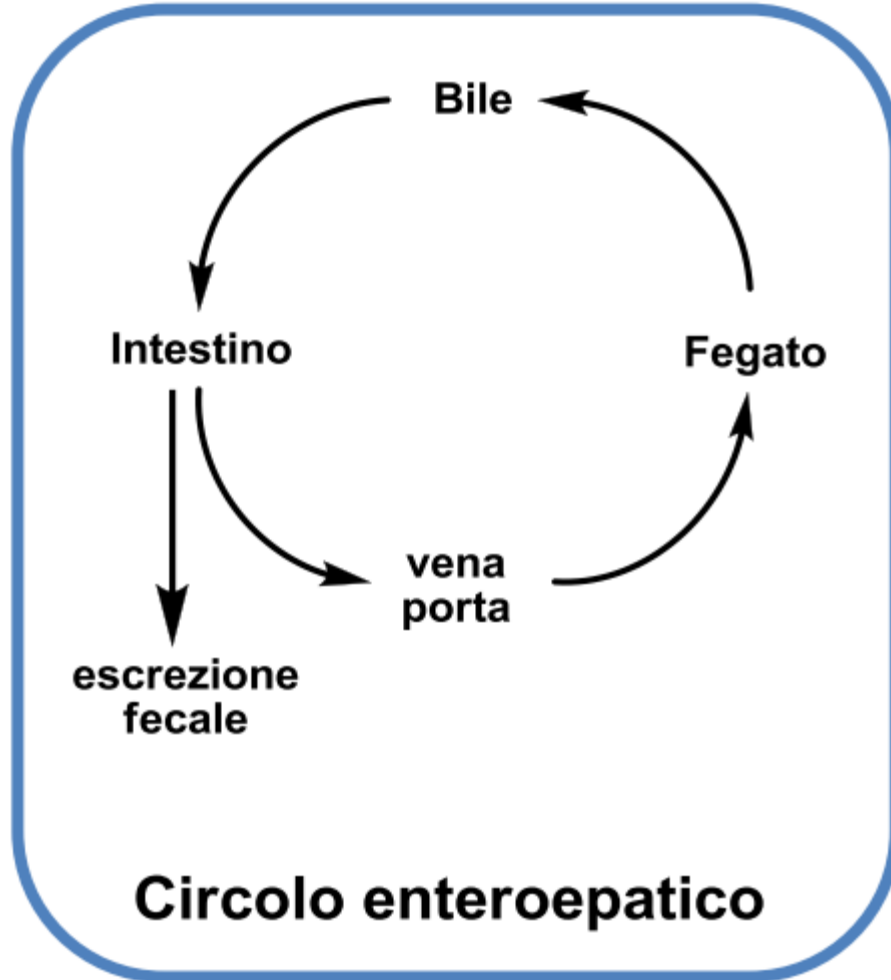
# GLICURONAZIONE



## Gluronazione di ammine, ammidi, solfonammidi, idrossilammine e tioli



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

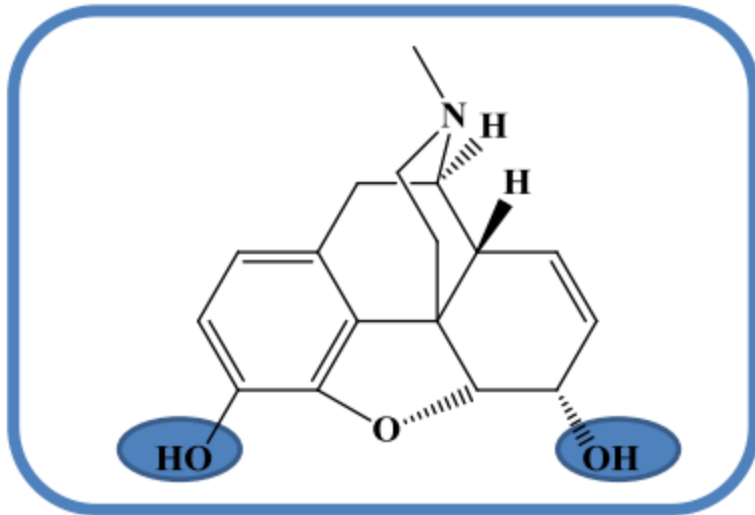


- possono essere secreti con la bile nell'intestino (PM > 300). In questo caso, le  **$\beta$ -glucuronidasi** intestinali possono idrolizzarli e il farmaco libero può essere riassorbito



- generalmente i glicuronidi sono inattivi

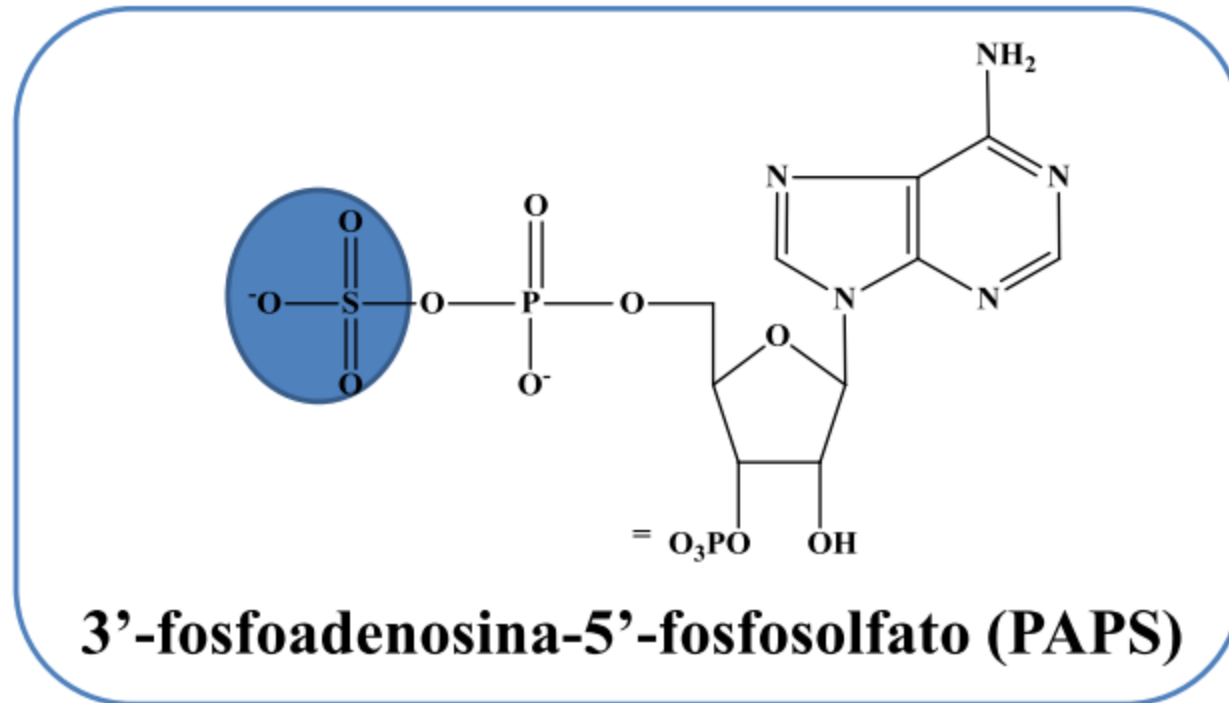
Eccezione: **morfina**



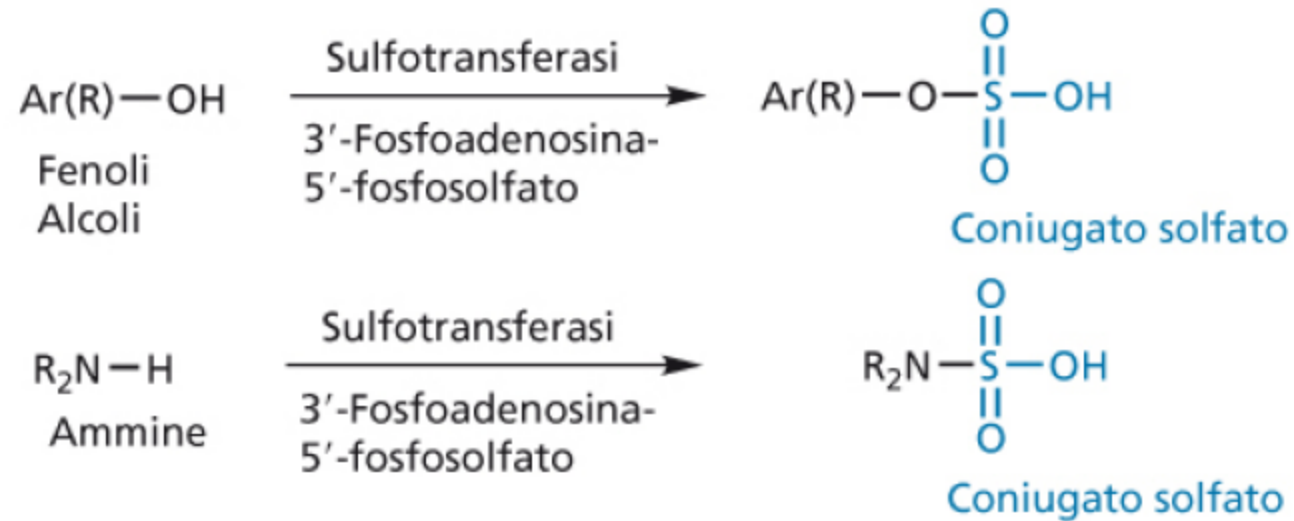
2 glucuronidi per reazione dell'OH fenolico in posizione 3 o di quello alcolico in 6. Quest'ultimo ha attività analgesica superiore a quella della morfina stessa

## 2. Solfoconiugazione

- Consiste nel trasferimento del gruppo  $\text{SO}_3^-$  dalla **3'-fosfoadenosina-5'-fosfosolfato (PAPS)** all'acceptore
- Meno comune della glucuronazione
- Catalizzata dalle **solfotransferasi**, enzimi citosolici presenti soprattutto nel fegato

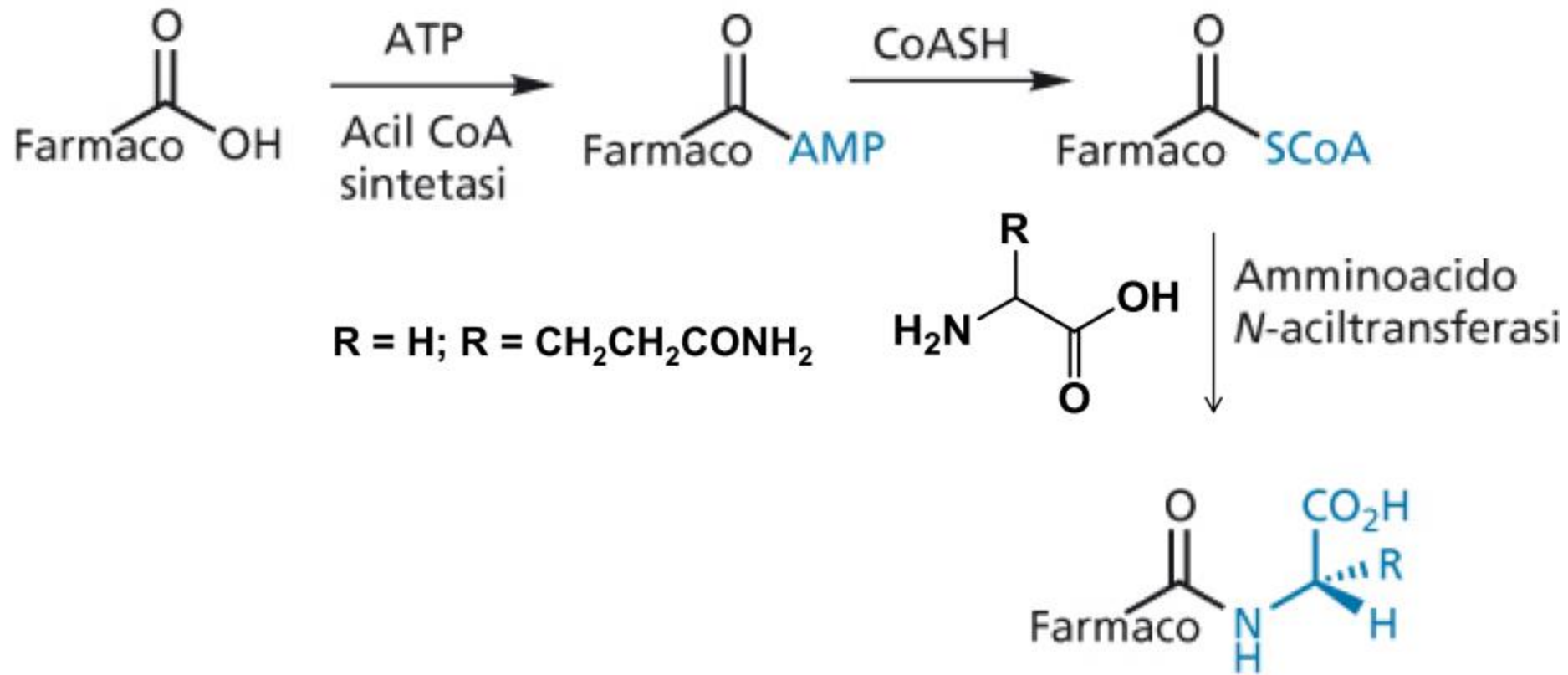


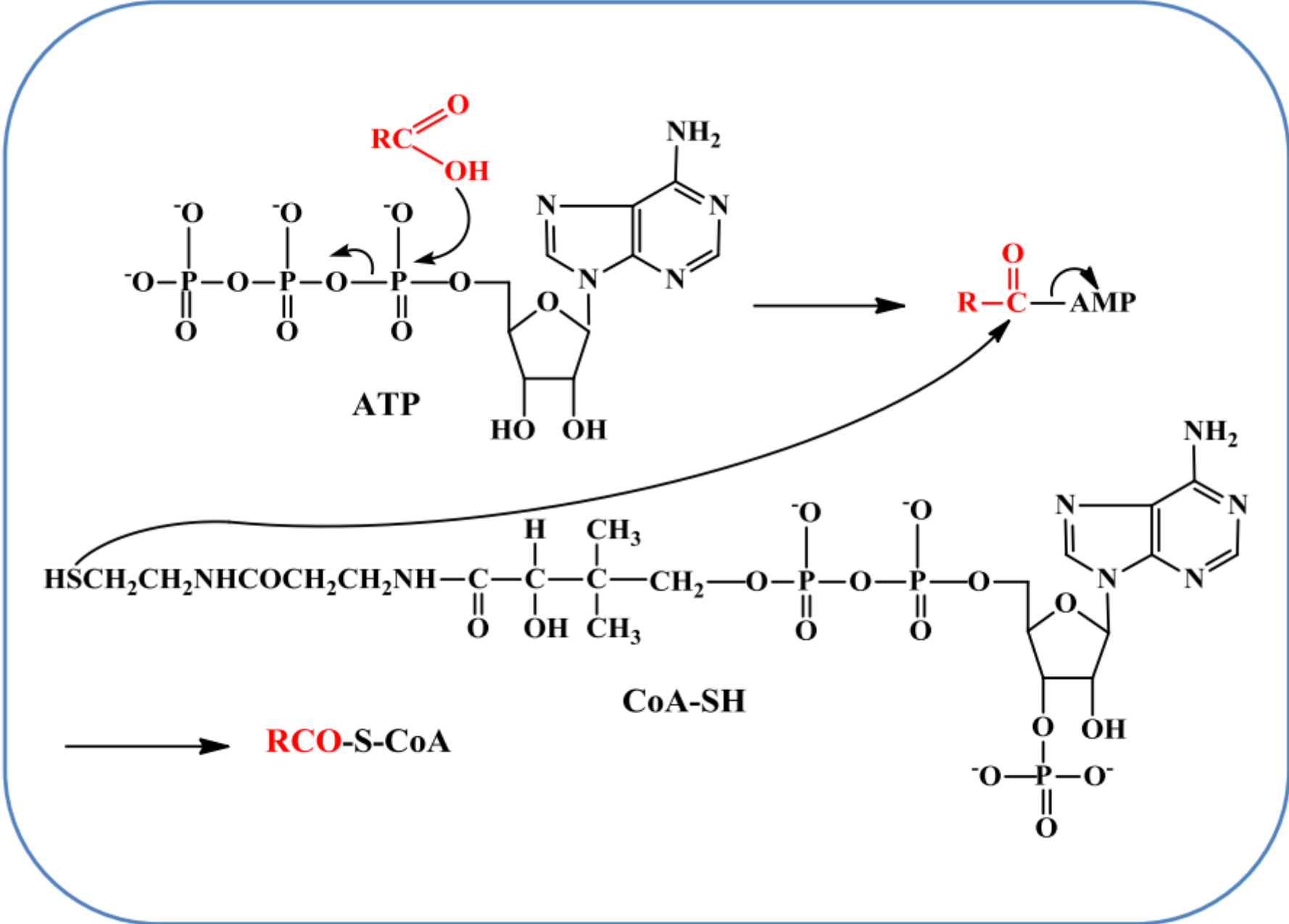
- Vengono solfoconiugati soprattutto gruppi OH per dare **solfat** ionizzati a pH fisiologico ( $\text{ROSO}_3^-$ ), ma anche gruppi amminici primari e secondari, e SH per dare **solfammati** ( $\text{RR}'\text{NSO}_3^-$ ) e **tiosolfati** ( $\text{RSSO}_3^-$ )



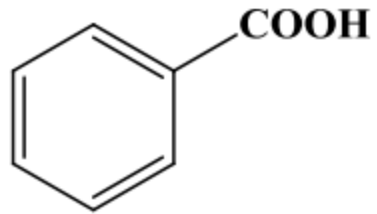
### 3. Coniugazione con aminoacidi (coniugazione ippurica)

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

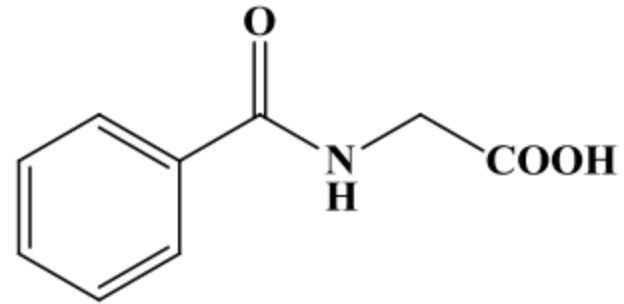




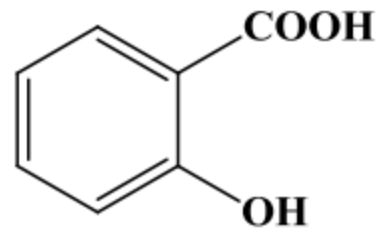
## Esempi



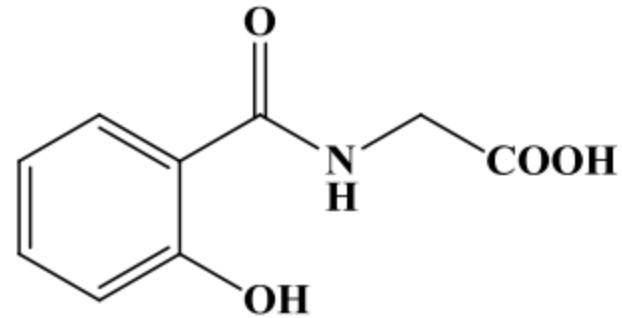
**Acido benzoico**



**Acido ippurico  
(N-benzoilglicina)**

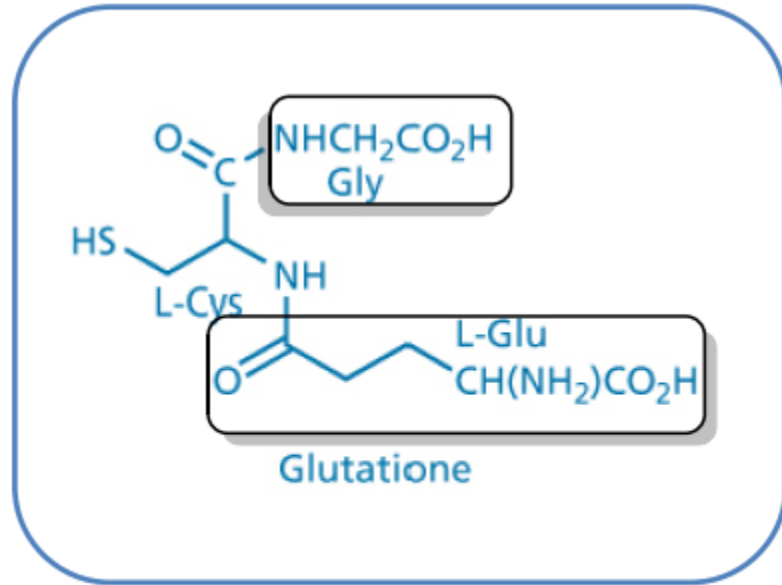


**Acido salicilico**



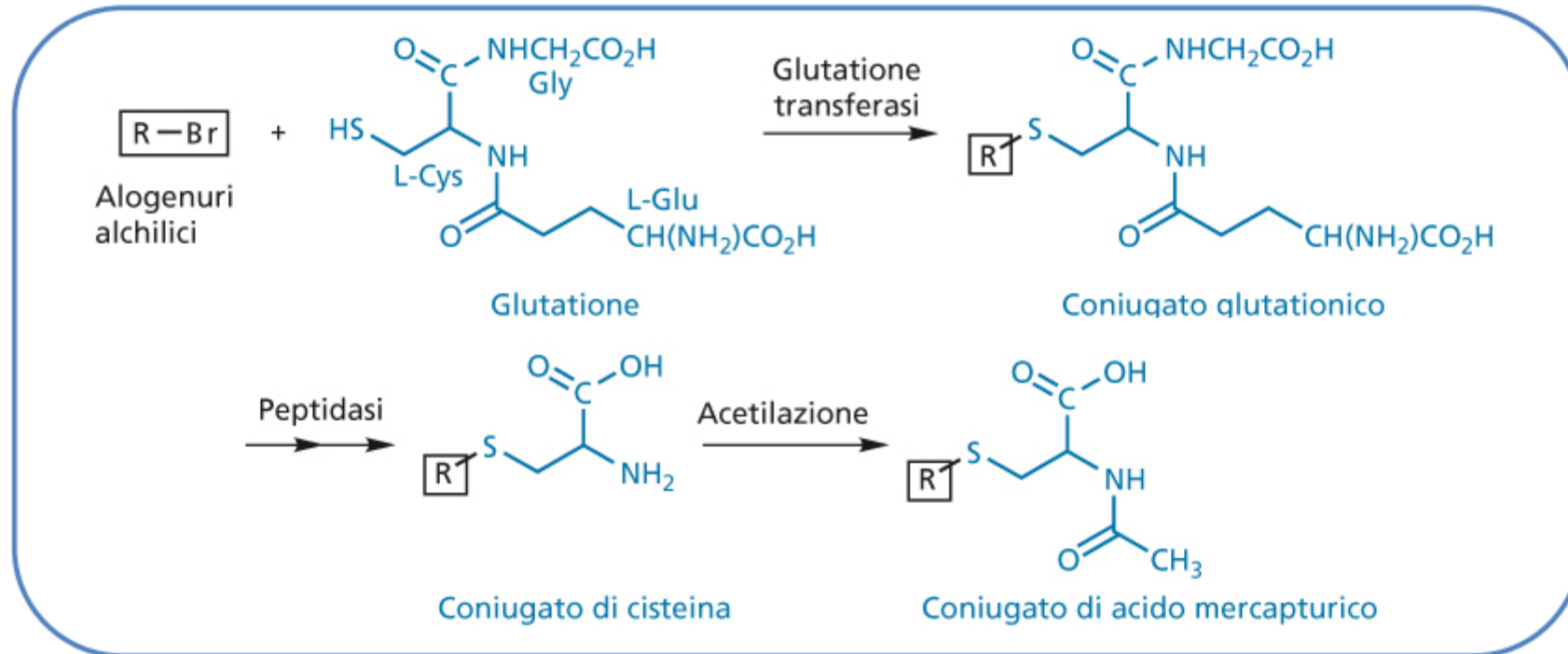
**Acido salicilurico**

## 4. Mercapturazione (coniugazione con il glutatione)



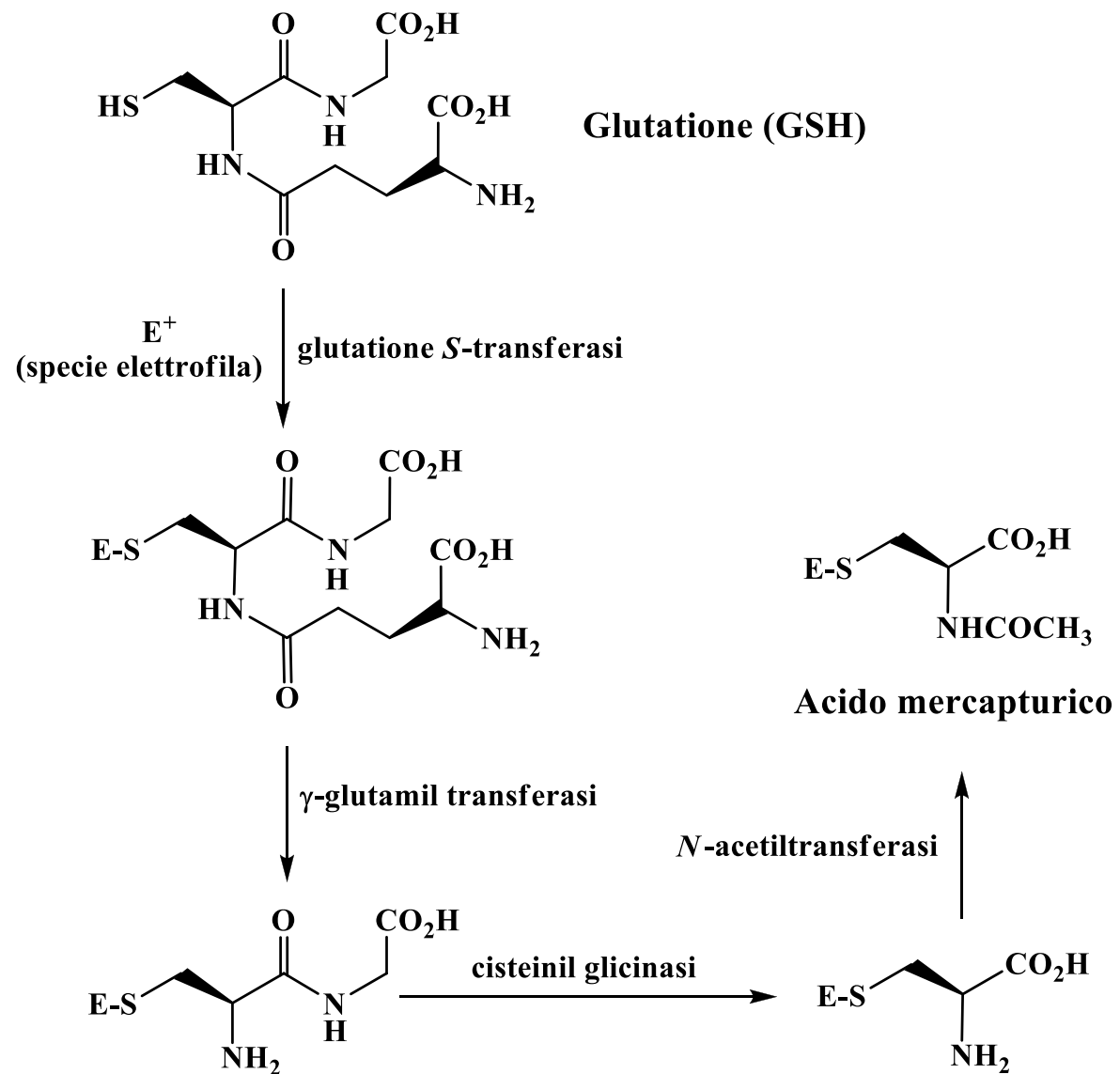
- Il glutatione ( $\gamma$ -L-glutamyl-L-cisteinilglicina, GSH) è un tripeptide
- E' un buon agente coniugante grazie alle proprietà nucleofile del suo gruppo SH
- Può intervenire anche in reazioni di ossidoriduzione in dipendenza del suo stato redox (GSH o GSSG)

- 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**

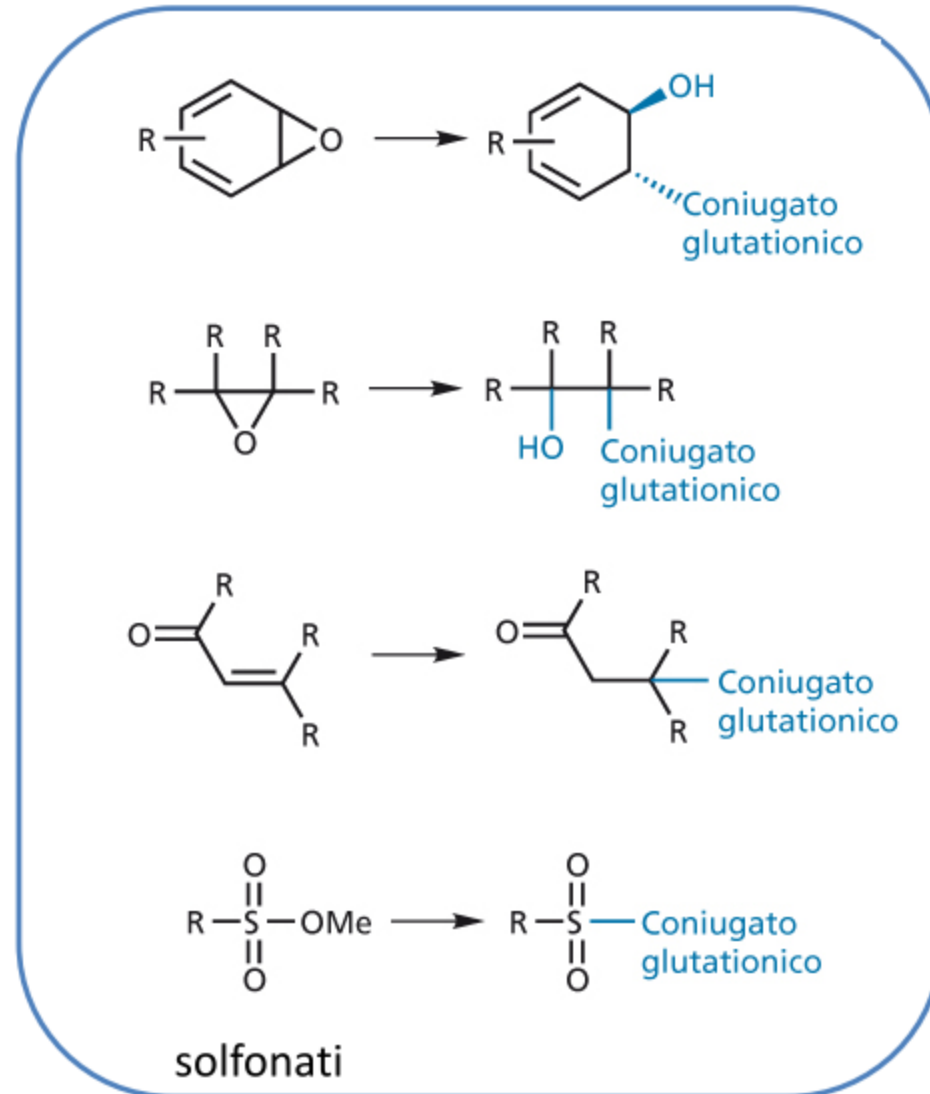




# MERCAPTURAZIONE

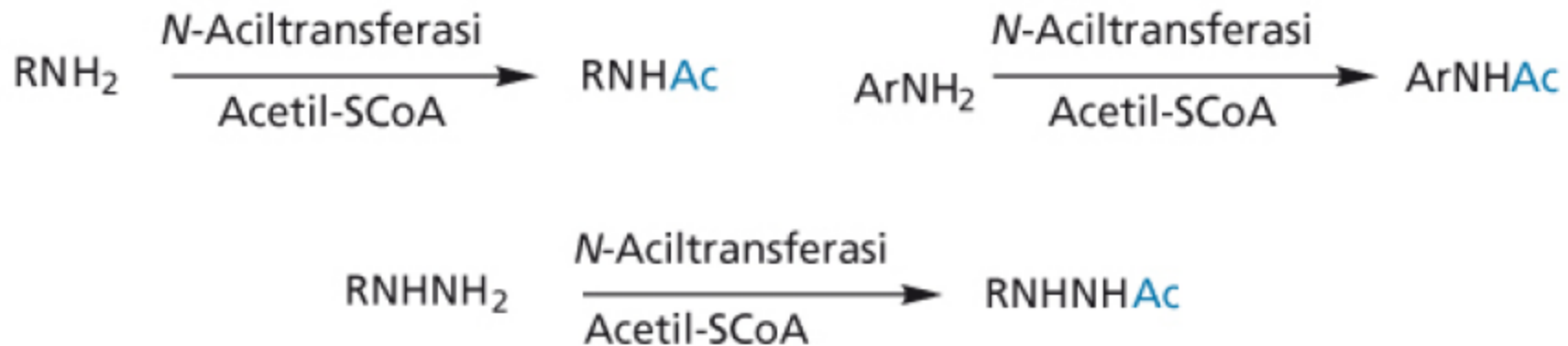


## Formazione di coniugati tra glutazione e specie elettrofile

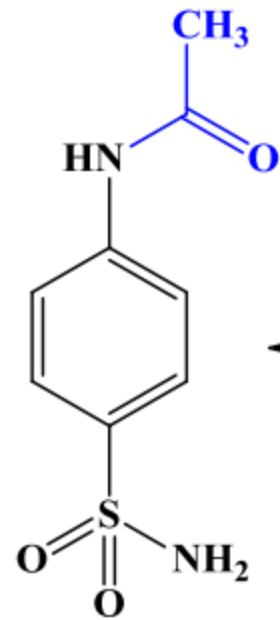


## 5. Acetilazione

- Catalizzata da **N-acetiltransferasi** che utilizzano l'**acetil-S-CoA**
- Vengono acetilati gruppi  $\text{NH}_2$  di ammine primarie alifatiche e aromatiche ma anche di idrazine ( $\text{RNHNH}_2$ ), idrazidi ( $\text{RCONHNH}_2$ ) e solfonammidi ( $\text{RSO}_2\text{NH}_2$ )
- il coniugato che si forma è meno idrofilo del prodotto di partenza

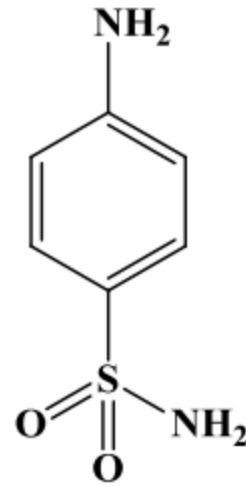


## N-Acetil metaboliti della sulfanilamide



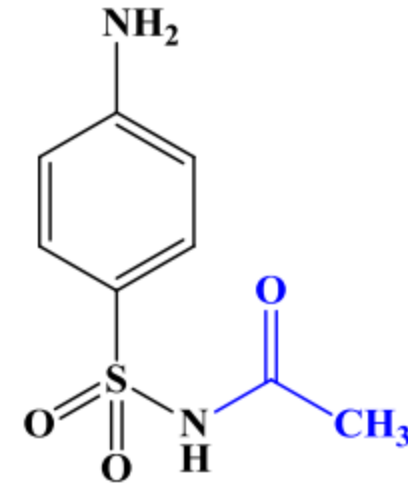
N<sup>4</sup>-acetilsulfanilamide

logP = 0



sulfanilamide

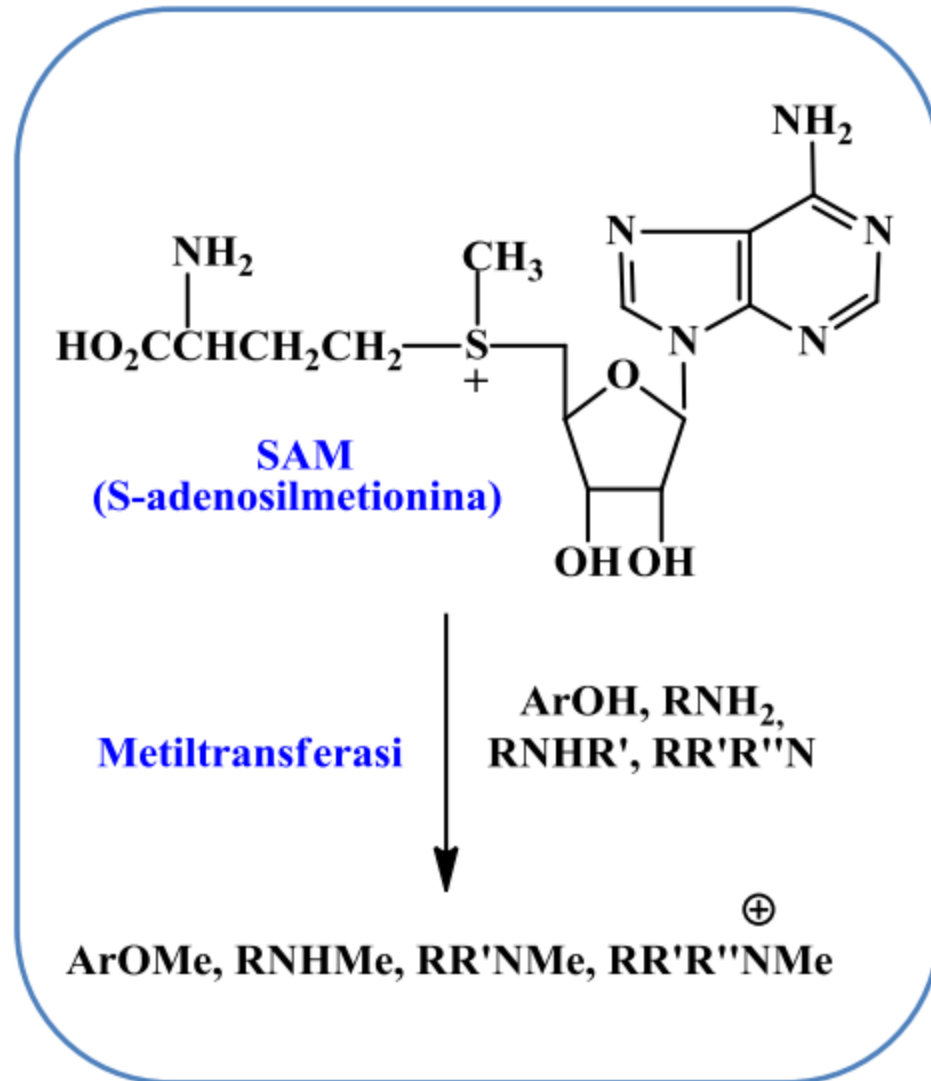
logP = - 0.62



N<sup>1</sup>-acetilsulfanilamide

logP = - 0.96

# 6. Metilazione



- 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

