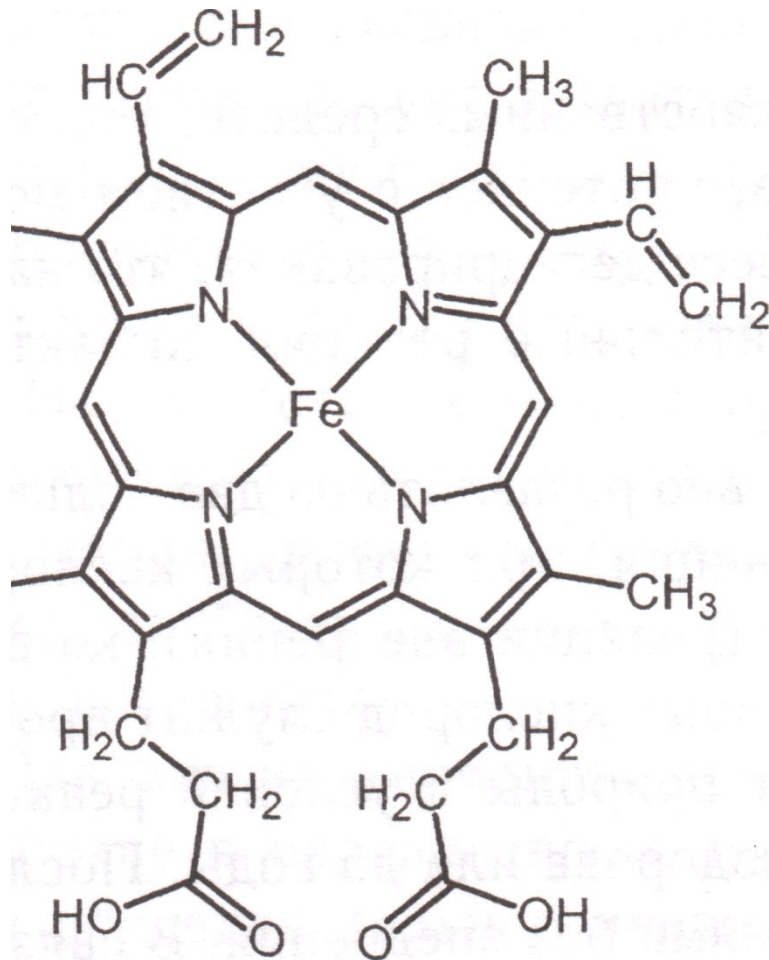


ФАРМАКОЛОГИЯ

ОКИСЛЕНИЕ

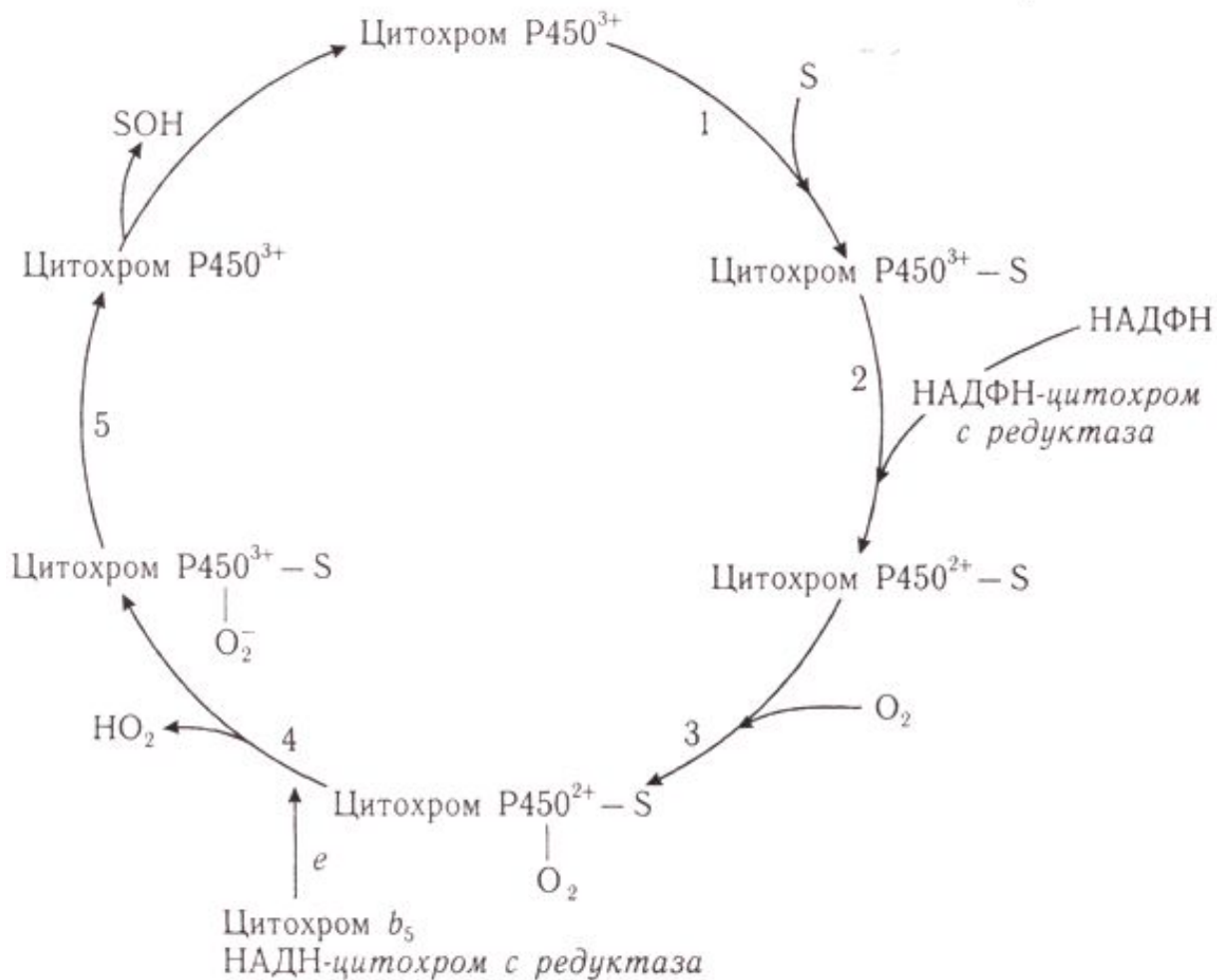
Железопорфириновые ферменты



Основная часть активного кислорода, используемого в реакциях гидроксилирования ксенобиотиков, генерируется гемопротейнами, большинство из которых — ферменты. В качестве простетической группы они содержат железопорфирины (миоглобин, гемоглобин, цитохром P450, каталаза, пероксидаза, циклооксигеназа и гемоксигеназа). Железопорфирином для них является гем b. В случае Fe²⁺ это протогем или гем, а Fe³⁺ — протогемин или гемин.

Цитохром Р450 – зависимые монооксигеназы.

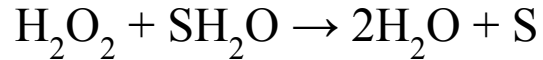
Схема реакций гидроксилирования ксенобиотиков



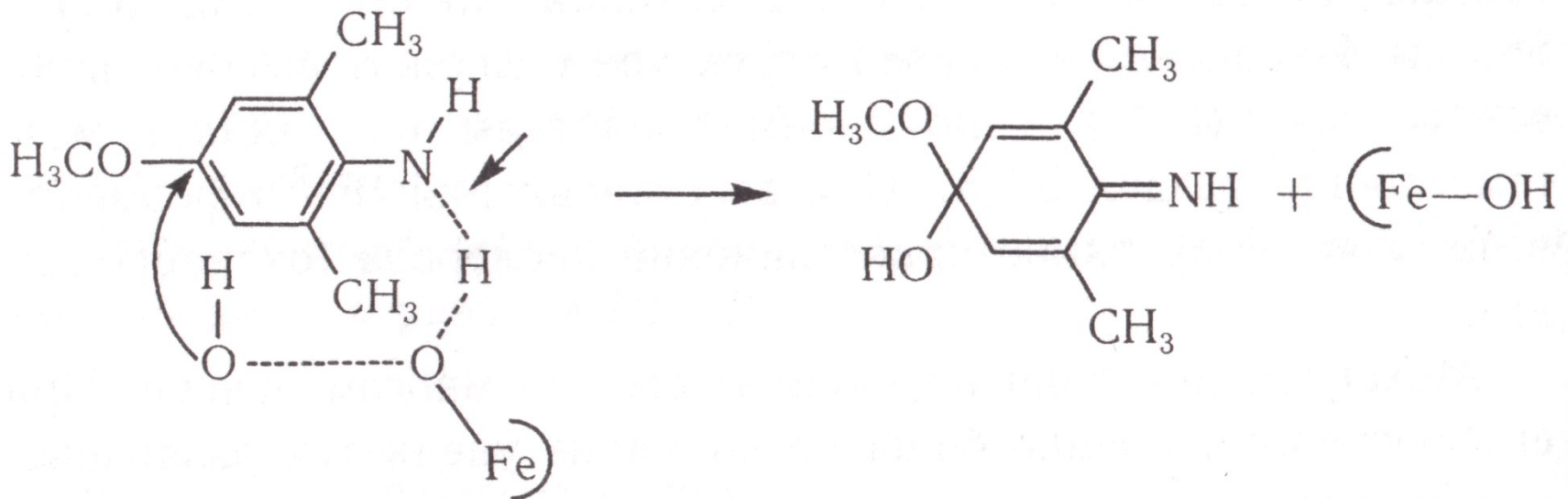
1. Взаимодействие низкоспиновой формы цитохрома Р450 (Fe^{3+}) с субстратом;
2. Восстановление образовавшегося фермент-субстратного комплекса в НАДФН – специфической цепи переноса электронов;
3. Взаимодействие атмосферного кислорода с комплексом цитохром Р450 (Fe^{3+}) — субстрат и образование тройственного комплекса цитохром Р450 (Fe^{3+}) — субстрат — O_2 ;
4. Активирование молекулярного кислорода в оксигенированном комплексе путем его восстановления;
5. Распад комплекса на окисленный цитохром Р450 и окисленный субстрат.

Пероксидазы

Пероксидазы катализируют двухэлектронное восстановление H_2O_2 до H_2O , используя в качестве донора электронов различные восстановители:

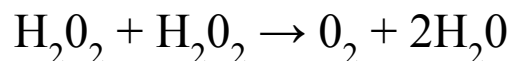


Пероксидаза содержит два окислительных эквивалента, один из них локализован на ионе железа, второй – на порфириновом кольце гемопротейна. Предполагается, что процесс окисления ксенобиотика происходит через стадию образования тройного комплекса (перекись водорода – пероксидаза - субстрат):

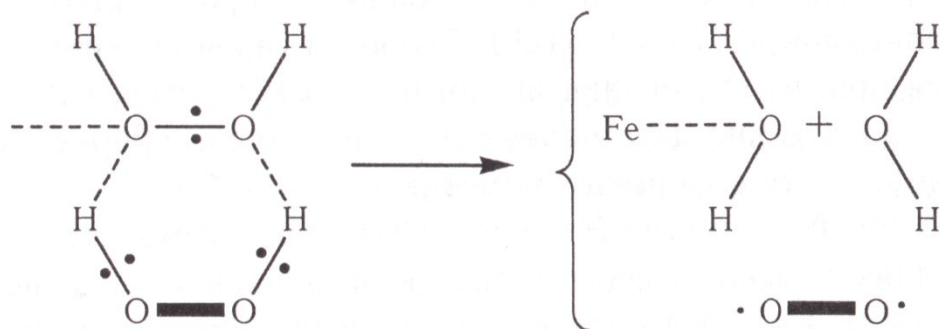
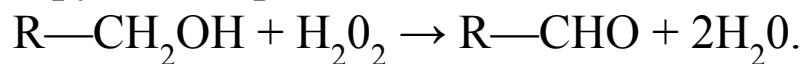


Каталаза

Для каталазы характерны два вида каталитической активности (каталазный и пероксидазный), поэтому фермент приспособлен для разложения H_2O_2 в условиях высокой и низкой стационарной концентрации перекиси водорода. Каталазная реакция фермента заключается в диспропорционировании H_2O_2 :



Каталаза в пероксидазных реакциях обеспечивает окисление метанола, этанола и других спиртов:



При разложении перекиси водорода участвует две молекулы H_2O_2 . Первая связывается с ферментом, вторая выполняет роль субстрата. Образуется вода и бирадикал кислорода.

Ферментные свойства миоглобина и гемоглобина

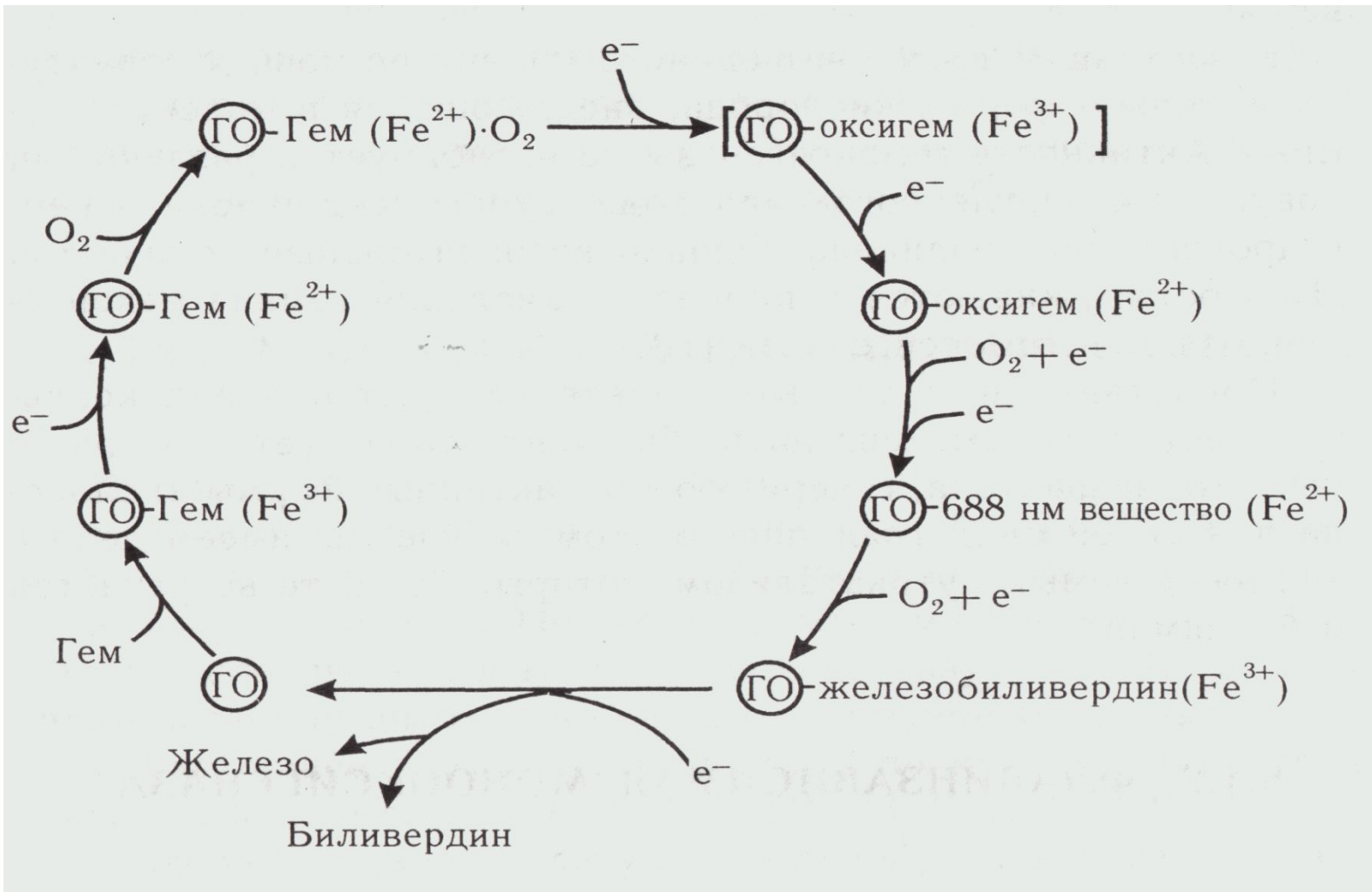
Неферментативные процессы:

- Транспорт O_2 : обратимое присоединение кислорода без окисления железа в геме.

Ферментативные процессы:

- Автоокисление;
- Пероксидазные реакции;
- Монооксигеназные реакции;
- Реакции соокисления.

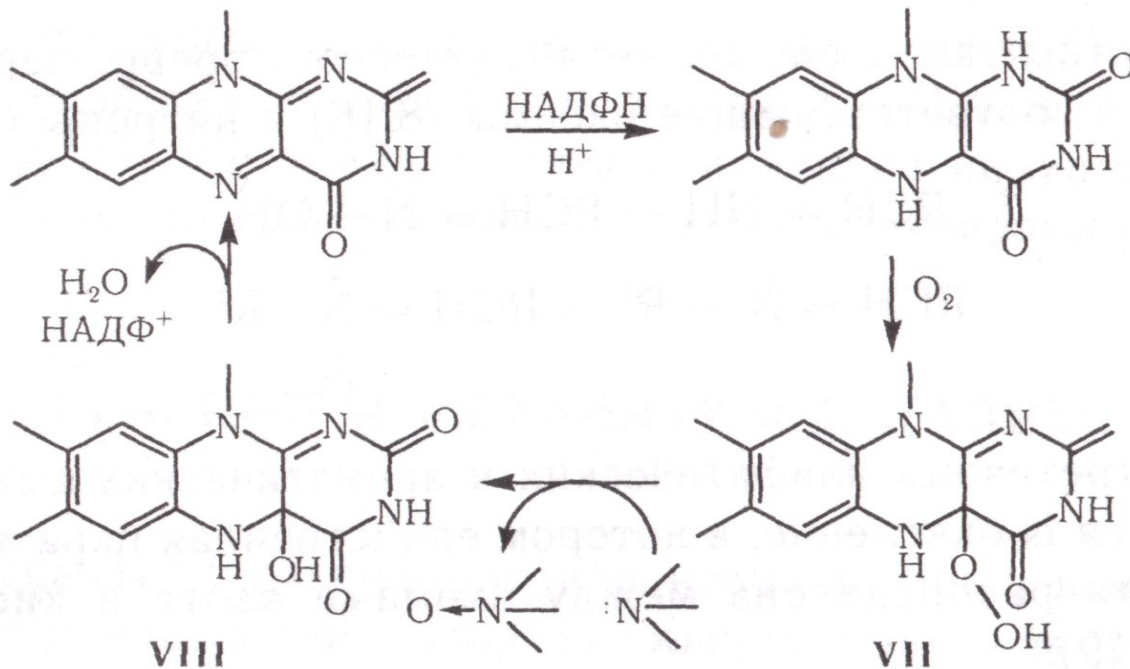
Гемоксигеназа



Механизм биodeградации гема в гемоксигеназной реакции

Флафинзависимая монооксигеназа (FMO)

Известно пять изоформ фермента: FMO1, FMO2, FMO3, FMO4, FMO5. Все они содержат 1 моль ФАД, нековалентно связанного с белком. Консервативным участком FMO является N-терминальная часть, связывающая НАДФН и ФАД. FMO катализирует N-гидроксилирование ксенобиотиков путем замещения одного атома водорода аминогруппы на гидроксил.



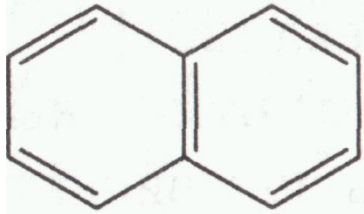
Рибофлавин восстанавливается НАДФН до дигидрорибофлавина, который реагирует с молекулярным кислородом с образованием флавин-4α-оксипероксида (VII). Нуклеофильный субстрат, например, триметиламин атакует дистальный кислородом гидроперекиси. В результате такого взаимодействия атом кислорода переносится на субстрат и одновременно образуется оксифлавин (VIII). Лимитирующим звеном FMO катализа является распад оксифлавина.

Молибденсодержащие ферменты

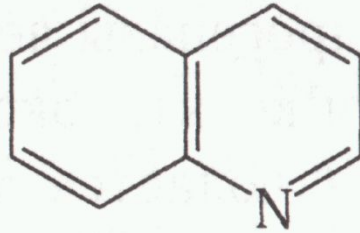
Чаще всего имеются в виду ксантиноксидаза, ксантиндегидрогеназа и альдегидоксидаза. Все ферменты представляют собой димеры с идентичными субъединицами, каждая из которых содержит один Mo^{6+} , один ФАД и либо один (Fe_4S_4) -центр, либо два (Fe_2S_2) -центра. Электроны от восстановленной молибден-персульфидной структуры переносятся к ФАД, который в свою очередь находится в контакте как с молибденом, так и с железосероцентром, так что окисленный фермент может принимать 5 или 6 электронов.

Ксантиноксидаза и ксантиндегидрогеназа по своей структуре - это один фермент. В силу определенных обстоятельств транспорт электронов в цепи фермента может следовать в район железо-серного кластера к ФАД, а затем к акцептору — O_2 (оксидазная активность) или к НАД^+ (дегидрогеназная активность). Оба фермента осуществляют каталитическое окисление субстратов, имеющих электрон-дефицитные sp^2 -гибридизованные атомы углерода, связанные в гетероцикле с атомом азота (пурины, пиримидины).

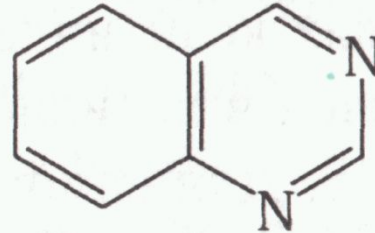
Субстратная специфичность ферментов



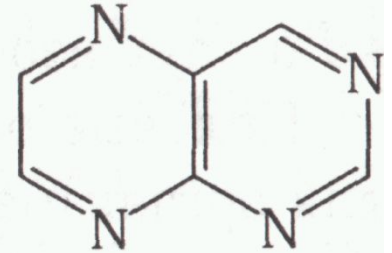
IX



X



XI



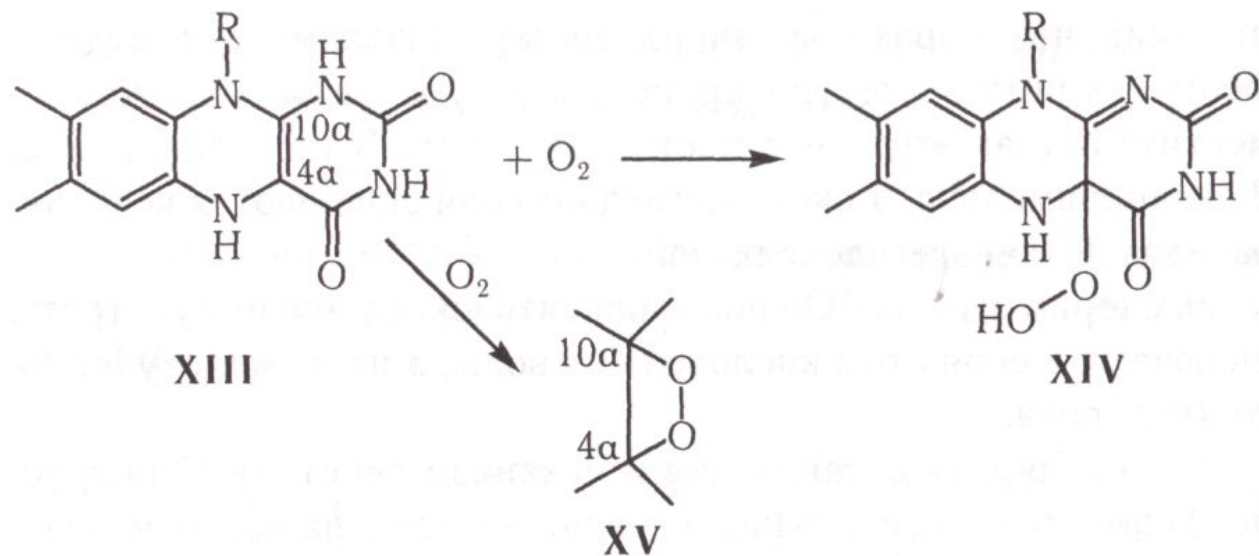
XII

Нафталин (IX) окисляется в живых организмах до 1- и 2-нафтолов с участием СУР450. Это вещество не является субстратом ксантиноксидазы и ксантиндегидрогеназы. Появление азота в качестве гетероатома в молекуле хинолина (X) делает это вещество субстратом этих ферментов, наряду с СУР450. Последующее увеличение числа атомов азота, как это имеет место в молекуле хиназолина (XI) и приводит к тому, что этот субстрат в основном окисляется ксантиноксидазой и альдегидоксидазой до хиназолин-4-она и дальше до хиназолин-2,4-диона. В этом случае отмечены лишь следовые количества метаболитов фенольной структуры, т. е. образующихся в цитохром Р450-зависимом катализе. И наконец, птеридин (XII) относится только к субстратам молибдензависимых монооксигеназ, так как окисляется до птериден-2,4-диола альдегидоксидазой и до птеридин-2,4,7-триона ксантиноксидазой. Следовательно, рассматриваемые ферменты атакуют (окисляют) углеродный атом ароматического кольца, который располагается по соседству с гетероатомом (азотом). Это происходит потому, что они катализируют реакции с участием нуклеофилов и это отличает их от цитохром Р450-зависимых ферментов.

Ксантиноксидаза

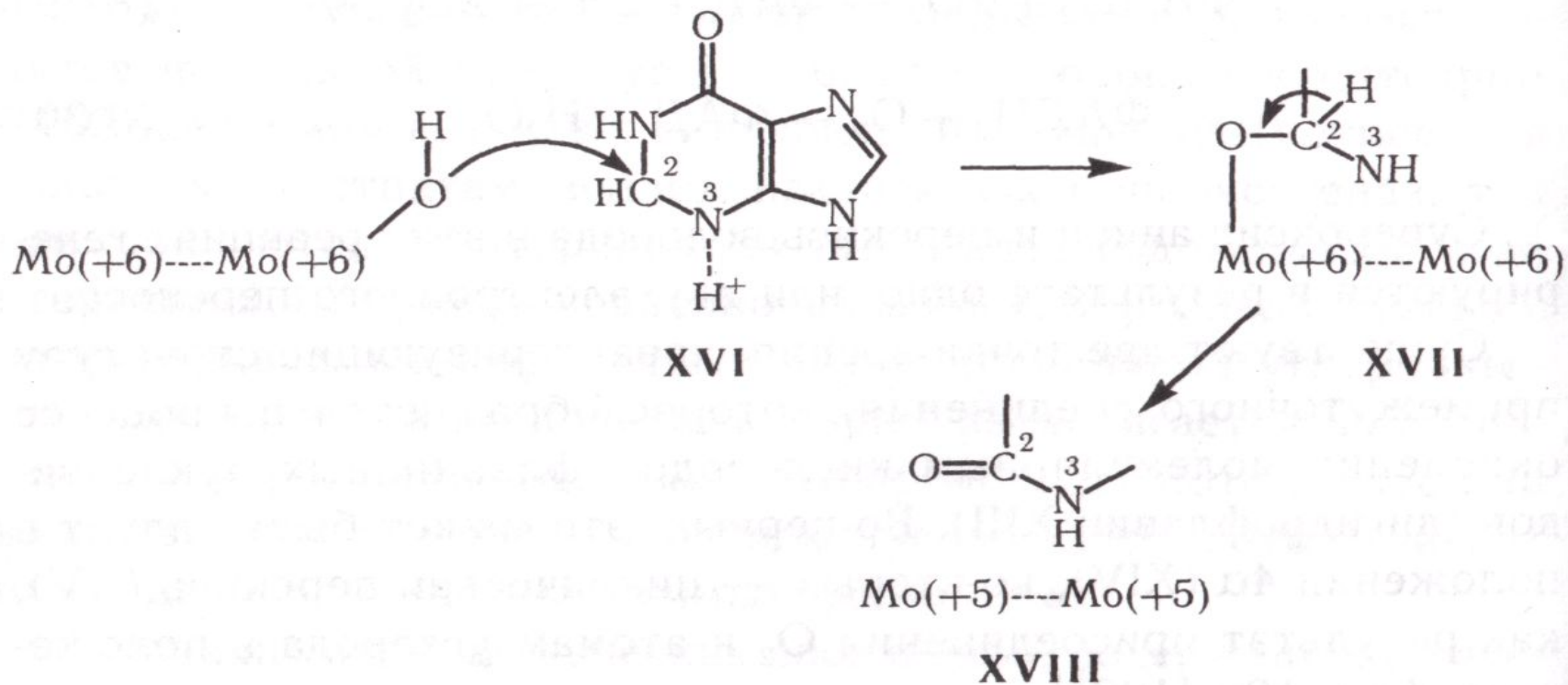
Фермент осуществляет прямое окисление с участием кислорода, т.е. дегидрирование (отщепление электронов и протонов) лекарственных средств, производных пуринов, пиримидинов, птеридинов и альдегидов. Окисляемые субстраты включают в себя атом кислорода из воды, а не из молекулярного кислорода.

Ксантиноксидазная реакция предполагает в своем механизме два каталитических центра. Молибден связывает восстанавливающие его субстраты и в процессе реакции превращается из состояния Mo (6) в состояние Mo (5) и Mo (4). Электрон переходит на конечный акцептор - ФАД, при участии железосодержащих центров (Fe_2S_2) - I и II.



Дигидрофлавин (XIII) в результате присоединения O_2 к атомам углерода в положениях 4 α и 10 α может формировать аддукт в положении 4 α (XIV), либо — циклическую перекись (XV). Последующие превращения соединений XIV или XV могут приводить к образованию окисленного ФАД и супероксид-аниона или перекиси водорода.

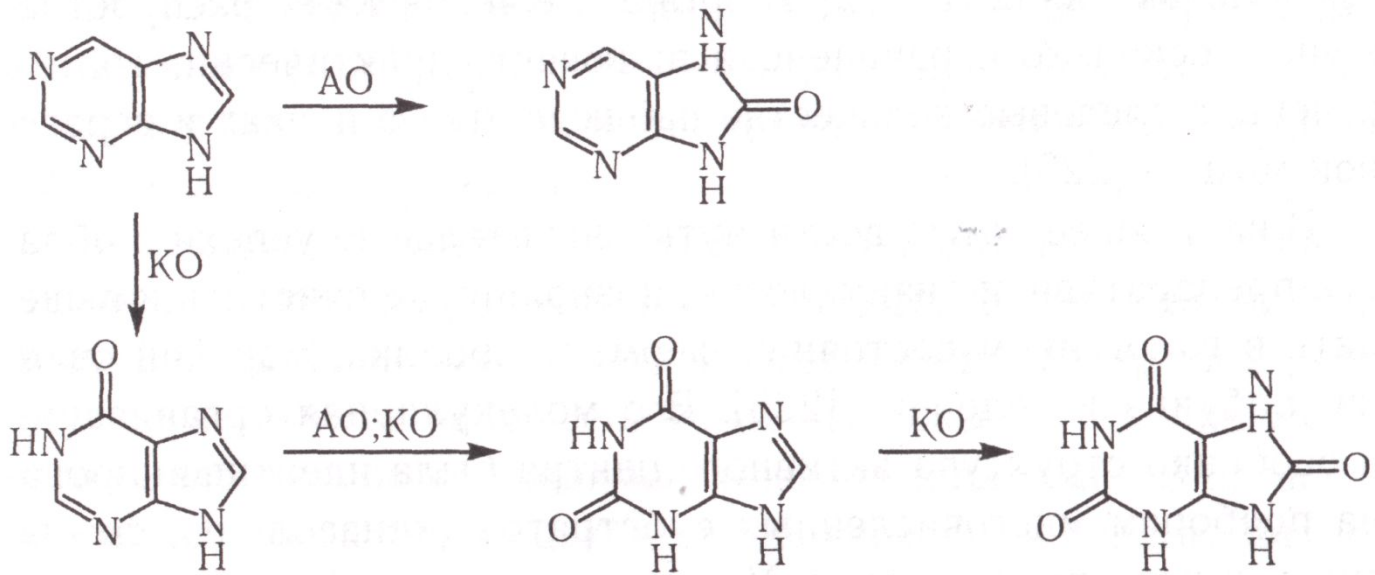
Ксантинооксидаза - продолжение



В результате присоединения координированной с металлом гидроксильной группы возникает аддукт XVII. По-видимому, далее он может окисляться посредством переноса электронов через кислород на каждый атом Mo. Получив по одному электрону они образуют два атома Mo (+5).

Альдегидоксидаза

Несмотря на близость ксантиноксидазы и альдегидоксидазы по отношению к субстратам окисления (IX—XII) и идентичность механизма действия (раздел 8.1.3.1.1), в некоторых случаях ферменты отличаются позиционной избирательностью их действия. Так, альдегидоксидаза (АО) катализирует реакцию окисления пуринов в положении 8, а ксантиноксидаза (КО) — в положении 2 и 6. Образовавшийся в ксантиноксидазной реакции метаболит (6-оксипурин) может быть субстратом обоих ферментов. И, наконец, только 2,6-диоксипурин окисляется в положении 8 ксантиноксидазой до мочевой кислоты.

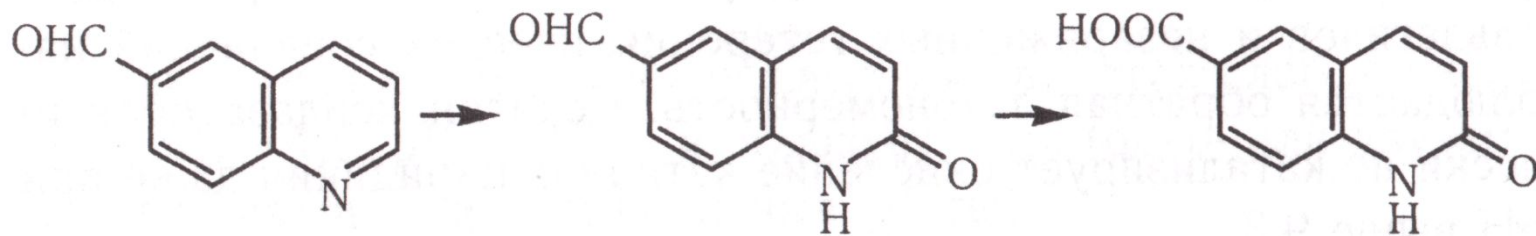


Альдегидоксидаза - продолжение

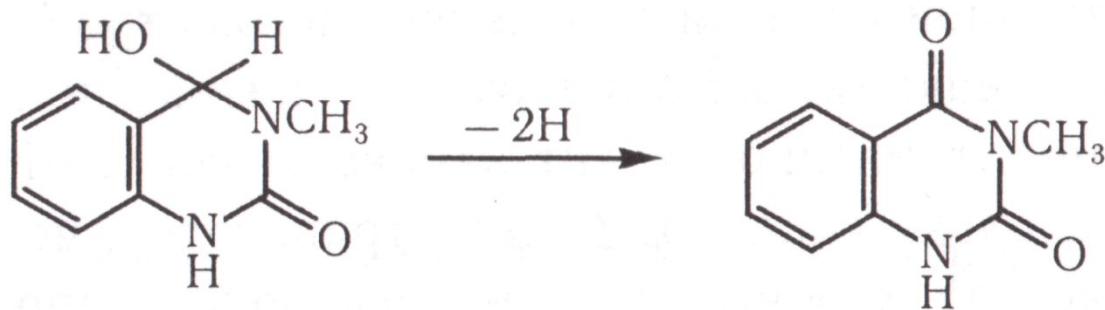
Два пути окисления N¹-метилникотинамида:



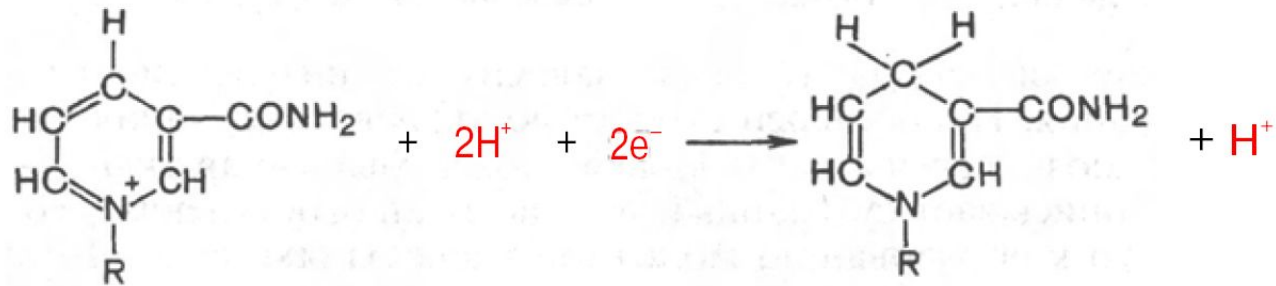
Последовательное окисление хинолин-6-альдегида:



Дегидрирование хлорид-3-метилхиназолин-2-она:

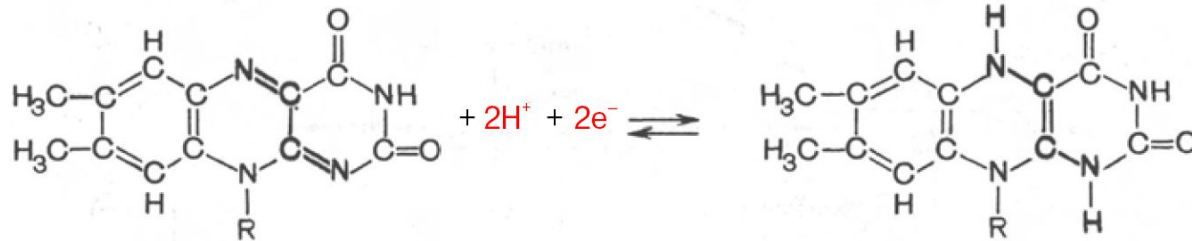


Дегидрогеназы



НАД⁺

НАДН

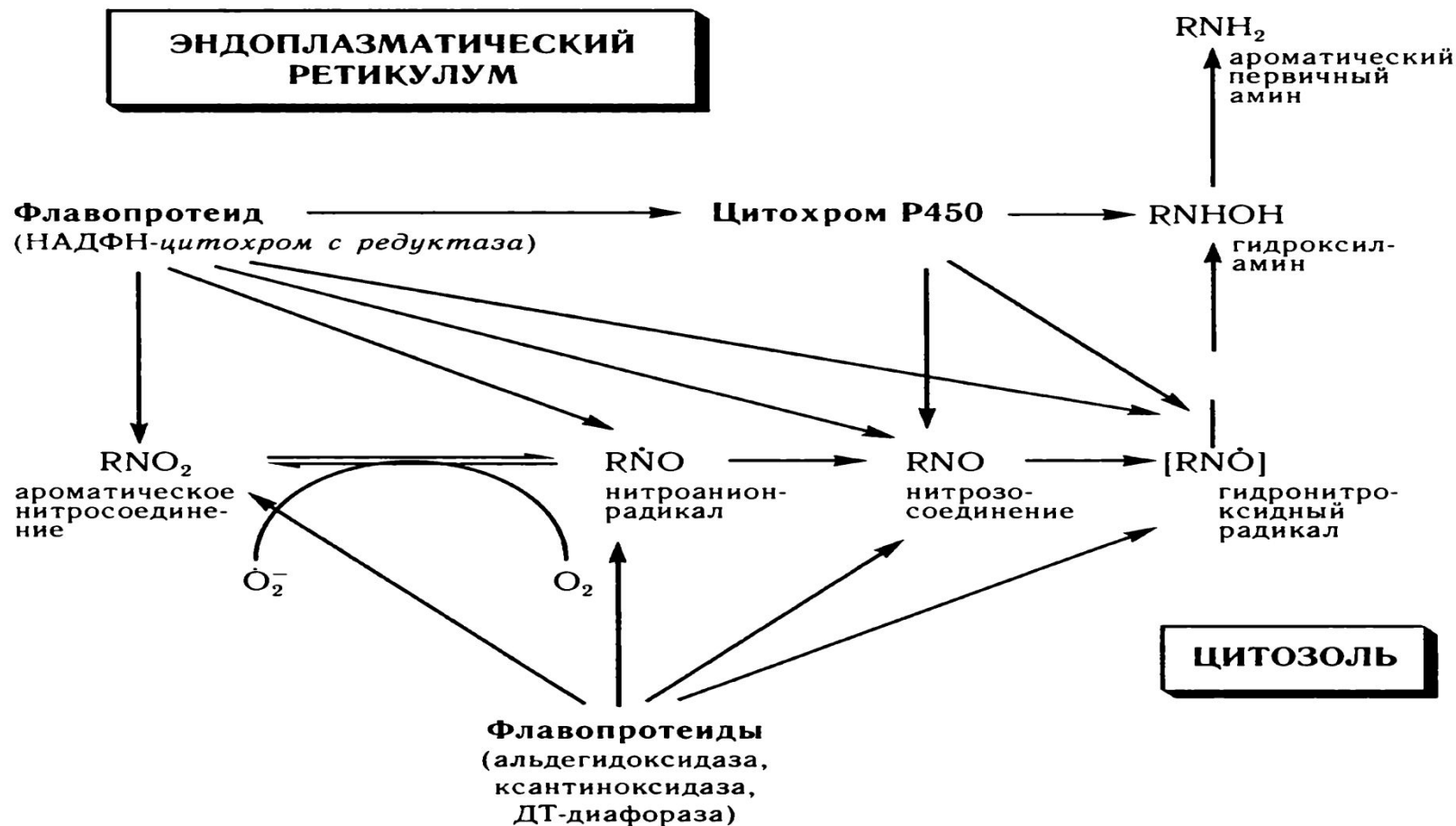


ФАД
(или ФМН)

ФАДН₂
(или ФМНН₂)

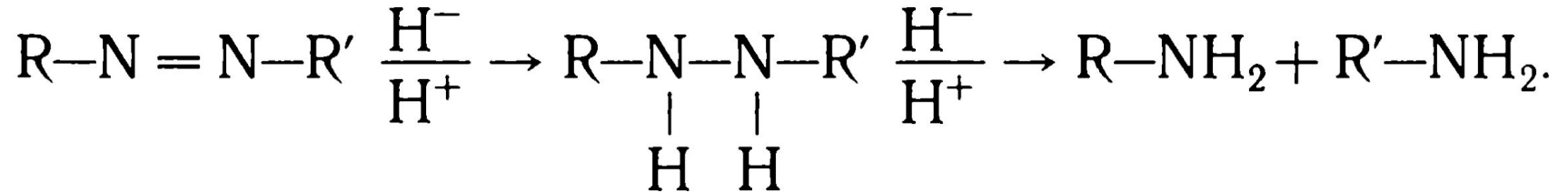
ВОССТАНОВЛЕНИЕ

ВОССТАНОВЛЕНИЕ НИТРОСОЕДИНЕНИЙ

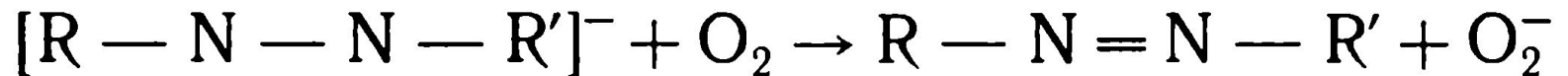


Основные ферментные системы, участвующие в ароматическом нитровосстановлении печени (квадратные скобки у нитроксида указывают на меньшую вероятность существования такого интермедиата)

Восстановление азосоединений

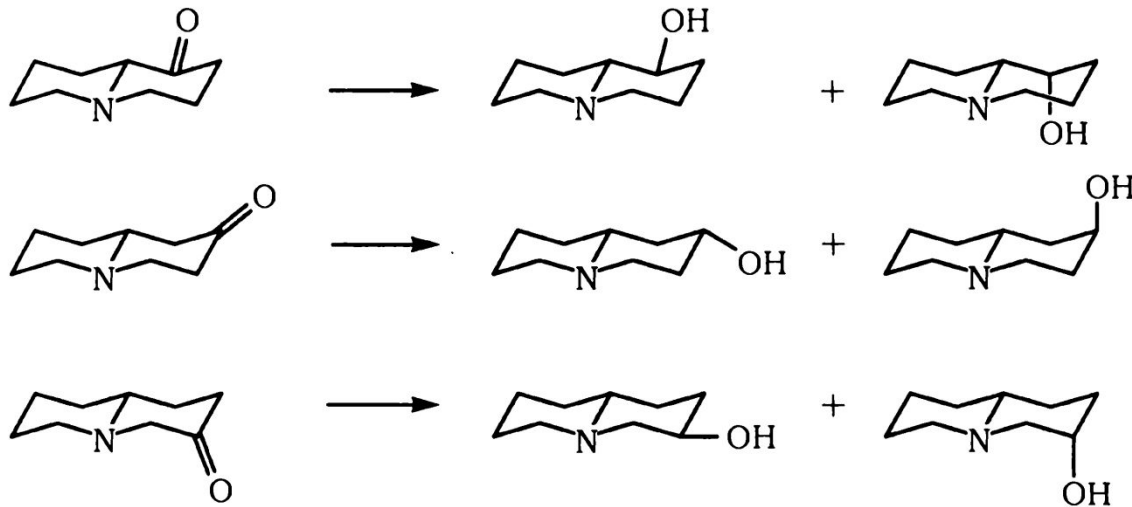
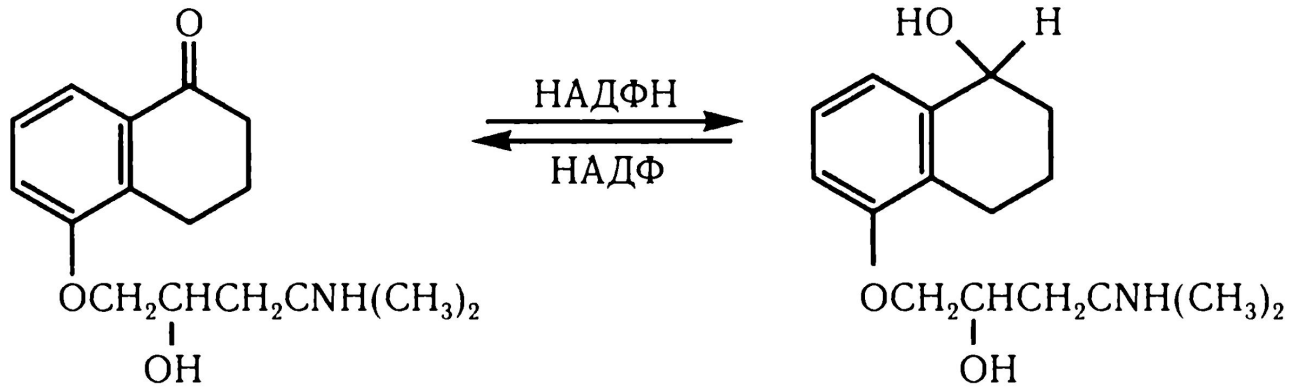


Микросомальная азоредуктаза восстанавливает азосоединения в две стадии: восстановление субстратов до гидразосоединений и их восстановительное расщепление.

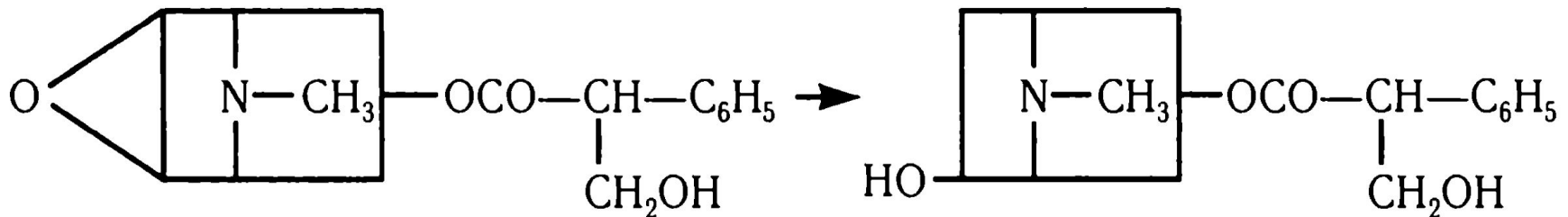


Восстановление азосоединений может включать образование свободных радикалов и может ингибироваться кислородом.

Восстановление кетонов

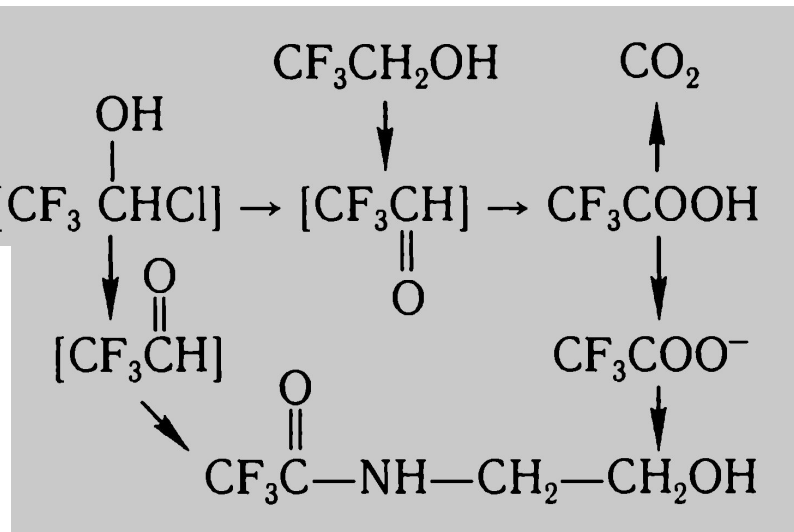
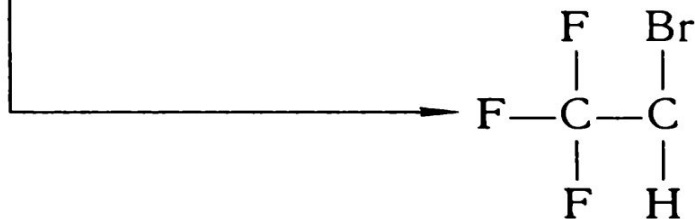
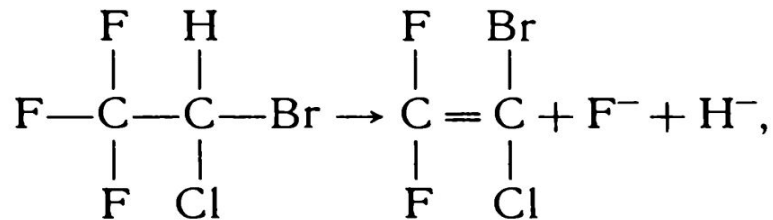
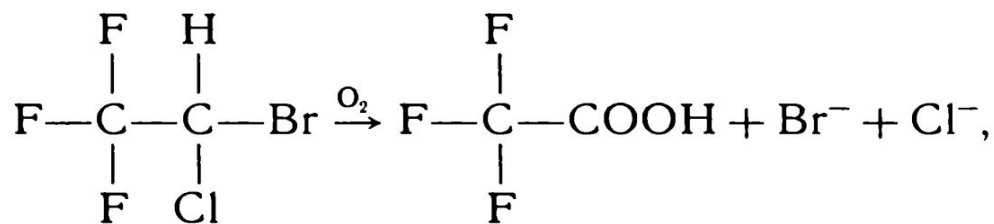
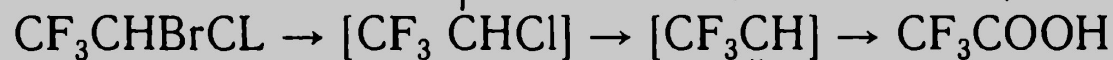
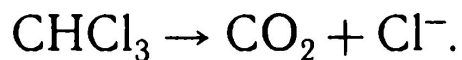
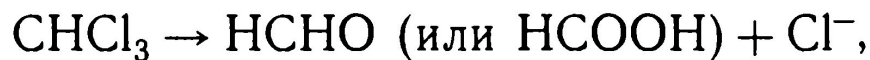


Восстановление ароматических эпоксидов



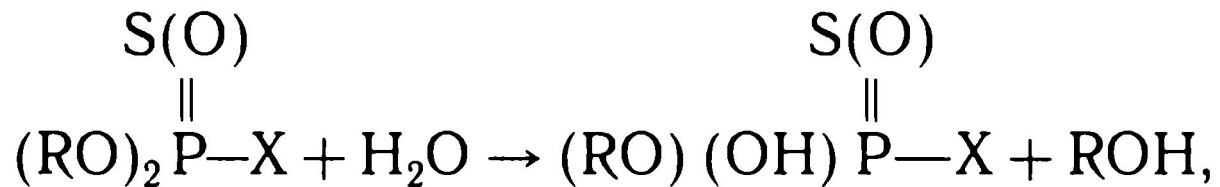
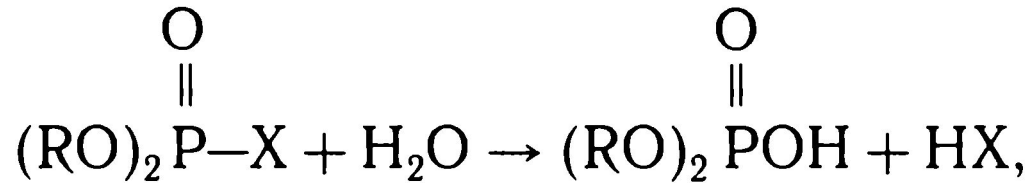
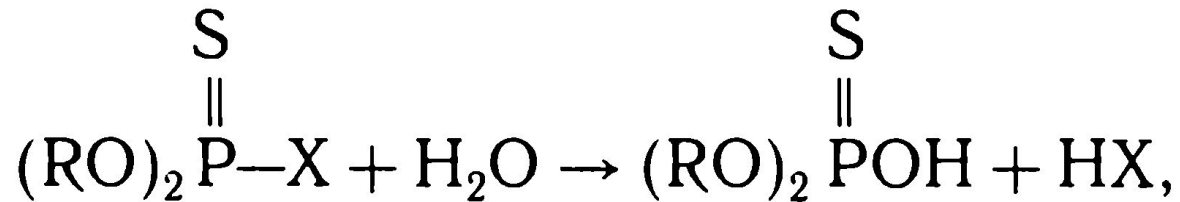
Эпоксид редуктаза требует наличия в среде НАДФН₂, находится в эндоплазматическом ретикулуме печени и обеспечивается цитохром Р450-зависимыми ферментами.

Восстановительное дегалогенирование



ГИДРОЛИЗ

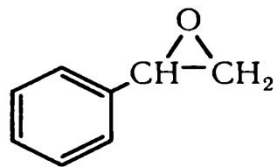
Эстеразы



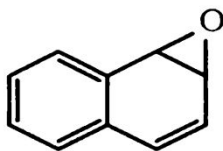
Где R – алкильная, а X – элиминирующая группы (алкокси, арилокси и др.).
Образуются, соответствующие, диалкилфосфоротионовая, диалкилфосфорная кислоты и деалкильное производное (спирт).

Эпоксидгидролаза

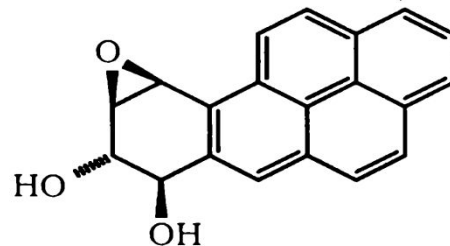
Насчитывается три разновидности эпоксисоединений: окиси алкенов (XX), окиси аренов (XXI) и эпоксидиолы (XXII):



XX

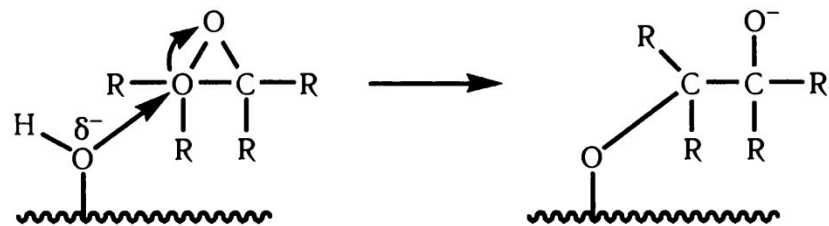
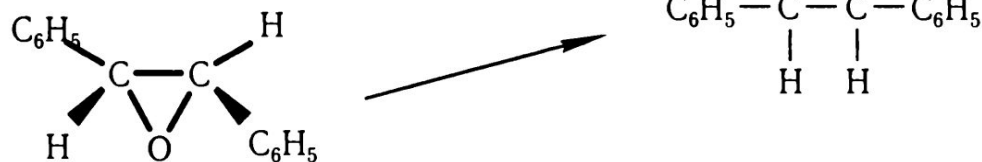
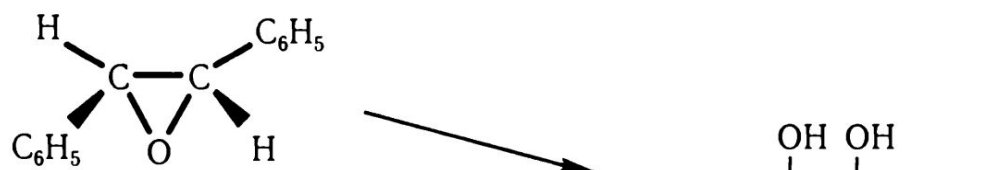
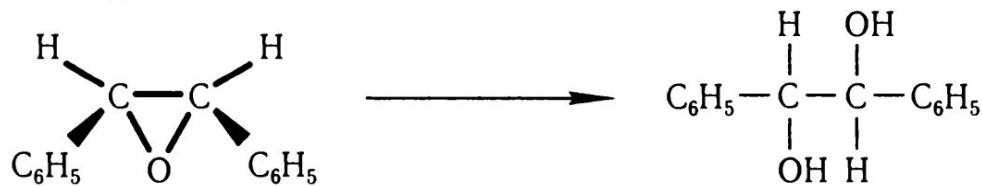


XXI

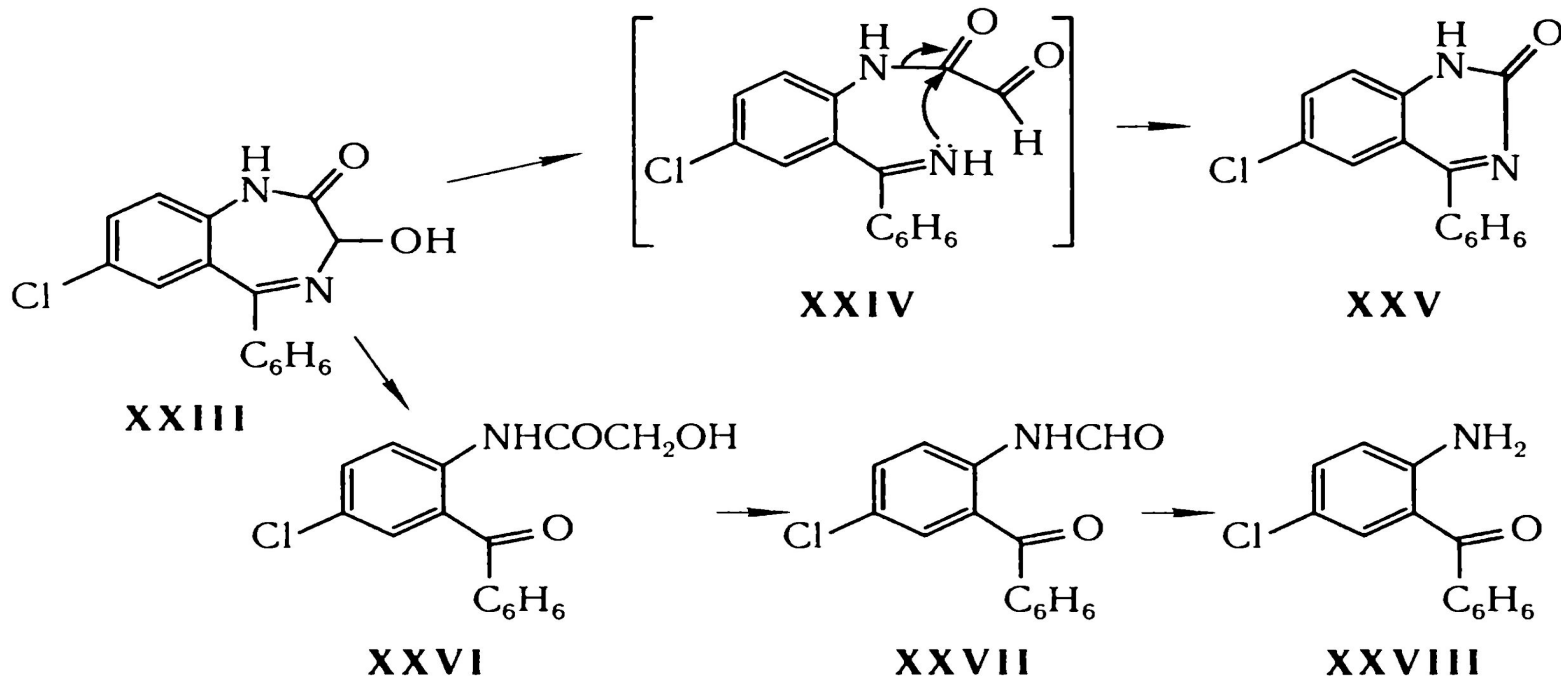
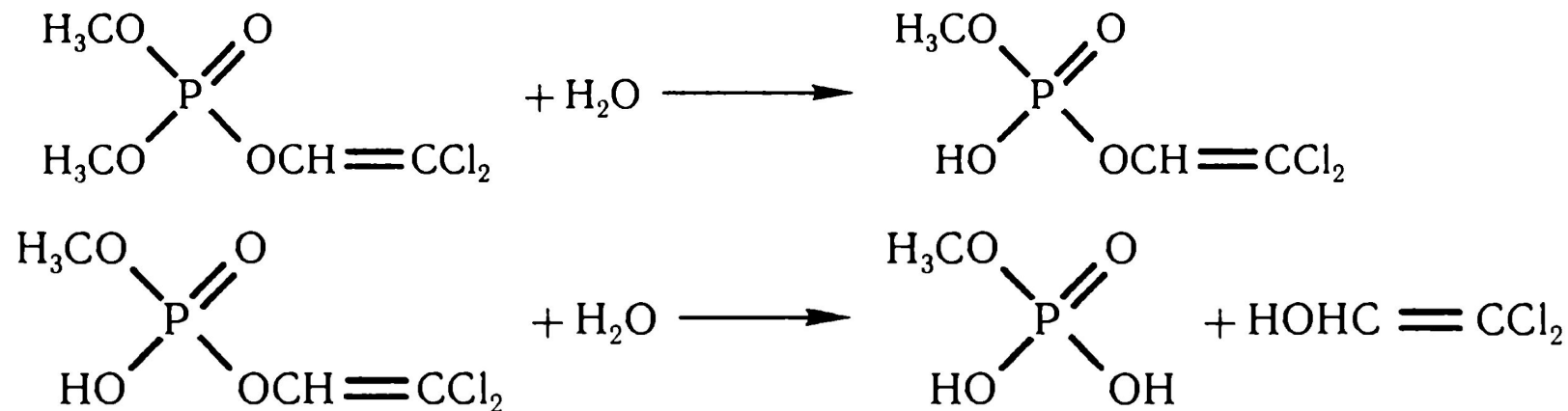


XXII

Продуктами реакций, катализируемых эпоксидгидролазой, являются *транс*-дигидродиолы. Если в качестве субстрата используется *цис*-стильбеноксид, то в процессе гидролиза оксиранового кольца образуется (R/R)-гликоль.

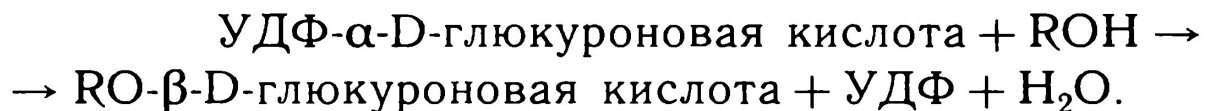
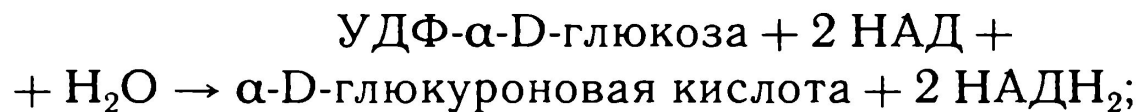


Реакции гидролиза ферментами неустановленной природы

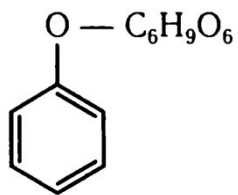


Конъюгация

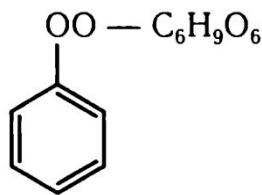
Уридиндифосфатглюкурозилтрансфераза



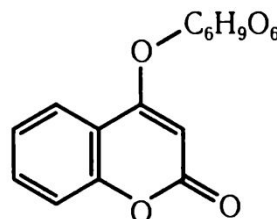
Конъюгаты ксенобиотиков с глюкуроновой кислотой обладают β – пиранозной структурой и классифицируются как O-, N-, S-, C-глюкурониды:



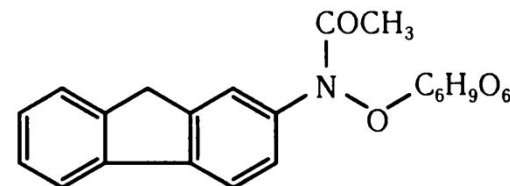
XXIX



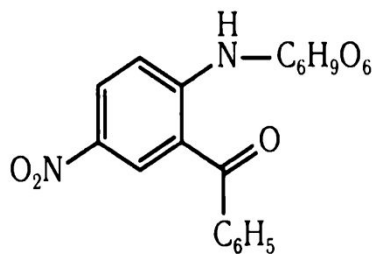
XXX



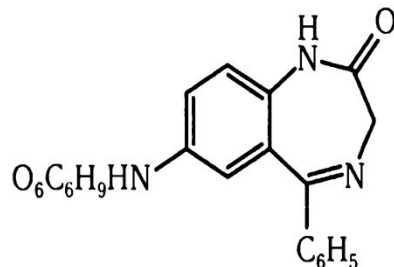
XXXI



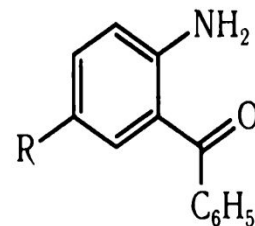
XXXII



XXXIII

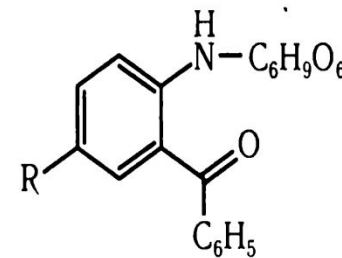


XXXIV



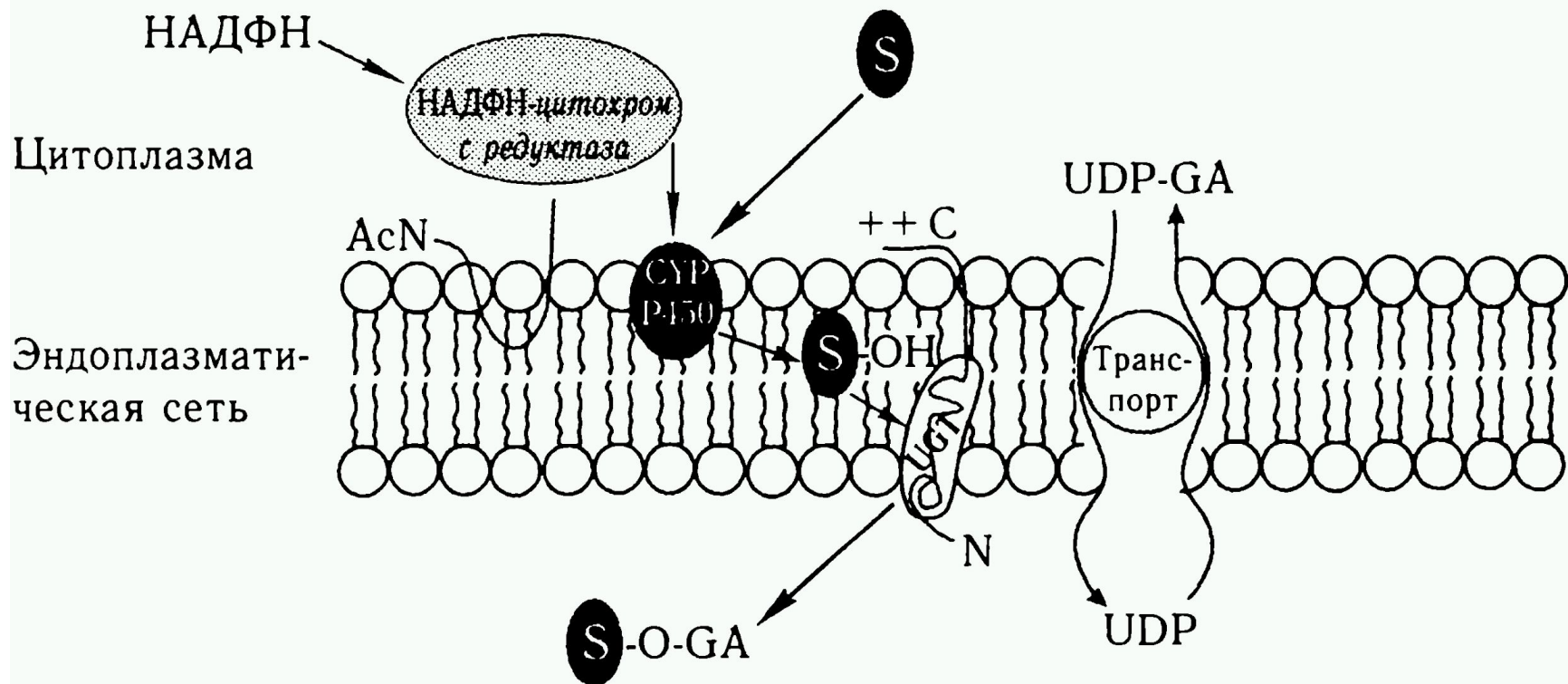
XXXV

R = NH₂, CH₃, H, Cl



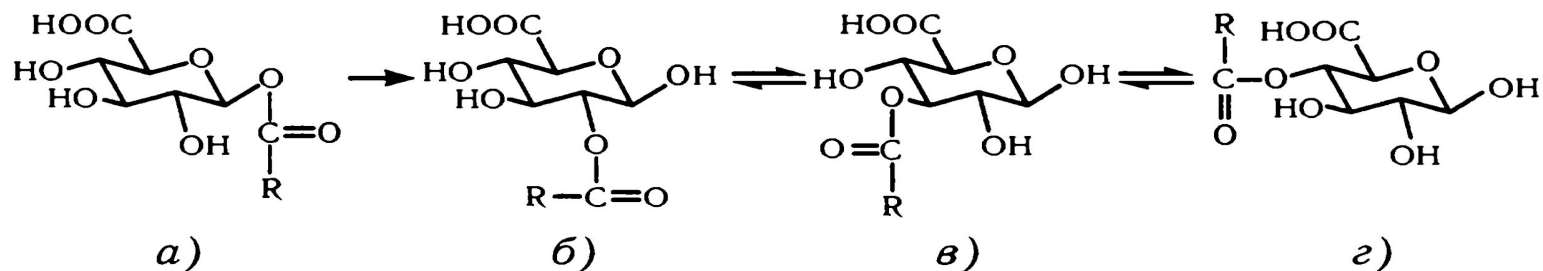
XXXVI

Сопряженность реакций гидроксилирования ксенобиотиков и синтеза глюкоконидов.



Гипотетическая схема кластерной организации CYP450 и UGT в эндоплазматической сети (UDP — уридиндифосфат, UDP-GA — уридиндифосфатглюкуронова кислота, S — субстрат, S—OH — окисленный субстрат, S-O-GA — глюкуронид, транспорт-перенос UDP)

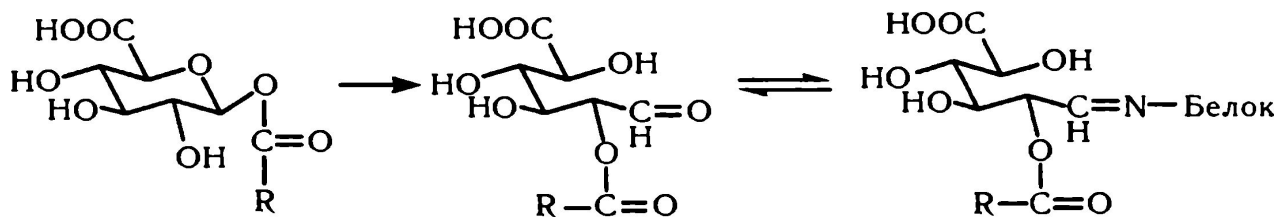
I Миграция ацильной группы



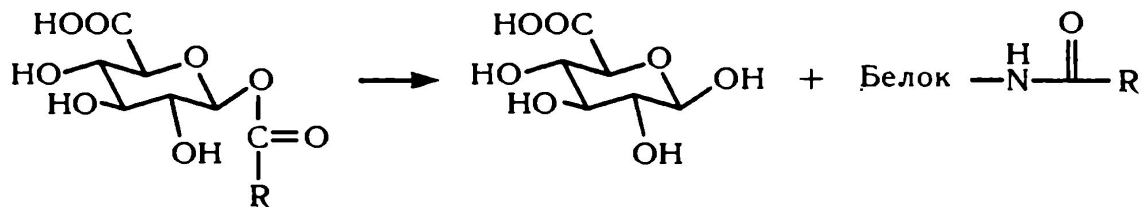
a) O-ацилглюкуронид; *б)* O-ацилглюкуронид (β -изомер);
в) O-ацилглюкуронид (β -изомер); *г)* O-ацилглюкуронид (β -изомер)

II Необратимое связывание с белками

1. Образование иминов

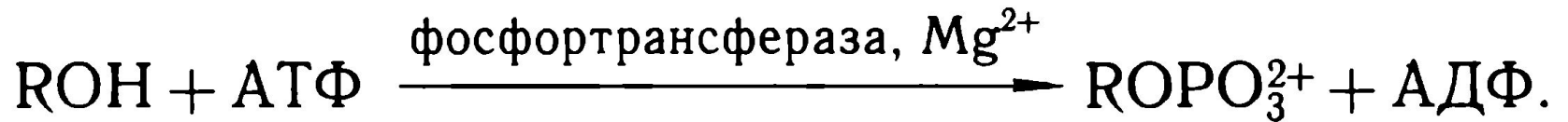
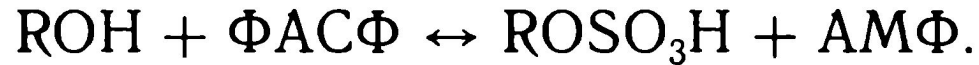
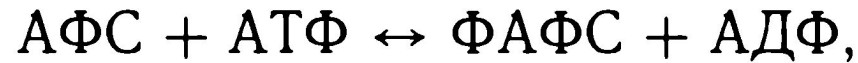
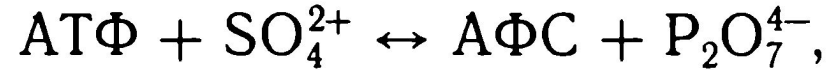


2. Нуклеофильное замещение

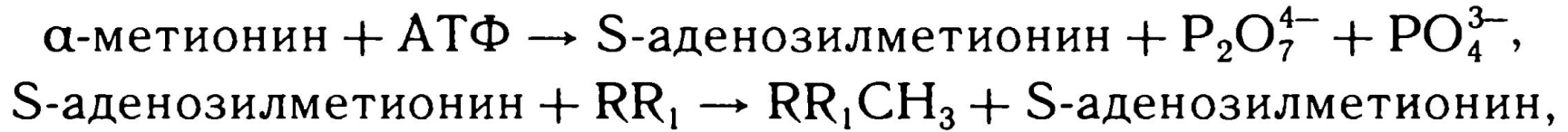


Механизмы миграции ацильной группы и связывания глюкуронидов с альбумином

Сульфо- и фосфотрансфераза

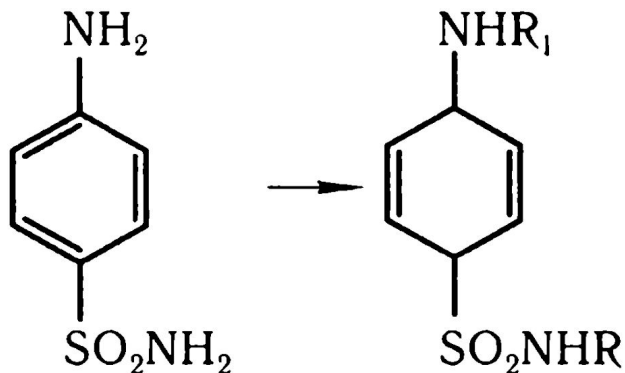
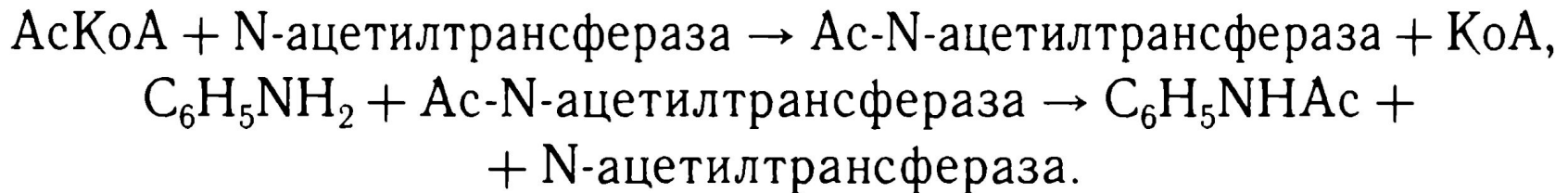


Метилтрансферазы



где $\text{R}_1 = \text{OH}; \text{SH}; \text{NH}_2$.

Ацетилтрансферазы

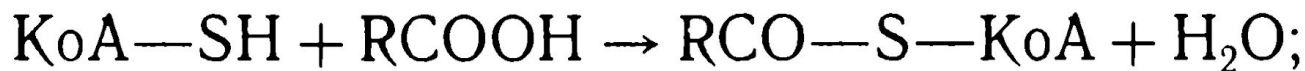
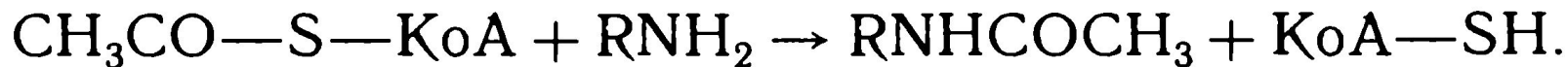
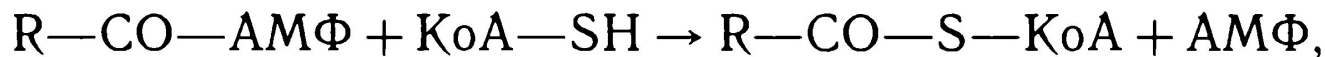
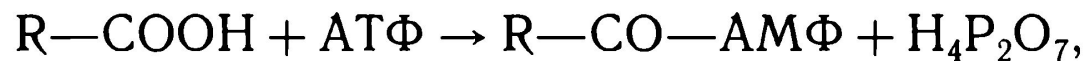


$\text{R}_1 = \text{COCH}_3, \text{R} = \text{H}$ (N^4 -ацетилсульфаниламид)

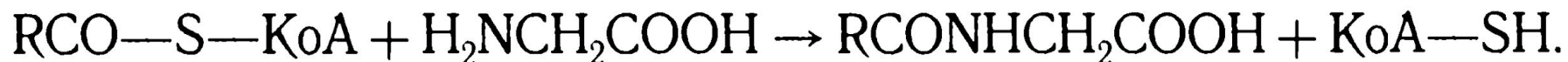
$\text{R}_1 = \text{H}, \text{R} = \text{COCH}_3$ (N^1 -ацетилсульфаниламид)

$\text{R}_1 = \text{R} = \text{COCH}_3$ (N^1, N^4 -диацетилсульфаниламид)

Ферменты, катализирующие реакции конъюгации лекарств с аминокислотами и пептидами

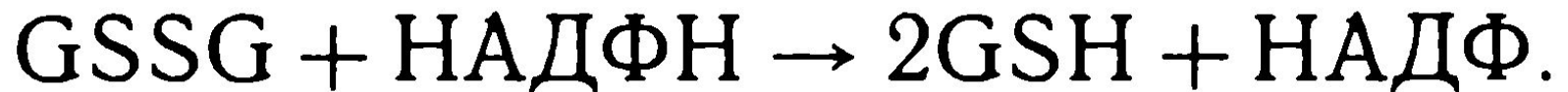


арилкоэнзим-А

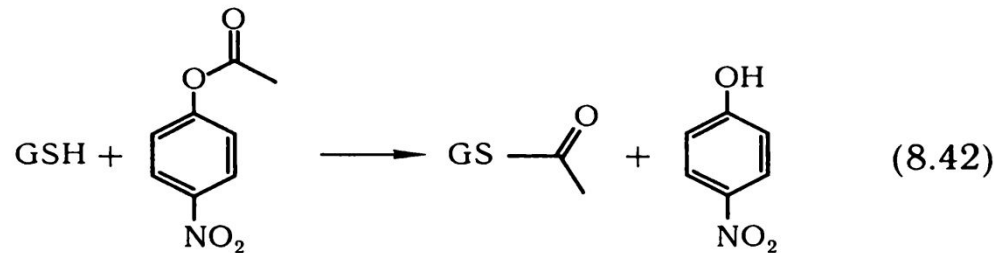
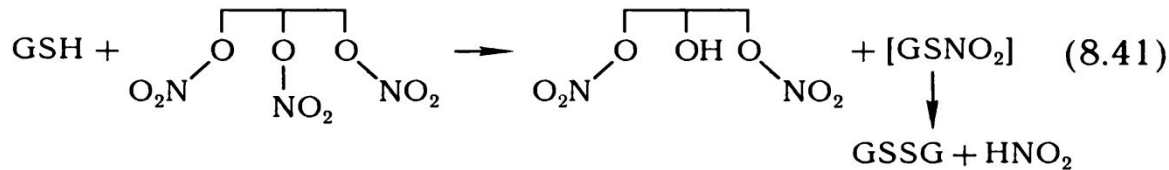
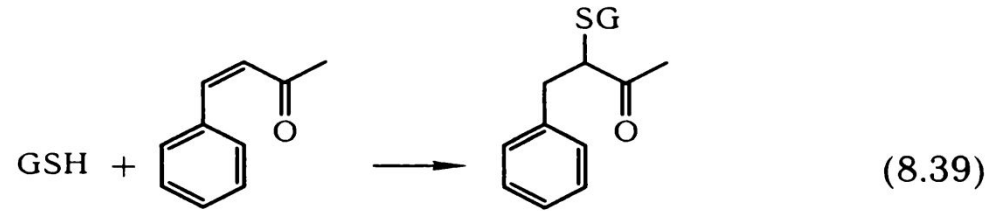
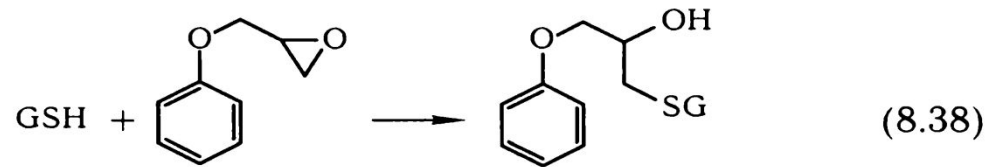
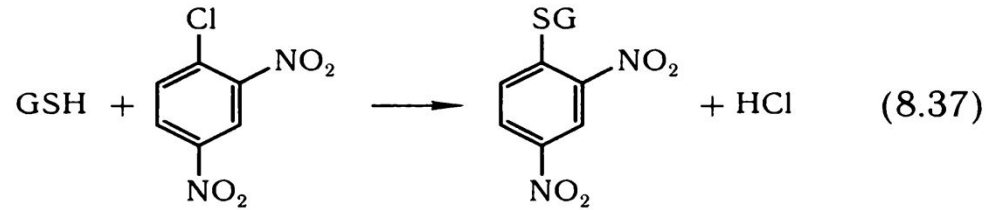


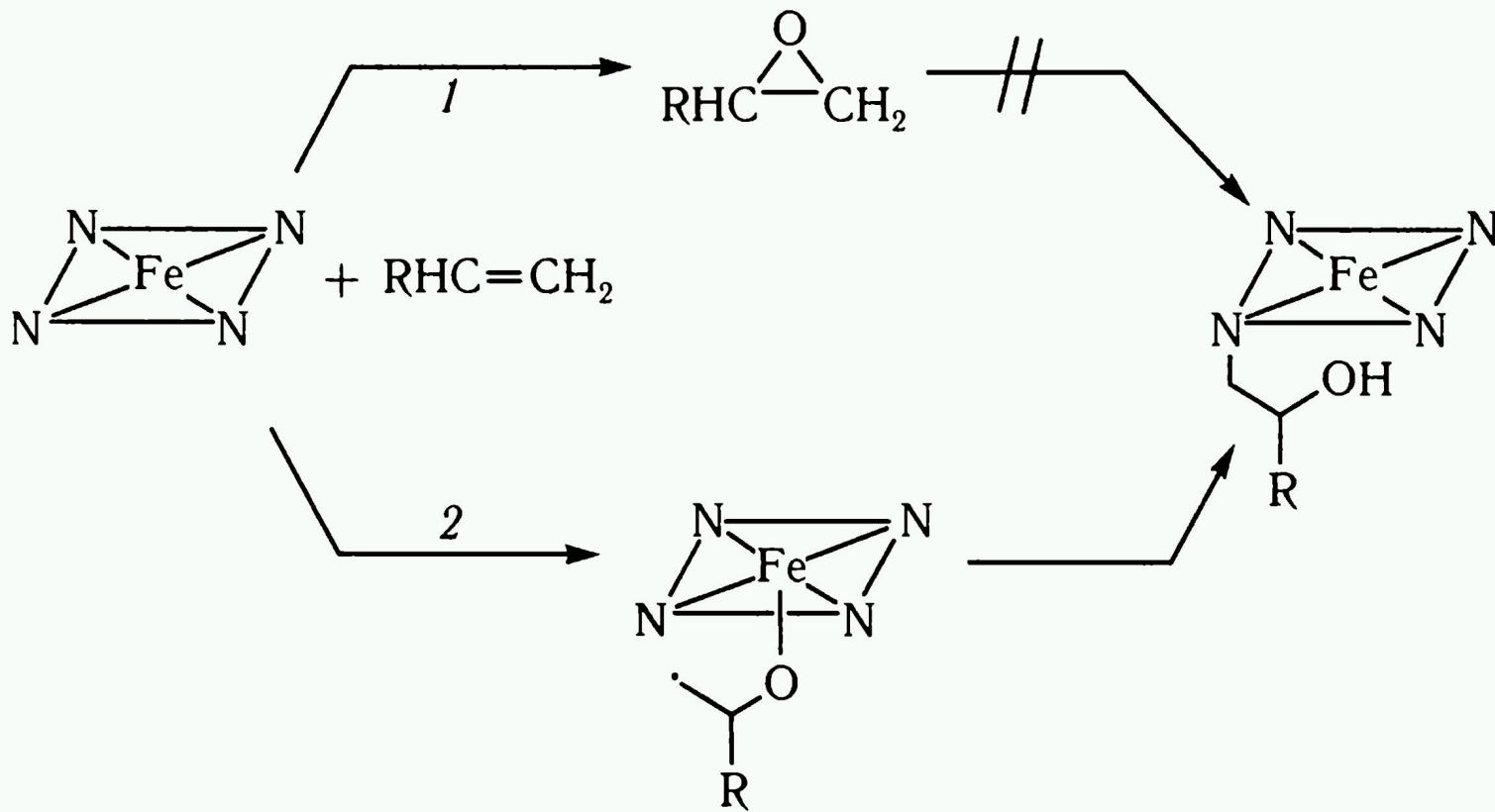
гиппуровая кислота

Восстановленный глутатион (GSH) поддерживает
сульфгидрильные группы цистеиновых групп
белков в восстановленном состоянии:

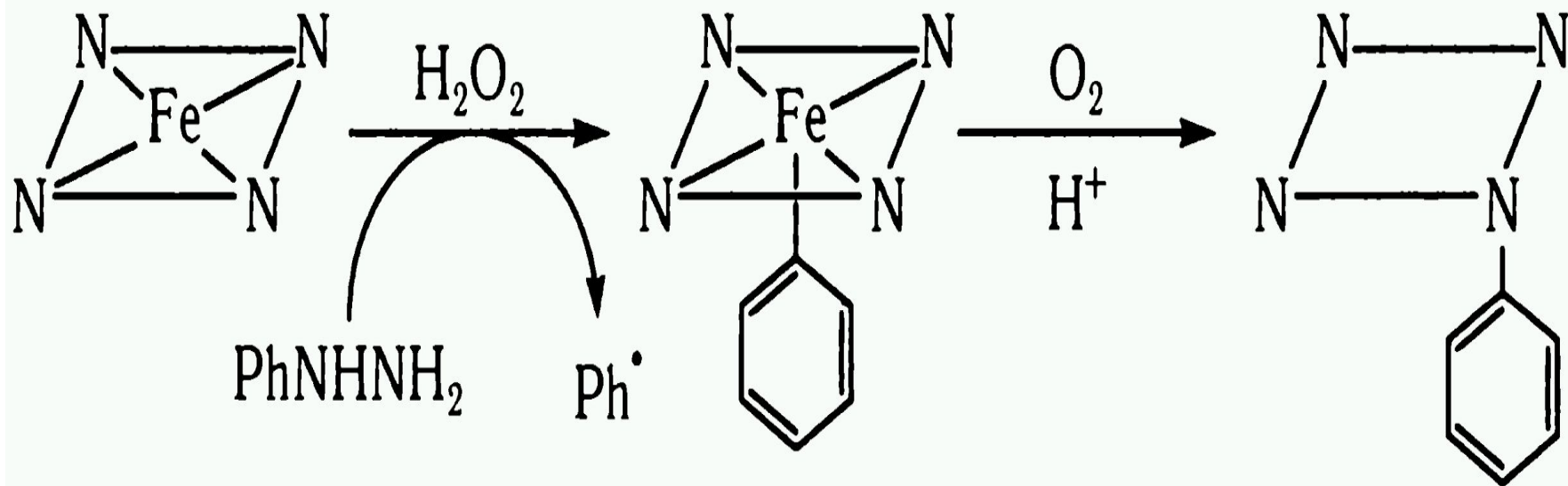


Глутатион - S - трансфераза

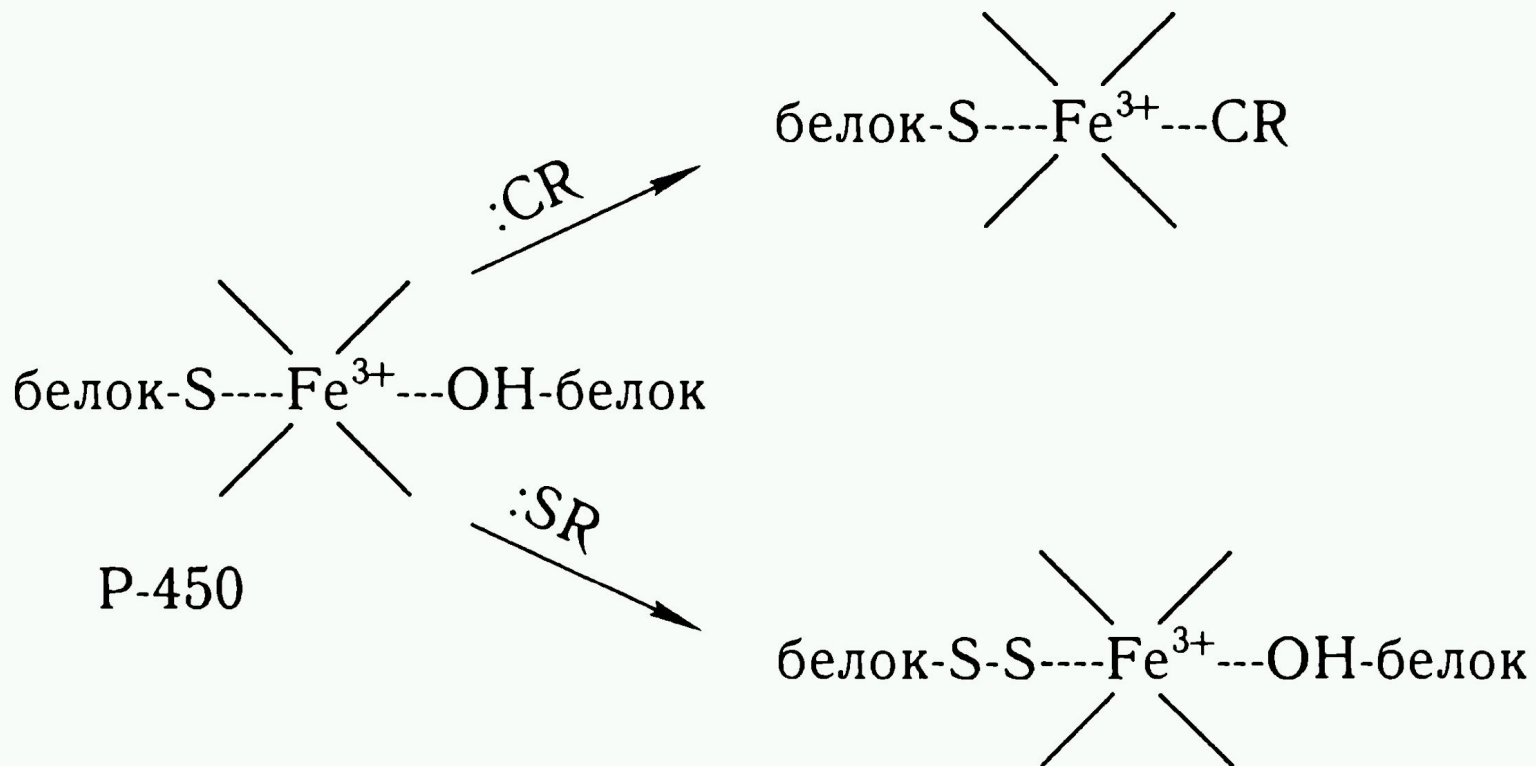




Механизмы алкилирования гема CYP450 олефинами



Механизм N-алкилирования гема в процессе окисления фенилгидразина гемоглобином, метгемоглобином и каталазой



Возможные структуры лигандных комплексов СYP450