

# Nejvýznamnější enzymy druhé fáze metabolismu léčiv: UDP-glukuronosyltransferázy a sulfotransferázy

Pavel Anzenbacher

Ústav farmakologie LF UP a FN Olomouc

Děje, ke kterým dochází při metabolismu léčiv a obecně cizorodých látek, jsou součástí procesů, které spolurozhodují o farmakokinetice léčiva. Patří sem – Absorpce, Distribuce, Metabolismus a Exkrece, zkráceně ADME. Tato zkratka s velkými písmeny se používá často pro charakteristiku farmakokinetiky léčiva. Spolu s toxikologickým hodnocením tyto děje ovlivňují úspěšnost vývoje nových léčiv až z jedné poloviny.

V dalším textu si autor dovoluje na začátku stručně a velmi zjednodušeně uvést principy lékových interakcí a nejčastějších dějů při metabolismu léčiv; tento úvod je pravděpodobně pro většinu čtenářů zbytečný, nicméně prosím o trpělivost, protože je možné, že si čtenáři rádi osvěží některá fakta, která jsou úvodem do vlastní problematiky editoria.

Poznání těchto dějů je jedním z úhelných kamenů moderní farmakologie (1). Důvodem je, že metabolismus léčiva má často zásadní úlohu při hodnocení lékových interakcí, které mohou být velmi významné pro volbu farmakoterapie. Interakce léčiv jsou zpravidla děleny na ty, které jsou relativně poznatelné a predikovatelné, tj. interakce léčiv na základě jejich podobného nebo stejného mechanismu účinku, tedy na základě farmakodynamických vlastností léčivých látek. Lékové inkompability jsou druhým pólem lékových interakcí, které lze také odhadnout nebo předpovědět se znalostí vlastností lékových forem. Třetím případem jsou interakce léčiv na farmakokinetickém základě. Ty jsou spolu s proteiny, které

se na nich podílejí (např. soutěží léčiv o aktivní místo nebo obecně vazebné místo proteinu – enzymu, či receptoru nebo transportující molekuly, případně jiným mechanismem) ve většině skryty už jen vzhledem k tomu, že je struktura většiny interagujících proteinů popsána teprve v posledních letech (2, 3). Rovněž podstata vazebných interakcí léčiv a proteinů je poznávána zhruba posledních padesát let a pro metabolické děje, zejména přeměny léčiv, to platí obzvláště.

Metabolismus léčiv probíhá ve většině tkání, typicky v játrech, ve kterých je zprostředkován enzymy. Cílem metabolismu, tedy chemických změn struktury látky, je připravit látku k její exkreci. S většinovým souhlasem odborné veřejnosti je metabolismus obvykle dělen na dvě fáze. V první fázi metabolismu je cizorodá látka nejčastěji (ve více než 75 % případů) hydroxylována. Nejpravděpodobnějším mechanismem (opět z více než 70 %) je, že atom kyslíku potřebný k hydroxylaci je poskytnut z molekuly  $O_2$ , která je ovšem za účasti enzymů nazývaných cytochromy P450 aktivována, tj. rozštěpena na atom, vstupující do hydroxylace a na atom, tvořící molekulu vody. Je samozřejmě možné, že molekula léčiva již takto „volnou“ hydroxylovou skupinu ve struktuře obsahuje a může přímo vstoupit do spojení (konjugace) ve druhé fázi metabolismu. Přitom je pak „připravená“ molekula léčiva chemickou vazbou spojena s další, vysoce polární, molekulou, resp. zbytkem molekuly, který podstatně zvyší polaritu

vzniklého konjugátu a usnadní tak zásadně exkreci konjugovaného léčiva z organismu. Takovým polárním zbytkem molekuly může být řada reziduí, např. sulfát (zbytek kyseliny sírové), glukuronová kyselina (odvozená od glukosy), acetát, glutathion (polární peptid obsahující skupinu –SH) aj. (1).

V problematice poznání funkce, mechanismů a zejména klinického významu cytochromů P450 se odehrál od r. 1964 velmi významný pokrok. Lidský genom obsahuje 57 funkčních genů pro tyto enzymy, které mají spolu se syntézami NO analogický způsob vazby hemové skupiny na bílkovinnou část. Z uvedeného počtu se zhruba 10 až 12 proteinů významněji podílí na metabolických přeměnách léčiv a cizorodých látek. Nomenklaturní systém cytochromů P450 (zkráceně CYP z **C**ytochrome **P**450) vychází z podobnosti pořadí aminokyselin proteinové části CYPů všech organismů a dělí je na rodiny (s podobností zhruba 40 %), podrodiny (s podobností 55 %) a jednotlivé enzymy. Příkladem může být nejdůležitější CYP pro metabolismus léčiv u člověka (přeměňuje odhadem 40 % léčiv metabolizovaných touto cestou), CYP3A4, který patří do rodiny CYP3 a podrodiny CYP3A, kde je označen číslem 4. U člověka existují ještě formy CYP3A5, CYP3A7 a CYP3A43 (1–3).

Jako příklady klinicky významných lékových interakcí je možné vzpomenout opět u této formy CYP její indukovatelnost látkami obsaženými v třezalce tečkované a s tím související rejekce transplantátu u pacientů

užívajících cyklosporin A zvýšením aktivity CYP3A4 v důsledku indukce, a následným snížením hladiny cyklosporinu, typického substrátu CYP3A4. Příkladem interakcí na základě kompetice, tedy soutěže o aktivní místo tohoto enzymu, může být klasicky zmiňovaná interakce azolů (typicky ketokonazolu) se statiny (např. simvastatinem), vedoucí ke zvýšení plazmatických koncentrací statinu v důsledku obsazení aktivního místa CYP3A4 pevně vázaným azolem. Příkladem z poslední doby může být léková interakce antivirotik k léčbě onemocnění covid-19 (nirmatrelvir, ritonavir) s řadou léčiv (např. klopidogrel, warfarin, dabigatran, statiny, amlodipin, další antihypertenziva) (4).

V současné době se pozornost poučené farmakologické veřejnosti zaměřuje rovněž na procesy druhé fáze metabolismu léčiv, zejména na konjugace léčiv se sacharidovými strukturami (typicky UDP-glukuronovou kyselinou), se sulfátem, či glutathionem; stále připomínána je přítomnost pacientů s variantními alelami thiopurin S-methyltransferázy bránící v metabolismu imunosupresivních a protinádorových léčiv (jako 6-merkaptopurinu a azathioprinu) s důsledky v těžké myelosupresi.

Enzymy UDP-glukuronosyltransferázy (název říká, že glukuronová kyselina jako výsočně polární látka je konjugována s léčivem za spotřeby energie), zkráceně UGT, se ukázaly být podobně mnohotvárnými jako CYP. U člověka bylo nalezeno 22 funkčních genů pro tyto enzymy rozdělených do čtyř rodin. Ukázalo se, že enzymy dvou posledních rodin (UGT3 a UGT4)

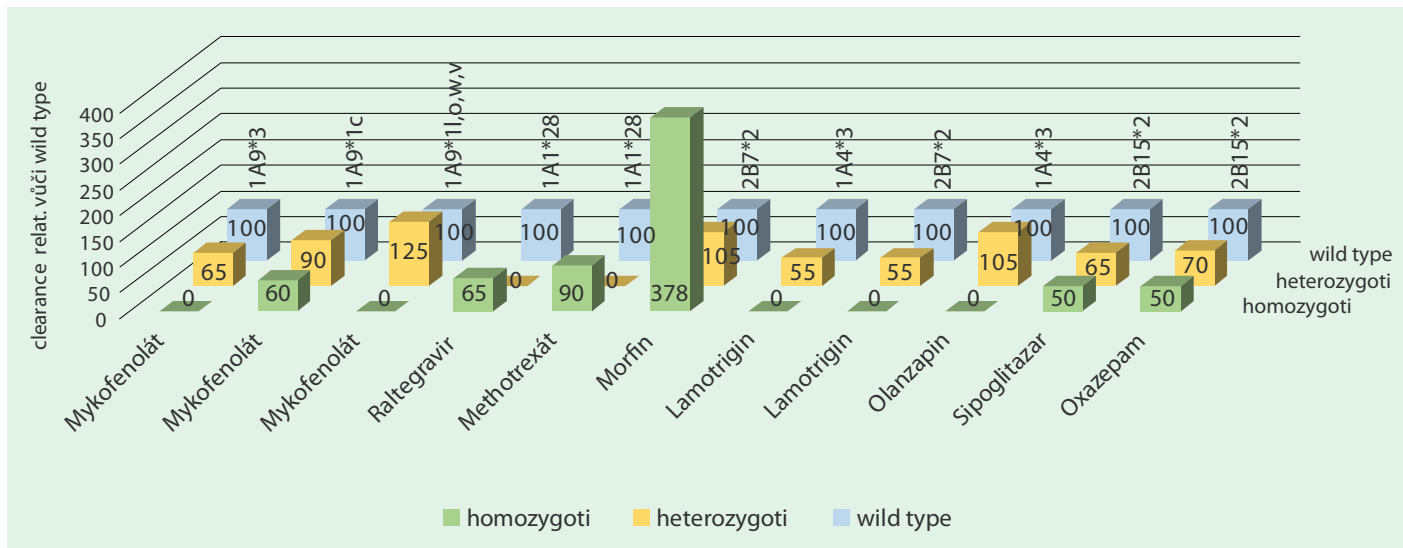
mohou přenášet při konjugaci i jiné sacharidové struktury než glukuronovou kyselinu, ale i jednoduché sacharidy jako glukosu, galaktosu aj. a že tedy správnější a obecnější název pro UGT jsou UDP-glykosyltransferázy (5). A opět, rozdělení podle primární struktury vede k definování rodin, podrodin, forem a charakterizaci variantních forem UGT (allozymů) vznikajících expresí těchto, často defektních alel s nižší, stejnou, vyšší nebo žádnou aktivitou. Na rozdíl od CYP je u UGT velká substrátová promiskuita, tj. různé formy UGT konjugují (váží) ty samé substráty, např. lorazepam nebo mykofenolát a desvenlafaxin jsou substrátem pěti různých forem UGT, paracetamol nebo ethinylestradiol jsou substrátem šesti, a valproát dokonce sedmi forem (6). Přítomnost allozymů situaci dále komplikuje. Například, podobně jako u CYP2C9, kdy přítomnost variantních alel (CYP2C9\*2 a CYP2C9\*3) je příčinou tvorby allozymů s jinou, v tomto případě typicky nižší aktivitou při metabolismu warfarinu (1), vede u enzymu UGT2B7 přítomnost variantní alely CYP2B7\*2 tentokrát ke tvorbě allozymu několikanásobně aktivnějšího při glukuronidaci morfinu. S tím souvisí vysvětlení zvýšené toxicity kodeinu u nositelů této alely (zejména genotypu UGT2B7\*2/\*2 tj. s oběma variantními alelami) v důsledku vysoké hladiny 6-glukuronidu morfinu (6). Naproti tomu přítomnost alely 1A4\*2 vede k tvorbě allozymu jen s poloviční účinností při glukuronidaci lamotriginu (7). Při současném podání valproátu, metabolizovaného stejným enzymem, může dojít díky lékové interakci obou léčiv k dalšímu snížení tvorby

glukuronidu lamotriginu (a ke zvýšení hladiny samotného lamotriginu v krevní plazmě (6)). Známa je i skutečnost, že jedinci s Gilbertovým syndromem (snížená glukuronidace bilirubinu v důsledku varianty UGT1A1\*28) vykazují často nižší schopnost glukuronidovat řadu léčiv (6). Příklady vlivu genetických variant pro vybrané alozymy na clearanci některých léčiv jsou uvedeny na Obr. 1.

Ovlivnění metabolických pochodů enzymy UGT nemusí vždy vést ke komplikacím a nežádoucím účinkům příslušného léčiva. Příkladem může být skutečnost, že u konzumentů kávy, v důsledku indukce tj. vyšší hladiny UGT1A, dochází k redukci jaterní fibrózy (8).

Druhou „superrodinou“ genů a jimi regulovanou množinou enzymů, podílejících se na přeměnách léčiv v procesech druhé fáze metabolismu léčiv, jsou sulfotransferázy (SULT) (9). Jak název říká, jsou to enzymy přenášející zbytek kyseliny sírové, tj. sulfát na molekulu léčiva, resp. na zbytek této molekuly, která byla (ale nemusela) být v předcházejícím kroku (I. fázi metabolismu) upravena ke konjugaci se sulfátem např. hydroxylací za účasti enzymů CYP. U člověka bylo v genomu identifikováno osmnáct genů SULT, z toho třináct funkčních (pět je pseudogenů). Těchto třináct genů přísluší do čtyř genových rodin s podobností primární struktury přinejmenším 45 % (a v rámci podrodin pak s podobností vyšší než 60 %). Odpovídající enzymy mají podobnou prostorovou strukturu, nejvýznamnější je rodina SULT1 se čtyřmi zástupci podrodiny SULT1A. Pravděpodobně nejznámější je

**Obr. 1.** Vliv genového polymorfismu (resp. alozymů) na clearanci léčiva u významných variant genu pro UGT1A a UGT2B. Upraveno dle (6)

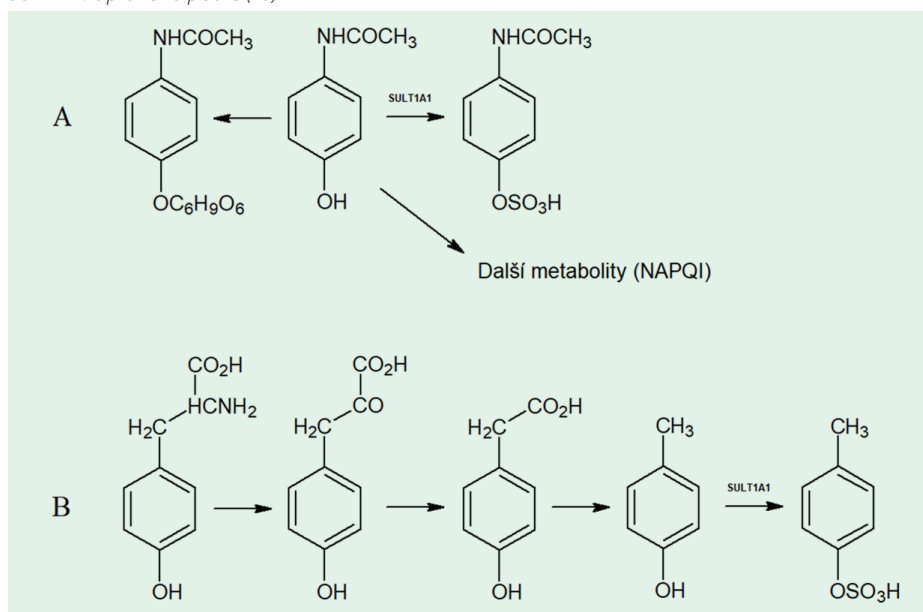


enzym SULT1A1, který je nejčetnější formou SULT v játrech a participuje na přenosu sulfátu z fosfoadenosin fosfosulfátu na paracetamol. Sulfatace paracetamolu (acetaminofenu) je druhou nejdůležitější cestou metabolismu paracetamolu po glukuronidaci.

V této souvislosti je možné uvést zajímavé zjištění o souvislosti metabolismu léčiv s funkcí střevního mikrobiomu (10). Bylo ukázáno, že může docházet ke kompetici paracetamolu a metabolitu tyrosinu o SULT1A1 a v důsledku pak o snížení sulfatace paracetamolu. Tento děj byl prokázán u jedinců s aktivnější tvorbou p-kresolu (metabolitu tyrosinu) prostřednictvím mikrobiomu bohatého na bakterie rodu *Clostridium* (Obr. 2).

Formy enzymů SULT, stejně jako u forem CYP a UGT, mohou existovat v různých variantách (tedy allozymech), v závislosti na konkrétní variantě (alele) příslušného genu. Pro SULT1A1 platí, že nejaktivnější je allozym SULT1A1\*1 (11). Typickým substrátem SULT1A1 je kromě paracetamolu naproxen (přesněji desmethyl naproxen) či tamoxifen (přesněji jeho hydroxylovaný derivát). Forma SULT1A2 je aktivní při sulfataci např. derivátů polycyklických aromatických uhlovodíků (PAH) či opět tamoxifenu, forma SULT1A3 sulfatuje např. metabolity tramadolu, nesteroidních protizánětlivých léčiv i paracetamolu. Forma SULT1B1 je mj. aktivní při metabolismu flavonoidů, lignanů a opět PAH. SULT1C2 participuje při metabolismu a detoxikaci zplodin hoření při kouření tabáku a cigaret i psychoaktivních látek. Vyskytuje se jako čtyři alloenzymy, lišící se aktivitou. Do metabolismu tamoxifenu zasahuje rovněž SULT1E1 a SULT2A1 se svými allozimy. SULT2B1 preferuje jako substráty steroidy včetně cholesterolu. Příklady známých substrátů enzymů SULT lze nalézt v publikacích (9, 11).

**Obr. 2.** A: Metabolismus paracetamolu – vlevo tvorba glukuronidu, vpravo vznik sulfátu; B: tvorba kresolu a sulfátu kresolu z aminokyseliny tyrosinu. Obě sulfatace probíhají za účasti stejné formy, SULT1A1. Upraveno podle (10)



K lékovým interakcím u enzymů SULT dochází podle stejného principu jako u CYP a UGT při kompetici léčiv o aktivní místo enzymu; podobně jako u enzymů a proteinů uvedených výše, může docházet i zde k lékovým interakcím v důsledku indukce některých forem enzymu látkami jako u SULT1A1 fenobarbital, derivát benzenu TCPOBOP (aktivací receptoru CAR), u SULT2A1 prostřednictvím rifampicinu, ale i vlivem látek z třezalky tečkované (hyperforin) anebo polychlorovanými bifenyly (cestou receptoru PXR), ale i fibráty (přes receptory PPARalfa) a deriváty vitamínu D (via VitD receptor, VDR).

V poslední době se zájem o enzymy metabolismu léčiv, a to platí v současnosti o enzymy UGT a SULT, rozšiřuje o hledání souvislostí aktivit těchto enzymů s progresí onkologických onemocnění. Ukazuje se, že aktivity enzymů determinují jak schopnost

látky metabolizovat (včetně eliminace léčiv), tak i ovlivňovat průběh onkogenních procesů a vstupovat do regulace hladin steroidů a bioaktivních lipidů (9, 12). Je zřejmé, že je stále poznání těchto dějů a role uvedených enzymů neúplné a nedostatečné a možnosti k rozšíření těchto znalostí, včetně aplikací umělé inteligence k vyhledávání souvislostí, jsou otevřené.

I když je zde jistý a oprávněný optimismus, je snad na místě připomenout slova prof. Chodounského, autora první české učebnice farmakologie z r. 1903, že „...vysvítá jasně z podaných všeobecných údajů, v jak intimním jest poměru chemická povaha látek s účinkem fyziologickým a vzpomeneme-li na mnohotvárné jejich fyzikální vlastnosti a uvážíme-li mezery našeho vědomí, neodvážíme se pronášeti jakoukoliv hypotézu o nějakých jednotných zákonech...“ (13).

## LITERATURA

1. Anzenbacher P, Chládek J. Farmakokinetika. In: Švihovec J, Bultas J, Anzenbacher P, Chládek J, Příborský J, Slíva J, Votava M, editoři. Farmakologie. Praha: Grada. 2018; 35-96.
2. Bertz RJ, Granneman GR. Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. Clin Pharmacokinet. 1997;32(3):210-268.
3. Guengerich FP. Inhibition of cytochrome P450 enzymes by drugs – Molecular basis and practical applications. Biomol Ther (Seoul). 2022;30(1):1-18. doi: 10.4062/biomolther.2021.102.
4. Abraham S, Nohria A, Neilan TG, et al. Cardiovascular drug interactions with nirmatrelvir/ritonavir in patients with COVID-19. J Am Coll Cardiol. 2022;80(20):1912-1924.
5. Meech R, Hu DG, McKinnon RA, et al. The UDP-glycosyltransferase (UGT) superfamily: New members, new func-

6. Stingl JC, Bartels H, Viviani R, et al. Relevance of UDP-glucuronosyltransferase polymorphisms for drug dosing: A quantitative systematic review. Pharmacol Therap. 2014;141:92-116.
7. Petrenaitė V, Öhmann I, Jantzen FPT, et al. Effect of UGT1A4, UGT2B7, UGT2B15, UGT2B17 and ABC1B polymorphisms on lamotrigine metabolism in Danish patients. Epilepsy Res. 2022;182:106897.
8. Landerer S, Kalthoff S, Strassburg CP. UDP-glucuronosyltransferases mediate coffee-associated reduction of liver fibrosis in bile duct ligated humanized transgenic UGT1A mice. Hepatobiliary Surg Nutr. 2021;10(6):766-781.
9. Kurogi K, Rasool M, Alherz FA, et al. Sult genetic polymor-

10. phisms: physiological, pharmacological and clinical applications. Expert Opin Drug Metab Toxicol. 2021;20(21):767-784.
11. Clayton TA, Baker D, Linton JC, et al. Pharmacometabolic identification of a significant host-microbiome metabolic interaction affecting human drug metabolism. Proc Natl Acad Sci US. 2009;106(34):14728-14733.
12. Isvoran A, Peng Y, Ceauranu S, et al. Pharmacogenetics of human sulfotransferases and impact of amino acid exchange on Phase II drug metabolism. Drug Discovery Today. 2022;27(11):1-13.
13. Allain EP, Rouleau M, Lévesque E, et al. Emerging roles for UDP-glucuronosyltransferases in drug resistance and cancer progression. Br J Cancer. 2020;122:1277-1287.
14. Chodounský K. Farmakologie. Praha: Bursík a Kohout. 1905;30.