

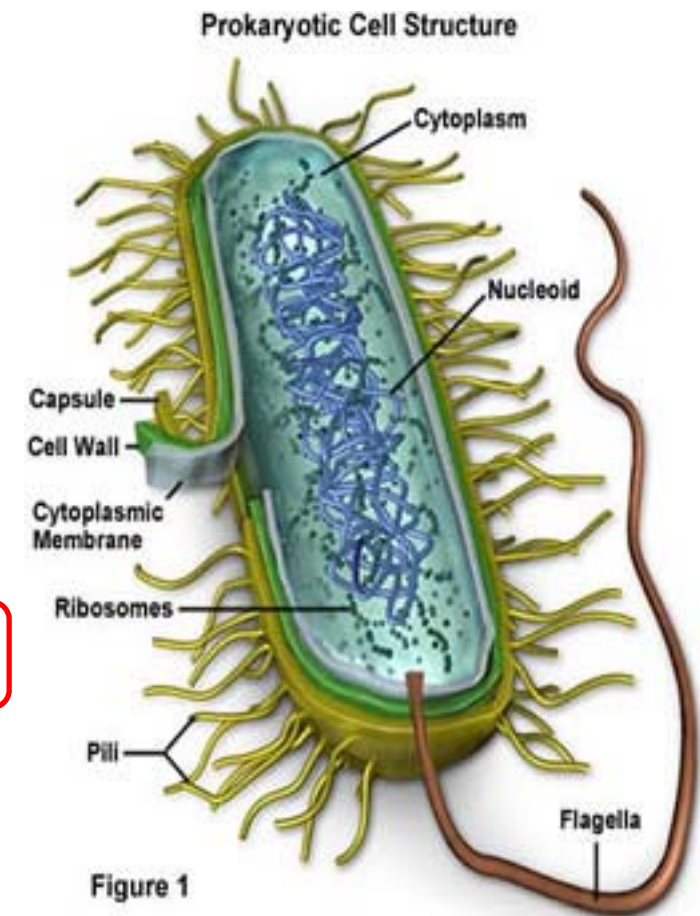
Penicilinski antibiotiki Inhibitorji β -laktamaz

Izr. prof. dr. Marko Anderluh

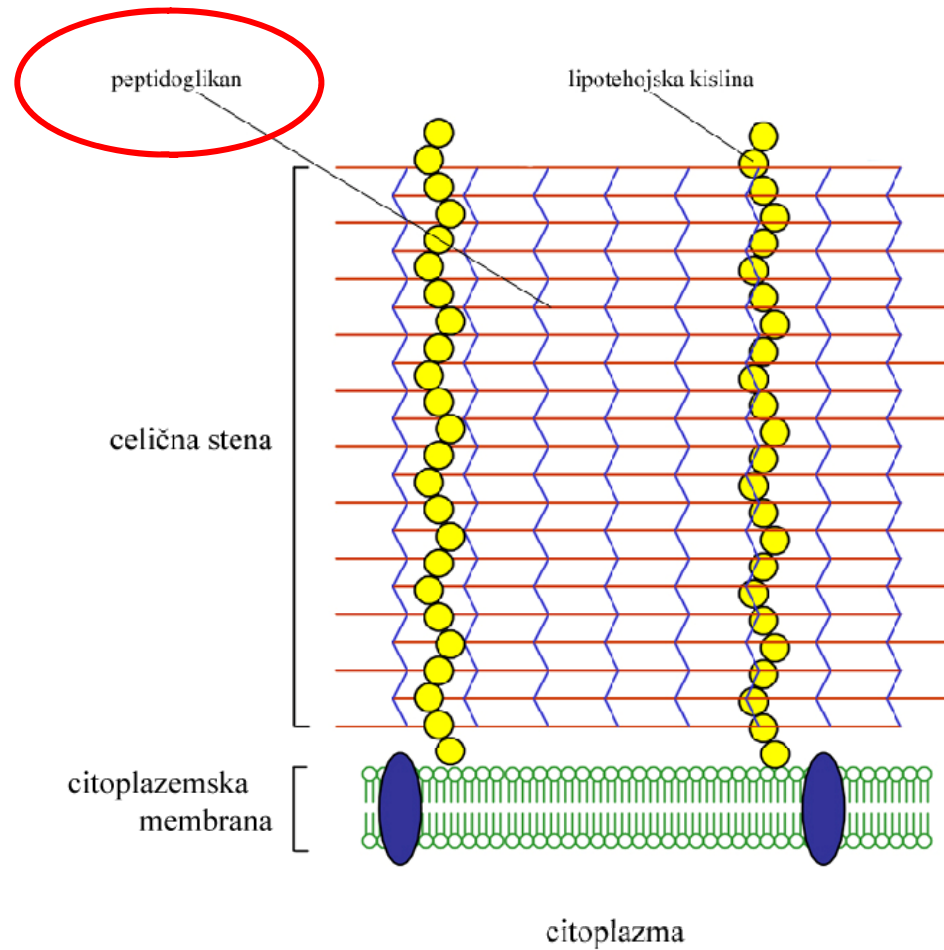
3. januar 2013

Selektivna toksičnost

Celične komponente	PROKARIONTI	ČLOVEŠKE CELICE
Jedro	Ni membrane, cirkularni kromosom, ni proteinov	Membrana, kromosomi, stabilizirani z bazičnimi proteini (spermini)
Ekstra-kromosomska DNA	Plasmidi	V organelih (mitohondriji)
Organeli v citoplazmi	/	Mitohondriji, kloroplasti ER, ...
Citoplazemska membrana	Sinteza & Dihanje	Selektivna absorpcija/sekrecija
Celična stena	Obstaja	/
Biosinteza	Sinteza esencialnih vitaminov	/
Steroli	/, izjema: <i>Mycoplasma</i>	Prisotni
Ribosomi	70S (50S/30S)	80S (60S/40S)

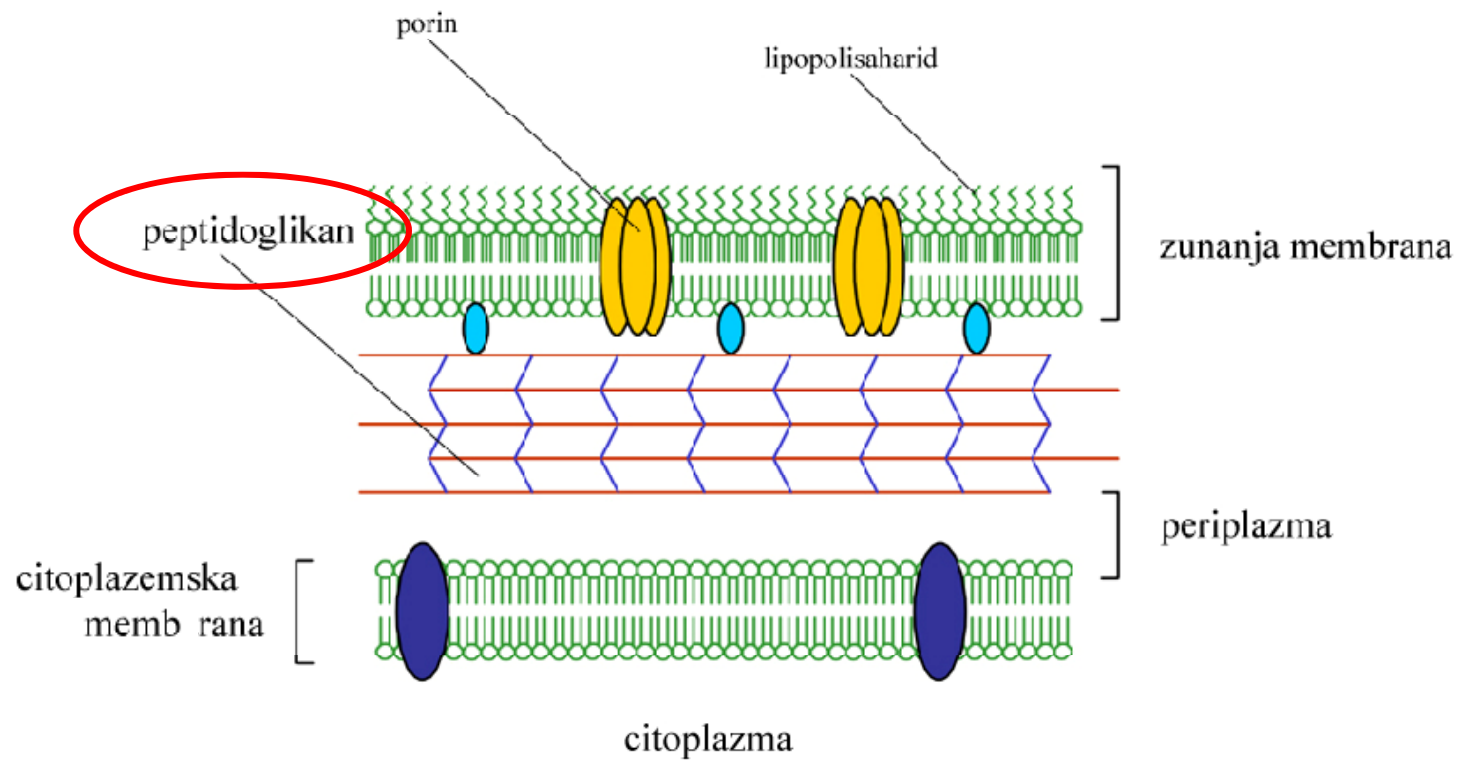


G+ bakterije



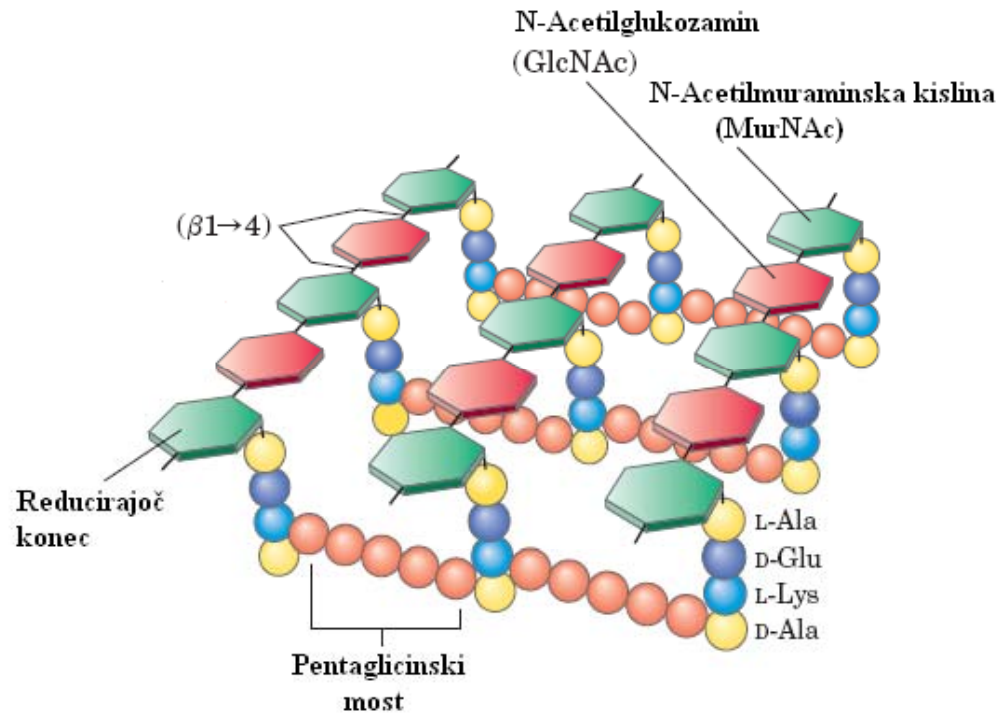
Do 100 plasti peptidoglikana

G- bakterije



Enojna ali dvojna plast peptidoglikana

Peptidoglikan = murein



Med seboj povezani aminosladkorji:

- *N*-acetilmuraminska kislina (NAMA)
- *N*-acetilglukozamin (NAG)

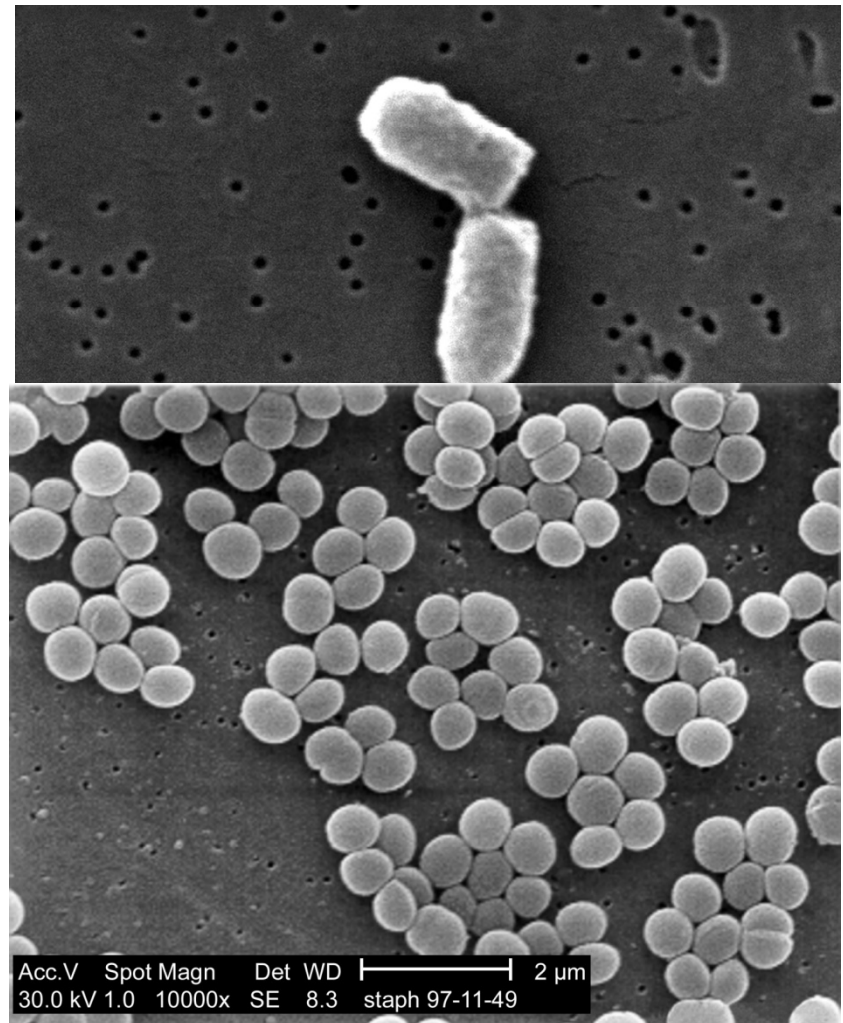
Na NAMA pripet tetrapeptid:
L-Ala-D-Glu-DAPA(L-Lys)-D-Ala

Tetrapeptidi prečno premreženi s pentaglicinom.

Peptidoglikan je ena sama velikanska molekula.

Zgradba bakterijske celice – celična stena

- Semi-permeabilna bariera
- Trdnost bakterije – osmotski tlak (hipotonično okolje)
- Oblika bakterije
- Preprečuje razgradnjo celice z encimi gostitelja



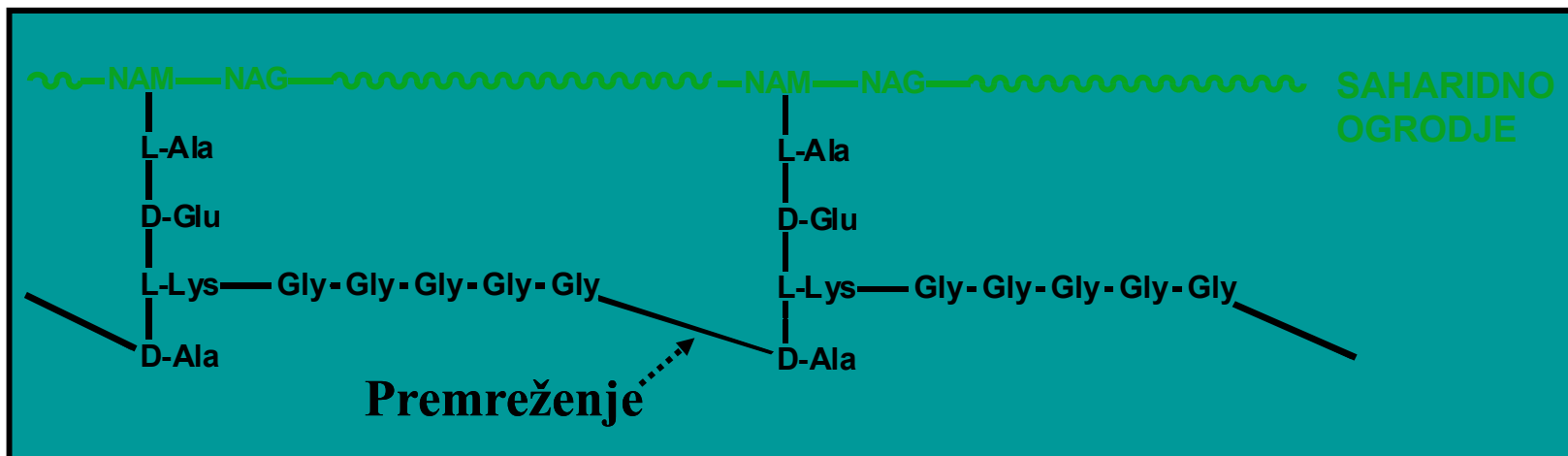
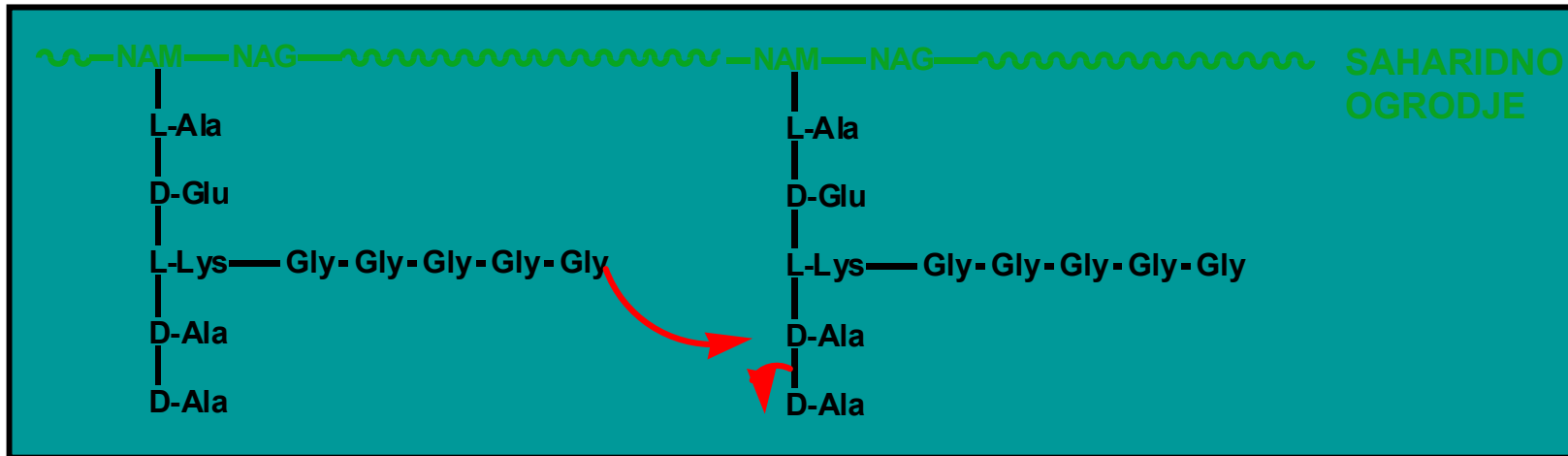
Sinteza peptidoglikana – tarča

- Evkariontske celice nimajo (enake) celične stene oz. peptidoglikana: pri izgradnji sodelujejo encimi, ki jih ne srečamo pri evkariontih
- Učinkovine, ki zavirajo sintezo peptidoglikana: odlična selektivna toksičnost

<http://www.youtube.com/watch?v=qBdYnRhDWcQ>

<http://www.wellesley.edu/Chemistry/chem227/sugars/polysac.c.htm>

Transpeptidaza - tarča



Transpeptidaza - tarča

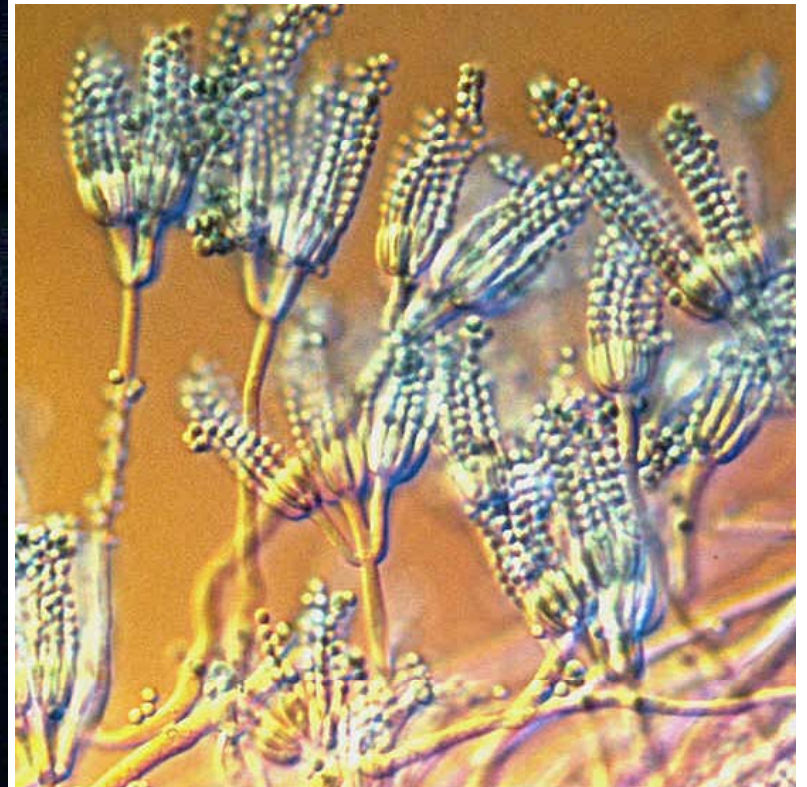
- Sodi med PBP – proteini, ki vežejo peniciline

PBP (<i>E. Coli</i>)	Funkcija	Baktericidnost?
1A	Podaljševanje PG	Da
1B	Podaljševanje PG	Da
2	Vzdrževanje oblike	Da
3	Tvorba septumov	Ne
4	Prečna povezava	Ne
5	Prečna povezava	Ne
6	Prečna povezava	Ne

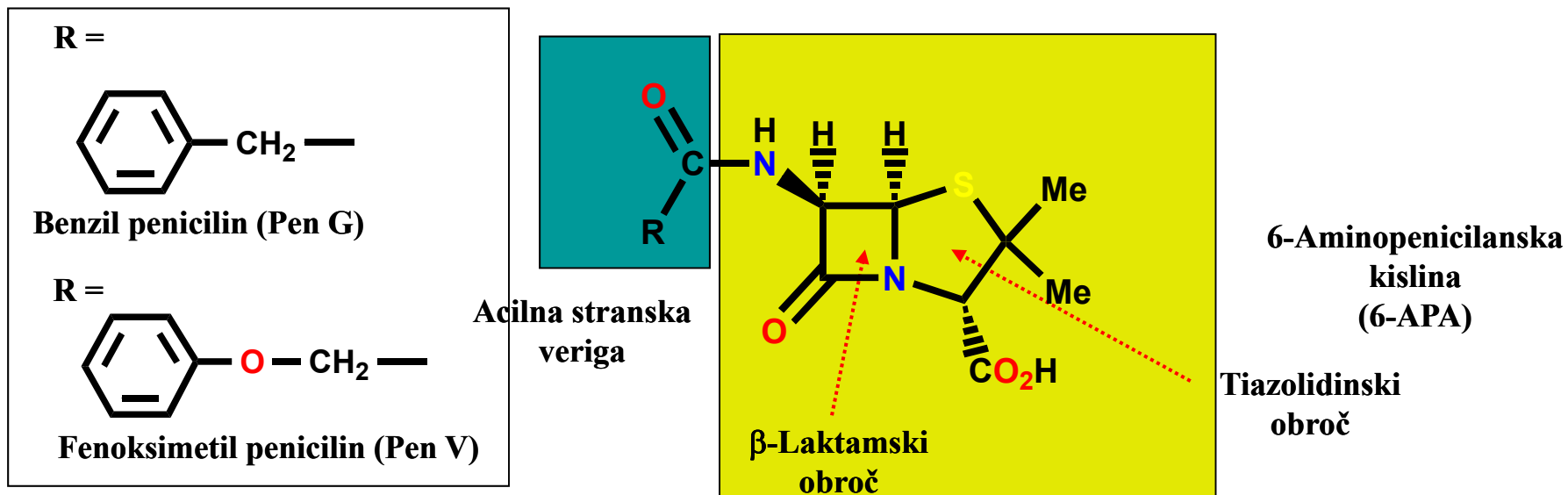
- <http://www.youtube.com/watch?v=4uliYqX4j6M>

Penicilini

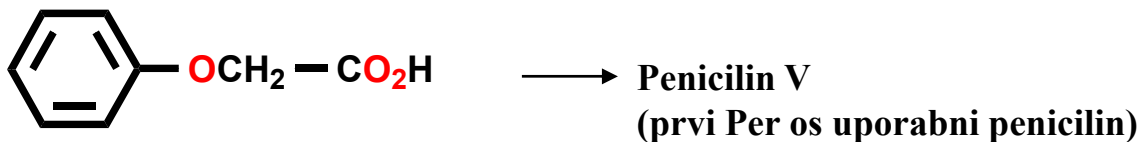
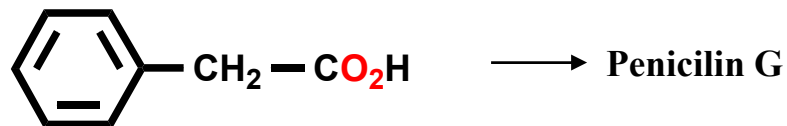
- *Penicillium chrysogenum* (notatum)



Penicilini - struktura



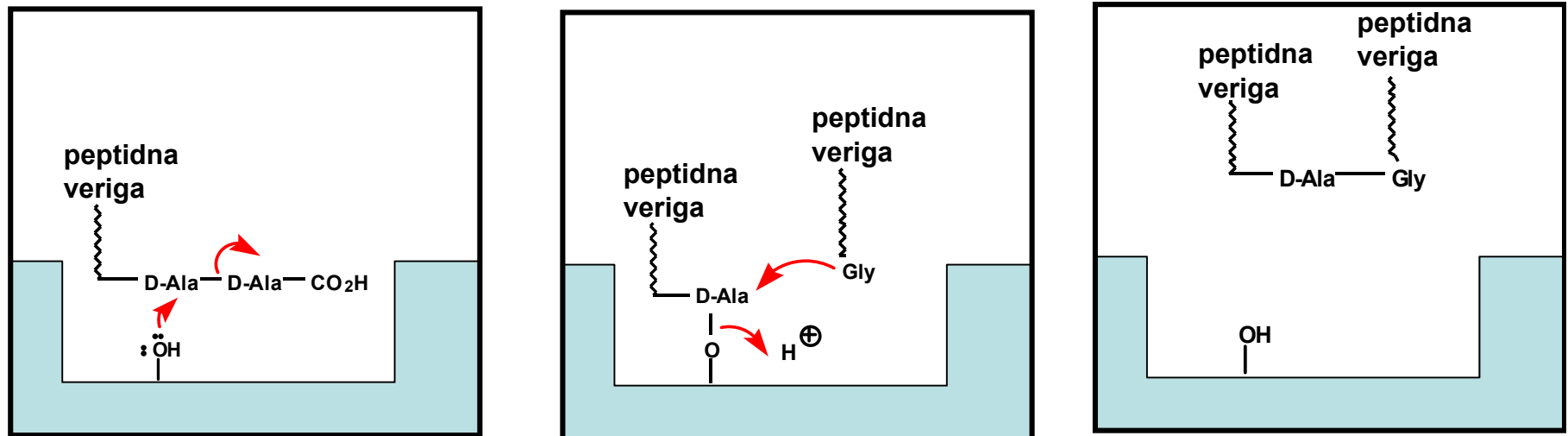
Stranska veriga odvisna od kisline v fermentacijski brozgi



Penicilini – inhibicija transpeptidaze

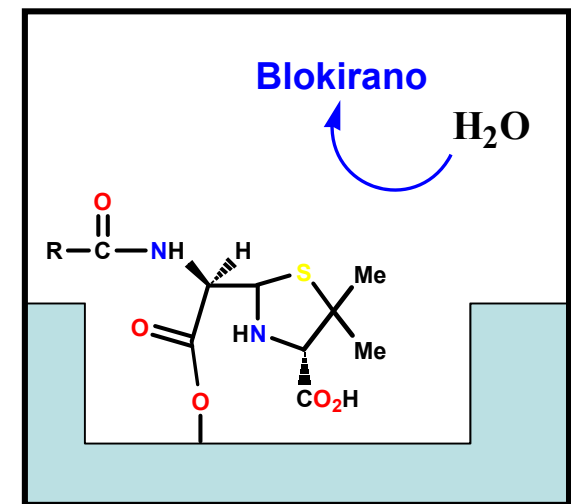
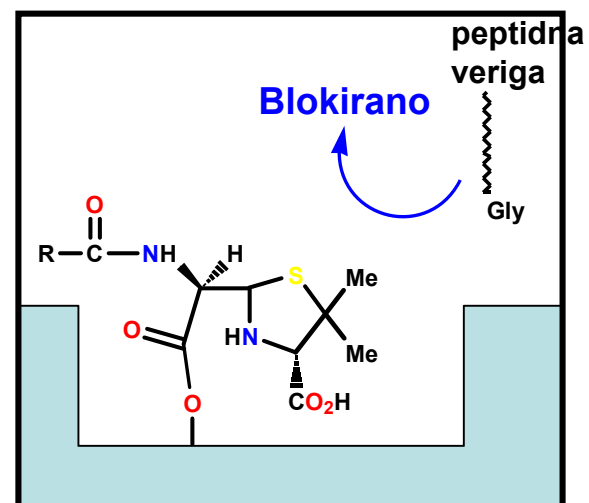
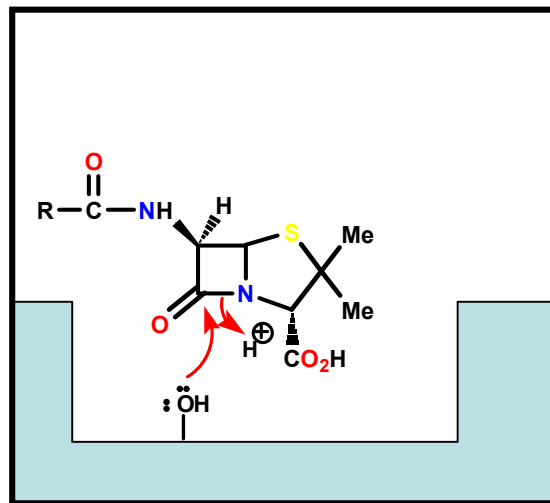
- Inhibicija transpeptidaze
 β -laktamski antibiotiki kovalentna vezava v aktivno mesto in ireverzibilna inhibicija transpeptidaze

Normalni mehanizem



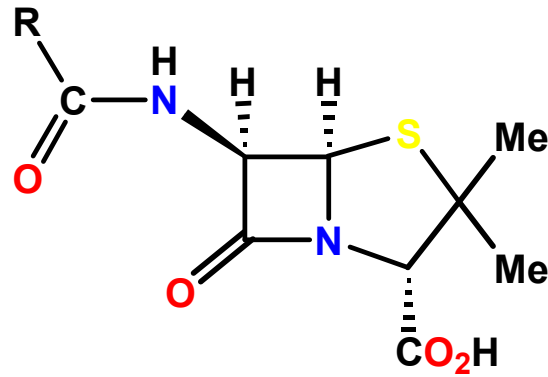
Penicilini – inhibicija transpeptidaze

Mehanizem inhibicije s penicilini

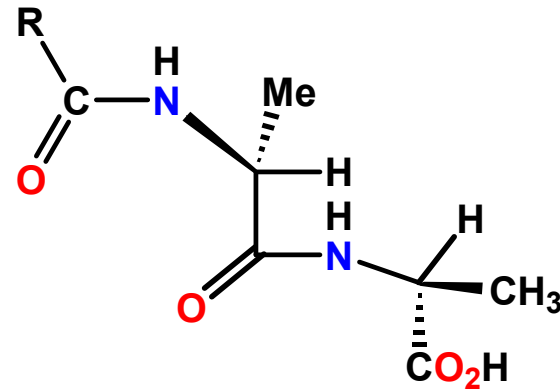


Penicilini

- Mimetiki acil D-Ala-D-Ala



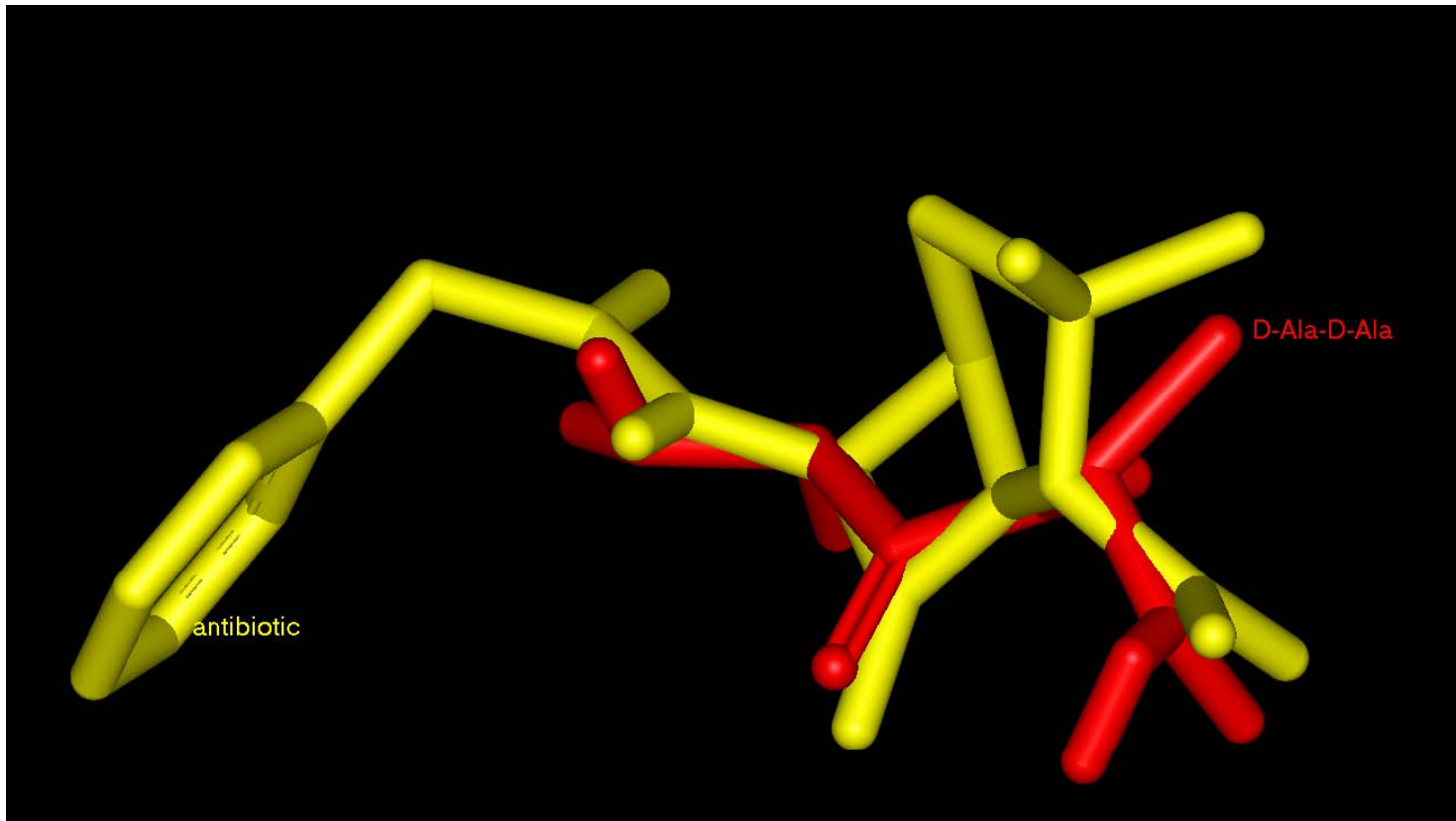
Penicilin



Acil-D-Ala-D-Ala

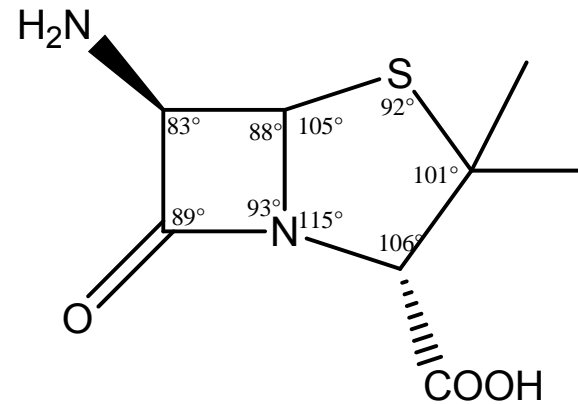
Penicilini

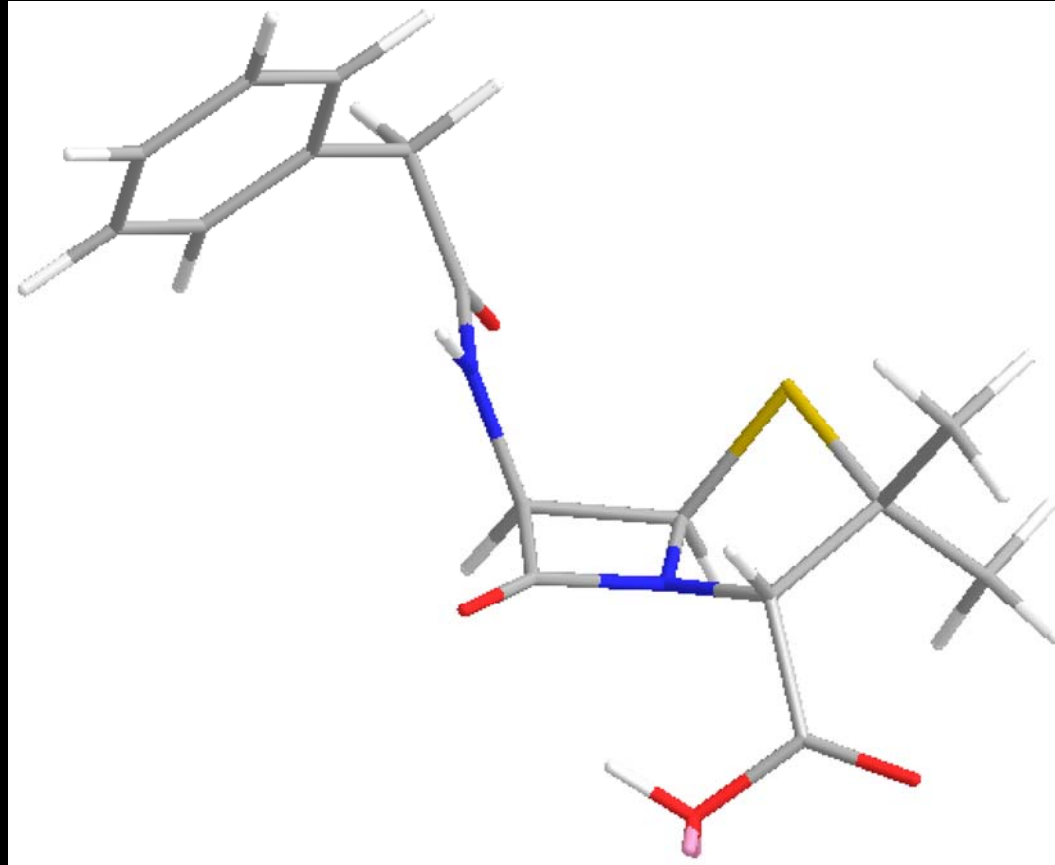
- Mimetiki acil D-Ala-D-Ala



Od kod reaktivnost penicilinov?

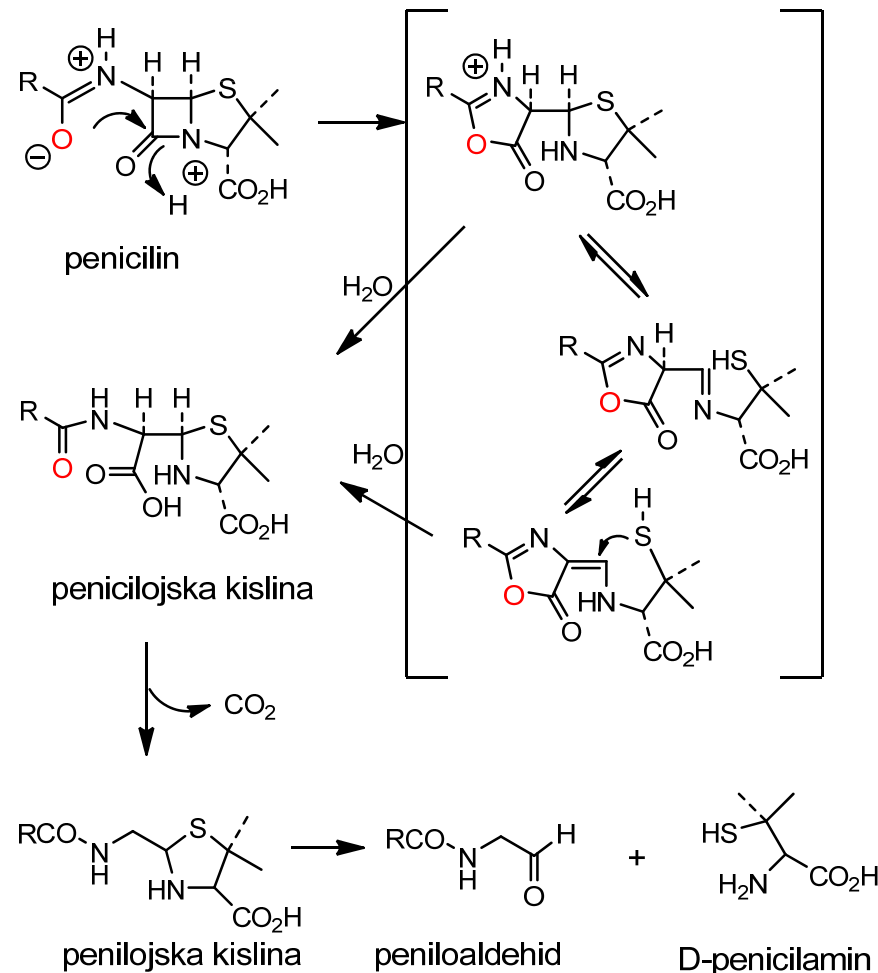
- Napetost obroča





Penicilin G – labilnost v kislem

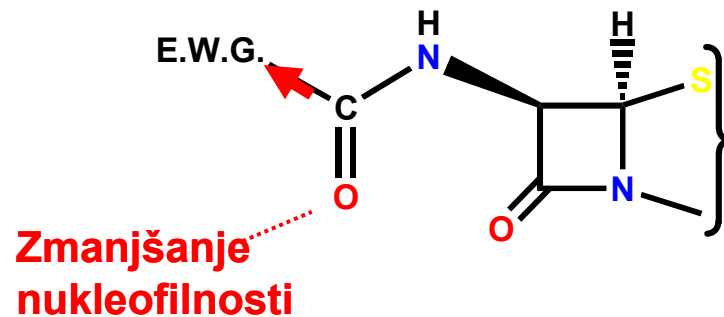
- Hidroliza v kislem; mehanizem s pomočjo sosednjega amida



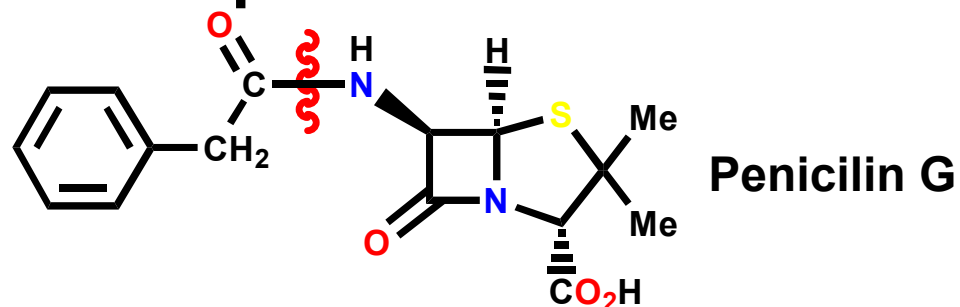
Penicilin G – labilnost v kislem

Strategija novih analogov

- SAR – možne menjave samo R
- Dodajanje elektron-privlačnih skupin zmanjša nukleofilnost karbonylnega kisika

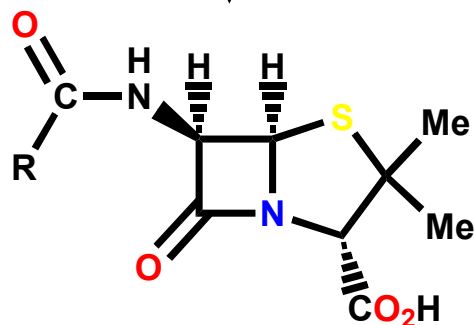
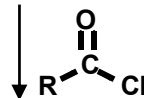
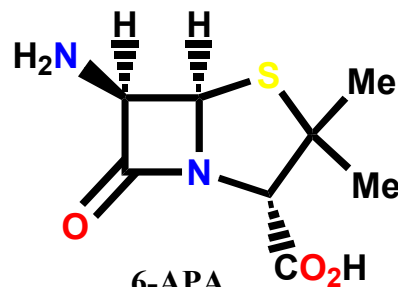


Polsintezni penicilini



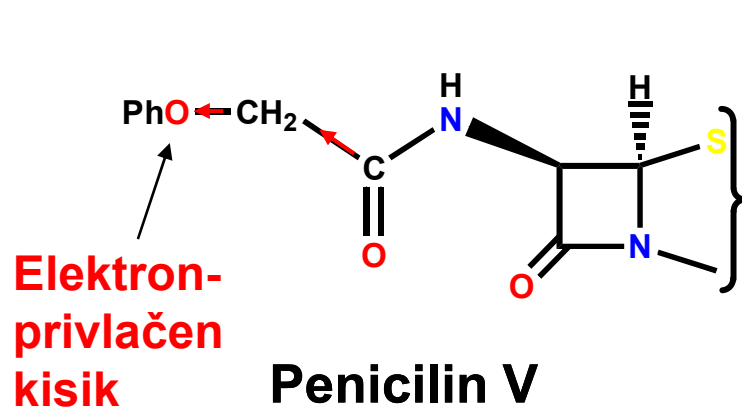
Penicilin acilaza
ali kemijska hidroliza

Fermentacija

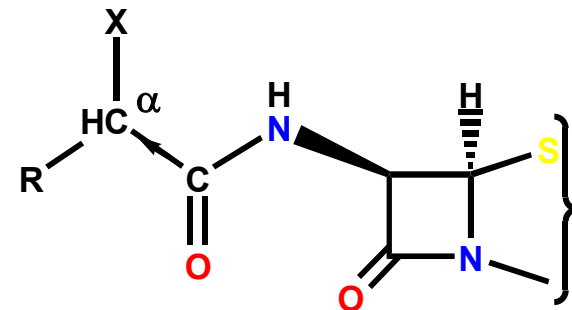


Penicilini uporabni *per os*

- Primeri



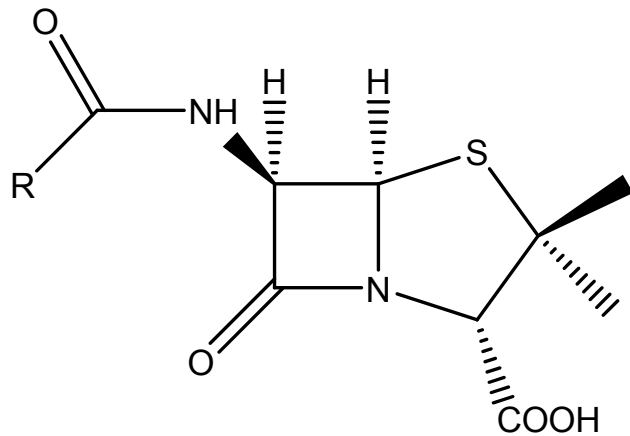
- Boljša stabilnost v kislem
- Občutljiv na β -laktamaze
- Manj močan učinek kot penicilin G



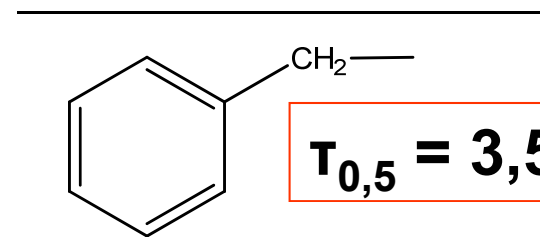
X = NH₂, Cl, PhOCONH,
Heterocikli, CO₂H

- Polsintezni penicilini

Acidorezistentnost

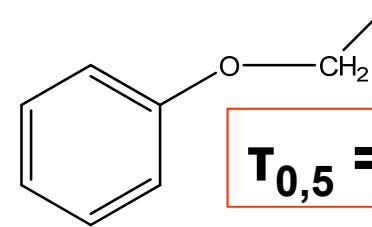


R



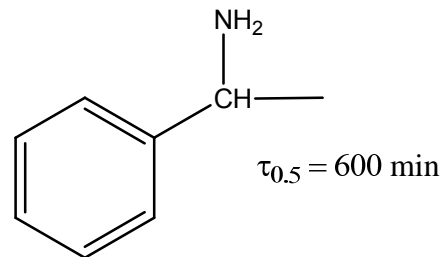
$\tau_{0,5} = 3,5$ minute

Benzilpenicilin



$\tau_{0,5} = 160$ minut

Fenoksimetilpenicilin



$\tau_{0,5} = 600$ min

Ampicilin

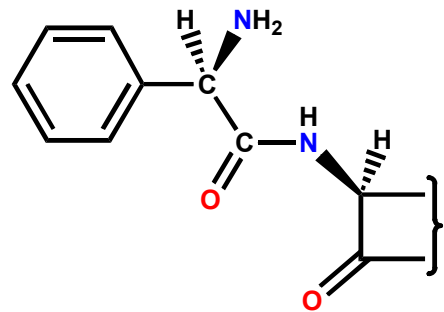
$\tau_{0,5} = 600$ minut

Širokospektralni penicilini

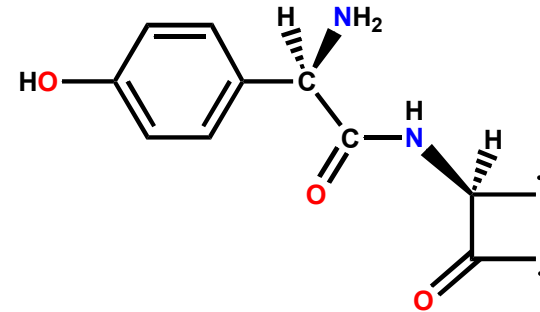
- R= hidrofobna skupina povzroči močan učinek zoper G+, obratno velja za G- bakterije
- Dodatno povečanje hidrofobnosti nima velikega vpliva na G+, zmanjša učinek na G-
- Povečanje hidrofilnosti – manj vpliva na G+, bistveno močnejši učinek zoper G-
- Hidrofilne skupine na α -položaju (-NH₂, -OH, -COOH) povečajo učinkovitost zoper G-

Širokospektralni penicilini

Aminopenicilini



Ampicilin



Amoksicilin

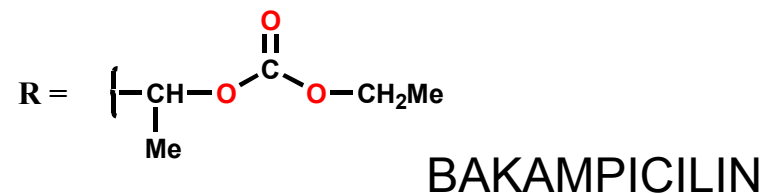
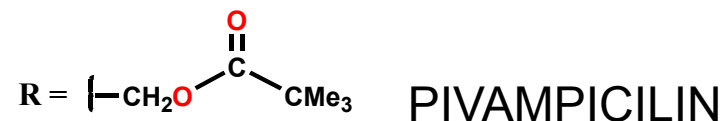
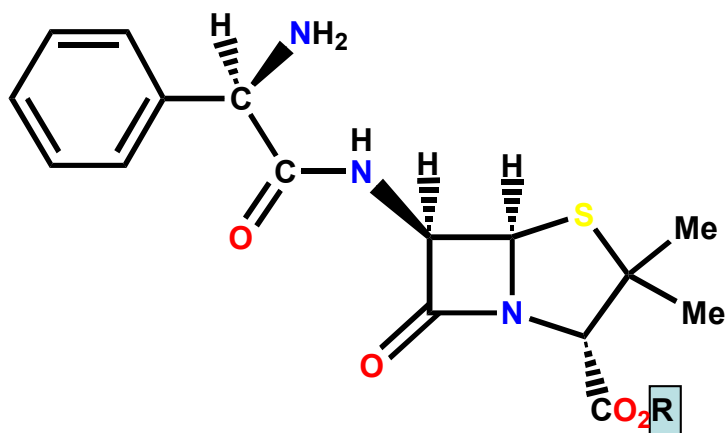
- Povečana polarnost zaradi –NH₂
- Učinkoviti zoper G⁺ in G⁻ bakterije, ki ne proizvajajo β-laktamaz
- Neučinkoviti zoper seve *Pseudomonas*
- Acidorezistentni – peroralno uporabni
- Slaba absorpcija (ampicilin)

Fiz-kem. lastnosti penicilinov

- Ampicilin: $pK_{a_1} = 2,55$, $pK_{a_2} = 7,14$
- Amoksicilin: $pK_{a_1} = 2,60$, $pK_{a_2} = 7,31$, $pK_{a_3} = 9,53$

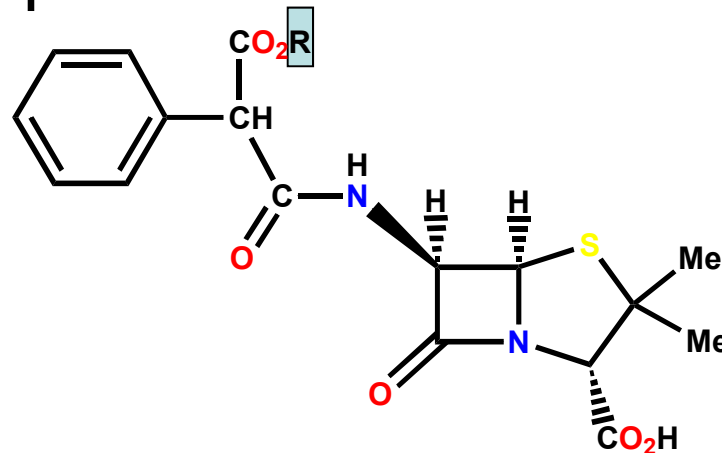
Širokospektralni penicilini

- Predzdravila amplicilina



Širokospektralni penicilini

Karboksipenicilini

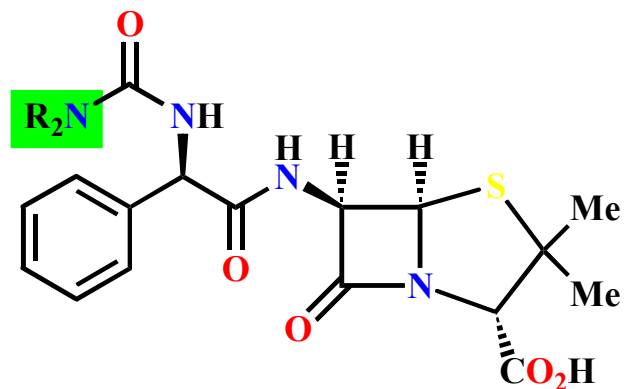


R = H KARBENICILIN
R = Ph KARFECILIN

- Povečana polarnost zaradi –COOH
- Učinkoviti zoper G⁺ in G⁻ bakterije, bolj širokospektralni od ampicilina
- Učinkoviti zoper seve *Pseudomonas*
- Odporni na številne β-laktamaze
- Acidolabilni

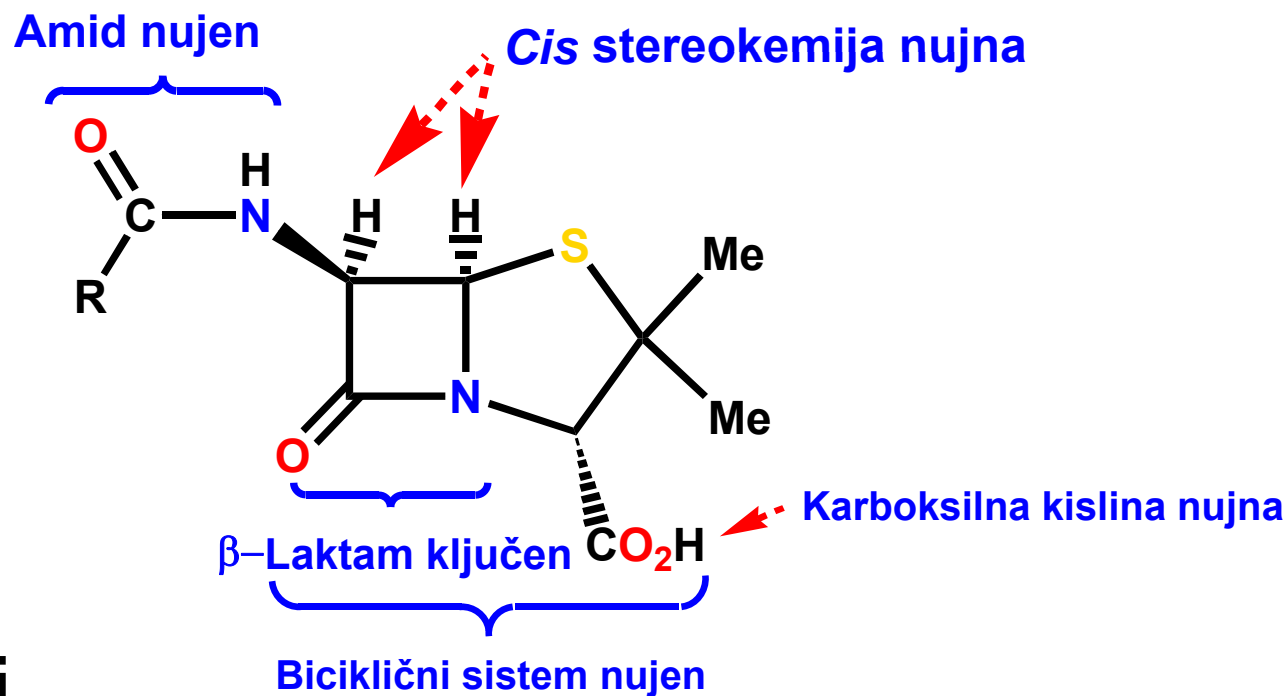
Širokospektralni penicilini

- Ureidopenicilini



- Acidolabilni
- Spekter delovanja razširjen zoper G-

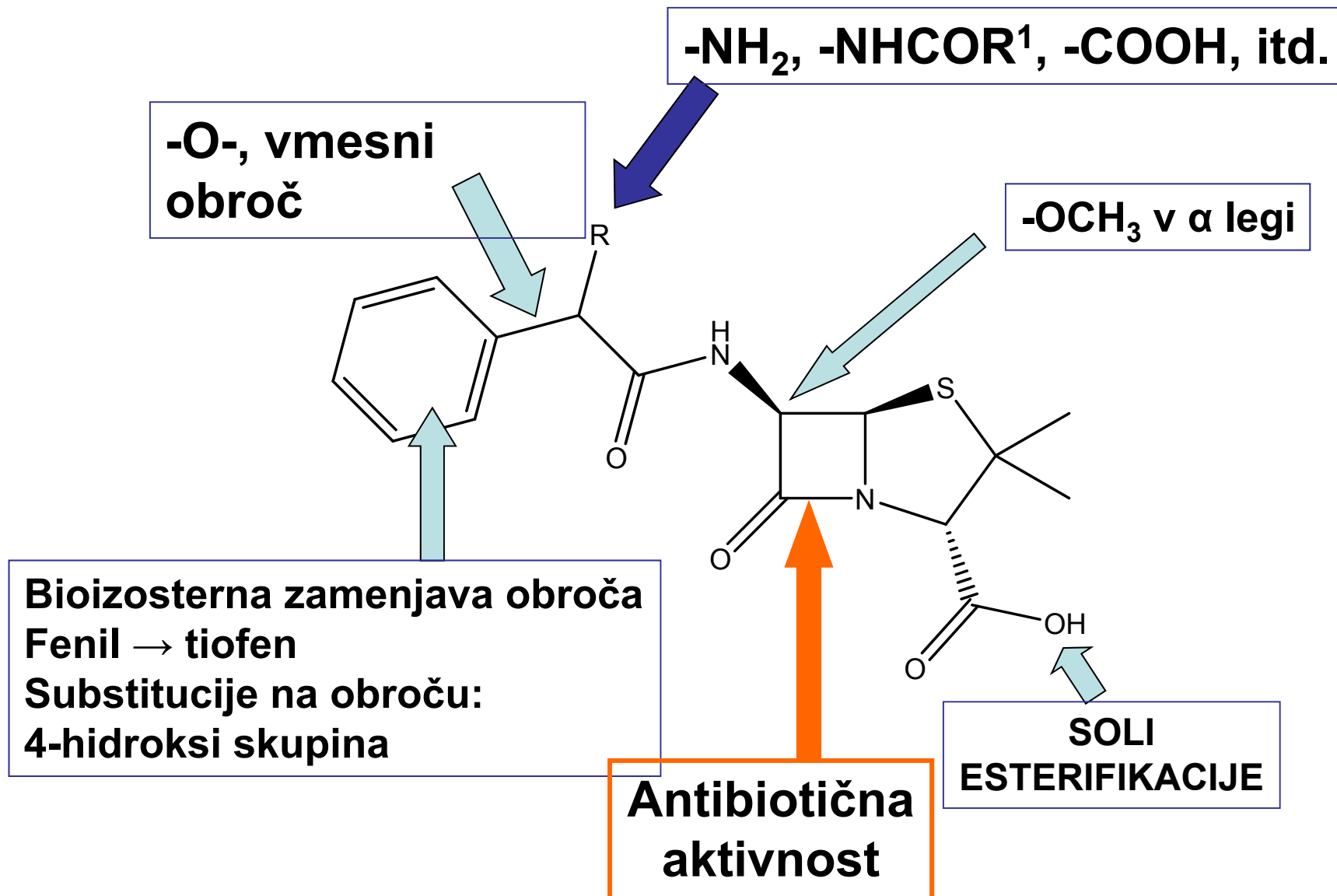
Primarni SAR penicilinov



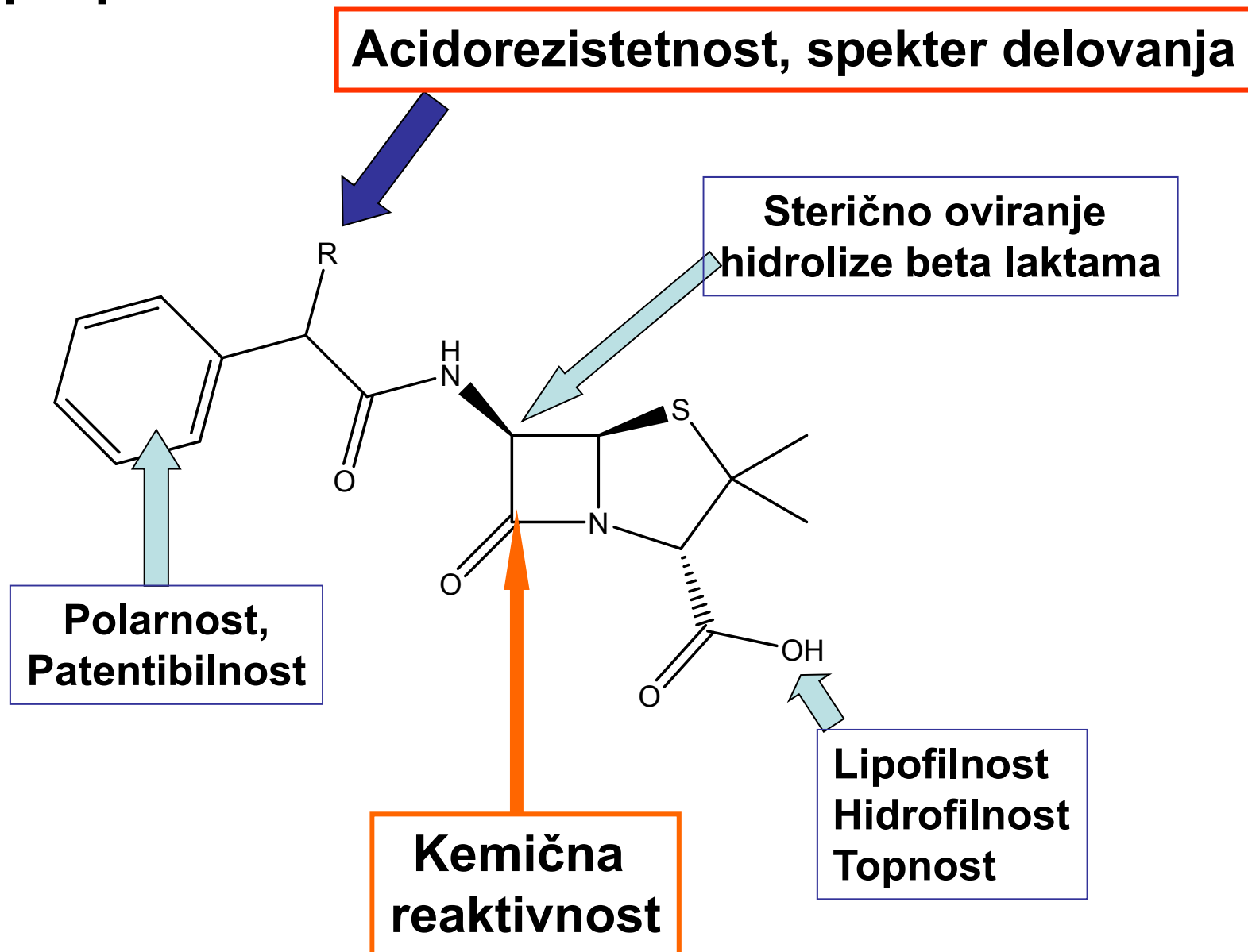
Zaključki

- Aktivnost pripisana napetosti β -laktamskega obroča
- Biciklični sistem poveča napetost
- Modifikacije: variacija stranske verige (R)

SAR pri penicilinih - 1



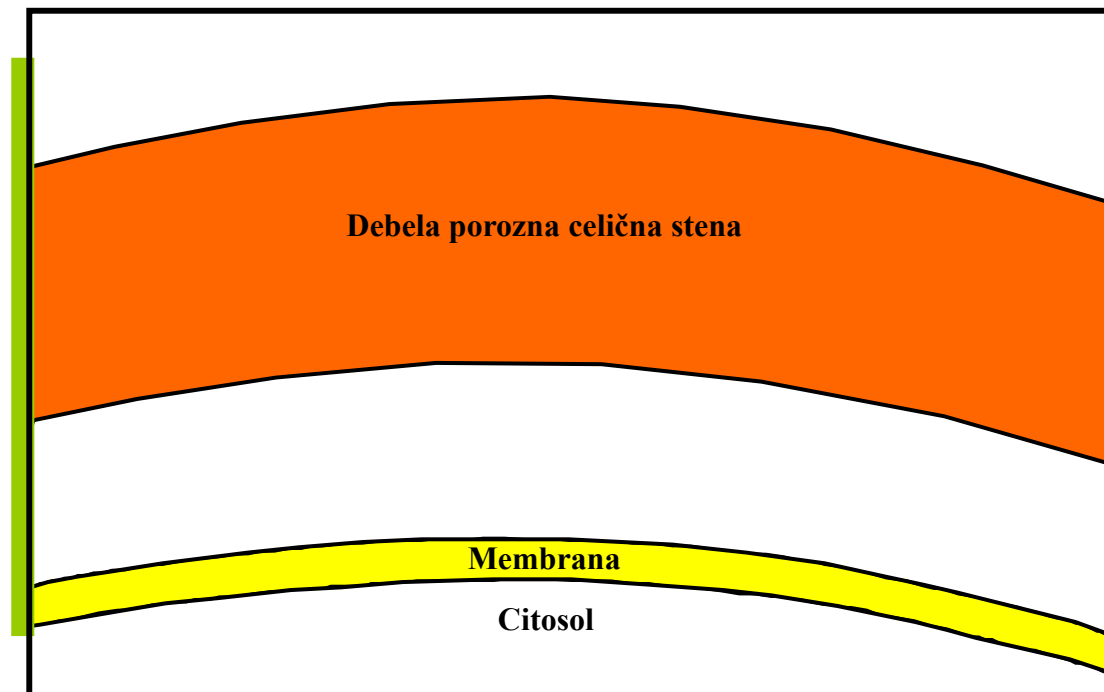
SAR pri penicilinih - 2



Rezistenca na peniciline

G+ bakterije

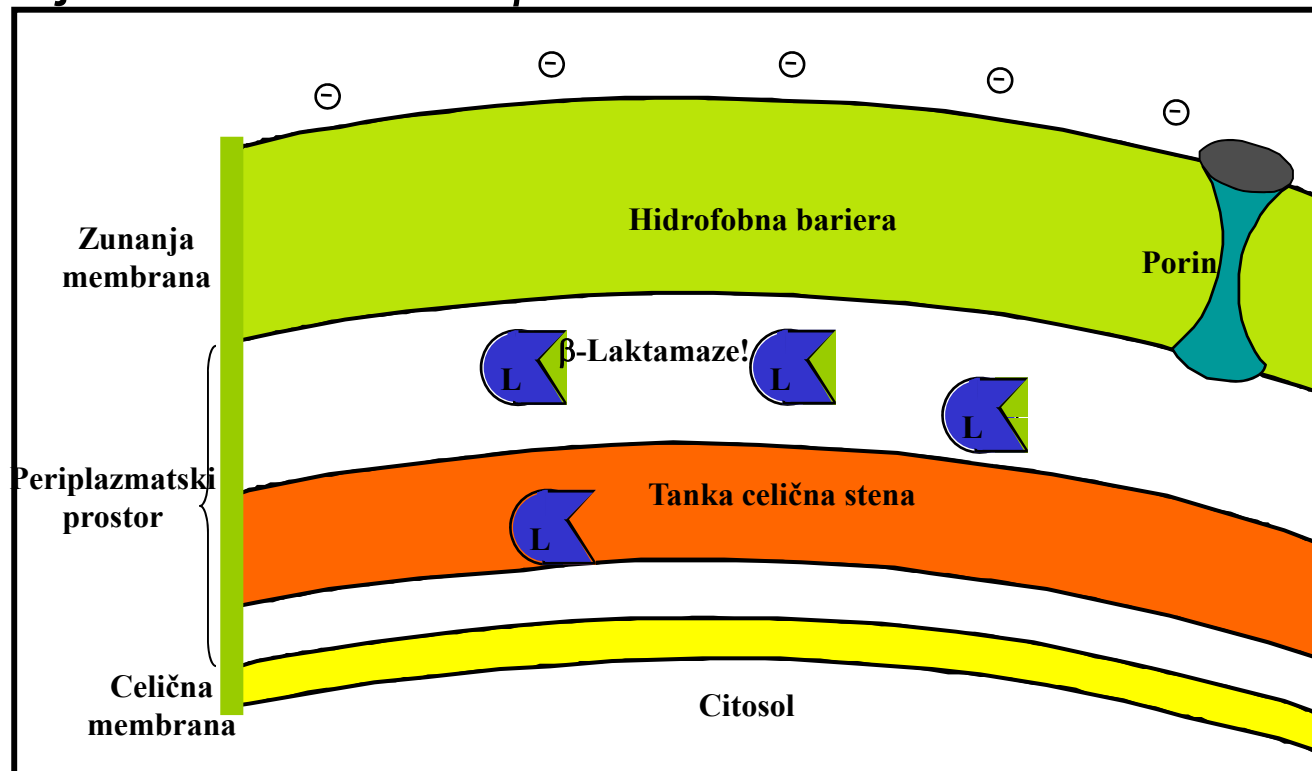
- Debela celična stena
- Ni zunanje membrane
- Neodporne na β -laktame



Rezistenca na peniciline

G- bakterije

- Tanka celična stena
- Hidrofobna zunanja membrana
- Bolj rezistentne na β -laktame



Rezistenca na peniciline

G-

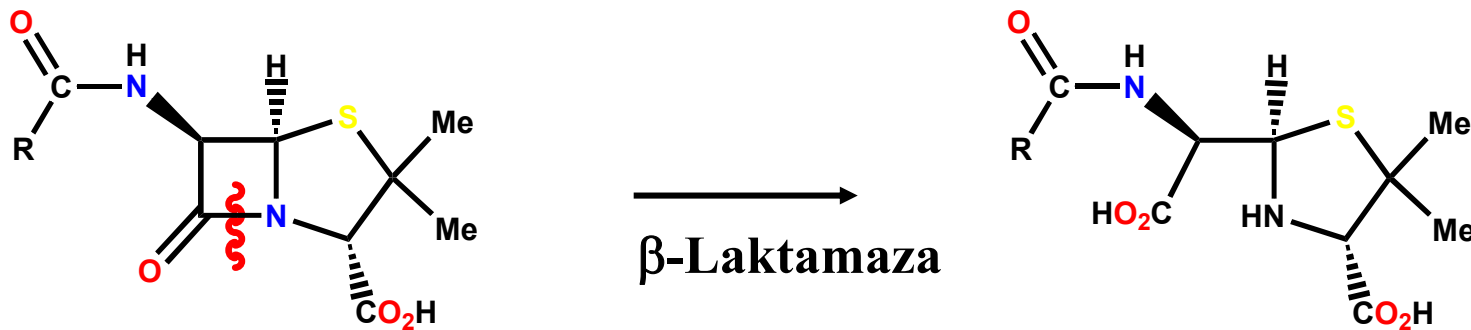
- porini – prehajanje majhnih polarnih molekul
- konc. β -laktamaz v periplazemskem prostoru izjemno visoka
- efluks črpalke črpajo peniciline iz periplazemskega prostora

G+ in G-

- visoke konc. transpeptidaze
- transpeptidaze imajo lahko nizko afiniteto do penicilinov (PBP 2a za *S. aureus*)
- mutacije
- transfer genov za β -laktamaze med bakterijami/vrstami

β -laktamaze

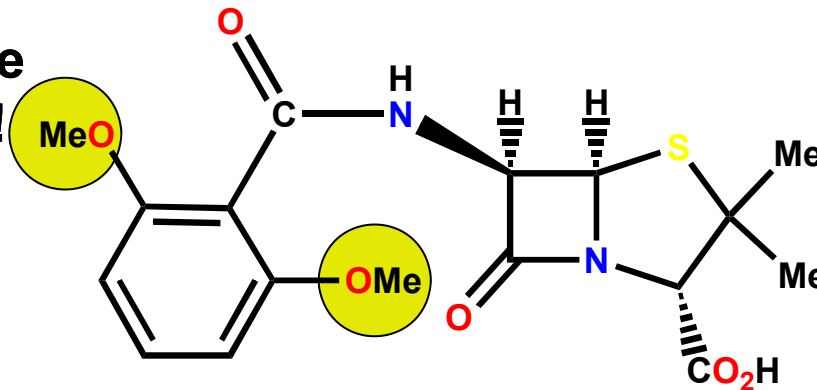
- Encimi, hidrolizirajo β -laktamski obroč
- Infekcije s *Staphylococcus aureus*
- 80% *Staph.* Infekcij rezistentnih na peniciline do 1960
- Mehanizem delovanja β -laktamaz je podoben transpeptidazi, na koncu hidrolizira acilna skupina



Rešitev cepitve z β -laktamazami?

Primer - meticilin

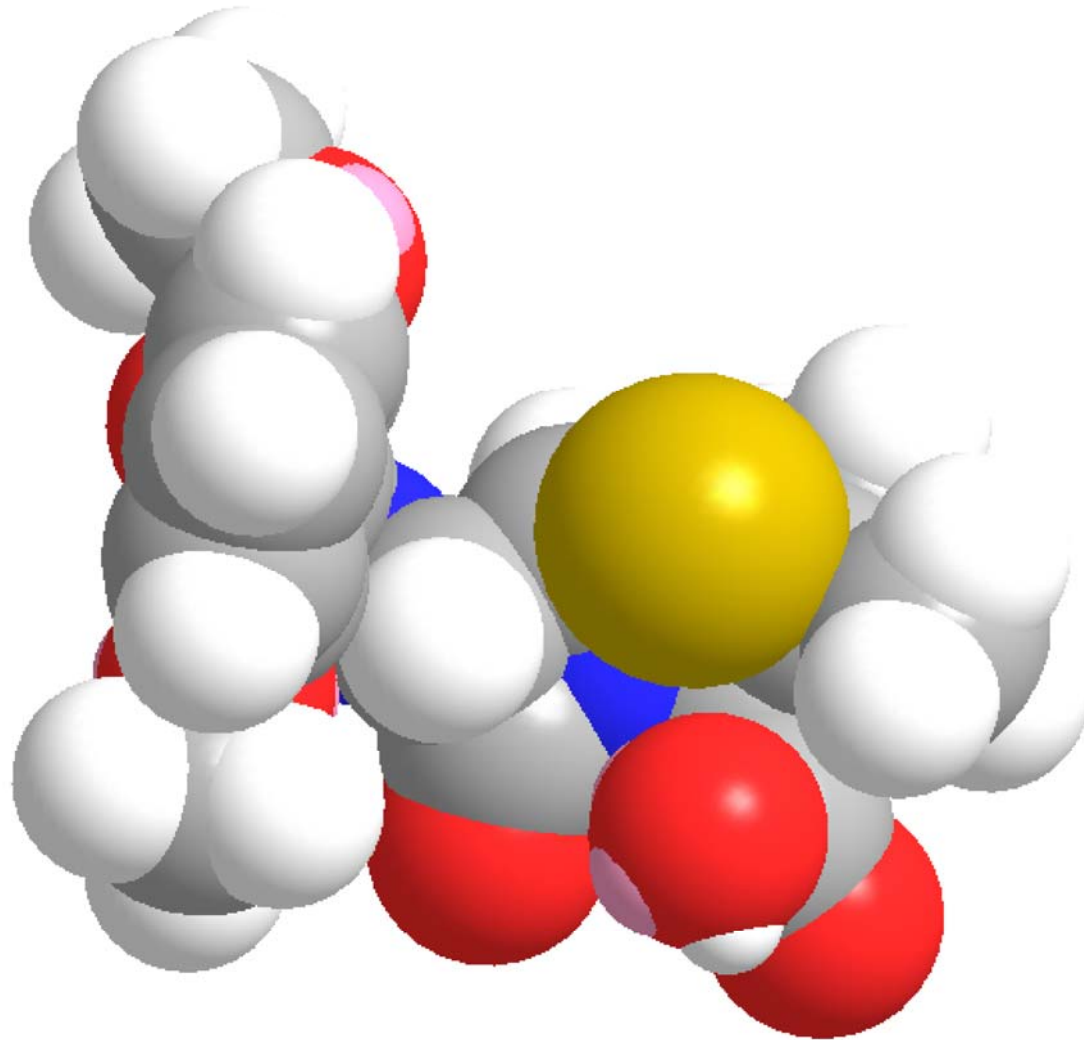
orto skupine pomembne!



- Metoksi skupini - sterična ovira za β -laktamaze, ne za transpeptidazo
- zoper sebe rezistentne na penicilin G (*Staphylococcus*)
- Acidolabilen - IV aplikacija
- Ožji spekter delovanja: neučinkovit zoper G-
- Per os učinkoviti: **oksacilin, kloksacilin, dikloksacilin**

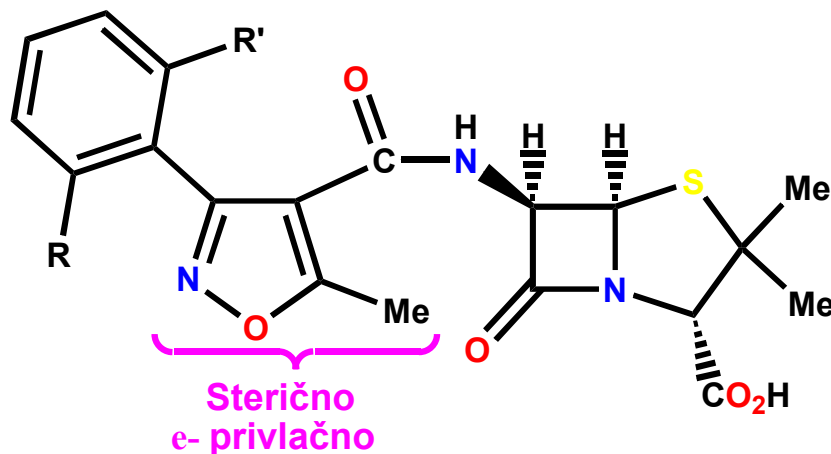
Tudi meticilin kdaj odpove – MRSA!!!

Meticilin



Rešitev cepitve z β -laktamazami?

Primer – oksacilin & Co.

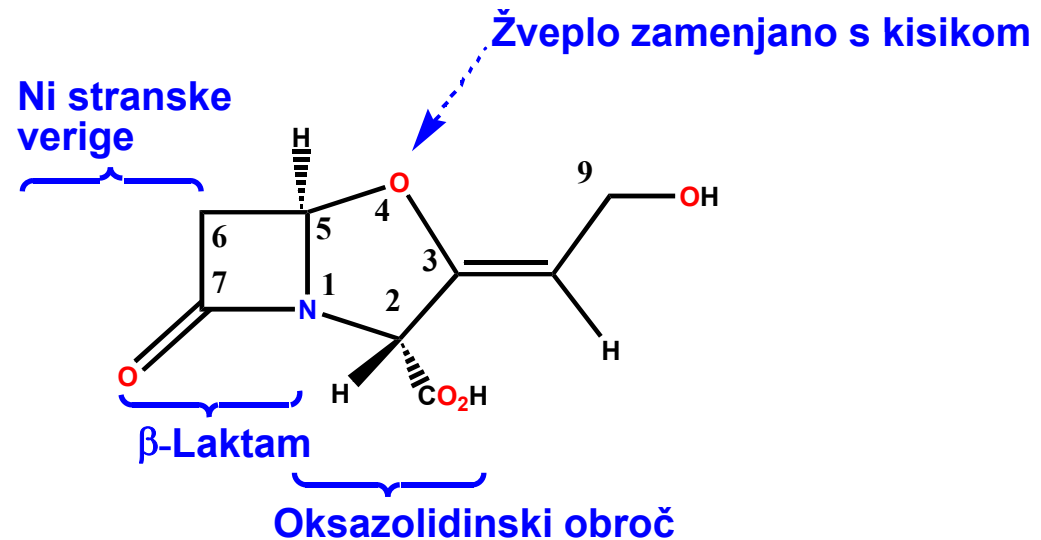


oksacilin	R = R' = H
kloksacilin	R = Cl, R' = H
dikloksacilin	R = R' = Cl
flukloksacilin	R = Cl, R' = F

- Učinkovit zoper seve rezistentne na penicilin G (*Staphylococcus*)
- Niso acidolabilni - učinkoviti *per os*
- Ožji spekter delovanja: neučinkoviti zoper G-
- R, R' skupini odgovorni za vezavo na plazemske proteine in $t_{1/2}$

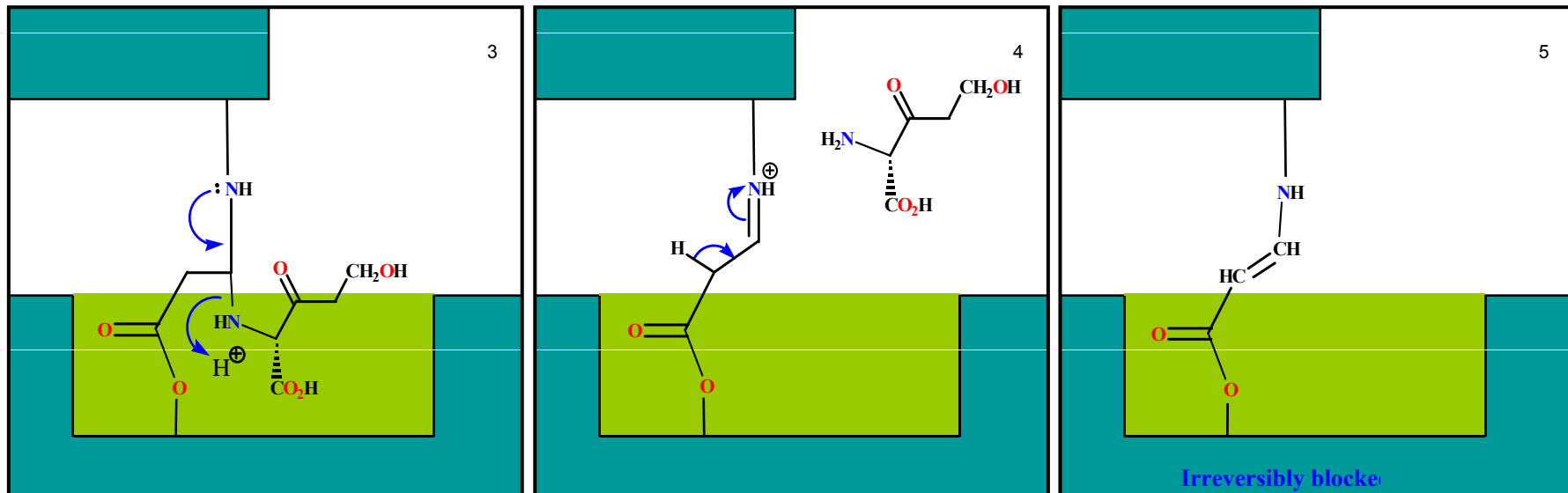
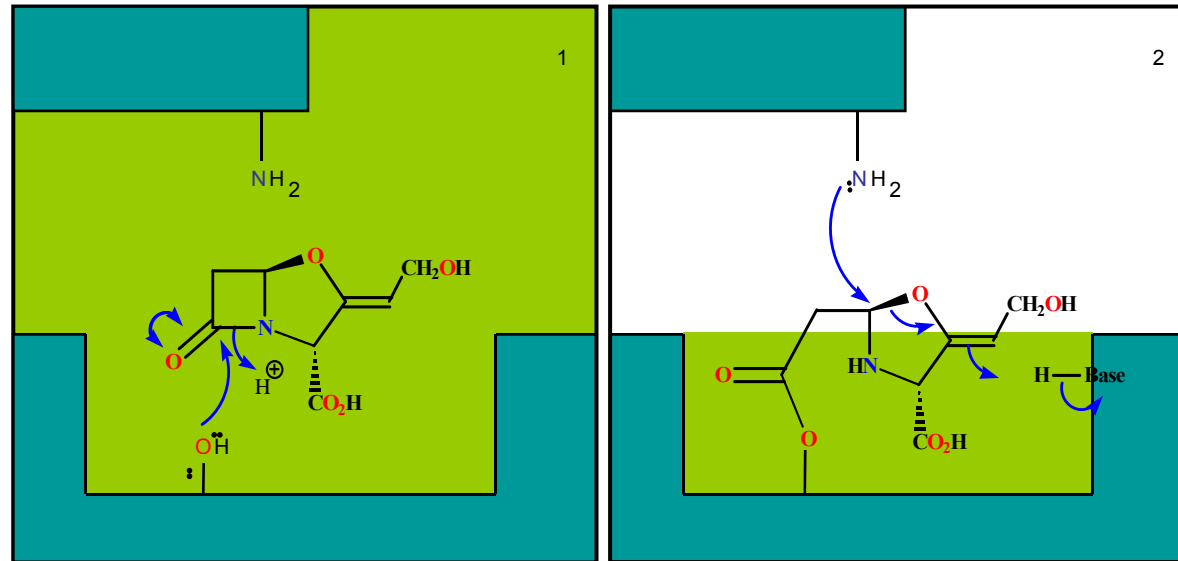
Inhibitorji β -laktamaz

- **Klavulanska kislina** (Beechams 1976) iz *Streptomyces clavuligerus*



- Šibko protibakterijsko delovanje
- Močan ireverzibilni inhibitor β -laktamaz – “samomorilski substrat”
- Souporaba z amoksicilinom

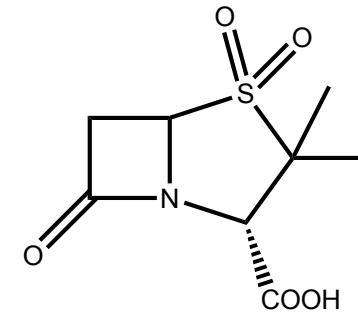
Klavulanska kislina - mehanizem



Inhibitorji β -laktamaz

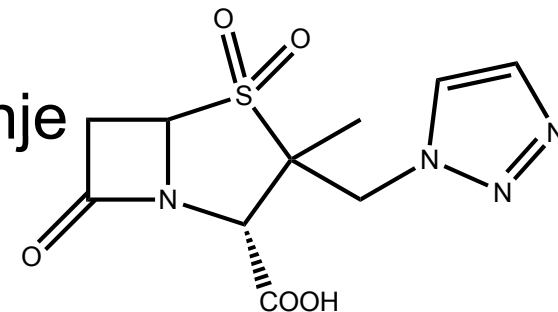
- **Sulbaktam**

- Širok spekter, šibkejše delovanje od klavulanske kisline
- + ampicilin



- **Tazobaktam**

- Širok spekter, ekvipotentno delovanje klavulanski kislini
- + piperacilin



Literatura predavanj

G. L. Patrick: An introduction to medicinal chemistry, Oxford University press, 4. izdaja:

- 19. poglavje

Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 6 izdaja:

- 39. poglavje