

Prostaglandini, inhibicija COX, mimetiki arahidonske kisline

Izr. prof. dr. Marko Anderluh

14. marec 2013

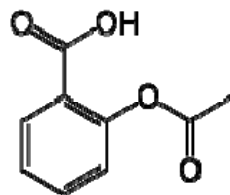
Bolečina po WHO

- Akutna/kronična
- Maligna/nemaligna
- Trostopenjska lestvica



Nekaj zgodovine

Acetilsalicilna kislina



- Prva sinteza acetilsalicilne kisline 1853, Charles Frederic Gerhardt, Izboljšava Hermann Kolbe 1874
- 1897 Bayer vpelje aspirin (Arthur Eichengrün, Felix Hoffmann)
- Mehanizem delovanja ni znan do 1971



Nesteroidne protivnetne učinkovine (NSAID)

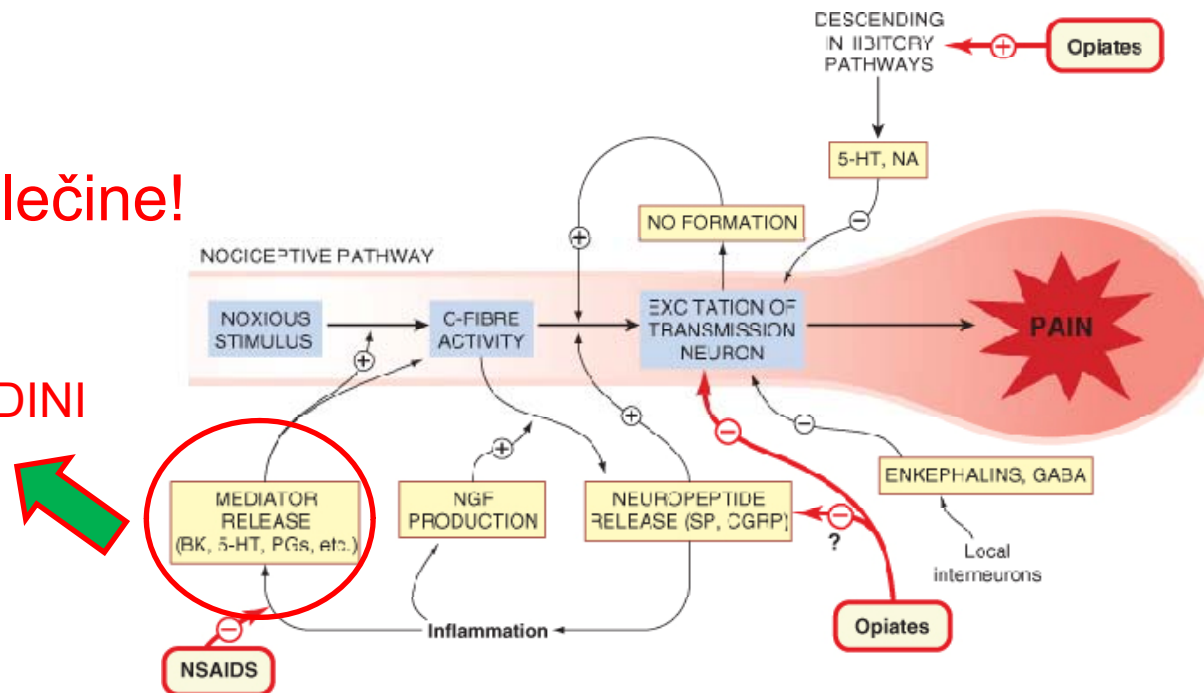
- Analgetiki, antirevmatiki, antipiretiki, antiflogistiki
- Glavni mehanizmi delovanja:
- inhibitorji COX-1 + COX-2 + (COX-3) /klasični NSAID/
- inhibitorji COX-2 (koksibi)
- drugi mehanizmi

Endogena analgezija

- Aferentna nociceptivna pot

Modulacija bolečine!

PROSTAGLANDINI



Eikozanoidi – fiziološki učinki

Eikozanoidi – produkti oksidacije esencialnih 20C maščobnih kislin

- prostaglandini, prostaciklini, tromboksani, levkotrieni

Udeleženi so v:

- Vnetnem odgovoru
- Vročini
- Vnetni bolečini
- Strjevanju krvi
- Regulaciji krvnega tlaka
- Sekretiji želodčne sluzi
- Reprodukciji (relaksacija/kontrakcija uterusa)
- Regulaciji budnosti/spanja

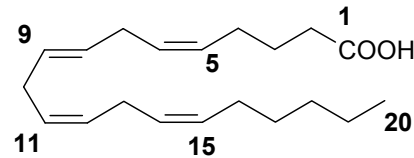
Prehrana: **linolna kislina**

metabolizem

Arahidonska kislina

esterifikacija

Membranski fosfolipidi



Aktivacija PLA₂:

Citokini, rastni faktorji
poškodbe tkiva,
vnetje



Fosfolipaza A₂
(PLA₂)



Zileuton



Arahidonska kislina

protivnetni glukokortikoidi

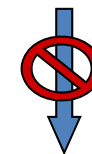
COX

Lipoksigenaza
LOX

COX-1 in COX-2 inhibitorji
NSAID, koksibi

Prostaglandini in
tromboksani

Leukotrieni



Zafirlukast

PG receptorji

Leukotrienski receptorji

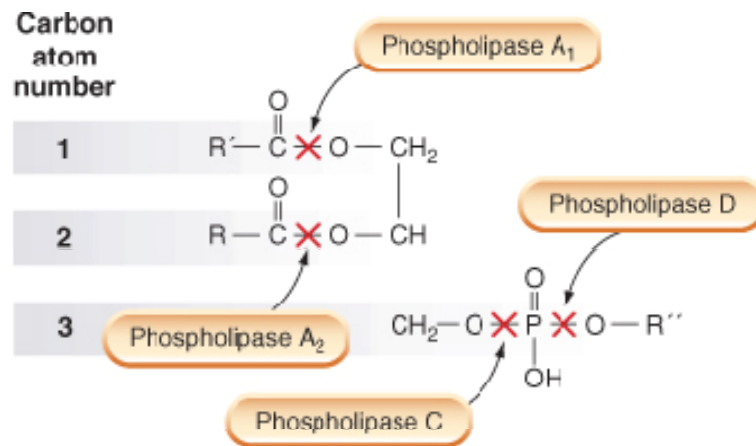
ANTAGONISTI

Arahidonska kislina

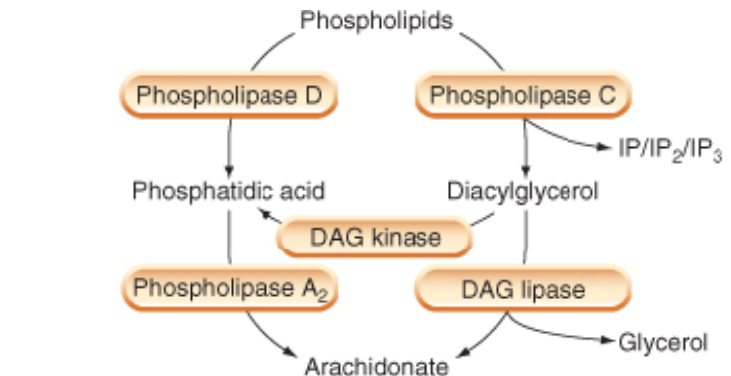
Metabolizem arahidonske kisline

- “Rate-limiting” step je sproščanje arahidonske kisline iz trigliceridov

Enostopenjsko – s PLA₂



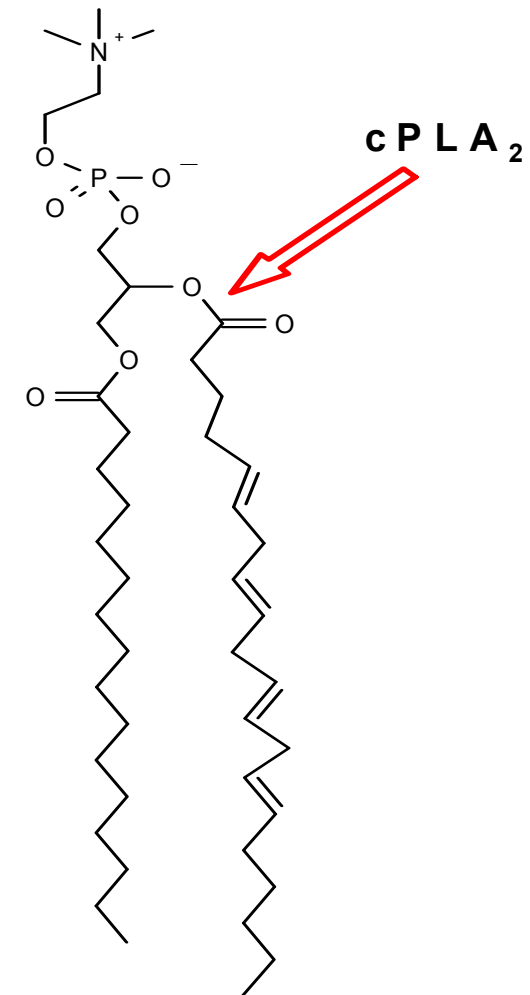
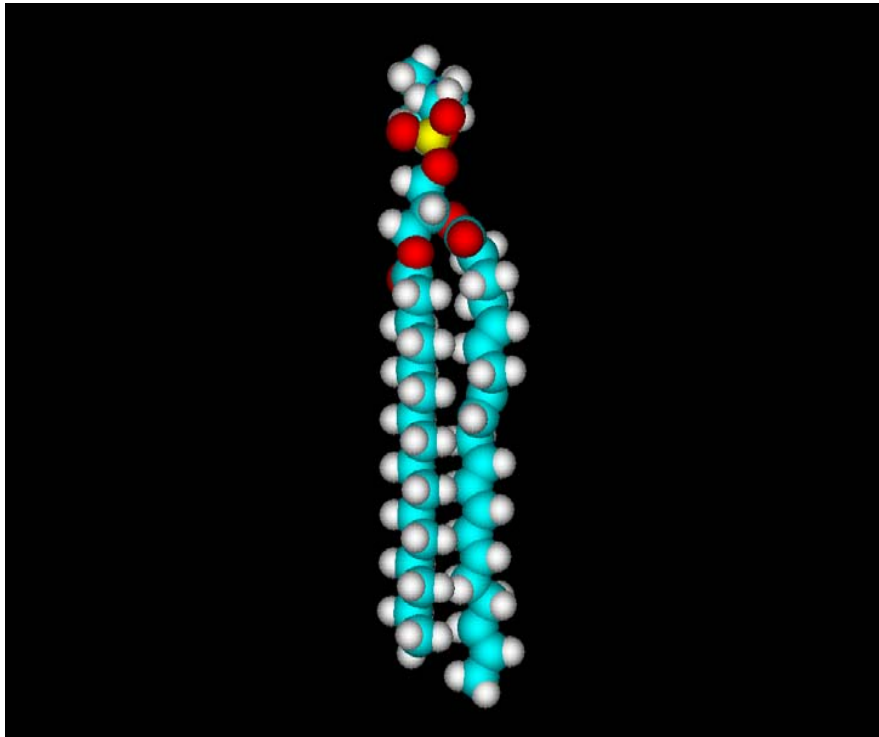
Dvostopenjsko – PLC + DAGL



© Elsevier Ltd. Rang et al: Pharmacology 5E www.studentconsult.com

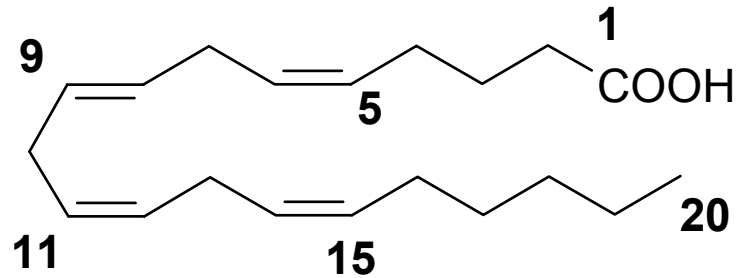
Arahidonska kislina

- vgrajena v fosfolipidno molekulo na mestu 2



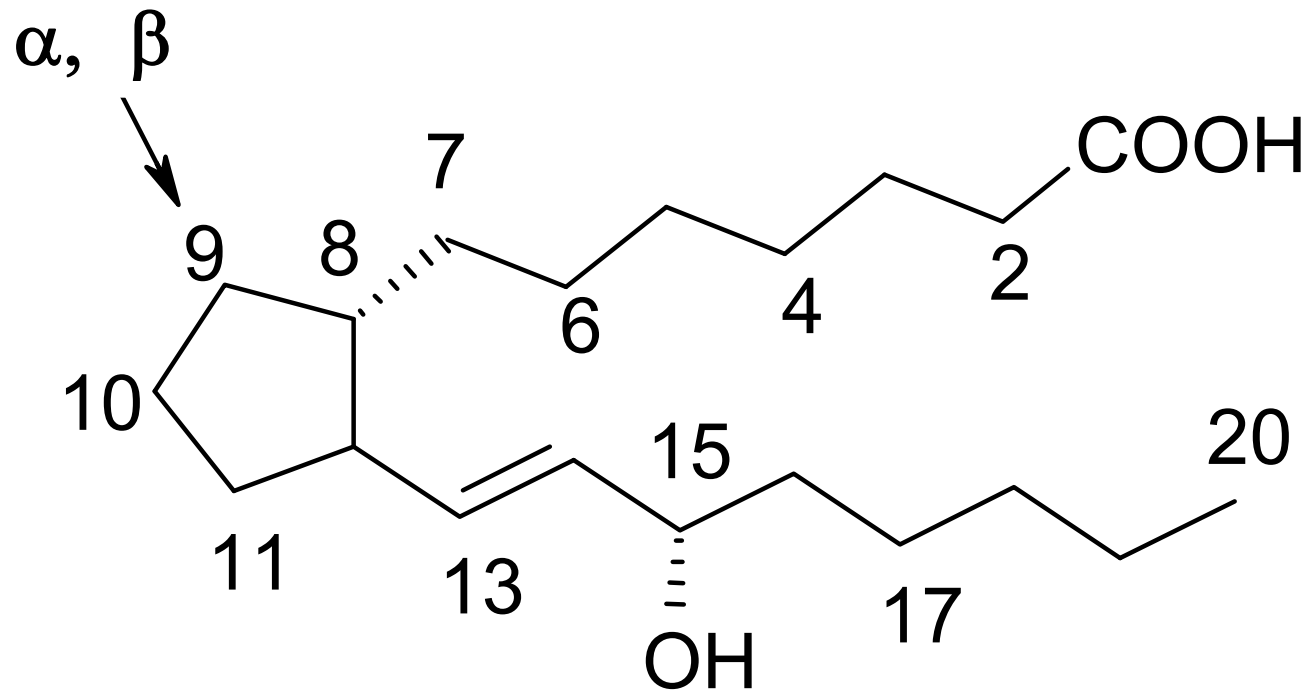
Arahidonska kislina (AA)

- Arahidonska kislina = 5,8,11,14-eikozatetraenojska kislina
- Vse = vezi cis
- ω -6

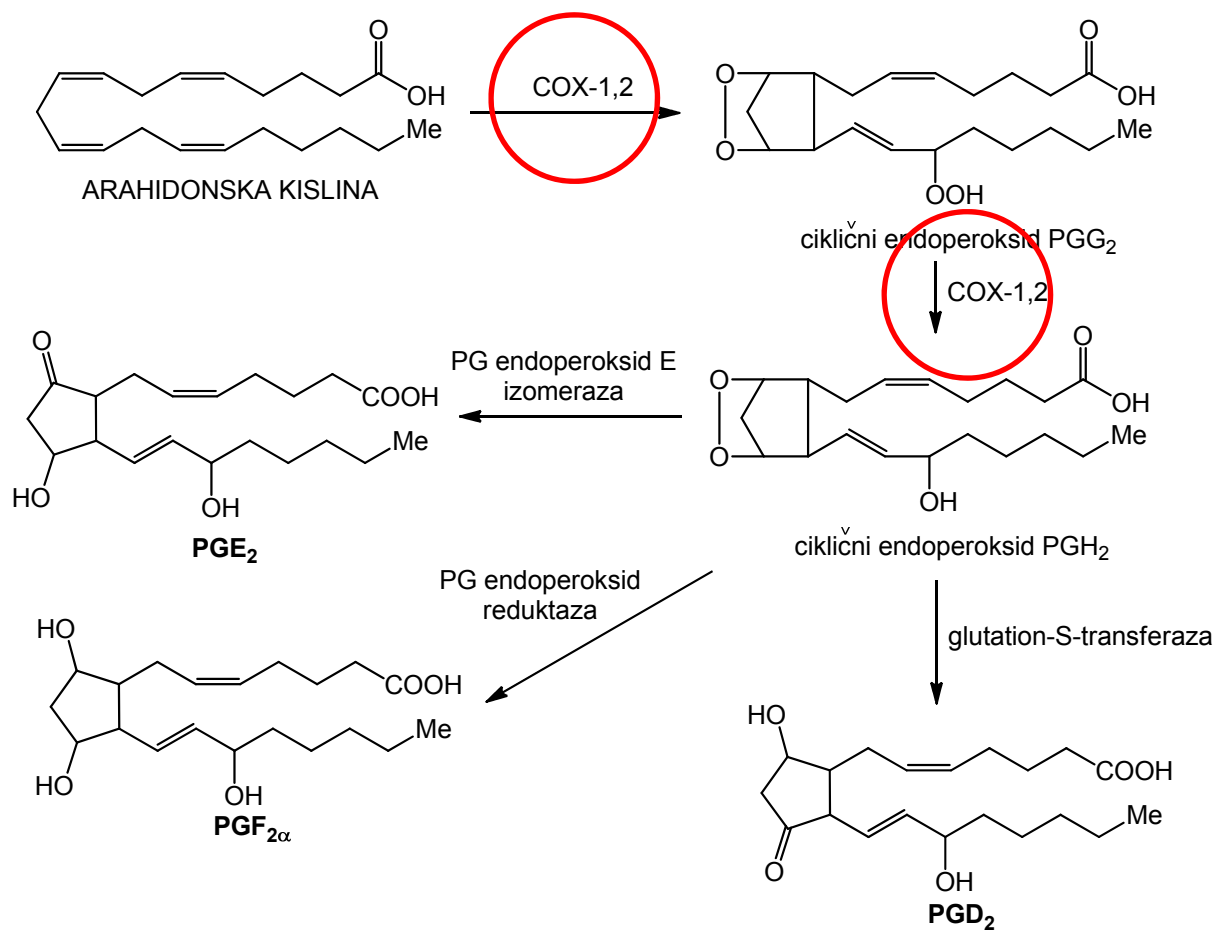


Prostaglandini

- C20-ciklopentano maščobne kisline
- 20 = EIKOZANOIDI

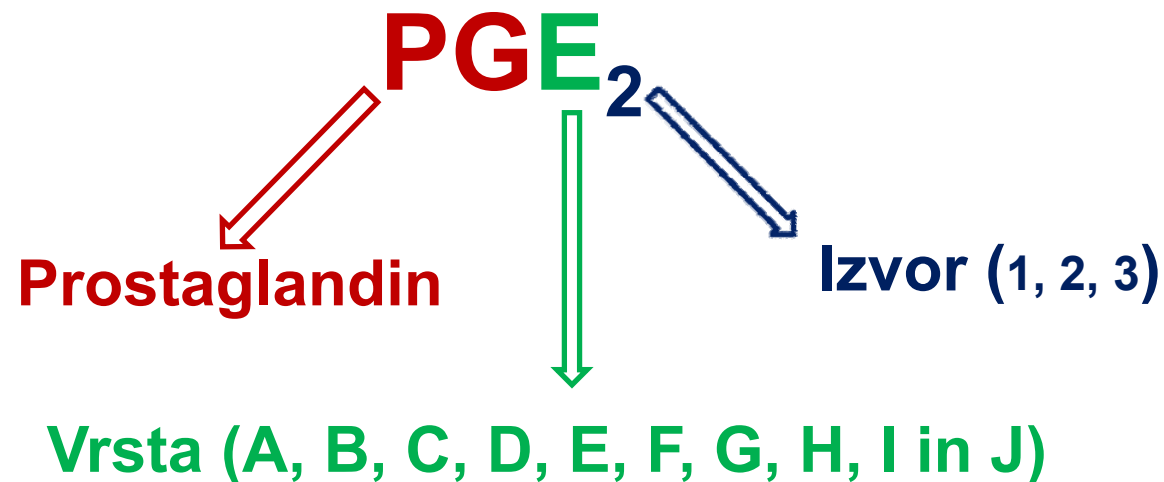


Biosintezna pot prostaglandinov iz arahidonske kisline



Prostaglandini

- Nomenklatura



Izvor

- 1: dihomo- γ -linolenska kislina
- 2: arahidonska kislina (AA)
- 3: eikozapentaenojska kislina (EPA)

Receptorji za PG

- **PGE₂** deluje na **EP₁** (konstrikcija GM bronhijev, v GIT), **EP₂** (bronhodilatacija, vazodilatacija), **EP₃** (izločanje sluzi in inhibicija izločanja HCl v želodcu,...) ali **EP₄**
- **PGD₂** deluje na **DP₁** ali **DP₂** (vazodilatacija, relaksacija maternice, inhibicija agregacije trombocitov)
- **PGI₂** deluje na **IP** (vazodilatacija, inhibicija agregacije trombocitov, izločanje renina)
- **PGF_{2α}** deluje na **FP_α** ali **FP_β** (kontrakcija miometrija)
- **TXA₂** deluje na **TP_α** ali **TP_β** (agregacija trombocitov + bronhokonstrikcija)

Fiziološki učinki PG

Tkivo/organ	PG ali TX	Učinki
Reproduktivni organi	PGE₂, PGF_{2α}	Kontrakcija maternice, plodnost
Kardiovaskularni sistem	TXA₂, PGI₂ TXA₂ PGE₂, PGI₂ TXA₂, PGF_{2α}	Agregacija trombocitov Prepustnost žil Dilatacija arterij Konstrikcija ven
Respiratorni sistem	PGE₂ TXA₂, PGF_{2α}	Dilatacija bronhov Konstrikcija bronhov
Renalni sistem	PGE₂ in PGI₂ PGE₂	Pretok krvi, glom. filtracija, izloč. renina Inhibicija hidroosmotskih učinkov ADH
Prebavni sistem	PGE₂ in PGI₂	Zaščita sluznic
Imunski sistem	PGE₂ in PGI₂	Inhibicija T, B limfocitne proliferacije
Centralni živčni sistem	PGE₂ PGD₂ PGE₂ in PGI₂	Vročina Spanje Bolečina

Tarče učinkovin v kaskadi AA

- **PLA₂**: inhibitorji (protivnetni glukokortikoidi)
- **COX-1, COX-2 in COX-3**: inhibitorji (NSAID)
- **COX-2**: inhibitorji (koksibi)
- **PG sintetaze**: inhibitorji
- **Receptorji za PG in TX**: agonisti in antagonisti
- **Lipoksigenaza**: inhibitorji
- **Receptorji za leukotriene**: agonisti, antagonisti

COX – ciklooksigenaza(e)

COX-1 je kostitutiven encim,
normalno prisoten v tkivih;

COX-2 je inducibilen encim, prisoten v
področjih vnetja in
tudi normalno v nekaterih tkivih.

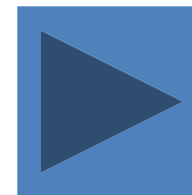
COX – ciklooksigenaza(e)

COX-1 je pretežno v:

želodcu, prebavilih, ledvicah in trombocitih

COX-2 je v področju vnetja, v makrofagih, v endotelnih celicah, ledvicah in možganih

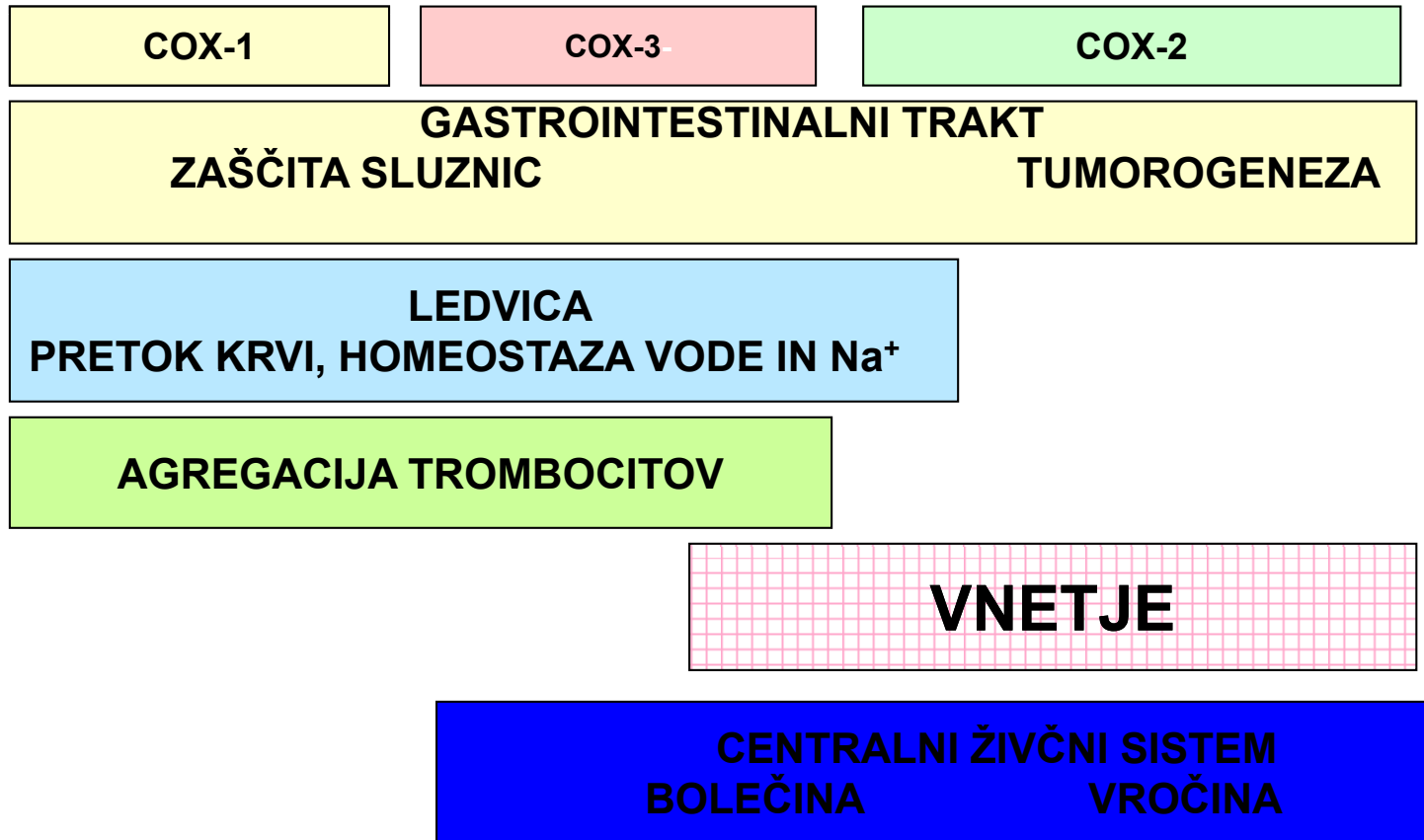
COX-3 (podvarianta COX-1) je pretežno v možganih.



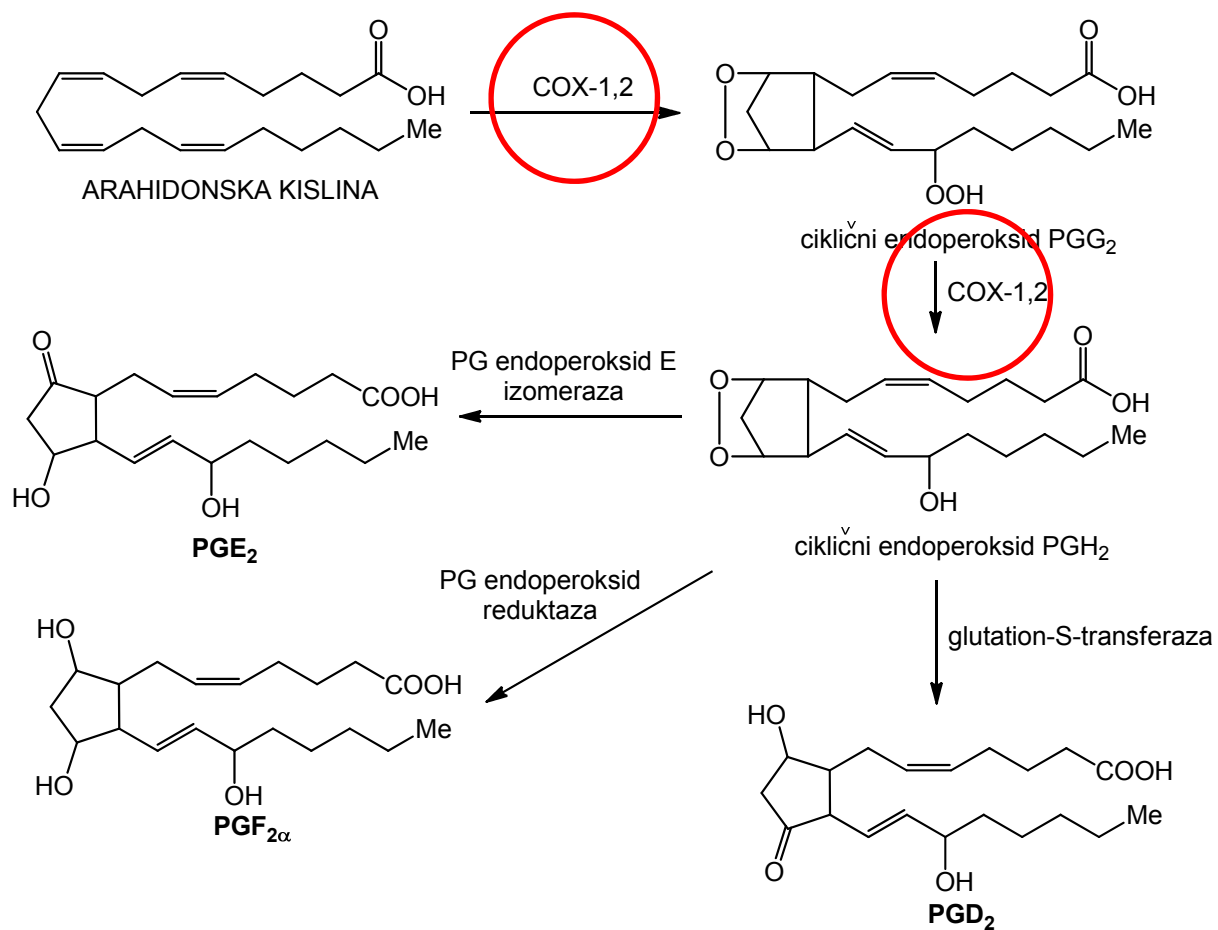
Primerjava COX-1 in COX-2 encima

	COX-1	COX-2
Velikost gena	22 kb	8,3 kb
Število eksonov	11	10
Kromosom	9q32-q33,3	1q25,2-q25,3
mRNA	2,8 kb	4,1 kb
Pojavnost	Stalno prisotna	Pojavi se po indukciji
Induktorji	-	Citokini, LPS, TPA
Število aminokislin	599	604
Lokacija	jedrna membrana , ER	jedrna membrana, ER
kofaktorji	1 hem	1 hem
Mesto aciliranja z aspirinom	Ser-530	Ser-516
Substratna specifičnost	AA, γ -linoleinska kislina	AA, dihomo- γ -linolenska kislina, α -linolenska ksl., eikozapentenoična ksl.
Aktivnost	23 mmol AA/min	11 mmol AA/min

COX-1/COX-2



Biosintezna pot prostaglandinov iz arahidonske kisline

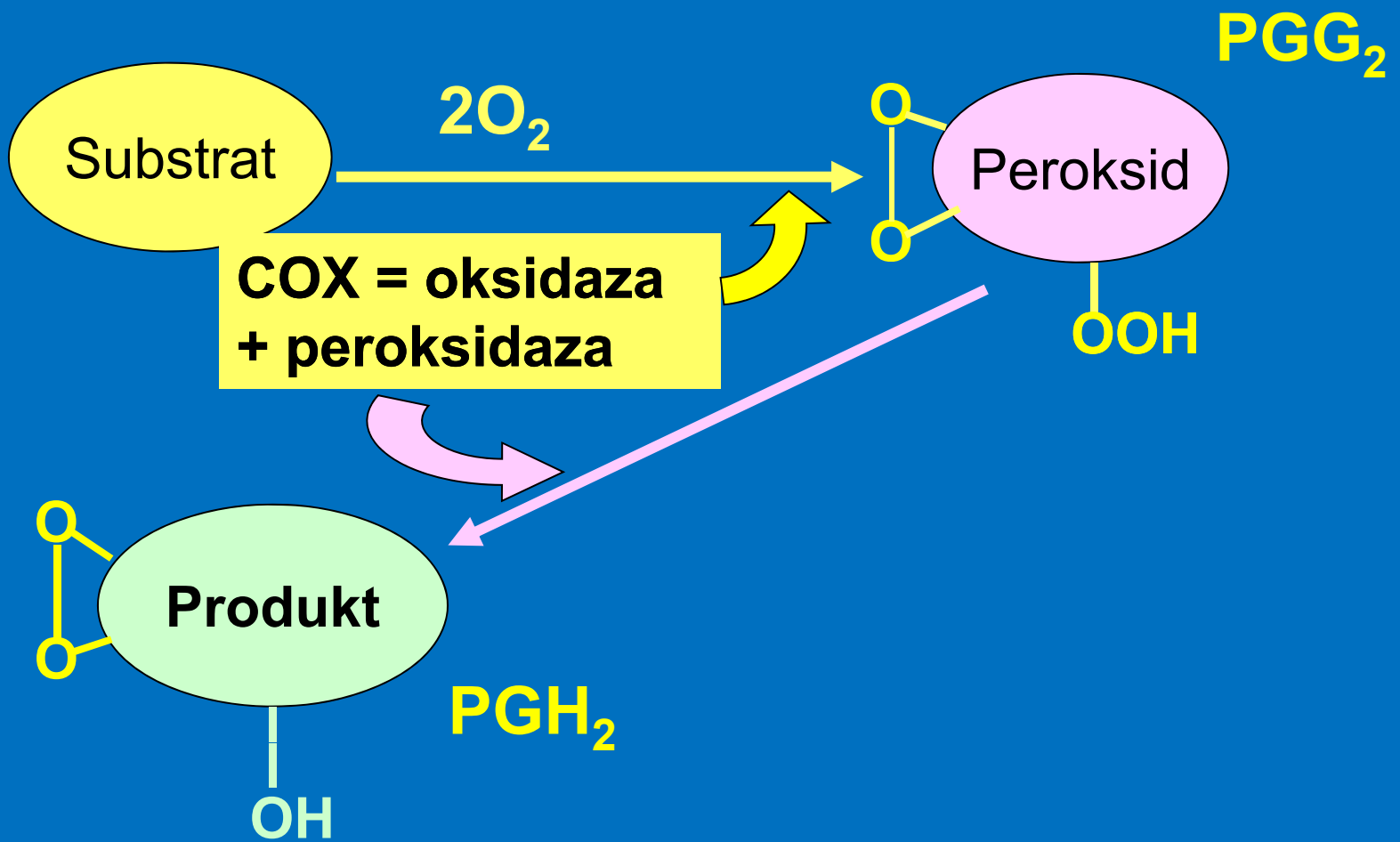


COX – ciklooksigenaza(e)

Dve funkciji:

- **oksidaza – oksidacija** z $2O_2$ (nastanek PGG_2) in
- **peroksidaza – redukcija** hidroperoksida do alkohola (nastanek PGH_2) ob uporabi glutationa (GSH)

Shematski prikaz delovanja oksidaze in peroksidaze



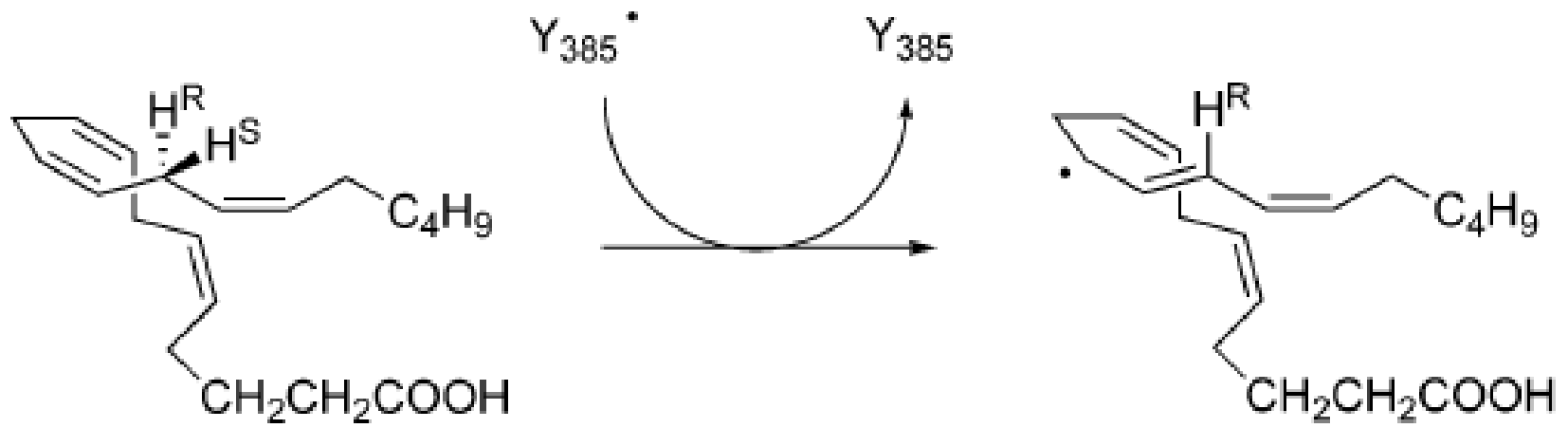
Mehanizem oksidacije?

- Diels-Alder?
- Kaj drugega?

Biochemistry 2006, 45, 3189-3205

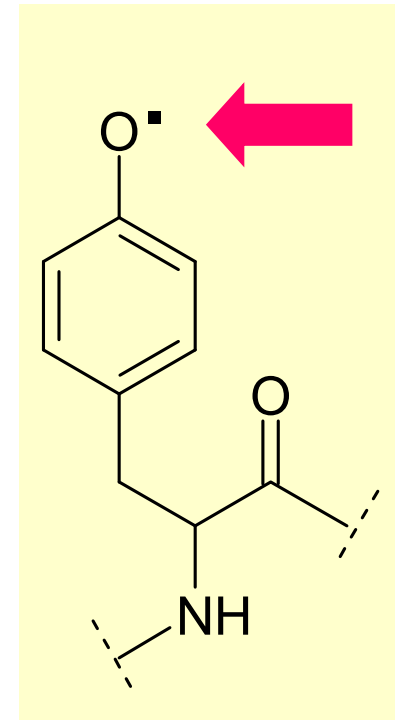
**Molecular Dynamics Simulations of
Arachidonic Acid Complexes with COX-1
and COX-2: Insights into Equilibrium
Behavior**

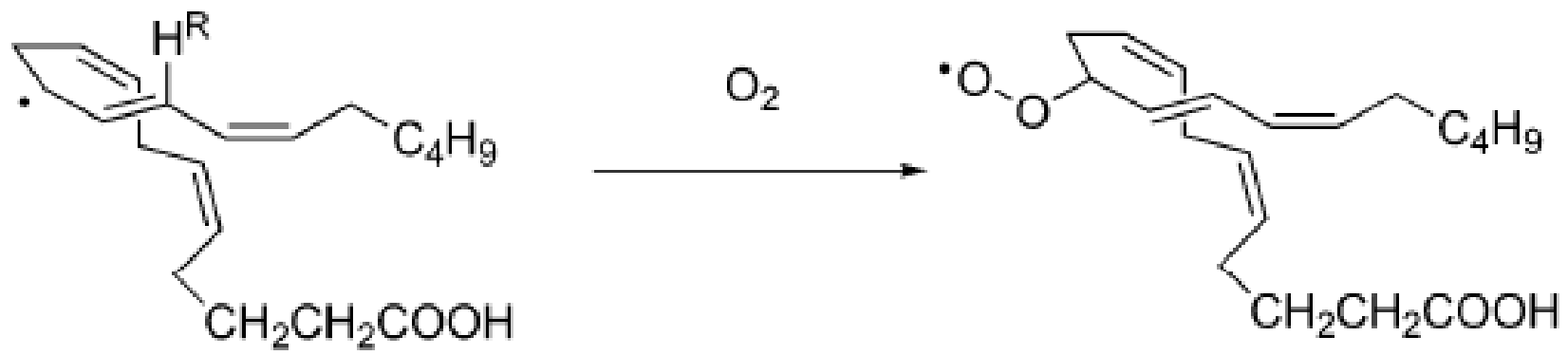
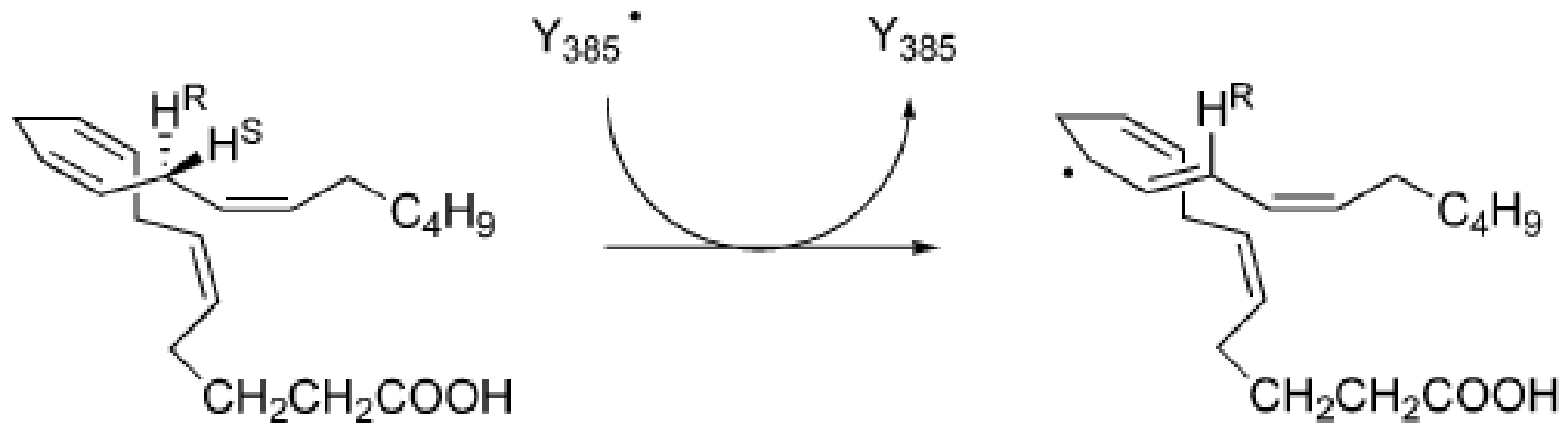
Kristina E. Furse, Derek A. Pratt, Ned A. Porter, and Terry
P. Lybrand

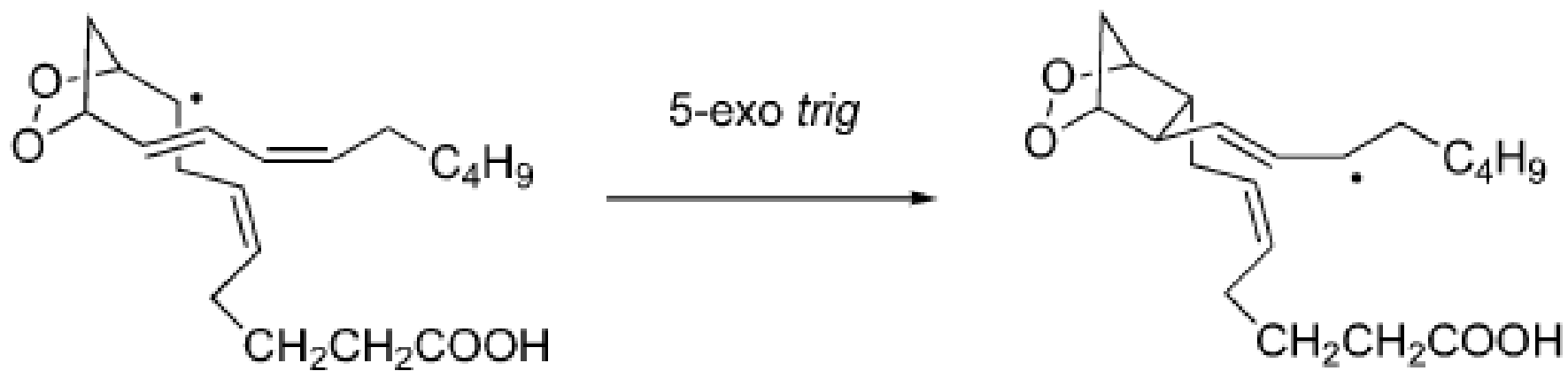
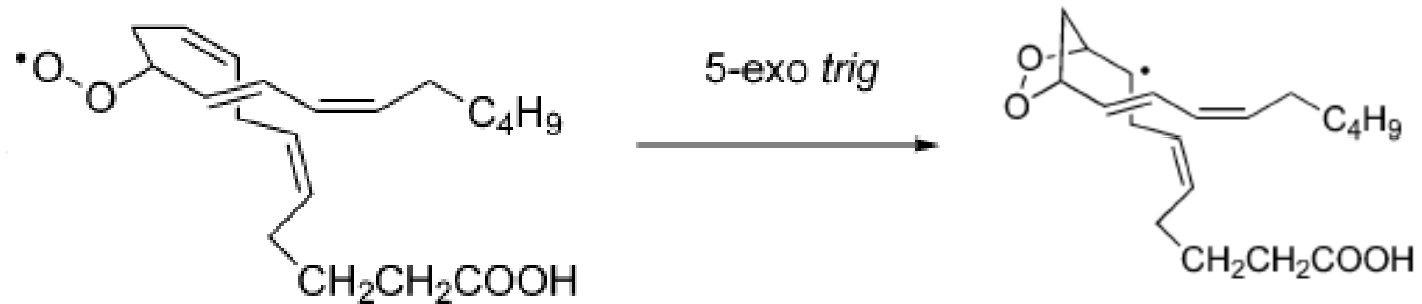


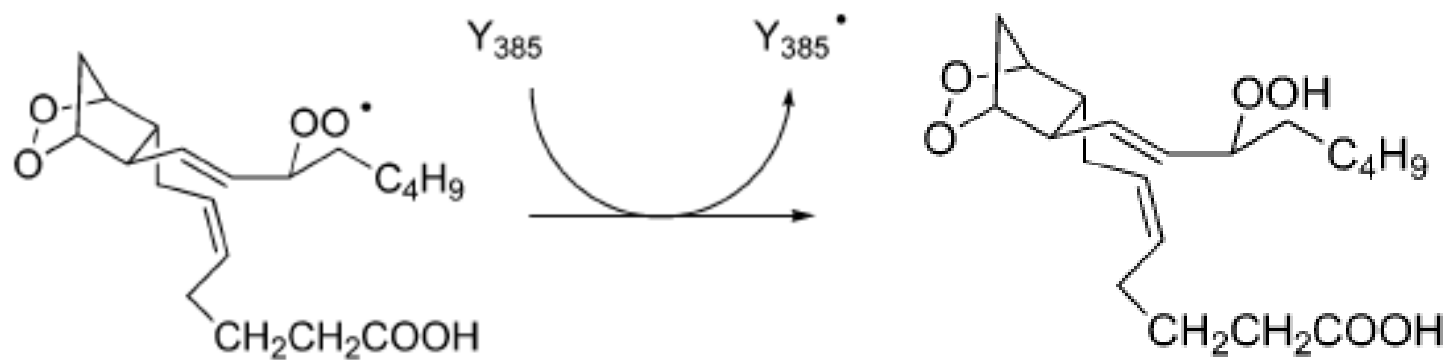
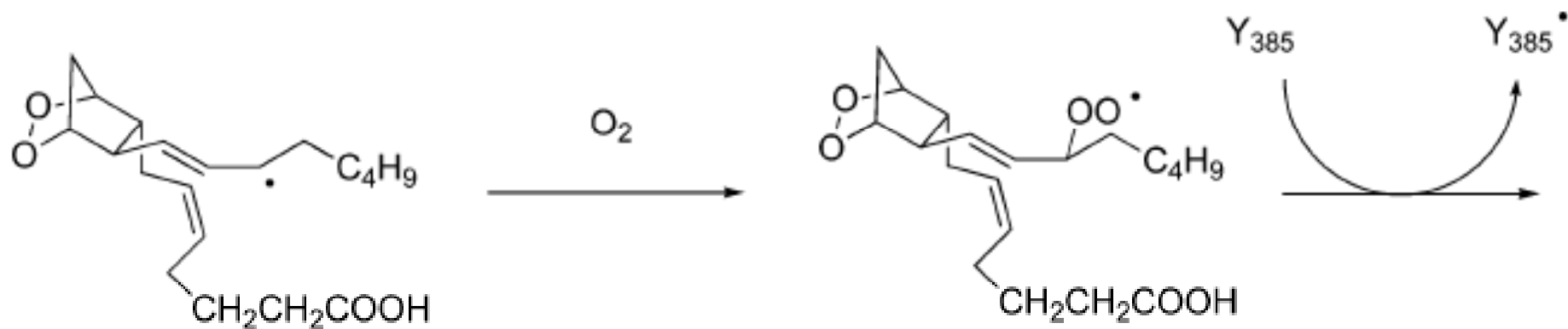
Y = tirozin

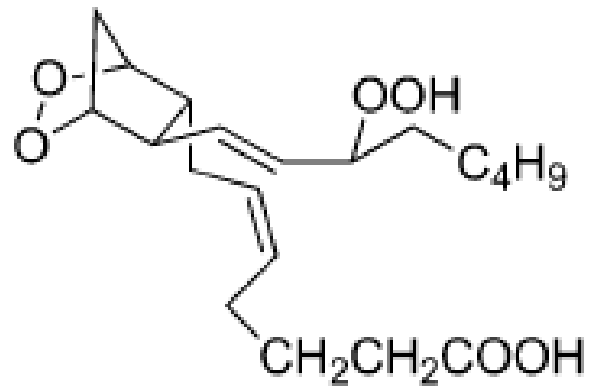
Y• = tirozil radikal



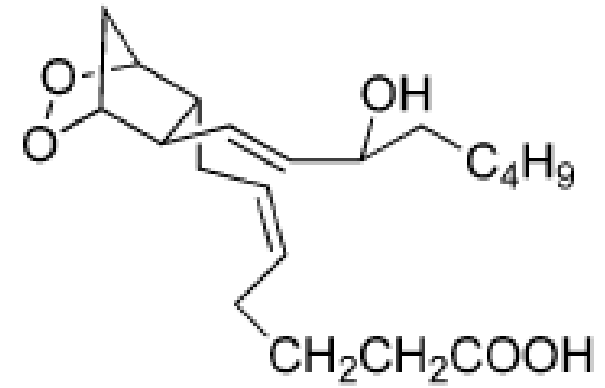
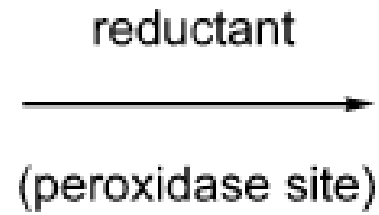






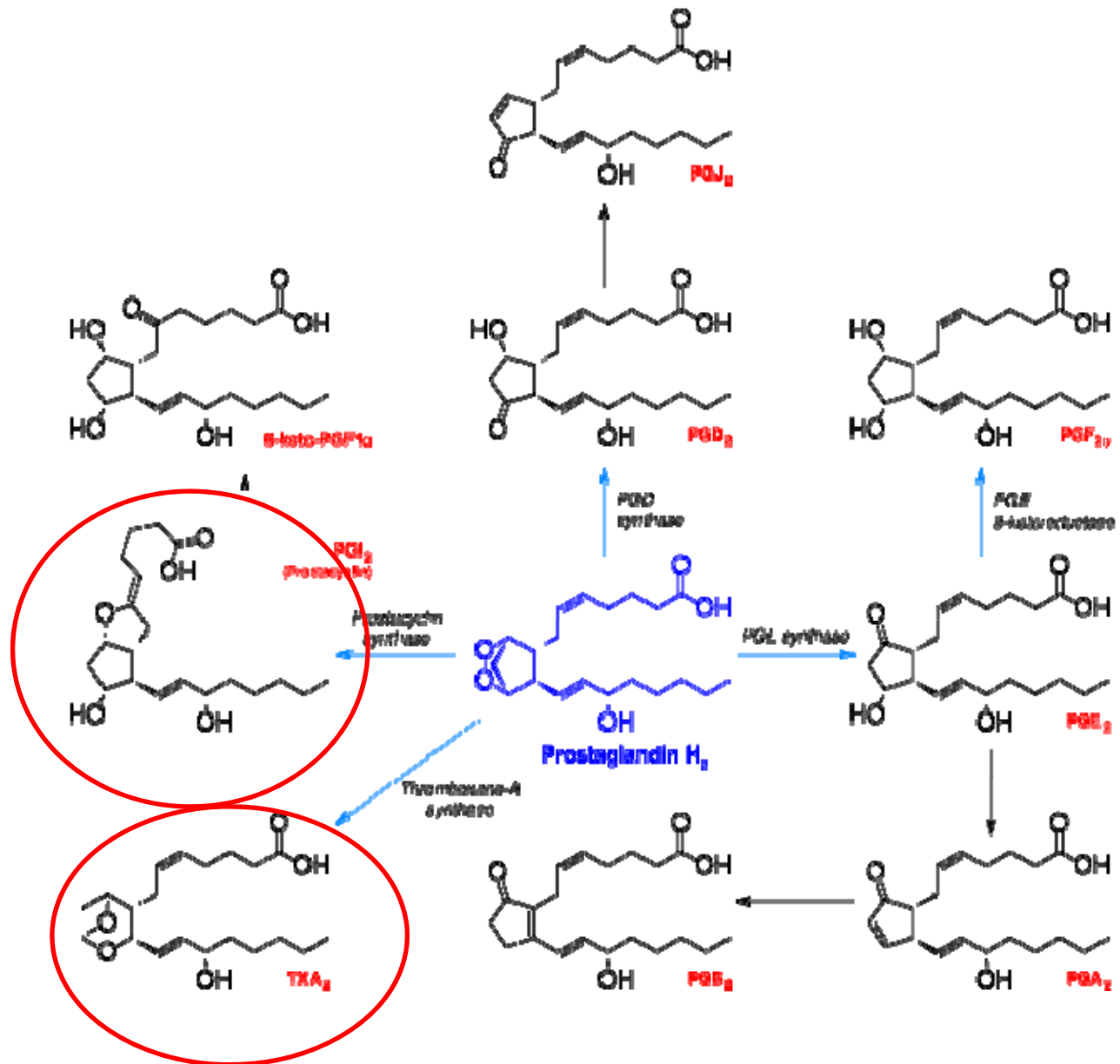


PGG₂



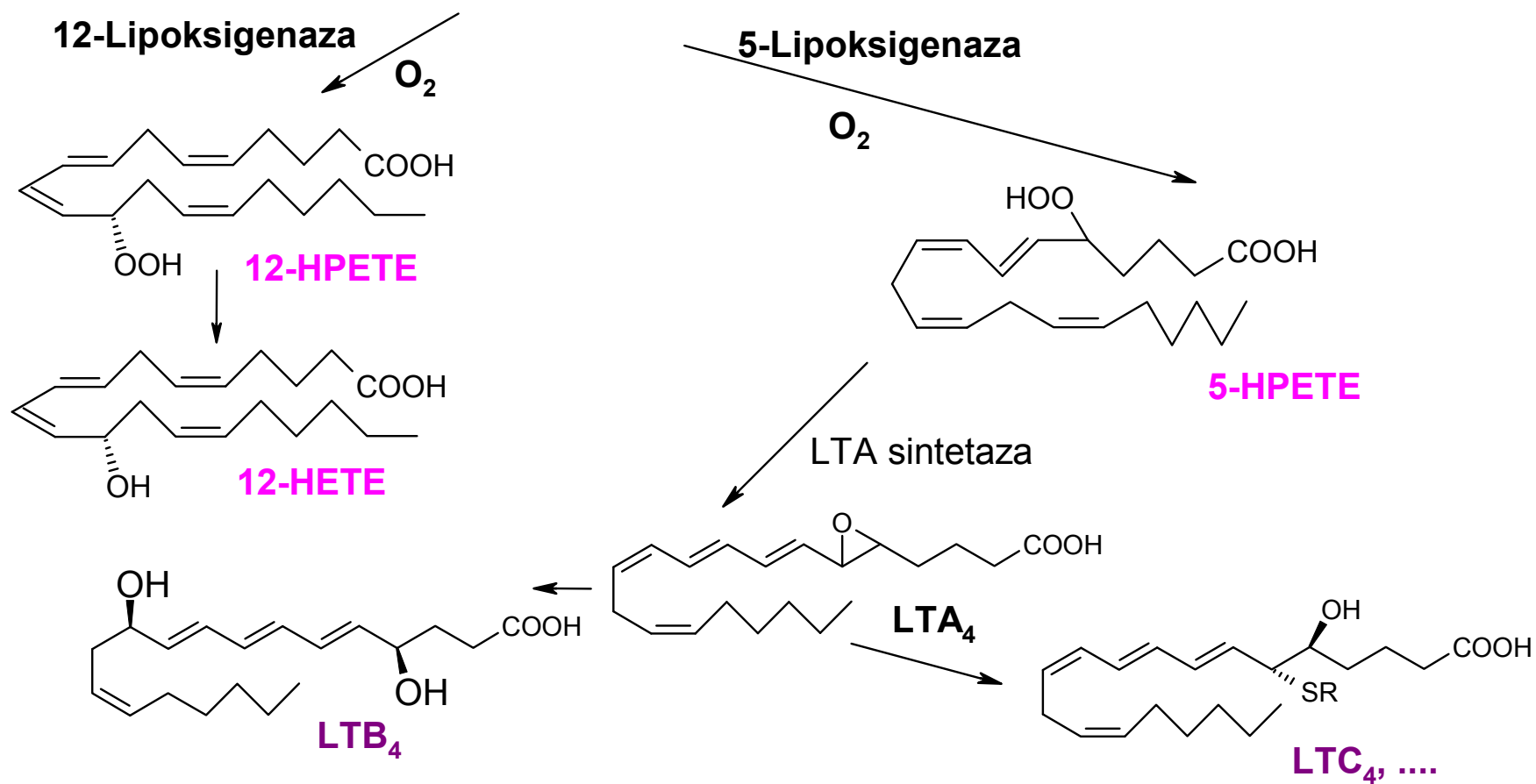
PGH₂

Biosinteza Prostaciklinov, Tromboksanov

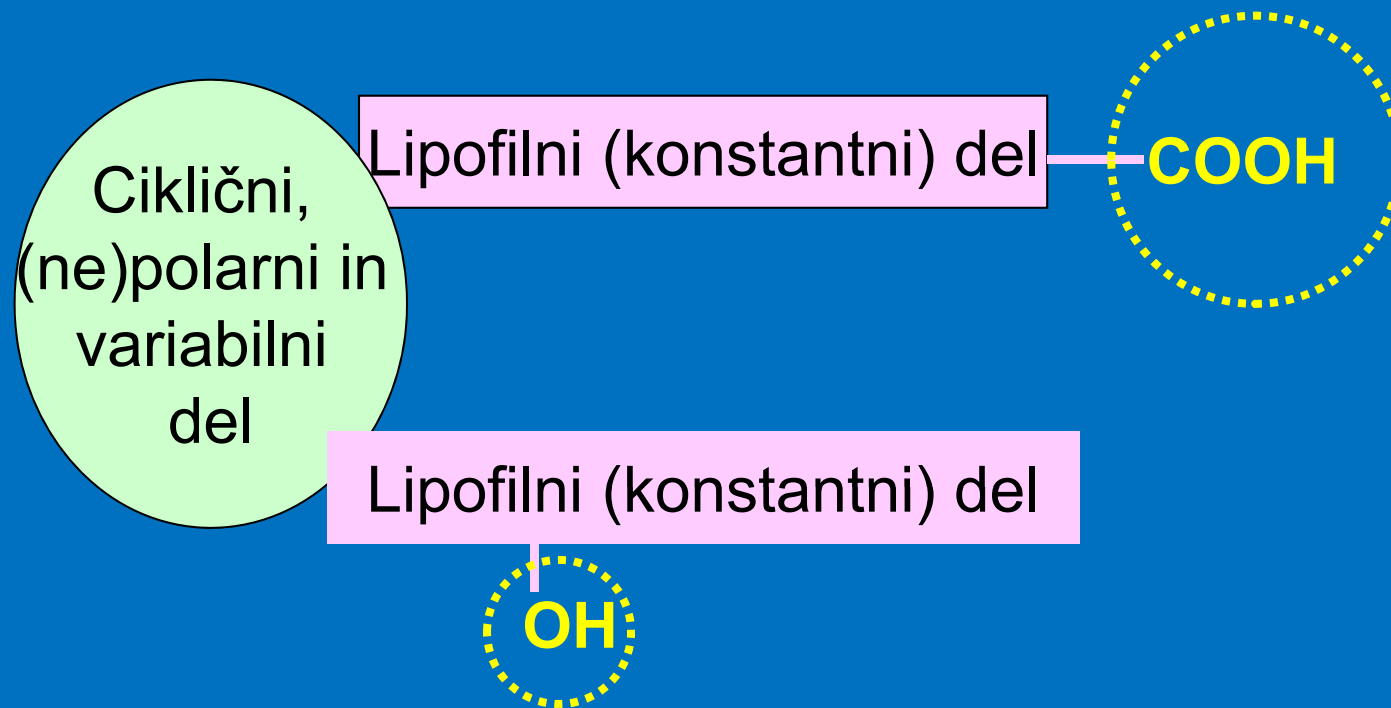


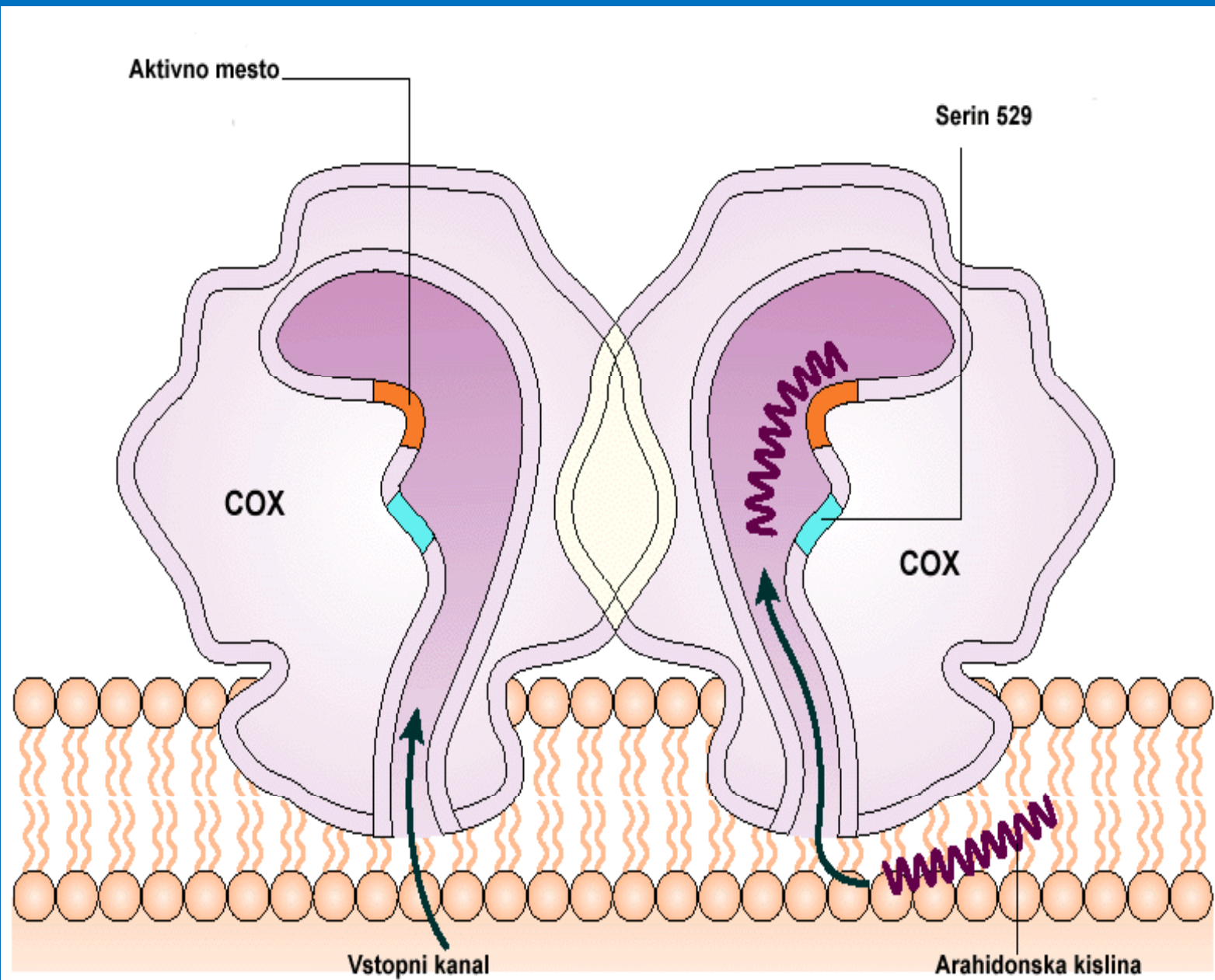
Biosinteza LEUKOTRIENOV

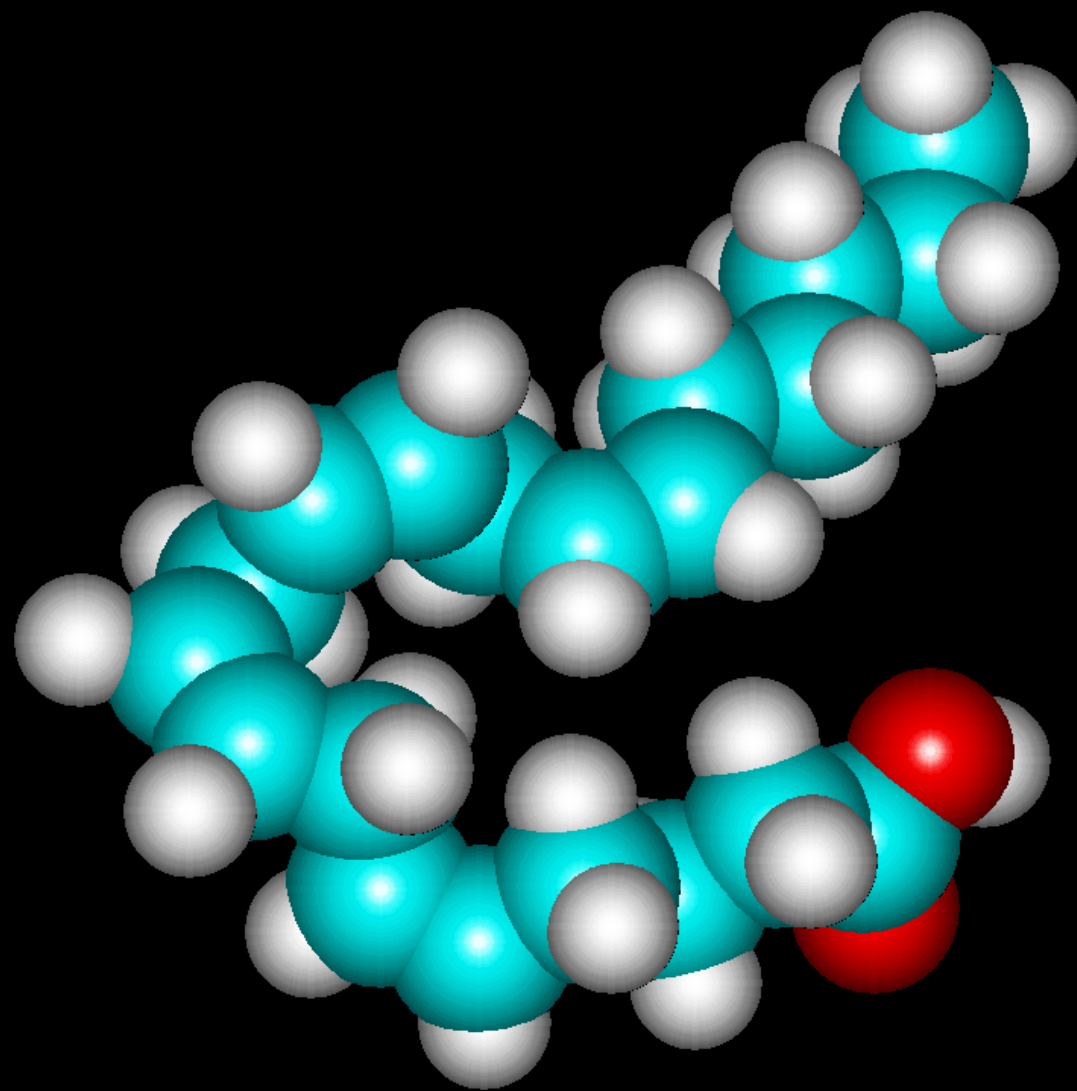
Arahidonska kislina



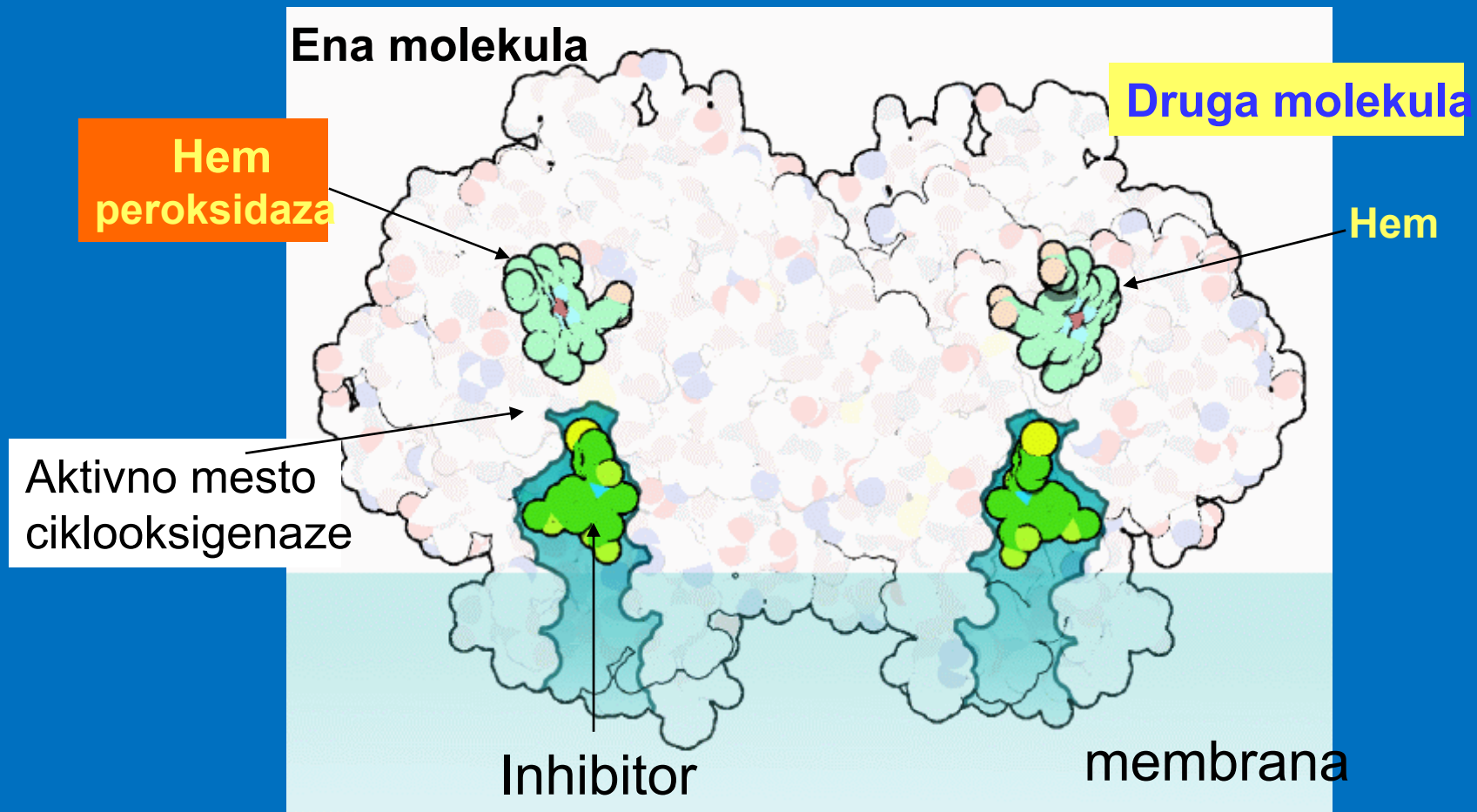
Podobnosti v strukturi med PG, prostaciklini in tromboksani







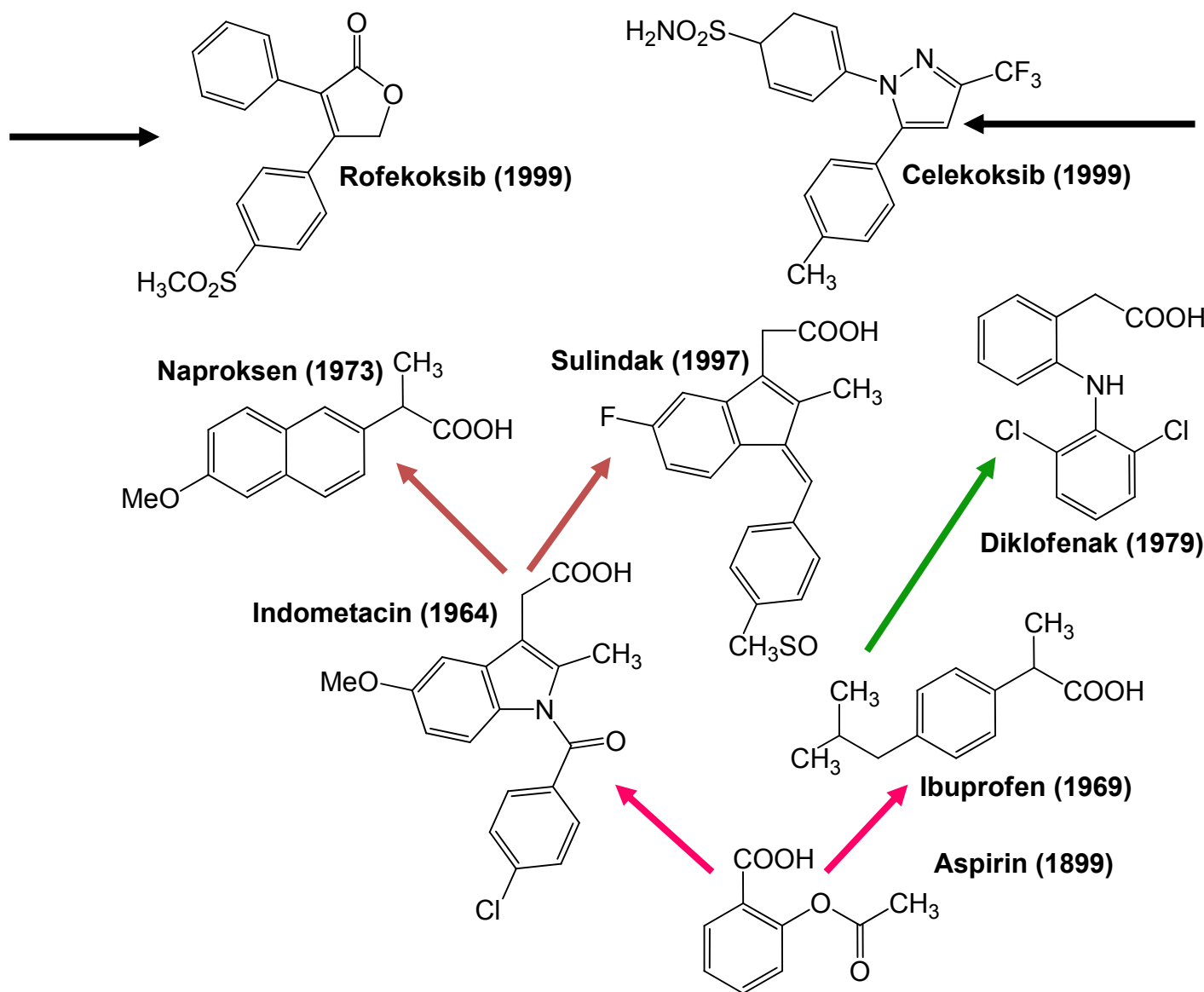
COX: dimerna oblika membranskega encima



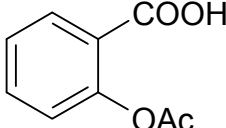
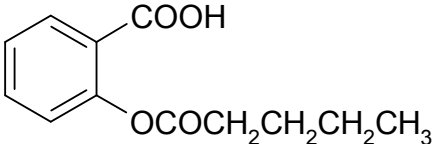
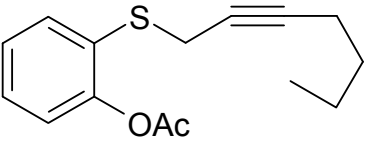
COX-1/COX-2 inhibicija

- COX inhibitorji – substratni/produktni analogi!

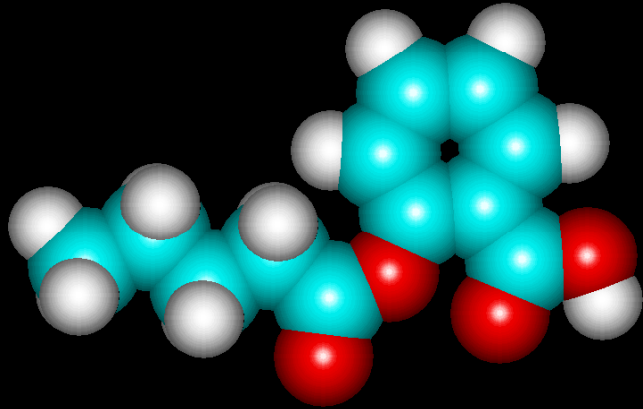
Razvoj NSAID



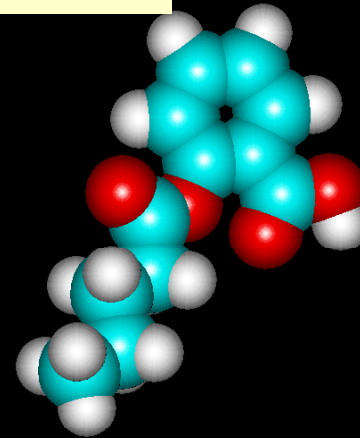
COX-1/COX-2 inhibicija

Struktura	Afiniteta	Tip inhibicije
 <p>Acetilsalicilna kislina</p>	<p>COX-1 selektivni inh. pri nizkih dozah Ki=0,012 mM (COX-1) Ki=0,062 mM (COX-2)</p>	<p>Ireverzibilni inhibitor</p> <p>Aciliranje Ser 530 Arg 106, Tyr 341</p>
 <p>Valerilsalicilna kislina</p>	<p><u>COX-1 selektivni inh.</u></p>	<p>Ireverzibilni inhibitor</p> <p>Aciliranje Ser 530</p>
 <p>1-(2-acetoksifeniltio)-heptin</p>	<p>Ki=0,017 mM (COX-1) Ki=800 nM (COX-2)</p> <p>Selektivni COX-2 inhibitor</p>	<p>Aciliranje Ser 530 Aciliranje Ser 516</p>

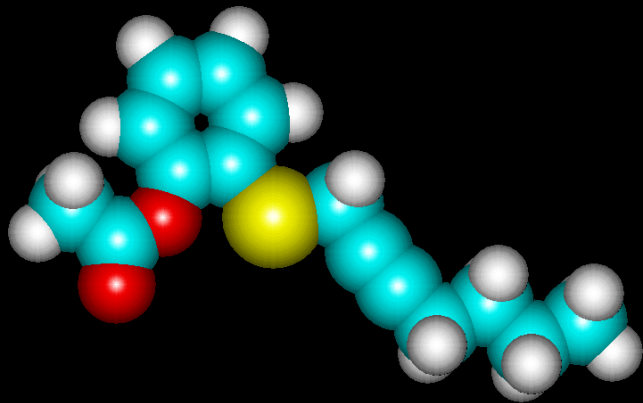
Valerilsalicilna kislina



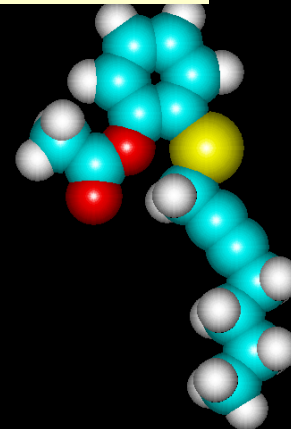
Selektivni COX-1 inhibitor



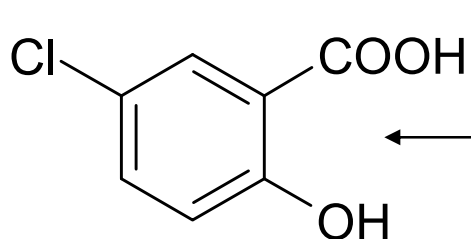
1-(2-acetoksifeniltio)heptin



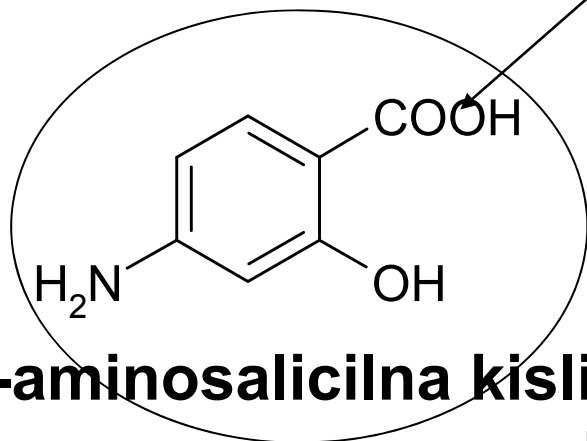
Selektivni COX-2 inhibitor



Derivati salicilne kisline

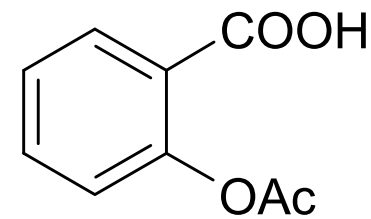
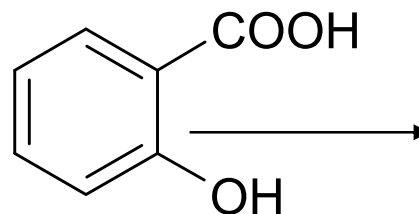


Bolj toksična spojina

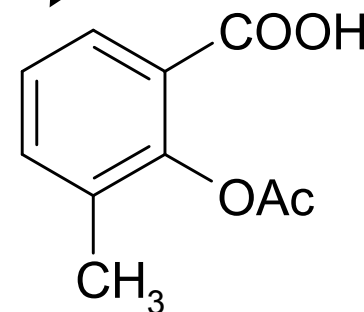


5-aminosalicilna kislina

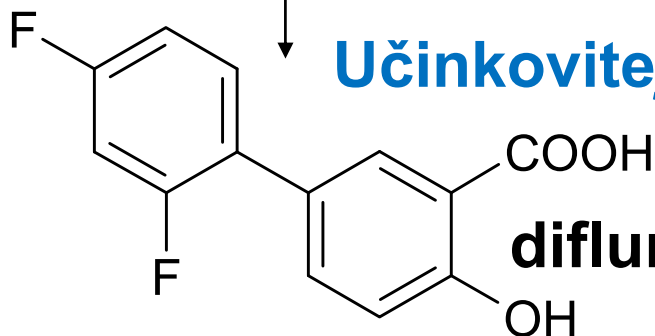
Ni analgetik



**Acetilsalicilna
Kislina 500 mg**

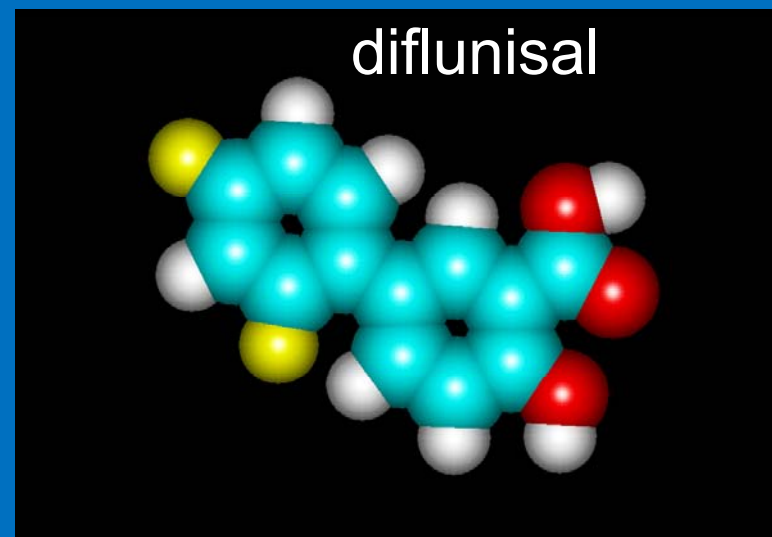
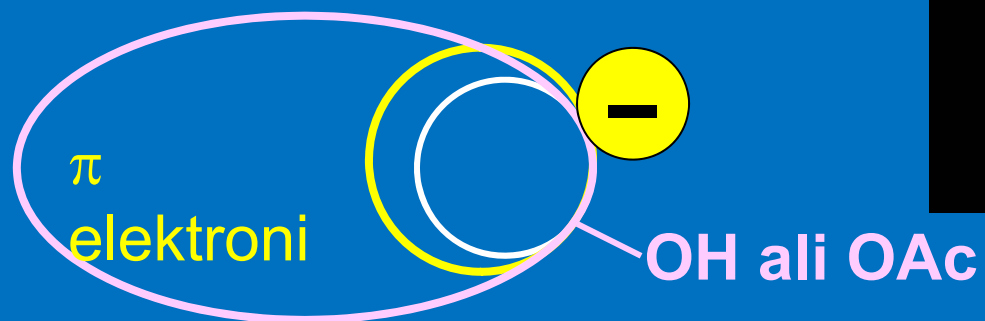


Učinkovitejši analgetik!



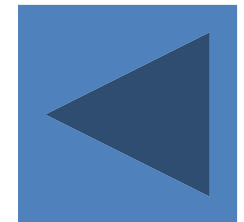
diflunisal, 250 mg (~ 5x)

Splošna struktura derivatov salicilne kisline

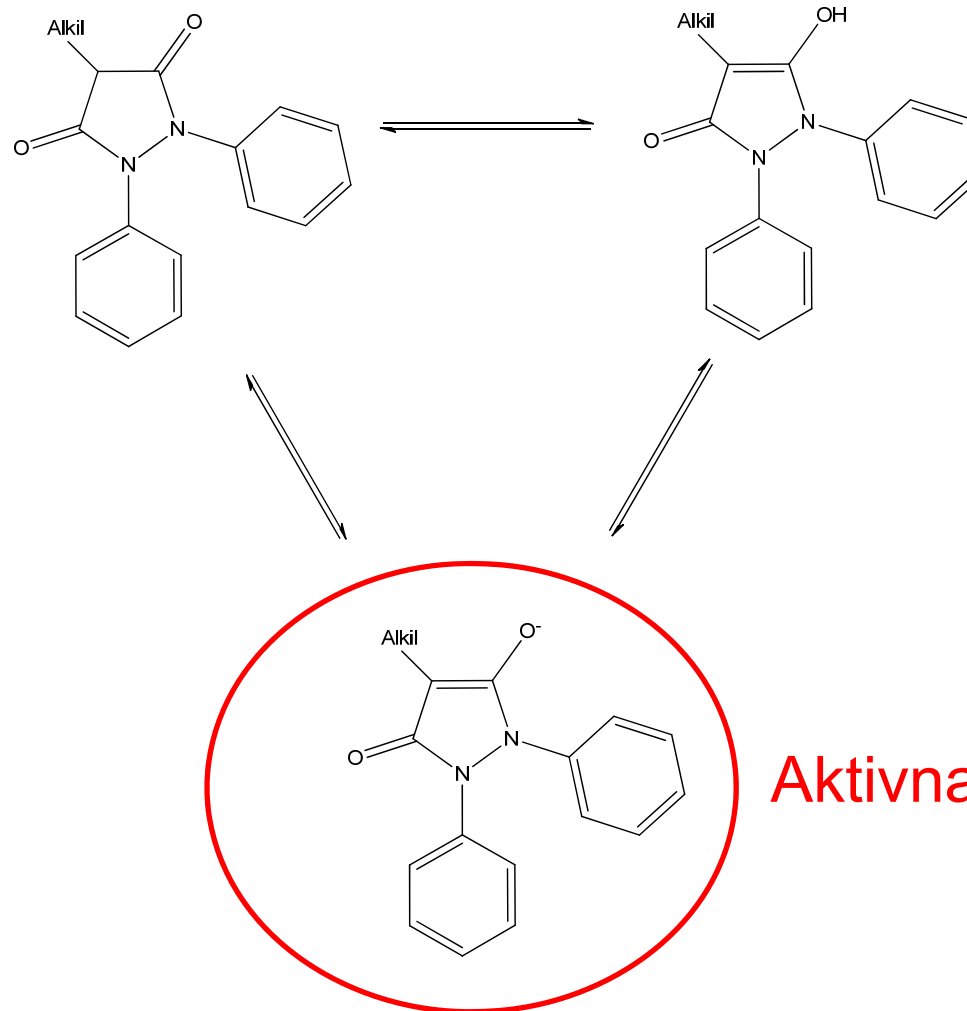


Derivati salicilne kisline

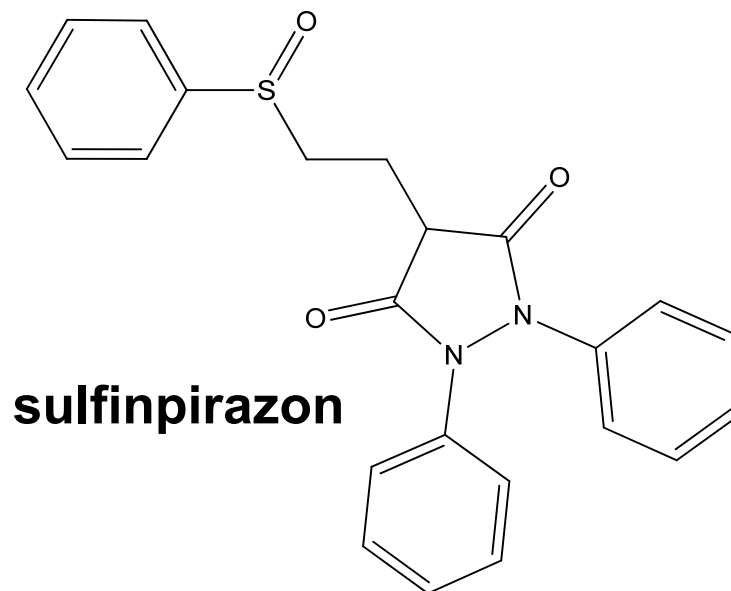
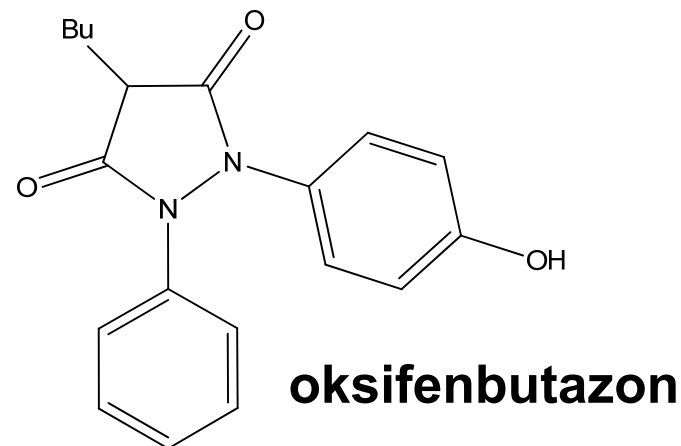
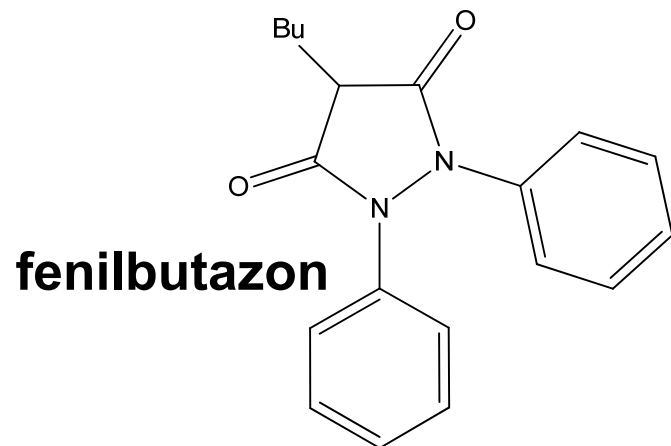
- NEselektivni COX-1/COX-2, ireverzibilni!
- GIT iritacije, krči - ulceracije
- Rejev sindrom
- Koagulopatije
- Manjši odmerki – preventiva srčnega infarkta!
- Previdnost – trajanje delovanja!!!
- Metabolizem – tvorba glukuronidov, konjugatov z glicinom, metabolizem saturabilen, zato $t_{1/2}$ močno odvisen od odmerka



Derivati pirazoldiona

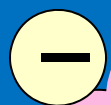
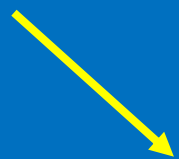


Derivati pirazoldiona



Splošna struktura derivatov pirazoldionov

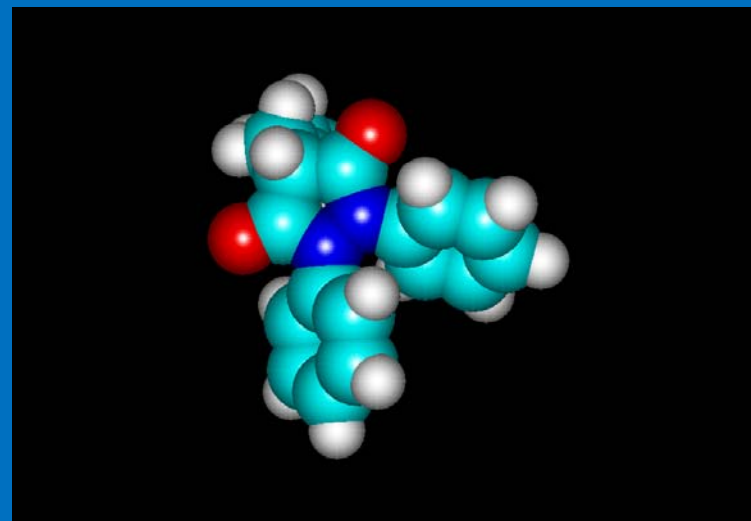
Anionski center



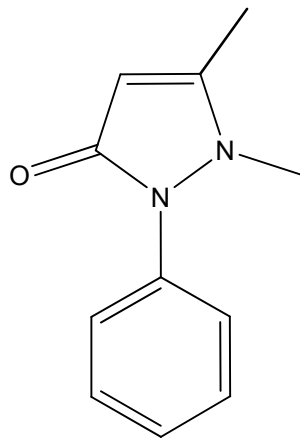
lipofilni

del

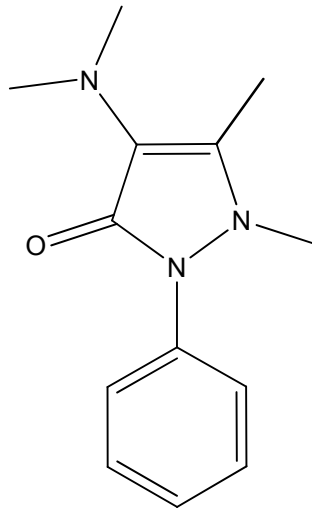
π elektronski sistemi



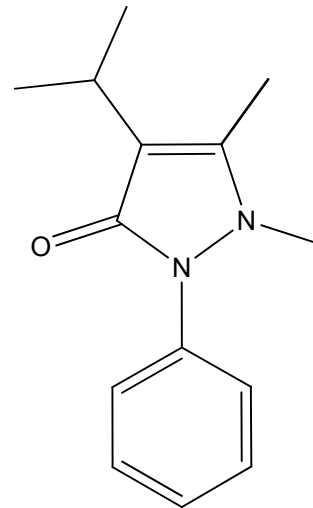
Derivati pirazolona



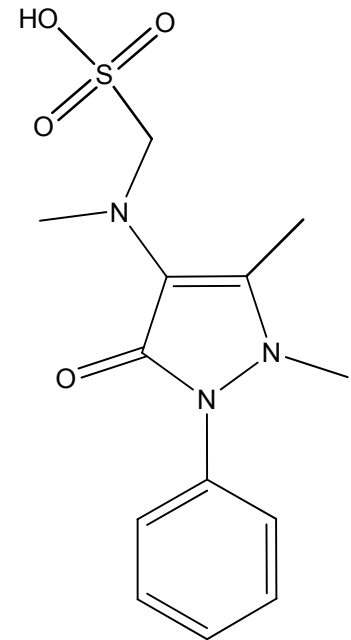
Antipirin
= fenazon
1894



Aminopirin
= aminofenazon



propifenazon



metamizol

Antipiretiki, antiflogistiki, analgetiki

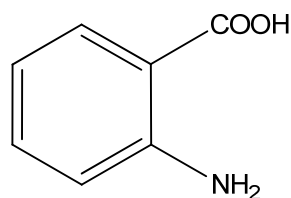
Derivati pirazolona

- Neselektivni COX-1/COX-2 inhibitorji
- Reverzibilni
- Propifenazon v kombinacijah
- Metamizol – izjemen antipiretik, agranulocitoza!

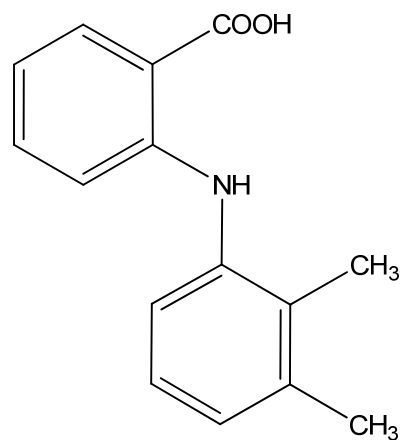
<http://www.lekarnar.com/izdelki/kombinirani-praski>

<http://www.lekarnar.com/izdelki/saridon-tablete>

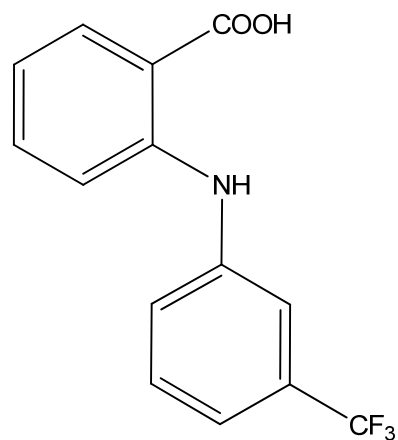
Derivati antranilne kisline



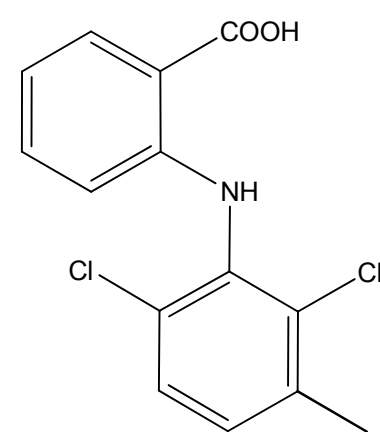
**Antranilna
kislina**



**Mefenaminska
kislina**

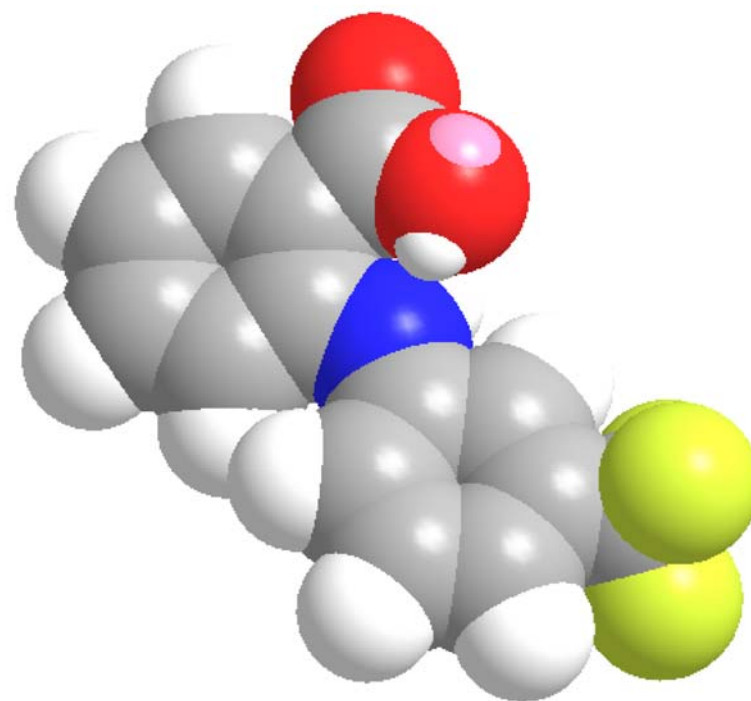
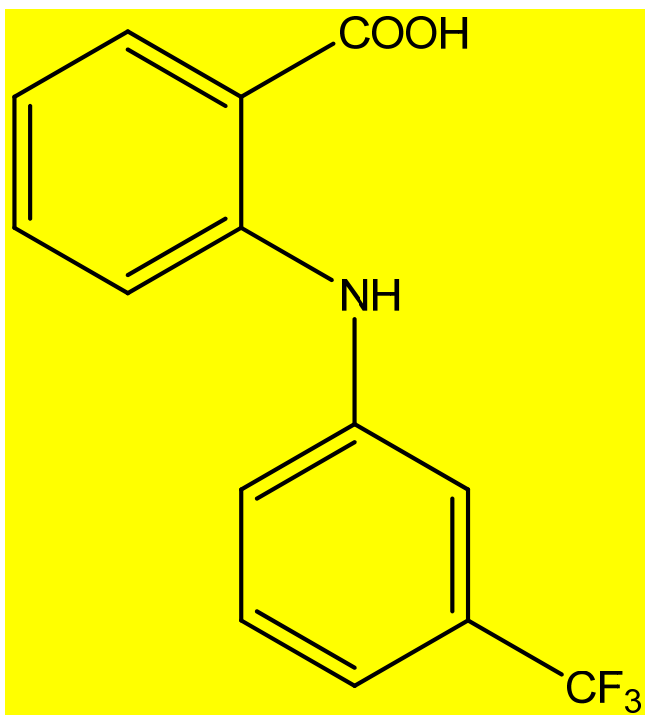


**Flufenaminska
kislina**



**Meklofenaminska
kislina**

Flufenaminska kislina

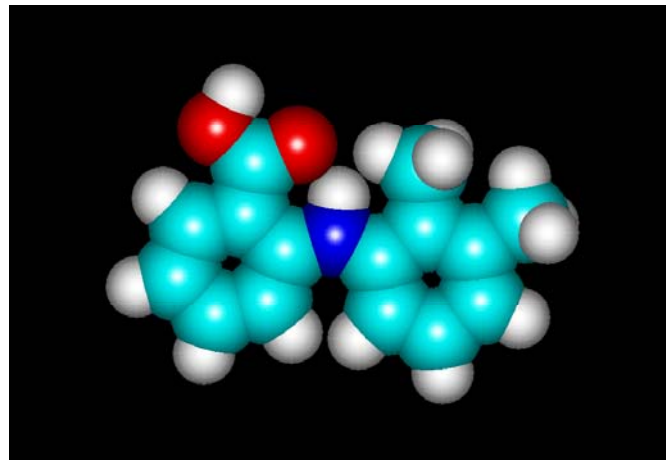


Obroč nista popolnoma koplanarna!

Splošna struktura fenaminskih kislin

COOH

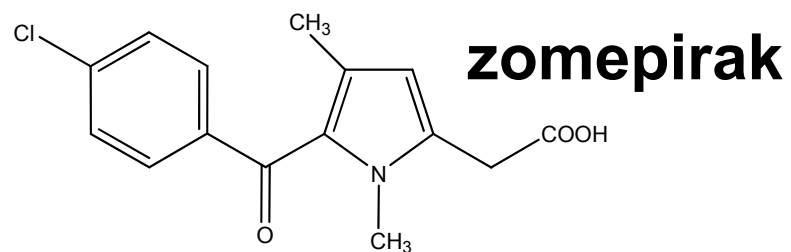
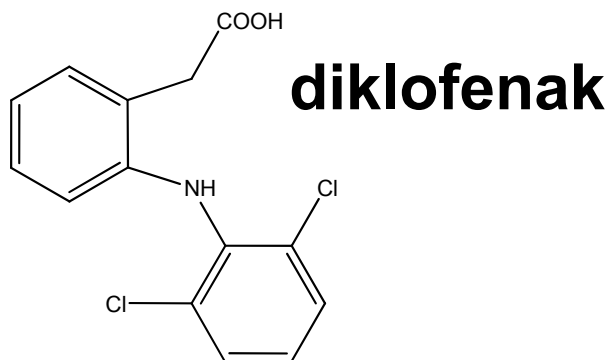
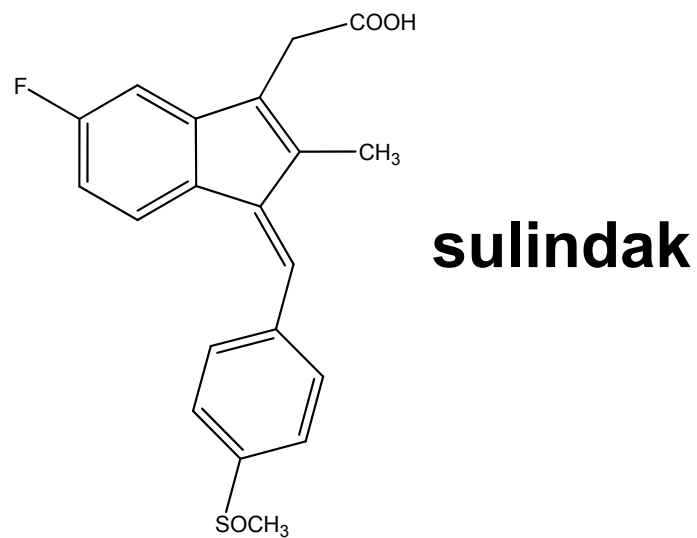
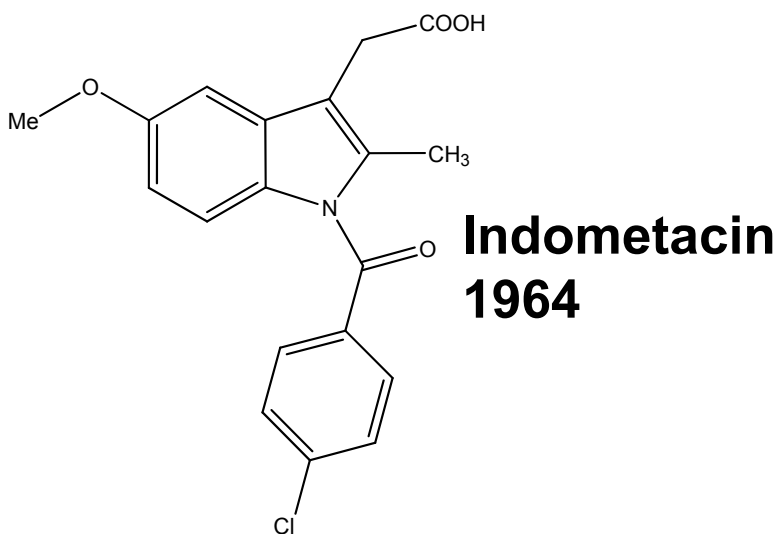
Lipofilni del s π elektroni



Derivati antranilne kisline

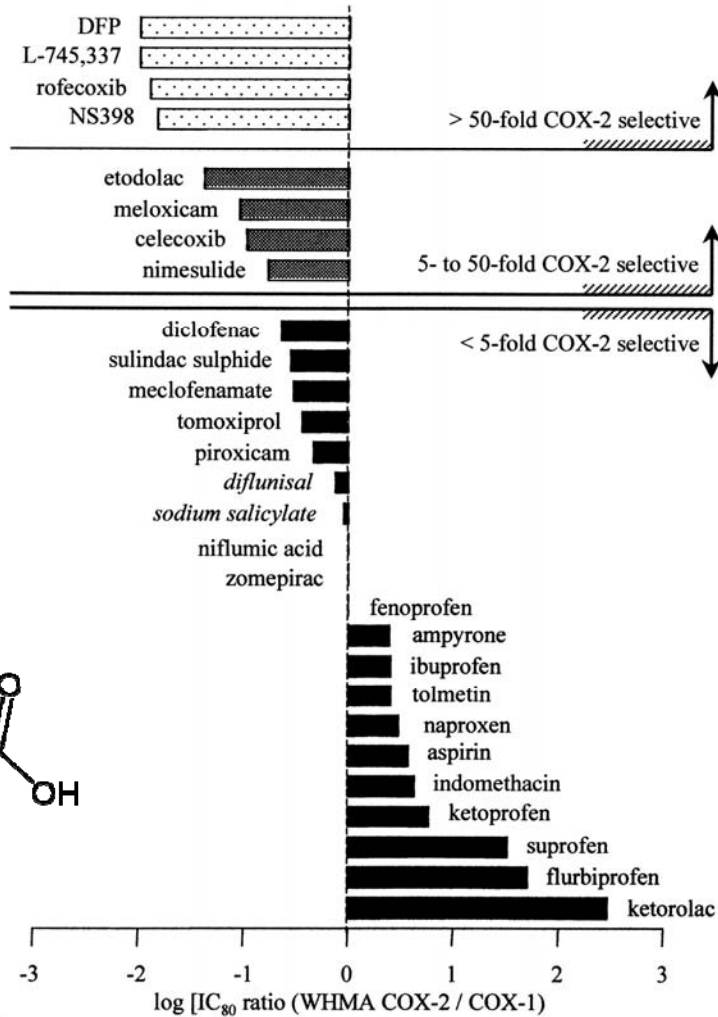
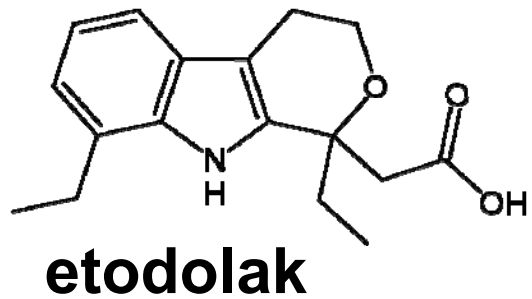
- Neselektivni COX-1/COX-2 inhibitorji
- Reverzibilni
- Manj uporabljani

Derivati (hetero)arilocetnih kislin



Determinable log [IC₈₀ ratio (WBA-COX-2/COX-1)] for all agents assayed (see Table 1).

Pojav COX-2 selektivnosti!



Warner T D et al. PNAS 1999;96:7563-7568

Derivati (hetero)arilocetnih kislin

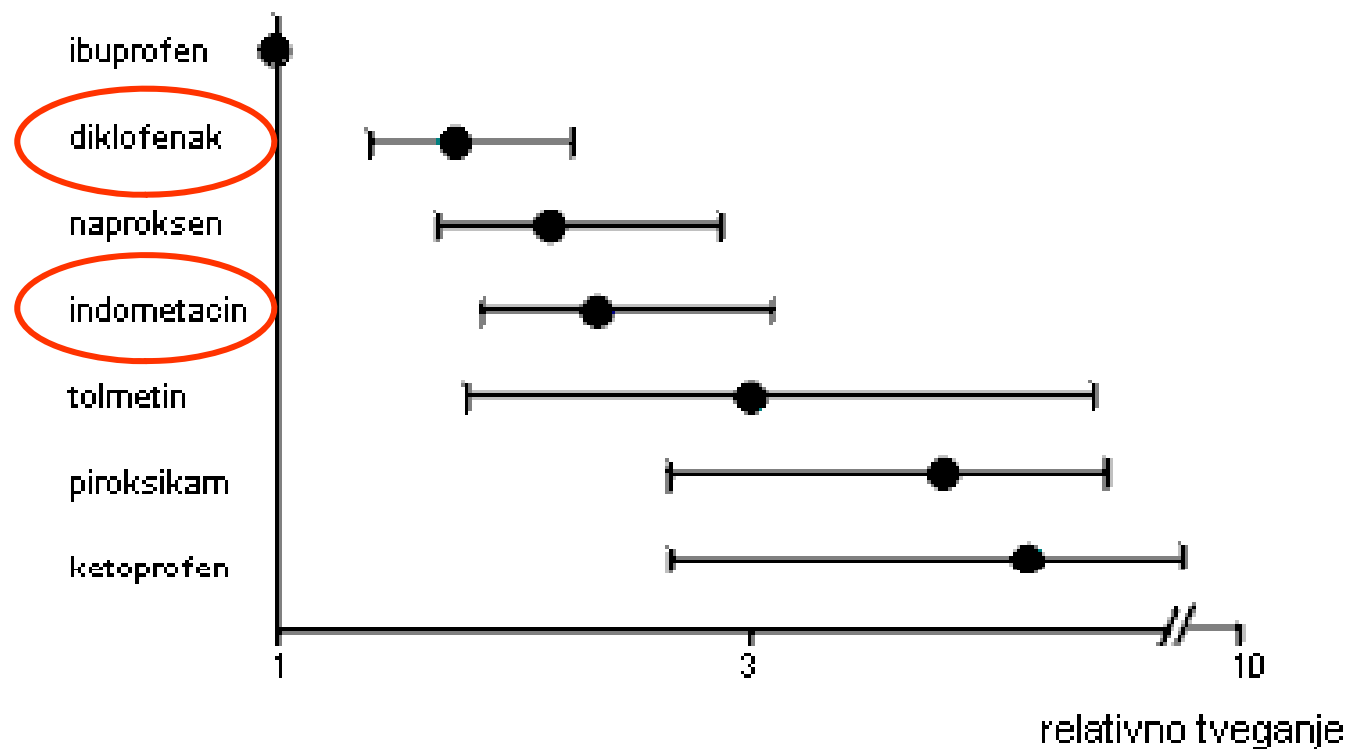
- Reverzibilno delovanje
- Močno delovanje; nizke IC_{50}
- COX-1 + 2 + 3; močno tako periferno kot centralno delovanje
- Zaradi pojava selektivnosti na COX-2 relativno manjše GIT motnje pri diklofenaku

Derivati (hetero)arilocetnih kislin

Učinkovina	IC ₅₀ , μM			Želeni učinki	Možni neželeni učinki (na organih)
	COX-1	COX-2	COX-3		
Paracetamol	>1000	>1000	460	analgetični antipiretični	
Aminopirin (4-dimetilaminoantipirin)	>1000	>1000	688	analgetični antipiretični	
Antipirin (1-fenil-2,3- dimetilpirazol-5-on)	>1000	>1000	863	analgetični antipiretični	
Acetilsalicilna kislina	10	>1000	3,1	analgetični antipiretični protivnetni	neželeni učinki na gastrointestinalni trakt
Diklofenak	0,035	0,041	0,008	analgetični antipiretični protivnetni	želodčne razjede, neželeni učinki na ledvicah
Dipiron	350	>1000	52	analgetični antipiretični	
Ibuprofen	2,4	5,7	0,24	analgetični antipiretični protivnetni	želodčne razjede, neželeni učinki na ledvicah
Indometacin	0,01	0,66	0,016	analgetični antipiretični protivnetni	želodčne razjede, neželeni učinki na ledvicah
Fenacetin	>1000	>1000	102	analgetični antipiretični	
Kofein	>1000	>1000	>1000	analgetični	
Talidomid	>1000	>1000	>1000	analgetični	

Derivati (hetero)arilocetnih kislin

Učinek na sluznico GIT



Literatura predavanj

Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 5. (6.) izdaja:

- 32. (36.) poglavje