

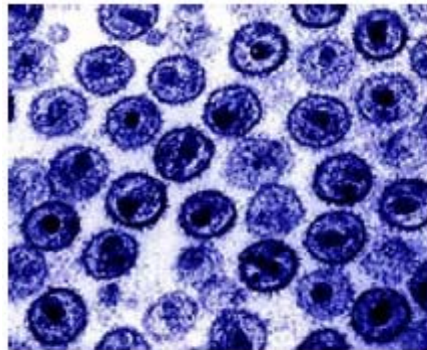
Protivirusne učinkovine

Izr. prof. dr. Marko Anderluh

10. in 15. januar 2013

Virusi

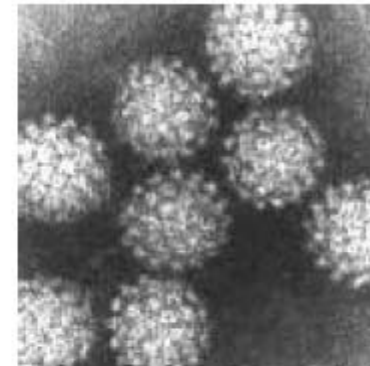
- Med najmanjšimi MO; 0,02 – 0,4 μm
- Vidni izključno z elektronskim mikroskopom



HIV-1

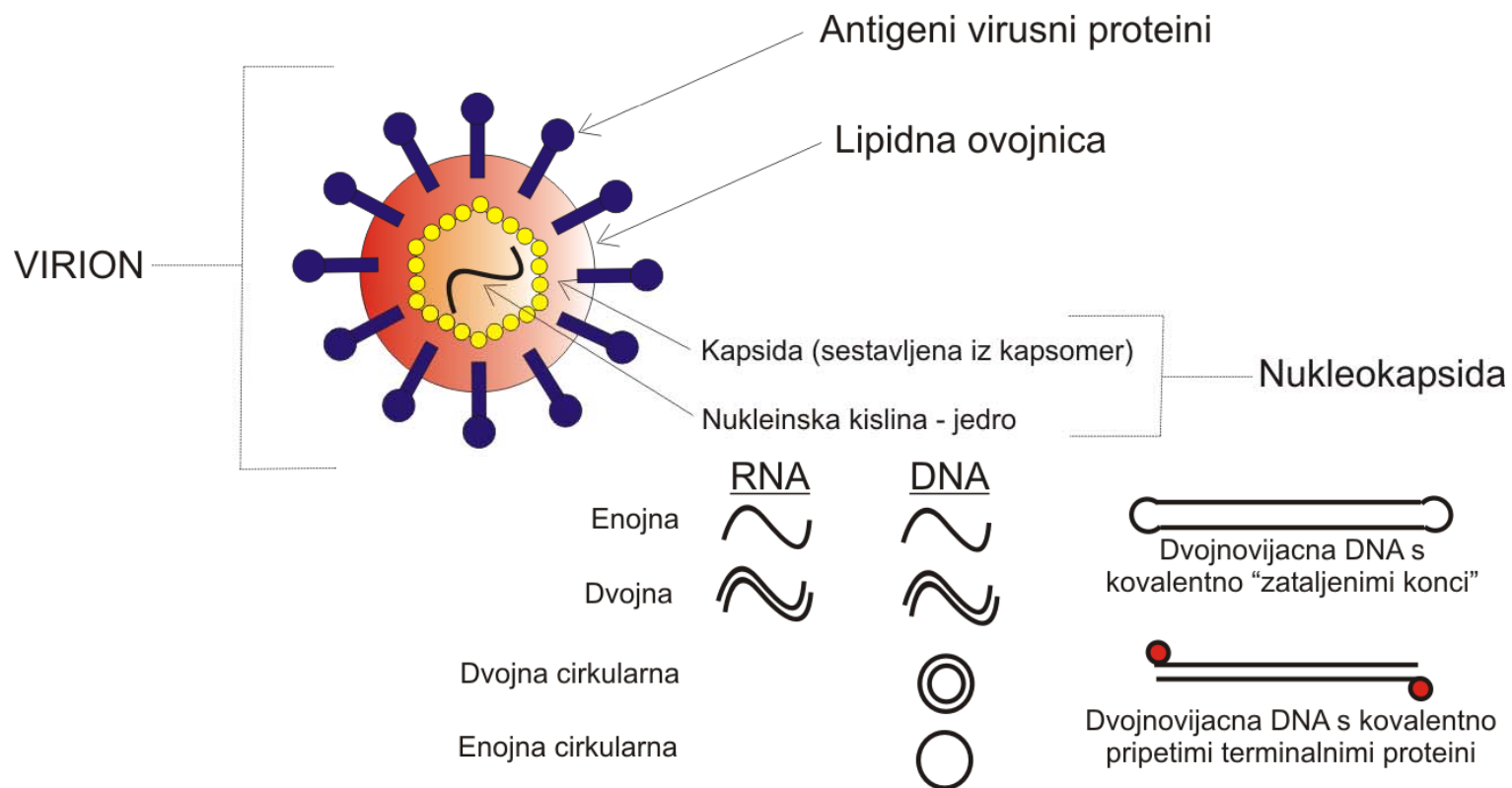


Hepatitis B virus



Human papillomavirus

Virusi - zgradba

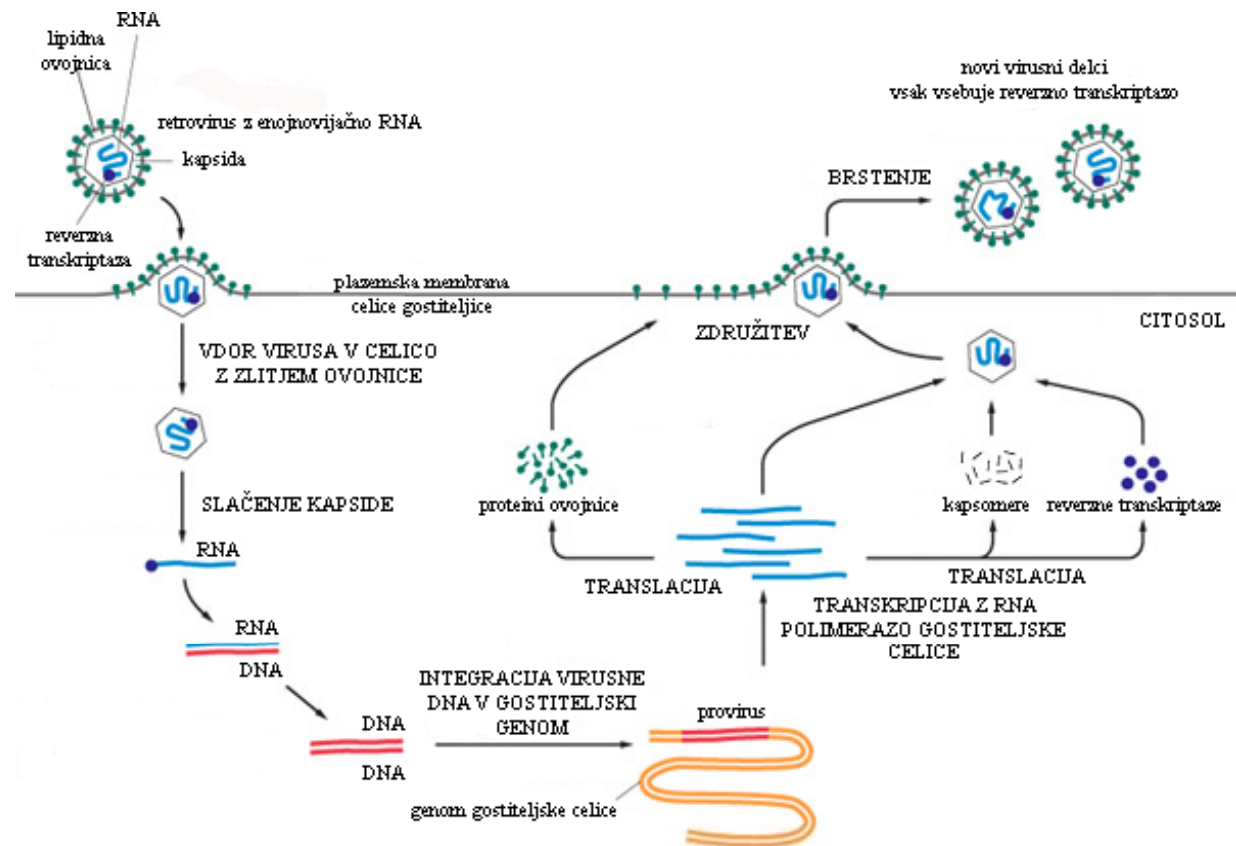


Virusne bolezni

SKUPINA VIRUSOV	VRSTA	BOLEZEN
DNA virusi		
Herpesvirusi	Herpes simpleks virus tipa 1 in 2 Varičela-zoster Herpes zoster Citomegalovirus Epstein-Barrov virus	Encefalitis, očesne infekcije, kožne (labialni herpes) in genitalne infekcije Norice (otroci) Pasasti izpuščaj ali pasovec (odrasli) Hepatitis, bolezen Marekovega virusa Mononukleoz
Adenovirusi	Različni tipi	Infekcije respiratornega trakta in očesne infekcije (keratitis), konjunktivitis
Papovavirusi	Humani papiloma virusi Polioma virusi SV40	Razne kožne papilomatozne infekcije (bradavice) Mumps Multifokalna leukoencefalopatija
Poksvirusi	Variola Vakcinija	Variola (koze) Infektivna mononukleoz, ekcem
RNA virusi		
Arenavirusi	Virus koriocitnega meningitisa Virus mrzlice Lassa Ebola virus	Limfocitni koriomeningitis, mrzlica Lassa hemoragična mrzlica
Koronavirusi	SARS koronavirus (SARS-CoV), različne vrste	Navaden prehlad, SARS – hudi akutni respiratorni sindrom
Ortomiksovirusi	Virusi gripe tipa A, B in C	Gripa tipa A, B in C
Paramiksovirusi	Virus parainfluenca Respiratorni sincicijski virus Ošpice	Parainfluenca Respiratorne okužbe pri otrocih Ošpice
Pikornavirusi	Rinovirusi Enterovirusi (polio, Coxsackie A in B, ehovirus)	Respiratorne okužbe (prehlad), GI okužbe, poliomieltis (otročka paraliza), aseptični meningitis
Reovirusi	Humani reovirus (rotavirus)	Blaga respiratorna (prehlad) in GI infekcija
Rabdovirusi	Virus rabies	Rabies (steklina), encefalitis
Togavirusi	Virus encefalitisa Virus rubele Arbovirus	Meningoencefalitis, encefalitis, rubela (rdečke) rumena mrzlica, mrzlica peščene muhe
Hepatitis virusi	Hepatitis tipa A, B in C	Hepatitis
Retrovirusi (Onkornavirusi)	Humani T-celični limfotropni virus Virusi tipa B Virusi tipa T Virus pridobljene imunske pomaniklivosti	Levkemija, limfom, sarkom, tumor na dojki, T-celična levkemija, nazofaringealni tumor Mišji mlečnožlezni tumor AIDS (živali)

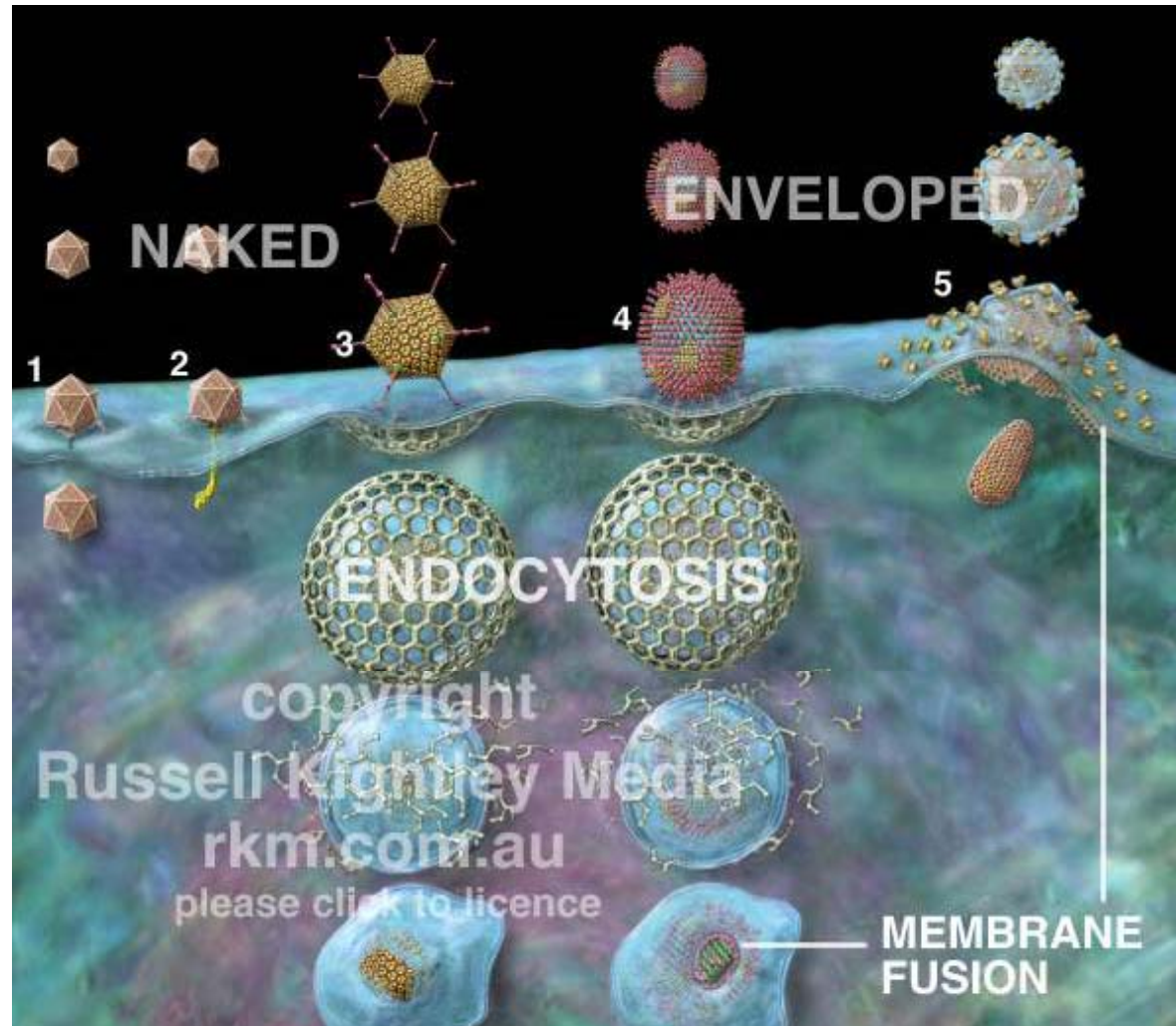
Razvojni krog virusov

- adsorpcija virusa na celično steno
- penetracija; vbrizg NK ali zlitje s celično steno
- »slačenje« virusa
- transkripcija
- translacija
- Virusna proteaza
- replikacija virusnega genoma
- združitev virusnih komponent
- sprostitvev – litični cikel ali brstenje



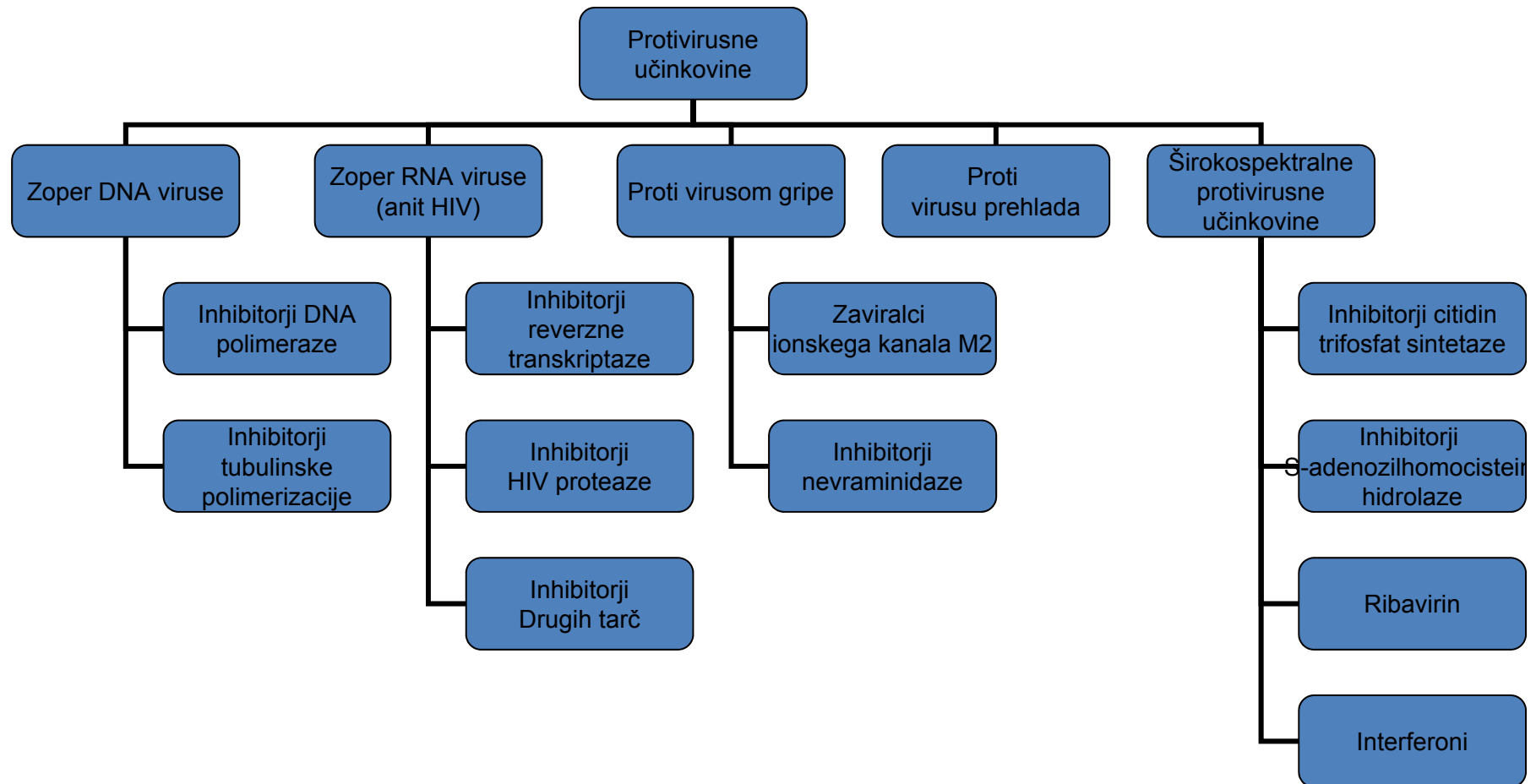
Penetracija virusa

Farmaceutvska kemija 3



Skupine protivirusnih učinkovin

- Glede na tarče/tarčne viruse

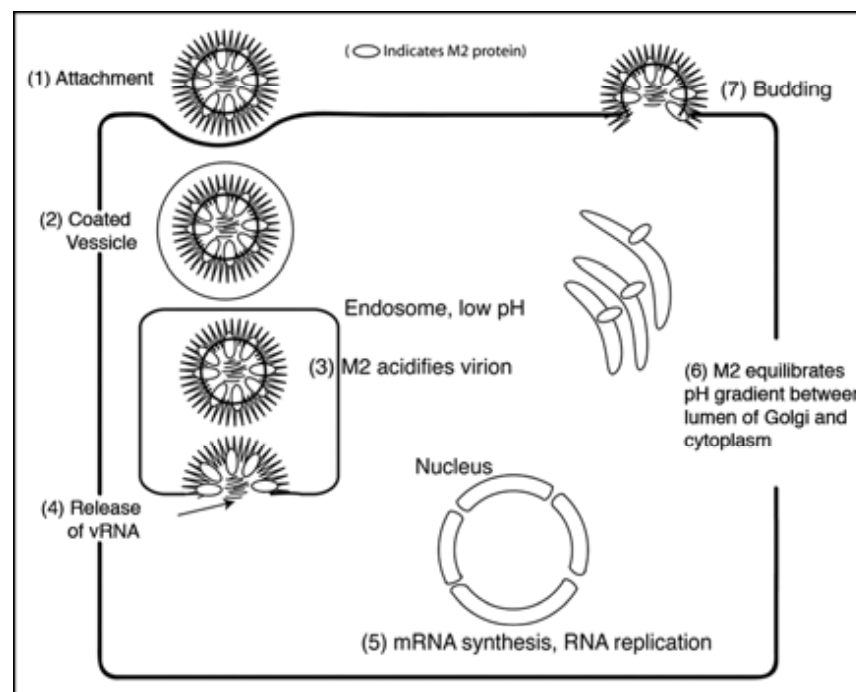


Zaviralci ionskega kanala M2

Farmaceutvska kemija 3 Amantadin(iev klorid)

- Derivat adamantana; unikaten 10-členski obroč
- Zoper virus gripe A, B

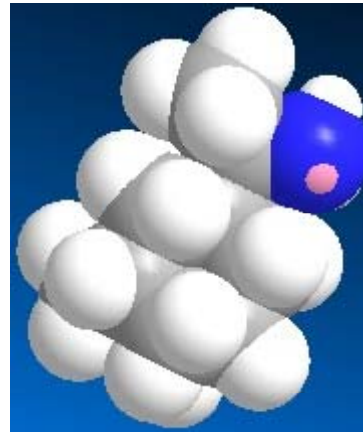
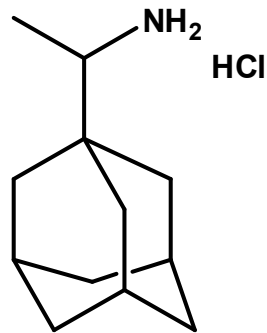
- Zavirajo virusni ionofor M2 (virus influence): M2 omogoča vdor H^+ iz endosoma v virusni delec – znižanje pH, zlitje zunanje membrane z virusno membrano in disociacija kapsomer
- M2 izključno na virusni ovojnici - selektivna toksičnost



Zaviralci ionskega kanala M2

Rimantadin(ijev klorid)

- Po učinku močnejši derivat amantadina

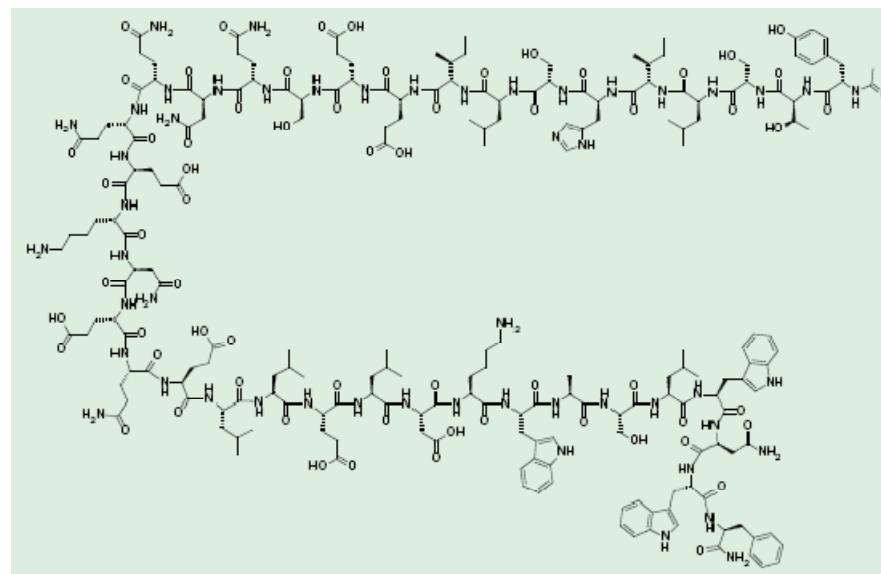


SAR adamantanov – farmakofor?

Inhibitorji fuzije (zlitja)

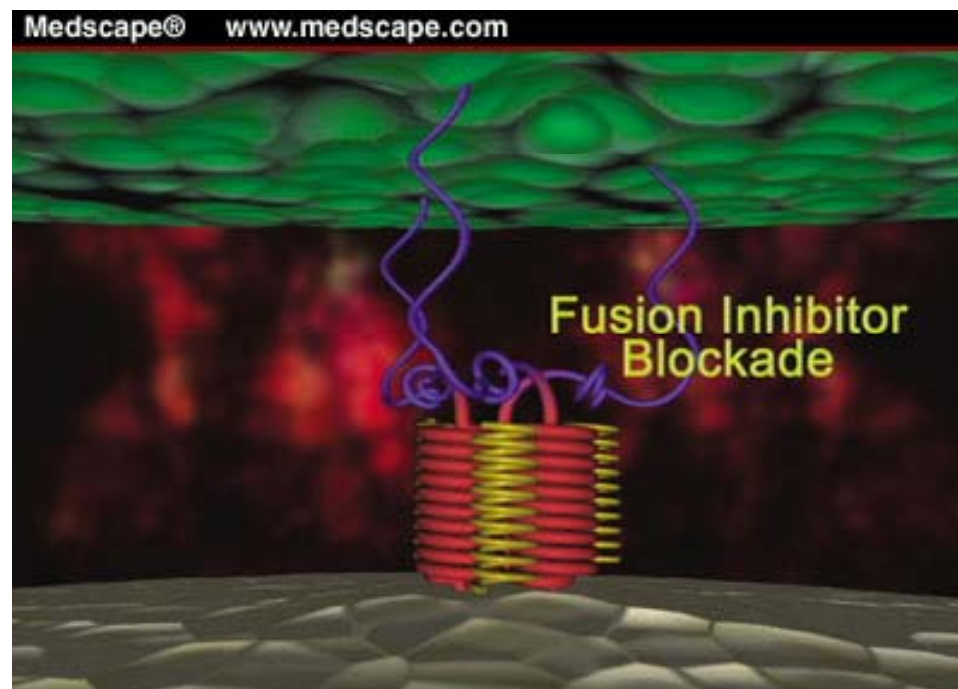
Enfuvirtid

- 36 AK dolg sintezni peptid
- Homologno zaporedje HR domeni HIV gp41
- Vezava na virusni protein gp41 – preprečevanje zlitja s celicami pomagalkami CD4+
- Ustavljen vdor HIV v tarčne celice!



Inhibitorji fuzije (zlitja)

Farmaceutvska kemija 3 Mehanizem delovanja



Inhibitorji fuzije (zlitja)

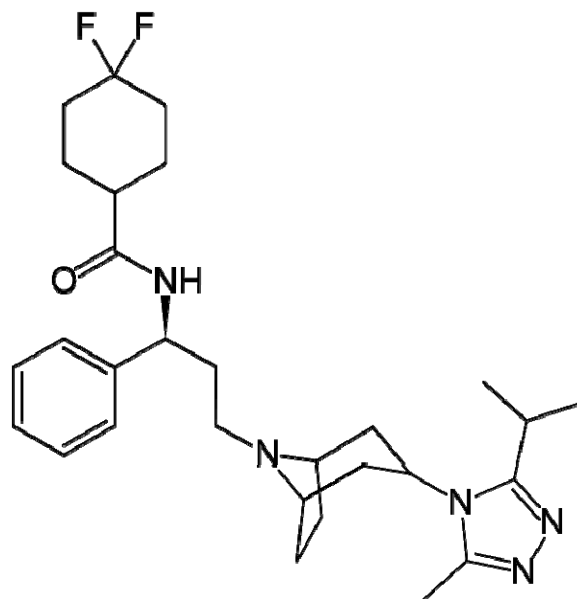
Enfuvirtid

- Problematika – večkrat dnevno subkutano doziranje (2x)
- Rezistenca? – “po meri” izdelani oligopeptidi za vsak rezistentni sev!
- Razvoj – nizkomolekularni inhibitorji zlitja

Inhibitorji fuzije (zlitja)

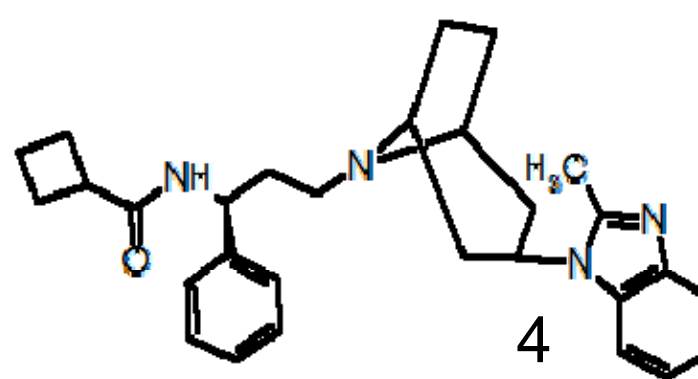
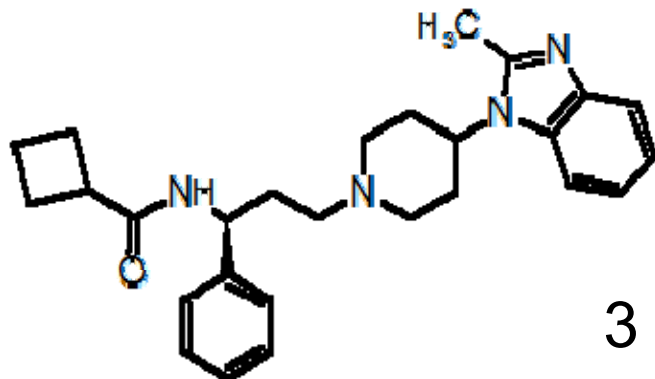
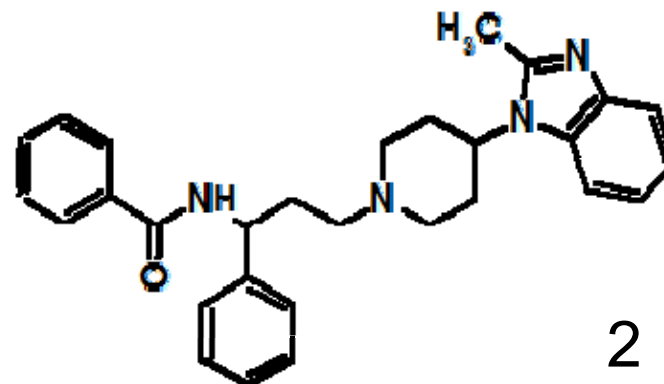
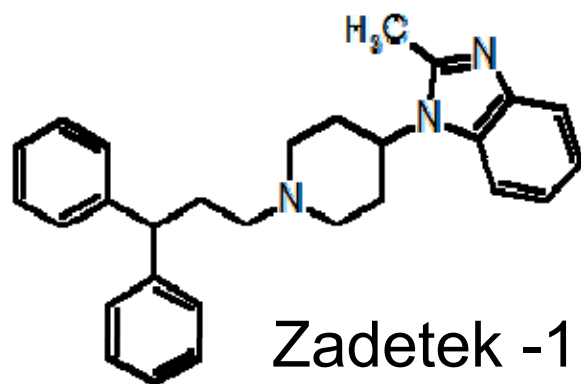
Maravirok

- Prvi nizkomolekularni inhibitor fuzije HIV (2007)
- Antagonist CCR5 kemokinskega receptorja na makrofagih/dendritskih celicah celicah



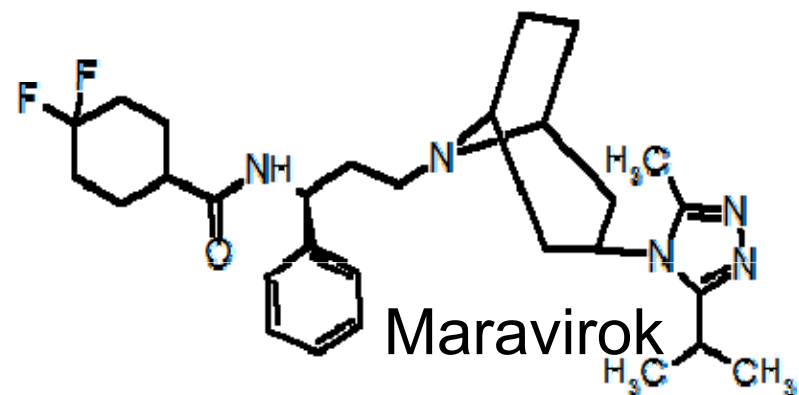
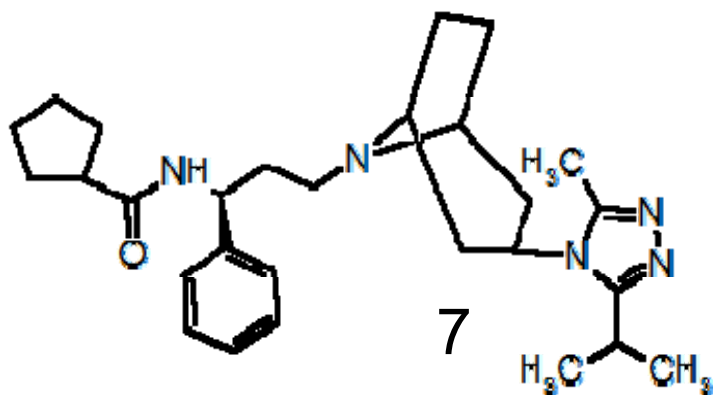
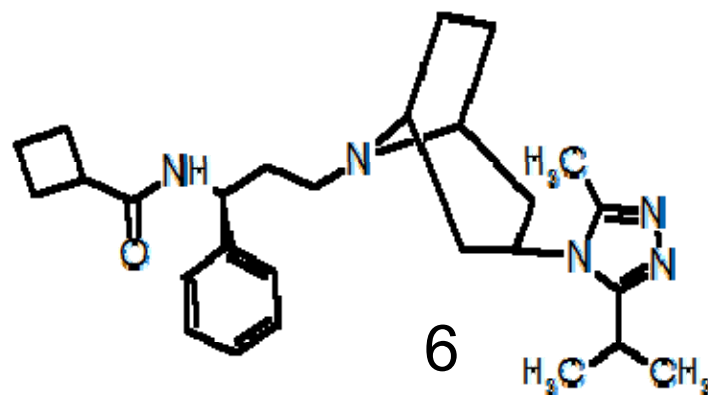
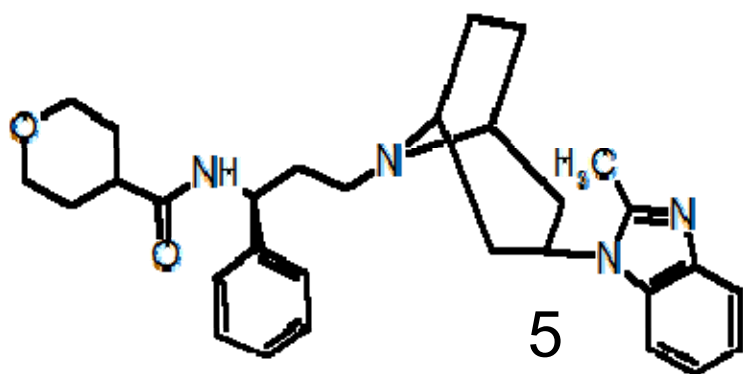
Inhibitorji fuzije (zlitja)

Maravirok – zgodba od “zadetka” pa naprej



Inhibitorji fuzije (zlitja)

Maravirok – zgodba od “zadetka” pa naprej



Inhibitorji virusne replikacije

Farmaceutvska kemija 3 DNA polimeraza/RT

Farmakološki razredi:

- Inhibitorji virusne DNA polimeraze
- Inhibitorji reverzne transkriptaze

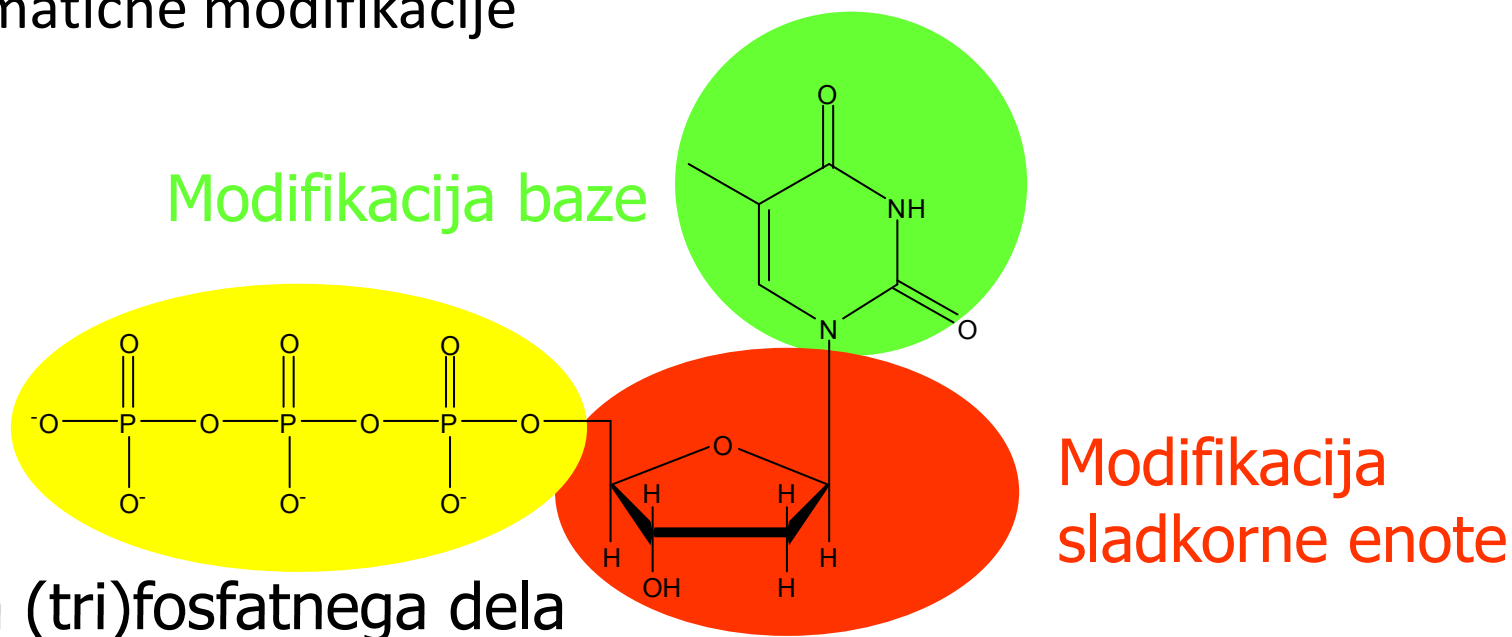
Inhibitorji DNA polimeraze/RT

Inhibitorji DNA polimeraze/RT

- Virusna DNA polimeraza/RT – bistvena encima!
- Replikacija/prepis virusnega genoma
- <http://video.healthhaven.com/video-play.aspx?video=-2267176077829266904&ei=4IckSdTeBIWiqgKbyPnnBg&q=DNA+polymerase+video>

Inhibitorji DNA polimeraze/RT

- Vgrajujejo se nukleotidi trifosfati – substrat za DNA polimerazo
- Nukleozidni analogi kot inhibitorji DNA polimeraze/RT => sistematične modifikacije



Selektivna toksičnost!?!

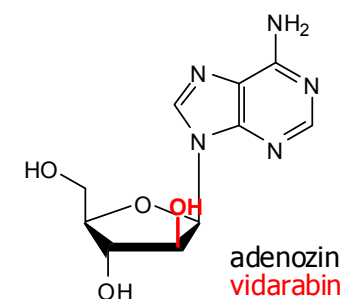
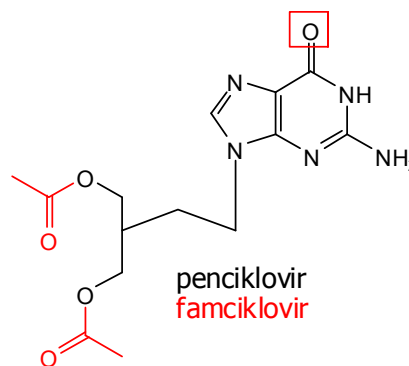
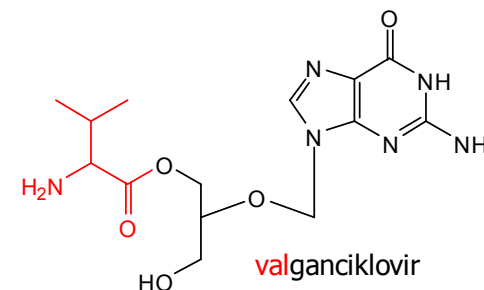
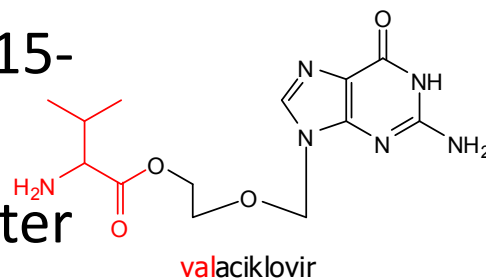
Nukleozidni inhibitorji virusne DNA polimeraze – modifikacija sladkorne enote

ACIKLOVIR

- **Inhibicija DNA polimeraze** – mimetik deoksinukleozida, nadomestni substrat
- Herpesvirusi: HSV, VZV
- Selektivna toksičnost?

Nukleozidni inhibitorji virusne DNA polimeraze – modifikacija sladkorne enote

- Aciklovir – slaba BU (15-30%)
- Valaciklovir – L-Val ester
- Ganciklovir – manj selektiven, infekcije s CMV, EB



Čas je za



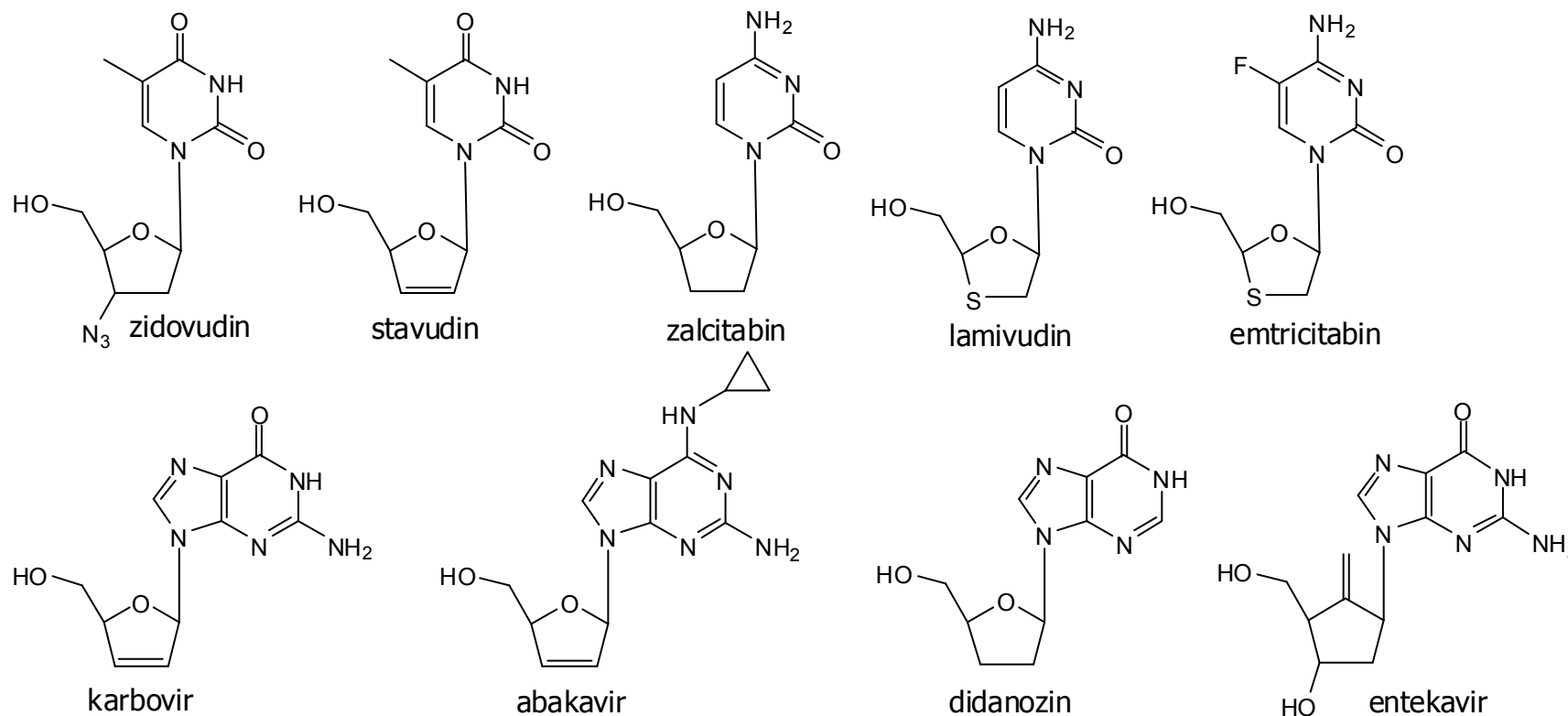
Reverzna transkriptaza

- DNA polimeraza, ki kot šablono uporablja RNA
- Pri retrovirusih
- Funkcija – prepis RNA – dvojnovijačna DNA, sledi vgrajevanje v gostiteljsko DNA (provirus!)
- <http://www.youtube.com/watch?v=9leO28ydyfU&feature=related>

Nukleozidni inhibitorji RT - modifikacija sladkorne enote

Zidovudin

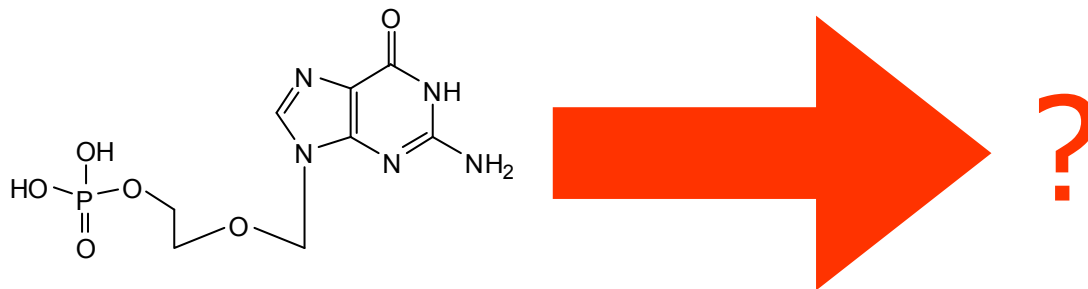
Nukleozidni inhibitorji RT - modifikacija sladkorne enote



- ◆ Selektivno delovanje na RT? – zalcitabin tudi pri HBV, lamivudin HV, emtricitabin HBV in HV, entekavir - HBV

Inhibitorji virusne replikacije – fosfat?

- Tvorba monofosfata – omejitveni faktor nukleozidnih analogov – rezistenca!!!
- Uporaba fosfata v terapiji?



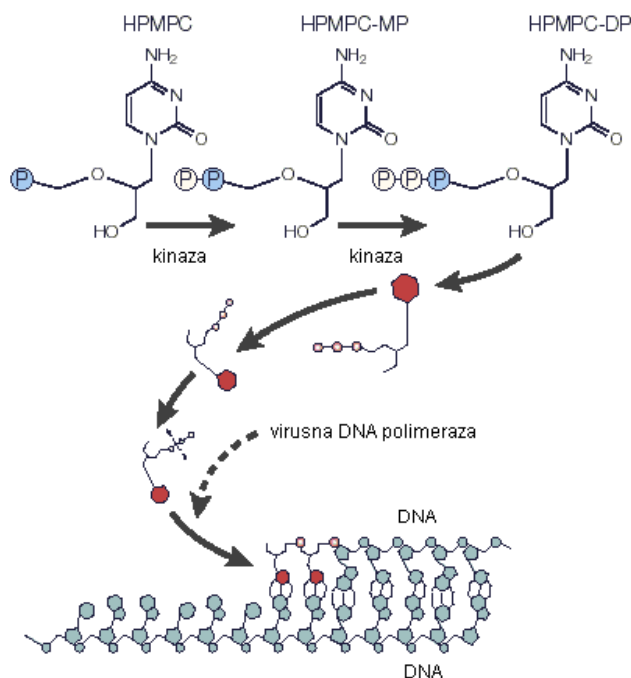
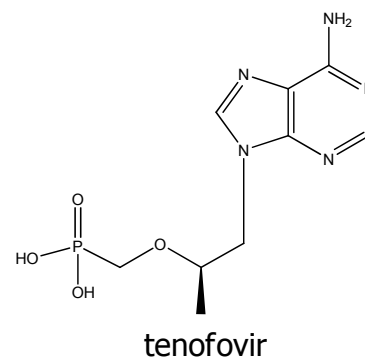
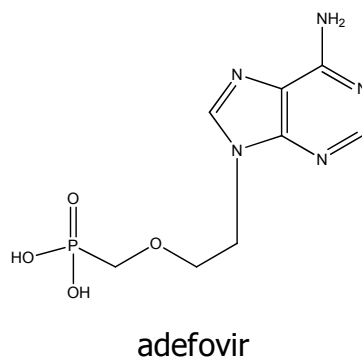
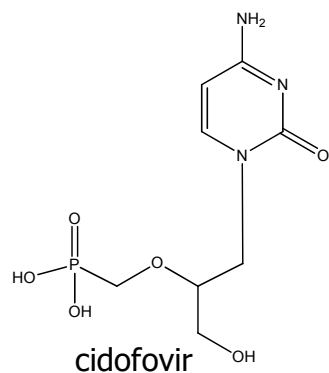
- cepitev s fosfatazami
- slaba biol. uporabnost
- slabo prehajanje membran



Nukleotidni inhibitorji virusne DNA polimeraze/RT – aciklični fosfonati

- Modifikacija fosfata

Nukleotidni inhibitorji virusne DNA polimeraze/RT – aciklični fosfonati



➤ Pred delovanjem ne podležejo monofosforilaciji

➤ Inhibitorji virusne DNA polimeraze oz. reverzne transkriptaze, nadomestni substrati

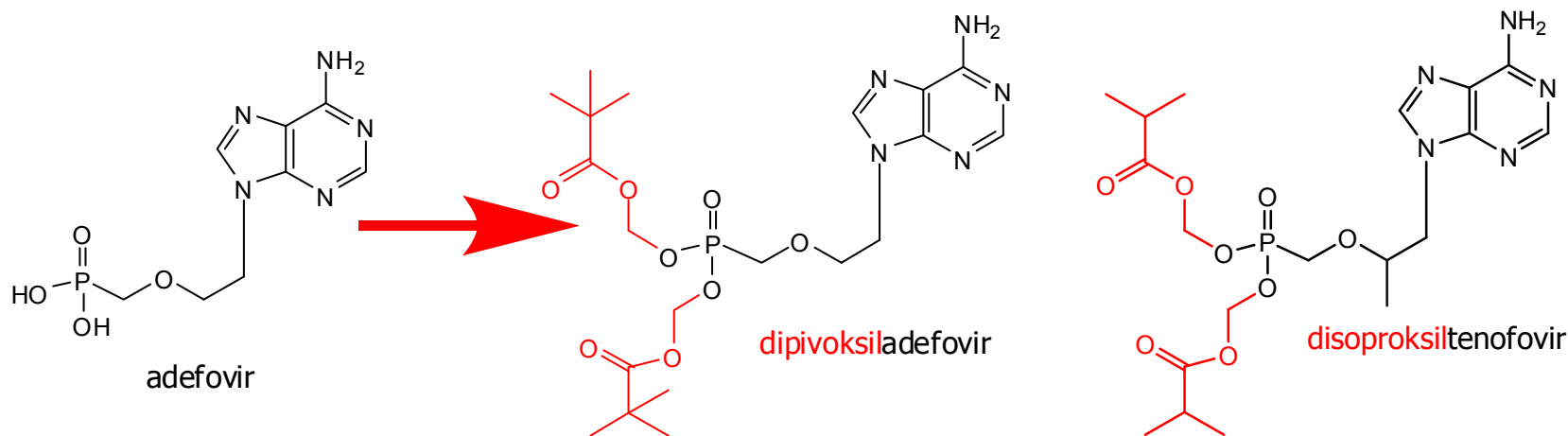
➤ Stabilnost – izjemno dolg razpolovni čas

➤ **Selektivna toksičnost**; 8-600x močnejše zaviranje herpesvirusne DNA polimeraze v primerjavi z DNA polimerazo A

➤ širokospektralni

Nukleotidni inhibitorji virusne DNA polimeraze/RT – aciklični fosfonati

- Peroralno učinkovita zdravila?

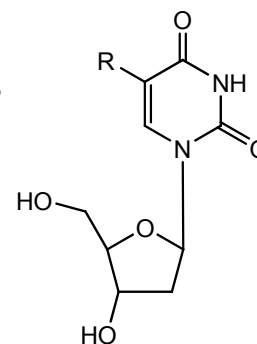


Zahteve: lipofilnost, netoksičnost, stabilnost v plazmi, hidroliza v celicah/jetnih

Nukleozidni inhibitorji DNA p. – sprememba nukleinske baze

Idoksuridin

- Inhibitor virusne DNA polimeraze; HSV, inhibicija timidilat sintetaze
- Slaba selektivna toksičnost: delno selektivna monofosforilacija s timidin kinazami, inhibicija humanih DNA polimeraz
- HSV

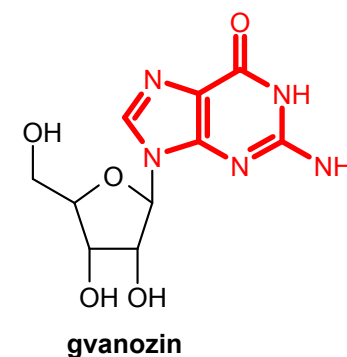
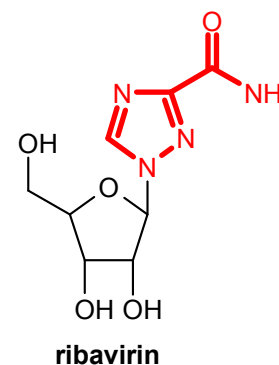


idoksuridin; R=I
trifluridin; R=CF₃
fluorodeoksiuridin; R=F
bromodeoksiuridin; R=Br

Nukleozidni inhibitorji DNA p. – sprememba nukleinske baze

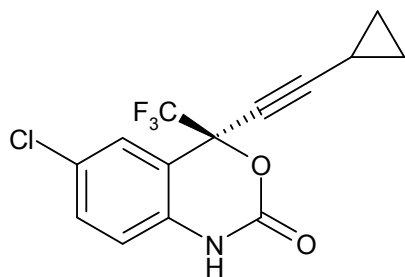
Ribavirin

- Inhibitor virusne DNA polimeraze; HSV
- Mimetik gvanozina z nepopolnim purinskim biciklom
- Multiplo delovanje na nivoju sinteze RNA/DNA; zavira terminacijo virusne mRNA (ribavirin trifosfat), specifični zaviralec transkriptaze raznih virusov gripe, inhibitor inozin-5'-monofosfat dehidrogenaze (ribavirin monofosfat)
- ŠIROKOSPEKTRALNA UČINKOVINA!
- Slaba selektivna toksičnost!

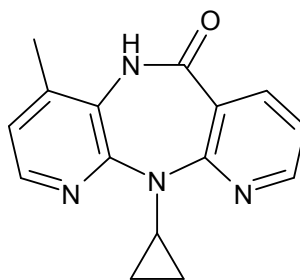


Nenukleozidni inhibitorji reverzne transkriptaze

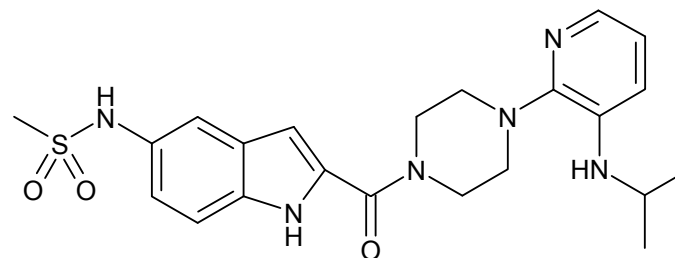
- Inhibicija reverzne transkriptaze z alosterično modifikacijo – strukturno različne spojine
- Hidrofobne molekule – vezava v alosterična vezavna mesta RT
- Zaradi tega - selektivna toksičnost!!! Ni inhibicije humane DNA polimeraze
- Drugačen mehanizem delovanja od NIRT; odsotnost navzkrižne rezistence – sinergizem!



efavirenz

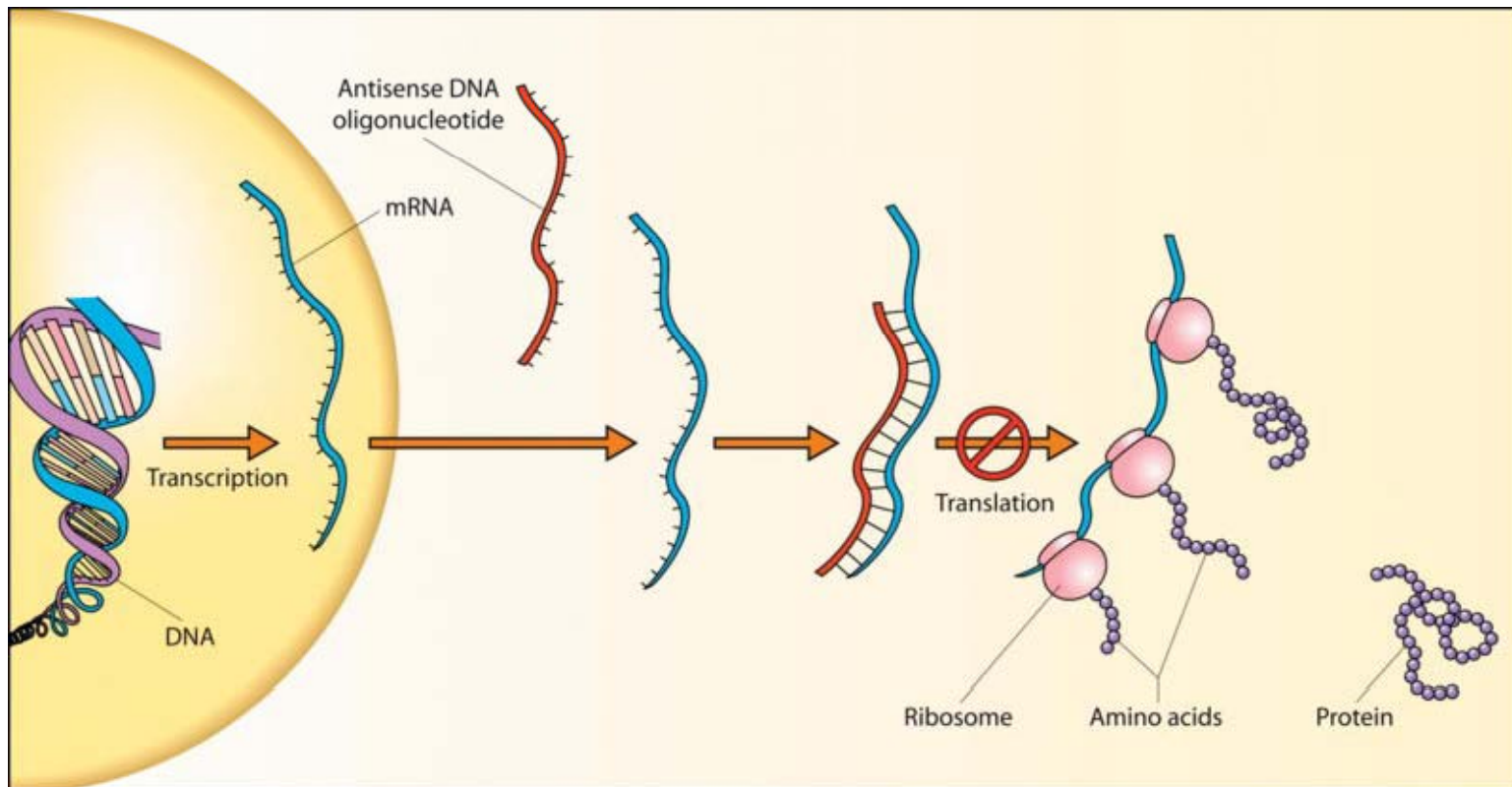


nevirapin



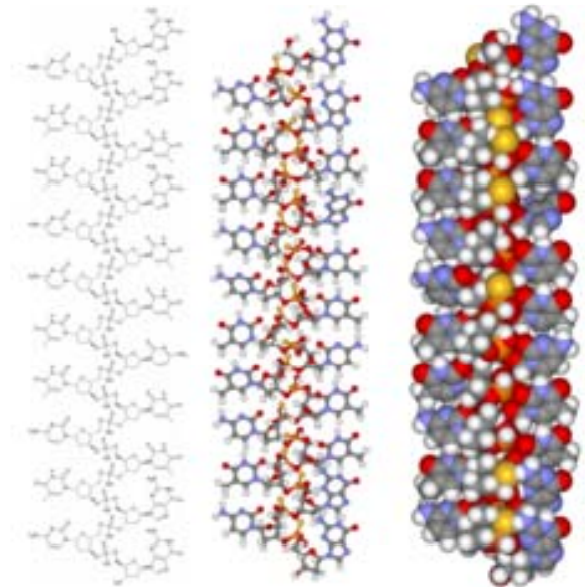
delavirdin

“Antisense” tehnologija



“Antisense” tehnologija

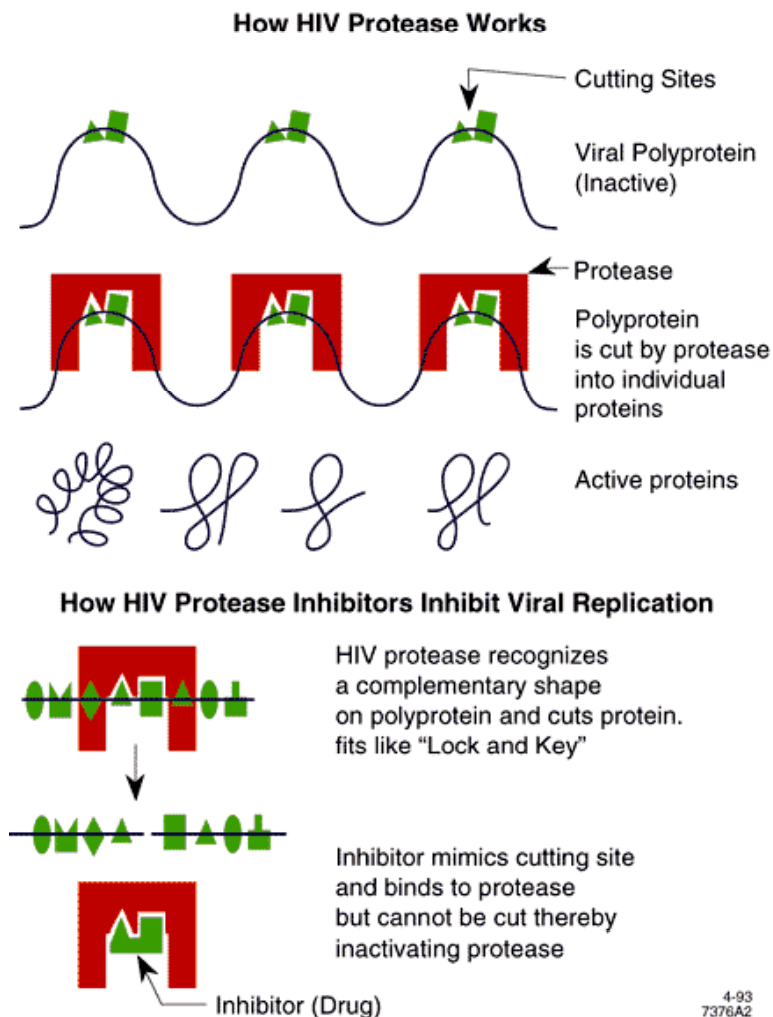
- **Fomivirsen (Vitraven®); oligonukleotid (21) komplementaren zaporedju mRNA citomegalovirusa**
- 5'-GCG TTT GCT CTT CTT CTT GCG-3'
- Fosforotioatna povezava!
- Poznavanje genoma virusov – hitra izdelava zdravil! (uporaba tudi pri rakastih obolenjih)
- Zanimivost; EMA; 22.5.2002 - odpoklic s trga!



Inhibitorji (HIV) proteaze

HIV proteaza

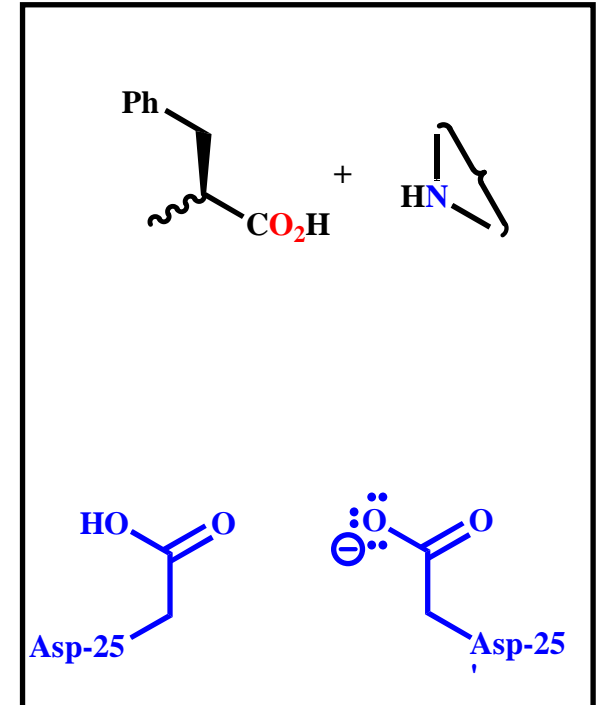
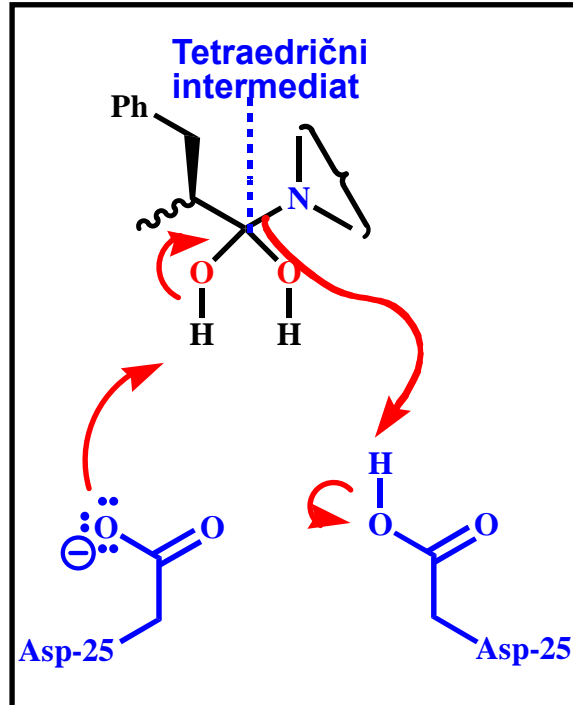
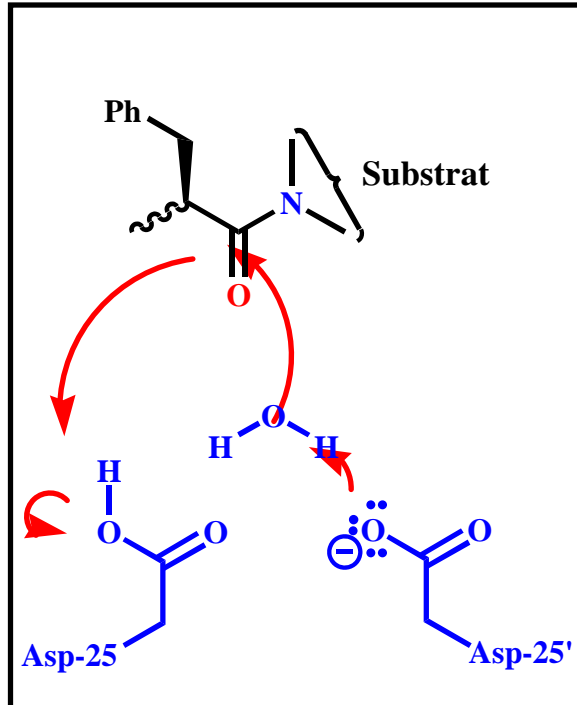
- Aspartatna proteaza
- Post-translacijske cepitve peptidov; funkcionalni gradniki, aktivacija RT, RNAze H, integraze (poleg HIV: HSV, pikornavirusi, rinovirusi)
- Inhibitorji aktivnega mesta – posnemajo substrat (peptid), namesto peptidne vezi – HIDROKSILETILENSKA SKUPINA



Inhibitorji (HIV) proteaze

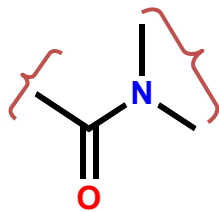
Mehanizem delovanja

- HIV proteaza – endopeptidaza; cepi vez Phe-Pro

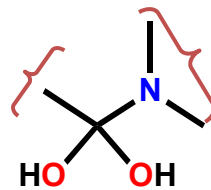


Inhibitorji (HIV) proteaze

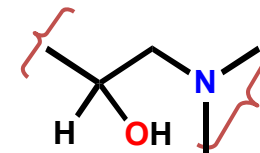
Farmaceutvska kemija 3 Učinkovine?



amid



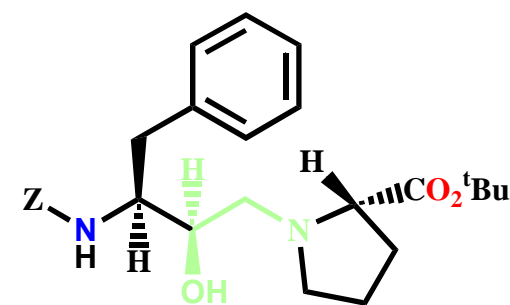
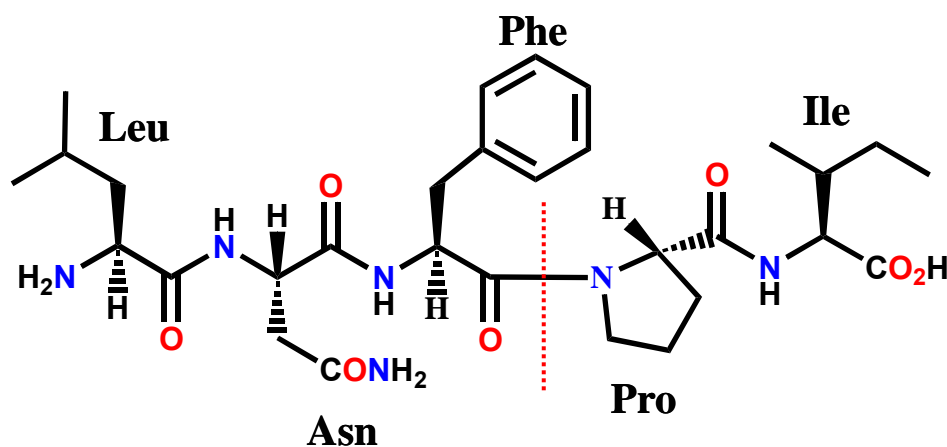
Tetraedrični intermediat



Hidroksietilaminski analog
Mimetik prehodnega stanja

Inhibitorji (HIV) proteaze

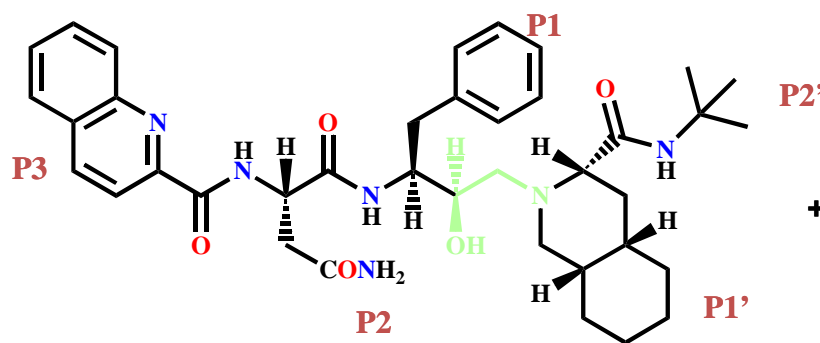
Naravni substrat



Hidroksietilaminski bioizoster
IC₅₀ = 6500 nM

Inhibitorji (HIV) proteaze

- Izkoriščanje dodatnih vezavnih mest

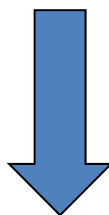


Bioizoster prehodnega stanja
+ Asn + kinolin + dekahidroizokinolin
 $IC_{50} < 0,4 \text{ Nm}$
SAKVINAVIR

Inhibitorji (HIV) proteaze

Slabosti sakvinavira

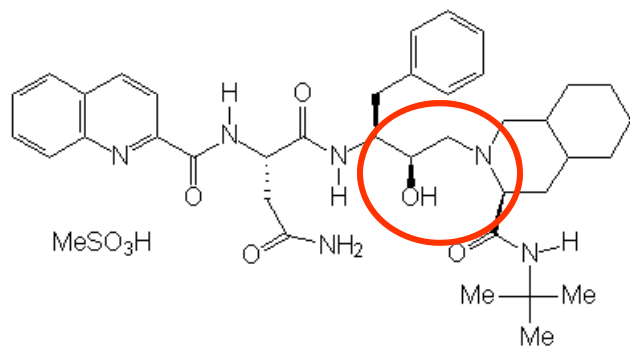
- Peptidni karakter
- Slaba biološka uporabnost
- Hiter metabolizem – kratek razpolovni čas
- Rezistenca!



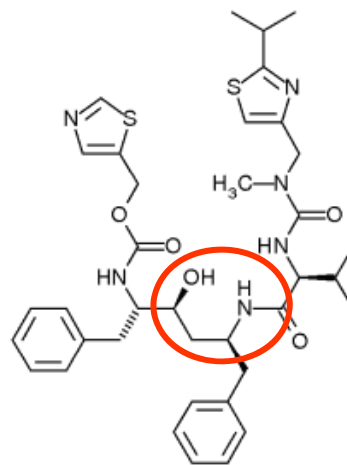
Razvoj novih inhibitorjev HIV proteaze

Inhibitorji (HIV) proteaze

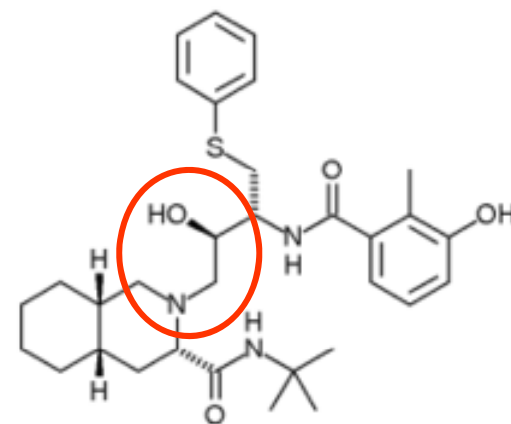
Inhibitorji HIV proteaze



sakvinavir



ritonavir



nelfinavir

HAART

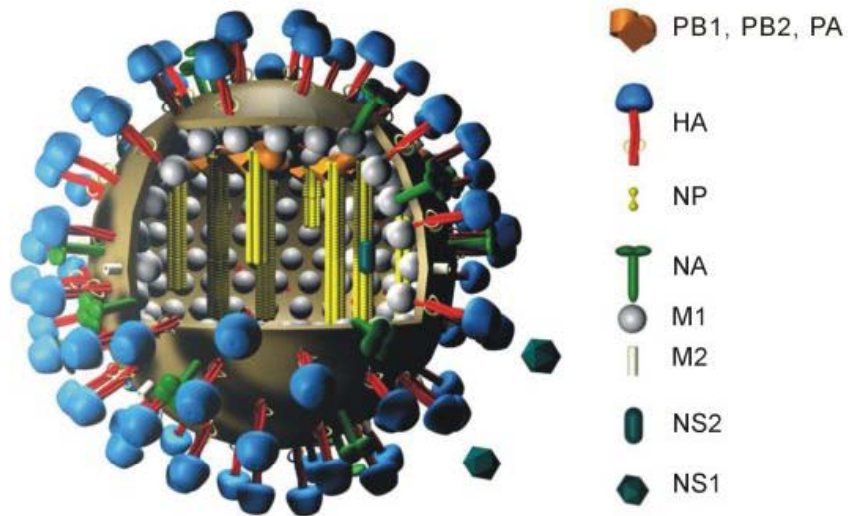
Farmaceutvska kemija 3 “Highly active retroviral therapy”

- Nukleozidni inhibitorji RT
- Nenukleozidni inhibitorji RT
- Inhibitorji proteaze

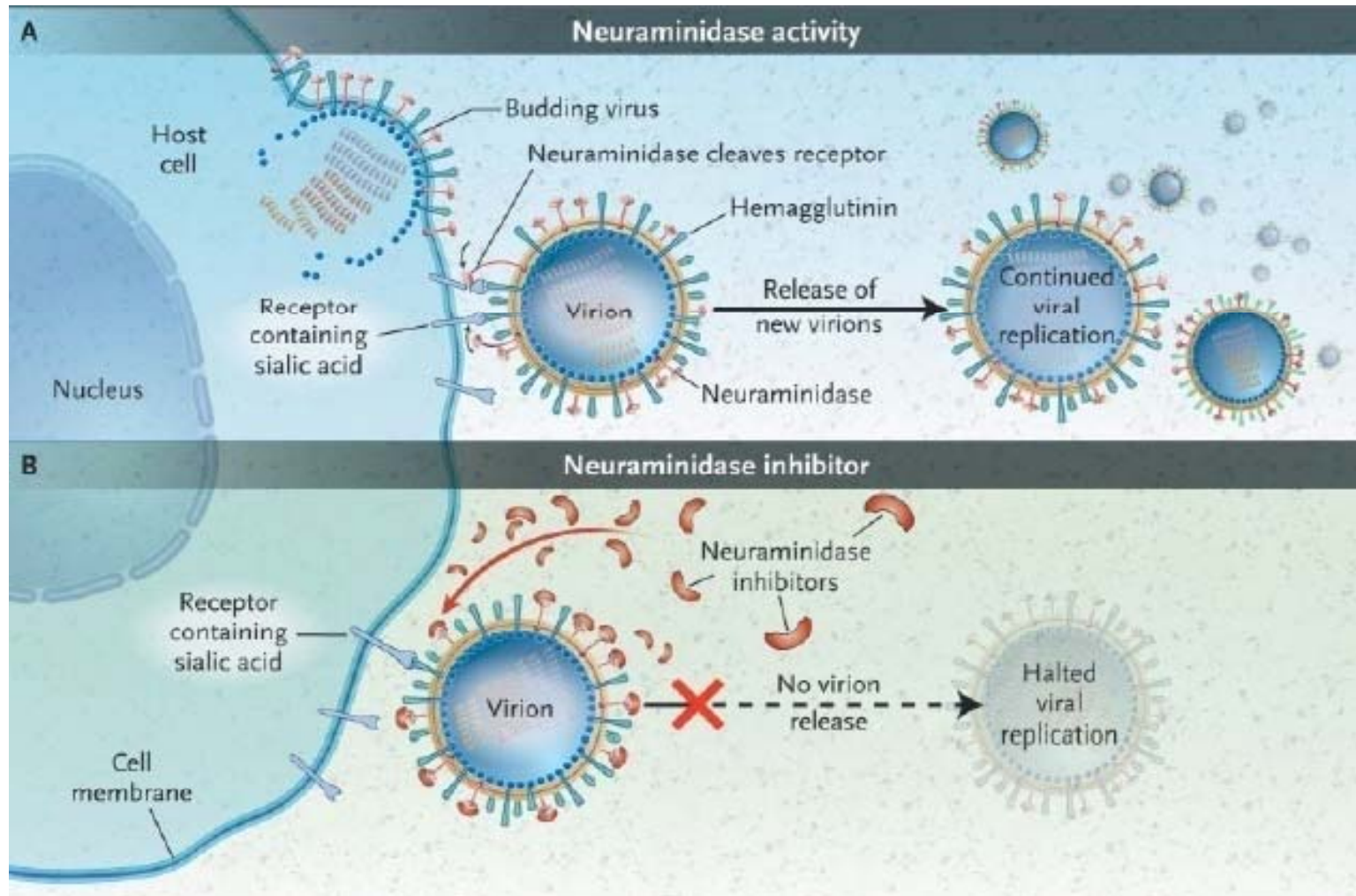
Inhibitorji nevraminidaze

Nevraminidaza?

- Virusi gripe; transmembranski encim
- Omogoča odcepitev virusa od gostiteljske celice s cepitvijo sialične kisline s celičnega receptorja

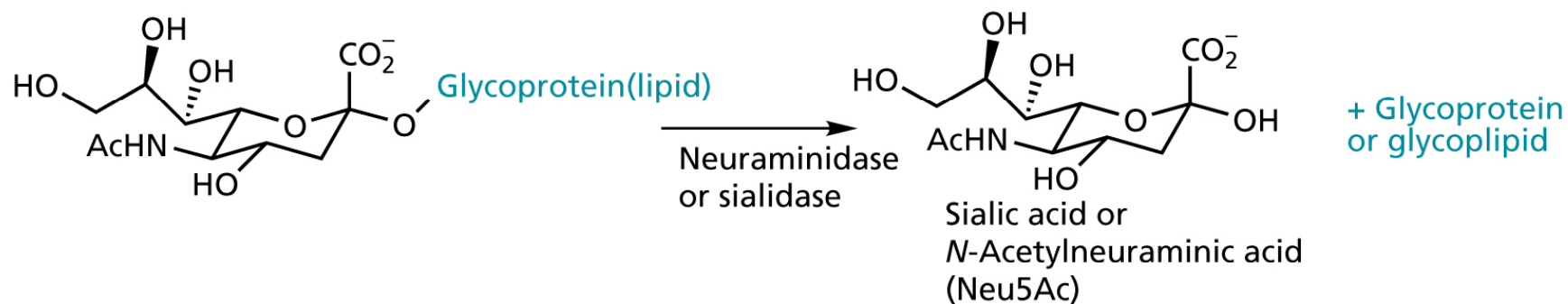


Inhibitorji nevraminidaze



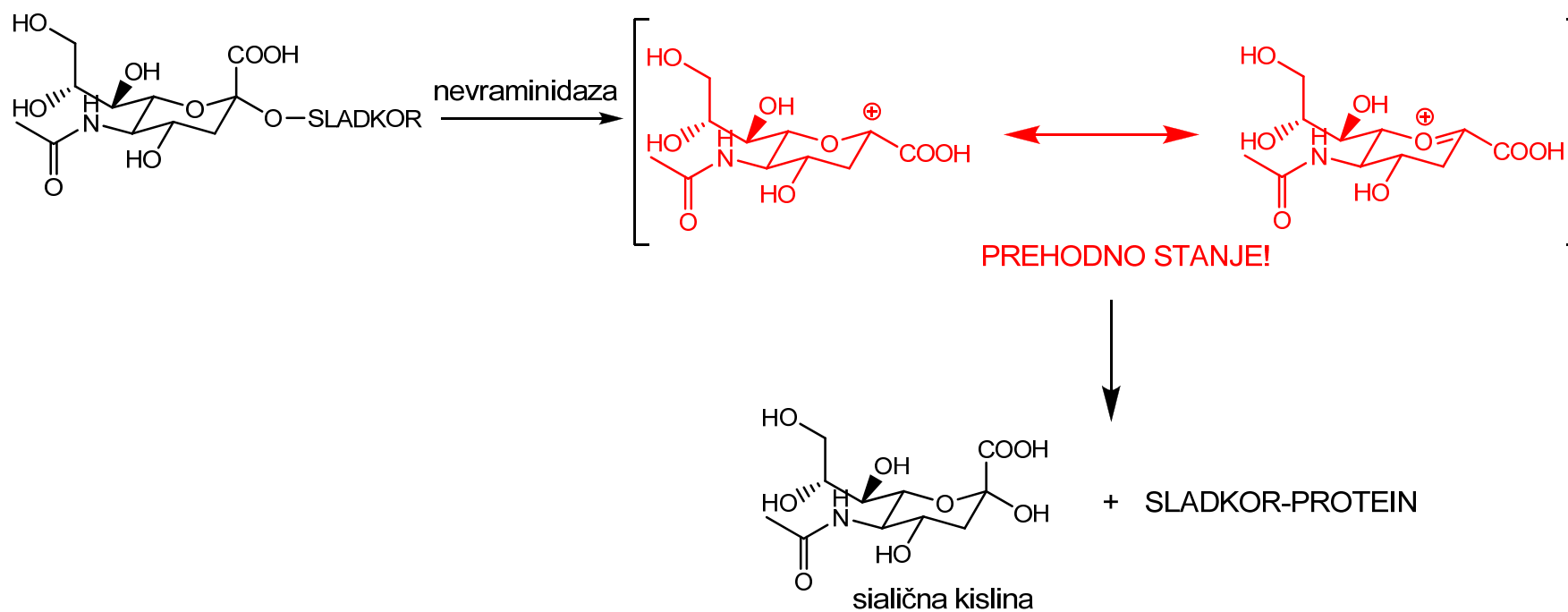
Inhibitorji nevraminidaze

- Mehanizem delovanja nevraminidaze



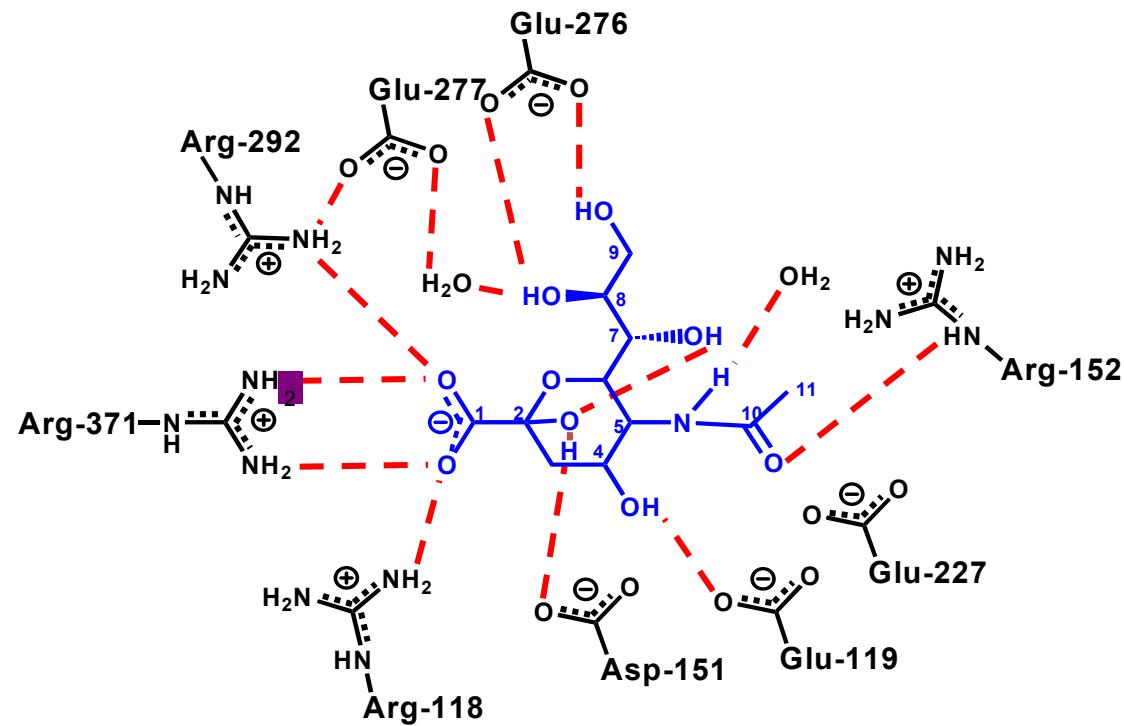
Inhibitorji nevraminidaze

- Mehanizem cepitve sialične kisline



Inhibitorji nevraminidaze

- Vezavno mesto za sialično kislino



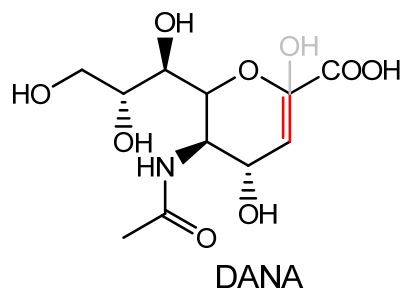
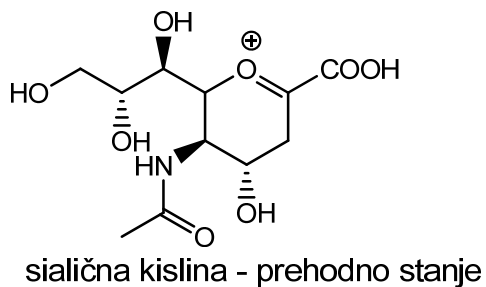
Inhibitorji nevraminidaze

Vezavno mesto za sialično kislino

- Karboksilat pomemben
- Glicerolna skupina
- Acetamid
- Planarna struktura, ki posnema prehodno stanje

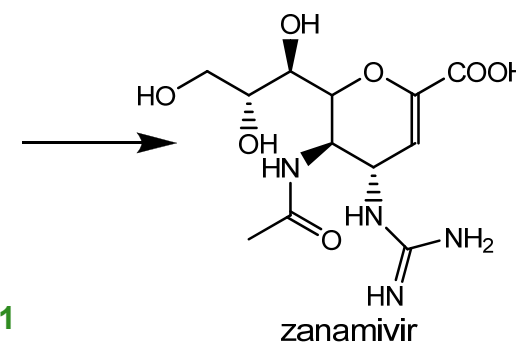
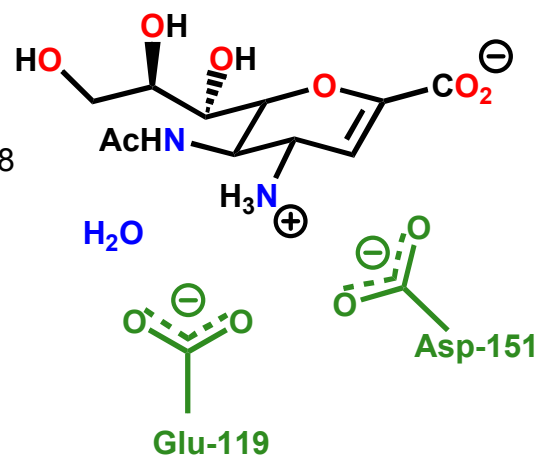
Inhibitorji nevraminidaze

- Kompetitivni inhibitorji
- Mimetiki prehodnega stanja



DANA : $K_i = 4 \times 10^{-6}$, 5-10 μM

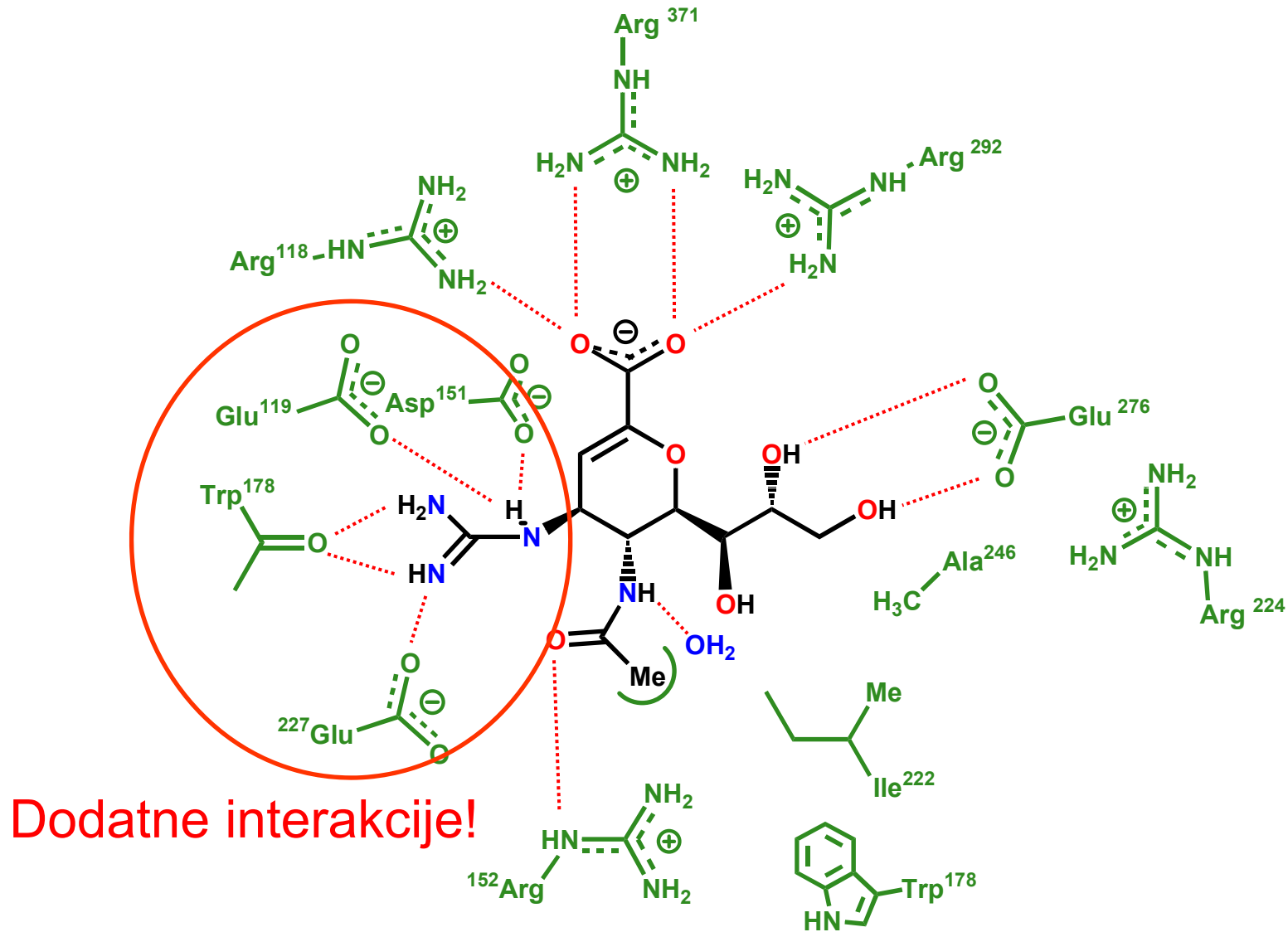
5-aminoDANA : $K_i = 4 \times 10^{-8}$



zanamivir : $K_i = 3 \times 10^{-11}$

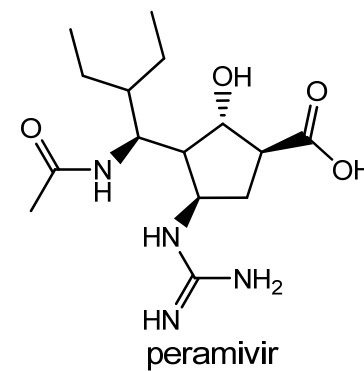
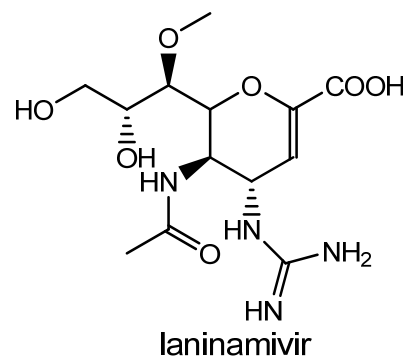
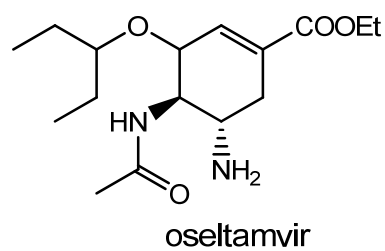
Zanamivir – interakcije

Farmaceutvska kemija 3



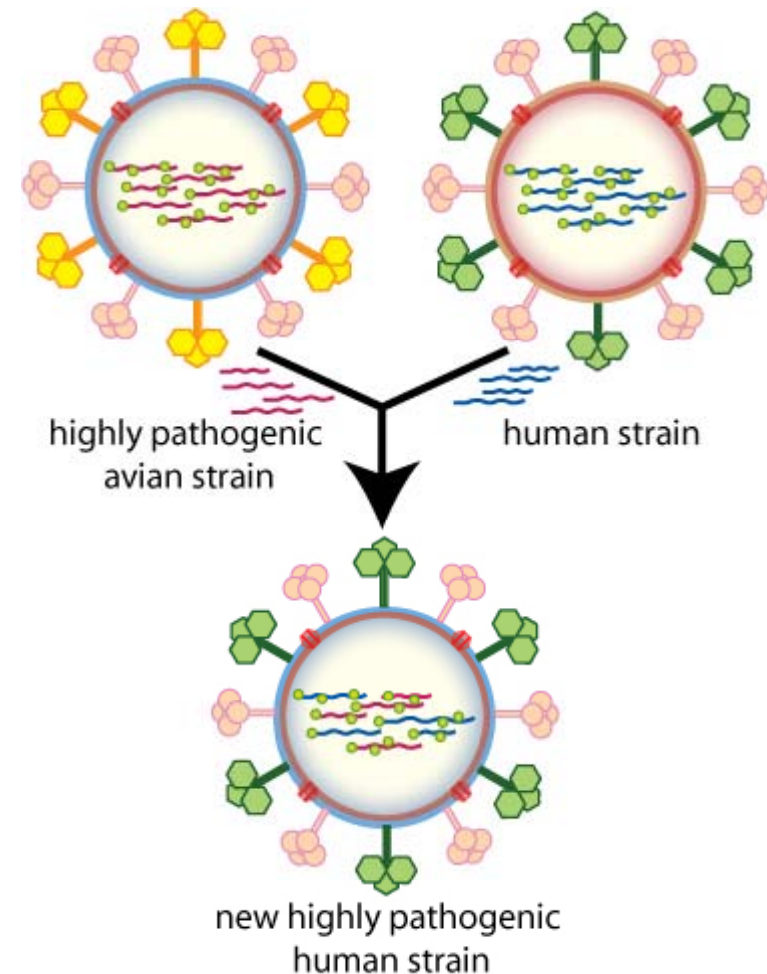
Inhibitorji nevraminidaze

- Zanamivir ni idealna učinkovina!



Inhibitorji nevraminidaze

- Nevraminidaza – izjemno veliko mutacij
- Sevi, ki lahko povzročijo epidemijo – H1N1, H3N2, H5N1 (antigenic shift, antigenic drift)



Inhibitorji nevraminidaze

- Vakcinacija – neuspešna zoper druge seve!
- Ohranjanje aktivnega mesta –18 AK v aktivnem mestu invariabilnih!! - možnost za uspeh inhibitorjev aktivnega mesta!
- Širokospektralnost inhibitorjev nevraminidaze
- Rezistenca?

Literatura predavanj

G. L. Patrick: An introduction to medicinal chemistry, Oxford University press, 3rd (4th) ed., 2005:

- 17 (20) poglavje

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

- 39. (43.) poglavje