

УНИВЕРЗИТЕТ У КРАГУЈЕВЦУ  
ФАКУЛТЕТ МЕДИЦИНСКИХ НАУКА



UNIVERSITY OF KRAGUJEVAC  
FACULTY OF MEDICAL SCIENCES

# ИНТЕГРИСАНЕ АКАДЕМСКЕ СТУДИЈЕ ФАРМАЦИЈЕ

Б13 - Медицинска хемија 1

## Медицинска хемија ензима

Проф. др Слободан Новокмет

Четрнаеста недеља наставе

Зимски семестар 2016/2017. године

# Медицинска хемија ензима

- Аспекти ензимологије који се проучавају у медицинској хемији јесу, пре свега, врста дејства молекула лекова (инхибитора) на ензиме и њихов дизајн.
- Значајан број ензима представља протеинске ефекторе преко којих молекули лекова (инхибитори) остварују своја дејства.
- Инхибитори ензима (I) су супстанце које смањују активност ензима (E) грађењем комплекса ензим-инхибитор [E–I], при чему је ензим блокиран и не може да обавља своју нормалну функцију.
  - На пример, на ензим дихидрофолат-редуктазу, која учествује у биосинтези пуринских база и аминокиселина, делују сулфаниламиди и остварују бактерицидно и антималяријско дејство различитим механизмима.

# Медицинска хемија ензима

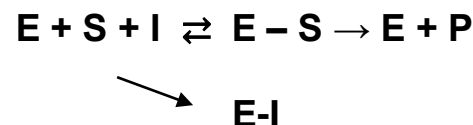
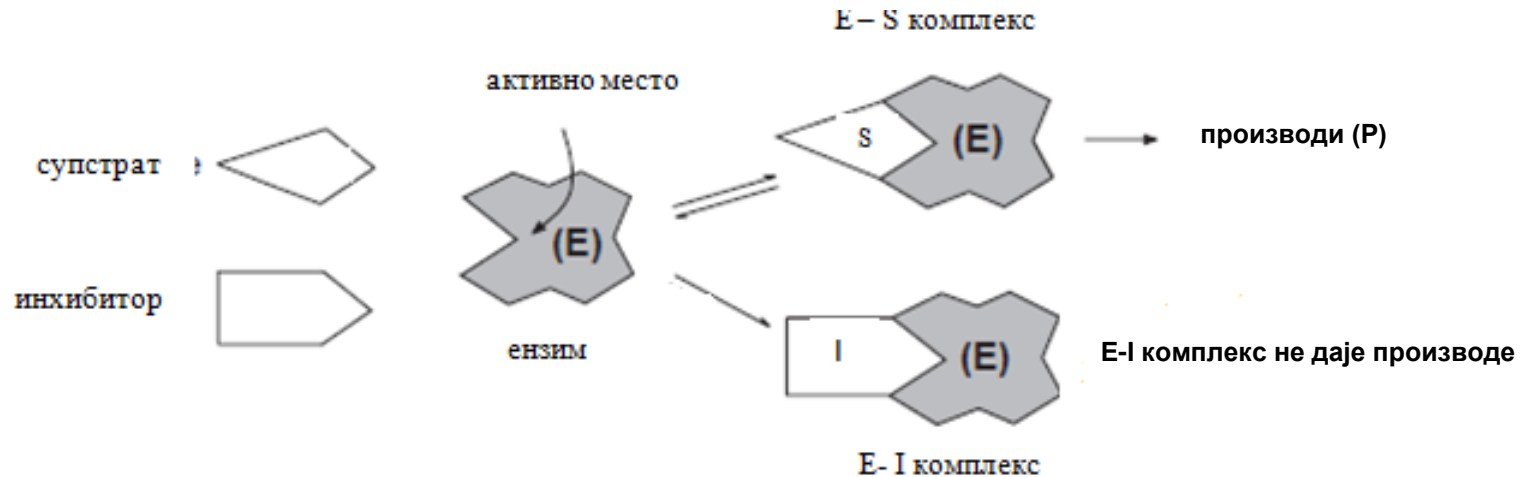
- ☑ Инхибиција ензима може бити реверзибилна или иреверзибилна.
- ☑ У складу са тиме две групе инхибитора ензима:
  1. Иреверзибилни инхибитори;
  2. Реверзибилни инхибитори.

# Иререверзибилна инхибиција

- Инхибитор се везује за ензим јаким ковалентним или нековалентним везама, градећи комплекс ензим-инхибитор [E-I]:
$$E + I \rightarrow E-I$$
- Наведена реакција је неповратна, концентрација насталог комплекса није у равнотежи са концентрацијама ензима и инхибитора.
- Најчешћи механизам дејства у иререверзибилној инхибицији је везивање инхибитора за ензим јаким ковалентним везама.
- Постоји изузетак, када су инхибитори везани јаким нековалентним везама.
  - У том случају настали комплекс споро дисосује и ослобађа ензим из комплекса, који након тога може да обавља своју нормалну функцију.

# Иререверзибилна инхибиција

- Без обзира на тип везе, ензим ће повратити нормалну функцију тек када се у организму синтетише довољан број макромолекула ензима да би се превазишао ефекат дејства инхибитора (Схема 1).



# Иреверзибилна инхибиција

- Иреверзибилна инхибиција је некомпетитивна и иреверзибилни инхибитори се класификују у две групе:
  1. Инхибитори који се везују директно за активна места у ензиму;
  2. *Суицидни инхибитори* или иреверзибилни инактиватори ензима.

# Иреверзибилна инхибиција

- 1. Инхибитори који се везују директно за активна места у ензиму.
  - То су инхибитори који се везују директно за активно место у ензиму или у близини активног места ензима.
  - Инхибитор делотворно смањује концентрацију активног ензима а тиме и степен настајања производа ензимске реакције.
  - Примери су ацетил-салицилна киселина која иреверзибилно инхибира циклооксигеназу у биосинтези простагландина, затим малатион (органофосфат) који иреверзибилно инхибира ацетилхолин-естеразу.

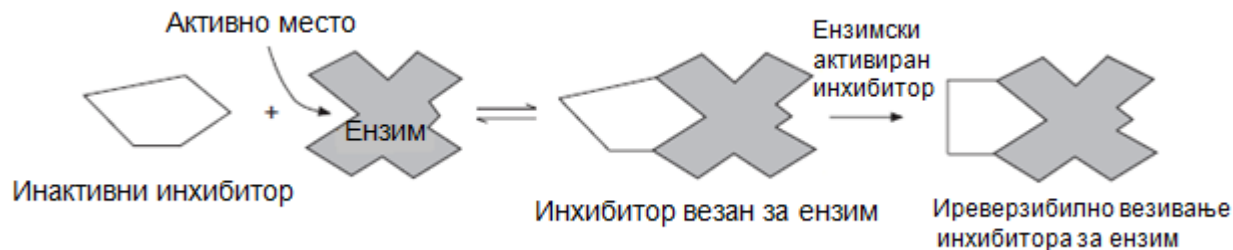
# Иреверзибилна инхибиција

- 2. *Суицидни* инхибитори или иреверзибилни инактиватори ензима.
  - Ови инхибитори су још познати под следећим називима: "суицидни" супстрати,  $K_{cat}$  или инхибитори засновани на иреверзибилном механизму.
  - Структурно, најчешће су аналози ензимског (ендогеног) супстрата.
  - Механизам дејства је следећи: ензим активира *суицидни* инхибитор, стварајући му реактивну групу.



# Иререверзибилна инхибиција

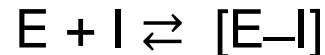
- 2. *Суицидни* инхибитори или иререверзибилни инактиватори ензима.
- Тако модификовани инхибитор се иререверзибилно везује за активно место у ензиму, градећи стабилан комплекс ензим-инхибитор (Схема ).
- То значи да сам ензим произведе сопствени инхибитор од првенствено инактивног супстрата (инхибитора) и тако сам себе инаktivира (у жаргону, "изврши самоубиство").



Инхибиција ензима суицидним инхибитором

# Реверзибилна инхибиција

- Инхибитор се везује за ензим нековалентним везама, попут електростатичке, водоничне или са van der Waals-ове интеракције, градећи комплекс ензим-инхибитор [E–I]:



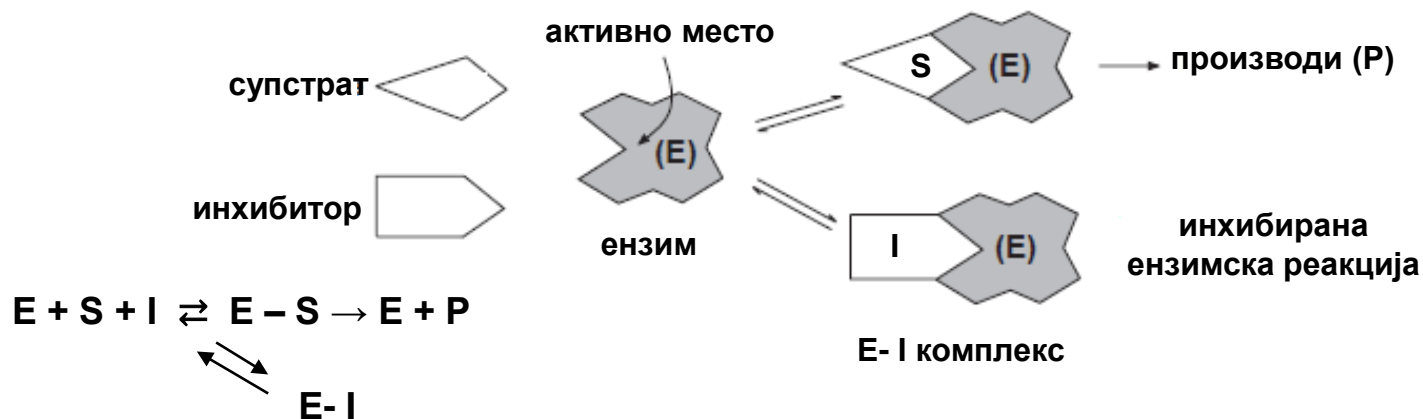
- Наведена реакција је повратна, концентрација насталог комплекса је у равнотежи са равнотежним концентрацијама ензима и инхибитора.
- Изузетак је мањи број реверзибилних инхибитора који се везују слабирим ковалентним везама за ензим.

# Реверзибилни инхибитори

- Постоје четири типа реверзибилних инхибитора ензима:
  - I.   Компетитивни;
  - II.   Некомпетитивни;
  - III.   Антикомпетитивни;
  - IV.   Аналози прелазног стања.

# Реверзибилни инхибитори

- 1. Компетитивни инхибитори.
  - Инхибитор се реверзибилно везује за иста везивна места у ензиму за која се везује и супстрат.
  - Долази до конкуренције између инхибитора и супстрата у везивању за исто место, што чини да је одређена количина ензима инхибирана док остала има и даље нормалну функцију. Као последица тога брзина превођења супстрата у производ је смањена.



# Реверзибилни инхибитори

- 1. Компетитивни инхибитори.
  - С обзиром да је инхибиција реверзибилна, ефекат инхибитора се смањује са повећањем концентрације супстрата.
  - При високим концентрацијама супстрата, инхибиторни ефекат је у потпуности спречен. С друге стране, са повећањем концентрације инхибитора, повећава се и инхибиторни ефекат.
  - Делотворност (реверзибилног) инхибитора зависи од постигнуте (високе) концентрације у регији ензима.
  - Уколико је структура инхибитора врло слична структури супстрата онда се такви инхибитори називају антиметаболити. Међутим, у пракси су такви примери ретки.
  - Већина молекула лекова, инхибитора ензима, спада у групу компетитивних (реверзибилних) инхибитора.

# Реверзибилни инхибитори

- 2. Некомпетитивни инхибитори.
  - Не долази до конкуренције између супстрата и инхибитора, јер се инхибитори везују за ензим или комплекс ензим-супстрат, преко алостерних места на ензиму, која су удаљена од места за везивање супстрата.
  - Везивање некомпетитивног инхибитора изазива промене у конформацији структуре ензима и тиме омета везивање супстрата.
  - Везивање некомпетитивног инхибитора за ензим резултује настајањем  $[E-S-I]$  комплекса.

# Реверзибилни инхибитори

- 3. Антикомпетитивни инхибитори.
  - Ови инхибитори се искључиво везују за ензим-супстрат  $[E-S]$  комплекс, али не и за ензим, при чему настаје  $[I-E-S]$  комплекс.
  - Супстрат у оваквом комплексу не може даље да реагује и да се биотрасформише у одговарајући производ.

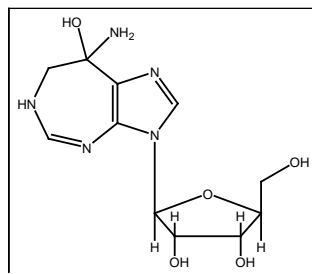
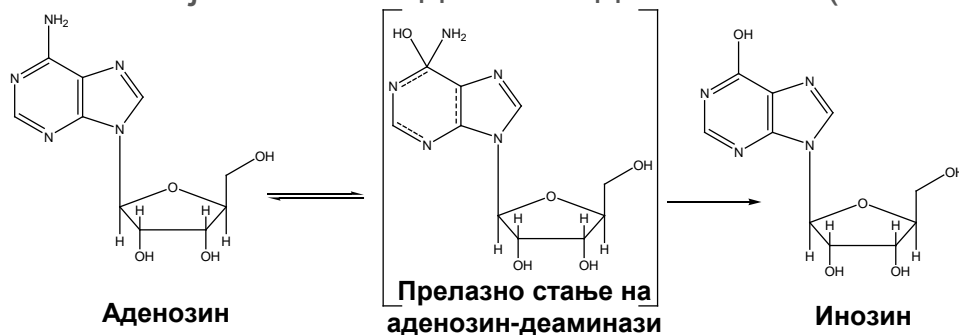
# Реверзибилни инхибитори

- 4. Аналози прелазног стања.
  - Конверзија супстрата у ензим-катализованим реакцијама до одговарајућег производа, одвија се уз настајање више различитих интермедијера (једињења у прелазним стањима).
  - Интермедијери су нестабилни и преводе се у друге стабилније облике до коначног производа.
  - Међутим, иако су нестабилни, они се везују за активна места у ензиму, у току реакције конверзије супстрата.
  - На основу структуре интермедијера (прелазног стања) може да се изведе аналог који ће се везати за активна места одговарајућег ензима и деловати инхибиторно. Такав инхибитор назива се **аналог прелазног стања**.



# Реверзибилни инхибитори

- 4. Аналози прелазног стања.
- Везује се јаче за активна места у ензиму у односу на супстрат.
- Нпр., инхибитор аденозин-деаминазе, коформицин (антибиотик) има сличну структуру интермедијера (прелазног стања) аденозина која се јавља у процесу конверзије аденозина до инозина у реакцији катализованој ензимом аденозин-деаминаза (Схема 4.).



коформицин

# Дизајн инхибитора ензима

- У дизајну инхибитора ензима неопходна су детаљна сазнања о биохемији и физиологији патолошког стања за које се лек дизајнира.
- Дејство многих иреверзибилних инхибитора зависи од тога да ли инхибитор има функционалне групе које могу да реагују са функционалним групама аминокиселина на активном месту ензима.
- С обиром да су функционалне групе активног места ензима најчешће нуклеофилне (хидроксилна група у серину или тиолна група у цистеину), увођење јаких електрофилних група (нпр. амидне, имино и естарске групе) у структуру молекула лека може се искористити за дизајн нових инхибитора.
- При томе се најчешће гради ковалентна веза између инхибитора и активног центра ензима, што доприноси трајној инхибицији.

# Дизајн инхибитора ензима

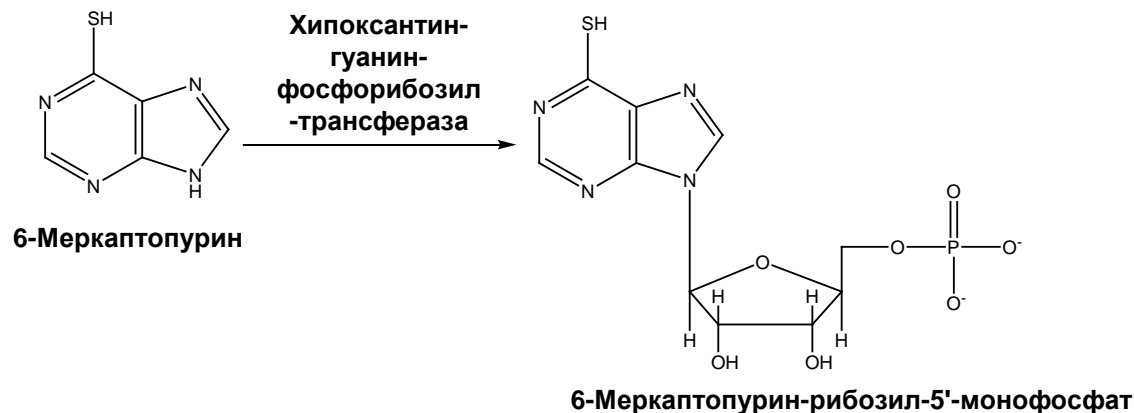
- Овај приступ се може применити и у циљу повећања дејства већ познатог инхибитора. Инхибитор се везује за функционалне групе аминокиселина у ензиму нековалентним везама или ковалентним везама.
- Уколико се користи приступ инхибиције која подразумева и активна места у ензиму, структура и хемијска реактивност супстрата могу послужити као основа за рационалан дизајн потенцијалних инхибитора.
- Један од проблема у дизајну инхибитора је постојање више изоформи једног ензима, које често реагују различито са инхибитором.
- Инхибитор може инхибирати једну изоформу ензима али не и све изоформе тог ензима, тако да жељени терапијски ефекат може изостати.

# Улога ензима у развоју резистенција на лекове

- Ензими су укључени у механизам настајања резистенције на лекове, на више начина.
- 1. Промене у концентрацији ензима
  - Значајно повећање или смањење нормалне концентрације ензима може довести до резистенције.
  - Прекомерна биосинтеза ензима може имати следеће последице:
    - а) Циљна реакција која је катализована ензимом неће бити инхибирана. На пример, сматра се да је резистенција маларичних паразита на лек изазвана прекомерном биосинтезом дихидрофолат-редуктазе услед стимулације РНК паразита.
    - б) Повећана биосинтеза ензима може инактивирати молекул лека. На пример,  $\beta$ -лактамазе инактивирају већину лекова из групе пеницилина и цефалоспорина услед хидролизе њиховог  $\beta$ -лактамског прстена.

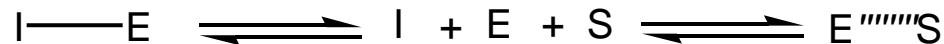
# Улога ензима у развоју резистенција на лекове

- Ензими су укључени у механизам настајања резистенције на лекове, на више начина.
- 1. Промене у концентрацији ензима
  - Недовољна биосинтеза ензима значи да неће бити ензима за превођење прекурзора лека у активни облик.
  - На пример, резистенција на цитостатик 6-меркаптопурин настаје због смањене биосинтезе хипоксантин-гуанин фосфорибозилтрансферазе, ензима који преводи пролек у активни рибозил 5'-монофосфатни дериват.



# Улога ензима у развоју резистенција на лекове

- 2. Увећана биосинтеза супстрата
  - Повећана биосинтеза супстрата може спречити компетитивне реверзибилне инхибиторе да се вежу за активно место у довољној количини да би били ефикасни.
  - Висока концентрација супстрата помера равнотежу у смеру добијања E-S комплекса.



# Улога ензима у развоју резистенција на лекове

- 3. Промене у структури ензима
  - Променом структуре ензима настаје ензим који не може ефикасно да се инхибира већ примењиваним инхибитором.
  - Структурно измењени ензим и даље може да производи уобичајене производе нежељене метаболичке реакције.
  - На пример, резистенција на антибиотик триметоприм настаје услед промена у структури бактеријског ензима дихидрофолат- редуктазе.

