

Mechanismy účinku antimikrobiálních látek

Update 2023

L.Pokludová, MU_CZ

Primární efekt antimikrobiálních látek :

BAKTERIOSTATICKÝ :

tyto látky způsobí pouze zastavení množení bakterií, přičemž exponované bakterie nejsou usmrceny, není ovlivněno přirozené odumírání klidových forem bakterií

- antimetaboly sulfonamidy, trimetoprim, k.nalidixová, furantoin
- fce a nebo syntéza NK k. nalidixová, novobiocin, ansamyciny
- proteosyntéza makrolidy, linkosamidy, tetracyklin, chloramfenikol, pleuromutiliny

Primární efekt antimikrobiálních látek :

BAKTERICIDNÍ:

tyto látky působí usmrcení bakteriálních buněk prostřednictvím různých mechanismů

- syntéza buněčné stěny peniciliny, cefalosporiny, bacitracin, vankomycin, teikoplanin, imipenem, aztreonam
- permeabilita cytopl. membrány polymyxin, colistin
- inhibitory syntézy DNA gyrázy chinolony
- proteosyntéza aminoglykosidy

Primární vs. sekundární efekt

● Dle primárního efektu – baktericidní:

- **peniciliny a cefalosporiny** účinkují **jen na množící** se bakterie, zvyšováním jejich koncentrace nelze stupňovat účinek až ke baktericiditě všech stádií.
- **aminoglykosidy** působí **i na klidovou** fázi bakterií , v určitých situacích zde lze hovořit o baktericiditě při zvyšování koncentrací - **klinicky relevantní baktericidita**, je-li usmrceno 99 % všech exponovaných bakterií

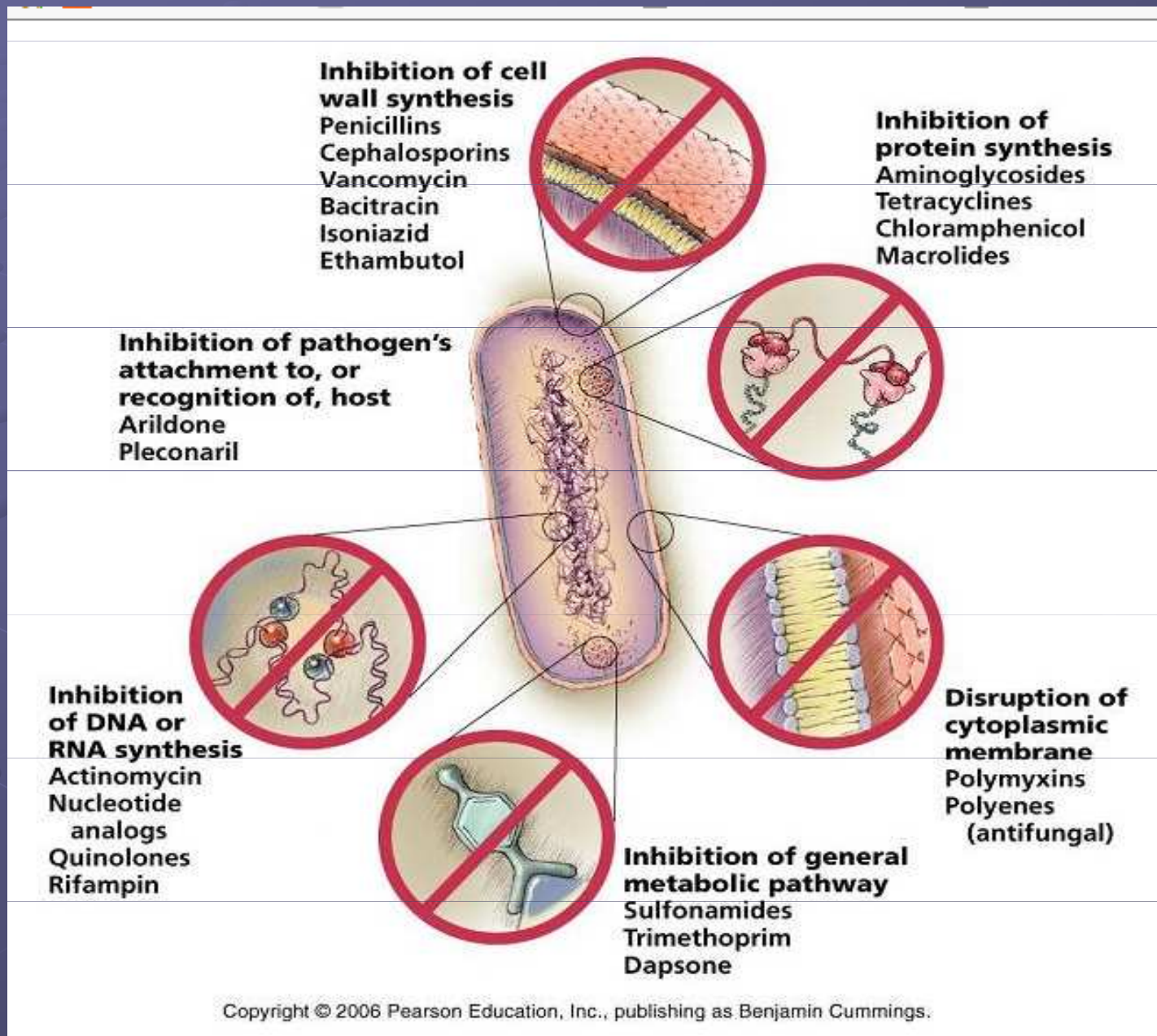
● Dle sekundárního efektu :

Antibiotika s primárním účinkem bakteriostatickým mohou mít vlivem metabolického působení např. ve zvýšené koncentraci účinek baktericidní.

MECHANISMY ÚČINKU ANTIMIKROBIÁLNÍCH LÁTEK

- **Inhibice syntézy buněčné stěny**
- **Poškození syntézy cytoplazmatické membrány**
- **Inhibice proteosyntézy**
- **Porucha syntézy nukleových kyselin**
- **Antagonismus a kompetitivní inhibice**

Mechanismy účinku ATM



Inhibice syntézy buněčné stěny

Penicilíny, cefalosporiny, vankomycin, teikoplanin, bacitracin, cykloserin, fosfomycin

- Rozdílné složení buněčných stěn eukaryot a prokaryot
 - menší toxicita antibiotik na makroorganismus pacienta, neboť antibiotikum působí selektivně na narušení syntézy buněčné stěny bakterií
- Rozdílné složení stěny buněčné u grampozitivních a gramnegativních bakterií
 - G+ murein a kyselina teichoová a polysacharidy
 - G- murein a lipoproteiny a lipopolysacharidy
 - Účinkuje antibiotikum na oba typy bakterií nebo lépe na jeden typ ?
↓
 - Odpověď je i ve skutečnosti na jaké cílové místo v buněčné stěně přesně antibiotikum působí.

Inhibice syntézy buněčné stěny

● Antibiotika s **irreverzibilním baktericidním efektem** působící na syntézu buněčné stěny

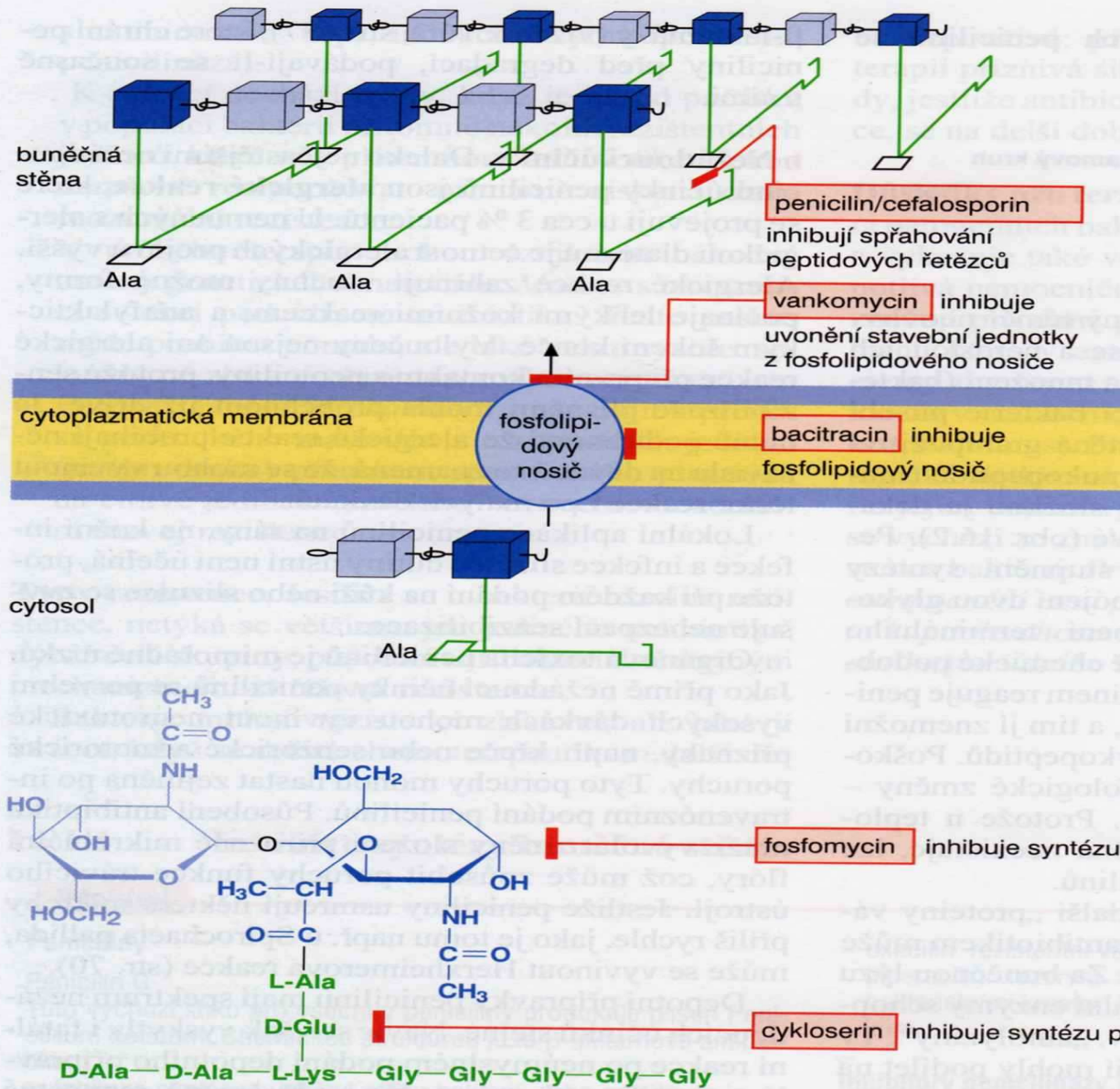
- peniciliny a cefalosporiny (β -laktamy)
- vankomycin, teikoplanin, avoparcin (glykopeptidy)
- bacitracin

● Antibiotikum s **efektem kompetitivní inhibice**

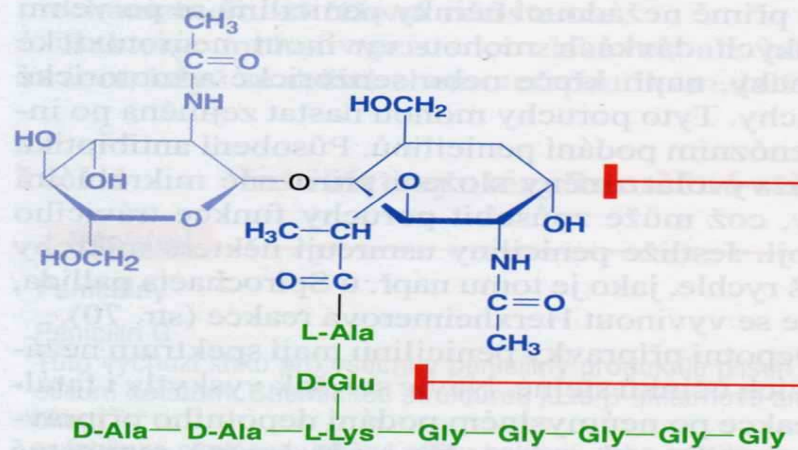
- cykloserin

Syntéza buněčné stěny bakterie a místa zásahu některých antibiotik

„Farmakologie a toxikologie, Lullmann H., Mohr K., Wehling M., Grada publishing, 2002



Obr. 16.2 Syntéza buněčné stěny bakterie a místa zásahu některých antibiotik. Dole je znázorněn vzorec základního stavebního kamene buněčné stěny, deka-peptid kyseliny N-acetylglukosamin-N-acetylmuramové. Tato molekula je znázorněna zjednodušeným způsobem. Tzv. „fosfolipidový nosič“ („carrier“) tuto stavební jednotku vynese z nitra buňky směrem k buněčné stěně, do níž se zabuduje. Na základě několikanásobného spojení jednotlivých stavebních jednotek mezi sebou představuje buněčná stěna bakterií do určité míry makromolekulu.



deka-peptid N-acetylglukosamin-kyselina N-acetylmuramová

Peniciliny a cefalosporiny (β -laktamy)

- Zasahují do tvorby buněčné stěny prostřednictvím inhibice včleňování kyseliny glutamové, která umožňuje vznik síťovité struktury buněčné stěny a ovlivňuje její rigiditu. Vazba na transpeptidázy a na PBP.
- Jsou také schopny aktivovat autolytické enzymy, které řízeně katalyticky obměňují peptidoglykan, buňka pak následkem toho lyzuje.
- Ovlivňují pouze rostoucí a dělící se buňky
- Nekombinovat s většinou bakteriostatických antimikrobik, např. s tetracykliny !

Peniciliny a cefalosporiny (β -laktamy)

funkce PBP

- Zásah β -laktamových antibiotik se projevuje v konečné fázi syntézy buněčné stěny, kdy se do hry dostávají **enzymy**, které umožňují zpevnění mureinu příčnými vazbami.
- Jelikož mají schopnost vázat penicilin a ostatní β -laktamy označují se jako **PBP = penicillin binding proteins**.
 - Schopnost vazby je dána podobností struktury β -laktamového kruhu a D-alanyl-D-alanyl dipeptidu mureinu.
 - β -laktám se na PBP váže a dochází k acylaci a inaktivaci, buňka se nedělí a hyne.
 - Vazba na PBP 3 má například za následek zábranu dělení buněk, tvorbu dlouhých vláken, která jsou pozorovatelná i v mikroskopických preparátech patologického materiálu, charakteristických při terapii penicilínových ATB v nižších koncentracích.
 - Buňky disponují několika druhy PBP, které jsou dle molekulové hmotnosti označovány čísly.
 - PBP grampozitivů nejsou citlivé k aztreonamu

Peniciliny a cefalosporiny (β -laktamy) rozdělení PBP

● PBP malé molekulové hmotnosti

- jsou transpeptidázy nebo karboxypeptidázy
nejsou citlivé k cefalosporinům

● PBP vyšší molekulové hmotnosti

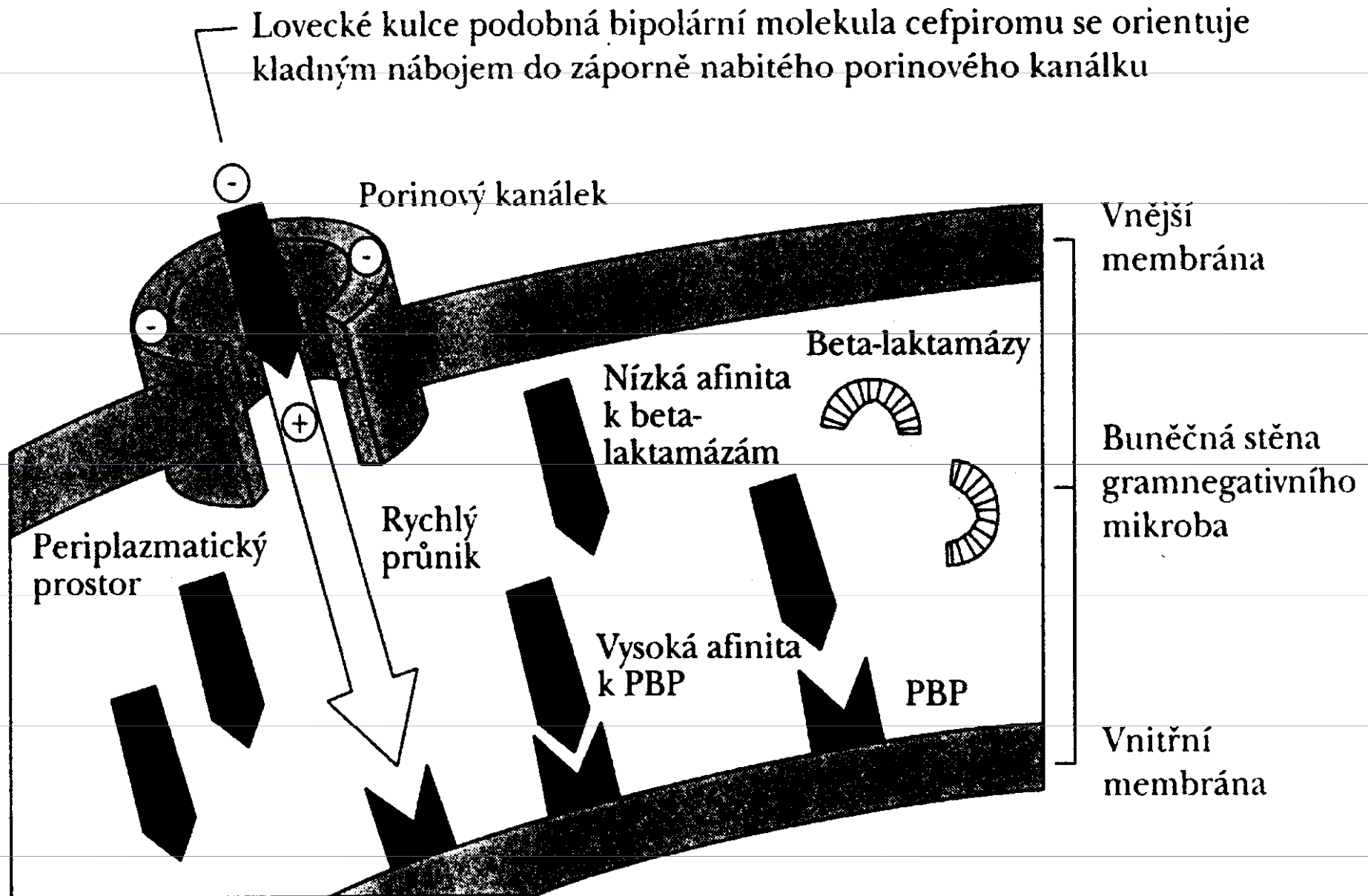
- tvoří zkřížené vazby v peptidoglykanu
- jsou kritické pro dělení buňky, ale i pro metabolismus

Příklad :

Mechanismus účinku cefpiromu (cefalosporin IV. generace)

- Všechny cefalosporiny IV. generace mají jako společný znak amonio-cyklopenteno - pyridinovou skupinu s kladným nábojem, která jejich molekule dává vlastnosti zwitterionu tj. bipolárního iontu.
- Molekula takového cefalosporinu proniká orientovaná **kladným** nábojem jako lovecká kulka **záporně** nabitým porinovým kanálkem ve stěně buňky gramnegativních mikrobů. Projde periplazmatickým prostorem, aniž je napadena betalaktamázi a mimořádně rychle se naváže na cílové PBP k nimž má vysokou afinitu.
- Viz. schéma

Mechanismus účinku cefpiromu



Karbapenemy

Imipenem (včetně kombinace s Cilastatinem)

Meropenem, Ertapenem, Doripenem (všechny INJ)

Tebipenem pivoxil (PO podání)

Systemová, život zachraňující – rezervní ATM

- Inhibuje enzymy, které se podílejí na vytváření příčných vazeb mezi vlákny peptidoglykanu,
- interakce s PBP 2 a 3,
- nedochází k filamentaci bakterií a tak rozsáhlému uvolnění endotoxinů

Vankomycin a teikoplanin

- Patří mezi glykopeptidová antibiotika, která interferují s konečnou fází syntézy buněčné stěny.
- Vážou se na D-ala-D-ala část prekurzoru stěnového pentapeptidu a tím zabraňují růstu buňky.
- Blokují přenos jednotlivých stavebních složek buněčné stěny shromažďovaných na lipoproteinovém nosiči
- Účinné pouze na G + koky

Lipoglykopeptidy

Telavancin

Reprezentant ATB napříč skupinami (blok systézy buněčné stěny + narušení cytoplazmatické membrány a její fce

Obdobně jako vankomycin:

- narušení D-ala D-ala síťování buněčné stěny

ALE ještě

- depolarizace a narušení funkce cytoplazmatické membrány

Bacitracin

- Inhibice defosforylace undecaprenyl fosfátu, který působí jako přenašeč komplexu N-acetylmuramyl-N-acetylglukosamin pentapeptidu do buněčné stěny.
- Účinný především na grampozitivy a patogenní neisserie.

Fosfomicin

- Interferuje pravděpodobně se zabudováním fosfoenolpyruvátu do N-acetylmuramové kyseliny, která je potřebná pro výstavbu bakteriální buněčné stěny.

Cykloserin

- Strukturní analog D-alaninu jako stavební složky buněčné stěny
- Kompetitivní inhibitor enzymů účinkujících
 - na přeměnu L-alaninu na D-alanin
 - na spojení molekul D-ala-D-ala

Poškození syntézy cytoplazmatické membrány

Polypeptidy
Antimykotika

(colistin, polymyxin, tyrotricin)
polyenového charakteru
azolová
allylaminové thiokarbamáty

- U antibiotik této skupiny - **irreversibilní baktericidní efekt**
- Mechanismus účinku především prostřednictvím:
 - narušení bariéry (únik důležitých složek - aminokyselin, purinů a pyrimidinů)
 - narušení osmotické stability bakteriální buňky,
 - v návaznosti také ovlivňuje syntézu NK a buněčné stěny

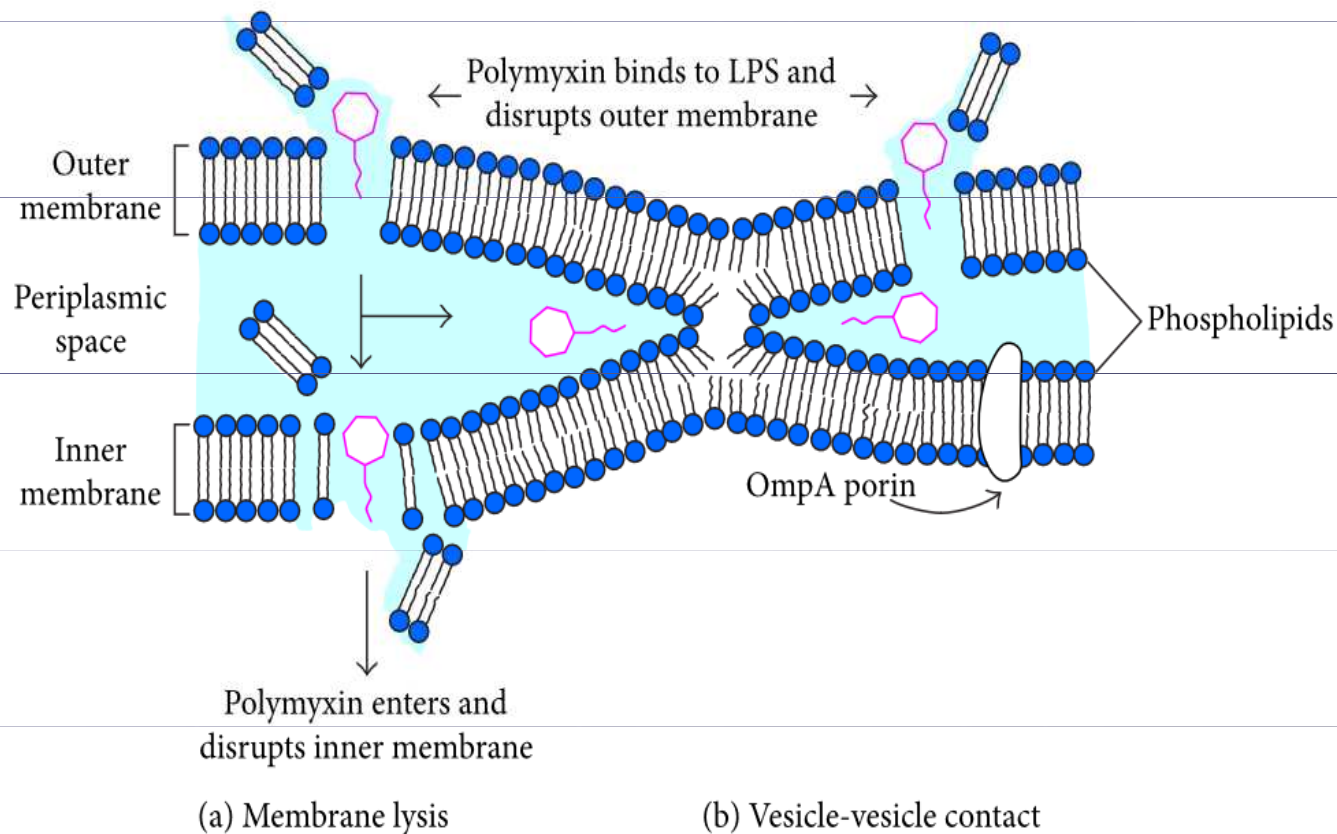
Polypeptidy

- Působí na fosfolipidickou část cytoplazmatické membrány a narušují její propustnost (ztráta selektivní permeability a integrity)...
Polymyxiny i účinek na LPS (viz schéma)
- Účinkují na membrány G- bakterií (... ALE...
viz další snímky)
- K dosažení baktericidního efektu není nutné, aby buňka byla ve stádiu růstu.

Polymyxiny

- Polymyxin B
- Kolistin

Antibacterial mechanisms of polymyxin: (a) classic mechanism of membrane lysis [9]; (b) alternative mechanism of vesicle-vesicle contact [39, 40]. The polymyxin is colored as magenta. LPS: lipopolysaccharide.



- a) Molekula polymyxinu se naváže na LPS a naruší integritu buněčné membrány (jak vnější tak vnitřní vrstvy)
- b) Může také dojít k narušení integrity tzv. „vesicle-vesicle“ kontaktem (vazba na fosfolipidovou složku, ztráta balance lipidů, narušení osmotické stability buňky).

Polymyxiny a kolistin

- **primární účinek na cytoplazmatickou membránu** - s ohledem na svoji povahu (především díky polaritě) jsou schopny přímo vyvolat rozrušení cytoplazmatické membrány.
- přestože je prozatím tento mechanismus účinku považován za zásadní, se hovoří o dalších mechanizmech, které v důsledku vedou k usmrcení bakterie (baktericiditě) – **účinek na respiraci, na ribozómy, na buněčné dělení, na sekreční mechanismy** (tzv. mechanismus **ExPortal** ... např u streptokoků ... toto by bylo poměrně průlomové, pokud by se prokázalo, protože by to znamenalo, že polymyxiny mohou zasáhnout i grampozitivní koky

Tyrotricin

- Je tvořen dvěma polypeptidy - gramicidinem a tyrocidinem.
- Poškozuje buněčnou membránu bakterií vytvářením pórů.
- Účinek rozšířen i na G⁺ a houby.
- Nelze použít systémově pro hemolytické účinky => **lokální** použití.

Polyeny

- Zasahují steroly přítomné pouze v membránách kvasinek a plísní, proto jsou selektivně účinné na tyto mikroorganismy.
- Se steroly tvoří komplexy s detergentním účinkem, který vede k narušení a až efektu rozpuštění membrány.

Azolová antimykotika

- Antimykotika, inhibující enzymy konečné fáze syntézy ergosterolu v cytoplazmatické membráně hub
- !!! Nekombinovat imidazoly a polyeny, zabranou syntézy sterolů imidazoly, totiž následně chybí receptory pro vazbu polyenů

Allylaminové thiokarbamáty

- výsledný pokles ergosterolu a akumulace squalenu narušuje membránové struktury a transport živin.

Inhibice proteosyntézy

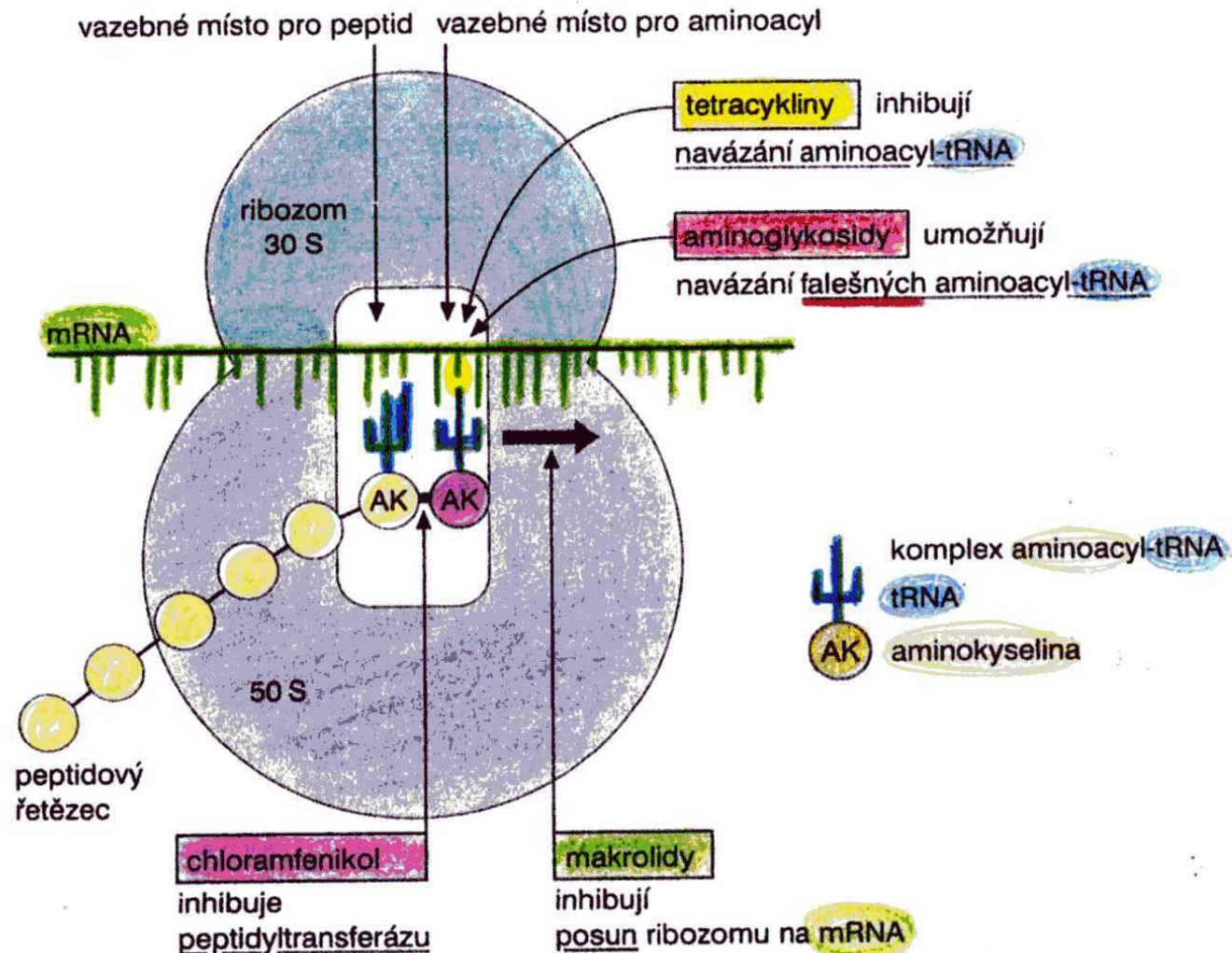
Aminoglykosidy, chloramfenikol, tetracykliny,
makrolidy a linkosamidy, kyselina fusidová

oxazolidinony- linezolid a eperelinezolid

- Rozdílné složení ribozómů eukaryot a prokaryot :
 - menší toxicita antibiotik působících selektivně na narušení proteosyntézy bakterií, které mají ribozómy disociované do jednotek 50 S a 30 S (celkově 70 S) - u vyšších organismů jednotky 60 S a 40 S (celkově 80S)

Inhibice proteosyntézy

- Antibiotika s **irreversibilním baktericidním efektem** působící na proteosyntézu
 - Aminoglykosidy
- Antibiotika s **reversibilním bakteriostatickým efektem** působící na proteosyntézu
 - Chloramfenikol
 - Tetracykliny
 - Makrolidy
 - Linkosamidy
 - Mupirocin
 - Kyselina fusidová



Obr. 16.5 Mechanismus účinku látek inhibujících proteosyntézu v bakteriích. Na ribozomu bakterií se syntetizuje peptidový řetězec podle mRNA, která má funkci matrice. Aminokyseliny se sem přivádějí ve formě komplexů aminoacyl + tRNA, a v oblasti vazebného místa pro aminoacyly na ribozomu se pak vážou na aktuálně nabízené triplety bází mRNA. Prodlužující se peptidový řetězec je – v oblasti vazebného místa ribozómu pro peptidy – spojen s mRNA prostřednictvím komplexu aminoacyl + tRNA té (nyní již „staré“) aminokyseliny, která právě před-

tím již byla k peptidu připojena. „Nová“ aminokyselina, aktuálně lokalizovaná na vazebném místě pro aminoacylovou skupinu, se působením peptidyltransferázy připojí k peptidovému řetězci. Při tom se tRNA nyní již předposlední („staré“) aminokyseliny uvolní. Nově navázaný komplex aminokyselina + tRNA se posune na peptidové vazebné místo, ribozom se tak vůči mRNA posune o jeden triplet bází. Tím se uvolní vazebné místo pro aminoacylovou skupinu a může proběhnout další krok syntézy.

Aminoglykosidy - I

Např.: Streptomycin, kanamycin, neomycin, gentamicin, amikacin aj.

- Bakterie přijímají aminoglykosidy prostřednictvím aktivního transportního systému pro bazické oligopeptidy.
- Atakují 30 S ribozomální podjednotku, způsobují **chybné čtení genetické informace a tím vznik defektních proteinů**, vlivem chyby v jedné aminokyselině proteinové struktury => narušení schopnosti proteinu nabýt odpovídající konformaci nutnou pro jeho enzymatickou nebo strukturální funkci.
- Vlivem hromadění defektních proteinů v buňce pak dochází často i k **poruchám permeability a respirace ...** proto jsou aminoglykosidy jako jediné ze skupiny atakující proteosyntézu **baktericidní**
- Zvyšování koncentrace aminoglykosidu vede k **irreverzibilní baktericiditě**.
- Pro vazbu na ribozomální podjednotku je nutná specifická bílkovina, která u rezistentních mutant chybí

Aminoglykosidy - II

- primárním mechanismem účinku: atak na ribozóm a tedy proteosyntézu (místo vazby je A-vazebné místo 16 S ribozomální RNA v rámci 30S podjedn ribozómu bakteriální buňky).
- **Důsledek I** => **chybná translace** (nesprávně přečtené/přeložené kodony aminoacylové transferové RNA).
- **Důsledek II** => jsou **chybné proteiny** (protože v rámci polypeptidového řetězce dojde k zařazení nesprávných aminokyselin) => např. **chybná konformace enzymu či jiného „funkčního či stavebního“ proteinu**, až možnost funkčního selhání ... včetně např. poškození **vnější buněčné membrány** (toto je tedy vlastně následek onoho primárního ataku na ribozóm a chybné proteosyntézy) a celkově potom ono narušení proteosyntézy a výsledné defektní proteiny vedou až k baktericiditě.

Mechanismus účinku streptomycinu

- Streptomycin se pevně váže na fosfátovou „páteř“ 16S rRNA. Toto unikátní vazebné místo se nepřekrývá s místy jiných aminoglykosidů, které mají všeobecně více vazebných míst. Důsledkem toho změna v jediné AK v proteinu S12 vyvolá vysokou rezistenci ke streptomycinu, ale ne k ostatním aminoglykosidům.

Amfenikoly

Chloramfenikol, florfenikol, thiamfenikol

- Stereospecifická vazba na 50 S podjednotku a účinek na enzym (peptidyltransferáza), který přenáší rostoucí řetězec AK.
- Konkrétně je blokováno napojení komplexu tRNA + nové aminokyseliny na prodlužující se peptidový řetězec.
- Nenarušuje tvorbu polyribosómů .
- V terapeutických dávkách zasahuje do metabolismu tuků inhibicí účinků esteráz.

Tetracykliny

Tetracyklin, doxycyklin, oxytetracyklin,
chlortetracyklin

- Vazba na 30 S podjednotku, interference s aminoacyl-t-RNA v iniciačním komplexu (vazby na m-RNA-ribosóm) , blok připojovaných AK.
- Narušení tvorby polyribosómů
- Výrazná komplexotvornost s dvoumocnými kationty (především Ca^{2+}), vyblokování účinnosti.
- Bakteriostatické.

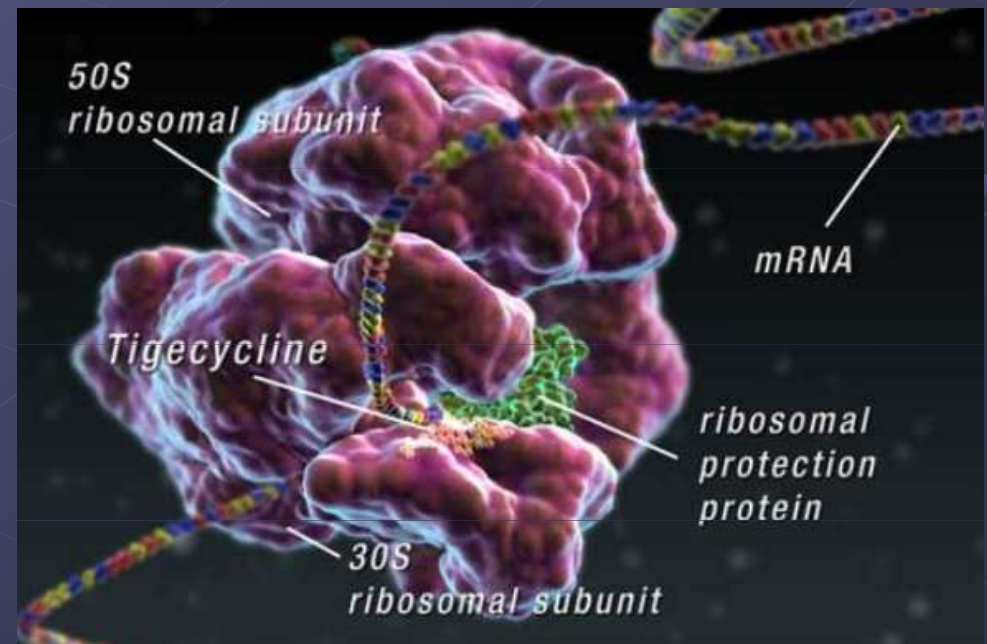
GLYCYLCYKLINY

(nová generace antibiotik příbuzná tetracyklinům)

Tigecyklin

Inhibice proteosyntézy

- vazba na 30S ribozomální podjednotku bakterie
- blokuje interakci aminoacyl-tRNA s cílovým místem A ribozómu



Makrolidy

Erytromycin, roxitromycin, spiramycin, kltasamycin, klaritromycin, josamycin, azitromycin

Veterinární : tylosin, oleandomycin, tilmikosin

- Působí na 50 S podjednotku ribosomu, zabraňuje pak posunu celého 70 S ribozomu k následujícímu kodonu mRNA, zabraňuje na polypeptidovém stupni pokračování proteosyntézy (uspořádání pořadí AK), nižší koncentrace bakteriostatické, vyšší baktericidní

Linkosamidy

linkomycin, klindamycin

- Vazba na 50 S ribozomální podjednotku.
- Vyvolává disociaci polyribosómů na 30 a 50 S podjednotky
- Bakteriostatický efekt, zesílený alkalickým a anaerobním prostředím.
- Zkřížená R s makrolidy.

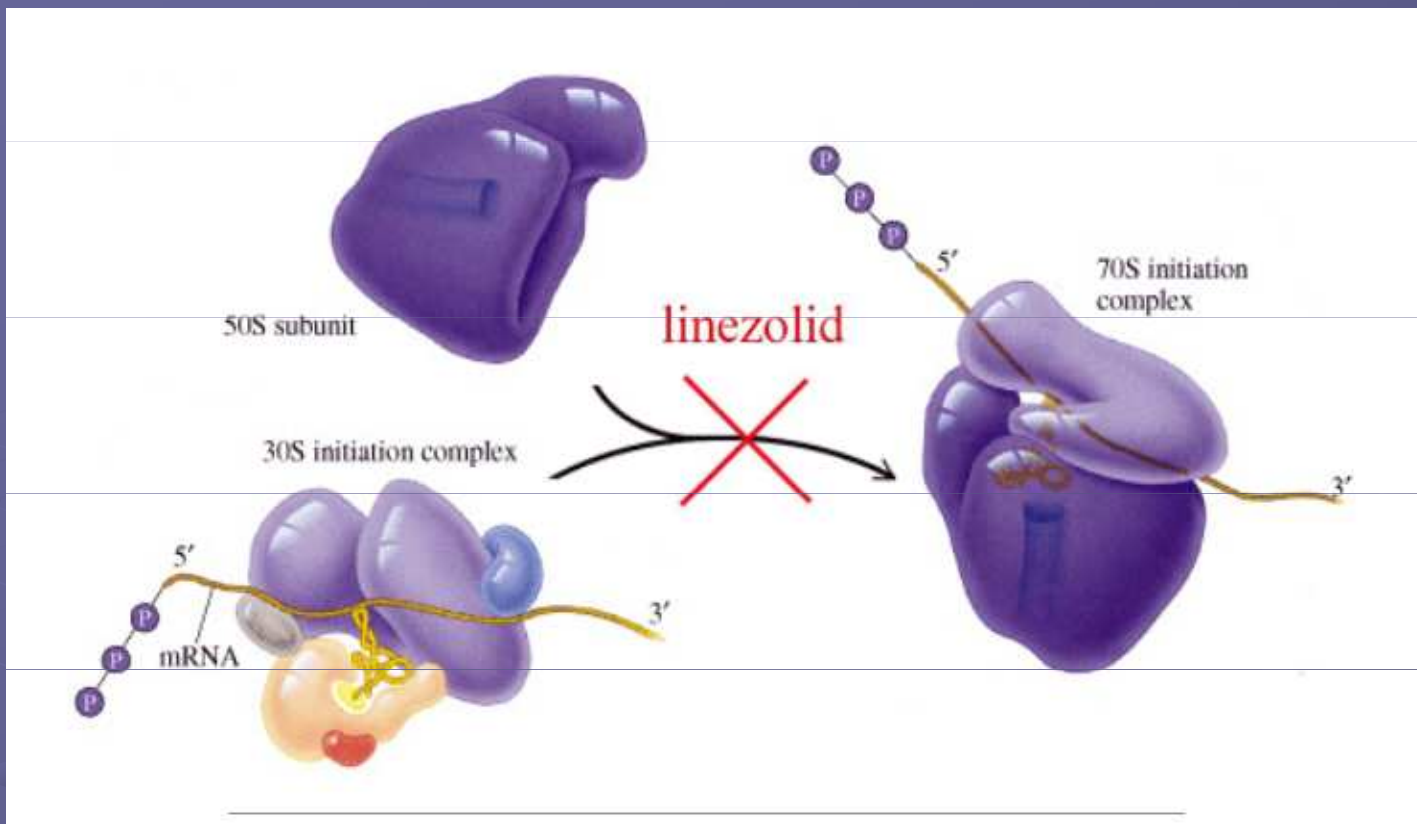
Linkosamidy, dalfopristin, quinupristin

- Podle nejnovějších studií tyto látky na rozdíl od chloramfenikolu neinterferují s enzymem peptidyltransferázou, ale spíše **blokují vstup do ribozomálního „tunelu“**, kterým vznikající peptidy opouštějí peptidyltransferázové centrum.
- V případě makrolidů a quinupristinu může bakteriální ribozóm syntetizovat krátký peptidický řetězec, ale jeho elongace je zastavena buď na vstupu (už nemohou vstoupit další AK k připojení) nebo na konci (blokování narůstajícího řetězce) výstupního ribozomálního „tunelu“.

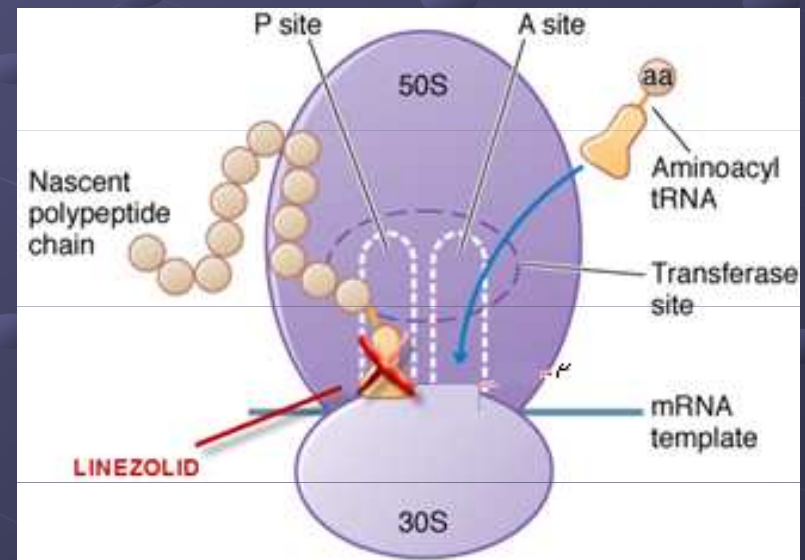
Oxazolidinony

linezolid a eperezolid

- Tlumí iniciaci proteosyntézy tvorbou ternárního komplexu složeného z ribozómu, mRNA a startovní tRNA
- Zasahují proteosyntézu vazbou na 23S rRNA v rámci 50S podjednotky,
- Bakteriostatické působení proti G+.



<http://www.chm.bris.ac.uk/motm/linezolid/linezolid.htm>



<http://www.antibiotics-info.org/linezolid.html>

MLSKO

- Chcete si zapamatovat skupinu antibiotik, která se váže na 50S podjednotku ribozómu a mechanismem účinku je blokování proteosyntézy – toto je oficiální anglický výraz pro tuto skupinu?

makrolidy

linkosamidy

streptogramin

ketolidy

oxazolidinony

Téměř všechna atb účinkující na proteosyntézu MLASKOT

(makrolidy, linkosamidy, amfenikoly, streptogramin, ketolidy, oxazolidinon, tetracykliny)

Mupirocin

- Kyselina pseudomonová A
- Inhibice proteosyntézy znemožněním vazby izoleucinu na tRNA a tím znemožnění využití této AK pro proteosyntézu.

Kyselina fusidová

- Obsahuje steroidní strukturu a tím se odlišuje od všech ostatních atb.
- Inhibuje posun ribozómu na mRNA po proběhlé reakci peptydyltransferázy
- Interferuje s elongačním faktorem G, který katalyzuje přesun narůstajícího polypeptidového řetězce ribozomálním „tunelem“
- Bakteriostatické působení proti G+.

Tiamulin, avilamycin, spectinomycin

- **Tiamulin** se váže na 50 S ribozomální podjednotku a zabraňuje správné pozici substrátu.
- **Avilamycin** vazebné místo na 23S rRNA a interference s iniciačním faktorem IF2, který stimuluje vazbu fMet-tRNA na 30S podjednotku na počátku translace.
- **Spectinomycin** inhibuje translokaci peptidyl-tRNA. Jeho účinek je bakteriostatický.

Poruchy syntézy nukleových kyselin

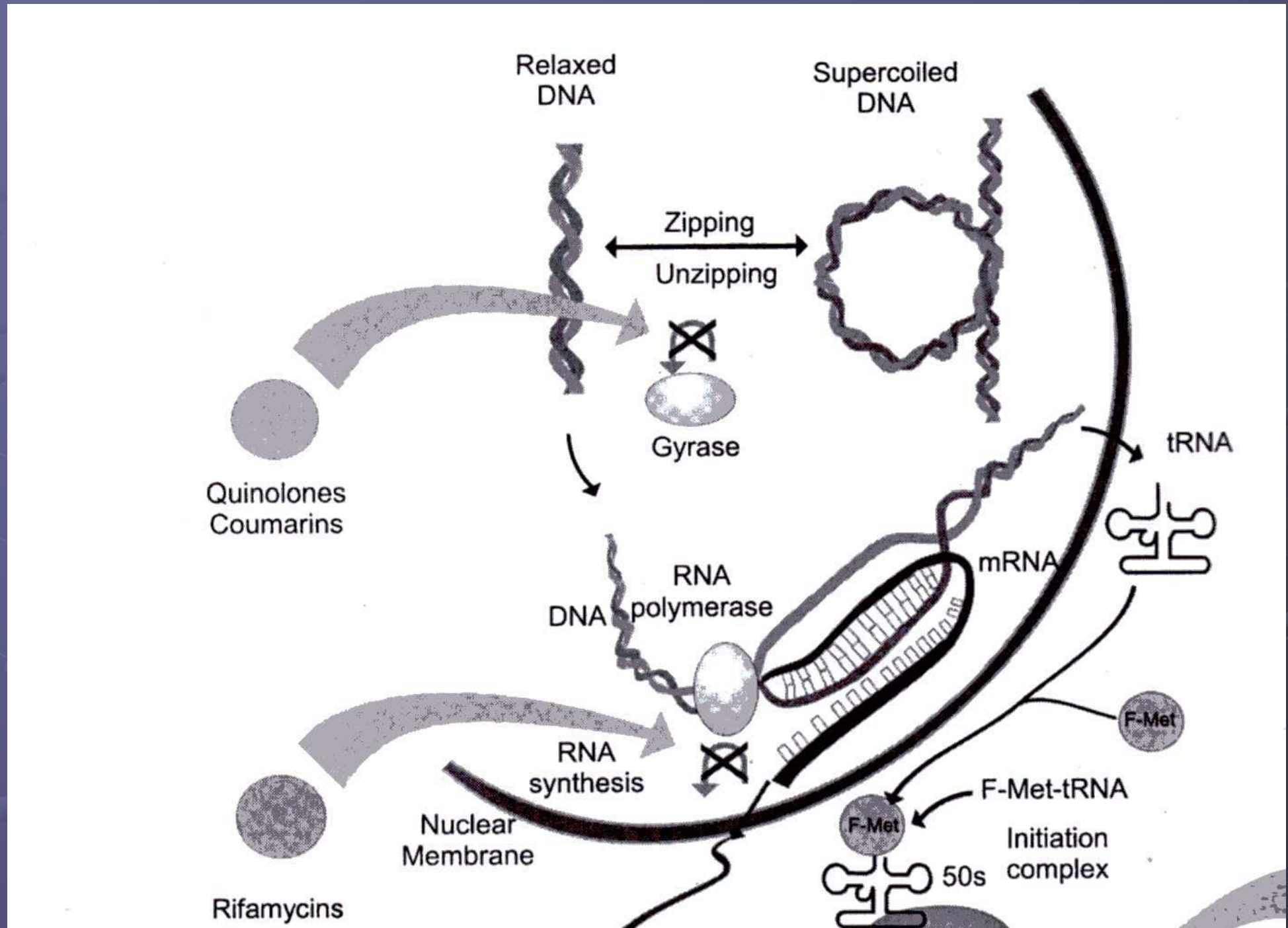
● Interference s DNA bakterií

- INHIBITORY DNA-gyrázy
 - chinolony
 - novobiocin
- VAZBA na bakteriální DNA
 - nitroimidazoly (metronidazol)
 - nitrofurantoin

● Interference s RNA

- INHIBICE syntézy RNA
 - ansamyciny
- INHIBICE transkripce RNA polymerázy
 - thiacuminy (fidaxomicin)

Poruchy syntézy nukleových kyselin



Chinolony

- **Nefluorované** k. nalidixová, k.oxolinová, (I)
cinoxacin, kys. Pipemidová (II)
- **Fluorované**
 - humánní : ciprofloxacin, pefloxacin, levofloxacin, ofloxacin,
 - veterinární : enrofloxacin, marbofloxacin, ibafloxacin, sarafloxacin, orbifloxacin, pradofloxacin aj.
- **Ostatní** flumechin

● Pro účinek chinolonů je důležitý dobrý průnik poriny a afinita DNA- gyrázy.

● Nemají afinitu k lidské DNA gyráze

Chinolony - pokračování

- Účinkuje prostřednictvím vazby na komplex DNA a DNA gyrázy (topoizomeráza II) a na topoizomerázu IV, což vede k zábraně replikace bakteriálního chromozómu tím, že narušuje prostorovou strukturalizaci DNA (nové poznatky tvrdí, že se v buňce hromadí komplexy chinolon-DNA-DNAgyráza)
- **DNA-gyráza** je hlavním cílem zásahu chinolonů u **gramnegativních** mikroorganismů
- **Topoizomeráza IV** je hlavním cílem u **grampozitivních** mikroorganismů

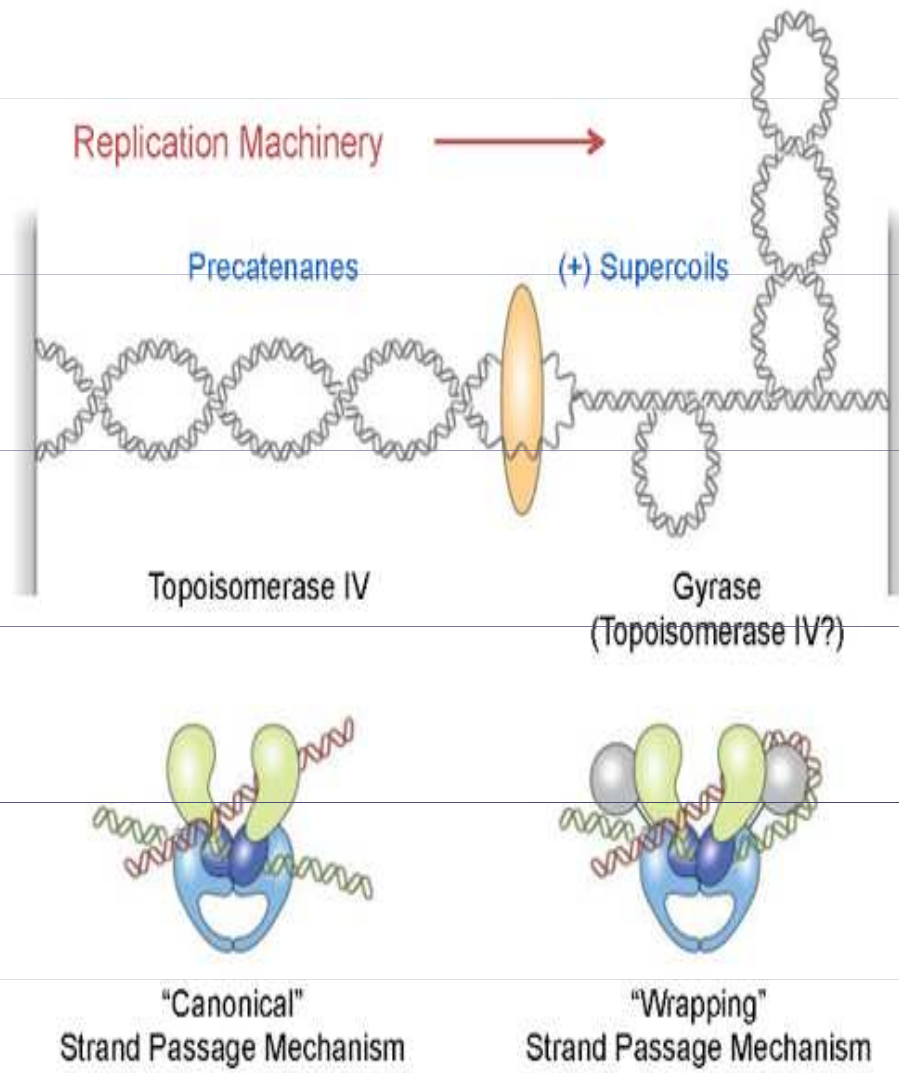


Figure 1. Cellular functions and DNA strand passage mechanisms of gyrase and topoisomerase IV. Gyrase removes positively supercoiled DNA ahead of the replication machinery and also introduces negative supercoils into...

Published in Nucleic acids research 2017

Activities of gyrase and topoisomerase IV on positively supercoiled DNA

Rachel E. Ashley, Andrew Dittmore, Sylvia A. McPherson, Charles L. Tumbough, Keir C Neuman, Neil Osheroff

Novobiocin

- Patří mezi kumariny.
- Primárně atakuje DNA- gyrázu a sekundárně topoizomerázu IV.
- Mechanismus účinku je ale úplně odlišný od chinolonového, protože je zde **kompetitivní inhibice** ATP na ATP vazebném místě DNA GyrB a ParE
- Názorná ukázka prolínání skupin rozdělení ...
účinek na DNA a zároveň kompetitivní inhibice

Nitroimidazoly

Metronidazol

- Baktericidní účinek na anaerobní bakterie, kumuluje se v buňce.
- Zasahuje do metabolismu citlivých bakterií jako akceptor elektronů, čímž redukuje nitroskupinu na hydroxylaminovou skupinu, která vytváří komplex s DNA, anebo přerušuje a poškozuje vlákna DNA.

Nitrofurantoin

- V bakteriální buňce účinkuje patrně redukcí na aktivní metabolity, které poškozují bakteriální DNA.
- Efektivních koncentrací dosahuje v moči.

Ansamyciny

rifamycin, rifampicin (strukturální modifikace rifamycinu SV)

- Zabránění syntézy DNA dependentní m-RNA polymerázy.
- Účinkuje před zahájením transkripce, pak už neúčinkuje,
- Je velmi rychlý jedноступňový vývoj rezistentních mutant, kterému lze částečně bránit kombinací s jinými atb

Kompetitivní inhibice

- Inhibice syntézy kyseliny listové
 - Kyselina tetrahydrolistová je potřebná pro syntézu purinů a tymidinu, kterou vstupují do syntézy DNA a RNA jako stavení jednotky
 - Bakterie dovedou syntetizovat dihydrolistovou a tu redukovat na tetrahydrolistovou kyselinu – proces je narušován chemoterapeutiky chovajícími se jako kompetitivní inhibitory
- Jsou bakteriostatické.

Kompetitivní inhibice

- **Sulfonamidy**

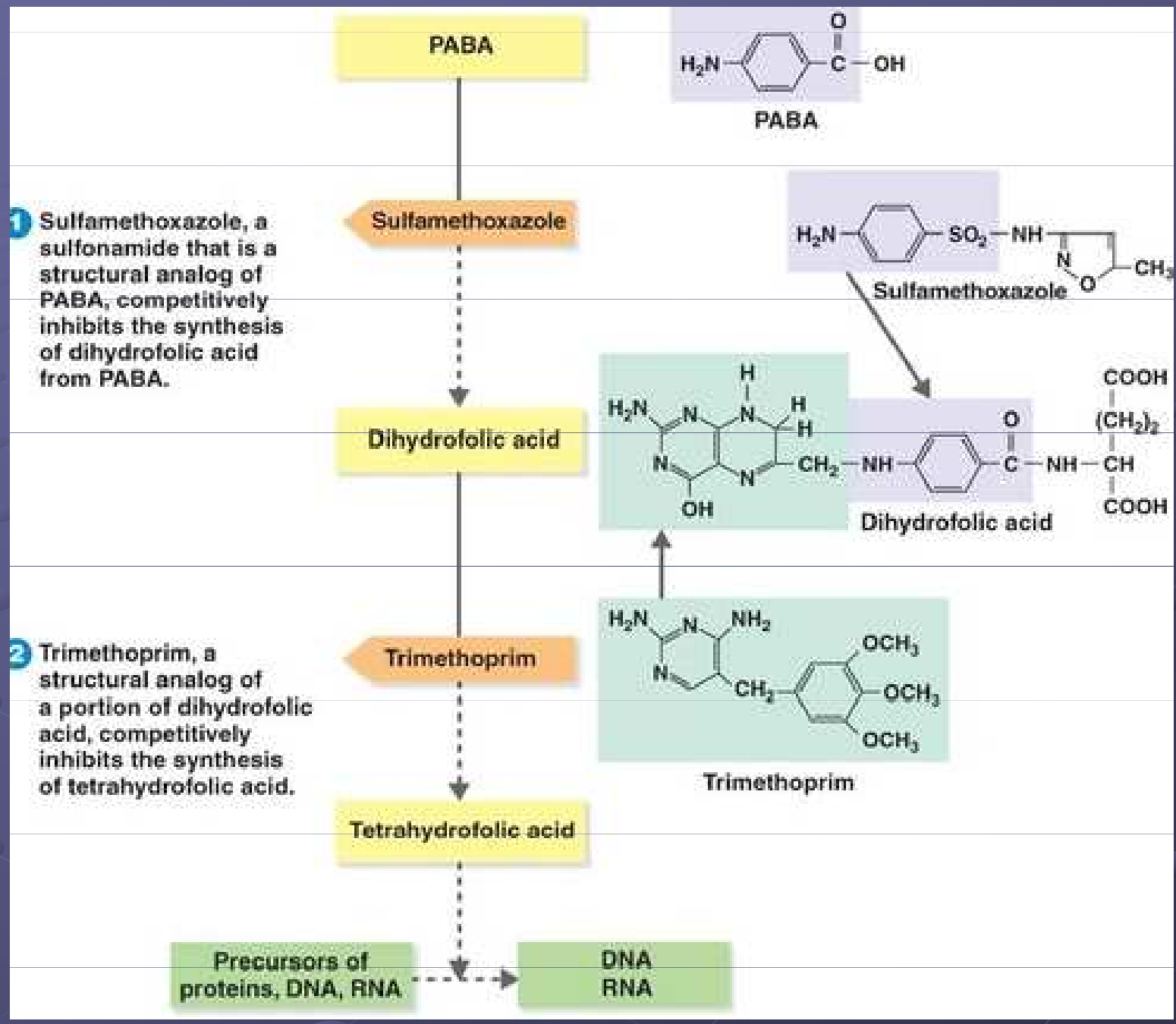
inhibují syntézu kyseliny dihydrolistové kompeticí s p-aminobenzoovou kyselinou

- **Trimetoprim**

blokuje syntézu tetrahydrofolátu prostřednictvím inhibice enzymu dihydrofolát reduktázy

- **Dapson**

interferuje se syntézou kyseliny listové



Kompetitivní inhibice

● Isoniazid

- může narušit metabolismus kyseliny nikotinové a tím funkce NAD
- Ovlivnění funkčnosti NAD zasahuje např. do syntézy kyseliny mykolové – součást buněčné stěny mykobakterií

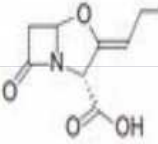
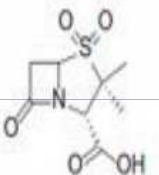
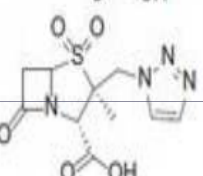
Inhibitory beta-laktamázy (I)

Účinek na betalaktamázu

(a sebezničení inhibitoru ireverzibilním vyvázáním na enzym beta-laktamázu v oblasti **serinu**)

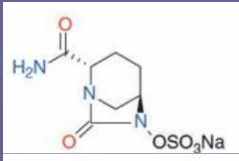
kyselina klavulanová, subaktam, tazobaktam

- Přirozený původ
- analogická struktura s beta laktamy
- minimální antibakteriální aktivita
- ireversibilní vazba enzymem
- omezená inhibice širokospektrých enzymů : (ESBL, AmpC, KPC, MBL)

Name	Structure	Subclass	Partner β -lactam	Approval date ^a
Clavulanic acid ^b		Clavam	Amoxicillin	1984
Sulbactam ^c		Penicillanic acid sulfone	Ampicillin	1986
Tazobactam		Penicillanic acid sulfone	Piperacillin Ceftolozane	1993 2014

Inhibitory beta-laktamázy (II)

Účinek acylací-příklady:



Avibaktam:

Účinnost včetně KPC a ESBL, AmpC

Částečná účinnost OXA-48

Neúčinný na MBL

Kombinace s ceftazidimem, aztreonamem, ceftarolinem

Avibaktam na betalaktamázu váže reverzibilně a po acetylaci enzymu je uvolněn nezměněný, což ho činí velmi stabilním vůči hydrolýze betalaktamázy.

K inhibici beta-laktamázy stačí pouze 1–5 molekul avibaktamu oproti > než 50 molekulám u tazobaktamu či klavulanová.

Vaborbaktam:

Účinnost včetně KPC a ESBL, AmpC

Částečná účinnost OXA-48

Neúčinný na MBL

Kombinace s meropenemem

- Nová generace, nové molekuly
- Diazabicyklooktany a deriváty kyseliny boronové
- Vyšší vazebná kapacita beta laktamáz
- Široké spektrum inhibičního potenciálu včetně karbapenemáz
- Reversibilní vazba (A)

Inhibitory beta-laktamázy a kombinace s antibiotikem spektrum účinku

Tab. 5 Přehled kombinací betalaktamových antibiotik s inhibitory betalaktamáz registrovaných či ve fázi vývoje

inhibitor betalaktamázy	betalaktamové antibiotikum	multirezistentní <i>Enterobacterales</i>					MDR PSAE	MDR ACSP	indikace/potenciální indikace
		karbapenemázy							
		ESBL	AmpC [*]	A ^{**}	B ^{**}	D ^{**}			
inhibitor s penicilinovým antibiotikem									
kyselina klavulanová	amoxicilin	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	komplikované infekce
sulbaktam	ampicilin	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	komplikované infekce
tazobaktam	piperacilin	ne	ne	ne	ne	ne	ne	ne	komplikované infekce
inhibitor s cefalosporinem									
tazobaktam	ceftolozan	ano	ano	ne	ne	ne	ano	ne	cUTI, cIAI
avibaktam	ceftazidim	ano	ano	ano	ne	ano	ano	ne	cUTI, cIAI, HAP+VAP, BSI
	ceftarolin	ano	ano	ano	ne	ano	ne	ne	cUTI
zidebaktam	cefepim	ano	ano	ano	ano	ano	(ano)	(ano)	komplikované infekce
VNRX-5133	cefepim	ano	ano	ano	ano	ano	ano	ne	komplikované infekce
inhibitor s karbapenemem									
vaborbaktam	meropenem	ano	ano	ano	ne	ne	ne	ne	cUTI, cIAI, HAP+VAP, BSI
relebaktam	imipenem/cilastatin	ano	ano	ano	ne	ano	ano	ne	cUTI, cIAI, HAP+VAP
nacubaktam	meropenem	ano	ano	ano	ne	ano	ano	ne	cUTI

ACSP – *Acinetobacter* species;
 BSI – infekce krevního řečiště, bloodstream infection; cIAI – komplikované nitrobršňní infekce, complicated intraabdominal infection; cUTI – komplikované infekce urogenitálního traktu, complicated urinary tract infection; ESBL – širokospektrá betalaktamáza, extended-spectrum beta-lactamase; HAP – pneumonie spojené s nemocniční péčí, hospital-acquired pneumonia; MDR – multirezistentní, multi-drug resistant; PSAE – *Pseudomonas aeruginosa*; VAP – ventilátorová pneumonie, ventilator-associated pneumonia

Podle [23,24] – Jean, et al., 2019; Montravers, et al., 2018

* cefalosporinázy – klasifikace betalaktamáz dle Amblera: třída C

** klasifikace betalaktamáz dle Amblera: skupina A – serinové karbapenemázy (KPC, IMI, SME); skupina B – metalobetalaktamázy (IMP, NDM, VIM); skupina D (OXA)

Spektrum aktivity běžných antimikrobiálních léčiv

Tabulka 1 -1 :

Spektrum aktivity běžných antimikrobiálních léčiv

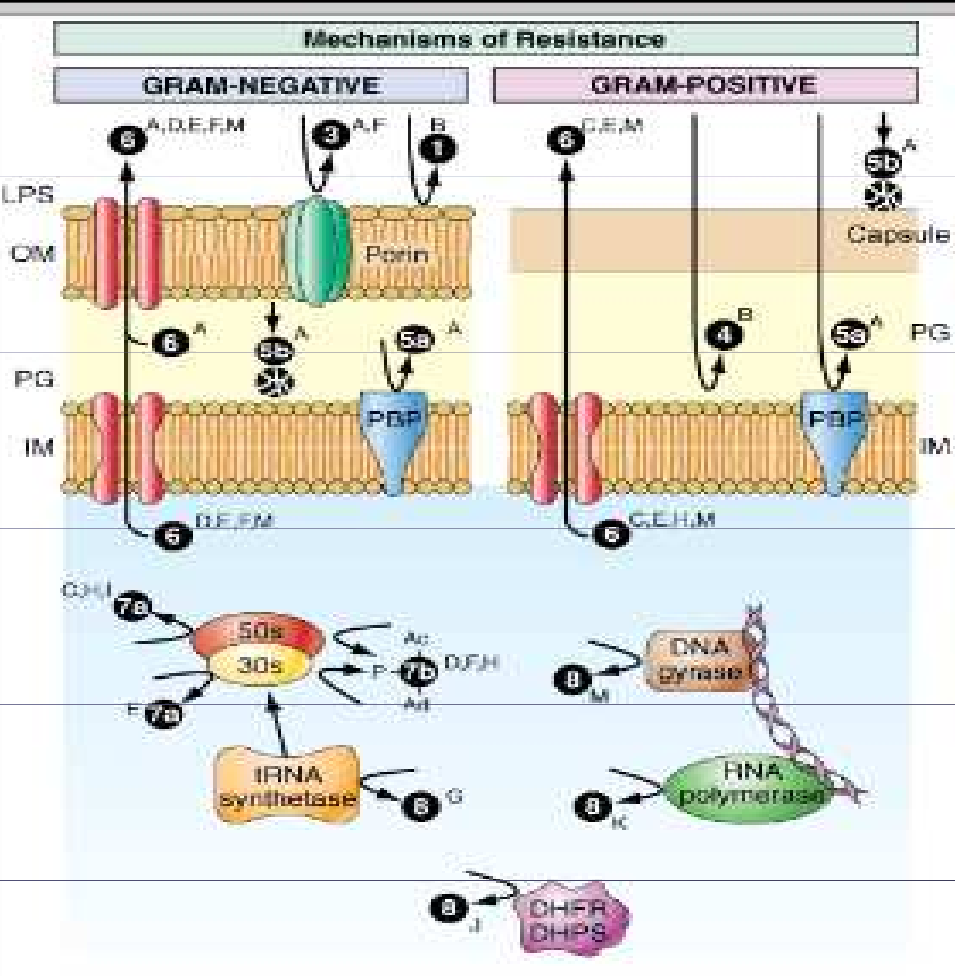
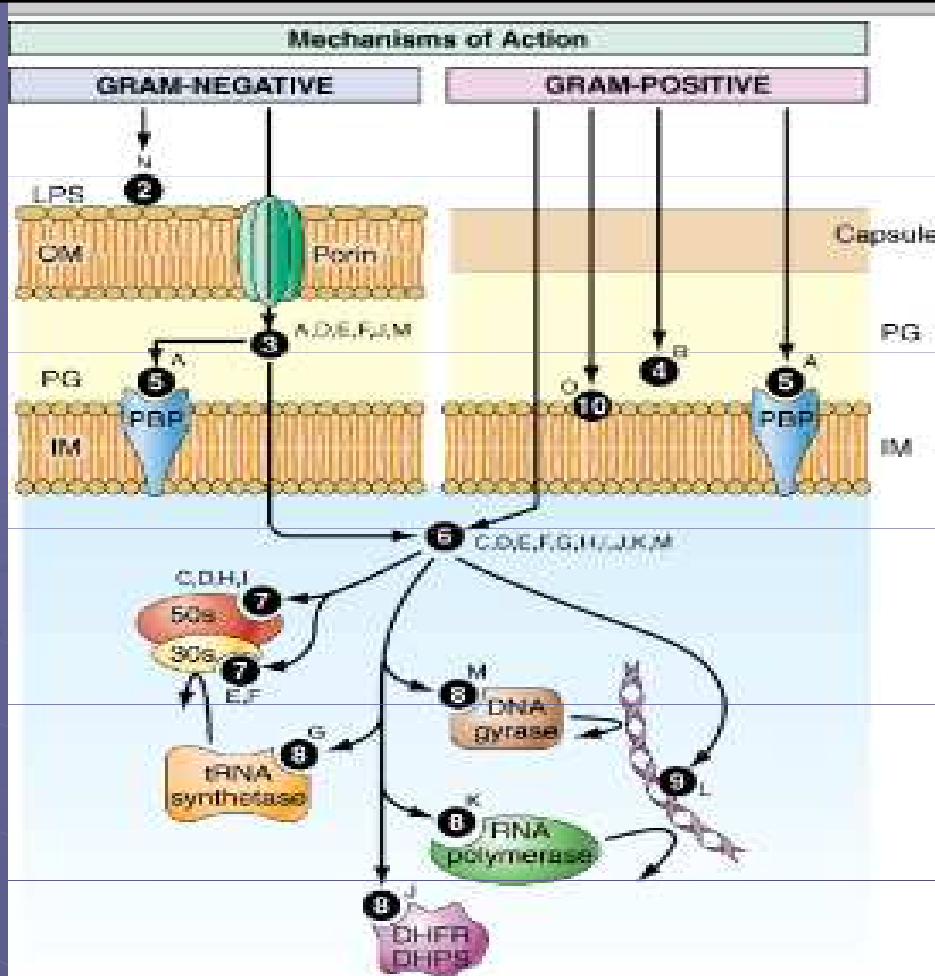
	Skupina mikroorganismů					
	Baktérie	Plísně	Mykoplazmata	Rickettsie	Chlamydie	Protozoa
Aminoglykosidy	+	-	+	-	-	-
Beta-laktámy	+	-	-	-	-	-
Chloramfenikol	+	-	+	+	+	-
Fluorochinolony	+	-	+	+	+	-
Linkosamidy	+	-	+	-	-	+
Makrolidy	+	-	+	-	+	-
Pleuromutiliny	+	-	+	-	+	-
Tetracykliny	+	-	+	+	+	-
Sulfonamidy	+	-	+	-	+	+
Trimetoprim	+	-	-	-	-	+

Antibakteriální aktivita vybraných antibiotik

Tabulka 1 -2.:

Antibakteriální aktivita vybraných antibiotik

Spektrum	Aerobní bakterie		Anaerobní bakterie		Příklady
	Gram +	Gram -	Gram +	Gram -	
Velmi široké	+	+	+	+	Azlocilin; cefoxitin; chloramfenikol; imipenem; moxalactam; tetracykliny
Středně široké	+	+	+	(+)	Karbenicilin; cefoperazon; cefotaxim;ceftriaxon; I a II. generace cefalospor
	+	(+)	+	(+)	Ampicilin;amoxycilin
Úzké	-	+	-	-	Aztreonam; mecilinam; cefsulodin;polymyxin;
	+	(+)	+	(+)	Penicilin
	(+)	+	-	-	Aminoglykosidy; spektinomacin; sulfonamidy;trimetoprim;
	+	-	+	+	Linkosamidy; makrolidy; Pleuromutiliny; spiramycin; vankomycin;
	+	-	+	-	Bacitracin;
	-	-	+	+	Nitroimidazoly



- 2 Detergent action on lipid gram \ominus outer membrane.
- 3 Penetration of hydrophilic drugs through porin channels in gram \ominus outer membrane.
- 4 Free diffusion through gram \oplus cell envelope with binding to cell wall PG or
- 5 Binding to cell membrane PBP. Drug confined to space external to IM.
- 6 Diffusion or transport of drugs with intracellular target through IM.
- 7 Binding to ribosomal target for protein synthesis inhibition.
- 8 Antibiotic interaction with target protein leading to metabolic (DHFR, DHPS), protein synthetic (rRNA synthetase), or nucleic acid (DNA gyrase, RNA polymerase) abnormalities.
- 9 Direct interaction of reactive intermediates with nucleic acid.
- 10 Insertion into cell membrane, disrupting membrane potential.

- 1 Intrinsic resistance: Inability of antibiotic to penetrate gram \ominus envelope (e.g., vancomycin).
- 3 Mutant porin channels **decrease antimicrobial penetration**.
- 4 **Production of insensitive target** by acquired gene mediating production of altered peptidoglycan.
- 5a **Production of β -lactam-insensitive PBP target** by mutation of gene or acquisition of new gene.
- 5b **Inactivation of β -lactam antibiotic** by β -lactamases in periplasm (gram \ominus) or surrounding medium (gram \oplus).
- 6 **Active efflux** of drugs from cytoplasm or from gram \ominus periplasm.
- 7a **Decreased ribosomal binding** due to **target site alteration**.
- 7b **Inactivation of drug** by chemical modification leading to decreased ribosomal interaction.
- 8 **Mutation of target gene** or acquisition of new gene producing a **drug-insensitive target protein**.

Mechanismus účinku

ČAS

KONCENTRACE

PAE

Koncentrace vs. doba expozice

● Vysoké koncentrace:

- nebývají pro terapeutický efekt přínosné,
- často zatěžují nemocného riziky nežádoucích a toxických reakcí.

U řady antibiotik je pro **terapeutický efekt** důležitá doba expozice.

Podle **typu baktericidity** jsou antibiotika s účinkem závislým:

- na koncentraci a PAE* (fluorochinolony, polymyxiny, aminoglykosidy)
- na čase bez PAE (peniciliny, cefalosporiny, makrolidy, amfenikoly...)
- na čase i koncentraci (tetracykliny, ketolidy, glykopeptidy)

● PAE = postantibiotický efekt

„Hranice“ účinnosti

založené na vztazích koncentrace_čas_účinek

Př: **BETALAKTAMY – závislost na čase**

- i pokud koncentrace betalaktamu přesáhne 4 x MIC není vyšší či rychlejší baktericidita
- naproti tomu je-li **T > MIC** ... tedy čas, kdy jsou koncentrace nad MIC cca 40 – 50% intervalu mezi podáními, baktericidita narůstá) zejména u citlivých grampozitivních bakterií
- v případě citlivých gramnegativních je lépe je-li **T > MIC** cca 80 – 100% intervalu

Enrofloxacin (účinek usmrcení bakterií **závislý na koncentraci**, podstatné jsou zejména poměry C_{max} / MIC a AUC / MIC)

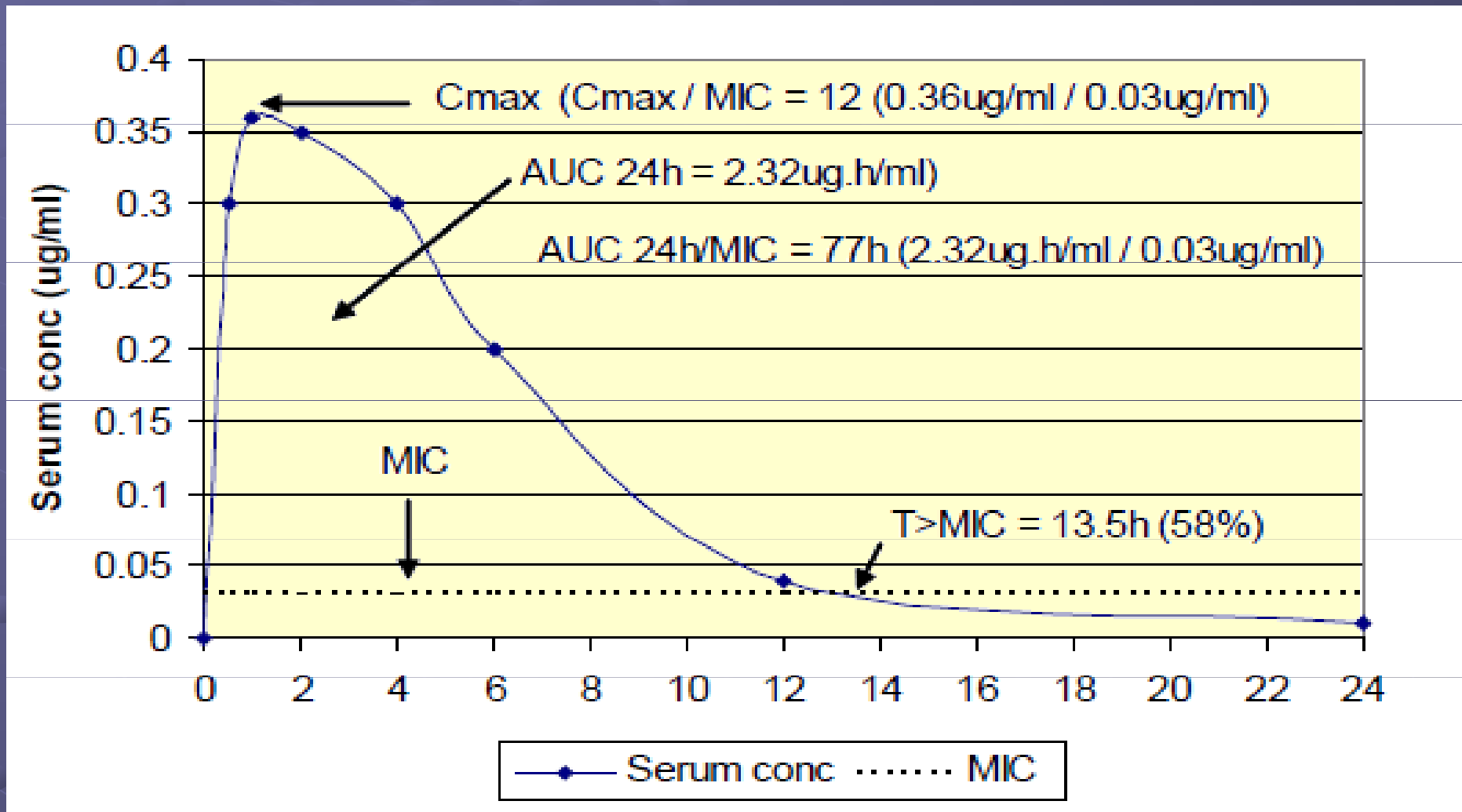


Figure 2. PK/PD integration relationship example for enrofloxacin and *Pasteurella multocida* (MIC 0.03 $\mu\text{g/ml}$) (Lees & Aliabadi, 2002)

MPC a MSW

Mutačně preventivní koncentrace (MPC)

- Je definována jako koncentrace, která neumožní získání libovolného mutanta z množství 10^{10} bakterií

Mutačně selekční okno (MSW)

- Je definováno jako koncentrace nacházející se v rozmezí MIC a MPC

Ideální terapie by měla zničit bakterie před tím, než koncentrace poklesne pod MPC a než dosáhne MSW

Model je dobře popsán u fluorochinolonů (enroflox):

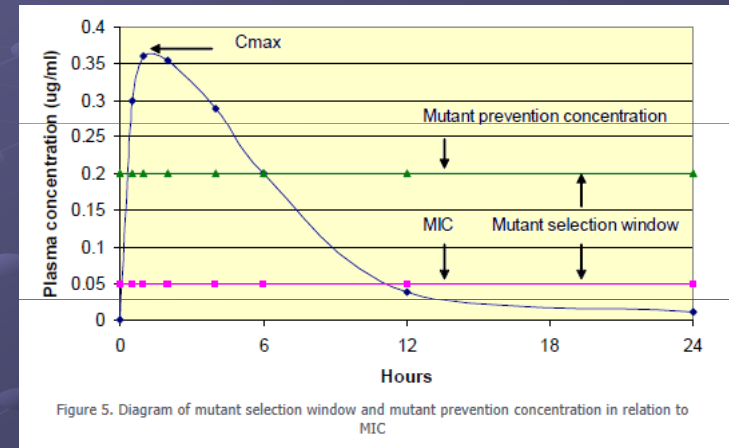
Pojmy důležité pro účinnost/rezistenci

MIC (Minimum Inhibitory Concentration)

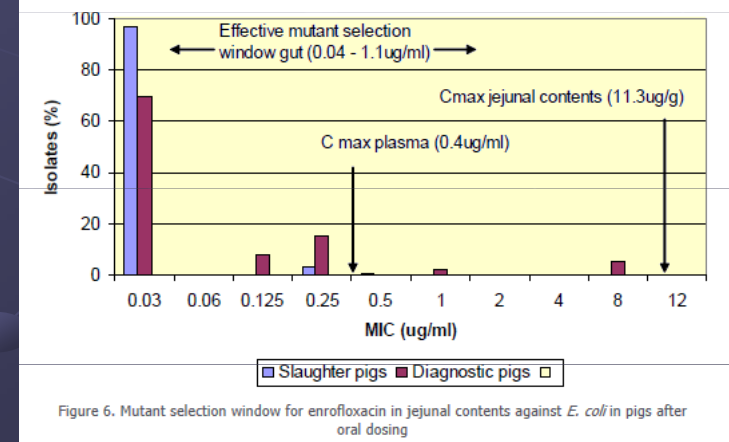
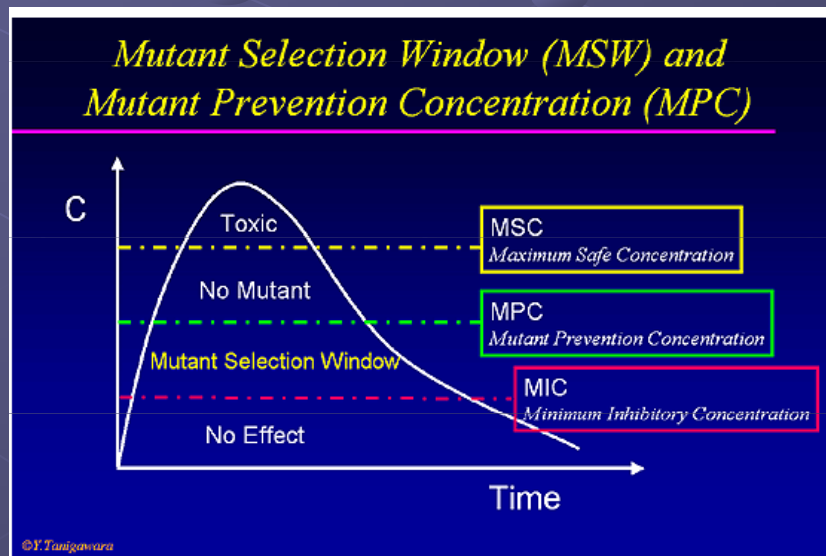
MBC (Minimum Bactericidal Concentration)

MPC (Mutant Prevention Concentration)

MSW (Mutant selection Window)



An example of this in veterinary medicine is enrofloxacin against *E. coli* infections in piglets. Wiuff et al. (2002) measured the concentrations of enrofloxacin in plasma and in gut contents after oral dosing piglets with 2.5mg/kg bodyweight. When this is compared with characteristic MIC susceptibility patterns of *E. coli*, one can see the concentrations in the jejunal contents would not only kill the wild types but also the first stage mutants (Figure 6).



Př: E.coli infekce-selata-jejunum vs enroflox 2,5 mg/kg ž.hm. p.o.

- porovnání koncentrace dosažené v jejunu s MIC E.coli => usmrcení populace divokých kmenů a mutantů prvního stupně
- čím více koncentrace překročí MPC tím menší je pravděpodobnost převládnutí mutantů v populaci, protože jsou inhibovány nebo zabity, mutanti se mohou objevit v koncentraci > MIC

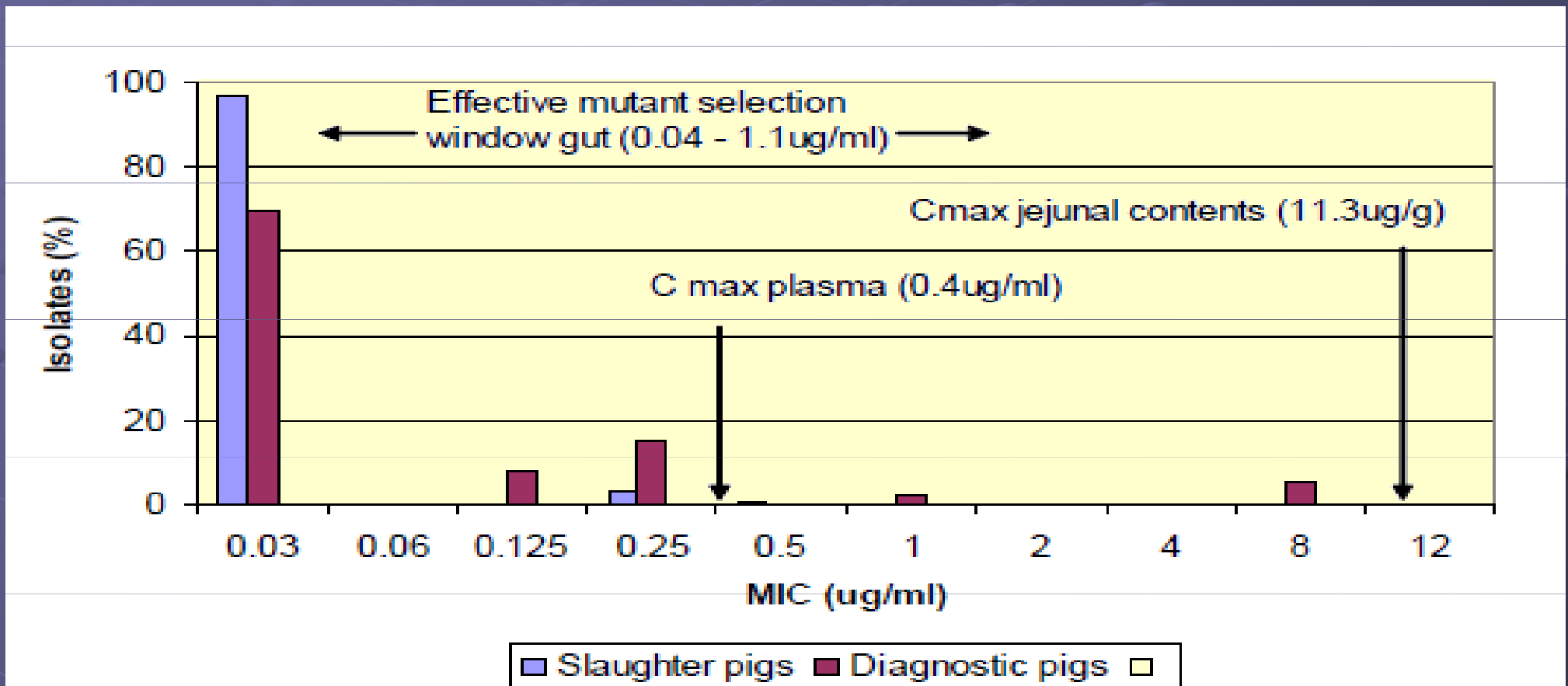


Figure 6. Mutant selection window for enrofloxacin in jejunal contents against *E. coli* in pigs after oral dosing