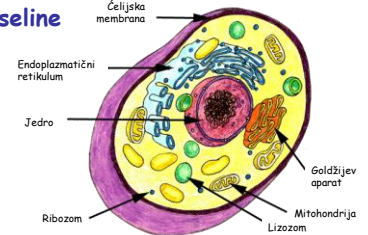


Ciljno mesto dejstva lekova

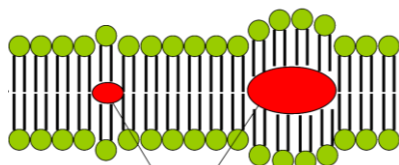
Na molekularnem nivoju:

1. lipidi
2. ogljikovi hidrati
3. nukleinske kisline
4. proteini

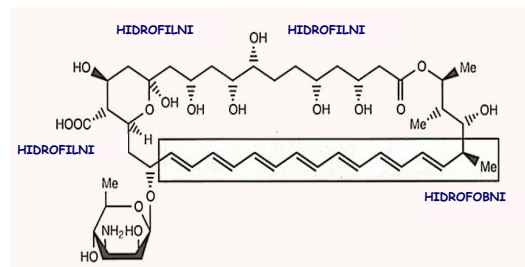


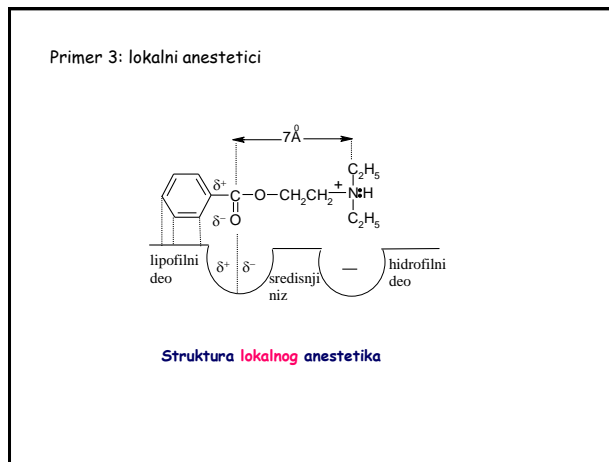
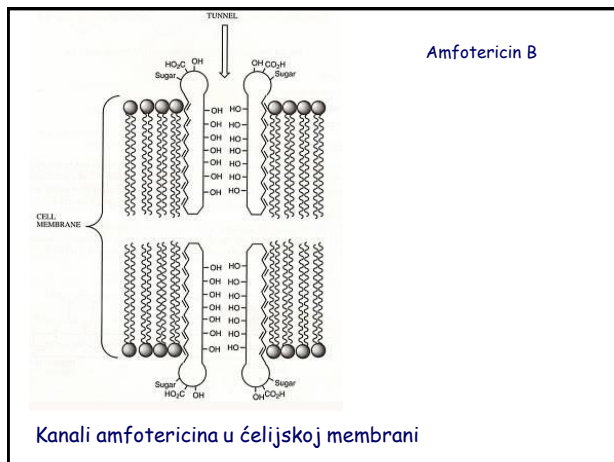
1. Lipidi

Primer 1: inhalacioni opšti anestetici, lipidna hipoteza



Primer 2: amfotericin B





2. Ugljeni hidrati

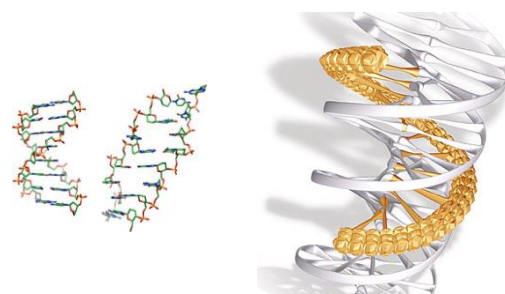


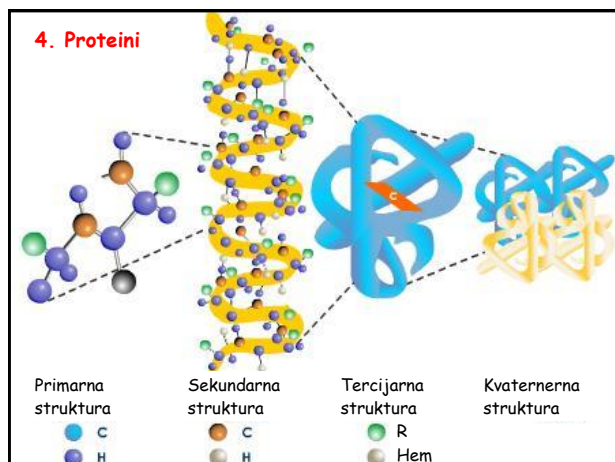
Samo nekoliko klinički korišćenih lekova deluje na ugljene hidrate.

- Ugljeni hidrati imaju ulogu u prepoznavanju ćelija, uglavnom kada su vezani u komplekse koji se nazivaju **glikokonjugati**.
- **Glikokonjugati** predstavljaju komplekse ugljenih hidrata sa:
 - proteinima (**glikoproteini**) ili
 - lipidima (**glikolipidi**)
- Uglavnom se lipidni ili proteinski deo kompleksa ugrađeni u ćelijsku membranu dok su ugljeni hidrati slobodni na spoljašnjoj strani membrane (na ovaj način ugljeni hidrati predstavljaju **molekulski obeleživač (tag)** koji označava i identifikuje ćelije.

3. Nukleinske kiseline

Primer: citotoksični agensi u terapiji kancera





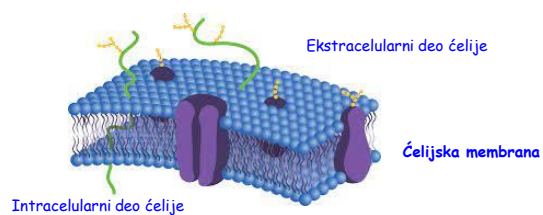
Uloga proteina

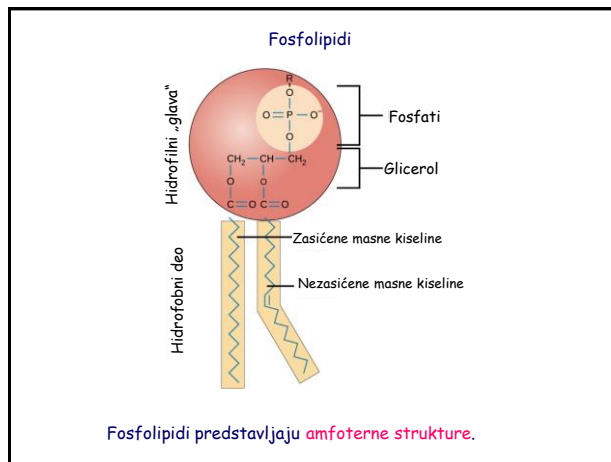
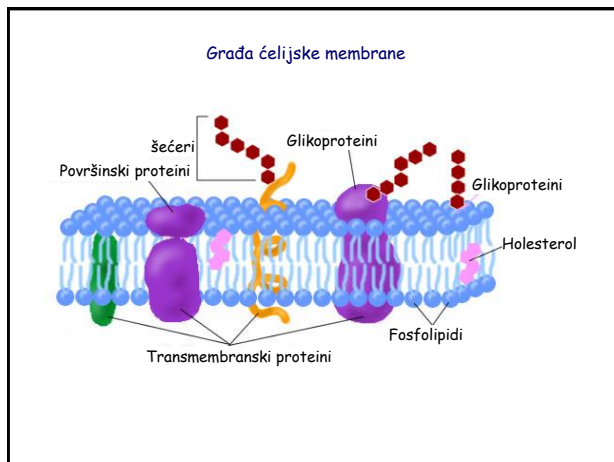
- Katalizatori biohemijskih reakcija-enzimi
- Strukturni-keratin
- Transportni-hemoglobin
- Transmembranski-Na⁺/K⁺/ATPaza
- Toksini-zmijski otrov
- Kontraktilni-aktin, miozin
- Hormoni-insulin
- Odbrambeni-antitela

TRANSMEMBRANSKI PROLAZ LEKA

Prolazak leka kroz ćelijske membrane

tokom transporta leka od mesta primene do mesta delovanja, lek mora da prođe kroz različite biološke membrane
membrane razdvajaju kompartimente organizma



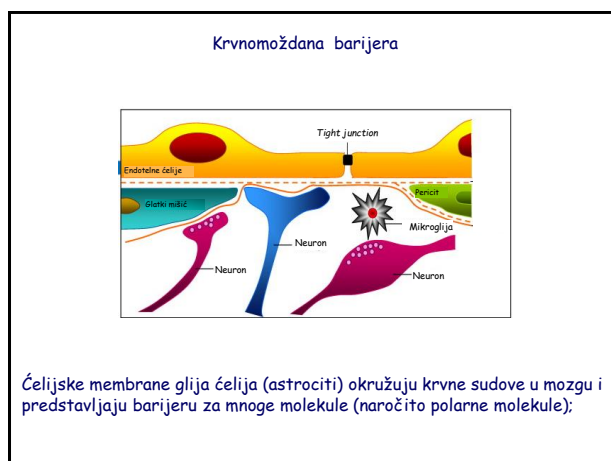


Proteini ćelijske membrane

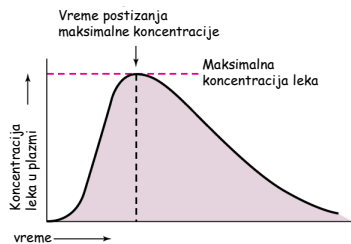
-fosfolipidni dvostruki sloj membrane sadrži inkorporirane proteine i kolesterol.
-neki proteini prolaze kroz celu membranu formirajući **pore i kanale**.

Proteini ćelijske membrane:

jonski kanali (Na⁺ kanali membrane nervnih ćelija)
transmembranski proteini (alfa i beta receptori)
transportni proteini (elektronski transportni lanac mitohondrija)



Bioraspoloživost leka



Bioraspoloživost leka

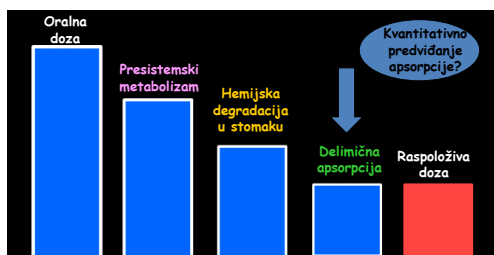
- Deo per os primenjenog leka koji prelazi u sistemsku cirkulaciju uzimajući u obzir lokalnu metaboličku transformaciju i resorpciju
- Koncentracija leka na ciljnom mestu ne može se direktno meriti, zato se meri koncentracija leka u krvi, pod pretpostavkom da postoji ravnoteža između koncentracije leka u krvi i koncentracije leka na mestu delovanja.

$$C_{\text{lek u krvi}} \leftrightarrow C_{\text{lek na ciljnom mestu}} \rightarrow \text{efekat leka}$$

- **Bioraspoloživost** leka predstavlja indirektnu meru koncentracije leka na ciljnom mestu delovanja.

Bioraspoloživost leka nikada nije 100%, osim pri intravenoznoj primeni leka; svaki korak i svaka barijera na putu leka od mesta primene do mesta dejstva utiče na gubitak leka;

Glavni razlozi smanjenja koncentracije leka na ciljnom mestu:



Sistemi membranskog transporta

Neposredovan transport

CO_2 , O_2 , urea, etanol

Posredovan transport

nosaići, jonske pumpe, kanali

Sa stanovišta utroška energije, sistemi transporta dele se na:

Pasivan (bez utroška energije)

Aktivan (uz utrošak energije)

Opšta teorija prolaska molekula kroz biološke membrane

Pasivan transport:

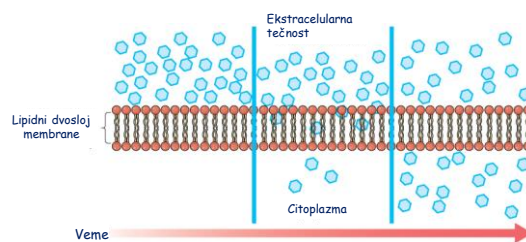
- pasivna difuzija
- olakšana difuzija
- osmoza

Aktivni transport

- ✓ primarno aktivan
- ✓ sekundarno aktivan

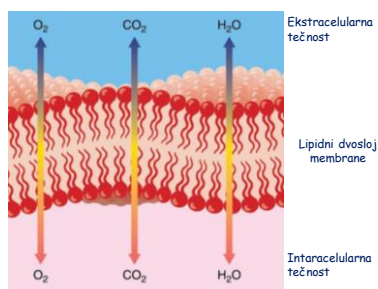
Pasivan transport: pasivna difuzija

Zasniva se na prirodnoj težnji leka da difunduje sa mesta više ka mestu niže koncentracije dok se ne uspostavi ravnoteža;



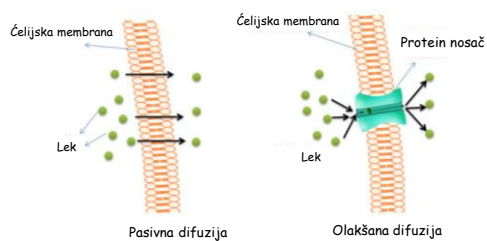
Kretanje leka je uslovljeno kinetičkom energijom molekule

pasivna difuzija



Pasivan transport: olakšana difuzija

Pasivna difuzija vs olakšana difuzija



Pasivan transport: **olakšana difuzija**

Difuzija posredovana nosačem

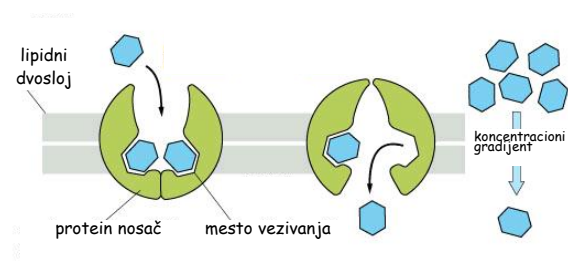
Transport šećera u ćelije

Difuzija posredovana jonskim kanalom

Transport jona:

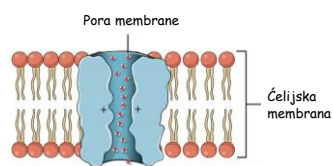
- neregulirani kanali (pore)
- voltažno-zavisni
- ligand-zavisni

a) Difuzija posredovana nosačem



Proteini nosači su specifični i stereospecifični.
Osobine enzimskih reakcija tj. zasićenje.

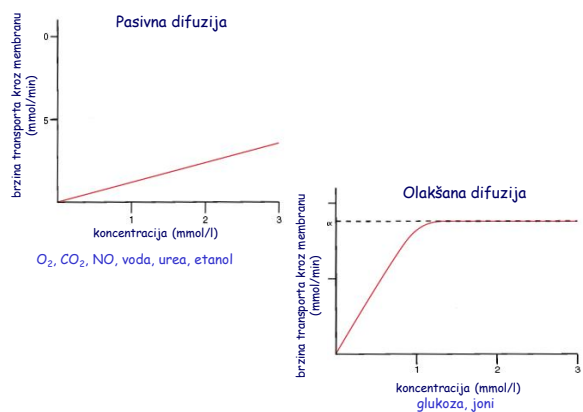
b) Difuzija kroz pore membrane



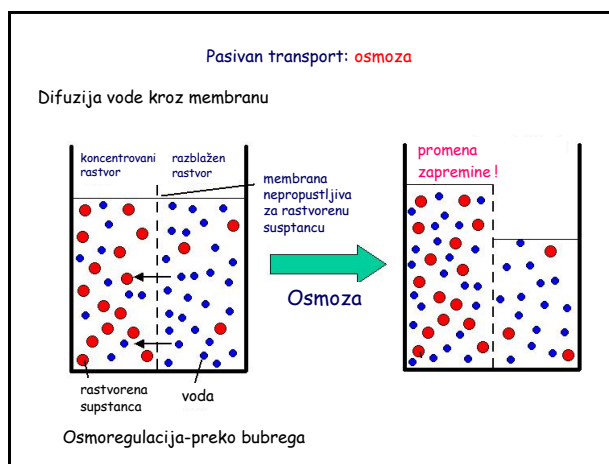
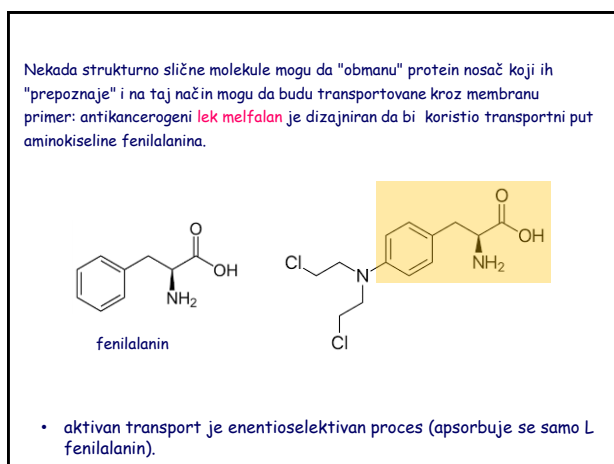
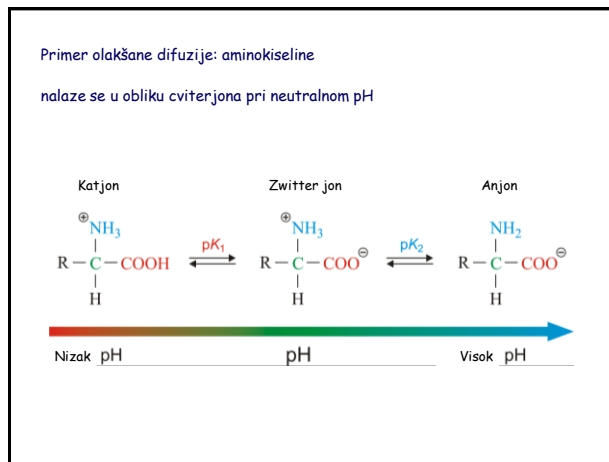
Joni, aminokiseline, šećeri, nukleotidi.

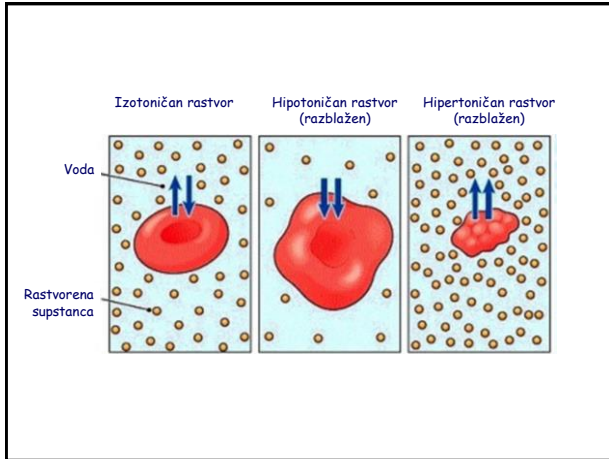
Proteini, nukleinske kiseline i druge velike molekule ne mogu da prodju na ovaj način.

Pasivna difuzija



Pasivna difuzija vs olakšana difuzija	
U pravcu koncentracionog gradijenta, bez nosača	U pravcu koncentracionog gradijenta, posredovana nosačem
Direktno kroz ćel. membranu	Potrebni su nosači
Odvija se kroz fosfolipidni sloj	Odvija se kroz transmembranske proteine
Transport malih, nepolarnih molekula	Transport velikih, polarnih molekula
Brzina difuzija je direktno proporcionalna konc. Gradijentu i permeabilnosti membrane za molekulu	Brzina difuzije zavisi od kinetike nosača
Primer: difuzija gasova kroz respiratorne membrane, difuzija molekula iz krvotoka u ćelije kroz intersticijalnu tečnost.	Primer: transport hlorida/bikarbonata u renalim tubulama, kotransport Na i glukoze.





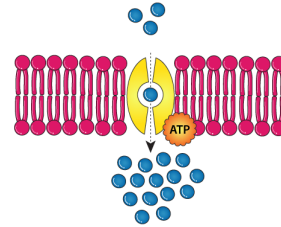
Aktivan transport

Prenos molekula se vrši uz pomoć proteina nosača nasuprot koncentracionog gradijenta.

Za proces prenosa molekula putem aktivnog transporta potrebna je energija koja se obezbeđuje:

-hidrolizom ATP

-indirektno, preko transporta Na^+ jona



Aktivan transport

Primarno aktivan transport (ATP)

Sekundarno aktivan transport (gradijent Na^+)

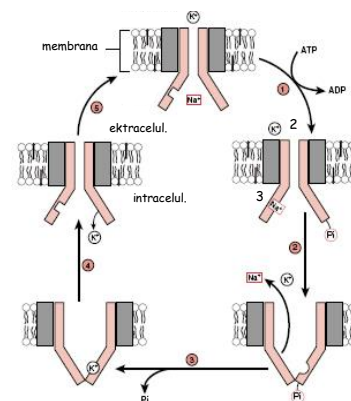
Tri tipa jonskih pumpi:

- V (membrane organela, protone)
- F (membrane mitohondrija, protone)
- P (ćelijske membrane)

Vezani transport:

- simport
- antiport

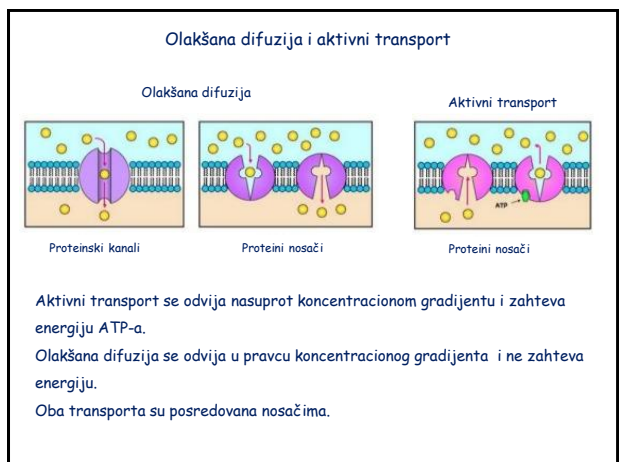
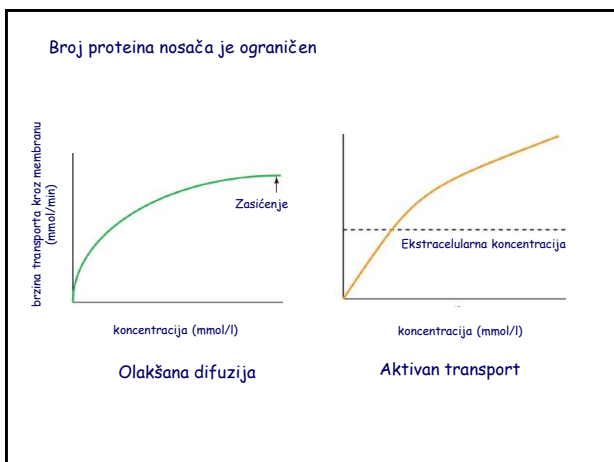
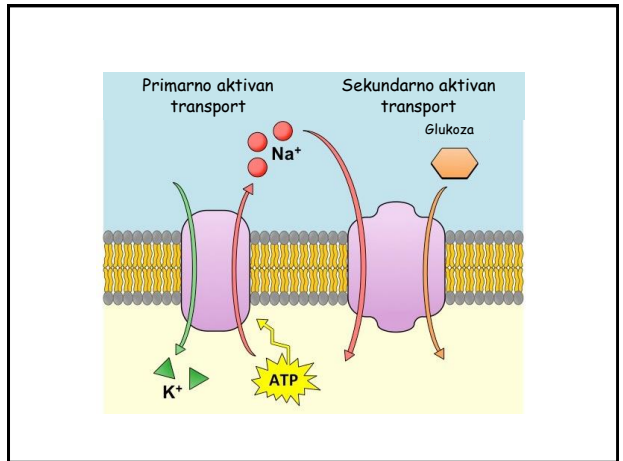
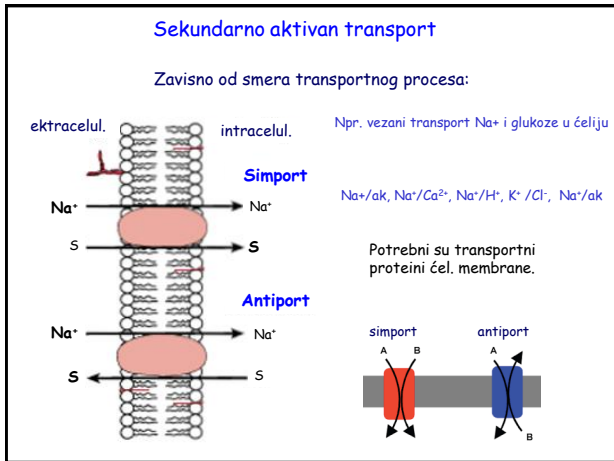
Primarno aktivan transport



Na^+ , K^+ - pumpa
(3:2)

Ca^{2+} pumpa
 H^+ pumpa

Postoji u svim ćelijama.
Visok intracel. K^+
Visok ektracel. Na^+

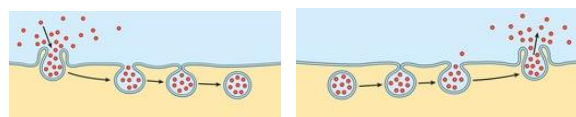


Olakšana difuzija vs aktivni transport

Posredovana transmembranskim proteinima	Posredovana transmembranskim proteinima
U pravcu koncentracionog gradijenta	Suprotno koncentracionom gradijentu
Ne zahteva energiju za transport	Zahteva energiju za transport
Primer: transport Na, aminokiselina	Primer: Na ⁺ /K ⁺ ATP-aza, Na ⁺ /Ca ²⁺ kotransporter, Na/glukoza kotransporter

Endocitoza i egzocitoza

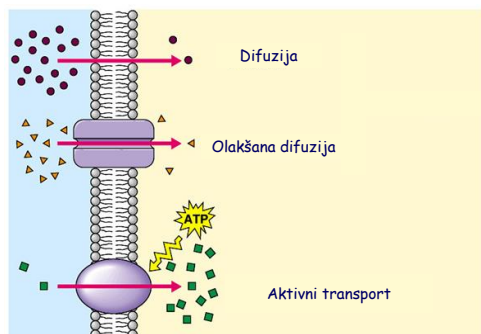
- Kad lekova koji ne mogu da prođu biološke membrane pasivnom difuzijom niti postoje aktivni transporteri za njih.
- Mnoge **velike molekule** (npr. hormoni) i čestice (virusi) mogu da uđu u ćeliju procesom endocitoze.
- Vršiti se propuštanje molekula u ćeliju invaginacijom plazma membrane i otpuštanjem sa druge strane membrane.



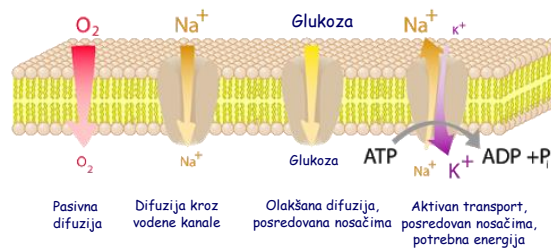
Endocitoza

Egzocitoza

Pasivni i aktivni transport: zaključak



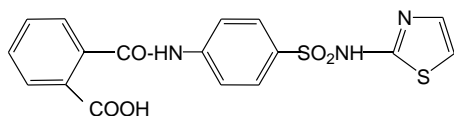
Transport kroz membranu: zaključak



Prolazak leka kroz membrane GIT

- ✓ Pasivna difuzija (najčešće)
- ✓ Olakšana difuzija
- ✓ Aktivni transport (neke ak, vitamini: riboflavin, tiamin, nikotinamid)
- ✓ Endocitoza (kapljice masti, masne kis, glicerol)

Apsorpcija se može modifikovati uvođenjem jonizovanih ili lipofilnih grupa.



fthalilsulfatiazol

Prolazak leka kroz membrane u bubregu

Glomerularna filtracija molekula je funkcija veličine, oblika i naelektrisanja molekula.

Bubrezi stvaraju dnevno oko 180 l glomerularnog filtrata ali se više od 99 % reapsorbuje !

Reapsorpcija se odvija pasivnom difuzijom.

Male molekule (urea, glukoza, aminokiseline) prolaze u filtrat.

Henleova petlja je mesto reapsorpcije vode.

U baznom urinu se izlučuju kisela jedinjenja (barbiturati, salicilati, nitrofurantoin, sulfonamidi).

U kiselom urinu se koncentrišu i brzo izlučuju bazna jedinjenja (amfetamin, hinin, prokain).

Prolazak leka kroz placentu

Difuzija-glavni put prolaska.

Razlika u pH majčine (viši za 0,1 do 0,15) i fetalne krvi utiče na jonizaciju lekova.

Visok koncentracioni gradijent može da poveća penetraciju (salicilati).

Vezivanje leka za proteine plazme smanjuje prolaz kroz placentu.

Faktori koji utiču na resorpciju oralno primenjenog leka

Fiziološki faktori:



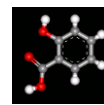
Površina apsorpcije
Vreme pražnjenja GITa
Motilitet creva
Sadržaj želuca
Protok krvi
Struktura membrane

Dozirani oblik



Oblik leka
Koncentracija leka
Veličina čestica
Oblaganje tableta

Fizičko-hemijske osobine leka:



Lipofilnost
Rastvorljivost
Stepen jonizacije

Biofarmaceutski klasifikacioni sistem

Biopharmaceutics classification system (BCS)

	Velika rastvorljivost	Slaba rastvorljivost
Velika permeabilnost	CLASS 1 1	CLASS 2 2
Slaba permeabilnost	CLASS 3 3	CLASS 4 4

Velika permeabilnost- humana apsorpcija veća od 90%
Velika rastvorljivost-ukoliko najveća doza leka ostane u rastvoru između pH 1 i 7.5

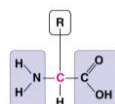
BCS

- Klasifikacija molekula na osnovu rastvorljivosti i permeabilnosti
- Ukoliko se jedinjenja klasifikuju na ovaj način, može se odrediti odgovarajuća formulacija leka.
- Omogućava fundamentalno razumevanje biofarmaceutskih i fizičko-hemijskih osobina lekova.
- Omogućava razvoj slabo rastvornih lekova.

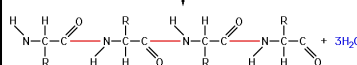
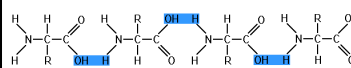
CILJNO MESTO DEJSTVA LEKOVA

ENZIMI

Podsetnik



Aminokiseline imaju različite osobine zbog različitog R.

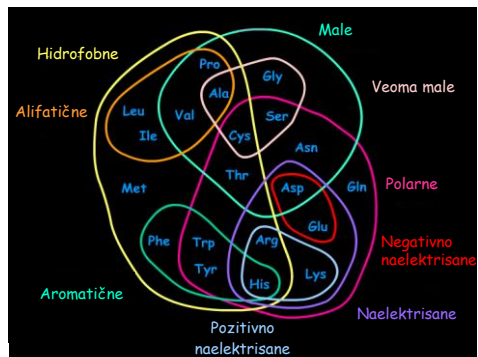


Polipeptidi-nerazgranati polimeri koje čine **20 ak**

Protein-više polipeptidnih lanaca

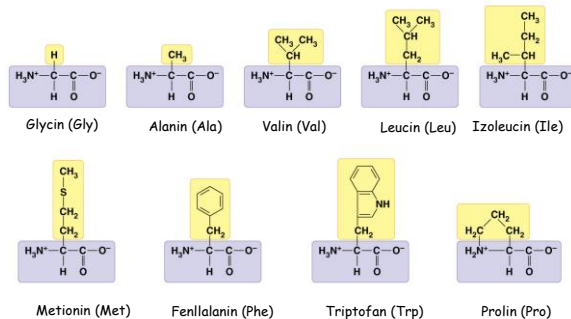
Podsetnik

Aminokiseline variraju u veličini, obliku, naelektrisanju, sposobnosti da grade vodonične veze, hidrofobnom karakteru, hemijskoj reaktivnosti.



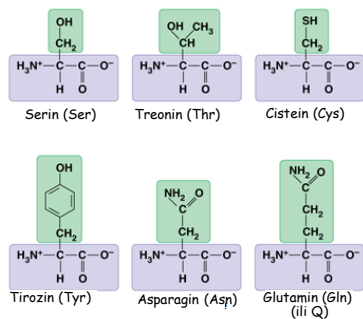
Podsetnik

Nepolarni bočni lanac; hidrofobni



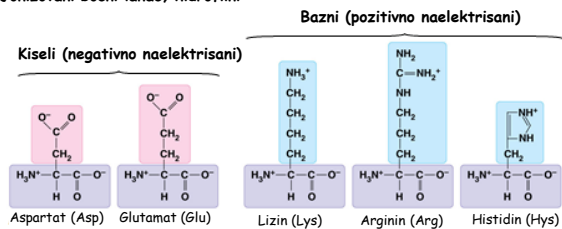
Podsetnik

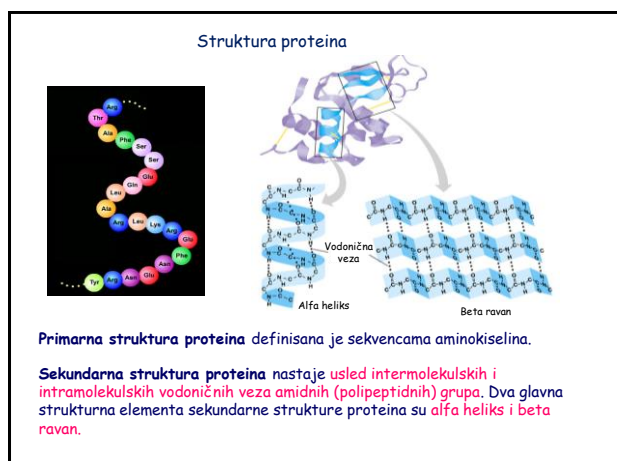
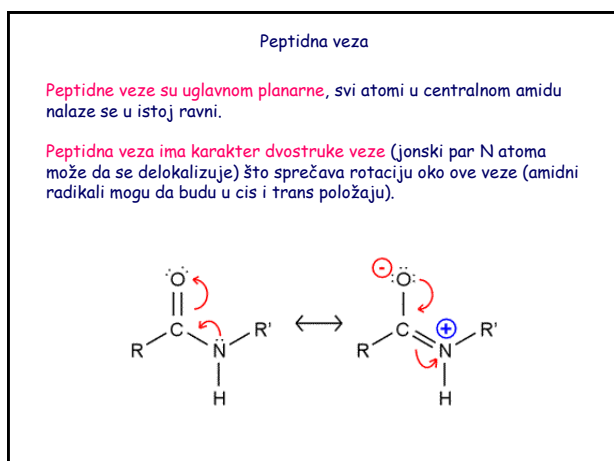
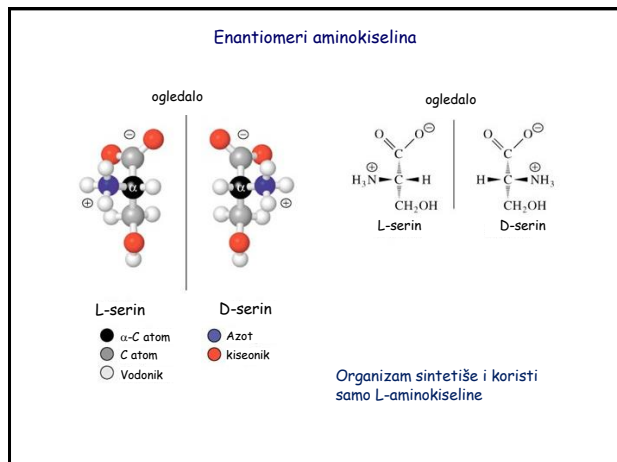
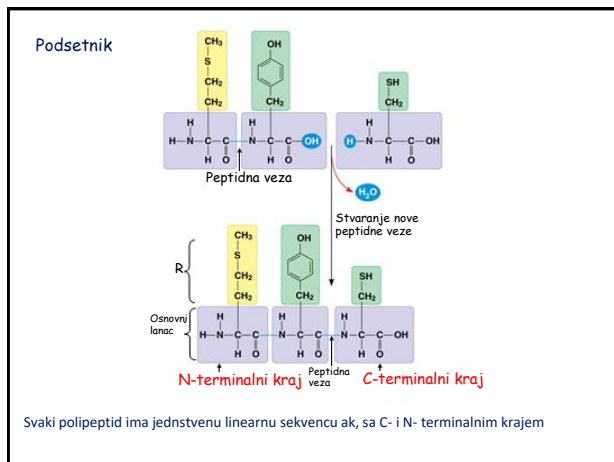
Polarni bočni lanac; hidrofilni

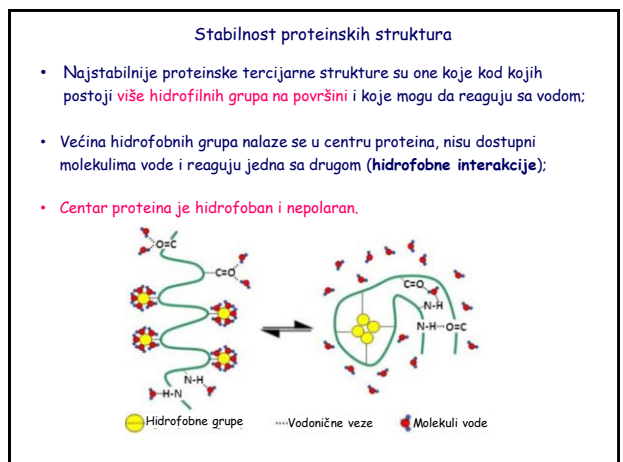
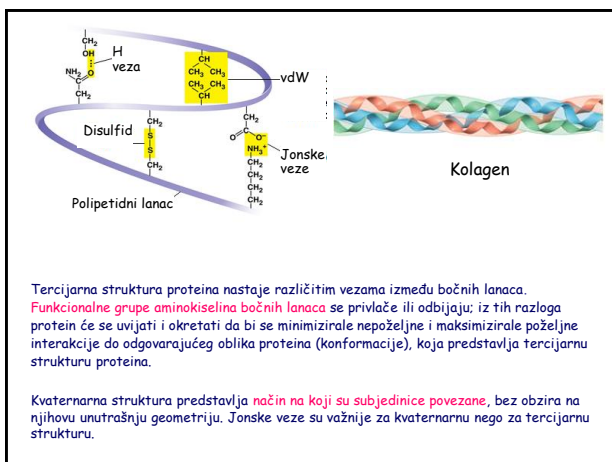
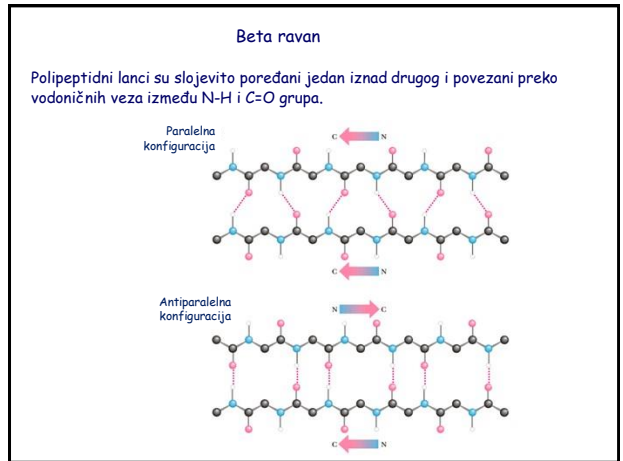
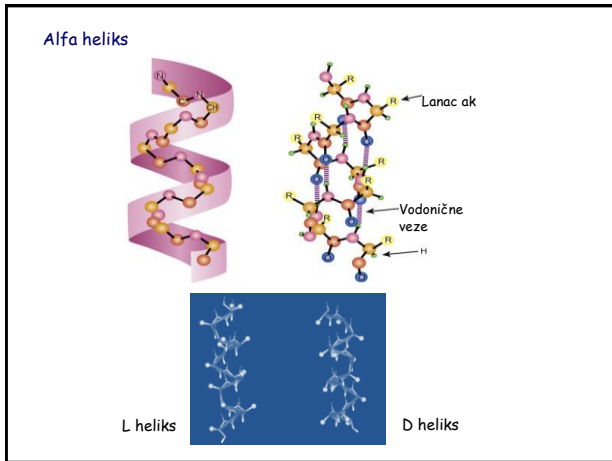


Podsetnik

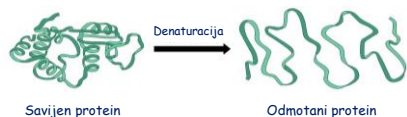
Jonizovani bočni lanac; hidrofilni



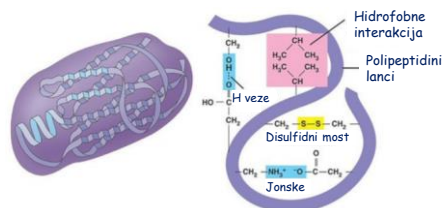




- Formiranje proteina u njegov biološki aktivan oblik zahteva savijanje proteina u preciznu trodimenzionalnu strukturu.
- Promene u 3D strukturi proteina (npr. denaturacija) dovode do gubitka funkcije proteina.



Proteini u ćelijskoj membrani-hidrofilne i hidrofobne interakcije



Klasifikacija enzima

-Enzimi se klasifikuju prema tipu reakcije koju katalizuju (...+ aze)
-kodirano ime koje počinje sa EC iza koga slede četiri broja

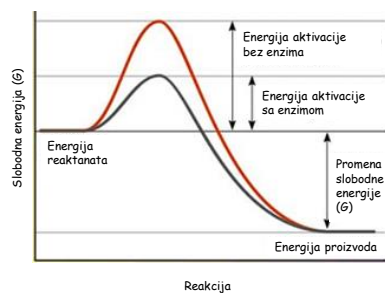
Prvi broj označava pripadanje jednoj od **šest glavnih klasa**:

1. Oksidoreduktaze (vrše prenos protona, oksidoredukcije);
2. Transferaze (prenos drugih grupa);
3. Hidrolaze (razgrađnja supstrata pod dejstvom vode);
4. Lijaze (nehidrolitičke reakcije u kojima dolazi do uklanjanja ili dodavanja grupa na dvostruku vezu);
5. Izomeraze (katalizuju strukturne ili geometrijske promjene unutar jednog molekula) i
6. Ligaze (katalizuju povezivanje više grupa, uz istovremenu razgradnju ATP-a ili nekog drugog trifosfata).

Npr. N-acetilholinesteraza(kodirano ime EC 3.1.1.7).

Prvi broj, 3-enzim hidrolaza, drugi broj 1-enzim katalizuje razgradnju estara, treći broj, 1-katalizuje hidrolizu karboksilnih estara, a broj 7 je serijski broj N-acetilholinesteraze u podgrupi EC 3.1.1.

Uloga enzima

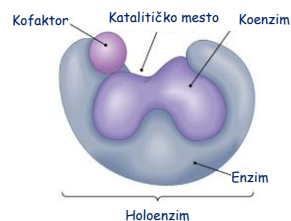


Mehanizam enzimske katalize

Enzimi obezbeđuju:

- reakcionu površinu (aktivno mesto)
- povoljno okruženje
- približavanje reaktanata
- povoljnu prostornu orijentaciju
- slabi veze reaktanata
- kiselo/baznu katalizu
- obezbeđuje nukleofilne grupe

Kofaktori (koenzimi)



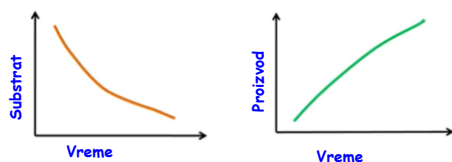
Za dejstvo enzima neophodno je prisustvo kofaktora (koenzima).

Enzimski kofaktori su neproteinski molekuli koji su neophodni za optimalnu aktivnost enzima.

Kofaktori mogu biti **jednostavni neorganski molekuli** (najčešće katjoni kao što su Mg^{2+} , Ca^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} i K^{+}) ili kompleksne organske strukture.

Organski kofaktori se još nazivaju i koenzimi.

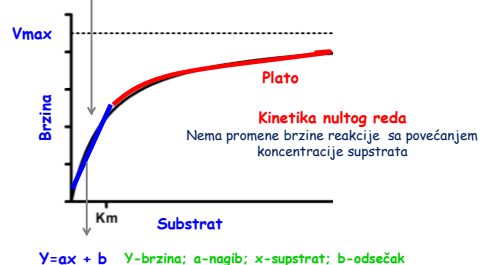
Opšti koncept enzimske inhibicije



$$\text{Brzina} = -\frac{d[S]}{dt} = \frac{d[P]}{dt}$$

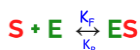
Kinetika prvog reda

Linearno povećanje brzine reakcije sa povećanjem koncentracije supstrata



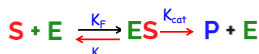
Michaelis-Mentena jednačina objašnjava zakrivljenost grafika i daje matematičku korelaciju između V_0 , V_{max} i K_m .

Michaelis-Mentenova jednačina



$$K_F [E][S] = K_R [ES]$$

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{K_R}{K_F} = K_d$$



$$K_F [E][S] = K_R [ES] + K_{cat} [ES]$$

$$K_F [E][S] = [ES] (K_R + K_{cat})$$

$$\frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{K_R + K_{cat}}{K_F} = K_M$$

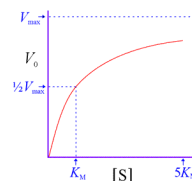
- K_M - Michaelis-Mentenova konstanta.
- Karakteristika enzima i specifičnog supstrata.
- K_M predstavlja afinitet enzima za supstrat.
- K_M se ne menja sa promenom vrednosti koncentracije enzima.



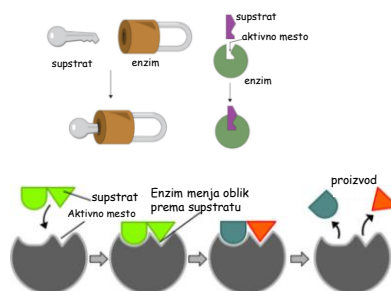
$$E_0 = ES \quad V_{max} = K_{cat} [E_0]$$

$$K_M = \frac{[E][S]}{[ES]} = \frac{[E_0 - ES][S]}{[ES]}$$

$$V = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]}$$

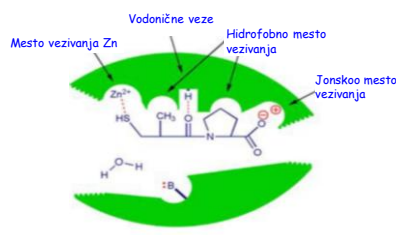


Interakcija enzim-supstrat



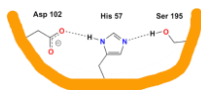
Interakcija treba da bude dovoljno jaka i „drži“ supstrat vezanim za enzim da bi se reakcija odvijala;
Interakcija treba da bude dovoljno slaba da omogući oslobađanje proizvoda;
Jaka interakcija rezultira enzimskom inhibicijom.

Interakcija se ostvaruje građenjem intermolekulskih veza između funkcionalnih grupa supstrata i funkcionalnih grupa aktivnog mesta enzima.



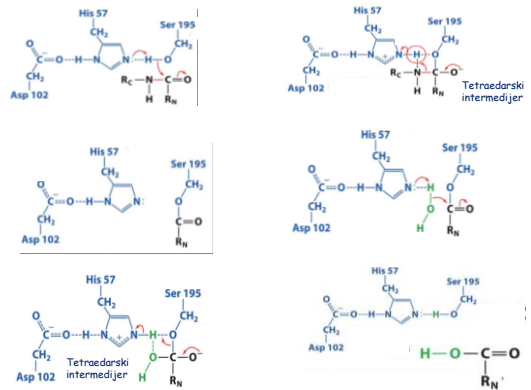
Serin proteaze

- Enzimi koji hidrolizuju peptidnu vezu u proteinima;
- Čine 1/3 svih proteolitičkih enzima;
- Ser je Nu;
- Serin proteaze su enzimi: himotripsin (Ar ak, tirozin, triptofan, fenilalanin), tripsin (bazne ak, lizin i arginin), elastaze (neutralne, valin, glicin, alanin)
- Zajedničke osobine: slična 3 D struktura, katalitička trijada, oksianjonska šupljina, kovalentni acil-intermedijer, nastaju iz neaktivnog prkursora koga luči pankreas.
- Katalitička trijada: • **Asp102 – His57 – Ser195**

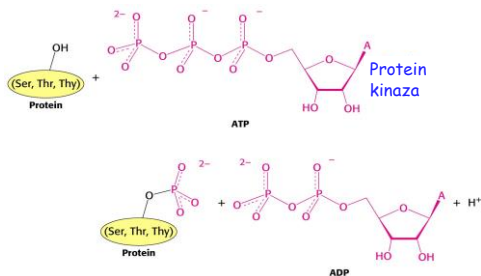


Ser-obebeđuje Nu
His-bazni katalizator, aktivira Ser
Asp-stabilizuje protonovani His

Katalitički mehanizam serin proteaza



Protein kinaza



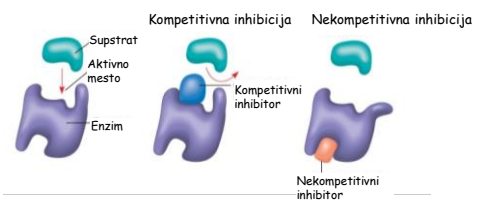
Protein kinaza prenosi fosfatnu grupu (ATP) na serin, treonin i tirozin ostatke proteina;

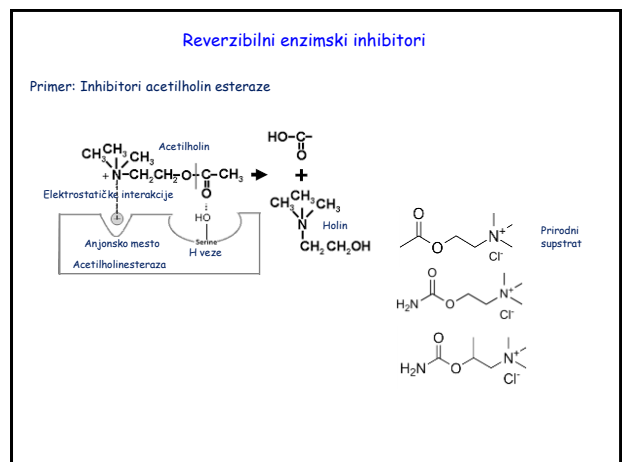
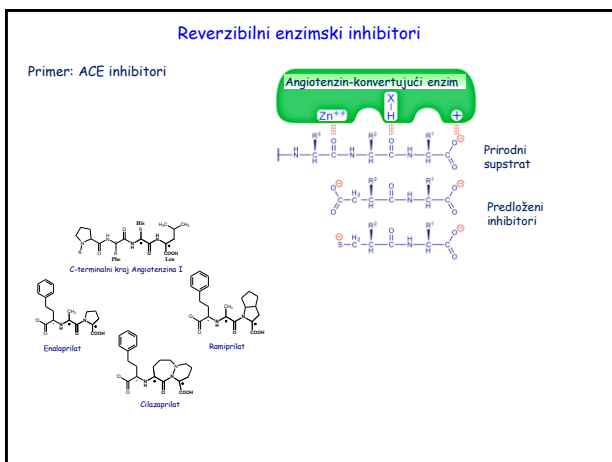
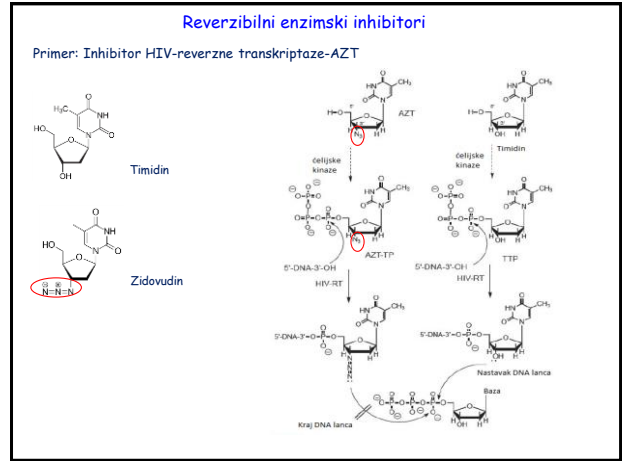
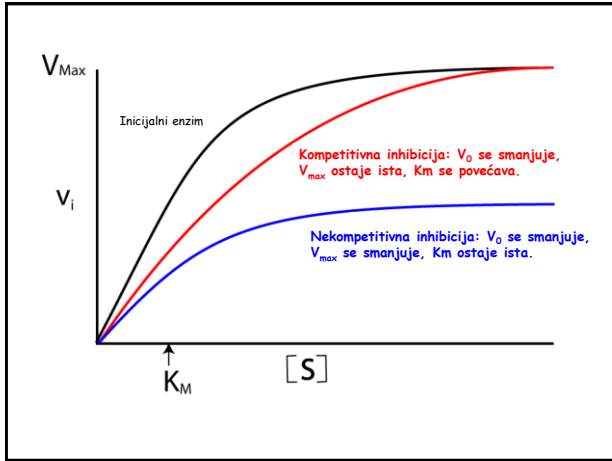
Fosforilaciju proteina dovodi do promene enzimske aktivnosti, ćelijske lokacije ili interakcije sa drugim proteinima;

Oko 30 % svih proteina predstavlja supstrat za kinazu.

Inhibitori enzima

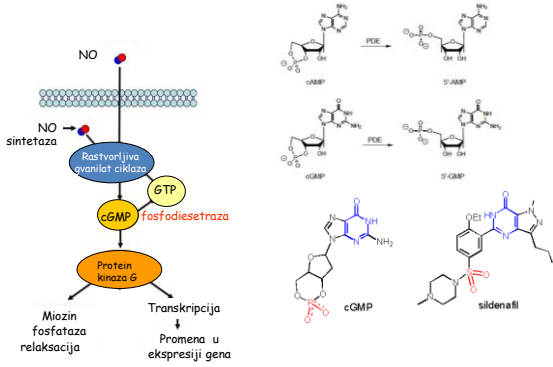
- Nespecifični i specifični
- Reverzibilni i ireverzibilni
- Kompetitivni i nekompetitivni





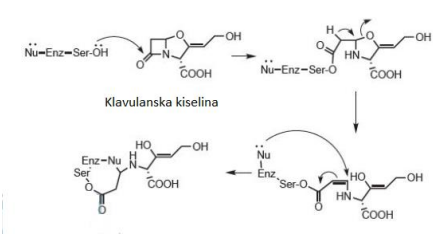
Reverzibilni enzimski inhibitori

Primer: inhibitori fosfodiesteraze



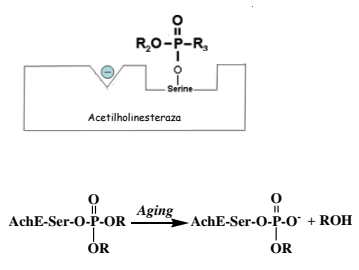
Ireverzibilni enzimski inhibitori

Primer: inhibitori β-laktamaze (klavulanska kiselina)



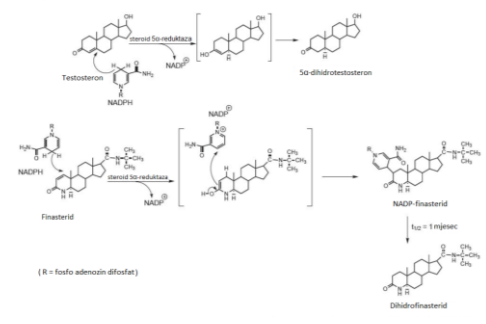
Ireverzibilni enzimski inhibitori

Primer: inhibicija acetilholinesteraze



Ireverzibilni enzimski inhibitori

Primer: inhibicija 5α-reduktaze



Inhibitori:

- protein kinaza
- tirozin kinaza
- serin/treonin kinaza

Inhibitori enzima-antimikotici

Inhibitor (lek)	Inhibirani enzim	Upotreba	Organizam
Kasprofungin	1,3- β -glukan sintaza	Antigljiivična	Gljivični
Terbinafin	Skvalenska monooksigenaza	Antigljiivično	Gljivični
Itrakonazol	Sterol 14a-demetilaza	Antigljiivično	Gljivični

Inhibitori enzima-antimikrobno dejstvo

Inhibitor (lek)	Inhibirani enzim	Upotreba	Organizam
Cikloserin	Alanin racemaza	Tuberkuloza	Bakterijski
Etambutol	Arabinoziltransferaza	Tuberkuloza	Bakterijski
Trimetoprim	Dihidrofolat reduktaza	Antibakterijska	Bakterijski
Sulfametoksazol	Dihidropteroat sintaza	Antibakterijska	Bakterijski
Ciprofloksacin	DNA giraza	Antibakterijska	Bakterijski
Rifampin	Dna-ovisna RNA polimeraza	Antibakterijska	Bakterijski
Bacitracin	Dolihil fosfataza	Antibakterijska	Bakterijski
Izonijazid	Enoil reduktaza masnih kiselina	Tuberkuloza	Bakterijski
Pirazinamid	Mikobakterijska sintaza masnih kiselina	Tuberkuloza	Bakterijski
Penicilin	Serijski tip D-Ala-Ala karboskipeptidaza	Antibiotik	Bakterijski
Fosfomicin	UDP-N-acetilglukozamin 1-karboksivniltransferaza	Antibakterijski	Bakterijski

Inhibitori enzima-antivirusno dejstvo

Inhibitor (lek)	Inhibirani enzim	Upotreba	Organizam
Oseltamivir	Virusna neuraminidaza	Anti-influenza	Virusni
Aciklovir	DNA-zavisna DNA polimeraza	Antivirusna (anti-HSV)	Virusni
Ribavirin	IMP dehidrogenaza	Antivirusna (široki spektar)	Virusni
Azidotimidin	HIV reverzna transkriptaza	AIDS (anti-HIV)	Virusni
Lamivudin	Reverzna transkriptaza	AIDS, hepatitis B	Virusni
Nelfinavir	HIV proteaza	AIDS (anti-HIV)	Virusni
Eflornitin	Omitin dekarboksilaza	Tripanosome	Parazitski

Inhibitori enzima koji deluju na enzimске sisteme ljudskog organizma

Inhibitor (lek)	Inhibirani enzim	Upotreba	Organizam
Sildenafil	3' 5' -ciklična GMP fosfodiesteraza	Erektivna disfunkcija	Humani
Teofilin	3' 5' -ciklična nukleotid fosfodiesteraza	Astma	Humani
Finasterid	Steroid 5 α -reduktaza	Benigna hiperplazija prostate	Humani
Piridostigmin	Acetilholinesteraza	Mjastenija gravis	Humani
Disulfiram	Alkoholna dehidrogenaza	Alkoholizam	Humani
Akarboza	Alfa-amilaza	Dijabetes	Humani
Karbidopa	Dekarboksilaza Ar L-aminokiselina	Parkinsonova bolest	Humani
Acetazolamid	Karbonat dehidrataza (Karbon anhidraza)	Glaukom	Humani
Metotreksat	Dihidrofolat reduktaza	Kancer	Humani
Fondaparinux	Faktor Xa	Tromboza	Humani

Inhibitori enzima koji deluju na enzimске sisteme ljudskog organizma

Inhibitor (lek)	Inhibirani enzim	Upotreba	Organizam
Alendronat	Farnezil-difosfat farneziltransferaza	Osteoporoza	Humani
Esomeprazol	H ⁺ /K ⁺ -ATP-aza	Gastroezofagealni reflux	Humani
Atorvastatin	HMG-CoA reduktaza	Hiperlipidemija	Humani
Propiltiouracil	Jodid peroksidaza	Hipertiroidizam	Humani
Allopurinol	Ksantin oksidaza	Giht	Humani
Kaptopril	ACE enzim	Hipertenzija	Humani
Etodolak	Ciklooksigenaza	Inflamacija	Humani
Imatinib	Protein-tirozin kinaza	Kancer	Humani
Gemcitabin	Ribonukleozid-difosfat reduktaza	Kancer	Humani
Digitoksin	Na ⁺ /K ⁺ -ATPaza	Kongestivno zatajenje srca	Humani
Lepirudin	Trombin	Tromboza	Humani
Floksuridin	Timidilat sintaza	Kancer	Humani
Orlistat	Triacilglicerol lipaza	Gojaznost	Humani
Metirozin	Tirozin 3-monooksigenaza	Feohromocitom	Humani
Aminoglutetimid	Monoooksigenaza	Rak dojke	Humani
Dikumarol	Vitamin K-epoksid reduktaza	Tromboza	Humani