

# Neizravni parasimpatomimetici

---

Zorc, Branka; Šoronda, Sanja

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1999, 55, 137 - 146**

**Journal article, Published version**

**Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)**

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:177024>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-08**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)

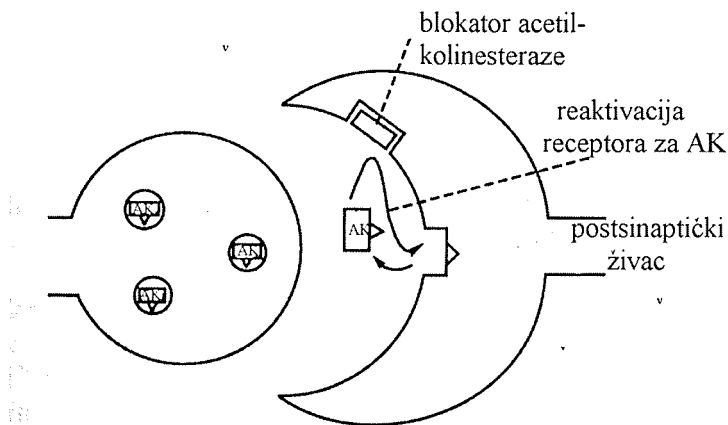


## Neizravni parasimpatomimetici

BRANKA ZORC i SANJA ŠORONDA  
Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb

### Uvod

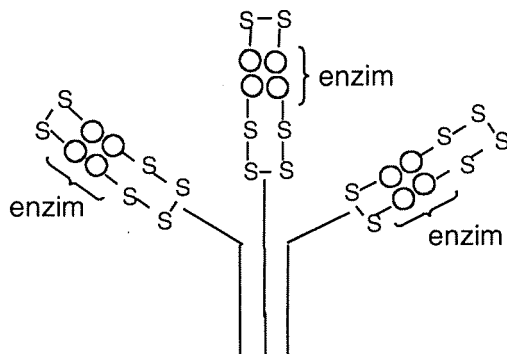
Parasimpatomimetike možemo klasificirati u dvije farmakološke skupine: izravne i neizravne. Izravni parasimpatomimetici ili kolinomimetici stimuliraju parasimpatikus kao i prirodni neurotransmitor acetilkolin (AK). Neizravni parasimpatomimetici su antagonisti acetilkolinesteraze, enzima odgovornog za hidrolizu acetilkolina pa se nazivaju još i antikolinesteraze. Zbog inhibicije enzima, povećava se koncentracija acetilkolina, a time i kolinergični učinak. To znači da neizravni parasimpatomimetici djeluju jednako kao prirodni neurotransmitor i sintetski agonisti kolinergičnih receptora (1, 2). Način djelovanja prikazan je na Slici 1.



Slika 1. Princip djelovanja neizravnih parasimpatomimetika

### Struktura acetilkolinesteraze

Acetilkolinesteraza je građena poput stabla pričvršćenog na staničnu membranu (Slika 2). Od kolagenskog debla vode 3 ogranka s enzimom. Svaki



Slika 2. Struktura acetilkolinesteraze

enzim se sastoji od 4 proteinske podjedinice s jednim aktivnim mjestom tako da cijelo stablo ima ukupno 12 aktivnih mjesta (4 po ogranku). Acetilkoesteraza je pričvršćena odmah do receptora za acetilkolin što omogućuje vrlo veliku učinkovitost enzima (2).

Poznavanje građe acetilkolinesteraze, veznih interakcija acetilkolina i mehanizma hidrolize važno je za dizajniranje odgovarajućih inhibitora.

#### *Način vezanja acetilkolina na aktivno mjesto acetilkolinesteraze*

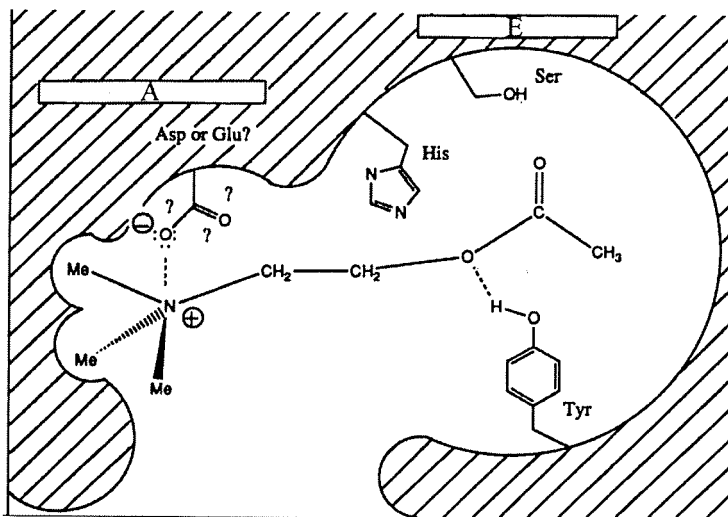
Poznato je da na aktivnom mjestu enzima postoje dva mjesta vezanja – anionsko i estersko.

- Acetilkin veže se na enzim ionskom vezom na ostatak asparaginske (Asp) ili glutaminske (Glu) kiseline i vodikovom vezom na ostatak tirozina (Tyr).
- U mehanizam hidrolize uključeni su serin (Ser) i histidin (His).
- Anionsko vezno mjesto enzima vrlo je slično ili jednako anionskom veznom mjestu na kolinergičnom receptoru. Pretpostavlja se da postoje dva hidrofobna džepa za prihvaćanje metilnih skupina (veći supstituenti ne stanu) i da se pozitivno nabijen dušikov atom veže na negativan ostatak asparaginske ili glutaminske kiseline.

Vezanje acetilkolina na aktivno mjesto acetilkolinesteraze prikazano je na Slici 3 (2).

#### *Mehanizam hidrolize*

Mehanizam hidrolize acetilkolina gotovo je u potpunosti razjašnjen (2). Važnu ulogu u procesu hidrolize ima histidin koji djeluje kao kiselo/bazni katalizator i serin koji djeluje kao nukleofil. Hidroliza se zbiva u nekoliko stupnjeva:



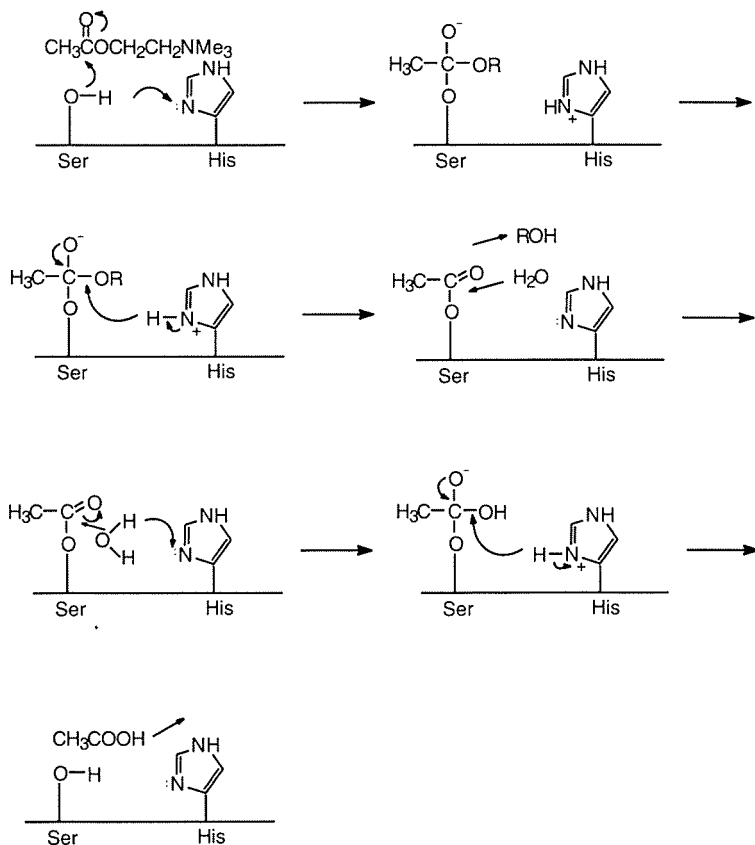
Slika 3. Vežanje acetilkolina na aktivno mjesto acetilkolinesteraze.  
A – anionsko vezno mjesto, E – estersko vezno mjesto

- Acetilkinolin prilazi enzimu i veže se na aktivno mjesto. Histidin kao baza uklanja proton s hidroksilne skupine serina i tako povećava njegova nukleofilna svojstva te dolazi do nukleofilnog napada.
- Alkoholni dio acetilkolina (kolin) napušta molekulu nakon primanja protona od histidina, koji je u ovom slučaju kiseli katalizator (proton-donor).
- Acilni dio acetilkolina je sada kovalentno vezan za receptorsko mjesto preko serina, dok ga ne odcijepi molekula vode. Voda je inače slab nukleofil, ali postaje jači nukleofil ponovnim djelovanjem histidina kao baznog katalizatora.
- Histidin prenosi proton na ostatak serina pri čemu se odcjepljuje molekula octene kiseline.

Cjelokupni proces prikazan je na Slici 4. Važno je da je enzimaska hidroliza vrlo brza (11  $\mu$ s), oko 100 milijuna puta brža od kemijske.

### Kemijska podjela inhibitora acetilkolinesteraze

Djelovanje inhibitora acetilkolinesteraze može biti reverzibilno i ireverzibilno, ovisno o jačini vezanja na aktivno mjesto. Postoje dvije glavne skupine inhibitora – karbamati koji imaju reverzibilni učinak i organofosforni spojevi s ireverzibilnim učinkom. Kod karbamatnih spojeva regeneracija acetilkolinesteraze je dosta brza (prosječno poluvrijeme 25 minuta), a kod estera fosfatne kiseline vrlo polagana pa je izraz »ireverzibilna inhibicija« zapravo netočan.



Slika 4. Mehanizam hidrolize acetilkolina

#### a) Karbamati

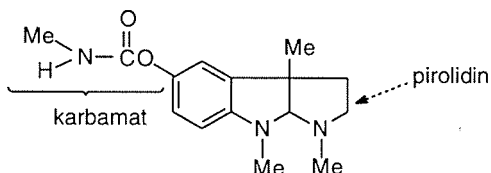
Najvažniji su parasimpatomimetici iz ove skupine fizostigmin, miotin, neostigmin, piridostigmin i distigmin (1).

**Fizostigmin (eserin)** je alkaloid iz afričke biljke kalabarski bob (*Physostigma venenosum* Balf, *Fabaceae*). Struktura fizostigmina poslužila je kao model za sintezu ostalih karbamatnih parasimpatomimetika (Slika 5). Prelazi krvno-moždanu barijeru pa može poništiti centralno i periferno djelovanje antikolinergika. Zbog ozbiljnih nuspojava njegova upotreba u liječenju je ograničena. Upotrebljava se još samo u liječenju glaukoma te za suženje zjenica nakon upotrebe atropina i drugih midrijatika. U upotrebi je sol sa salicilnom i sulfatnom kiselinom.

Za farmakološko djelovanje fizostigmina bitni su:

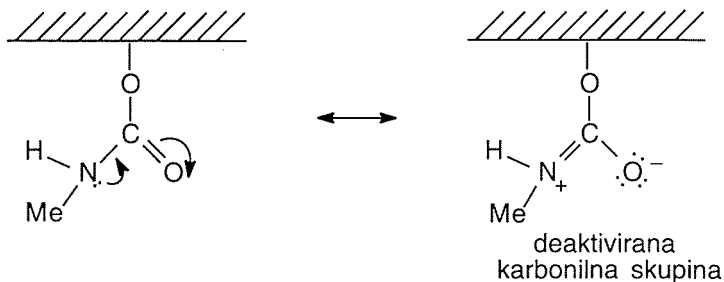
- karbamatna skupina,

- benzenski prsten,
- pirolidinski atom dušika (u ioniziranom obliku veže se na anionsko mjesto vezanja).



Slika 5. Fizostigmin (Me = metilna skupina)

Vežanje fizostigmina na receptorsko mjesto slično je vežanju acetilkolina. Fizostigmin se veže na ostatak serina pri čemu se otpušta heterociklički fenolni ostatak. Na mjesto fenola trebala bi se vezati voda, ali taj je korak vrlo spor i određuje brzinu cijelog procesa (40 milijuna puta sporiji nego kod acetilkolina). To možemo objasniti stabilizacijom intermedijera karbamoila i enzima, pri čemu atom dušika predaje slobodni elektronski par karbonilnoj skupini što dovodi do drastičnog smanjenja njenog elektrofilnog obilježja i reaktivnosti (Slika 6). Konačni je rezultat da fizostigmin relativno dugo ostaje vezan na enzim i time onemogućuje vežanje acetilkolina.

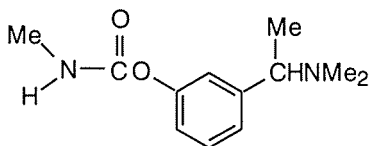


Slika 6. Stabilizacija intermedijera karbamoila i enzima

Strukturni analozi fizostigmina jednostavnije su kemijske građe, a svi sadrže karbamatnu skupinu, benzenski prsten i terciarnu alifatsku amino skupinu. Upotrebljavaju se za liječenje miastenije gravis i kao antidot za kurare.

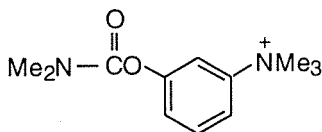
**Miotin** (Slika 7) je inhibitor acetilkolinesteraze, koji ima dva značajna nedostatka: podložan je kemijskoj hidrolizi i kao slobodna baza može prijeći krvno-moždanu barijeru pa djeluje i na SŽS. Kod pH krvi miotin je ioniziran.

**Neostigmin** je dizajniran da bi se riješili glavni nedostaci miotina. Uvođenjem druge metilne skupine u karbamatni dio povećana je stabilnost na hidrolizu. Kvarternizacijom dušikovog atoma onemogućeno je nastajanje



Slika 7. Miotin

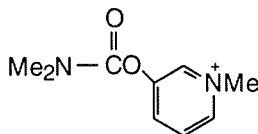
slobodne baze, a time i prelazak u SŽS, a izravnim vezanjem dušikovog atoma na aromatski prsten smanjen je broj konformera pa je veća vjerojatnost da će molekula biti u aktivnoj konformaciji pri vezanju na receptor. Udaljenost između kvarternog dušikovog atoma i karbonilne skupine ista je kao kod acetilkolina. Struktura neostigmina prikazana je na Slici 8.



Slika 8. Neostigmin

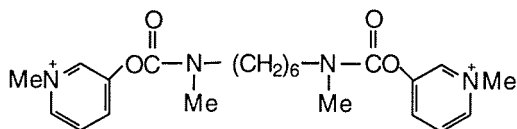
Upotrebljava se pretežno zbog djelovanja na mišiće skeleta (npr. u liječenju miastenije gravis i kao antidot stabilizirajućih miorelaksansa), a rjeđe zbog djelovanja na glatku muskulaturu (atonija mokraćnog mjehura i intestinalnog trakta). Daje se kao neostigmin-metilsulfonat i neostigmin-bromid, ponekad uz atropin (smanjuje nepoželjne učinke) ili uz efedrin (pojačava učinak neostigmina). Najvažniji su simptomi predoziranja neostigmina slabost u mišićima i pojačana salivacija.

**Piridostigmin** je derivat piridina u kojem je kvarterni dušikov atom u sklopu aromatskog prstena. Njegova struktura prikazana je na Slici 9. Djeluje sporije i slabije od neostigmina i ima širi terapijski indeks. Upotrebljava se u liječenju miastenije gravis, paralitičkog ileusa i postoperativne urinarne retencije (3).



Slika 9. Piridostigmin

**Distigmin** je bikvarterni spoj slične strukture i djelovanja kao prethodni spojevi (Slika 10). Djeluje dulje nego neostigmin, a upotrebljava se za prevenciju i liječenje postoperativne intestinalne atonije i urinarne retencije.



Slika 10. Distigmin

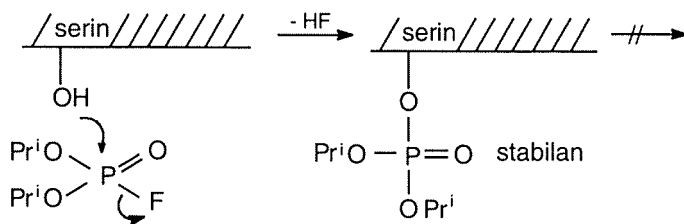
## b) Organofosforini spojevi

U ovu skupinu pripadaju neki lijekovi, bojni otrovi i insekticidi (2).

**Diflos** i **sarin** su najvažniji bojni otrovi, otkriveni za vrijeme Drugog svjetskog rata (Slika 11).

Slika 11. Diflos i sarin ( $Pr^i$  = izopropil)

Njihovo se djelovanje temelji na »ireverzibilnoj« fosforilaciji serina na aktivnom mjestu. Nastali fosforilirani produkt je iznimno stabilan i otporan na hidrolizu što dovodi do trajne inaktivacije enzima. Acetilholin se više ne može hidrolizirati te je kolinergični sustav neprestano stimuliran. To rezultira trajnim kontrakcijama skeletne muskulature i završava smrću. Djelovanje diflosa je prikazano na Slici 12.

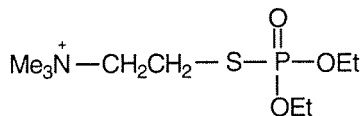


Slika 12. Djelovanje diflosa

Diflos se upotrebljava kao miotik u liječenju glaukoma. Ima jače djelovanje od neostigmina i djeluje puno dulje, do četiri tjedna. Najjače smanjenje intraokularnog tlaka je nakon 24 sata (3). Pare diflosa su vrlo otrovne pa se u praksi smiju upotrebljavati samo uljne otopine.

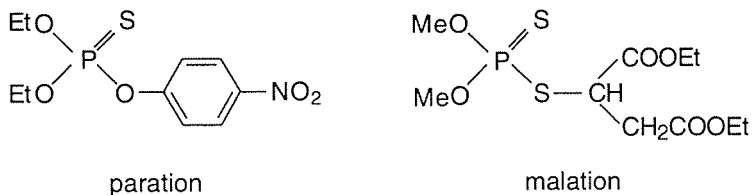
**Ekotiopat** je organofosforini spoj koji se također upotrebljava u liječenju glaukoma (Slika 13).





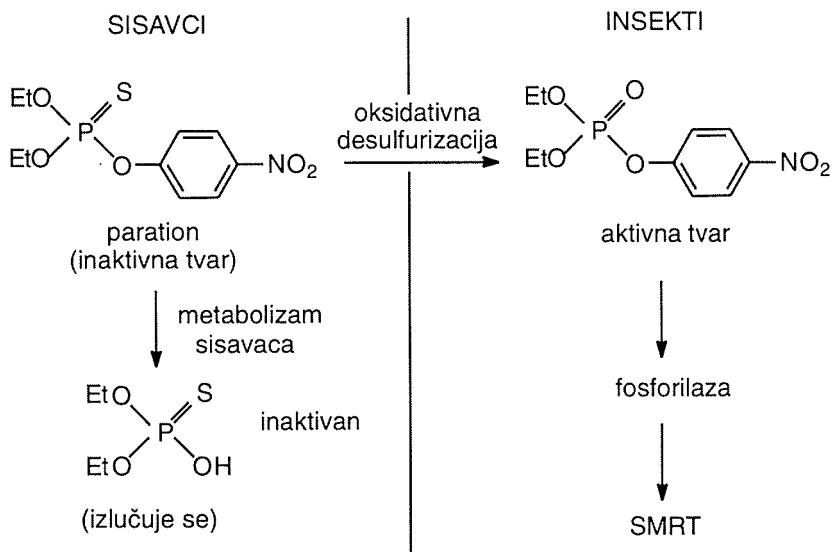
Slika 13. Ekotiopat

**Paration i malation** su najvažniji organofosforni insekticidi koji umjesto vrlo otrovne P=O skupine, imaju P=S skupinu (Slika 14).



Slika 14. Paration i malation

Ti spojevi kod insekata djeluju kao »prolijekovi« koji se oksidativnom desulfurizacijom metaboliziraju u aktivne inhibitore enzima i uzrokuju smrt. Navedeni insekticidi su bezopasni za sisavce jer se opisana reakcija biotransformacije ne može zbivati u njihovom organizmu (Slika 15).

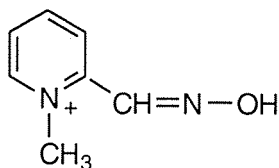


Slika 15. Metabolizam insekticida kod sisavaca i insekata

### Antidot organofosfornim spojevima

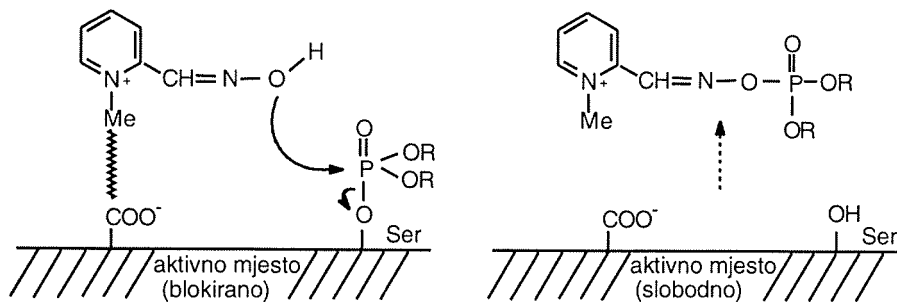
Sinteza pralidoksima jedan je od najboljih primjera racionalnog dizajniranja lijekova. Budući da se toksičnost organofosfornih spojeva temelji na čvrstom vezanju fosfata na ostatak serina na aktivnom mjestu acetilkolinesteraze, antidot je trebao sadržavati nukleofilnu skupinu koja može prekinuti tu vezu. Takav je nukleofil hidroksilamino skupina. Najjednostavniji spoj s tom skupinom je sam hidroksilamin, koji je pretoksičan za upotrebu, ali je poslužio kao uzorak za pripremu pogodnijeg antidota.

**Pralidoksim** je vrlo djelotvoran antidot kod trovanja organofosfornim spojevima (Slika 16).



Slika 16. Pralidoksim

U molekuli pralidoksima prisutna je hidroksilimino skupina. Pozitivni naboj na metiliranom piridinskom prstenu omogućuje vezanje na anionsko vezno mjesto. Hidroksilimino skupina smještena je u *orto* položaju, na optimalnom mjestu da dosegne fosfatni ester. Princip djelovanja pralidoksima prikazan je na Slici 17.



Slika 17. Reakcija pralidoksima s fosfatnim esterom

### Registrirani lijekovi u Hrvatskoj

Popis neizravnih parasimpatomimetika registriranih u Hrvatskoj dan je u Tablici 1 (4).

**Tablica 1.**  
Nazivi ljekovitih tvari i registriranih lijekova iz skupine  
neizravnih parasimpatomimetika

Ljekovita tvar	Registrirani lijek
neostigmin	Neostigmin, Prostigmin
piridostigmin	Mestinon

Lijekovi iz skupine parasimpatomimetika upotrebljavaju se u liječenju glaukoma, miastenije gravis, atonije mokraćnog mjehura i intestinalnog trakta te kao antidoti antikolinergičnih lijekova i stabilizirajućih miorelaksansa.

### Indirect parasymphathomimetics

by **B. Zorc** and **S. Šoronda**

*S u m m a r y* – Indirect parasymphathomimetics or anticholinesterase drugs are antagonists of the enzyme acetylcholinesterase, the enzyme which hydrolyses acetylcholine. The effect of anticholinesterases is increased level of the natural neurotransmitter and increased cholinergic activity. They are used in treatment of glaucoma, myasthenia gravis, intestinal and bladder atony, and as antidotes of anticholinergic agents and stabilizing muscle relaxants.

There are two groups of anticholinesterase drugs – carbamates and organophosphorus agents. The mechanism of action for both types of compounds is similar. The esteratic center of acetylcholinesterase reacts with the carbaminic acid or phosphoric acid esters and inhibits the hydrolysis of released acetylcholine. Whereas the regeneration of the enzyme is rapid for carbamic acid derivatives, the phosphorylated enzyme is hydrolyzed very slow. So the first derivatives are called reversible, and the second irreversible acetylcholinesterase blockers. The most important carbamic acid derivatives are physostigmine, neostigmine, pyridostigmine, distigmine. Only two organophosphorus derivatives are in use as drugs: dyflos and ecothiopate. The other compounds are nerve poisonous gases (sarin) or insecticides (parathion and malathion).

(Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, A. Kovačića 1, 10000 Zagreb, Croatia)

(Primljeno 4.11.1998.)

### Literatura – References

1. E. Mutschler, H. Derendorf, Drug Actions, Basic Principles and Therapeutic Aspects, Medpharm Scientific Publishers, Stuttgart, 1995.
2. G. L. Patrick, An Introduction to Medicinal Chemistry, Oxford University Press, Oxford, 1995.
3. Martindale, The Extra Pharmacopoeia, 30th Edition (Ur. J. E. F. Reynolds), The Pharmaceutical Press, London, 1993.
4. L. Bencarić, Registar lijekova u Hrvatskoj, 40. izdanje, Udruga zdravstva Zagreb, Zagreb, 1997.