

Bakteriálne metabolity

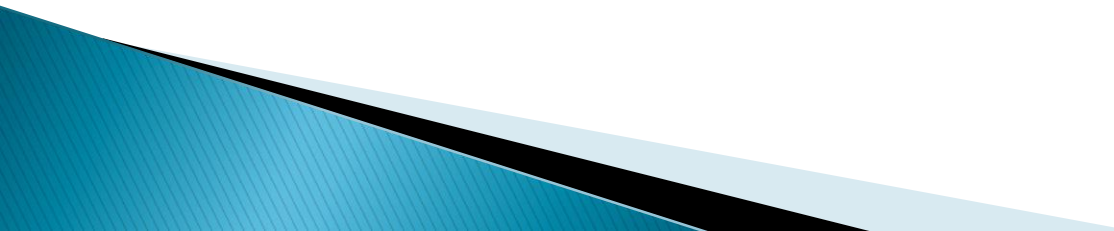
Ing. Lukáš Hleba, PhD.

Primárne metabolity – L–glutamát

- ▶ Produkcia L–glutamátu začala v 1908 v Japonsku kedy sa zistilo, že je zodpovedný za charakteristickú chuť jedál – umami
- ▶ Prv sa vyrábal draho – chemickou cestou na základe kyslej hydrolýzy proteínov
- ▶ Revolúcia prišla v 1957, kedy vedec Kyowa Hakko objavil pôdnu baktériu, ktorá produkovala veľké množstvo L–glutamátu do média
- ▶ Bola to prvá aminokyselina produkovaná mikroorganizmami
- ▶ Producenti: *Corynebacterium glutamicum*, *Brevibacterium* a *Arthrobacter*

Metaboly	Produkcia v ton.	Hodnota v EUR
AMINOKYSELINY		
L-glutamát	1 000 000	2 671 653 753
L-lyzín	800 000	814 854 394
L-treonín	20 000	89 055 125
L-asparagín	13 000	176 329 147
L-izoleucín	400	38 293 703
NUKLEOTIDY		
5'-IMP + 5'-GMP	2500	311 692 937
ORGANICKÉ KYSELINY		
Kyseliny citrónová	400 000	1 246 771 751
VITAMÍNY		
B12	3	89 055 125
C	60 000	63 229 138
Riboflavín	2000	53 433 075

Sekundárne metabolity

- ▶ Sú produktom iba niektorých mikroorganizmov a špecializovaných biochemických dráh
 - ▶ Sú produkované iba v niektorých rastových fázach mikroorganizmov, najčastejšie v stacionárnej fáze rastu
 - ▶ Najdôležitejšie z nich sú antibiotiká
- 

Antibiotiká – β -laktámy

- ▶ Historicky prvé – Penicilín – Alexander Fleming
- ▶ Inhibujú syntézu bunkovej steny zloženej z peptidoglykánu
- ▶ Penicilín G – efektívny voči G+ a neefektívny voči G- baktériám
- ▶ Pridaním benzylovej skupiny na šiestu pozíciu v jadre beta-laktámov sa vytvorila aktivita aj voči G- baktériám – širokospektrálne ATB

Antibiotiká – Makrolidy

- ▶ Sú produktami Streptomycét – príklad erytromycín
- ▶ Sú to makrocyclické zlúčeniny účinné voči G+
- ▶ Syntetické makrolidy – aj voči G-

Antibiotiká – Ansamycíny

- ▶ Sú tiež makrocyclické zlúčeniny – no odlišujú sa od makrolidov tým že obsahujú aj aromatický chromofór (amid)
- ▶ Sú produktom rodu *Amycolatopsis*, ktoré patria medzi Streptomycéty
- ▶ Príkladom sú ryfamycíny – inhibítory prokaryotickej RNA polymerázy
- ▶ Ryfamycín SV – aktivita voči G⁺ iba, ak sa molekula nabila kladne, stala sa viac polárnou, rozšírila sa aktivita aj na G⁻
- ▶ Sú dôležité v boji proti *Mycobacterium tuberculosis* a *Mycobacterium leprae*

Antibiotiká – Tetracyklíny

- ▶ Producenti: *Streptomyces* spp.
- ▶ Inhibujú prokaryotickú proteosyntézu
- ▶ Sú to široko–spektrálne ATB s účinkom voči G+ a G–
- ▶ V malom množstve sa kedysi používali aj ako rastové stimulátory a prevencia v potrave hospodárskych zvierat, 2006 EU zakázala
- ▶ Objavovala sa totižto *Salmonella* rezistentná voči tetracyklínu a zvyšovala sa chorobnosť

Antibiotiká – chloramfenikol

- ▶ Izolovaný zo *Streptomyces venezuelae* filtrátu
- ▶ Malá molekula – ekonomickejšie je vyrábať ju synteticky ako fermentáciou
- ▶ Inhibuje prokaryotickú proteosyntézu
- ▶ Kvôli svojej veľkosti ľahko preniká cez membránu a má široké spektrum účinku
- ▶ Preniká však aj cez membránu eukaryotických buniek do mitochondrií a inhibuje aj proteosyntézu u eukaryontov
- ▶ Práve kvôli týmto vlastnostiam sa dnes už nepoužíva
- ▶ Výnimku tvoria iba prípady ak patogény prežívajú v bunkách eukaryontov – *Salmonella typhi*

Antibiotiká – peptidové ATB

- ▶ Väčšinu z nich produkuje *Bacillus* spp.
- ▶ Obsahujú neobvyklú aminokyselinu, D-aminokyselinu, ornitín a diaminomaslovú kyselinu, ktoré majú značnú toxicitu pre človeka
- ▶ Ich účinok je limitovaný na G+
- ▶ Výnimkou je polymixín, ktorú účinkuje v dvoch krokoch a to naviazaním na LPS G- baktérií a jej pretrhnutím a následne na cytoplazmatickú membránu a zabitím baktérií
- ▶ Silná aktivita je voči *P. aeruginosa*, kde iné Atb pre jeho málo priepustnú membránu neúčinkujú
- ▶ Liečia sa práve *P. aeruginosa* ochorenia

Antibiotiká – peptidové ATB

- ▶ Vankomycín – glykopeptid s účinkom voči G+
- ▶ Viaže sa na D-Ala-D-Ala polovičku peptidoglykánového prekurzora
- ▶ Používa sa najmä pri liečbe ochorení spôsobené MRSA
- ▶ Daptomycín – lipopeptid – viaže sa na bunkovú membránu G+ v prítomnosti Ca²⁺, kde zabíja baktérie únikom cytosolických iónov
- ▶ Je vhodný pre použitie u ľudí

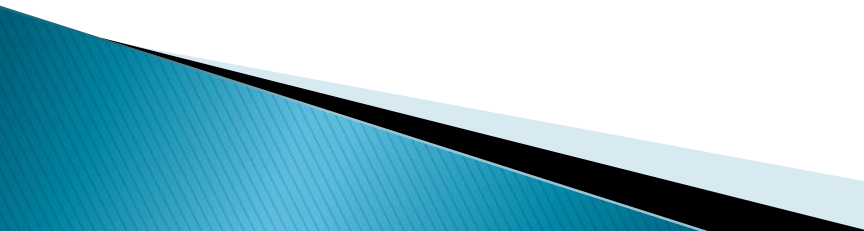
Antibiotiká – Aminoglykosidy

- ▶ Producenti: *Streptomyces* – viacero ATB, *Micromonospora* – gentamicín
- ▶ Sú to inhibítory prokaryotickej proteosyntézy
- ▶ Molekuly sú malé a dokážu prechádzať cez membránu G⁻ cez poríny
- ▶ Sú účinné aj voči G⁺ a G⁻

Antibiotiká – antifungálne

- ▶ Rovnaký typ syntézy proteínov ako u vyšších eukaryotov, preto je ťažšie nájsť vhodné ATB
- ▶ Polyoxín B – UDP–N–acetylglukozamid – inhibuje syntézu chitínu, hlavnej zložky bunkovej steny húb – používaný ako fungicíd v Agrosystémoch
- ▶ Griseofulvín – produkt *P. griseofulvum* – taktiež inhibuje huby – viaže sa na proteíny zúčastňujúce sa na tvorbe tubulínu a mikrotubulov a inhibuje tak mitózu u húb
- ▶ Používa sa v medicíne aj v poľnohospodárstve

Antibiotiká – antifungálne

- ▶ Polyény – produkujú ich Streptomycéty a v komplexe so sterolmi narúšajú membrány húb a vytvárajú nešpecifickú permeabilitu, keďže aj ľudské bunky obsahujú steroly, používajú sa tieto ATB iba vo výnimočných prípadoch
 - ▶ Echinokyndíny – typ lipopeptidu
 - ▶ Azoly – syntetická zlúčenina, ktorá inhibuje syntézu ergosterolu v hubách
- 

Antitumorová aktivita

- ▶ Patria sem látky antracyklínovej povahy – doxorubicín a daunorubicín – obsahuje naftacénový prstenec, kde 4 benzénové jadrá splynuli dokopy
- ▶ Tieto látky sa vkladajú medzi bázy dsDNA a účinkujú pomocou inhibície topoizomerázovej reakcie
- ▶ Dactinomycíny – podobne ako predošlé, no inhibujú transkripciu aj syntézu DNA
- ▶ Bleomycín – má vysokú afinitu k DNA, inú štruktúru ako predošlé a ničí DNA pomocou tvorby kyslíkových voľných radikálov
- ▶ Zinostatín
- ▶ Všetky spomínané sú produktami *Streptomyces* spp.

Antitumorová aktivita

- ▶ Mnohé z nich sú však úplne syntetickej povahy
- ▶ Zahŕňajú antimetabolity (metotraxát, fluorouracil), alkylačné činidlá (cyklofosfamidy), DNA–cross–linking činidlá (cisplatín)
- ▶ Niektoré z nich sú mikrobiálnej povahy produkované aj streptomycétami (pentostatín, streptozocín, mitomycín C



Proteázovo/peptidázové inhibítory

- ▶ Ako prvý inhiboval proteázovú aktivitu Hamao Umezawa pomocou sekundárnych metabolitov MO
- ▶ Testovalo sa mnoho inhibítorov proteáz vo filtráte zo *Streptomyces*
- ▶ Látky: antipaín, leupeptín, pepstatín – používané hlavne v laboratórnych podmienkach
- ▶ V medicíne: bestatín – inhibuje amonipeptidázy, potrebné pre imunopotentných pacientov s rakovinou
- ▶ Látka A58365A – inhibítor angiotenzín-konvertujúceho enzýmu, kľúčový enzým v renín-angiotenzínového systému, ktorý kontroluje krvný tlak – produkt *Streptomyces*

Inhibítor cholesterolovej biosyntézy

- ▶ Izoloval ho Sankyo Co z kultúr *Penicillium* a inhiboval biosyntézu cholesterolu u myší, zistilo sa že ide o látku kompaktín, ktorý inhibuje prvý krok v syntéze cholesterolu (hydroxymetylglutaryl-CoA reductázu)
- ▶ Príbuznú látku izoloval aj Merck, Sharpe a Dohme - mevinolín z kultúr *Aspergillus* - dnes sa nazýva lovastín
- ▶ Dnes existujú aj syntetické a semisyntetické statíny ako atorvastatín (Lipitor)

Iné inhibítory

- ▶ Cerulenín – inhibuje syntézu mastných kyselín
- ▶ Tunikamycín – inhibuje transfer N-acetylglukozamín-1-fosfát polovicu lipidového prenášača v biosyntéze asparagín v karbohydrátovom reťazci glykoproteínov

Imunosupresanty

- ▶ Cyklosporín A – cyklický peptid produkovaný hubami – objavený bol náhodne pri screeningu antifungálnych látok
- ▶ Cyklosporín vytvára komplexy s peptidyl prolyl *cis-trans* izomerázou, cyklofilínom v eukaryotickej cytoplazme, tento komplex inhibuje účinok fosfoproteín fosfatázy, komplex je známy pod menom kalkineurín
- ▶ Rapamycín – potláča interleukín 2 produkciu
- ▶ Oba sú používané v medicíne

Látky viažuce sa na špecifické receptory

- ▶ Asperlicín – produkt *Aspergillus* – viaže sa na cholecystokinín receptor, čo je peptidový hormón, bol izolovaný z črevného tkaniva a je zodpovedný za motilitu a kontrakcie žlčníka