



**FACULTAD DE FARMACIA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**Diseño y mecanismos de acción molecular de  
nuevos inhibidores de  $\beta$ -lactamasa**

**Autor:** María Fresco Merino

**D.N.I.:** 51473123C

**Tutor:** Mónica Söllhuber Kretzer

**Convocatoria:** Junio

# ÍNDICE

➤ RESUMEN/ABSTRACT.....	3
➤ INTRODUCCION.....	3
➤ ANTECEDENTES.....	3
○ Antibióticos $\beta$ -lactámicos.....	4
○ Causas de la resistencia bacteriana.....	5
○ $\beta$ -lactamasas.....	5
○ Inhibidores de beta – lactamasa y mecanismo de acción.....	7
➤ OBJETIVO.....	8
➤ METODOLOGÍA.....	8
➤ RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
▲ Diazabiciclooctanos (DBO) .....	8
○ Avibactam	
▪ Mecanismo de acción.....	9
▪ Reciclización de la molécula.....	11
▪ Aspectos clave.....	13
▲ Inhibidores derivados del ácido borónico.....	14
○ Ácidos borónicos.....	14
○ RPX7009.....	15
○ Oxaboroles.....	16
▲ Rodaninas.....	17
➤ CONCLUSIONES.....	18
➤ BILIOGRAFÍA.....	19

## **RESUMEN**

Las bacterias, especialmente las Gram-negativas, han desarrollado mecanismos de resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos e incluso a los inhibidores de  $\beta$ -lactamasas con los que se administran conjuntamente.

Ante el agotamiento conjunto del arsenal terapéutico del que se disponía en la práctica clínica, se ha potenciado el desarrollo de nuevos inhibidores de  $\beta$ -lactamasa, objetivo de este trabajo.

## **ABSTRACT**

Bacteria and especially Gram-negative bacteria, have developed mechanisms of resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics and even to  $\beta$ -lactamase inhibitors.

Because of the joint depletion of the therapeutic arsenal available in clinical practice, this review deals with the development of new  $\beta$ -lactamase inhibitors.

## **INTRODUCCIÓN**

La resistencia a antibióticos representa actualmente un problema de salud pública global altamente relevante. El hecho de que el número de antibióticos  $\beta$ -lactámicos sea cada vez mayor ha provocado un aumento de la presión de supervivencia para las bacterias (5). Esto ha llevado a la aparición de múltiples mecanismos de resistencia, destacando la aparición de  $\beta$ -lactamasas que promueven la supervivencia frente a los antibióticos de las bacterias poseedoras de las mismas (1).

Actualmente las investigaciones se centran en el diseño de nuevos inhibidores de  $\beta$ -lactamasas que no solo eviten la hidrólisis del antibiótico  $\beta$ -lactámico, sino que además sean resistentes a la hidrólisis por las mismas.

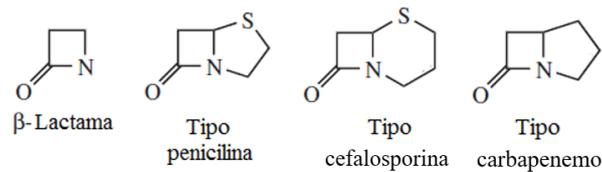
Los estudios en este campo distinguen dos ramas de investigación: inhibidores  $\beta$ -lactámicos y no  $\beta$ -lactámicos, siendo estos últimos en los que se centrará esta revisión bibliográfica.

## **ANTECEDENTES**

Una forma de diseñar antibacterianos selectivos es inhibir la biosíntesis de la pared celular en las bacterias. La pared celular de las bacterias Gram-negativas es mucho más compleja que las Gram-positivas, lo que complica el tratamiento de las enfermedades producidas por las primeras.

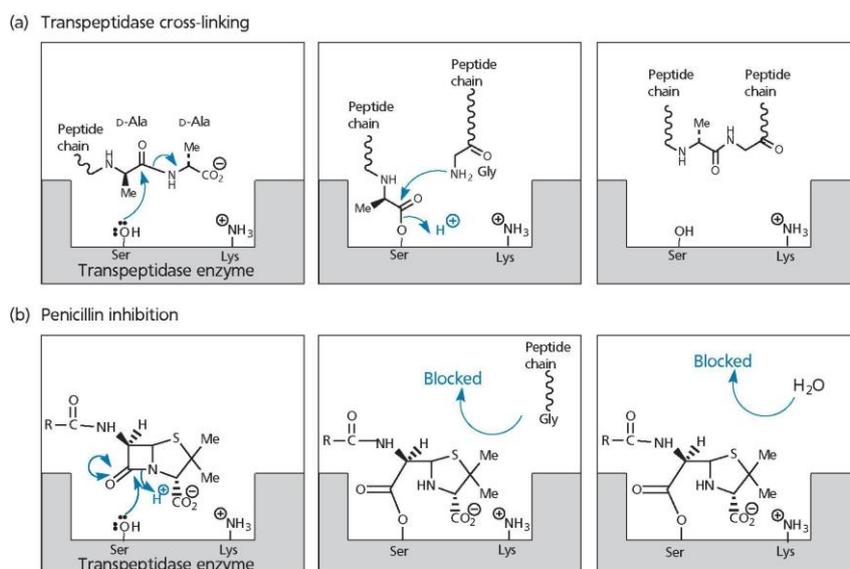
El componente principal de la pared celular de las bacterias es un mucopéptido o peptidoglicano con estructura reticular. La síntesis del peptidoglicano consta de cuatro fases, de las cuales los antibióticos  $\beta$ -lactámicos entran en juego en la última. En esta etapa se produce el entrecruzamiento de cadenas de peptidoglicano mediante la formación de puentes que dan rigidez al sistema. (2)

### Antibióticos $\beta$ -lactámicos



Los antibióticos  $\beta$ -lactámicos reciben este nombre por poseer en su estructura química un anillo de  $\beta$ -lactama. Fueron descubiertos en 1929 por Alexander Fleming al observar la acción bactericida de los metabolitos de *Penicillium notatum*, siendo el primero en usarse en terapéutica la Penicilina G (1941). De esta forma se da inicio a la quimioterapia moderna.

Las penicilinas actúan como peptidomiméticos, inhibiendo de forma pseudo-irreversible la transpeptidasa y las PBPs (Penicillium Binding Proteins). El anillo betalactámico mimetiza la secuencia terminal D-Ala-D-Ala de la cadena del peptidoglicano, acilando la enzima. De esta manera queda interrumpido el proceso de formación de la pared celular bacteriana. (2)



Mecanismo de acción de PBP (a) e inhibición por la penicilina (b) (2)

## Causas de la resistencia bacteriana a los antibióticos $\beta$ -lactámicos: (2)

- **Sobreexpresión de  $\beta$ -lactamasas**, enzimas que inactivan los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Se trata del mecanismo más frecuente.
- **Impermeabilidad de la pared** (más frecuente en Gram-negativas) como consecuencia de mutaciones cromosómicas que alteran las porinas (OMPs) responsables de la penetración del antibiótico al protoplasma bacteriano, reduciéndose la cantidad de las mismas.
- **Bombas de eflujo**. Expulsan una amplia gama de sustancias, entre ellas los antibióticos, desde el periplasma al medio ambiente circundante (resistencia adquirida o intrínseca).
- **Variaciones en la afinidad por las PBPs esenciales**. Se da en MRSA. Las PBPs esenciales para el microorganismo muestran poca afinidad por el antibiótico  $\beta$ -lactámico debido a cambios en el sitio activo que requiere la interacción con un sitio alostérico (cefalosporinasas de 5ª generación).

## Clasificación de las $\beta$ -lactamasas

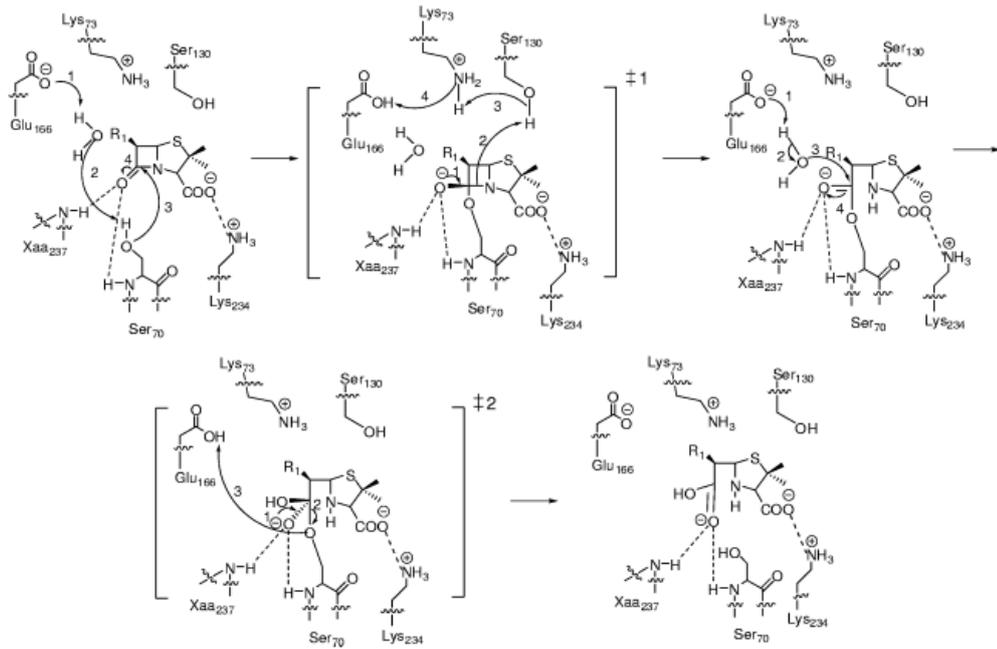
Las  $\beta$ -lactamasas se diferencian de las transpeptidasas en la velocidad de hidrólisis. Mientras que las acil-transpeptidasas se hidrolizan muy lentamente, las acil- $\beta$ -lactamasas lo hacen más rápidamente

Las  $\beta$ -lactamasas pueden ser inhibidas por el ácido clavulánico, sulbactam y tazobactam; portadores de un anillo  $\beta$ -lactámico y empleados actualmente en terapéutica. Actúan como inhibidores suicidas, impidiendo de esta forma la degradación de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Por desgracia, su efectividad se reduce a la  $\beta$ -lactamasa A. (3)

Las  $\beta$ -lactamasas pueden clasificarse de diversas formas, una de ellas, la más utilizada, es en función de su secuencia de aminoácidos o **Clases Ambler:**

- **Clases A, C y D**. Utilizan un resto de serina (Ser70) (SBL) para la hidrólisis del antibiótico  $\beta$ -lactámico, generándose un complejo acil-enzima entre el hidroxilo de serina y la  $\beta$ -lactama.

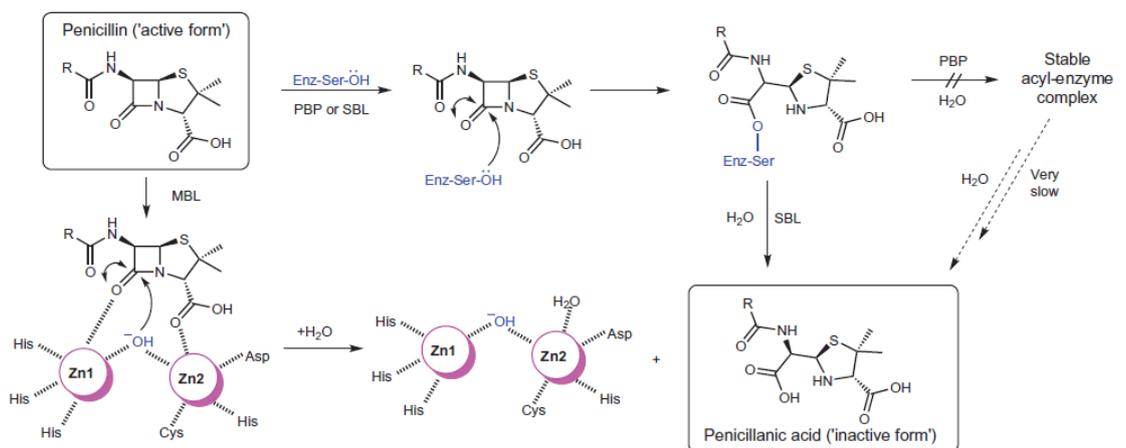
La hidrólisis del complejo acil-enzima es fácil en estas  $\beta$ -lactamasas y se lleva a cabo por una molécula de agua activada en forma de  $\text{OH}^-$  por Glu166, liberándose el ácido penicilánico correspondiente. (3) y (4)



Mecanismo de acción de las  $\beta$ -lactamasas de serina. (6)

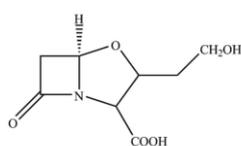
- **Clase B.** Son metaloenzimas (MBL) que requieren uno o dos átomos de  $Zn^{2+}$  en el sitio activo. El mecanismo enzimático consiste en coordinar el antibiótico  $\beta$ -lactámico por los grupos carboxilato y carbonilo, con los dos átomos de  $Zn^{2+}$  del sitio activo de la enzima.

Uno de los dos  $Zn^{2+}$  en conjunción con algunos aminoácidos de la enzima, polariza el carbonilo  $\beta$ -lactámico para el ataque por el grupo OH<sup>-</sup>, proveniente de una molécula de agua activada por un residuo de aspartato. Se crea un intermedio tetraédrico que se convierte rápidamente en el ácido penicilánico. (3) y (4)

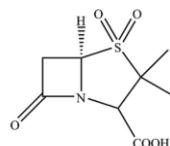


Comparación entre hidrólisis por  $\beta$ -lactamasas de serina y metalo- $\beta$ -lactamasas (6)

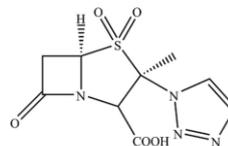
## Inhibidores de $\beta$ -lactamasa



**Clavulanic acid**



**Sulbactam**



**Tazobactam**

El ácido clavulánico fue el primer inhibidor de  $\beta$ -lactamasa introducido en clínica. Muestra adicionalmente una pequeña actividad antimicrobiana en solitario, pero combinado con amoxicilina o ticarcilina, se observa un aumento significativo de actividad. Sulbactam y tazobactam son penicilinas sulfonadas más tardías. (6)

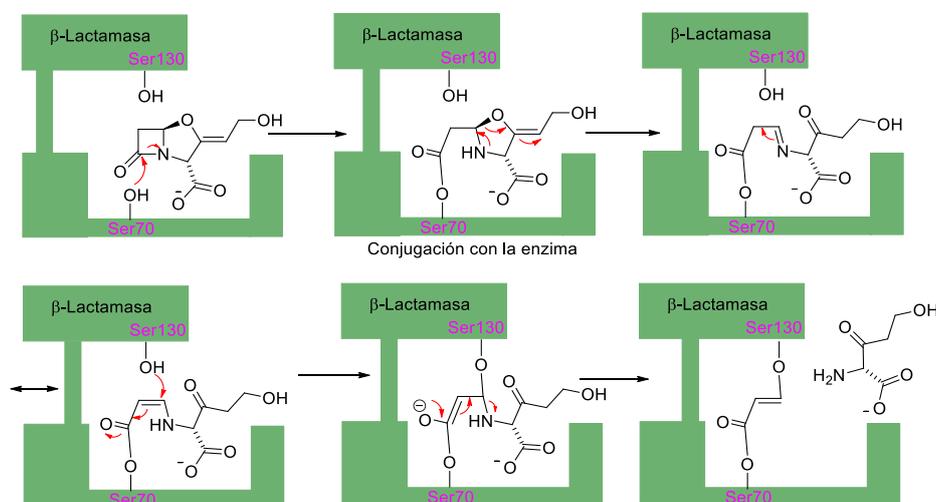
Como hemos indicado anteriormente, estos tres compuestos presentan similitud estructural con la penicilina y son efectivos frente a microorganismos poseedores de  $\beta$ -lactamasas clase A. Por el contrario son menos efectivos frente a los que poseen las de clase B, C y D. (7)

### *Mecanismo de acción del ácido clavulánico.*

El proceso comienza con la formación de una acil-enzima seguido de la apertura del anillo pentagonal y la formación de una imina. La reorganización para formar intermedios de (*cis* o *trans*) enamina permite que la reacción proceda hacia la desacilación o hacia la inactivación irreversible.

En la desacilación, esta sería lenta y regeneraría la  $\beta$ -lactamasa activa a largo plazo.

La inhibición irreversible o suicida, entra en juego un segundo resto de serina (Ser 130), atacando a la enamina y formando un complejo enol-éter, de manera que la enzima queda bloqueada irreversiblemente, como se refleja en el siguiente esquema. (2)



Mecanismo de inhibición suicida de la  $\beta$ -lactamasa de serina por parte del ácido clavulánico (2)

## OBJETIVO

Una posible estrategia exitosa para combatir las  $\beta$ -lactamasas es el uso de agentes diseñados para unirse al centro activo de la enzima, pudiendo llevarse a cabo de dos formas: crear sustratos que formen interacciones estéricas desfavorables como complejos acil-enzima o desarrollar inhibidores suicidas.

Actualmente las investigaciones se centran en el diseño de nuevos inhibidores de  $\beta$ -lactamasas que tengan un efecto de acción más amplio que los empleados hasta ahora. Por ello se ha dirigido la atención a inhibidores carentes de estructura  $\beta$ -lactámica en los que se centrará esta revisión bibliográfica.

## METODOLOGÍA

Se ha realizado una revisión sistemática de documentos publicados en diferentes fuentes científicas relacionadas con las  $\beta$ -lactamasas y la investigación sobre fármacos inhibidores de estas enzimas. Para ello se consultaron bases de datos como Science Direct y PubMed.

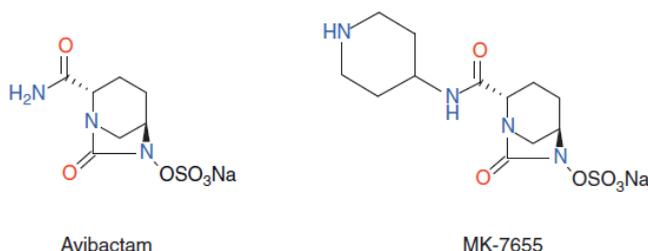
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Basándose en los conocimientos de los mecanismos de acción de los antibióticos y de los inhibidores  $\beta$ -lactámicos clásicos, se ha estudiado cuales son las mutaciones y cambios responsables de estas resistencias.

De esta manera, en base a los conocimientos químicos, microbiológicos, cinéticos y estructurales de estos mecanismos de resistencia se han desarrollado nuevas moléculas mediante estudios de SAR y QSAR que, sin presentar esqueleto o núcleo  $\beta$ -lactámico, sean capaces de interactuar con la diana con la mayor especificidad y eficacia posibles.

A continuación haremos referencia a los más significativos.

### Inhibidores de $\beta$ -lactamasas con sistema de Diazabicciclooctano (DBO)



Son los primeros representantes de inhibidores no  $\beta$ -lactámicos; constan de un anillo de 2-imidazolinona cuyo carbonilo es responsable de la unión a la serina del sitio activo de la enzima mediante una reacción de carbamoilación. El primer representante de este grupo es el avibactam (AVI), al que le seguirá pronto el relebactam (MK-7655).

Estas moléculas son potentes inhibidores de  $\beta$ -lactamasas de clase A y C (frente a las que el avibactam no actúa como inductor) con actividad variable frente a las de clase D. Por el contrario son inactivos frente a MBL (clase B). (8) Entre sus posibles aplicaciones se pueden citar las siguientes:

La ceftarolina es el único antibiótico  $\beta$ -lactámico útil frente a microorganismos aerobios y frente a Gram-positivos, incluso frente a los meticilín resistentes. En contrapunto, es el menos potente de los tres antibióticos  $\beta$ -lactámicos disponibles para tratar infecciones de Gram-negativos de elevada resistencia. La combinación con AVI completa su espectro excepto frente de *Pseudomonas aeruginosa*.

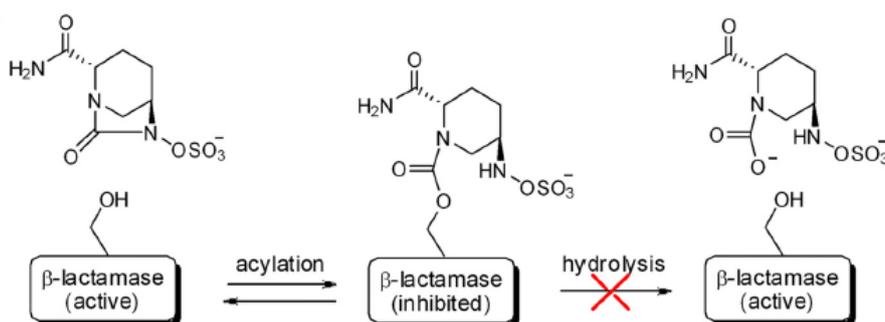
Otra de las nuevas combinaciones en vías de estudio es la del Imipenem (IMP) con relebactam. Los datos sobre esta combinación son escasos, IMP tiene un espectro que incluye muchos anaerobios que escapan a las combinaciones empleadas en la actualidad y es intrínsecamente más potente que las cefalosporinas. (7)

### **Avibactam; un inhibidor covalente, lento, reversible, no susceptible de hidrólisis**

Se trata de un inhibidor anteriormente conocido como AVE1330A, con capacidad de acilar covalentemente el centro activo de las  $\beta$ -lactamasas. Es un inhibidor covalente, reversible, que presenta una velocidad de acilación muy rápida frente a una desacilación muy lenta que puede llegar a durar días. (9)

El éxito de esta reacción reside en la similitud del grupo carbonilo electrófilo con el de las  $\beta$ -lactamas. Sin poseer un esqueleto de esta naturaleza se produce un reconocimiento rápido por la enzima que da lugar a la formación de un aducto de elevada estabilidad. (8)

### Mecanismo de inhibición de la $\beta$ -lactamasa tipo TEM-1 por parte de AVI



Mecanismo de acción del Avibactam (11)

Las pruebas de laboratorio revelan que el proceso de acilación de la enzima tiene lugar a una velocidad superior a la del proceso de desacilación de la misma. Las medidas de los ensayos se realizaron en relación a la estabilidad del complejo enzima-avibactam y no en relación a la actividad enzimática, ya que esta se mantiene estable. (12)

Dado que no se observaron vías de desacilación irreversibles por hidrólisis o reordenamiento químico, se exploró la posibilidad de desacilación a consecuencia de una reacción reversible para liberar el avibactam intacto. (2)(10)(12)

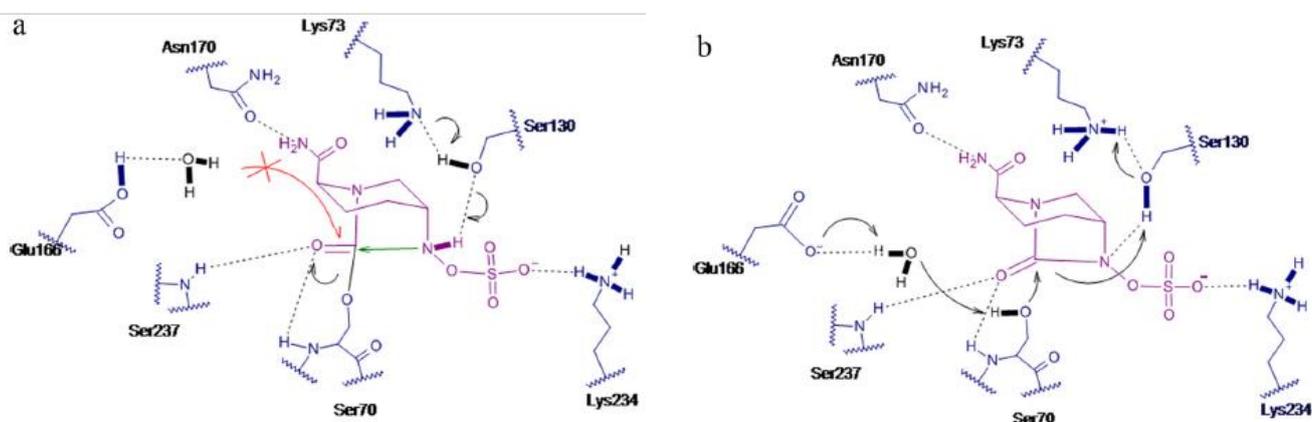
En un mecanismo reversible, el equilibrio entre la acil-enzima, la enzima libre, y el inhibidor libre dependerá de las concentraciones totales de la enzima y del inhibidor con relación a la constante de disociación del complejo enzima-inhibidor.

Mediante diluciones seriadas se obtuvieron los siguientes resultados:

- El porcentaje de enzima libre aumenta a medida que la dilución del complejo de acil-enzima aumenta.
- El porcentaje de actividad de la enzima (medida de la enzima libre) aumenta a medida que aumenta el grado de dilución.
- El porcentaje de avibactam libre en solución aumentó a medida que el grado de dilución del complejo de acil-enzima aumenta, en consonancia con la reacción de desacilación y la liberación de avibactam intacto. (7)

La estructura bicíclica de los DBO parece comparable con los inhibidores  $\beta$ -lactámicos en términos de eficiencia respecto a la acilación de la maquinaria catalítica de TEM-1. En cambio, la desacilación a través del cierre del anillo para regenerar el inhibidor intacto no se produce con inhibidores con estructura de  $\beta$ -lactama debido a la alta tensión del anillo de lactama de cuatro miembros. (7) (8) (12) (13)

En el avibactam, el sitio de ataque de la serina catalítica es el carbonilo de una urea cíclica de cinco miembros, que sufre menos tensión que un anillo  $\beta$ -lactámico, lo que favorece el cierre del anillo y la regeneración intacta núcleo DBO del inhibidor frente a la liberación hidrolítica y la destrucción del núcleo  $\beta$ -lactámicos de los inhibidores clásicos. (7)(12)



Mecanismo de inhibición de Avibactam durante la acilación a) y desacilación b) (11)

La preservación del modo de unión del avibactam y la conservación de sus propiedades inhibitorias se puede atribuir a la limitada flexibilidad de la molécula y a la falta de reordenamientos adicionales. Esto hace que sean necesarios menos residuos adicionales con los que establecer uniones en el sitio activo a diferencia con el ácido clavulánico y tazobactam. (11)

La acilación / desacilación reversible a través de un enlace carbamato y una falta de hidrólisis parecen ser características únicas de avibactam entre los inhibidores de beta-lactamasa (11) (12).

La interacción de los grupos de activación, es decir, la fracción de sulfato, es más fuerte que la de los carboxilatos de los inhibidores  $\beta$ -lactámicos debido a su capacidad para formar uniones mediante puentes de hidrogeno con los residuos polares del sitio activo de la  $\beta$ -lactamasa (7). En su modo de unión covalente, el grupo de sulfato de avibactam desplaza la molécula de agua responsable de la desacilación (2).

### ***Reciclización de la molécula***

La interacción del avibactam con la  $\beta$ -lactamasa puede dividirse en dos partes; (i) la carbamoilación de la serina catalítica y (ii) descarbamoilación reversible a través de reciclación del compuesto.

El átomo de N6 del enlace escindible permanece en una trayectoria óptima para el ataque covalente al vínculo carbamoilo-Ser64. Esto, junto con un enlace covalente estable carbamoilo de avibactam, explica por qué la reciclización intramolecular de avibactam es preferible a la hidrólisis mediada por agua. Además, cabe destacar que dicho proceso se da más rápidamente cuando el avibactam actúa frente a enzimas de clase C que cuando lo hace frente a las de clase A.

La tasa más rápida de reciclización en las enzimas de clase C respecto a las de clase A puede deberse a la diferencia en la localización de los residuos catalíticos implicados en la acilación y desacilación.

En las enzimas de clase A, los residuos Glu166 y Ser130 (imprescindibles en el proceso de acilación y reciclización) se sitúan en las caras opuestas del plano carbonilo, mientras que en las enzimas de clase C están situados en el mismo plano. El lado opuesto en el bolsillo de unión de clase C, equivalente a la cara Glu166 en las enzimas de clase A, es menos polar y está formada por la cadena lateral hidrófoba de Tyr122.

La falta de residuos polares y enlaces de hidrógeno en esta región facilita la formación del enlace de hidrógeno intramolecular entre el grupo carboxamida del avibactam y el nitrógeno N1 del anillo de piperidina. Este fuerte enlace de hidrógeno ayuda a deslocalizar electrones desde el plano de carbonilo, siendo más favorable para el ataque nucleofílico por N6. (11)

El bucle cerrado de enlaces de hidrógeno entre carboxamida Tyr150-Lys67-Asn152-NH<sub>2</sub>-piperidina N1 en AmpC une los dos extremos cortados del enlace escindible, capaz de responder rápidamente a las alteraciones en la electrónica entre el anillo cerrado y la forma abierta del mismo. (6)

La reciclación de la molécula puede explicarse recurriendo a la geometría de la conformación de anillo abierto. En el bolsillo del sitio activo, la forma abierta de avibactam conserva una estructura similar a la conformación axial o pseudoaxial del sustrato tras la escisión.

Sólo hay una posición de distancia entre los átomos de uniones bien asentadas y los enlaces fuertes más cercanos del ligando al sitio activo, restringiéndose el desplazamiento significativo y el reposicionamiento tras la escisión.

Además, el producto escindido contiene una piperidina rígida en el centro que hace menos flexible la estructura si se compara con los anillos  $\beta$ -lactámicos.

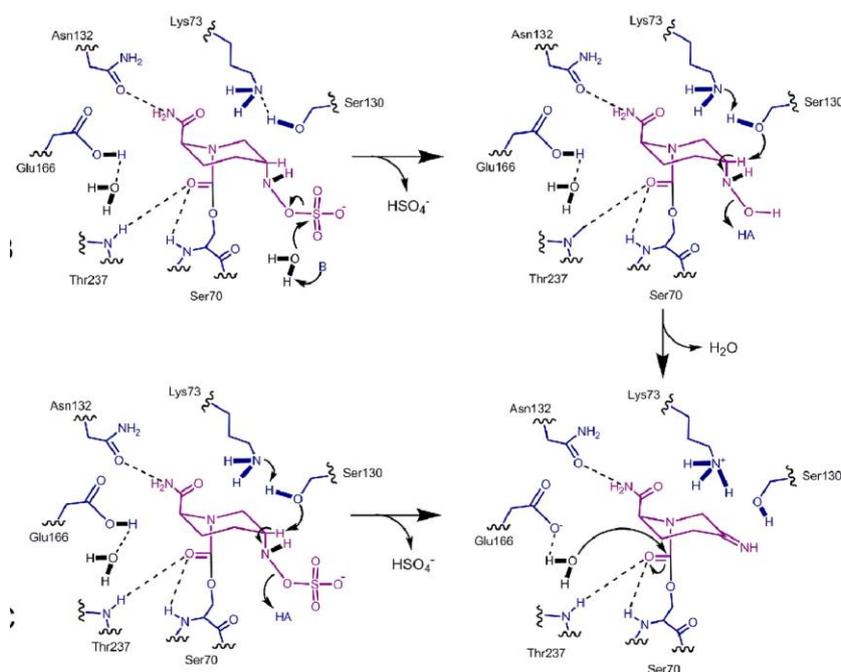
Este mecanismo favorece el uso del avibactam en comparación con los inhibidores de estructura  $\beta$ -lactámica, ya que el avibactam se regenera de manera intacta, disponible para un nuevo proceso de acilación a una  $\beta$ -lactamasa e iniciar otro ciclo de inhibición. (11)

### Aspectos clave

El mecanismo de acción del avibactam y su estructura revelan dos características imprescindibles en la inhibición enzimática del Avibactam:

- Elevada rigidez en la conformación de la molécula avibactam después de la apertura de anillo
- Elevada similitud conformacional entre las formas libres y las que se encuentran unidas a las enzimas.

Hasta el momento, la única enzima que ha demostrado capacidad para hidrolizar el avibactam, y por tanto desarrollar resistencia frente al mismo ha sido KPC-2 (clase A). Esto es debido a la competición entre dos posibles mecanismos en los que la situación de una molécula de agua es clave para que la reacción tenga lugar como (I) hidrolisis seguida de desulfonación o (II) reciclación de la molécula. (10)



Posible mecanismo de acción de desacilación del avibactam por KPC-2 (10)

Se cree que dicha resistencia es causada porque el grupo sulfato liberado tras la hidrólisis es imprescindible para la protección del enlace carbamato responsable de la inhibición de la enzima. (6) (10)

A pesar de esto, cabe destacar que el proceso de desacilación de dichas  $\beta$ -lactamasas tiene lugar de forma muy lenta, por lo que el impacto sobre la actividad microbiana del avibactam es mínimo. A pesar de esto hay que mantener precaución respecto a la probabilidad de aparición de nuevos derivados de clase A que posean mayores tasas hidrolíticas. (14) (15)

### **Inhibidores derivados del ácido borónico**

El boro contiene un orbital p vacío que hace que sea un electrófilo fuerte y se comporte como un ácido de Lewis. Forma fácilmente enlaces dativos con nucleófilos y se transforma desde una estructura trigonal plana sin carga a un tensioactivo aniónico de estructura tetraédrica.

Esta característica le permite formar enlaces dativos con nucleófilos en el sitio activo de enzimas, proporcionando de esta manera afinidad de unión adicional. Los enlaces dativos generan mayor estabilidad que las interacciones no covalentes e hidrófobas de la mayoría de fármacos. En contrapunto, se trata de enlaces reversibles (a diferencia de los enlaces covalentes generados por los inhibidores suicidas) actuando como inhibidores competitivos.

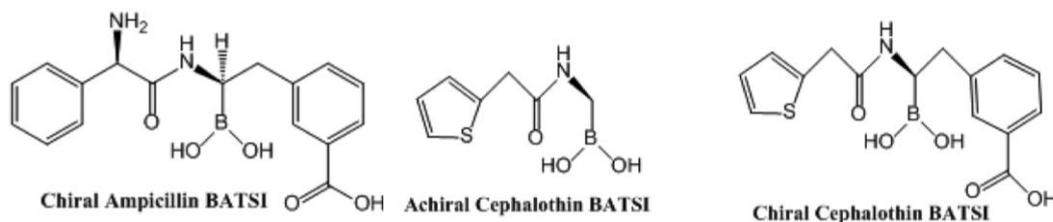
Documentados desde los años 70 como inhibidores de  $\beta$ -lactamasas de serina tipo A y C, se encuentran aún en ensayos en fase preclínica. Su capacidad inhibitoria no se ha explotado clínicamente, de hecho el potencial de los productos farmacéuticos que contienen boro se ha descuidado, a pesar de la ausencia de toxicidad generalizada. (16)

#### ***Ácidos borónicos***

En los ácidos borónicos, el átomo de boro puede actuar como electrófilo, imitando un grupo carbonilo posibilitando la formación de un enlace covalente reversible serina-boronato.

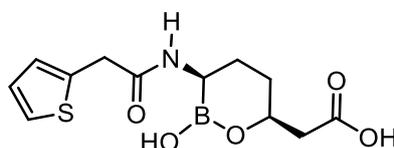
Ya en 1978 se describió al ácido fenilborónico como un inhibidor de  $\beta$ -lactamasa, convirtiéndose en la base de investigaciones para el desarrollo de nuevos inhibidores de  $\beta$ -lactamasa.

Estudios de aislamientos clínicos realizados en 2013 probaron la flexibilidad del sitio activo y las interacciones enzima-inhibidor o enzima-sustrato en algunos tipos de  $\beta$ -lactamasa. Para ello se utilizaron inhibidores de estado de transición de ácido borónico (BATSIS). (1)



Ejemplos de algunos BATSIS (1)

### ***RPX7009***

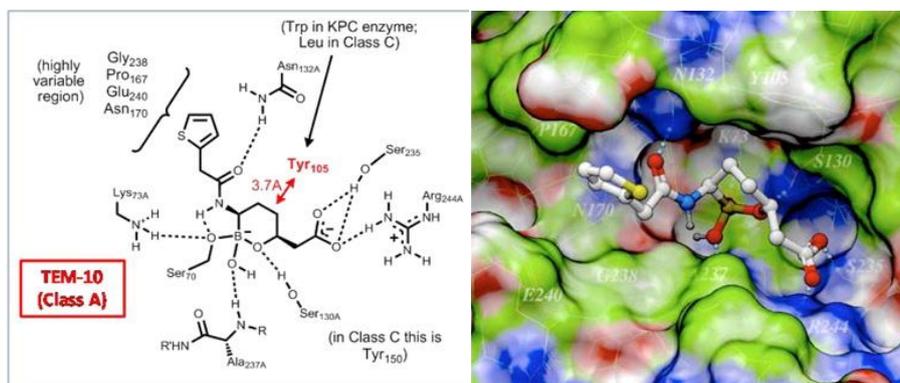


Estructura de RPX7009 (16)

Es un potente inhibidor de amplio espectro de carbapenemasas con estructura de alfa-acilamino bórico cíclico que, no ha demostrado poseer actividad antibacteriana por sí solo. Sin embargo, en combinación con un carbapenemo (biapenem), potencia fuertemente la actividad del mismo. Frente a cepas anaerobias no muestra variaciones en la actividad, por lo que se concluyó que dicho inhibidor no es activo frente a microorganismos fermentadores. (18)

### ***Mecanismo de inhibición de $\beta$ -lactamasas***

La afinidad de los boronatos por  $\beta$ -lactamasas tipo carbapenemasas de serina se debe a la formación de un aducto covalente reversible entre la serina catalítica y el resto boronato electrofílico, que imita el estado de transición tetraédrico de las reacciones de acilación – desacilación. (17)



Interacción del RPX7009 en el sitio activo de TEM-10 (17)

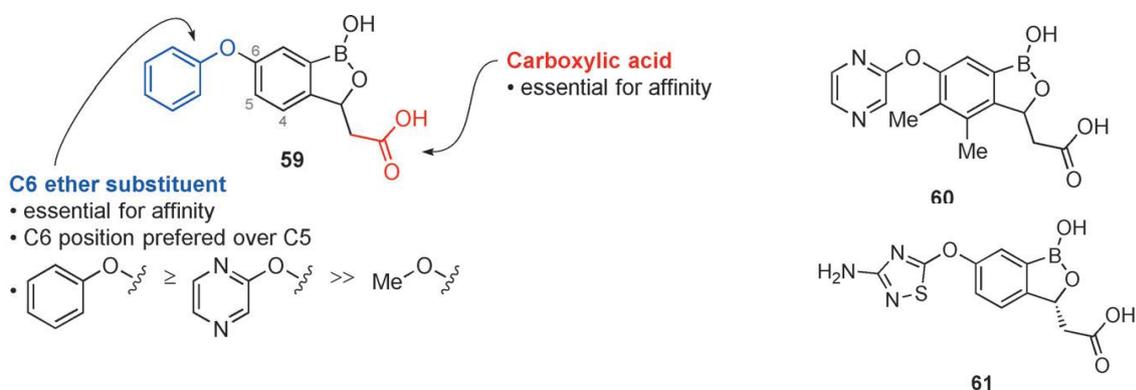
Así, por ejemplo, en la interacción de RPX7009 con AmpC el resto carboxilato se coordina dentro del “sub-bolsillo” a Asp, Ser y Thr; el carbonilo de la amida forma enlaces de hidrógeno con dos grupos donadores (Asn y Gln) de enlace de hidrógeno; el hidroxilo libre del resto de ácido borónico entra en el agujero oxianiónico, y la parte lipofílica del anillo se acopla en interacciones hidrofóbicas con dos cadenas laterales de leucina. Todas estas interacciones tienen lugar de un modo similar a como tendría lugar con el sustrato  $\beta$ -lactámico. (17)

## Oxaboroles

Recientemente, se ha publicado un estudio de inhibidores de  $\beta$ -lactamasa de amplio espectro partiendo de ácido 2-(1-hidroxi-6-fenoxi-1,3-benzo[*c*][1,2]oxaborol-3-il)acético. Estudios de SAR revelaron la importancia del grupo carboxílico y la función éter en estas estructuras. El feniloxi derivado mostró buena actividad frente a un panel de  $\beta$ -lactamasas representativas, pero se sustituyó por derivados de pirazina más sencillos de sintetizar.

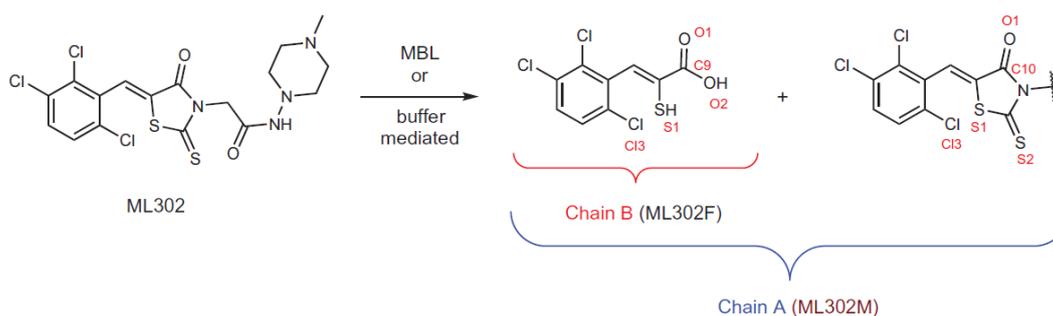
Los estudios de acoplamiento molecular en  $\beta$ -lactamasas revelaron un bolsillo lipofílico cerca de C4 y C5, únicamente capaz de dar cabida a grupos pequeños como el metilo. Estos estudios dieron como resultado el compuesto 60 cuyo enantiómero R resultó ser el más activo.

Por último se reemplazó el anillo de pirazina por diferentes heterociclos para tratar de aumentar la afinidad para las  $\beta$ -lactamasas A, C, y D. El resultado final fue el compuesto 61 activo contra diversas  $\beta$ -lactamasas, pero que desafortunadamente, no ha demostrado ser muy eficaz al combinarse con la ceftazidima en el caso de algunos Gram-negativos.



Relación estructura-actividad que contribuyen al desarrollo de nuevos inhibidores de  $\beta$ -lactamasa a base de boro (18)

## Rodaninas: “Andamios privilegiados para el desarrollo de nuevos inhibidores”



La hidrólisis de rodanina conduce a la inhibición de MBL mediada por un potente inhibidor tienolato que se une vía quelación di-zinc, imitando la unión de productos intermedios en la hidrólisis de  $\beta$ -lactamas. Muestran actividad inhibitoria frente a todas las clases de enzimas; son capaces de inhibir las clases A y C y en algunos casos también tienen actividad antimicrobiana aunque no per sé, sino debido a la inhibición PBP competitiva o no competitiva. (6)

El problema de estos compuestos es su promiscuidad; son capaces de inhibir enzimas tales como histona desacetilasas, aldosa reductasas, ARN polimerasas, etc. Tanto ML302F como ML302 son por sí mismos inhibidores extremadamente potentes y relativamente no tóxicas de MBL, además de ser parcialmente selectivos con respecto a otras metalo enzimas de zinc no microbianas. (19)

## CONCLUSIONES

De todos los nuevos fármacos de esta revisión bibliográfica, algunos ya están siendo comercializados y usados en terapéutica. Este es el caso de la combinación ceftazidima-avibactam (CAZ-AVI) que está siendo comercializado por AstraZeneca y Actavis (en EEUU) bajo el nombre de AVYCAZ para inyección como antimicrobiano. (9)

Las interacciones de avibactam se limitan al elemento más conservado de las  $\beta$ -lactamasas, lo que sugiere una probabilidad muy alta de la inhibición de todas las enzimas de clase C y permite establecer una barrera genética en el desarrollo de la resistencia en la clínica. (6)

Los resultados de inhibición muestran que es extremadamente eficiente, ya que se requieren sólo 1-5 moléculas de AVI para inhibir una molécula de  $\beta$ -lactamasa en comparación con 55 a 214 para el ácido clavulánico y tazobactam. (8)

Respecto a los derivados de boro, a pesar de haberse visto apartados de la práctica clínica durante muchos años, la falta de tratamientos efectivos y la aparición de resistencias han hecho que se vuelva a recurrir a ellos para el desarrollo de nuevos productos farmacéuticos antimicrobianos. (15)

El RPX7009 se estudia unido a meropenem y otros carbapenemos para el tratamiento de infecciones causadas por enterobacterias, *Pseudomonas* y otras infecciones causadas por bacterias poseedoras de SBLs. (16) (17)

Finalmente, las rodaninas, parecen tener un futuro prometedor en el campo de la quimioterapia antimicrobiana. Estos compuestos son especiales por poseer efectividad frente a todas las variedades de  $\beta$ -lactamasas, aunque por su pequeño tamaño son altamente promiscuas y podrían presentar problemas en su uso terapéutico. (6) (19) (20)

## BIBLIOGRAFÍA

1. Winkler M.L., Rodkey E.A., Taracila M.A., Drawz S.M., Bethel C.R., Papp-Wallace K. M., Smith K. M., Xu Y., Dwulit-Smith J.R., Romagnoli C., Caselli E., Prati F., Van den Akker F., and Bonomo R.A. Design and Exploration of Novel Boronic Acid Inhibitors Reveals Important Interactions with a Clavulanic Acid – Resistant Sulphydryl – Variable (SHV)  $\beta$ -Lactamase. *Journal Medicinal Chemistry* **2013**, 56, 1084–1097
2. Patrick G.L., An Introduction to Medicinal Chemistry 3<sup>a</sup> Ed. EEUU. Oxford University Press Inc. **2005**. 154 - 204
3. Drawzand S. M. and Bonomo R.A.. Three Decades of  $\beta$ -Lactamase Inhibitors. *Clinical Microbiology Reviews*. **2010**, Vol. 23, 160–201
4. Bush K. and Jacoby G. A. Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2010**, Vol. 54, 969–976
5. Lahiri S. D., Johnstone M. R., Ross P. L., McLaughlin R. E., Olivier N. B, Alm R. A. Avibactam and Class C  $\beta$ -Lactamases: Mechanism of Inhibition, Conservation of the Binding Pocket, and Implications for Resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, **2014**, 58, 5704–5713
6. Brem J., van Berkel S.S, Aik W., Rydzik A.M., Avison M.B., Pettinati I., Umland K.D, Kawamura A., Spencer J., Claridge T.D.W., McDonough M.A. and Schofield C.J. Rhodanine hydrolysis leads to potent thioenolate mediated metallo- $\beta$ -lactamase inhibition. *Nature Chemistry*, **2014**, 1084 – 1090

7. Drawz S. M., Papp-Wallace, K. M., Bonomo R. A.. New  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: a Therapeutic Renaissance in an MDR World. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. **2014**, 58, 1835 – 1846
8. Coleman K., Diazabicyclooctanes (DBOs): a potent new class of non- $\beta$ -lactam  $\beta$ -lactamase inhibitors. *Current Opinion in Microbiology* **2011**, 14, 550–555.
9. Ehmman D.E. ,Jahic´ H., Ross P. L., Gu R. F., Hu J., Durand – Réville T. F., Sushmita Lahiri, Thresher J., Livchak S., Gao N., Palmer T., Walkup G. K., and Fisher S.L. Kinetics of Avibactam Inhibition against Class A, C, and D  $\beta$ -Lactamases. *The Journal of Biological Chemistry*, **2013**, 288, 27960–27971.
10. Lahiri S. D., Mangani S., Durand – Reville T., Benvenuti M., De Luca F., Sanyal G., Docquier J.D. Structural Insight into Potent Broad-Spectrum Inhibition with Reversible Recyclization Mechanism: Avibactam in Complex with CTX-M-15 and *Pseudomonas aeruginosa* AmpC  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. **2013**, 57, 2496–2505
11. Ehmman, D.E., Jahic´ H., Ross P. L., Gu R. F., Hu J., Kern G., Walkup G. K. and Fisher S. L. Avibactam is a covalent, reversible, non- $\beta$ -lactam  $\beta$ -lactamase inhibitor. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2012**, 109, 11663–11668
12. King D.T, King A. M., Lal S.M., Wright G .D, and Strynadka N.C.J. Molecular Mechanism of Avibactam-Mediated  $\beta$ -Lactamase Inhibition. *ACS Infectious Disease*, **2015**, 1, 175–184.
13. Watkins R. R., Papp – Wallace K . M., Drawz S. M. and Bonomo R. A.. Novel  $\beta$ -lactamase inhibitors: a therapeutic hope against the scourge of multidrug resistance. *Frontiers in Microbiology* **2013**, 4, 1 – 8.
14. Winkler M.L., Papp-Wallace K.M., Taracila M.A., Bonomo R.A.. Avibactam and Inhibitor – Resistant SHV  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* **2015**, 59, 3700 – 3709.
15. Baker S.J., Tomsho J.W. and Benkovic S.J.. Boron – containing inhibitors of synthetases. *Chemical Society Review*, **2011**, 40, 4279–4285.
16. Livermore D.M. and Mushtaq S. Activity of biapenem (RPX2003) combined with the boronate  $\beta$ -lactamase inhibitor RPX7009 against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* **2013**; 68, 1825–1831
17. Hecker S.J., Reddy K.R.; Totrov M., C. Hirst G.C., Lomovskaya O., Griffith D.C., King P., Tsivkovski R., Sun D., Sabet M., Tarazi Z., Clifton M.C., Kateri Atkins K., Amy Raymond A., Kristy T. Potts A.K., Jan Abendroth J., Boyer S.H., Loutit J.S., Morgan

- E.E., Durso S., Dudley M.N. Discovery of a Cyclic Boronic Acid  $\beta$ -Lactamase Inhibitor (RPX7009) with Utility vs Class A Serine Carbapenemases. *Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, 58, 3682-3692.
- 18.** Chellat M.F., Raguz L. and Riedl R. Targeting Antibiotic Resistance. *Angewandte Chemie Int. Ed.* **2016**, 55, 2–30
- 19.** Liang Z., Li L., Wang Y., Chen L., Kong X., Hong Y., Lan L., Zheng M., Guang-Yang C., Liu H., Shen X., Luo C., Li K.K, Chen K., Jiang H.. Molecular Basis of NDM-1, a New Antibiotic Resistance Determinant. *PLoS ONE* **2011**, 6, 1 – 8.
- 20.** Wang J. F. and Chou K. C. Metallo- $\beta$ -Lactamases: Structural Features, Antibiotic Recognition, Inhibition, and Inhibitor Design. *Current Topics in Medicinal Chemistry* **2013**, 13, 1242-1253.