

## **ANTIBATTERICI CHINOLONICI**

### **ACIDO NALIDISSICO E CHINOLONI DI PRIMA GENERAZIONE**

La storia degli antibatterici chinolonici ha avuto origine con una scoperta casuale all'inizio degli anni sessanta. Nel corso di una sintesi alternativa della cloroquina, i chimici della Sterling-Winthrop isolarono come sottoprodotto il composto **1** (Figura 1), che risultò provvisto di una certa attività antibatterica. Ripetute modificazioni chimiche di questo lead permisero l'ottenimento di una varietà di analoghi strutturali che furono saggiati come antibatterici, arrivando così alla scoperta dell'acido nalidissico (Figura 1). Questo composto, dotato di moderata attività contro i germi gram-negativi, ha rappresentato il capostipite della famiglia dei chinoloni e fu introdotto in terapia nel 1963 come chemioterapico delle vie urinarie.

L'esordio in terapia dell'acido nalidissico (specialità in vendita in Italia: Bexatina, Nalidixin, Nalissina, Neg-Gram, Uralgin, Uri-Flor e Urogram) ha spronato un'intensa attività di ricerca nel campo dei chinoloni e negli anni sessanta e settanta si ebbe lo sviluppo di una serie di analoghi che costituiscono i cosiddetti chinoloni di prima generazione (Figura 2). Sebbene tutti questi composti presentino un atomo di azoto alla posizione 1, la struttura naftiridonica dell'acido nalidissico fu modificata ritornando al nucleo chinolonico (ad es. acido ossolinico) del lead originale **1**. Si ebbe anche l'inserimento di altri atomi di azoto in posizione 2 (cinossacina) e 6 (acidi piromidico e pipemidico), mentre anelli addizionali vennero fusi alle posizioni 6 e 7 (acido ossolinico e cinossacina) o a ponte tra le posizioni 1 e 8 (flumechina). L'introduzione in 7 di ammine cicliche ha prodotto gli acidi piromidico e pipemidico. Il gruppo etilico in N1 fu mantenuto invece relativamente costante in quanto si riteneva allora che nessun sostituito più grande potesse essere compatibile con una buona attività antibatterica.

Rispetto all'acido nalidissico, questi chinoloni di prima generazione presentano aumentata attività contro i batteri gram-negativi, ma sono sostanzialmente privi di effetti verso i cocchi gram-positivi, *Pseudomonas aeruginosa* e germi anaerobi. Tuttavia essi vengono ben assorbiti dopo somministrazione orale e raggiungono elevate concentrazioni nel tratto urinario, il che li rende utili come chemioterapici delle vie urinarie.

### **CHINOLONI DI SECONDA GENERAZIONE**

Un progresso sensibile nel settore dei chinoloni si ebbe nel 1980, allorché i chimici della Kyorin misero a punto la preparazione della norflossacina, derivante dalla combinazione di elementi

strutturali dell'acido pipemidico (7-piperazina) e della flumechina (6-fluoro) (Figura 3). La norflossacina mostra una certa attività sui gram-positivi oltre ad una attività contro i gram-negativi superiore rispetto agli agenti precedenti, ma in pratica è ancora indicata soltanto per le infezioni del tratto urinario ed il trattamento di prostatiti ed infezioni trasmesse sessualmente (gonorrea), a causa dei suoi bassi livelli ematici e della scarsa distribuzione tissutale. La norflossacina è stato il primo fluorochinolone propriamente detto in quanto presenta non solo il fluoro in posizione 6, ma anche l'altro elemento strutturale fondamentale che è la piperazina in 7 (si dovrebbe forse parlare di fluoropiperazochinoloni). L'atomo di fluoro in 6 serve sia ad aumentare l'attività intrinseca nei confronti della DNA girasi che a facilitare la penetrazione all'interno del batterio. La sua funzione è cruciale, tanto che da allora in poi è stato mantenuto costante in tutti i chinoloni (fluorochinoloni).

Alcune delle modifiche apportate alla struttura della norflossacina (Figura 3) sembrano piuttosto modeste, ma in realtà sono in grado di alterare sensibilmente le proprietà dei composti risultanti, a dimostrazione del fatto che la struttura chimica influisce potentemente sulla attività biologica in questa classe di farmaci. Ad esempio, l'aggiunta di un gruppo metilico all'azoto distale della piperazina trasforma la norflossacina in peflossacina, che presenta una semi-vita più che doppia rispetto al farmaco madre. La enossacina, analogo naftiridonico della norflossacina, possiede grosso modo la stessa attività, ma migliore biodisponibilità. La contemporanea introduzione del metile nella piperazina e di altri atomi di fluoro porta alla flerossacina ed alla lomeflossacina, caratterizzati da lunghi tempi di semi-vita, tanto che entrambi questi composti vengono somministrati in dose unica giornaliera per il trattamento di svariate infezioni sistemiche.

La sostituzione del gruppo etilico in N1 con un gruppo ciclopropilico, modificazione strutturale apparentemente modesta, ha di fatto rappresentato un altro passo avanti fondamentale. La ciproflossacina (Figura 3) possiede attività contro i germi gram-negativi e gram-positivi (chinolone ad ampio spettro). Introdotta in terapia nel 1987, è stato il primo chinolone ad essere largamente prescritto non solo per la cura delle solite infezioni delle vie urinarie, ma anche per trattare infezioni delle basse vie respiratorie, della pelle e delle articolazioni. Il gruppo ciclopropile della ciproflossacina ha soppiantato completamente l'etile come sostituito in N1 nello sviluppo dei fluorochinoloni successivi. Nei chinoloni di seconda generazione l'anello piperazinico rimane relativamente immutato, mentre subirà modifiche anche notevoli nei composti di terza generazione.

I chinoloni di seconda generazione sono caratterizzati da attività buona o eccellente nei riguardi dei germi gram-negativi (la più potente è la ciproflossacina), ma attività modesta contro lo *Staphylococcus aureus* e solo marginale contro *Streptococcus pneumoniae* ed anaerobi. Queste deficienze nello spettro di azione hanno dato impulso allo sviluppo dei chinoloni di terza generazione.

## **CHINOLONI DI TERZA GENERAZIONE**

Questi nuovi composti (Figura 4) sono caratterizzati da aumentata novità e complessità strutturale, che hanno determinato nuove ed utili proprietà biologiche, quali attività contro cocchi gram-positivi (ed in particolare *S. pneumoniae*) e, in certi composti della serie, contro anaerobi e patogeni atipici. In alcuni casi la maggior potenza di azione e l'ampiezza dello spettro di azione si coniuga con proprietà farmacocinetiche più favorevoli che permettono di somministrare questi composti una sola volta al dì.

In Figura 5 sono riportate schematicamente le variazioni strutturali principali dei chinoloni di terza generazione e dei composti attualmente in sviluppo. In sintesi, la sostituzione in 8 (alogeno o metossi) incrementa generalmente l'attività sui gram-positivi e negativi, probabilmente migliorando la capacità di penetrazione della cellula batterica. Tuttavia, l'aumento di lipofilia che è stato attuato nei chinoloni di terza generazione tende ad aumentare di solito più l'azione sui gram-positivi che quella sui gram-negativi. Ciò può essere conseguenza degli effetti opposti che la idrofobicità ha sulla penetrazione: l'aumento del *logP* tende ad aumentare l'accumulo nello *S. aureus* diminuendo, invece, la penetrazione nei gram-negativi. La lipofilia può essere aumentata anche con l'introduzione di sostituenti alchilici al C5 e/o nel nucleo piperazinico, come pure con la sostituzione della piperazina con 3-amminopirrolidina.

E' bene puntualizzare che, sebbene certe sostituzioni possano migliorare *per se* una particolare proprietà biologica o chimica, le caratteristiche complessive di una molecola derivano tuttavia dalla interazione di tutti i sostituenti uno con l'altro e con lo specifico nucleo utilizzato.

## **PROPRIETÀ CHIMICHE DEI FLUOROCHINOLONI**

Il comportamento farmacocinetico e farmacodinamico dei chinoloni è strettamente correlato alle caratteristiche chimiche di questi composti come la solubilità, il carattere acido-base, la capacità chelante e la fotoreattività.

### **SOLUBILITÀ IN ACQUA**

I fluorochinoloni sono composti poco solubili in acqua. Presentano punti di fusione elevati (generalmente > 200 °C) a causa delle forme cristalline molto stabili che si formano ( $\pi$ -stacking tra gli anelli aromatici). Per superare questo problema sono stati preparati alcuni profarmaci (Figura 6) aventi gruppi funzionali che conferiscono una maggiore solubilità in acqua, ma che nell'organismo liberano facilmente il principio attivo. La trovaflossacina è stata trasformata nell'atatroflossacina in cui il gruppo amminico libero è stato fatto reagire con la coppia amminoacidica L-Ala-L-Ala dando origine al derivato ammidico che possiede una maggiore solubilità in acqua. In vivo l'atatroflossacina viene idrolizzata a dare la trovaflossacina, vero principio attivo.

## ACIDITÀ E BASICITÀ

I fluorochinoloni hanno proprietà acide conferite dal gruppo carbossilico in posizione 3; il pKa compreso tra 5,5-6,3 li rende meno acidi dell'acido acetico che possiede invece un pKa di 4,2. Inoltre, grazie alla presenza di uno o più centri basici, questi composti hanno proprietà basiche con pKa di 7,6-9,3, che varia a seconda del sostituente presente sul sostituente eterociclico, e che li rende meno basici della trietilammina (pKa = 10,7). Poiché i fluorochinoloni possiedono sia caratteristiche acide che basiche sono considerati sostanze anfotere. In Figura 7 è riportata lo schema di protonazione/deprotonazione della ciproflossacina, che si trova nella sua forma protonata in ambiente acido e in quella deprotonata in ambiente basico, mentre a pH neutro si trova in equilibrio con la sua forma zwitterionica dalla quale dipende la sua scarsa solubilità in acqua a pH fisiologico.

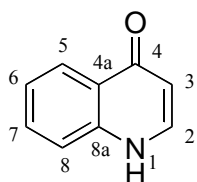
## CHELAZIONE DI CATIONI METALLICI

I fluorochinoloni hanno la capacità di chelare cationi con costanti di affinità crescenti nell'ordine  $\text{Ca}^{2+} > \text{Mg}^{2+} > \text{Fe}^{3+} > \text{Al}^{3+}$ . La chelazione di ioni di- o trivalenti avviene a livello della funzione carbossilica e del vicino gruppo carbonilico in posizione 4: la coplanarità che esiste tra i due gruppi rende possibile la formazione di chelati molto stabili. Questi chelati presentano un ridotto assorbimento a livello intestinale, in conseguenza non tanto di una ridotta solubilità (molti chelati sono più solubili dei fluorochinoloni liberi), quanto piuttosto della diminuita lipofilia che ne riduce la biodisponibilità. Inoltre le capacità chelanti di fluorochinoloni possono dare origine ad interazioni farmaco-farmaco (interazione con antiacidi) e farmaco-cibo. Nel caso della sparflossacina il problema dell'assorbimento intestinale e dell'interazione con antiacidi è stato in parte superato in quanto il gruppo amminico presente in posizione 5 interagisce con il carbonile in 4 rendendolo meno disponibile alla chelazione (Figura 8).

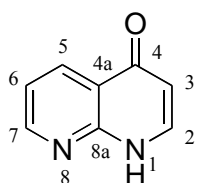
## FOTOREATTIVITÀ

I fluorochinoloni, in particolare quelli contenenti atomi di alogeno in posizione 8, sono composti fotoreattivi specialmente in condizioni neutre o acide. Se opportunamente stimolati da radiazioni elettromagnetiche, i fluorochinoloni danno origine a specie radicaliche di diversa natura a seconda della struttura del chinolone e, infine, portano alla formazione di radicali dell'ossigeno molto reattivi. I fluorochinoloni assorbono lunghezze d'onda di 350-425 nm che fanno parte della regione del visibile dello spettro elettromagnetico, per questo motivo pazienti che assumono fluorochinoloni possono manifestare reazioni di fotosensibilità a seguito dell'esposizione alla luce solare.

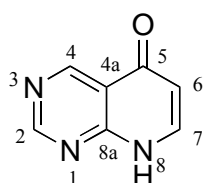
## NOMENCLATURA DEI CHINOLONI



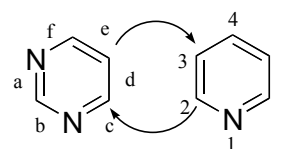
**1,4-diidrochinolin-4-one**



**1,4-diidro-1,8-naftiridin-4-one**



**5,8-diidropirido[2,3-d]pirimidin-5-one**

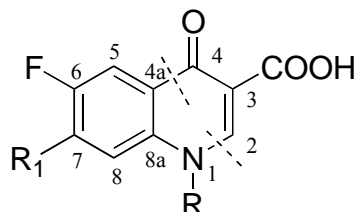


**pirimidina    piridina**

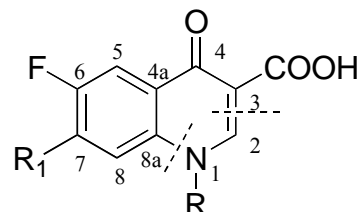
## SINTESI DEI FLUOROCHINOLONI

I fluorochinoloni vengono sintetizzati secondo due procedure generali in accordo con i seguenti approcci retrosintetici:

**Metodo A:** disconnessione N1-C2 e C4-C4a



**Metodo B:** disconnessione C2-C3 e N1-C8



**Metodo A: Sintesi di Gould-Jacobs.** Vedi esempio in Figura 9.

La sintesi prevede una reazione di condensazione tra una anilina opportunamente sostituita e l'etossimetilenmalonato dietilico (EMME) con la quale si ha la formazione del legame N1-C2. Poi, in seguito a ciclizzazione in difeniletere ad elevata temperatura (ciclizzazione di Lappin) si ha la connessione C4-C4a e la formazione del derivato 4-chinolonico. Il sostituente in posizione N1 si introduce mediante reazione di alchilazione utilizzando l'opportuno alogenuro alchilico in presenza di una base ( $S_N2$ ). In seguito, si ha l'idrolisi, in ambiente basico, dell'estere etilico presente in posizione 3 e per successiva acidificazione si ottiene l'acido chinolin-4-on-3-carbossilico. L'ultima reazione è una sostituzione nucleofila aromatica in cui l'atomo di cloro viene spiazzato da un nucleofilo come la piperazina per dare il prodotto finale. Il gruppo carbonilico in posizione 4 attiva le posizioni orto e para alla sostituzione nucleofila aromatica, per questo motivo è soltanto l'atomo di cloro ad essere spiazzato mentre l'atomo di fluoro in posizione 6 non reagisce.

Questo metodo di sintesi è utile per la preparazione di fluorochinoloni che presentano in N1 un gruppo alchilico primario, che può essere introdotto tramite reazione di sostituzione nucleofila  $S_N2$ . Pertanto non può essere impiegato nella sintesi di moderni fluorochinoloni che presentano in N1 un gruppo ciclopropilico od arilico.

**Metodo B.** Vedi esempio in Figura 10.

Questo metodo prevede l'utilizzo di opportuni acetofenoni. E' di impiego generale in quanto permette di ottenere composti a struttura chinolonica con sostituenti in posizione 1 di vario tipo, come gruppi alchilici 1°, 2° o 3° o gruppi arilici.

La sintesi inizia con la reazione di condensazione di Claisen che nel primo passaggio si effettua tra un acetofenone ed il dietilcarbonato, mentre nel secondo passaggio si ha la reazione con trietil ortoformiato con la quale si ottiene la prima connessione C2-C3. Successivamente si ha l'introduzione del gruppo amminico mediante reazione di addizione-eliminazione e poi, con la ciclizzazione in presenza di una base forte come il NaH, la seconda connessione N1-C8a. Infine attraverso una sostituzione nucleofila aromatica si introduce il sostituente in posizione 7 e, in seguito a idrolisi basica, si ottiene il prodotto finale.

Una variante di questo metodo è riportato in Figura 11. In questo caso si parte da un cloruro acido opportunamente sostituito che reagisce prima con il dimetilamminoacrilato di etile e con ciclopropilamina poi per dare lo stesso intermedio che si ottiene anche con la sintesi precedente e che viene sottoposto alla stessa sequenza di reazioni sopra riportate.

## **MECCANISMO D'AZIONE DEI FLUOROCHINOLONI**

I fluorochinoloni interagiscono con il DNA del batterio bloccandone la replicazione. Il DNA batterico è lungo circa 1300  $\mu\text{m}$ , quindi affinché possa essere contenuto nella cellula batterica (2  $\mu\text{m}$  x 1  $\mu\text{m}$ ) deve essere superavvolto (Figura 12). La DNA girasi è l'enzima preposto a tale scopo ed è il bersaglio dei fluorochinoloni.

La DNA girasi è specifica dei batteri ed è il comune bersaglio dei fluorochinoloni in molti gram-negativi. Un altro enzima, la topoisomerasi IV, presente anche nell'uomo, è invece il bersaglio in molti gram-positivi. La DNA girasi appartiene alla famiglia delle topoisomerasi II, così chiamate perché sono in grado di tagliare i due filamenti di DNA batterico e di cucirlo di nuovo una volta creato il superavvolgimento. La DNA girasi è un tetramero costituita da quattro subunità, due subunità A e due subunità B che sono coinvolte nel trattamento del DNA batterico. In particolare, le due subunità A si uniscono alle due subunità B nel momento in cui il DNA è pronto per essere processato (Figura 13). Il primo frammento entra nella subunità B, viene tagliato e mantenuto in modo che i due frammenti rimangano distanti l'uno dall'altro. Allo stesso tempo, un altro frammento di DNA viene passato attraverso la rottura creata e in seguito i due frammenti vengono risaldati. In questo modo si crea un superavvolgimento (Figura 14).

## **SELETTIVITÀ D'AZIONE DEI FLUOROCHINOLONI E TOSSICITÀ GENETICA**

La selettività dei fluorochinoloni è conseguente alla inibizione selettiva della DNA girasi batterica rispetto al corrispondente enzima topoisomerasi II dei mammiferi.

L'aumento della lipofilia dei fluorochinoloni comporta:

- > attività su batteri Gram positivi (cambia il bersaglio di azione da DNA girasi a topoisomerasi IV?)
- < attività su batteri Gram negativi (diminuisce la penetrazione)
- < selettività tra DNA girasi e topoisomerasi II umana

In particolare la citotossicità è aumentata dalla presenza di

- C-7 pirrolidine (anziché piperazine)
- N-1 ciclopropile
- C-8 cloro, fluoro, metossi

Tuttavia, opportune modifiche strutturali possono ridurre od eliminare la citotossicità anche in presenza di N-1 ciclopropile e/o sostituenti al C-8 (vedi per un esempio Figura 15).

## **METABOLISMO E FARMACOCINETICA DEI FLUOROCHINOLONI**

I fluorochinoloni vengono somministrati per via orale; quelli altamente idrosolubili trovano utilizzazione per via parenterale. I fluorochinoloni vengono eliminati a livello renale (filtrazione glomerulare e secrezione tubulare attiva) ed intestinale. Le principali trasformazioni metaboliche si

hanno a carico del nucleo piperazinico e sono riportate in Figura 16. Pertanto, modifiche strutturali dell'anello piperazinico (od amminopirrolidinico) che ostacolano la trasformazione metabolica possono aumentare la semivita plasmatica dei fluorochinoloni: molti fluorochinoloni di terza generazione hanno  $t_{1/2}$  tali da consentire una unica somministrazione giornaliera.

## EFFETTI COLLATERALI DEI FLUOROCHINOLONI

Dati ottenuti dalle impressioni soggettivi dei pazienti (qualsiasi dose)

Fluorochinolone	ADRs totale (%)	ADRs tratto GI (%)	ADRs SNC (%)	ADRs Pelle (%)	Avvertenze specifiche
Enossacina	6,2	1,2	1,2	0,6	Interazioni con xantine, NAIDs
Norflossacina	9,1	3,9	4,4	0,5	Non riportate
Peflossacina	8,0	5,6	0,9	2,2	Fototossicità, interazione con teofilline
Ciproflossacina	5,8	3,4	1,1	0,7	Interazioni con teofilline
Oflossacina	4,3	2,6	0,9	0,5	Problemi al SNC ad alte dosi
Levoflossacina	3,3	1,8	0,5	0,2	Non riportati
Lomeflossacina	Non riportato	5,1	5,5	2,4	Alta incidenza di fototossicità e problemi al SNC

Dati oggettivi ottenuti in seguito a questionari sottoposti ai pazienti

Fluorochinolone	ADRs totale (%)	ADRs tratto GI (%)	ADRs SNC (%)	ADRs pelle (%)	Avvertenze specifiche
Sparflossacina (200-400 mg)	22-32	6,4-10	2-3	1,8	Fototossicità e prolungamento dell'intervallo QT
Trovaflossacina (100-200 mg)	27	4-7	Vertigini: 12 Mal di testa: 5	1	Non reazioni serie: vertigini ad alte dosi solo in alcuni pazienti



## **PRINCIPALI APPLICAZIONI TERAPEUTICHE DEI FLUOROCHINOLONI**

### Infezioni delle vie urinarie:

- sono molto efficaci nel combattere le infezioni senza complicanze e rappresentano i farmaci di scelta nei casi in cui la resistenza batterica compromette la terapia con beta-lattamici di routine
- efficaci contro infezioni croniche da *P. aeruginosa*
- efficaci nelle prostatiti batteriche generalmente resistenti a tetracicline, cefalosporine, trimetoprima-sulfametossazolo

### Malattie trasmesse sessualmente:

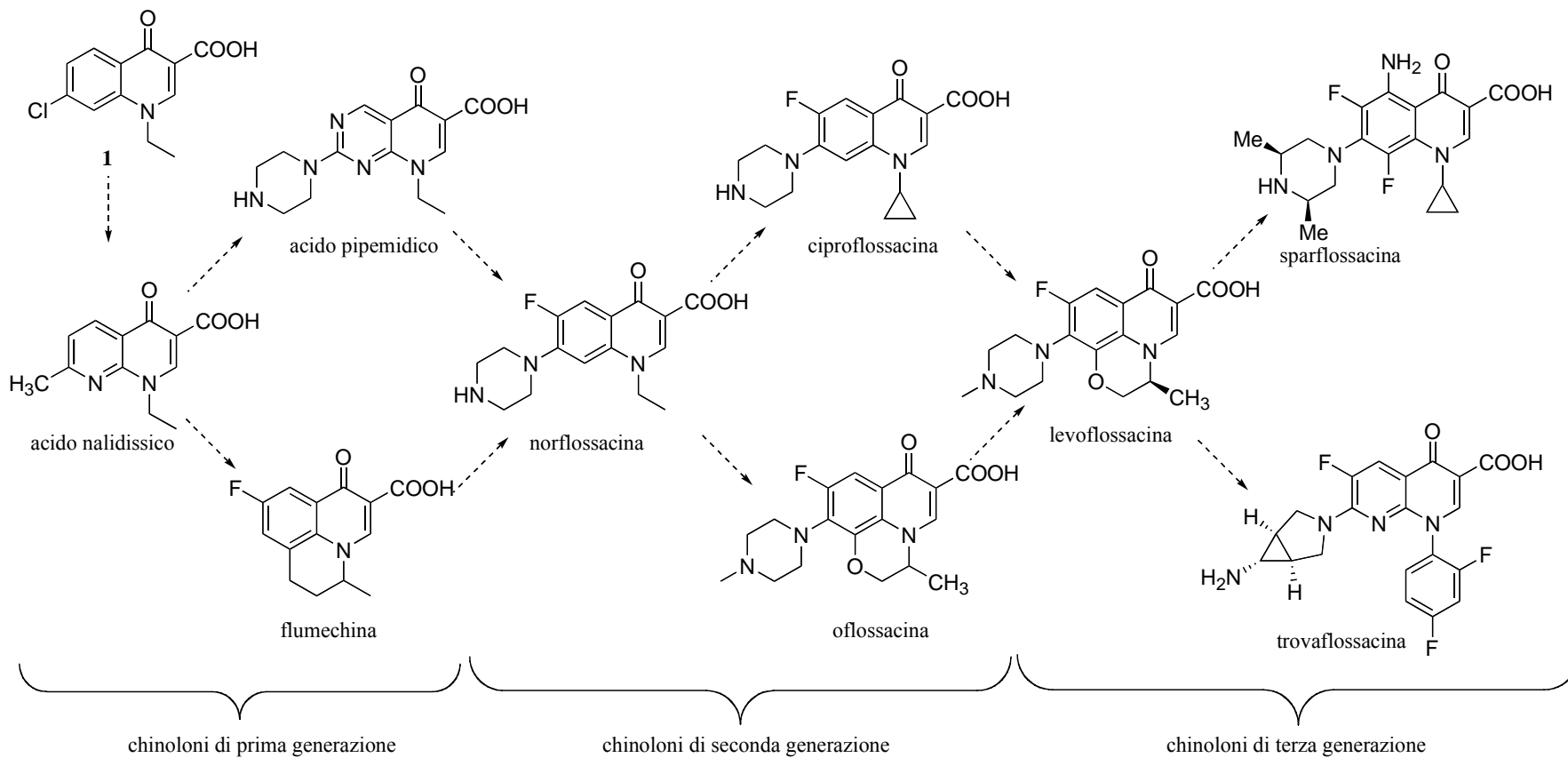
tutti i fluorochinoloni sono efficaci nel trattamento mono-dose di varie forme di gonorrea, ma non nei casi di sifilide

### Infezioni delle vie respiratorie:

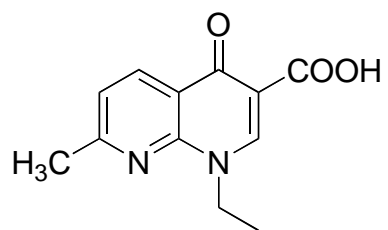
- efficaci nelle infezioni pneumococciche resistenti ai beta-lattamici ed ai macrolidi
- nelle forme esacerbate di bronchite cronica, ciproflossacina, oflossacina e sparflossacina si sono dimostrati equivalenti o superiori a tutta una serie di altri antibiotici

### Infezioni gastrointestinali:

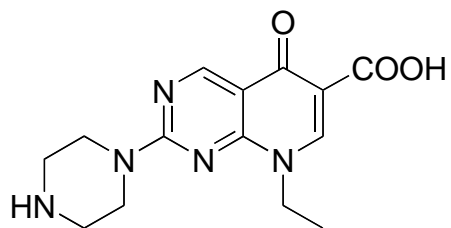
- i fluorochinoloni rappresentano un passo avanti molto importante per il trattamento di molte forme di infezioni enteriche da moderate a gravi e sono i farmaci di elezione nei casi di febbre tifoide sia negli adulti che nei bambini la ciproflossacina si è dimostrata attiva contro il colera al pari delle tetracicline.



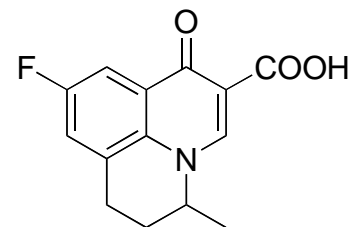
**Figura 1.** Evoluzione storica dei chinoloni



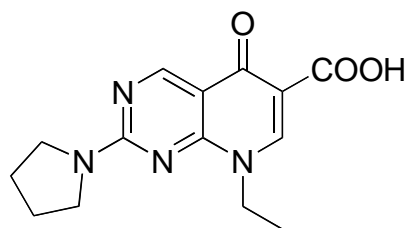
acido nalidissico



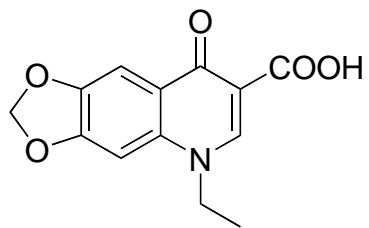
acido pipemidico



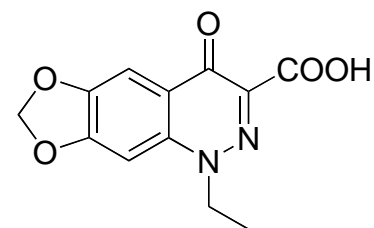
flumechina



acido piromidico

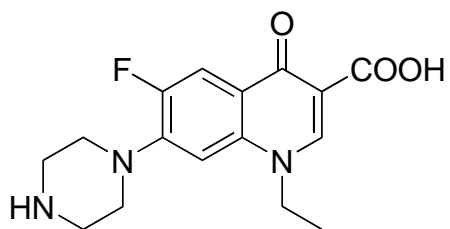


acido ossolinico

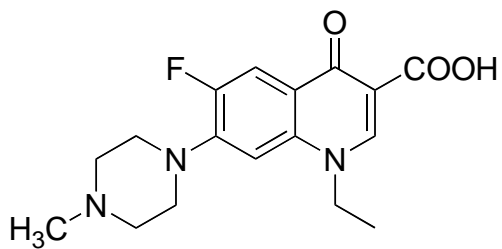


cinossacina

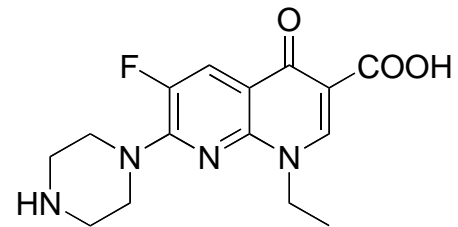
**Figura 2.** Chinoloni di prima generazione



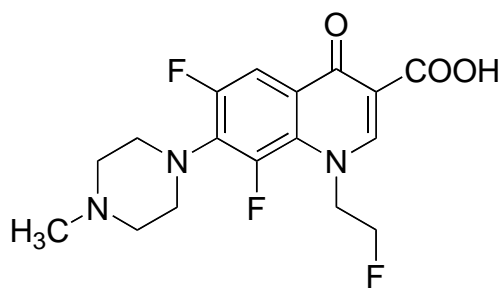
norflossacina



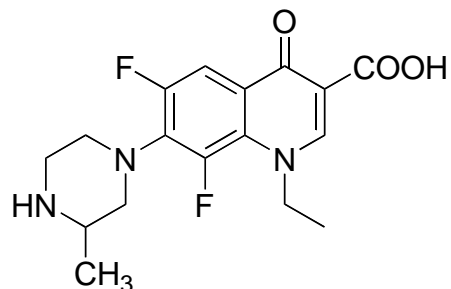
peflossacina



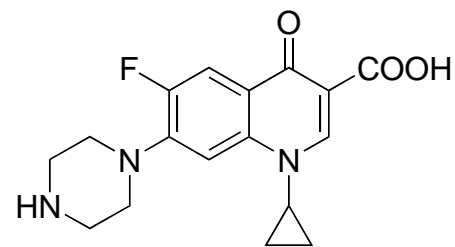
enossacina



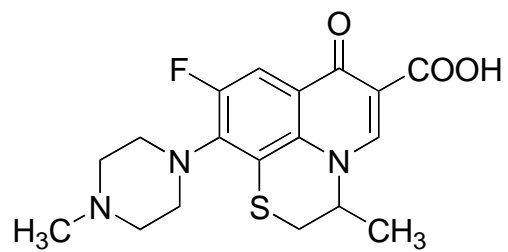
flerossacina (AM-833)



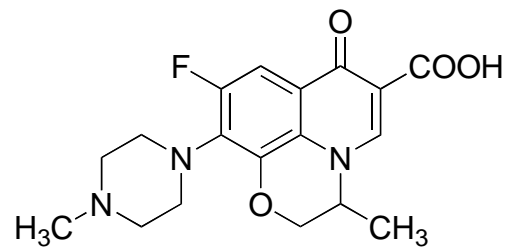
lomeflossacina (NY-198)



ciproflossacina

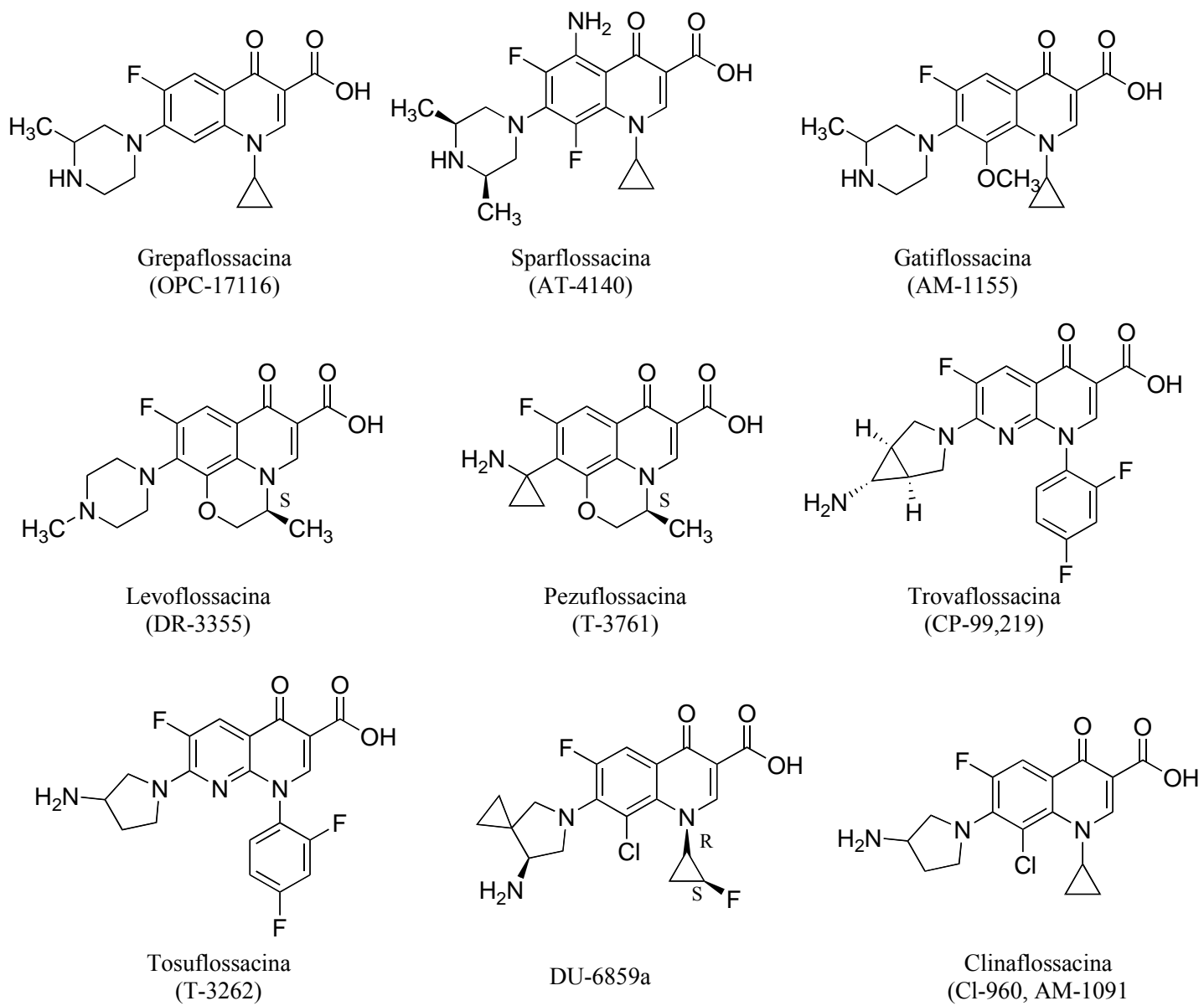


ruflossacina

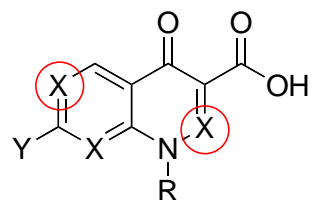


oflossacina

**Figura 3.** Chinoloni di seconda generazione

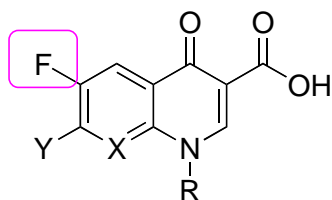


**Figura 4.** Chinoloni di terza generazione



X= CH, NH

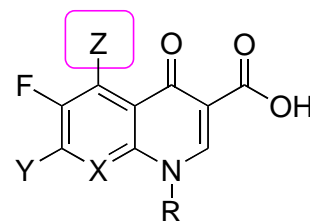
Y= (H) (Me) amine cicliche



X= CH, NH, (CF)

Y= derivati piperazinici

R= (Et)



X= CH, NH, CF (CCl) (COMe)

Y= derivati piperazinici,

R=

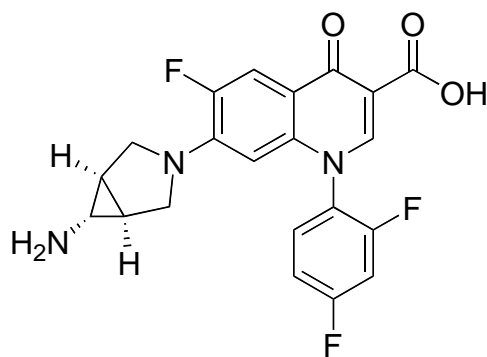
Z= (NH<sub>2</sub>) (Me)

prima generazione -----> seconda generazione -----> terza generazione

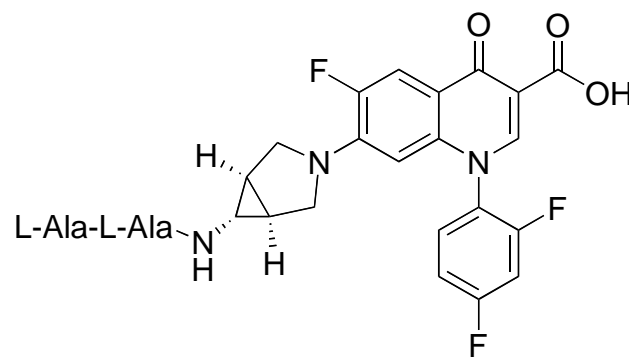
= caratteristiche strutturali non pi<sup>-</sup> utilizzate

= caratteristiche strutturali introdotte

**Figura 5.** Evoluzione strutturale dei chinoloni

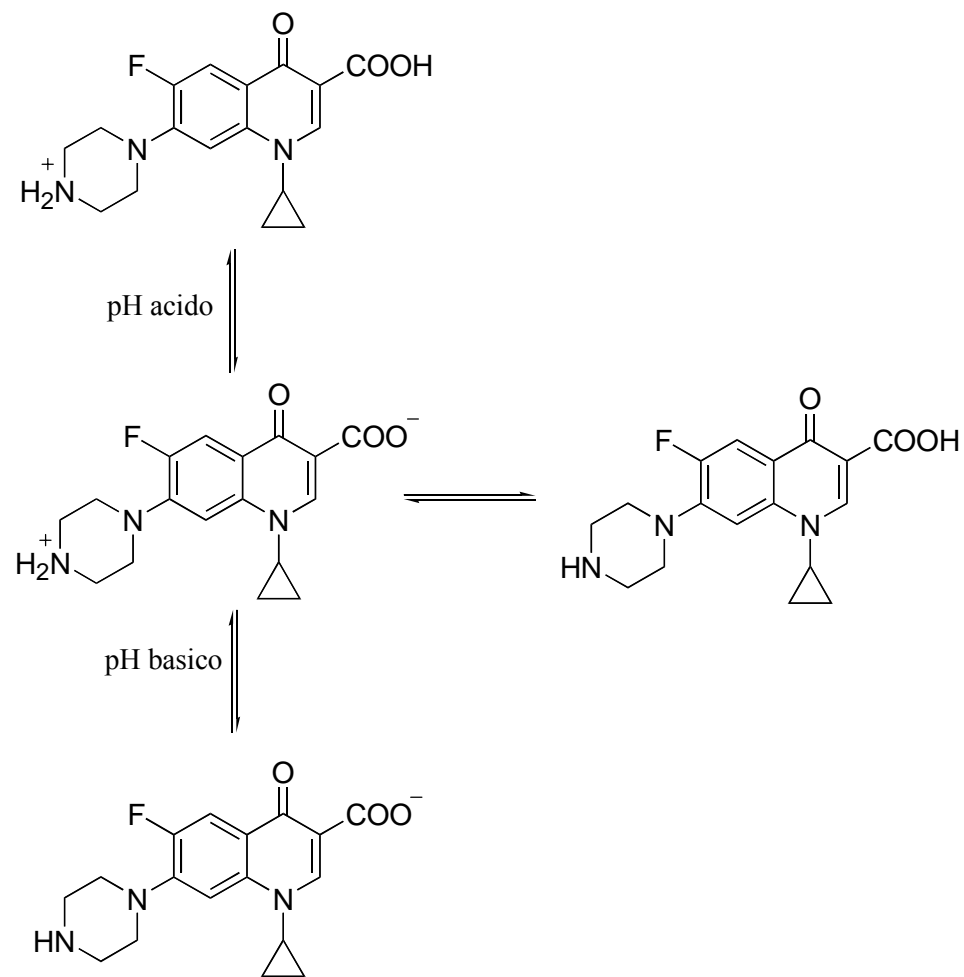


Trovaflossacina  
solubilità in acqua < 0.01 mg/ml a pH neutro



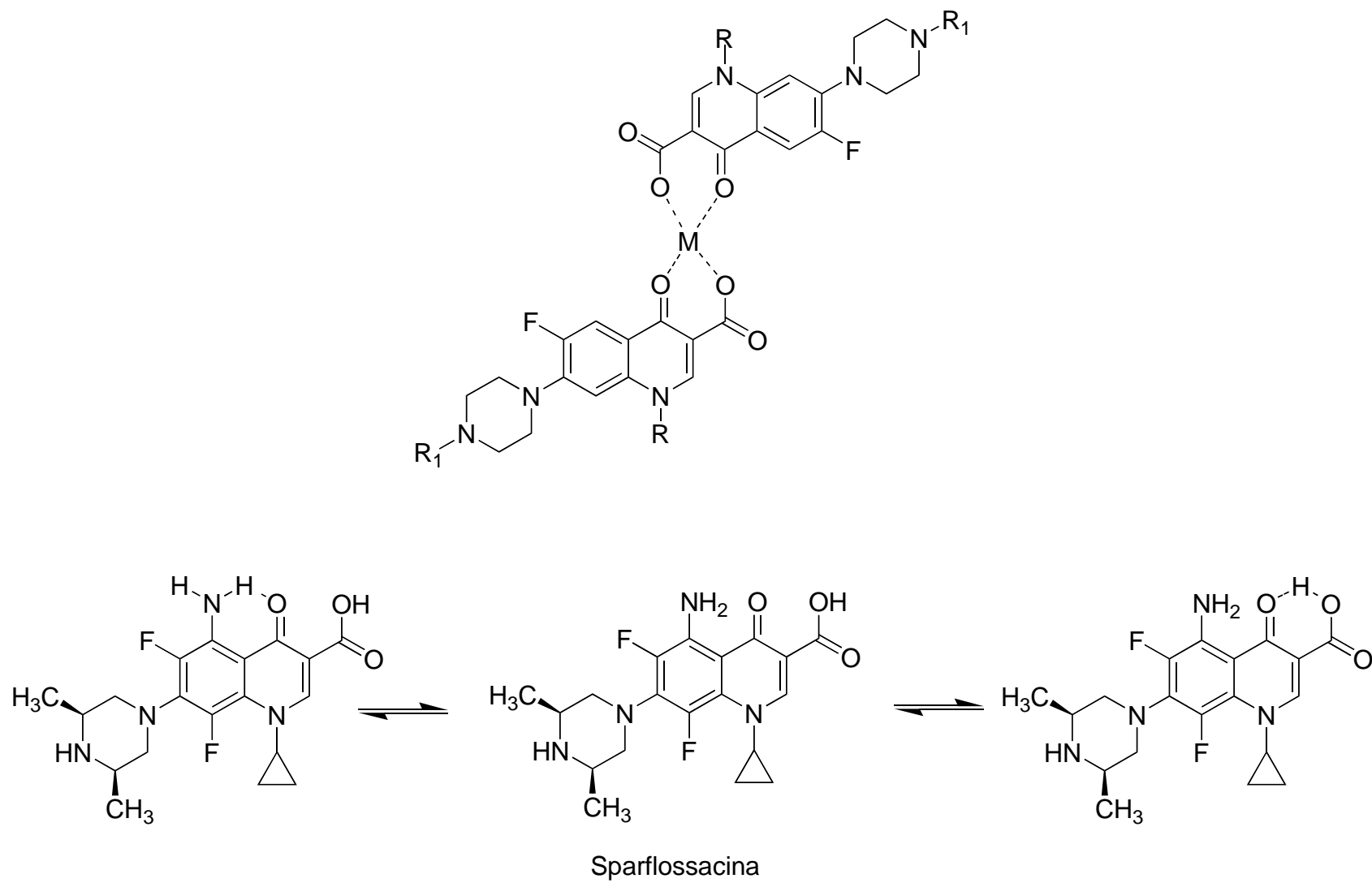
Alatroflossacina  
molto solubile in acqua

**Figura 6.** Solubilità in acqua della trovaflossacina e del profarmaco alatroflossacina

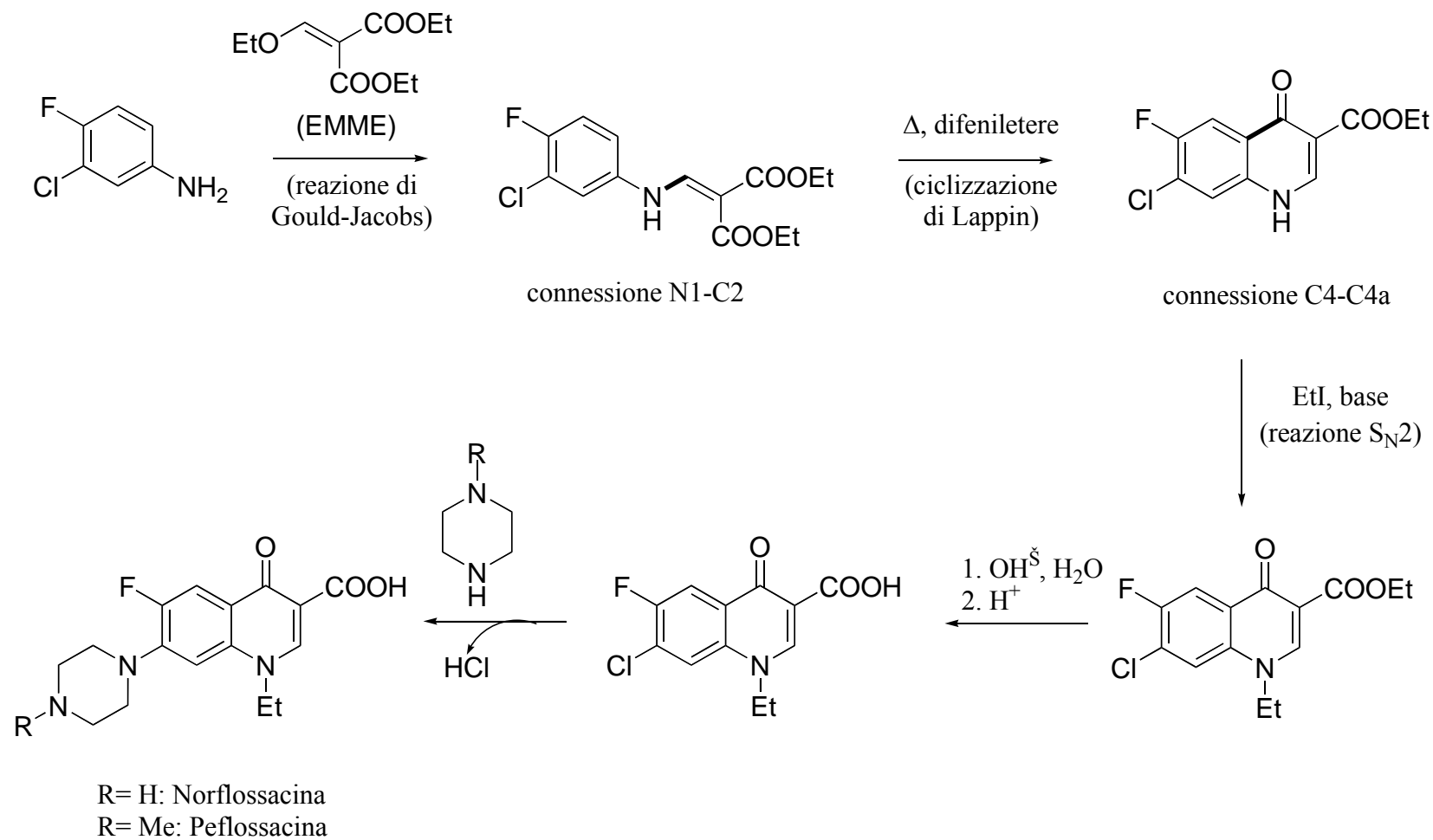


**Figura 7.** Protonazione/deprotonazione della ciproflossacina

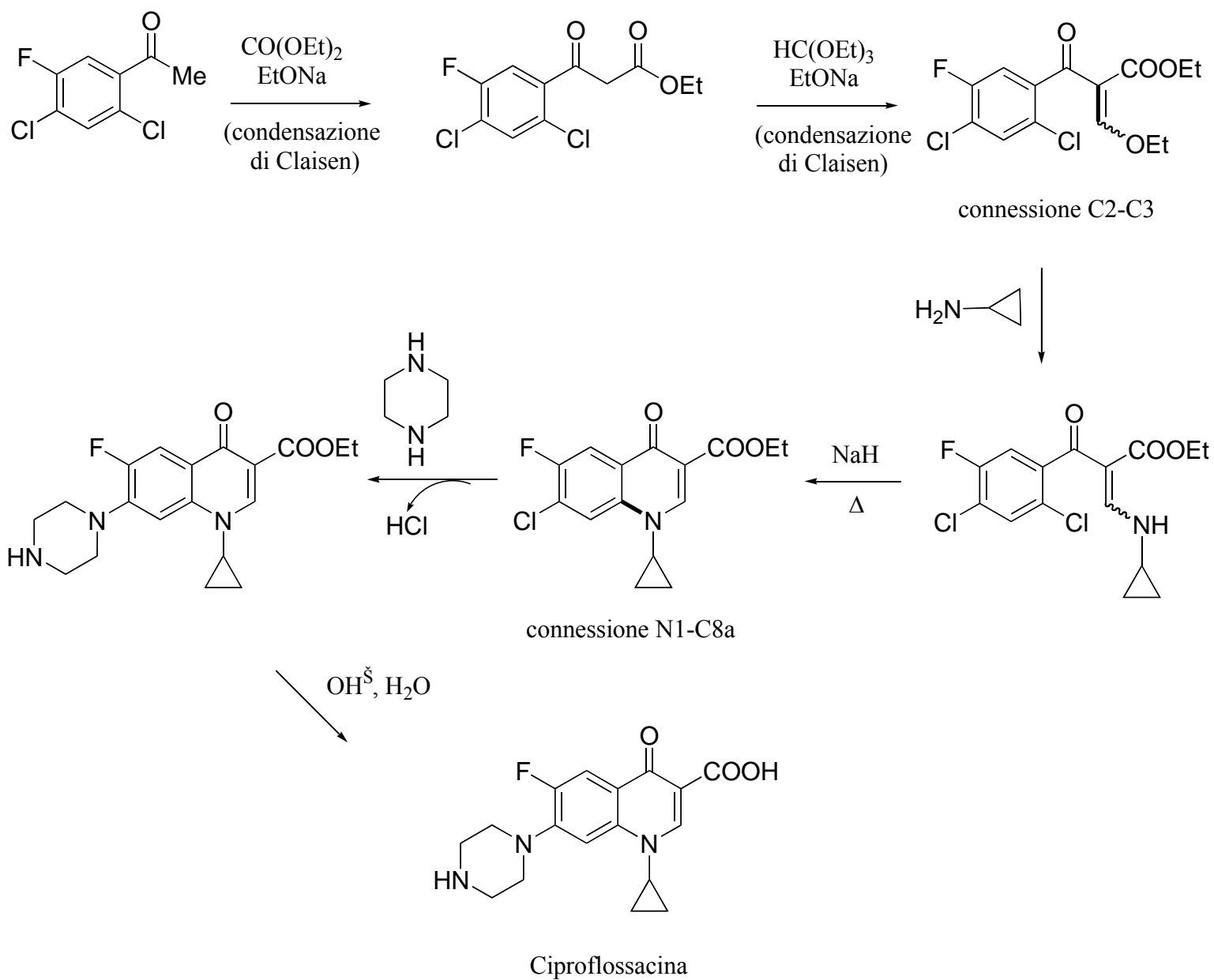




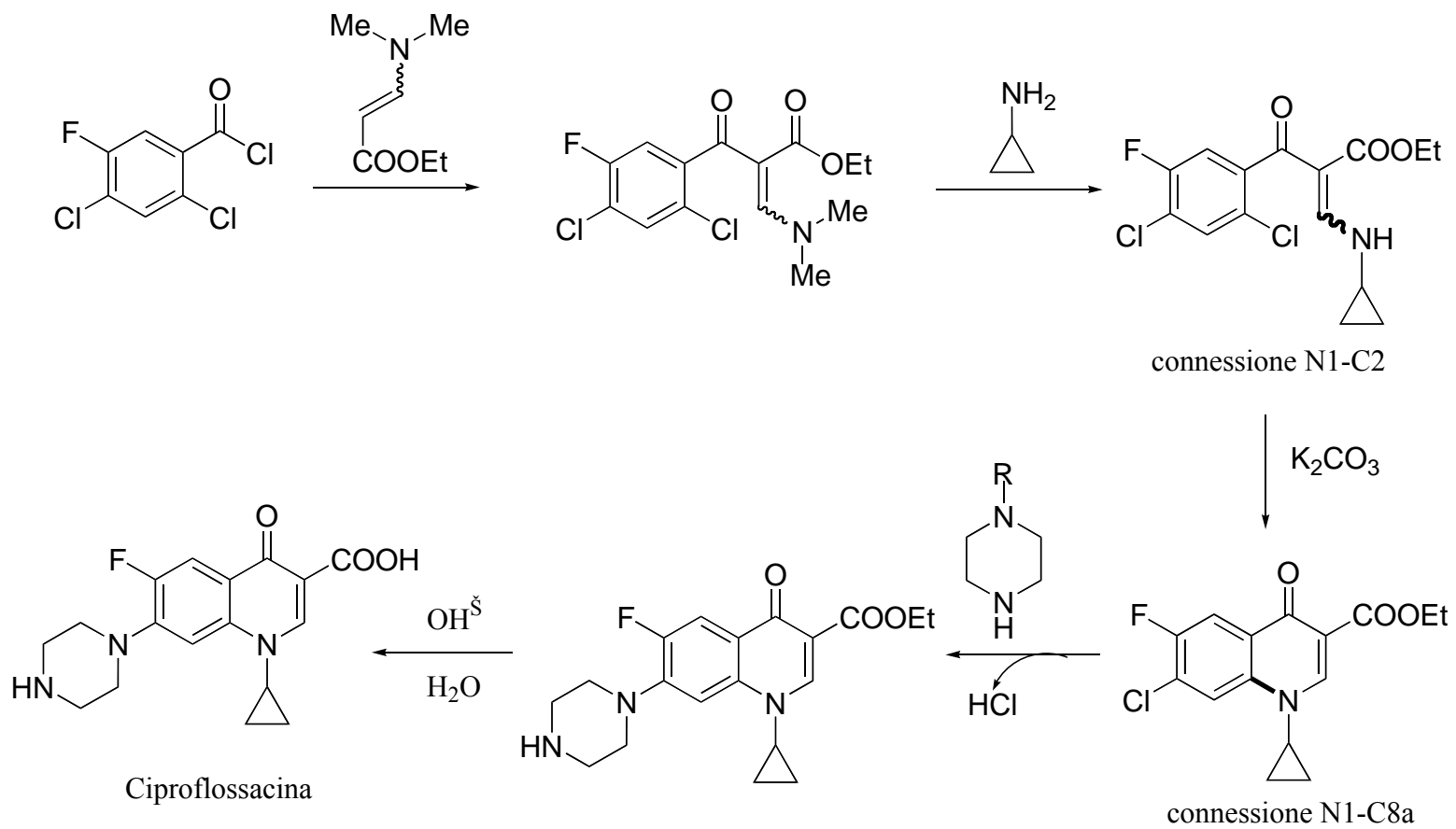
**Figura 8.** Chelazione di cationi metallici



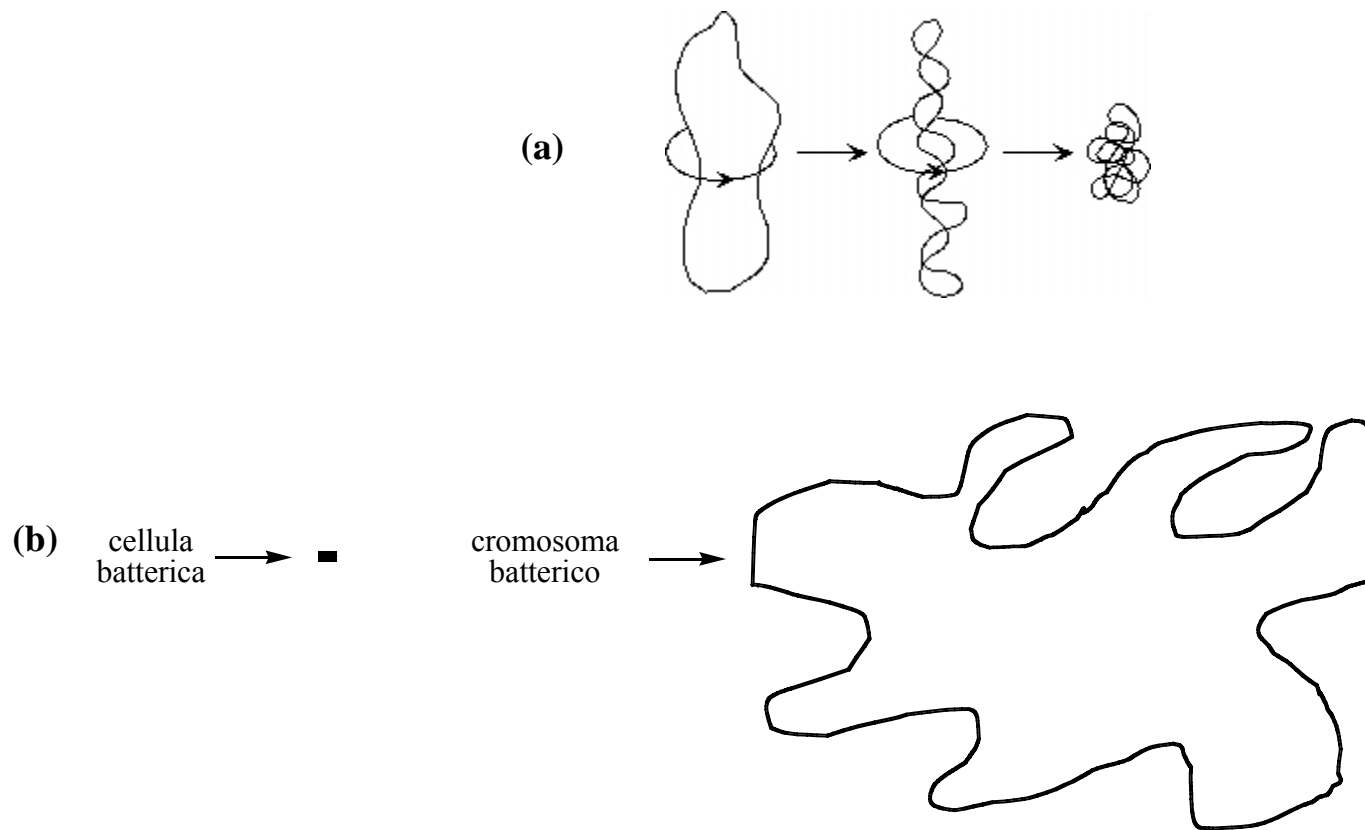
**Figura 9.**



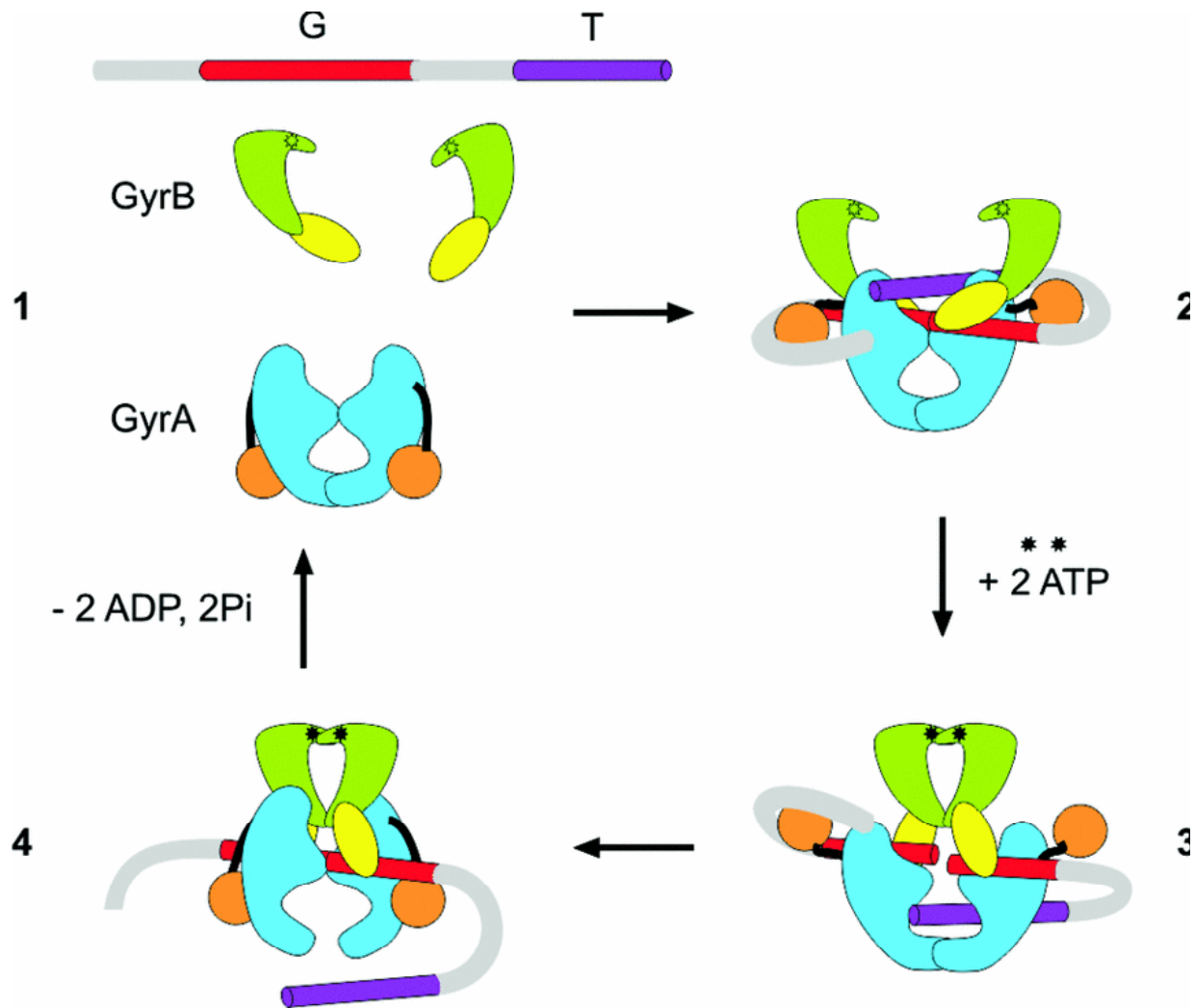
**Figura 10.**



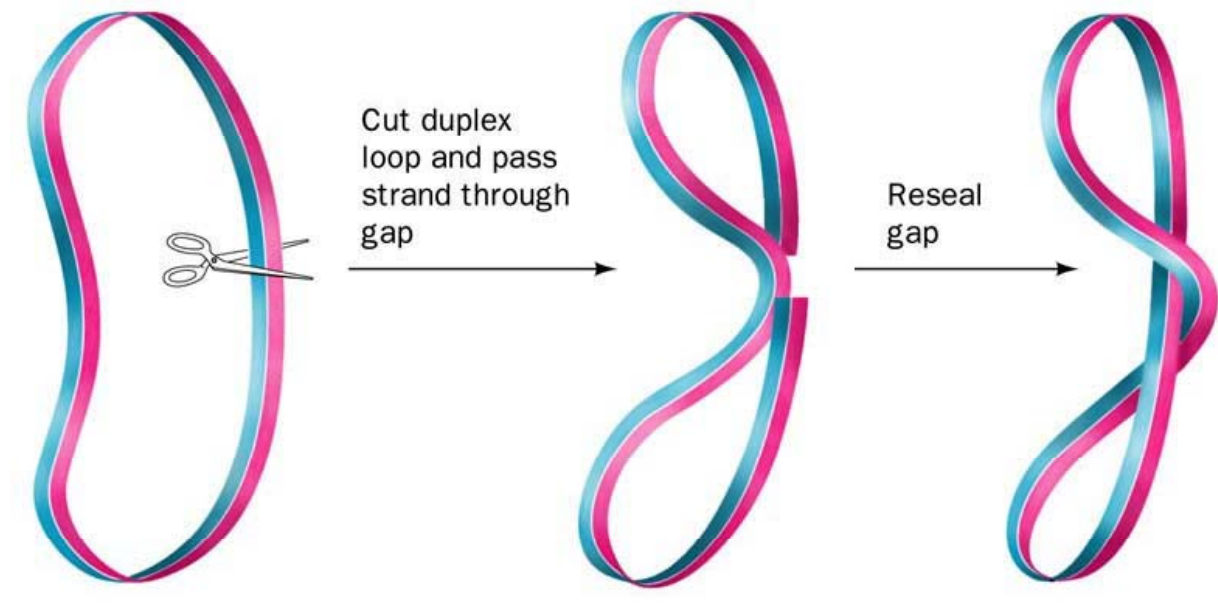
**Figura 11.**



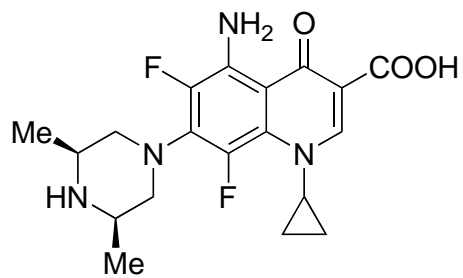
**Figura 12.** (a) Superavvolgimento del DNA; (b) rapporto in scala tra cellula batterica e DNA batterico



**Figura 13.** Meccanismo d'azione della DNA girasi



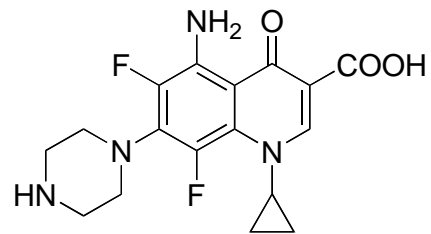
**Figura 14.** Funzione della DNA girasi



Sparflossacina  
inattiva verso la topoisomerasi II



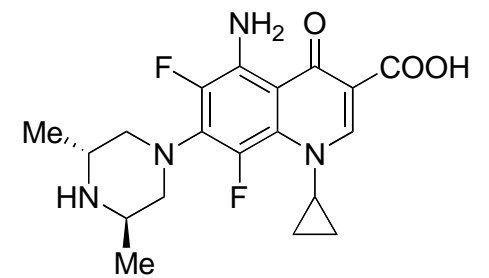
**non citotossica**



Bis(demetil)-sparflossacina  
potente inibitore della topoisomerasi II



**citotossica**



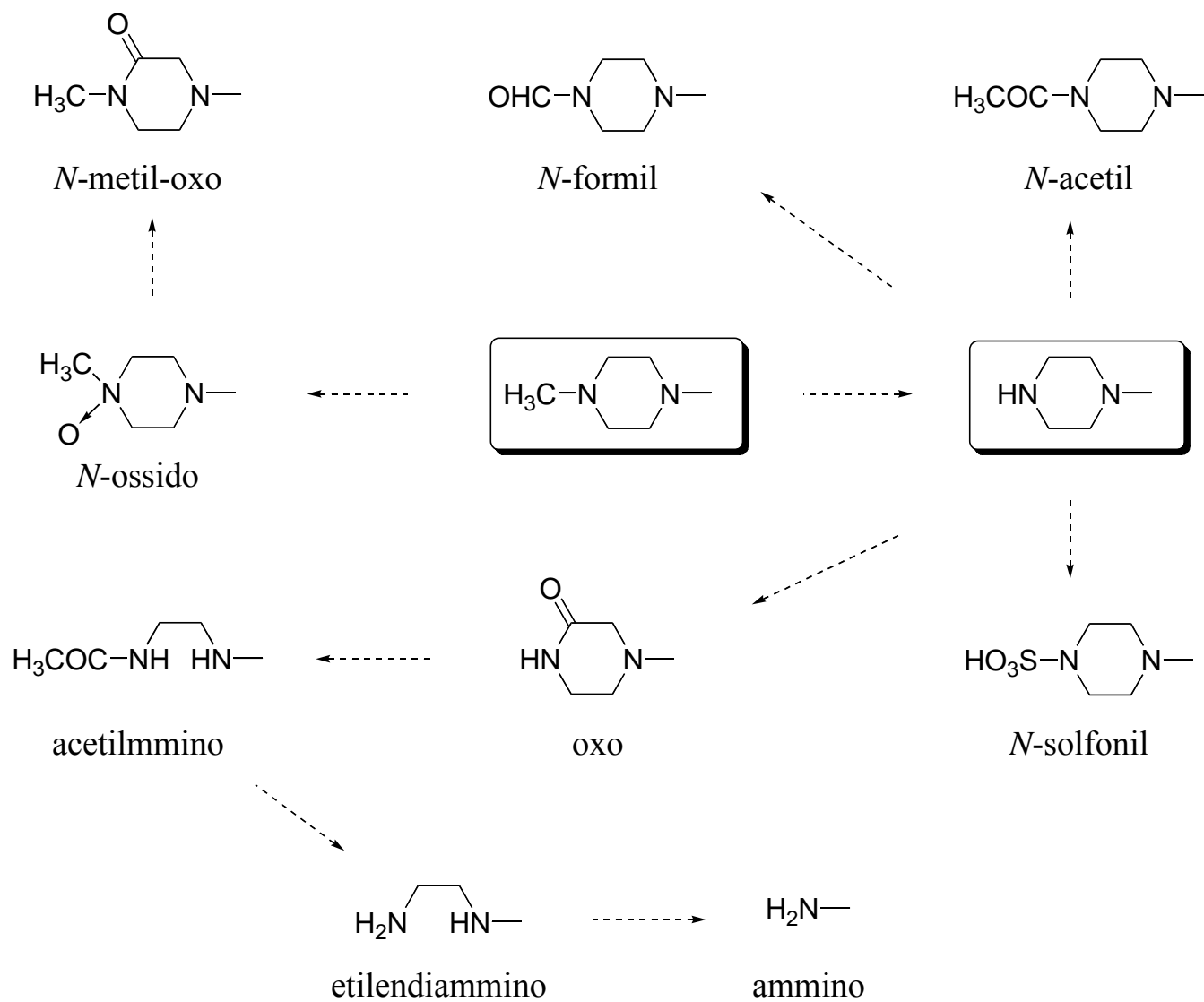
Isomero trans della sparflossacina  
inibitore della topoisomerasi II



**citotossica**

**Figura 15.**





**Figura 16.** Trasformazioni metaboliche a carico del nucleo piperazinico