

Udvikling af ny medicin

Formål:

Formålet med denne øvelse er at fremstille 9 forskellige kemiske stoffer og teste dem for at undersøge om der er en antibiotikavirkning af nogen af dem ved metoden kombinatorisk kemi.

Teori:

I de senere år er der kommet stadig større fokus på at finde nye typer af antibiotika. Man arbejder med at finde nye varianter af kendte antibiotika, men der er også et ønske om at finde helt nye og ukendte stoffer. Her må man ofte arbejde induktivt, idet man afprøver en hel masse stoffer for antibakteriel virkning uden forudgående forventninger. Problemet med denne tilgang er, at det kræver utroligt mange forsøg. En måde at begrænse antallet af forsøg er ved at anvende en metode kaldet kombinatorisk kemi. Ved denne metode tester man mange stoffer ad gangen og kan på den måde begrænse antallet af bakterieforsøg, man skal gennemføre. Metoden har den ekstra fordel, at den er god til automatisering, således at man kan få robotter til at lave næsten alt arbejdet.

Metoden kan bedst forklares ved et eksempel:

Man ved at stoffer af typen A vil reagere med stoffer af typen B i en kendt reaktion. Hvis man har 20 stoffer af typen A (A1-A20) og 20 stoffer af typen B (B1-B20), vil der være 400 mulige produkter af synteserne (20*20 – se tabel 1).

	A1	A2	--	A20
B1	A1-B1	A2-B1		A20-B1
B2	A1-B2			

B20	A1-B20	A2-B20		A20-B20

Tabel 1.

Hvis man i stedet sammenblender A1 med alle 20 B typer, A2 med alle 20 B-typer osv. vil det give 20 kombinationer (se tabel 2).

	A1	A2	--	A20
B1 -B20	A1-B1, A1-B2, A1-B3, ...A1-B20	A2-B1, A2-B2, A2-B3, ... A2-B20		A20-B1, A20-B2, A20-B3, ... A20-B20

Tabel 2.

Herefter sammenblandes B1 med alle 20 A-typer, B2 med alle 20 A-typer osv. vil det give 20 kombinationer (se tabel 3).

	A1-A20
B1	A1-B1, A2-B1, A3-B1, ... A20-B1
B2	A1-B2, A2-B2, A3-B2, ... A20-B2

B20	A1-B20, A2-B20, A3-B20, ... A20- B20

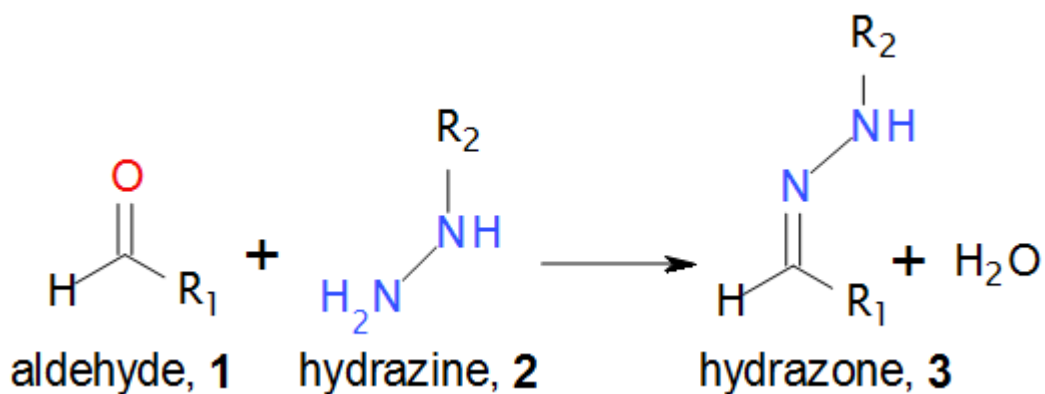
Tabel 3.

Som det ses kræver det kun 40 forsøg. Hvis det viser sig, at man får et ønsket produkt i feltet for A2 i tabel 2, og man samtidigt får et ønsket produkt i feltet for B13 i tabel 3, kan man konkludere, at kombinationen A2-B13 giver det ønskede produkt.

I dette forsøg skal vi syntetisere en række hydrazoner ved at blande hydraziner og aldehyder. Den kemiske reaktion, der finder sted ser således ud:

Aldehyd + hydrazin → hydrazone

Med kemiske formler:



Reaktionen er nærmere forklaret i Basiskemi B side 162. De stoffer, der skal blandes sammen fremgår af nedenstående tabel:

Aldehyder		Hydraziner	
A1	2-nitrobenzaldehyd	H1	2,4-dinitrophenylhydrazin
A2	5-nitro-2-furaldehyd	H2	4-chlorophenylhydrazin
A3	4-nitrobenzaldehyd	H3	aminoguanidin

Tabel 4. De kemiske strukturformler fremgår af bilag 1.

Øvelsen foregår i to dele. I del 1 udføres synteserne, mens 2. del er test på bakterier.

Apparatur:

Eppendorfrør 6 pr. gruppe

Opløsninger af de 6 kemikalier (fælles for hele holdet). Opvarmes inden sammenblandingen (sættes i kogende vand et par minutter).

Petriskål med agar (1 per hold).

Bakteriekultur (fælles).

Drigalskispatel.

Filtrerpapir.

Hulmaskine.

Udførelse:

Del 1:

Marker de 6 eppendorfrør M1-M6.

Bland opløsningerne som det fremgår af skemaet herunder. Vær omhyggelig med ikke at lave fejl.

Rør	Tilsæt 5 dråber af	Tilsæt 5 dråber af	Tilsæt 5 dråber af	Tilsæt 15 dråber af
M1	H1	H2	H3	A1
M2	H1	H2	H3	A2
M3	H1	H2	H3	A3
M4	A1	A2	A3	H1
M5	A1	A2	A3	H2
M6	A1	A2	A3	H3

Når alle dråber er puttet i, skal rørene lukkes, og man knipser på dem for at få evt. bundfald i opløsning.

Del 2:

Tag en petriskål med agar I og tilføj 0,2 mL bakterieopløsning. Smør væsken med bakterier ud over hele pladen med en drigalskispatel.

Marker bunden af agarskålen M1-M6. Tallene skal være så langt fra hinanden som muligt.

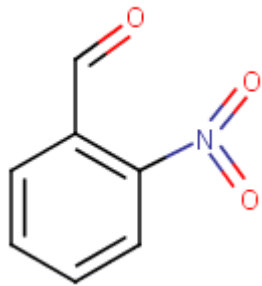
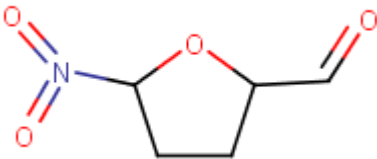
Med en hulmaskine udklippes 6 stykker filtrerpapir (ca. 5 lag tyk). De 6 stykker lægges på araren ovenpå de 6 tal (der står på undersiden). Med en mikropipette tilsættes 30 mikroliter fra blandingen M1 til filtrerpapiret over tallet M1. Sørg for at få evt. bundfald med. Fortsæt med de andre stykker filtrerpapir.

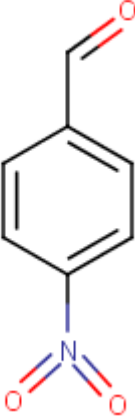
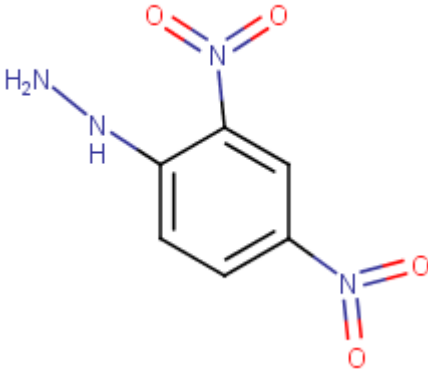
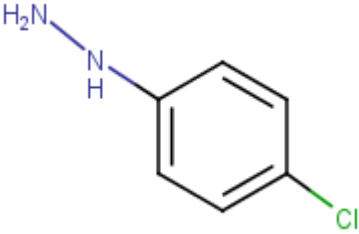
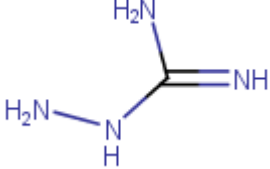
Petrislålen sættes forsigtigt i vindueskarmen og man holder øje med den de næste par dage.

Efterbehandling:

1. Opskriv (evt. vha. kemisk tegneprogram) strukturerne for et par af hydrazoneerne.
2. Hvis man skulle teste de 9 reaktionsprodukter hver for sig, ville det kræve 9 forsøg. Fordi vi laver kombinatorisk kemi, kræves der kun 6 forsøg. Hvad hvis det var 4 stoffer af type A og 4 stoffer af type H. Hvor mange forsøg skal man så bruge, hvis det er kombinatorisk kemi? Hvor mange forsøg kræves der, hvis man skal teste alle produkter hver for sig?
3. Hvad hvis det var 10 af type A og 10 af type H?
4. Er der nogle af felterne M1-M6, der viser antibiotikaaktivitet?
5. Hvilke stoffer er i disse blandinger?
6. Kan du herudfra finde ud af, hvilket stof, der har antibiotikaaktivitet?
7. Opskriv strukturformlen for et evt. antibiotikum.

Bilag 1:

Stof	Strukturformel
2-nitrobenzaldehyd	
5-nitro-2-furaldehyd	

4-nitrobenzaldehyd	 <chem>O=Cc1ccc([N+](=O)[O-])cc1</chem>
2,4-dinitrophenylhydrazin	 <chem>NC(=O)c1cc([N+](=O)[O-])ccc1NN</chem>
4-chlorophenylhydrazin	 <chem>NC(=O)c1ccc(Cl)cc1NN</chem>
aminoguanidin	 <chem>NC(=N)N</chem>