

# Delovanje zdravil

Lovro Stanovnik

Inštitut za farmakologijo in  
eksperimentalno toksikologijo

# Razvoj konceptov v farmakologiji

- Razvoj znanstvenega področja (nasploh) odvisen od razvoja metod
- (Farmako)terapevtika dolgo na empiričnih osnovah
- Poskusi izdelave sistema terapije:
  - Alopacija (James Gregory - 1735-1821):  
Preprečevanje simptomov bolezni z 'zdravili', ki imajo nasprotno učinke:
    - Uporabljene metode: puščanje krvi, emetiki, purgativi – (strupene snovi morajo iz organizma)

# Razvoj konceptov v farmakologiji

- Reakcija  $\Rightarrow$  Homeopatija (Hahnemann):
  - similia similibus curantur
  - učinkovitost raste z razredčevanjem (potenciranje)
- Farmakologija kot znanost - sredi 19. stoletja (Virchow: Terapevtika danes še ni znanost; to bo postala v povezavi s fiziologijo)
- Ob koncu 19. stoletja – farmakologija samostojna veda (Nemčija)
- Cilj farmakologije: znanstveno razumevanje delovanja zdravil

# Pristopi pri odkrivanju novih zdravil

- Zgodovinski: Cinchona (kinin) & vrbovo lubje (aspirin); kitajska tradicionalna medicina.
- Študij bolezenskih procesov: ca dojke (tamoksifen); Parkinsonova bolezen (l-dopa).
- Študij biokemičnih in fizioloških poti: renin/angiotensin.
- Razvoj SAR za endogene ligande: Beta-adrenoceptorji (propranolol), H<sub>2</sub>-receptorji (cimetidin).
- Načrtovanje prileganja vezavnemu mestu z znano strukturo: inhibitorji angiotenzinske konvertaze.
- Slučajna odkritja (serendipity); slučajnostno presejavanje: Penicilin; dimenhidrinat; petidin.
- Genomika: Identifikacija receptorjev; genska terapija; recombinantni materiali.

# Kako zdravila privedejo do učinka?

- Paul Ehrlich (v začetku prejšnjega stoletja):  
 $E = f(\textit{kem. interakcije med zdravilom in sestavinami tkiv})$ 
  - "Corpora non agunt nisi fixata"
- Pojem receptorja (v najširšem pomenu besede): Mesto vezave zdravila v (na) celici, ki omogoča nastanek učinka.

# Značilnosti učinka zdravil:

- Učinek zdravila se navadno pokaže že pri zelo nizkih koncentracijah
- Specifičnost (strukturna ~)  
optične izomere - razlike v učinkovitosti
- Selektivnost (delovanje omejeno na določene strukture odn. tkiva) - pogojena z:
  - vezavo na določene sestavine, prisotne le v določenih tkivih,
  - farmakokinetскими lastnostmi (omejenost distribucije)

# Razdelitev zdravil glede na način delovanja

- Specifično delujoča zdravila (velika večina zdravil)
- Nespecifično delujoča (npr. splošni anestetiki) – smeri razvoja
- Zdravila, ki dosežejo učinek, ne da bi se vezala na celične sestavine (antacidi, ozmotski diuretiki)

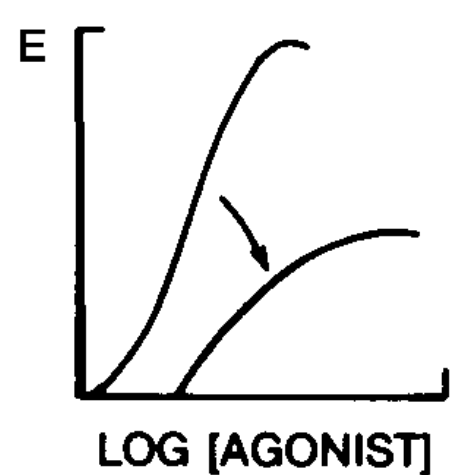
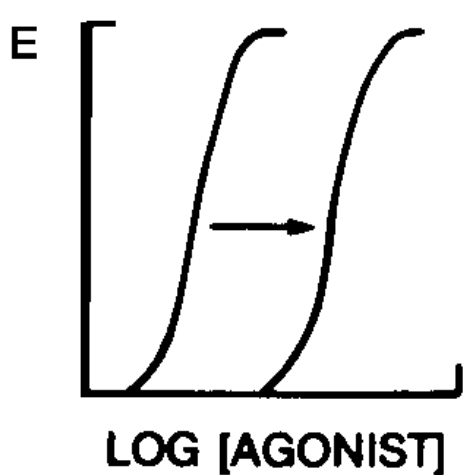
# Tarče delovanja zdravil (receptorji v širšem pomenu)

- **Receptorji za endogene ligande – mediatorje** – farmakološki receptorji
- Ionski kanali ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{++}$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$  .....
- Transportni sistemi (ledvice, protonska črpalka,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPaza, ....)
- Encimi (MAO, karboanhidraza,  $\text{PD}_5$ , .....
- Nukleinske kisline (purini, pirimidini ← citostatiki)



# Vrste delovanja zdravil

- Agonizem – agonisti
- Antagonizem
  - Farmakološki antagonizem – na nivoju receptorjev
    - kompetitivni reverzibilni
    - kompetitivni ireverzibilni
    - nekompetitivni antagonizem
  - Kemijski antagonizem
  - Fiziološki antagonizem (na različne receptorske sisteme)
  - Fenomenološka razdelitev: presegljiv – nepresegljiv



**PRESEGLJIV**

**NEPRESEGLJIV**

**KEMIČEN**

**NEKOMPETITIVEN**

**KOMPETITIVEN REVERZIBILEN**

**REVERZIBILEN**

**KOMPETITIVEN IREVERZIBILEN**

**IREVERZIBILEN**

**FIZIOLOŠKI**

# Analiza odnosa med koncentracijo agonista in njegovim učinkom

## CILJI:

- Zvedeti kaj več o interakciji med agonistom in receptorjem
- Primerjati učinkovitost različnih agonistov
- Določati lastnosti in tip antagonistov
- Ugotavljati podtipe receptorjev (⇐ antagonisti!!)

# Grafični prikazi odnosa med koncentracijo agonista ( $[A]$ ) in učinkom ( $E$ )

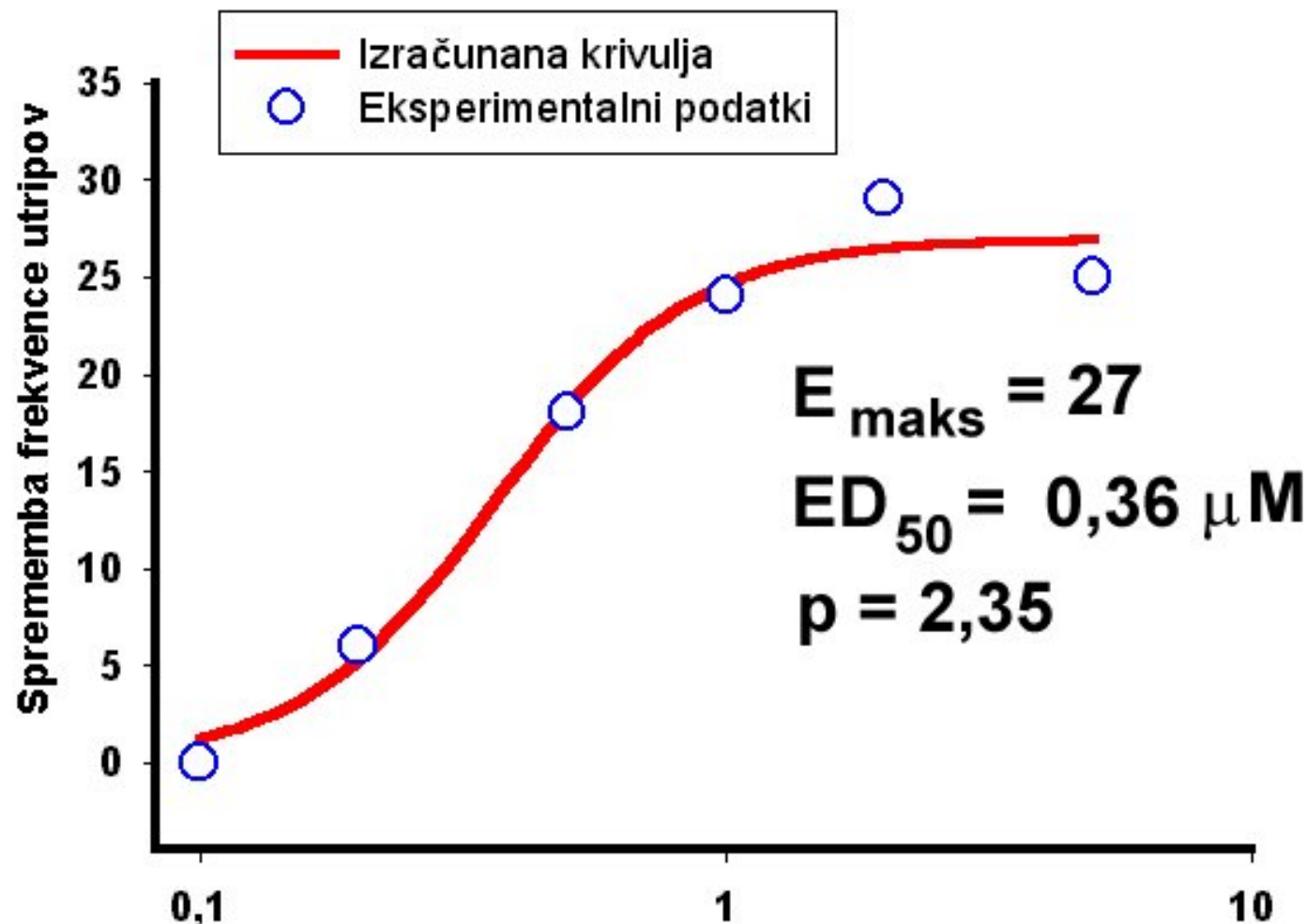
- Linearen (glede na skalo na abscisni osi - koncentracija)
- Semilogaritmičen (prednost: srednji del linearen)
- Lineveawer-Burkov –  $1/E = f(1/[A])$

# Funkcije, ki opisujejo odnos med koncentracijo in učinkom

$$\frac{1}{E} = \frac{EC_{50}}{E_m} \cdot \frac{1}{[A]} + \frac{1}{E_m}$$

$$E = \frac{E_m \cdot [A]}{EC_{50} + [A]}$$

$$E = \frac{E_m \cdot [A]^p}{EC_{50}^p + [A]^p}$$



Konzentracija histamina [μM] - logaritemska skala

Prikaz odnosa med koncentracijo in učinkom za vpliv histamina na frekvenco utripov na izoliranem desnem atriju budre

# Opredelitve učinkovitosti agonistov:

- Maksimalni učinek (učinkovitost, efficacy)
- $EC_{50}$  (moč, potency) ( $ED_{50}$ )
- Prednost zdravil z večjo močjo?

# Interakcija med agonistom in receptorjem



$$v_1 = k_1 \cdot [A] \cdot [R_p] \quad v_2 = k_2 \cdot [AR]$$

V ravnotežju:

$$\frac{k_2}{k_1} = \frac{[A] \cdot [R_p]}{[AR]} \quad K_D = \frac{k_2}{k_1}$$

$$[AR] = \frac{[A] \cdot ([R_t] - [AR])}{K_D} \quad [AR] = \frac{[R_t] \cdot [A]}{K_D + [A]}$$



# Teorije receptorjev

- Okupacijske (učinek povezan z deležem zasedenih receptorjev)
  - Klasična okupacijska (Ariëns)
  - Stephensonova (Furchgot)
  - Operativni pristop (Black in Leff)
- Hitrostna (Paton)
- Alosterična

# Teorije receptorjev

$$E = \frac{E_m \cdot [A]}{EC_{50} + [A]}$$

$$[AR] = \frac{[R_t] \cdot [A]}{K_D + [A]}$$

# Teorije receptorjev

## klasična okupacijska - Ariëns

$$E = \frac{E_m \cdot [A]}{EC_{50} + [A]} \quad [AR] = \frac{[R_t] \cdot [A]}{K_D + [A]}$$

$$E = \alpha \cdot [AR]$$

$$E_m = \alpha \cdot [R_t]$$

# Teorije receptorjev

## klasična okupacijska - Ariëns

$\alpha \rightarrow$  *intrinzična aktivnost*

$0 \rightarrow \alpha \rightarrow 1$

antagonist

agonist

delni agonist

# Teorije receptorjev

## klasična okupacijska - Ariëns

$$E = \frac{E_m \cdot [A]}{K_D + [A]} \quad K_D = EC_{50}$$

- Določanje  $K_D$  direktno iz odnosa med koncentracijo in učinkom
- Primeri delnih agonistov (alkaloidi Secale, nekateri antagonisti  $\beta$ )

- Predpostavka  $E_m = \alpha \cdot [R_t]$   
ne drži v vseh primerih
- močni (polni) agonisti :
  - $E_m \leftarrow [AR] \ll [R_t]$
  - $EC_{50} < K_D$
- Dokazi : nekomp. antagonisti  
: vezavne študije

# Stephensonova modifikacija

- ničelni pristop (1956)

- Izhodišče: nov pojem: S - stimulus

- $E = f [A] \rightarrow S = e [AR]/R_t$



$E = f (S)$       neznana funkcija

- e - učinkovitost (efficacy)

$$S = \frac{e [RA]}{[R_t]}$$

proporcionalnost deležu  
zasedenih receptorjev

Odvisna od tkiva

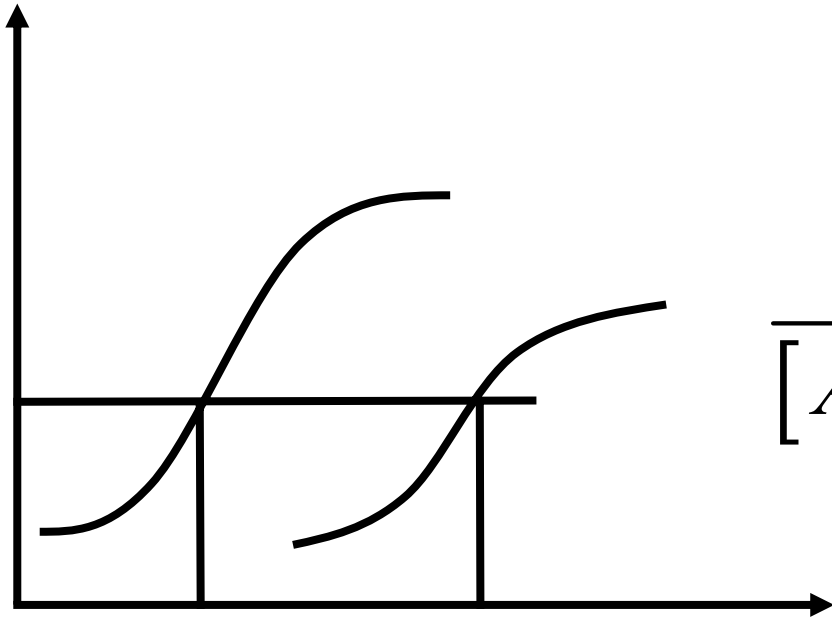
$$E = f \left( \frac{e [R_t] \cdot [A]}{K_D + [A]} \right)$$

Odvisna od agonista



# Posledice:

- Za določanje  $K_D \rightarrow$  ne zadošča samo agonist
- Agonist + nekompetitivni antagonist
- enaki E: enak S  $\rightarrow$  enak  $[AR]$



$$\frac{[A]}{[A] + K_D} = \frac{[A']}{[A'] + K_D} \cdot (1 - y_I)$$

# Operativni pristop

Black in Leff (1985)

če velja:

$$E = f([A]) \rightarrow \textit{pravokotna hiperbola}$$

velja tudi:

$$E = f([AR]) \rightarrow \textit{pravokotna hiperbola}$$

Nov pojem: funkcija pretvornika

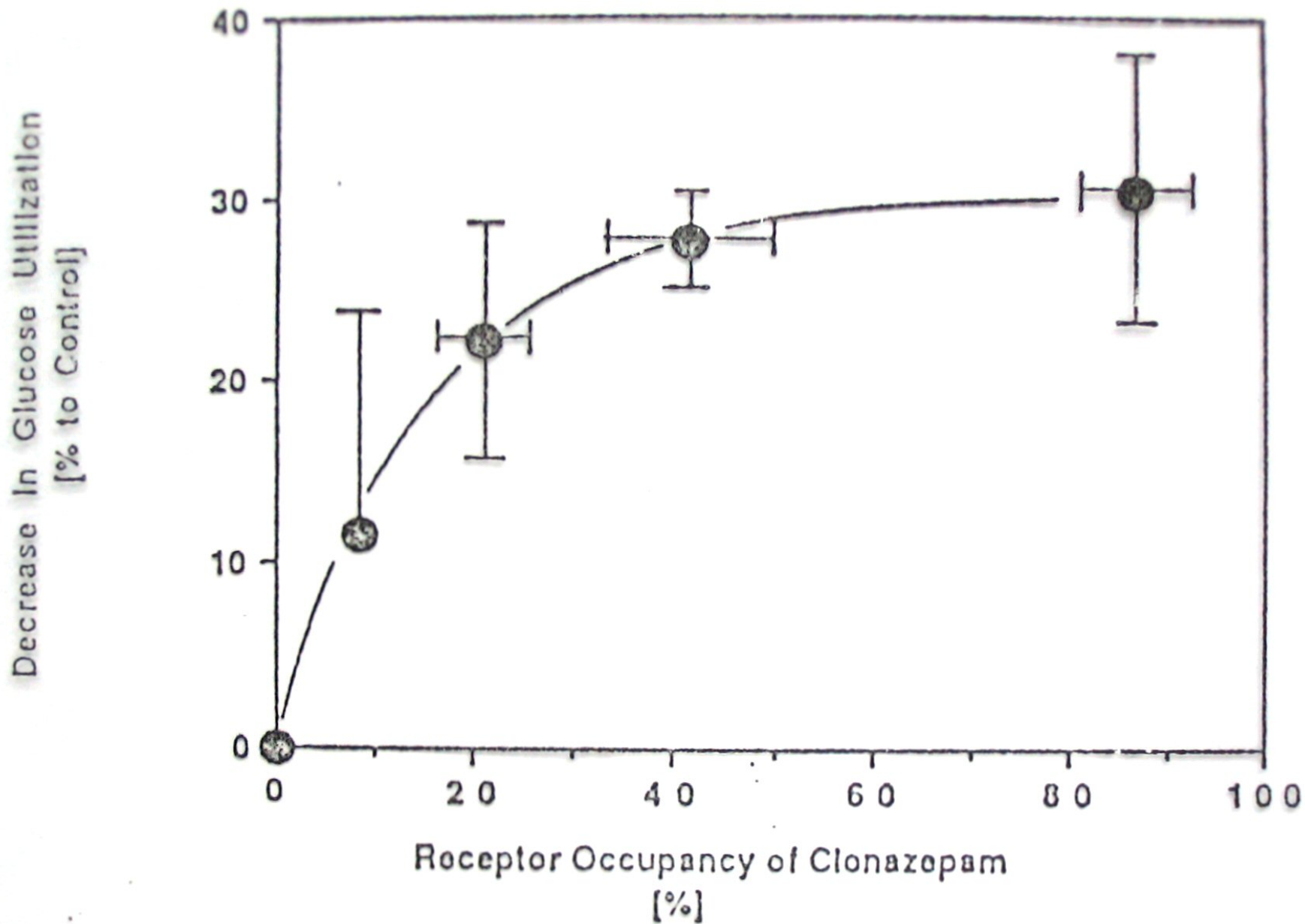
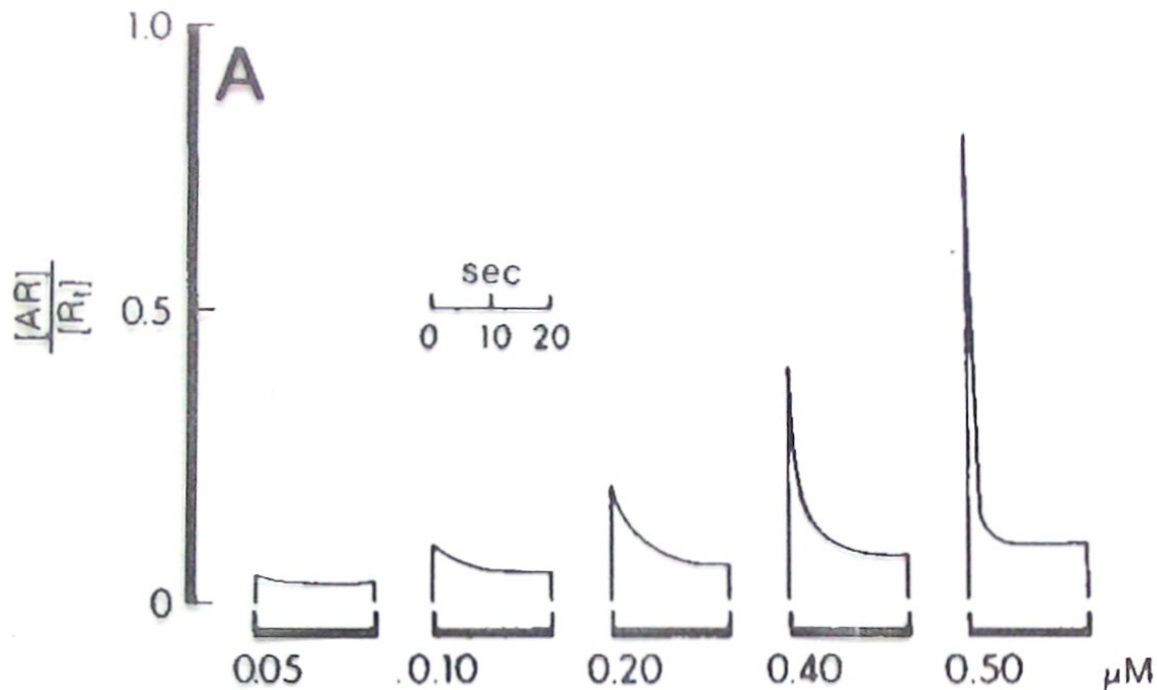


Fig. 5. Relation between the receptor occupancy (percentage) and decrease in GU, 60 min after administration of CNZ.

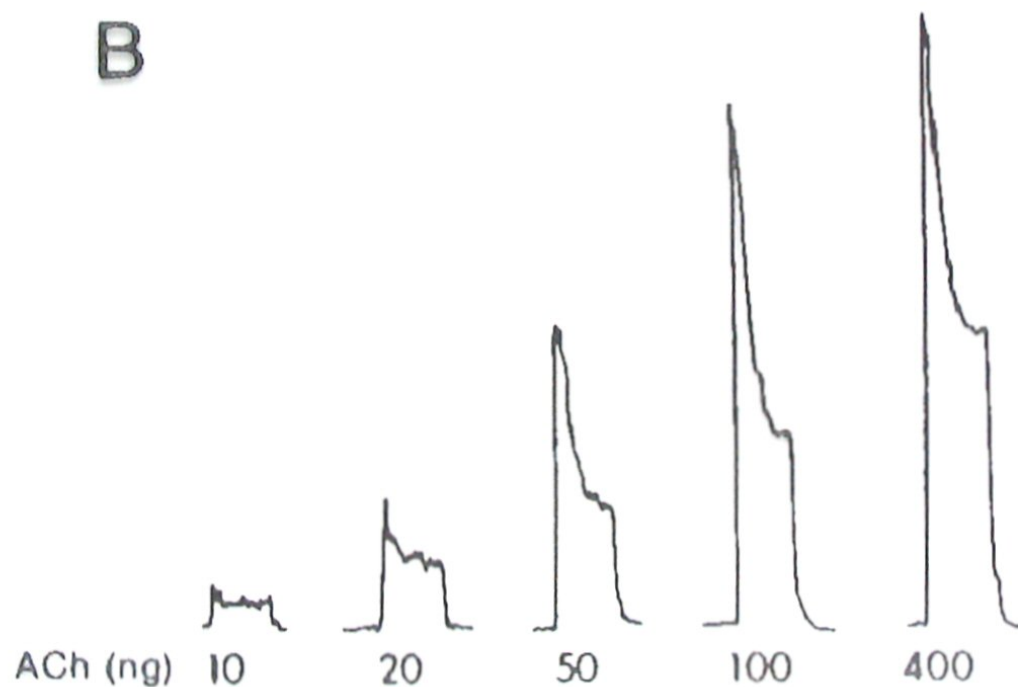
# Patonova (hitrostna) teorija (1961)

- razlika od okupacijskih teorij
- osnovna predpostavka  $E = f(v_1)$ 
  - $E = f(v \rightarrow \uparrow \uparrow [RA])$
  - $v_1 = k_1 [R][A]$
  - $v_2 = k_2 [RA]$  določa naravo liganda
- v ravnotežju ni razlik od okupacijskih teorij
- praktična aplikacija: primer delovanja nikotina

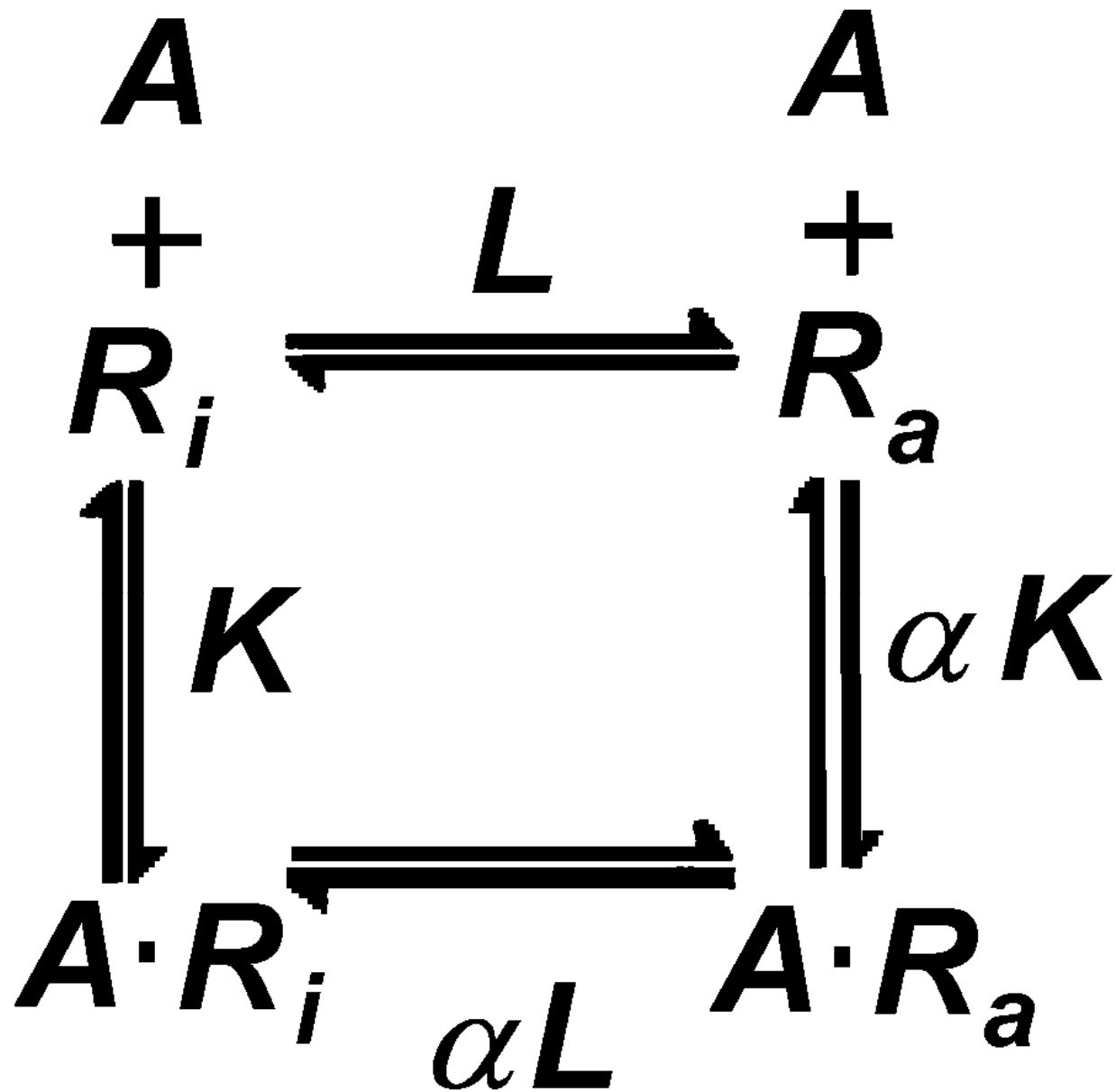
# Časovni potek učinka ACh in deleža zasedenih receptorjev



**B**



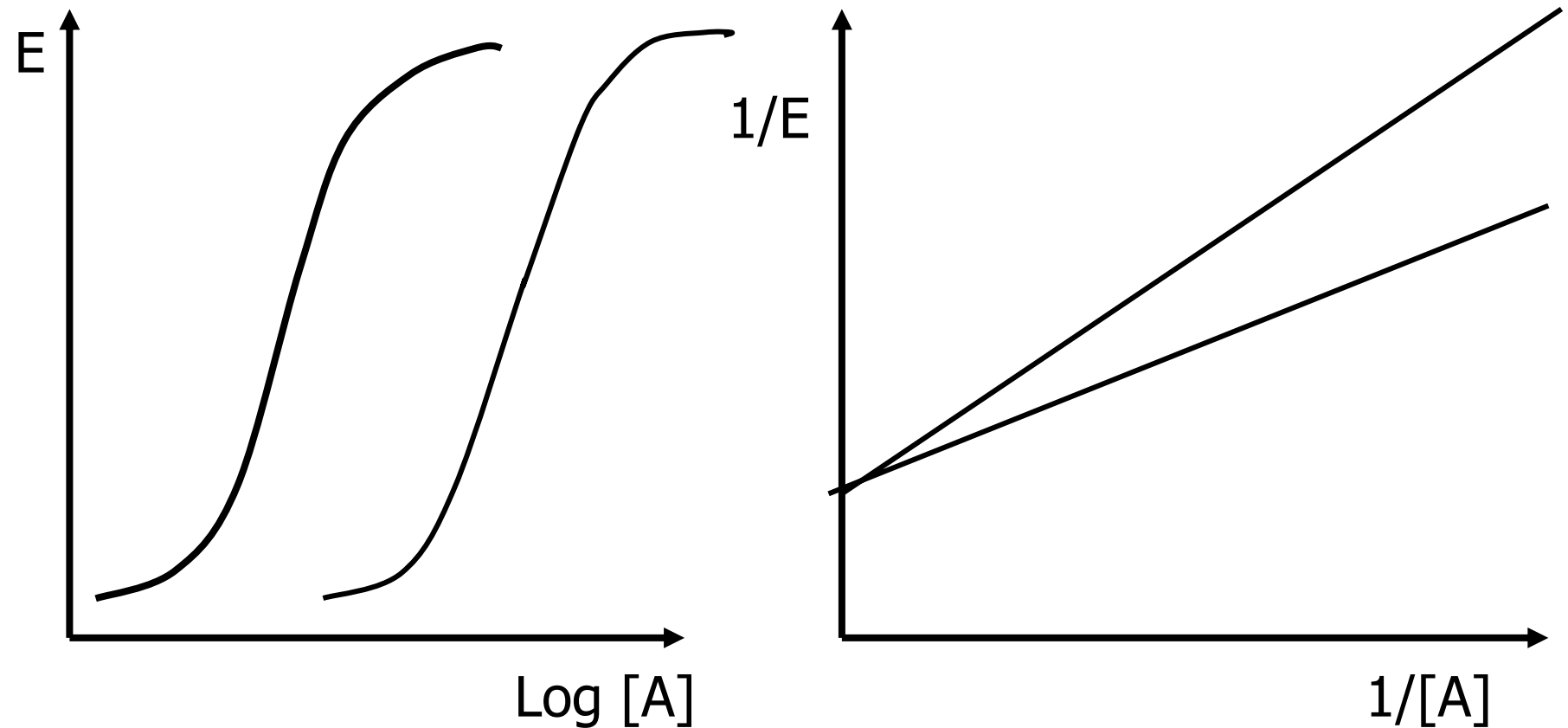
Alosterična  
teorija  
receptorjev  
- Model  
dveh stanj



# Alosterična teorija

- Receptor aktiven tudi brez prisotnosti agonista
- Agonisti: večja afiniteta za  $R_a$
- Antagonisti: enaka afiniteta za  $R_i$  in  $R_a$
- Pojem ***inverznih agonistov***: **večja afiniteta za  $R_i$**  → zmanjšanje 'bazalne' aktivnosti receptorja

# Kompetitivni reverzibilni antagonizem

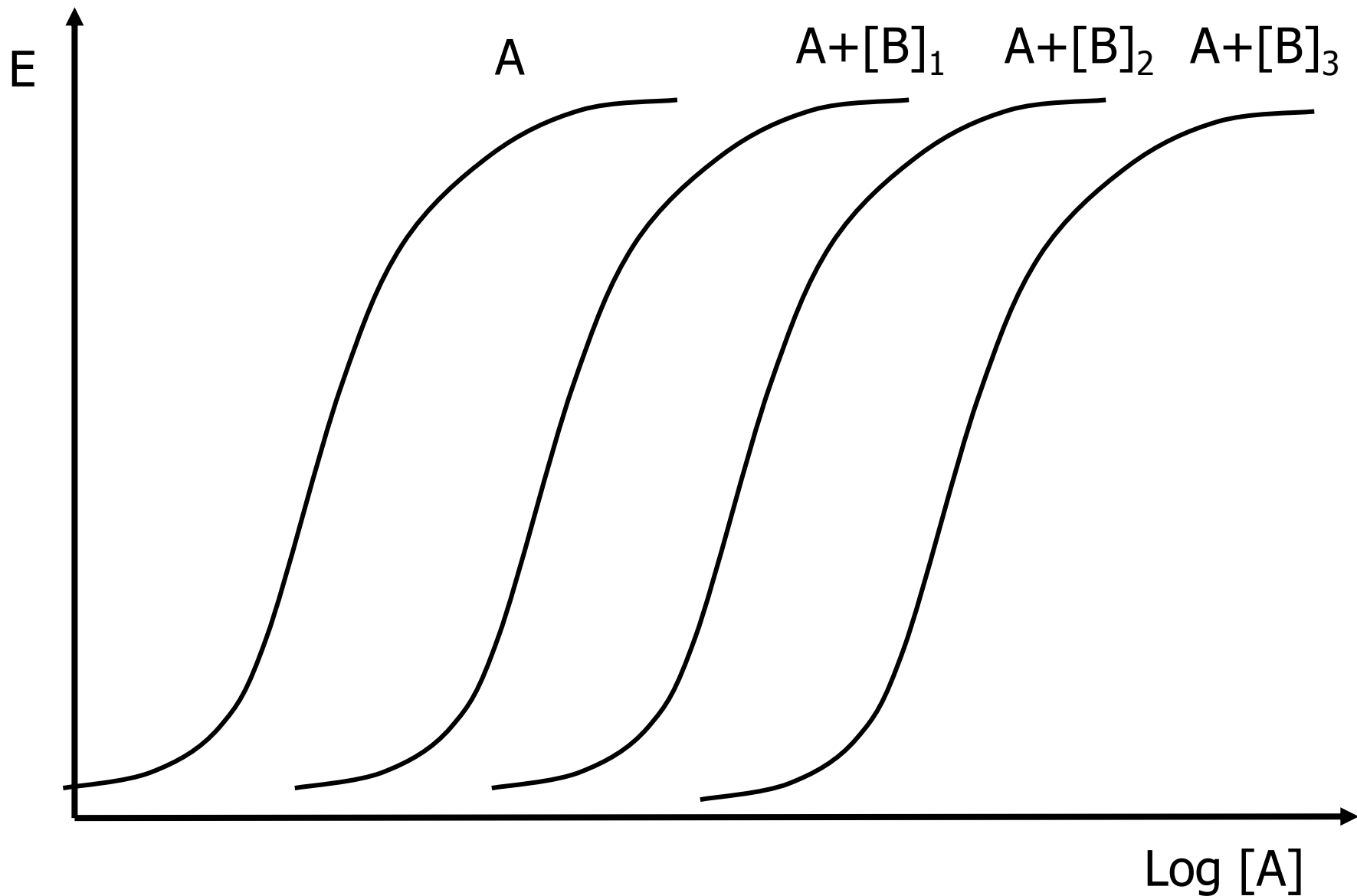


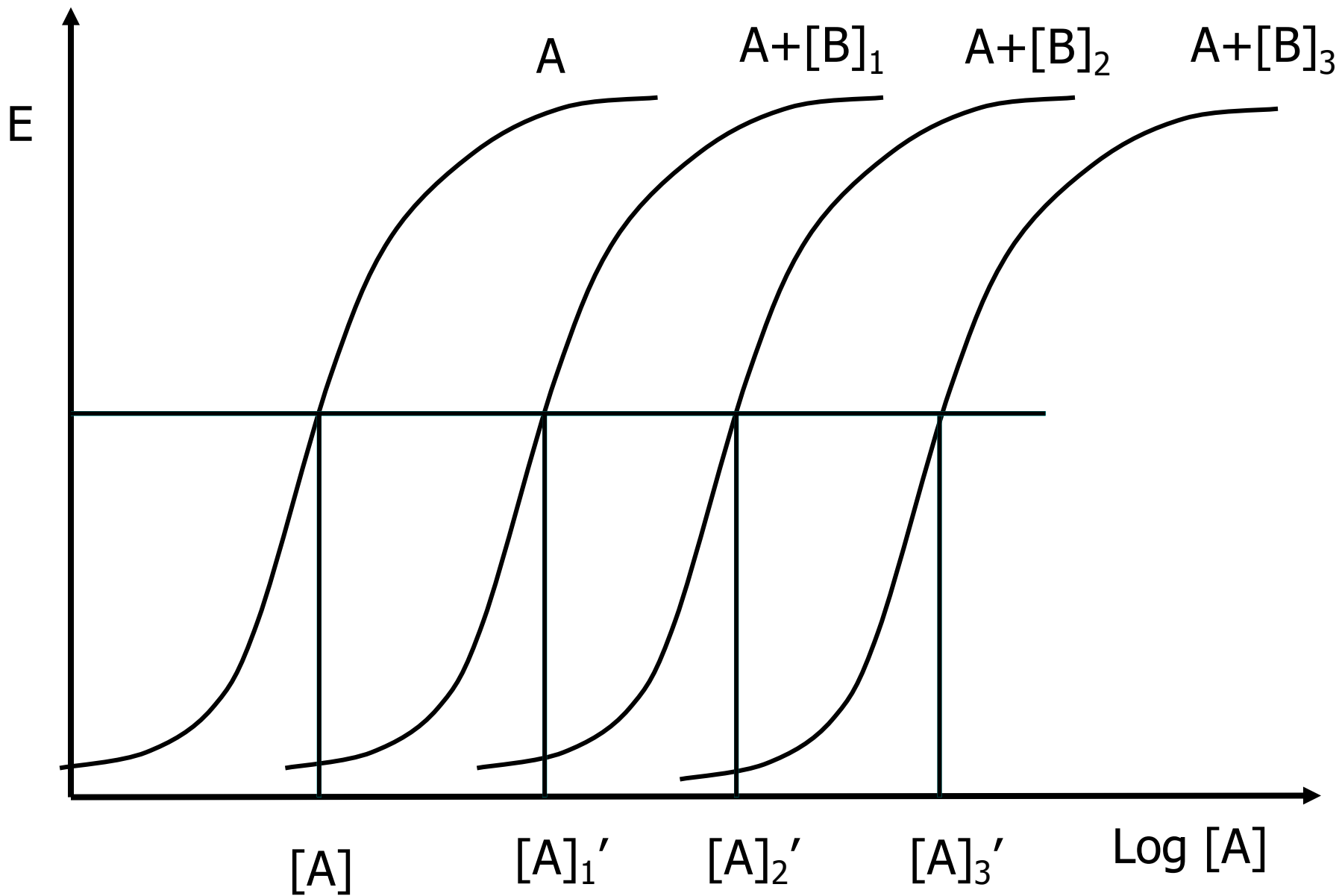


# Merjenje učinkovitosti antagonistov

- $pA_2$  - Schild 1947
- Negativni logaritem tiste koncentracije antagonista, ki učinek dvojne koncentracije agonista zmanjša na velikost učinka enojne koncentracije (Schildova definicija)
- $pA_2 = pK_B$  (neg. log disociacijske konstante kompleksa antagonist-receptor)

Koncentracije komp. antagonista B:  $[B]_1 < [B]_2 < [B]_3$





# Delež zasedenih receptorjev [RA]/[R<sub>t</sub>]

Sam agonist:

$$y = \frac{[A]}{[A] + K_A}$$

Prisoten  
kompetitivni  
antagonist

$$y' = \frac{[A]}{[A] + K_A \left(1 + [B] / K_B\right)}$$

Ob enakih učinkih – enak delež zasedenih receptorjev

$$\frac{[A]}{[A] + K_A} = \frac{[A]'}{[A]' + K_A \left(1 + [B] / K_B\right)}$$

$$\frac{[A]'}{[A]} - 1 = \frac{[B]}{K_B}$$

$$\frac{[A]'}{[A]} = DR \quad \mathbf{\log (DR-1) = \log [B] - \log K_B}$$

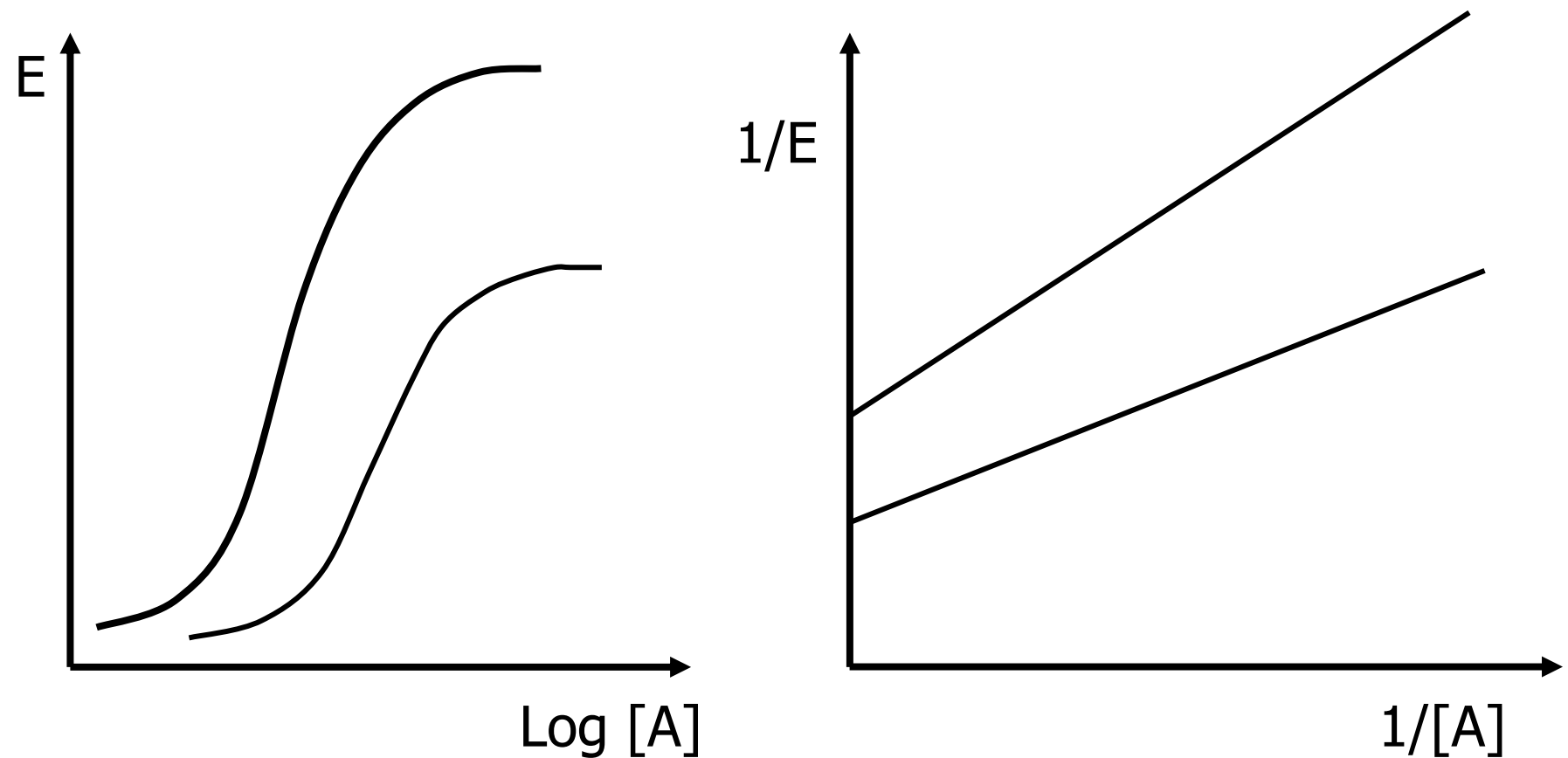
# Lastnosti $pA_2$

- Visok  $pA_2$  – velika specifičnost antagonist (in narobe)
- Visok  $pA_2$  – velika učinkovitost antagonist
- Podobne vrednosti  $pA_2$  za isti par agonist – antagonist na različnih tkivih (organih) – podobni receptorji
- Vrednosti  $pA_2$  istih antagonistov v kombinaciji z različnimi agonisti so enake
- Različen  $pA_2$  z istim antagonistom na različnih tkivih  $\Rightarrow$  različni receptorji

# Pomen določanja $pA_2$

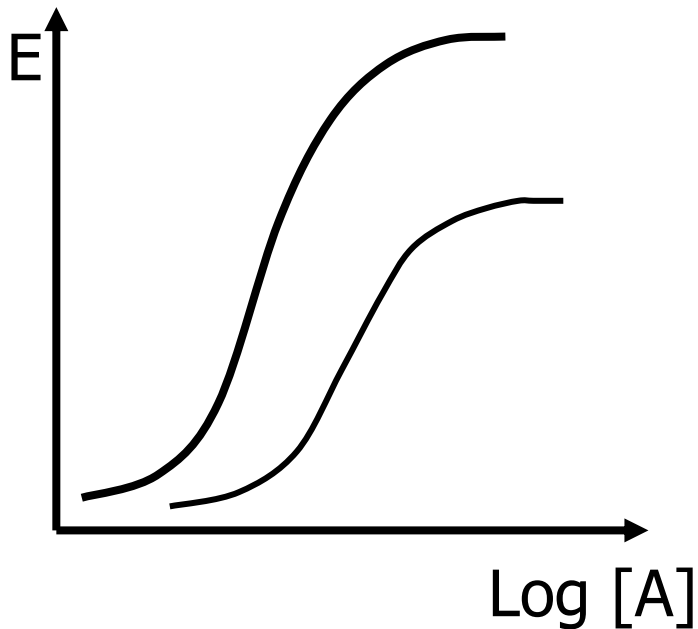
- Merilo učinkovitosti antagonistov
- Metoda za diferenciacijo receptorjev in določanje njihovih podtipov
- Cilj raziskav v farmakologiji: čimbolj selektivna zdravila
- Diferencirani receptorji (podtipi) in selektivni antagonist (agonisti)

# Nekompetitivni antagonizem



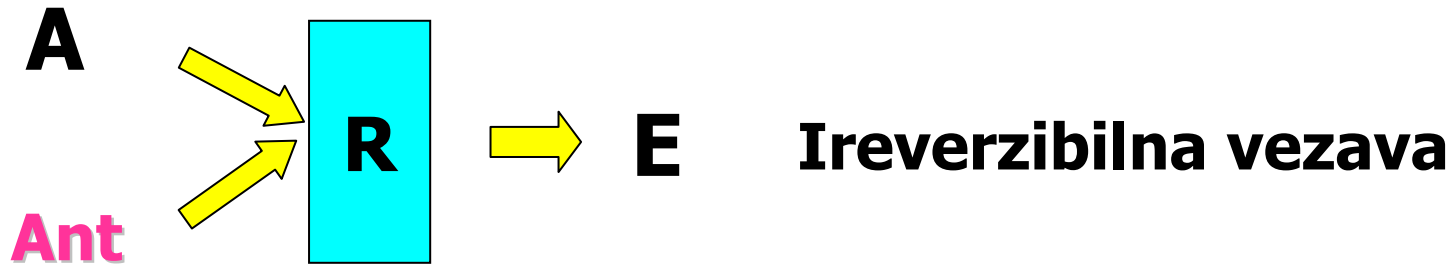
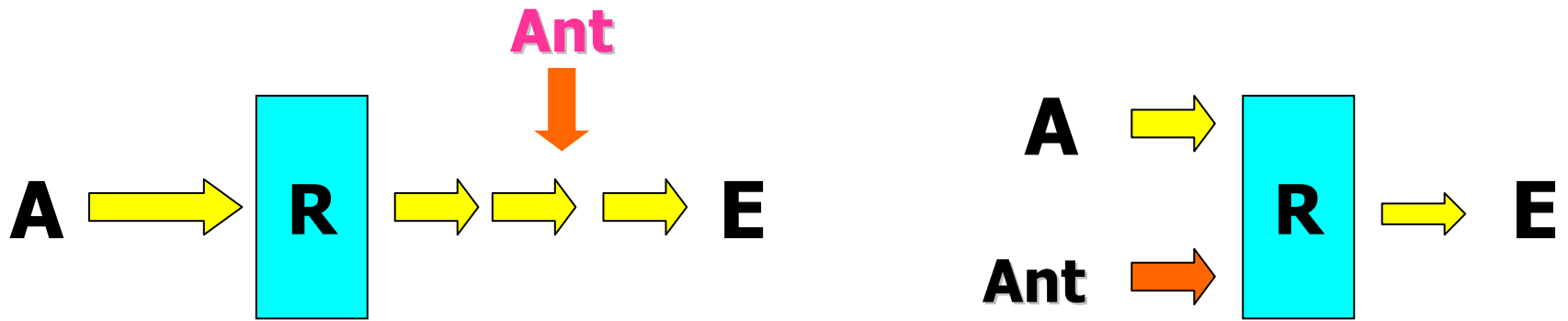


# Ireverzibilni nekompetitivni antagonizem



$$[AR]' = \frac{([R_t] - [BR]) \cdot [A]}{K_D + [A]}$$

# Mesta delovanja nekompetitivnih antagonistov



Ireverzibilni kompetitivni antagonizem