

# Дія лікарських засобів: загальні засади

## СТИСЛИЙ ВИКЛАД РОЗДІЛУ

Фармакологія як наука виникла тоді, коли акцент змістився з опису того, що роблять лікарські засоби, до пояснення того, яким чином вони працюють. У цьому розділі ми виклали деякі загальні засади, що лежать в основі взаємодії лікарських засобів із живими системами (молекулярні аспекти детальніше висвітлено в розд. 3). Описано взаємодію між лікарськими засобами та клітинами і детально розглянуто різні типи взаємодії «лікарський засіб-рецептор». Концепція рецепторів, визначена як «головна думка» фармакології (Rang, 2006), буде постійною темою в цій книзі.

## ВСТУП

Ми розпочнемо з подяки Полу Ерліху (Paul Ehrlich) за його наполегливість у тому, що дія лікарського засобу має бути пояснюваною з погляду звичайних хімічних взаємодій між лікарськими засобами та тканинами, а також за розвіяння думки про те, що надзвичайна ефективність та специфічність дії деяких лікарських засобів певним чином виводила їх за межі досяжності хімії та фізики й вимагала втручання магічних «життєвих сил». Незважаючи на те, що багато лікарських засобів чинять дію в надзвичайно низьких дозах та концентраціях, кількість молекул за низьких концентрацій все одно дуже велика. Одна крапля розчину лікарського засобу в концентрації лише  $10^{-10}$  моль/л все ще містить близько  $3 \times 10^9$  молекул лікарського засобу, тому немає жодної таємниці в тому, що вона здатна викликати очевидну фармакологічну відповідь. Деякі бактеріальні токсини (наприклад дифтерійний токсин) діють з такою точністю, що однієї молекули, захопленої клітиною-мішенню, достатньо, щоб її вбити.

Один з основних принципів фармакології полягає в тому, що молекули лікарських засобів мають чинити певний хімічний вплив на одну або кілька складових клітини, щоб викликати фармакологічну відповідь. Іншими словами, молекули лікарського засобу повинні так наблизитися до тих молекул, що входять до структури клітини, щоб хімічна взаємодія між першими й другою могла змінити функцію останніх. Звичайно, молекул в організмі значно більше, ніж молекул лікарського засобу, і якби молекули лікарського засобу просто розподілялися довільно, шанс взаємодії з якимось певним класом молекул клітин

був би мізерним. Тому фармакологічна дія зазвичай потребує нерівномірного розподілу молекул лікарського засобу в організмі або тканині, тобто молекули лікарського засобу мають бути «зв'язані» з певними складовими клітин і тканин для того, щоб відбувся певний вплив. Ерліх підсумував це таким чином: «*Corpora non agunt nisi fixata*» (у цьому контексті – «Лікарський засіб не діятиме, доки не відбудеться зв'язування»)<sup>1</sup>.

Ці критичні ділянки зв'язування часто називають «мішенями лікарського засобу» (очевидний натяк на відомий термін Ерліха «магічні кулі», використовуваний для опису потенціалу антимікробних засобів). Механізми, за допомогою яких зв'язок молекули лікарського засобу з її мішенню приводить до фізіологічної реакції, становлять основний напрямок фармакологічних досліджень. Більшість мішеней лікарського засобу – це білкові молекули. Нині, як видається, навіть анестетики загальної дії (див. розд. 42) взаємодіють переважно з мембранними білками, хоча довгий час вважали, що вони чинять вплив шляхом взаємодії з мембранним ліпідом (див.: Franks, 2008).

Усі правила потребують винятків, і багато протимікробних та протипухлинних лікарських засобів (розд. 52 і 57), а також мутагенні й канцерогенні агенти (розд. 58) взаємодіють безпосередньо з ДНК, а не з білком; бісфосфонати, використовувані для лікування остеопорозу (розд. 37), зв'язуються з солями кальцію в кістковому матриксі, що робить їх токсичними для остеокластів, подібно до шурячої отрути. Також є винятки серед біофармацевтичних препаратів нового покоління, до яких належать нуклеїнові кислоти, білки та антитіла (див. розд. 5).

## БІЛКОВІ МІШЕНІ ДЛЯ ЗВ'ЯЗУВАННЯ З ЛІКАРСЬКИМ ЗАСОБОМ

Зазвичай основними мішенями лікарського засобу є чотири основні типи регуляторних білків, а саме:

- рецептори;
- ферменти;
- молекули-носії (транспортери);
- іонні канали.

<sup>1</sup> Якщо ретельно пошукати, то для вислову Ерліха можна знайти винятки – лікарські засоби, які діють, не зв'язуючись з жодною складовою тканини (наприклад, осмотичні діуретики, осмотичні проносні, антациди та хелатувальні агенти важких металів). Хай там як, та для переважної більшості принцип залишається справедливим.



Крім того, багато лікарських засобів зв'язуються (крім своїх основних мішеней) з білками плазми крові (див. розд. 9) та іншими тканинними білками, не зумовлюючи жодного очевидного фізіологічного ефекту. Однак узагальненням стосовно того, що більшість лікарських засобів діє на той або інший з чотирьох перелічених вище типів білка, слугує гарною відправною точкою.

Подальший розгляд механізмів, за допомогою яких таке зв'язування приводить до клітинних реакцій, наведено в розд. 3–4.

## РЕЦЕПТОРИ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

### ЩО МИ МАЄМО НА УВАЗІ ПІД ТЕРМІНОМ «РЕЦЕПТОРИ»?

▼ Як підкреслювалося в розд. 1, концепція рецепторів є центральною для фармакології, і цей термін найчастіше використовують для опису молекули-мішеней, за допомогою яких розчинні фізіологічні медіатори – гормони, нейромедіатори, медіатори запалення тощо – чинять свою дію. У цій книзі наведено багато прикладів рецепторів, таких як ацетилхолінові, цитокінові, стероїдні та рецептори гормону росту, а загалом термін «рецептор» вказує на молекулу розпізнавання для хімічного медіатора, через який трансдукується реакція.

Іноді термін «рецептор» використовують на позначення будь-якої молекули-мішені, з якою молекула лікарського засобу (тобто чужорідна сполука, а не ендogenous медіатор) має поєднуватися, щоб досягти свого специфічного ефекту. Наприклад, чутливий до напруги натрієвий канал іноді називають «рецептором» місцевих анестетиків (див. розд. 44), а фермент дигідрофолатредуктазу – «рецептором» метотрексату (розд. 51). У цьому контексті перевагу слід віддавати терміну «мішень лікарського засобу», одним із типів якої є рецептори.

У загальнішому контексті клітинної біології терміном «рецептор» позначають різні молекули поверхні клітини (такі як рецептори T-клітин, інтегрини, Toll-рецептори тощо; див. розд. 7), залучені у міжклітинну взаємодію, які мають важливе значення в імунології, клітинному рості, міграції та диференціації, а деякі з них також виявляються мішенями лікарських засобів. Ці рецептори відрізняються від звичайних рецепторів тим, що взаємодіють з білками, прикріпленими до поверхонь клітин або позаклітинних структур, а не з розчинними медіаторами.

Рецепторами часто називають різні білки-носії, наприклад, рецептор ліпопротеїнів низької щільності, який відіграє ключову роль у метаболізмі ліпідів (розд. 24), і рецептор трансферину, що бере участь у всмоктуванні заліза (розд. 26). Зазначені сполуки мають мало спільного з фармакологічними рецепторами. Ці білки відіграють важливу роль у дії таких засобів, як статини (розд. 24), хоча й відрізняються від фармакологічних рецепторів.

### РЕЦЕПТОРИ У ФІЗІОЛОГІЧНИХ СИСТЕМАХ

Рецептори утворюють ключову частину системи хімічної взаємодії та комунікації, яку всі багатоклітинні організми використовують для координації діяльності своїх клітин та органів. Без них ми не змогли б функціонувати.

Деякі основні властивості рецепторів ілюструє дія адреналіну (епінефрину) на серце. Адреналін спочатку зв'язується з рецепторним

## Мішені для дії лікарських засобів



- Лікарський засіб – це хімічна речовина, що застосовується до фізіологічної системи і впливає на її функцію певним чином.
- За деякими винятками, лікарські засоби діють на білки-мішені, а саме:
  - рецептори;
  - ферменти;
  - молекули-носії;
  - іонні канали.
- Термін «рецептор» використовують по-різному. У фармакології ним позначають білкові молекули, функція яких полягає у розпізнаванні ендogenous хімічних сигналів та реагуванні на них. Інші макромолекули, з якими лікарські засоби взаємодіють для досягнення свого ефекту, відомі як *мішені лікарських засобів*.
- Специфічність є взаємною: окремі класи лікарських засобів зв'язуються лише з певними мішенями, а окремі мішені визнають лише певні класи лікарських засобів.
- Жодний лікарський засіб не є абсолютно специфічним у своїй дії. У багатьох випадках збільшення дози лікарського засобу призведе до його впливу на інші мішені крім основної, та це може зумовити побічні ефекти.

білком ( $\beta_1$ -адренорецептором, див. розд. 15), який слугує місцем розпізнавання адреналіну та інших катехоламінів. Коли він зв'язується з рецептором, починається цикл реакцій (див. розд. 3), що приводить до збільшення сили та частоти серцебиття. За відсутності адреналіну рецептор зазвичай функціонально «німий». Так відбувається з більшістю рецепторів ендogenous медіаторів (гормонів, нейромедіаторів, цитокінів тощо), хоча є приклади «конститутивно активних» рецепторів (див. розд. 3), які чинять контрольний вплив навіть за відсутності хімічного медіатора (див. с. 16).

Є важлива відмінність між *агоністами*, які «активують» (збуджують) рецептори, та *антагоністами*, що взаємодіють із тим самим сайтом, не спричиняючи активації (збудження), та блокують взаємодію агоністів з цим рецептором. Агоністи та антагоністи виділяють лише серед рецепторів, які взаємодіють з медіаторами; ми не можемо говорити про «агоністи» й «антагоністи» в інших класах мішеней для дії лікарських засобів, описаних раніше.

Характеристики та прийняту номенклатуру для фармакологічних рецепторів описано у роботі: Neubig et al., 2003. Витоки концепції рецепторів та її фармакологічне значення розглянуто у роботі: Rang, 2006.

## СПЕЦИФІЧНІСТЬ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Щоб лікарський засіб був корисним як терапевтичний чи науковий інструмент, він має діяти вибірково на певні клітини та тканини. Іншими словами, він має демонструвати високий ступінь



специфічності сайту зв'язування. І навпаки, зазвичай білки, які виконують функцію мішеней лікарського засобу, демонструють високий ступінь специфічності ліганду; вони пов'язують лише молекули певного конкретного типу.

Ці принципи специфічності сайту зв'язування та ліганду можна чітко розпізнати в дії медіатора, зокрема **ангіотензину** (розд. 23). Цей пептид чинить сильну дію на гладкі м'язи судин і на нервові каналці, але має дуже слабкий вплив на інші види гладких м'язів або на епітелій кишок. Інші медіатори впливають на доволі різноманітний спектр клітин і тканин, причому картина в кожному випадку відображає специфічну модель експресії білкових рецепторів для різних медіаторів. Невелика хімічна зміна, така як перетворення однієї з амінокислот в ангіотензину з L-форми на D-форму або видалення однієї амінокислоти з ланцюга, може взагалі інактивувати молекулу, оскільки рецептор не може зв'язати змінену форму. Комплементарній специфічності лігандів та сайтів зв'язування, яка породжує дуже точні властивості молекулярного розпізнавання білків, належить центральне місце в поясненні багатьох явищ у фармакології. Не буде перебільшенням сказати, що здатність білків до дуже селективної взаємодії з іншими молекулами – зокрема іншими білками – є основою функціонування біологічних систем. Її важливість для розуміння дії лікарських засобів буде наскрізною темою в цій книзі.

Нарешті, слід підкреслити, що жоден лікарський засіб не діє з повною специфічністю. Так, трициклічні антидепресанти (розд. 48) діють, блокуючи транспортери моноамінів, але відомі тим, що спричиняють побічні ефекти (наприклад сухість у роті), пов'язані з їхньою здатністю блокувати інші різноманітні рецептори. Загалом, чим менша активність лікарського засобу та чим вища доза потрібна, тим більша ймовірність того, що інші сайти дії, крім первинного, набудатимуть значення. У клінічному плані це часто пов'язано з появою небажаних «нецільових» побічних ефектів<sup>2</sup>, яких не позбавлений жоден лікарський засіб.

З 1970-х років завдяки фармакологічним дослідженням вдалося визначити білкові мішені багатьох різних типів лікарських засобів. На сьогодні відомо, що такі лікарські засоби, як опіюїдні анальгетики (розд. 43), канабіноїди (розд. 20) і бензодіазепінові транквілізатори (розд. 45), дію яких упродовж багатьох років описували у вичерпних подробицях, націлено на чітко визначені рецептори, багато з яких отримали повну характеристику за допомогою методів клонування генів та білкової кристалографії (див. розд. 3).

## КЛАСИФІКАЦІЯ РЕЦЕПТОРІВ

▼ Коли дію лікарського засобу можна пов'язати з певним рецептором, це забезпечує корисні інструменти для класифікації та вдосконалення розроблення лікарських засобів. Наприклад, фармакологічний аналіз дії гістаміну (див. розд. 18) показав, що деякі його ефекти (вплив на  $H_1$ -рецептори, наприклад скорочення непосмугованих (гладких) м'язів) сильно антагонізовані конкурентними антагоністами гістаміну, відомими на той час. У 1970 р. Блек (Black) та його колеги припустили, що решту ефектів гістаміну, зокрема стимуляцію шлункової секреції, можуть забезпечувати гістамінові рецептори другого класу ( $H_2$ ). Випробовуючи низку аналогів гістаміну, вчені з'ясували, що деякі з них селективно впливали на  $H_2$ -рецептори за незначної активності  $H_1$ -рецепторів. Проаналізувавши, які саме частини молекули гістаміну забезпечують такий тип специфічності, вони змогли розробити селективні антагоністи  $H_2$ -рецепторів, які виявились потужними блокаторами секреції шлункової кислоти, що мало велике терапевтичне значення (розд. 31)<sup>3</sup>. Два розглянуті далі типи рецепторів гістаміну ( $H_2$  та  $H_4$ ) було відкрито пізніше.

Класифікація рецепторів, що ґрунтується на фармакологічних реакціях, досі залишається цінним та широко використовуваним підходом. Згодом завдяки новітнім експериментальним підходам з'явилися інші критерії класифікації рецепторів. Безпосереднє вимірювання зв'язування ліганду з рецепторами (див. далі) дало змогу визначити багато нових підтипів рецепторів, які неможливо було легко розрізнити при вивченні дії лікарських засобів. Молекулярне секвенування структури амінокислот (див. розд. 3) дало абсолютно нову основу для класифікації з набагато точнішим рівнем деталізації, ніж можна досягти за допомогою фармакологічного аналізу. Нарешті, ще одну основу для класифікації забезпечив аналіз біохімічних шляхів, пов'язаних з активацією рецепторів (див. розд. 3).

У результаті такого стрімкого зростання обсягу даних класифікація рецепторів стала набагато детальнішою, зі збільшенням кількості підтипів рецепторів для всіх основних типів лігандів. Внаслідок появи альтернативних молекулярних і біохімічних класифікацій, не сумісних із прийнятими класами рецепторів, визначеними фармакологічним шляхом, Міжнародний союз базисної та клінічної фармакології (англ. International Union of Basic and Clinical Pharmacology, IUPHAR) скликав робочі групи експертів для підготовки узгоджених класифікацій основних типів рецепторів з урахуванням наявної фармакологічної, молекулярної та біохімічної інформації. Ці компетентні особи постали перед складним завданням; їхні висновки не будуть ані досконалими, ані остаточними, але є критично важливими для забезпечення узгодженої термінології. Студентові це може здатися загадковими вправами в систематиці, що створює багато деталей, але дає мало тлумачення. Існує небезпека, що нецікаві переліки назв лікарських засобів, дії та побічних ефектів, що раніше обтяжували тему, замінять на вичерпні таблиці рецепторів, лігандів та шляхів трансдукції. У цій книзі ми намагалися уникати тих подробиць, що з'являються лише з любов'ю до процесу як такого, та наводили тільки таку інформацію про класифікацію рецепторів, яка видається цікавою сама по собі або корисна для пояснення дії важливих лікарських засобів. Доступна вичерпна база даних про відомі класи рецепторів (див.: [www.guidetopharmacology.org/](http://www.guidetopharmacology.org/)), а також регулярно оновлюваний короткий виклад (Alexander et al., 2015).

<sup>2</sup> «Цільові» побічні ефекти – це небажані ефекти, опосередковані тим самим рецептором, що й клінічно бажаний ефект, наприклад, закрепи та дихальна недостатність при застосуванні опіюїдних болезаспокійливих засобів (див. розд. 43), тоді як «нецільові» побічні ефекти опосередковані іншим механізмом.

<sup>3</sup> За цю роботу та розвиток антагоністів  $\beta$ -адренорецепторів подібним експериментальним шляхом сер Джеймс Блек (James Black) був нагороджений Нобелівською премією з фізіології та медицини у 1984 р.



## ВЗАЄМОДІЯ «ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ-РЕЦЕПТОР»

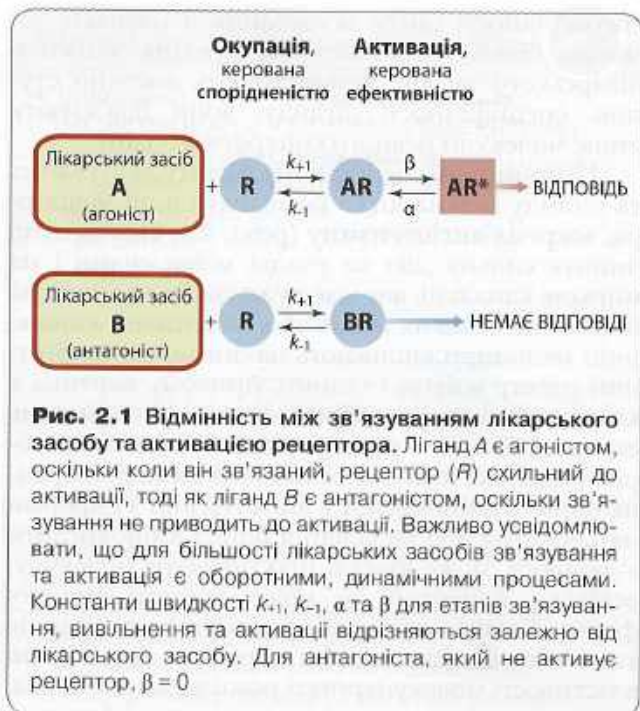
Захоплення рецептора молекулою лікарського засобу може привести чи не привести до активзації рецептора. Під активацією ми маємо на увазі такий вплив зв'язаної молекули на рецептор, що змінює функцію клітини та викликає реакцію тканини. Молекулярні механізми, пов'язані з активацією рецепторів, розглянуто в розд. 3. Зв'язування та активація є двома окремими етапами утворення агоністом рецептор-опосередкованої реакції (рис. 2.1). Якщо лікарський засіб зв'язується з рецептором, не викликаючи активації, і таким чином перешкоджає зв'язуванню агоніста, його називають *антагоністом рецептора*. Схильність лікарського засобу до зв'язування з рецепторами регулюється його спорідненістю (афінитетом), тоді як схильність до активзації рецептора, щойно буде встановлено зв'язок, позначається як його *ефективність*. Точніші визначення цих термінів наведено далі. Сильнодіючі лікарські засоби зазвичай мають високу спорідненість з рецепторами і, таким чином, захоплюють значну частку рецепторів навіть за низьких концентрацій. Агоністи також мають значну ефективність, тоді як ефективність антагоністів, у найпростішому випадку, нульова. Лікарські засоби із середнім рівнем ефективності, такі, що викликають субмаксимальну тканинну реакцію, навіть коли захоплено 100 % рецепторів, відомі як часткові агоністи – на відміну від повних агоністів, ефективності яких достатньо, щоб викликати максимальну реакцію тканини. Хоч ці поняття і є явно надто спрощеним описом подій на молекулярному рівні (див. розд. 3), вони дають корисну основу для характеристики дії лікарських засобів.

Зараз ми докладніше обговоримо деякі аспекти, а саме зв'язування лікарських засобів, криві «концентрація-ефект» агоністів, конкурентний антагонізм, часткові агоністи та характер ефективності. Розуміння цих понять на якісному рівні достатньо для багатьох цілей, але для детальнішого аналізу потрібне кількісне формулювання (див. с. 22–23).

### ЗВ'ЯЗУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ З РЕЦЕПТОРАМИ

▼ Зв'язування лікарських засобів з рецепторами часто можна виміряти безпосередньо, застосувавши молекули лікарських засобів (агоністів або антагоністів), мічені одним або кількома радіоактивними атомами (зазвичай  $^3\text{H}$ ,  $^{14}\text{C}$  або  $^{125}\text{I}$ ). Звичайна процедура полягає в інкубації зразків тканини (або фрагментів мембрани) з різними концентраціями міченого радіоактивним ізотопом лікарського засобу до досягнення рівноваги (тобто коли швидкість асоціації [зв'язування] міченого лікарського засобу дорівнює швидкості його дисоціації [вивільнення]). Зв'язану радіоактивність вимірюють після видалення надосадової рідини.

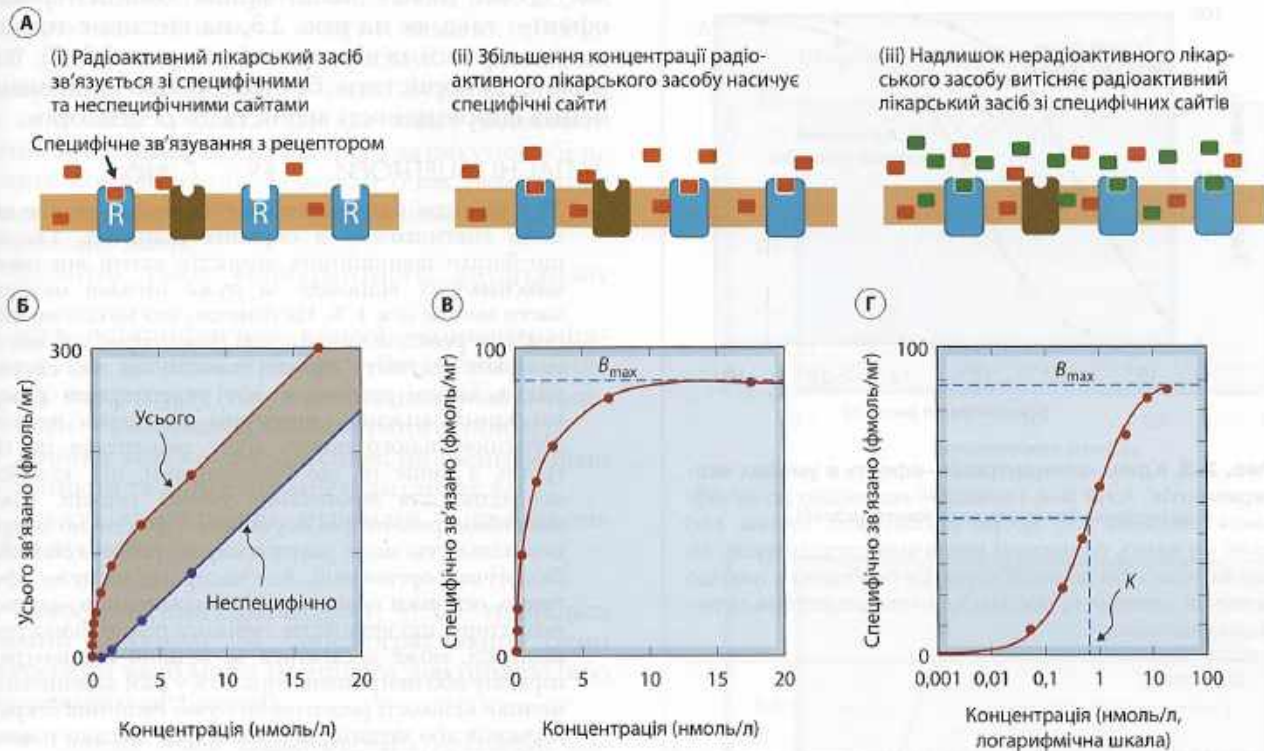
Під час таких експериментів мічений радіоактивним ізотопом лікарський засіб виявлятиме як специфічне зв'язування (тобто насичувальне зв'язування з рецепторами, оскільки кількість рецепторів у тканині обмежена), так і певною мірою неспецифічне зв'я-



зування (тобто та частина лікарського засобу, яку поглинають не рецептори, а інші структури, котрі за концентрацій, використовуваних у таких дослідженнях, зазвичай не насичуються), що заважає специфічному компоненту і потребує зведення до мінімуму (рис. 2.2, А-Б). Ступінь неспецифічного зв'язування визначають вимірюванням радіоактивності, поглинутої за наявності насичувальної концентрації (нерадіоактивного) ліганду, який цілковито інгібує зв'язування радіоактивного лікарського засобу з рецепторами, не впливаючи на неспецифічний компонент. Потім це значення віднімають від показника загального зв'язування, щоб оцінити ступінь специфічного зв'язування (рис. 2.2, В). Крива зв'язування (рис. 2.2, В-Г) визначає залежність між концентрацією та кількістю зв'язаного лікарського засобу (В), і в більшості випадків добре відповідає теоретично передбаченому відношенню (див. рис. 2.14), що дає змогу оцінити спорідненість (афінитет) лікарського засобу з оцінюваними рецепторами, а також здатність до зв'язування ( $B_{max}$ ), показуючи щільність рецепторів у тканині. У поєднанні з дослідженнями функцій вимірювання зв'язування виявилися дуже цінними. Наприклад, було підтверджено правильність гіпотези про запасні рецептори (с. 12) для мускаринчутливих холінерецепторів у гладких м'язах; встановлено, що загалом агоністи зв'язуються з досить низькою спорідненістю, а максимальний біологічний ефект виникає при низькій окупації рецепторів. Також було показано, що в скелетних м'язах та інших тканинах денервація зумовлює збільшення кількості рецепторів у клітині-мішені – це відкриття, принаймні частково, пояснює явище денерваційної надчутливості. У загальнішому сенсі здається, що кількість рецепторів схильна збільшуватися, зазвичай протягом декількох днів, якщо немає або спостерігається дефіцит відповідного гормону або медіатора, і зменшується, якщо рецептори активуються протягом тривалого періоду, – що є процесом адаптації до тривалого приймання лікарських засобів або гормонів (див. с. 23).

Неінвазивні методи візуалізації, такі як позитронно-емісійна томографія (ПЕТ), із застосуванням мічених ізотопом лікарських засобів з коротким періодом





**Рис. 2.2** Вимірювання зв'язування з рецептором. **А.** (i) На рисунку зображено радіоліганд (показано червоним кольором), що зв'язується зі своїм рецептором ( $R$ ) у мембрані, а також з неспецифічними сайтами інших білків та ліпідів. На рисунку (ii) при підвищенні концентрації радіоліганду всі специфічні сайти насичуються, але ступінь неспецифічного зв'язування продовжує зростати. На рисунку (iii) додавання високої концентрації нерадіоактивного лікарського засобу (показано зеленим кольором), який також зв'язується з  $R$ , витісняє радіоактивний лікарський засіб з його рецепторів, але не зі неспецифічних сайтів. На рисунках (Б–Г) проілюстровано фактичні результати експерименту щодо зв'язування радіолігандів з  $\beta$ -адренорецепторами в мембранах кардіоміоцитів. Лігандом був  $[^3H]$ -ціанопіндолол, що є похідним піндололу (див. розд. 15). **Б.** Вимірювання загального та неспецифічного зв'язування в рівноважному стані. Неспецифічне зв'язування вимірюється за наявності насичувальної концентрації нерадіоактивного агоніста  $\beta$ -адренорецепторів, що перешкоджає зв'язуванню радіоактивного ліганду з  $\beta$ -адренорецепторами. Різниця між двома лініями показує специфічне зв'язування. **В.** Зображено залежність специфічного зв'язування від концентрації. Крива – це рівнобічна гіпербола (рівняння (2.5)). **Г.** Зображено залежність специфічного зв'язування від концентрації, як на (В), на логарифмічній шкалі. S-подібна крива – це логістична крива, що показує логарифмічне масштабування рівнобічної гіперболи, накресленої на вставці (В), з якої можна визначити параметри зв'язування  $K$  (рівноважна константа дисоціації) та  $B_{\max}$  (здатність до зв'язування)

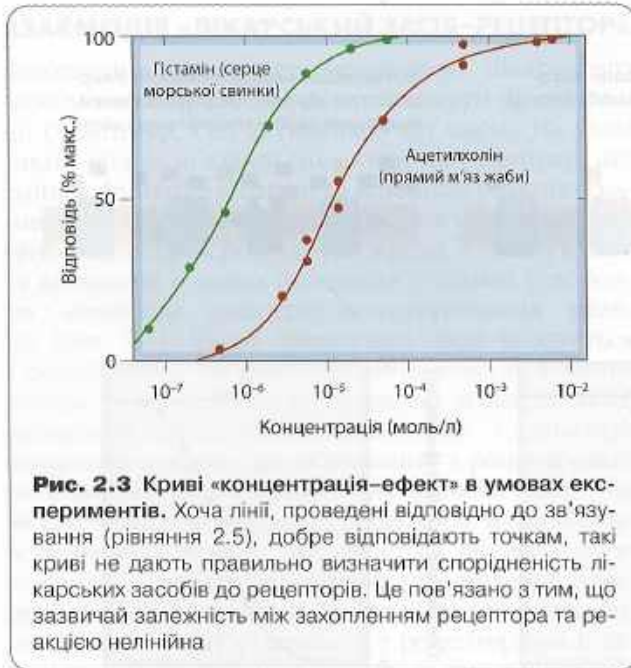
напіввиведення (наприклад,  $^{14}C$  або  $^{18}F$ ), також можуть використовуватися для дослідження розподілу рецепторів у таких структурах, як мозок живої людини. Наприклад, цю методику застосовують для вимірювання ступеня блокади дофамінових рецепторів, до якої приводять нейролептики в мозку хворих на шизофренію (див. розд. 47).

Криві зв'язування з агоністами часто показують явну неоднорідність рецепторів. Наприклад, зв'язування агоністів з мускаринчутливими холінорецепторами (розд. 14), а також з  $\beta$ -адренорецепторами (розд. 15) дає змогу припустити існування принаймні двох типів сайтів зв'язування з різною спорідненістю. Це може бути зумовлено тим, що рецептори можуть бути як неприкріплені, так і зв'язані всередині мембрани з іншою макромолекулою, G-білком (див. розд. 3), що є частиною системи трансдукції, завдяки якій рецептор чинить свою регулятивну дію. Зв'язування антагоністів не виявляє такої складності, ймовірно, тому, що антагоністи за своєю природою не приводять до вторинної події зв'язування G-білка. Оскільки зв'язування агоністів спричиняє активацію, спорідненість з агоністами виявилася напрочуд невлучим поняттям, про яке полюбляють сперечатися ентузіасти.

## ЗВ'ЯЗОК МІЖ КОНЦЕНТРАЦІЄЮ ТА ЕФЕКТОМ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Хоча зв'язування можна виміряти безпосередньо, зазвичай це біологічна реакція, яка становить для нас інтерес, така як підвищення артеріального тиску, скорочення або розслаблення смужки гладкого м'яза в інкубаторі органа, активація ферменту або поведінкова реакція; для цього часто будують криву «концентрація–ефект» (in vitro) або криву залежності «доза–ефект» (in vivo), як на рис. 2.3. Це дає змогу оцінити максимальну відповідь, яку здатен викликати лікарський засіб ( $E_{\max}$ ), та концентрацію або дозу, потрібні для отримання 50 % від максимальної відповіді ( $EC_{50}$  або  $ED_{50}$ ). Часто використовують логарифмічну шкалу концентрації або дози. Це перетворює криву з рівнобічної гіперболи на S-подібну криву, в якій середня частина по суті є лінійною (важливість нахилу лінійної частини стане очевидною далі в цьому розділі, коли ми





**Рис. 2.3** Криві «концентрація-ефект» в умовах експериментів. Хоча лінії, проведені відповідно до зв'язування (рівняння 2.5), добре відповідають точкам, такі криві не дають правильно визначити спорідненість лікарських засобів до рецепторів. Це пов'язано з тим, що зазвичай залежність між захопленням рецептора та реакцією нелінійна.

розглядатимемо антагонізм та часткові агоністи). Параметри  $E_{\max}$ ,  $EC_{50}$  та нахилу корисні для порівняння різних лікарських засобів, що чинять якісно подібні ефекти (див. рис. 2.7 та розд. 8). Незважаючи на те, що криві «концентрація-ефект» схожі на криву зв'язування на рис. 2.2, Г, їх не можна використовувати для вимірювання спорідненості засобів-агоністів до їхніх рецепторів, оскільки спричинена реакція зазвичай не є прямо пропорційною ступеню окупації рецепторів. Це явище часто виникає тому, що агоністи можуть спричинити максимальну відповідь тканини, коли вони захоплюють менше ніж 100 % рецепторів. За цих обставин кажуть, що тканина має запасні рецептори (рецепторний резерв) (див. далі).

Інтерпретуючи криві «концентрація-ефект», слід пам'ятати, що концентрація лікарського засобу на рецепторах може відрізнитися від відомої концентрації в розчині для відмивання. Агоністи можуть зазнавати швидкої ферментативної деградації або поглинатися клітинами, коли вони дифундують від поверхні до місця своєї дії, а рівноважний стан може досягатися за набагато меншої концентрації агоністів у рецепторах, ніж концентрація в інкубаторі. Наприклад, для ацетилхоліну, який гідролізується холінестеразою, наявною в більшості тканин (див. розд. 14), концентрація, що досягає рецепторів, може становити менш як 1 % від концентрації в інкубаторі, а ще більшу різницю було виявлено для норадреналіну (норепінефрину), який жадібно поглинають закінчення симпатичних нервів у багатьох тканинах (розд. 15). Використання рекомбінантних рецепторів, експресованих у культурі клітин, зменшує проблему, але не усуває її остаточно.

Отже, навіть якщо крива «концентрація-ефект», така як на рис. 2.3, на вигляд є точною копією кривої зв'язування (див. рис. 2.2, Г), її не можна використати безпосередньо для визначення спорідненості агоніста до рецепторів.

## ЗАПАСНІ РЕЦЕПТОРИ

▼ Стівенсон (Stephenson) (1956), вивчаючи дію аналогів ацетилхоліну в окремих тканинах, з'ясував, що багато повноцінних агоністів здатні викликати максимальну відповідь за дуже низької окупації, часто менше ніж 1 %. Це означає, що механізм, який пов'язує реакцію з окупацією рецепторів, має значну резервну здатність. Можна сказати, що такі системи мають *запасні рецептори*, або рецепторний резерв. Існування запасних рецепторів не означає жодного функціонального поділу пулу рецепторів на підгрупи, а лише те, що пул більший, ніж кількість, необхідна для викликання повної реакції. Такий надлишок рецепторів порівняно з фактично потрібною кількістю може здатися марнотратним способом біологічної організації. Але насправді це дуже ефективно, оскільки певна кількість комплексів «агоніст-рецептор», що відповідає певному рівню біологічної відповіді, може досягатися за меншої концентрації гормону або нейромедіатора, ніж у разі забезпечення меншої кількості рецепторів. Отже, економія секретції гормонів або медіаторів досягається завдяки наявності більшої кількості рецепторів.

## КОНКУРЕНТНИЙ АНТАГОНІЗМ

Хоча один лікарський засіб може пригнічувати реакцію на інший кількома способами (див. с. 19), конкуренція на рівні рецепторів є особливо важливою як у лабораторних умовах, так і в клінічній практиці через високу активність та специфічність, яких можна досягти.

За наявності конкурентного антагоніста окупація агоністом (тобто частка рецепторів, з якими зв'язаний агоніст) за встановленої концентрації агоніста зменшується, оскільки рецептор може зв'язатися лише з однією молекулою одночасно. Однак, оскільки вони конкурують між собою, підвищення концентрації агоніста може відновити окупацію агоністом (а отже, і реакцію тканин). Тому кажуть, що цей антагонізм можна *подолати*, на відміну від інших типів антагонізму (див. далі), за яких збільшення концентрації агоніста не дає змоги подолати блокувальну дію. Простий теоретичний аналіз (див. с. 24) передбачає, що за наявності фіксованої концентрації антагоніста логарифмічна крива «концентрація-ефект» для агоніста буде зміщена праворуч без жодних змін нахилу або максимуму – ознака конкурентного антагонізму (рис. 2.4, А). Зсув виражається як *співвідношення* (коефіцієнт) *دوزи*,  $r$  (відношення, що показує, наскільки потрібно збільшити концентрацію агоніста за наявності антагоніста, щоб відновити встановлений рівень реакції). Теоретично співвідношення дози збільшується лінійно з підвищенням концентрації антагоніста (див. с. 24). Такі прогнози часто підтверджуються на практиці (рис. 2.5, А), забезпечуючи порівняно простий метод визначення рівноважної



константи дисоціації антагоніста ( $K_B$ ; рис. 2.5, Б). У фармакології можна знайти чимало прикладів конкурентного антагонізму. Подолання блокування антагоністом може бути важливим на практиці, оскільки це дає змогу відновити функціональний ефект агоніста за рахунок збільшення концентрації. Зазвичай блок неможливо подолати за інших типів антагонізму (як детально описано далі).

Відмітні риси конкурентного антагонізму такі:

- зсув логарифмічної кривої «концентрація–ефект» агоніста праворуч без зміни нахилу або максимуму (тобто антагонізм можна подолати збільшенням концентрації агоніста);
- лінійна залежність між співвідношенням дози агоніста та концентрацією антагоніста;
- докази конкуренції, отримані з досліджень зв'язування.

Конкурентний антагонізм – це найбільш прямий механізм, за допомогою якого один лікарський засіб може зменшити дію іншого (або ендогенного медіатора).

▼ Описані вище характеристики оборотного конкурентного антагонізму відображають той факт, що молекули агоністів і конкурентних антагоністів не залишаються зв'язаними з рецептором, а постійно дисоціюють і зв'язуються повторно. Ступінь дисоціації молекул антагоністів є доволі високим, щоб після додавання агоніста швидко встановлювалася нова рівновага. Фактично молекули агоністів здатні замінити молекули антагоністів на рецепторах, коли антагоніст звільняється, хоча, певна річ, вони не можуть витіснити вже зв'язані молекули антагоністів. Витіснення відбувається, оскільки, займаючи частину вакантних рецепторів, агоніст ефективно зменшує ступінь зв'язування молекул антагоніста; отже, ступінь дисоціації тимчасово перевищує ступінь асоціації, і загальна окупація антагоністом знижується.

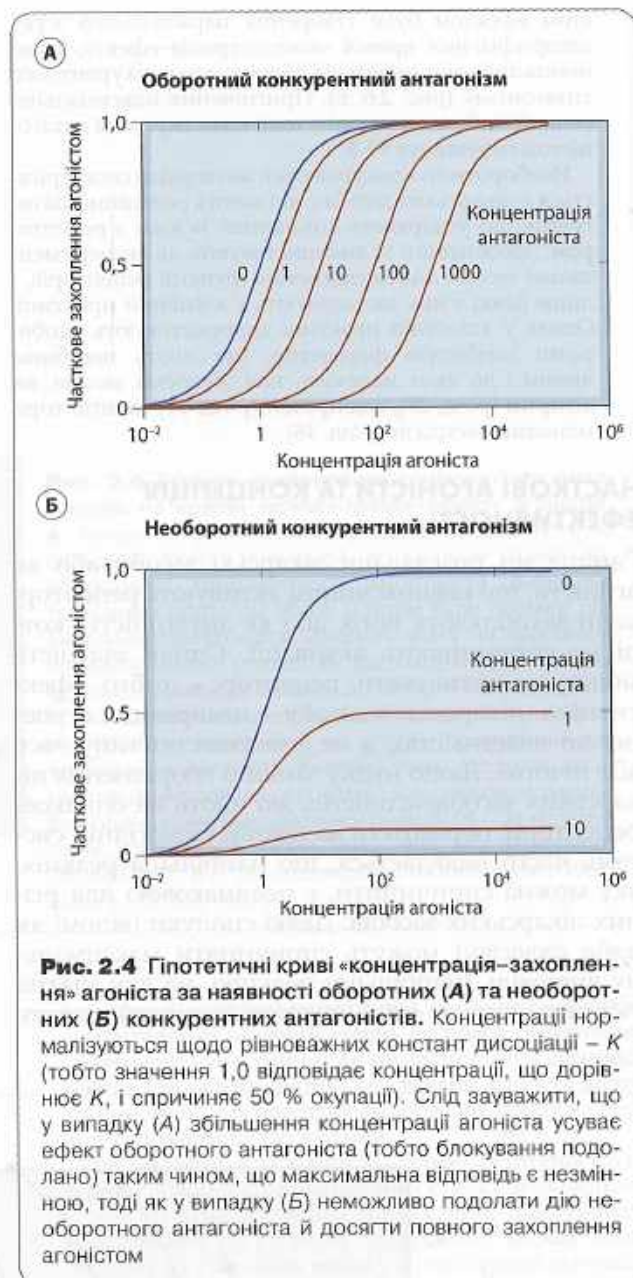
### НЕОБОРОТНИЙ КОНКУРЕНТНИЙ АНТАГОНІЗМ

▼ Явище *необоротного конкурентного* (або *нерівноважного*) антагонізму виникає, коли антагоніст зв'язується з тим самим сайтом на рецепторі, що й агоніст, але дуже повільно або взагалі не дисоціює від рецепторів, унаслідок чого не відбувається жодних змін в окупації антагоністом, коли застосовується агоніст<sup>4</sup>.

Порівняння прогнозованих ефектів оборотних і необоротних антагоністів наведено на рис. 2.4.

У деяких випадках (рис. 2.6, А) теоретичний ефект точно відтворюється зі зменшенням максимальної реакції антагоністом. Однак різниця між оборотним та необоротним конкурентним антагонізмом (або навіть неконкурентним антагонізмом) не завжди є настільки чіткою. Це пов'язано з явищем запасних рецепторів (див. с. 12); якщо окупація агоністом, необхідна для отримання максимальної біологічної відповіді, дуже мала (скажімо, 1 % від загального пулу рецепторів), тоді можна необоротно заблокувати майже 99 % рецепторів без зменшення максимальної відповіді. За меншого ступеня окупації антагоні-

<sup>4</sup> Цей тип антагонізму іноді називають неконкурентним, але такий термін є неоднозначним, і в цьому контексті його краще уникати.



**Рис. 2.4** Гіпотетичні криві «концентрація–захоплення» агоніста за наявності оборотних (А) та необоротних (Б) конкурентних антагоністів. Концентрації нормалізуються щодо рівноважних констант дисоціації –  $K$  (тобто значення 1,0 відповідає концентрації, що дорівнює  $K$ , і спричиняє 50 % окупації). Слід зауважити, що у випадку (А) збільшення концентрації агоніста усуває ефект оборотного антагоніста (тобто блокування подолано) таким чином, що максимальна відповідь є незмінною, тоді як у випадку (Б) неможливо подолати дію необоротного антагоніста й досягти повного захоплення агоністом

### Конкурентний антагонізм

- Оборотний конкурентний антагонізм – найпоширеніший і найважливіший тип антагонізму; він має дві основні характеристики:
  - за наявності антагоніста логарифмічна крива «концентрація–ефект» зміщується праворуч без зміни нахилу або максимуму, ступінь зсуву є мірою співвідношення дози;
  - співвідношення (коефіцієнт) дози зростає лінійно зі збільшенням концентрації антагоніста.
- Спорідненість до антагоністів, виміряну таким чином, широко використовують як основу для класифікації рецепторів.



стом ефектом буде створення паралельного зсуву логарифмічної кривої «концентрація–ефект», який неможливо відрізнити від оборотного конкурентного антагонізму (рис. 2.6, Б). Пригнічення максимальної реакції відбувається лише тоді, коли окупація антагоністом перевищує 99 %.

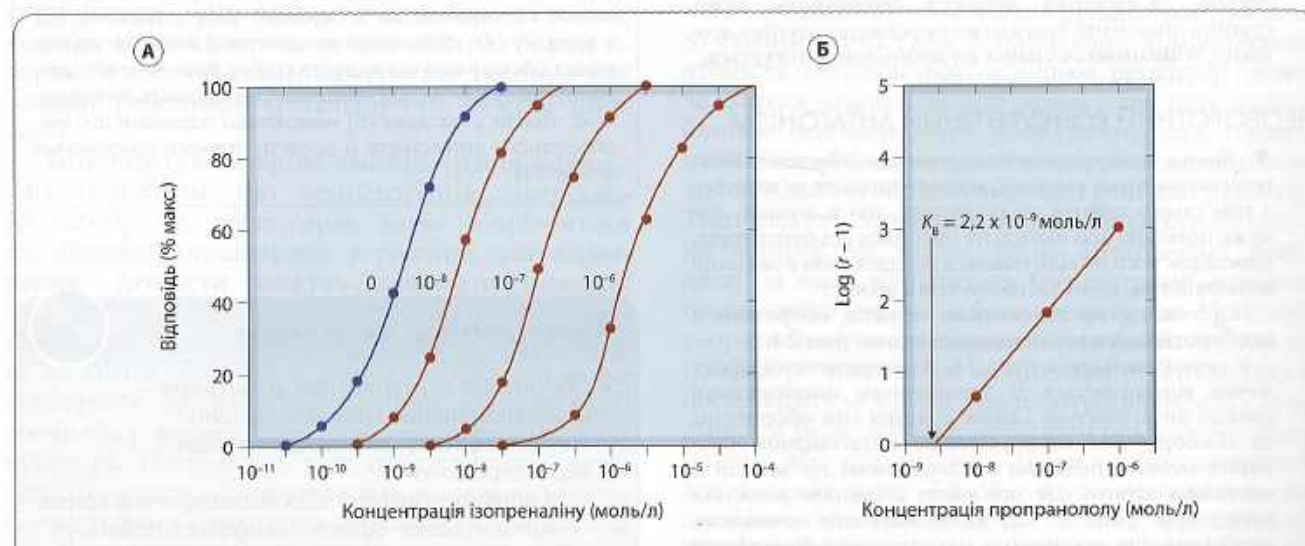
Необоротний конкурентний антагонізм спостерігається в лікарських засобах, які мають реакційноздатні групи, що утворюють ковалентні зв'язки з рецептором. Здебільшого їх використовують як експериментальні засоби для дослідження функцій рецепторів, і лише деякі з них застосовують у клінічній практиці. Однак у клінічній практиці використовують необоротні інгібітори ферментів, що діють подібним чином і до яких належать такі лікарські засоби, як аспірин (розд. 27), омепразол (розд. 31) та інгібітори моноаміноксидази (розд. 48).

### ЧАСТКОВІ АГОНІСТИ ТА КОНЦЕПЦІЯ ЕФЕКТИВНОСТІ

Раніше ми розглядали лікарські засоби або як агоністи, що певним чином активують рецептор, коли захоплюють його, або як антагоністи, котрі не спричиняють активації. Однак здатність молекули активувати рецептор – тобто ефективність лікарського засобу – насправді є ступеневою властивістю, а не властивістю типу «все або нічого». Якщо низку хімічно споріднених лікарських засобів-агоністів, які діють на однакові рецептори, перевіряти на певній біологічній системі, часто виявляється, що найбільша реакція, яку можна спричинити, є неоднаковою для різних лікарських засобів. Деякі сполуки (відомі як *повні агоністи*) можуть спричинити максимальну відповідь (найбільшу реакцію, на яку здатна тканина), тоді як інші (часткові агоністи) можуть

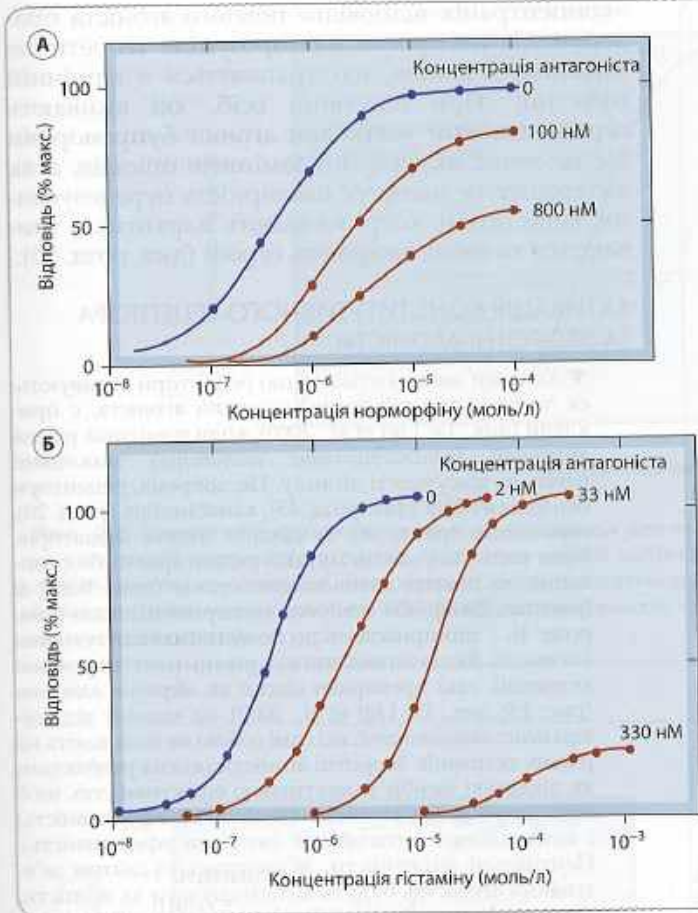
викликати лише субмаксимальну відповідь. На рис. 2.7, А показано криві «концентрація–ефект» для кількох агоністів  $\alpha$ -адренорецепторів (див. розд. 15), які зумовлюють скорочення ізольованих смужок аорти кролика. Повний агоніст **фенілефрин** приводив до максимальної відповіді, на яку здатна тканина; інші сполуки можуть викликати лише субмаксимальну відповідь і є частковими агоністами. Різниця між повними та частковими агоністами полягає у взаємозв'язку між захопленням рецептора та відповіддю. В експерименті, показаному на рис. 2.7, можна було оцінити спорідненість різних лікарських засобів до рецептора, а отже, розрахувати (на основі теоретичної моделі, описаної далі; с. 22) частку зайнятих рецепторів як функцію концентрації лікарського засобу. Графіки відповіді як функції окупації для різних сполук, наведені на рис. 2.7, Б, показують, що для часткових агоністів реакція на встановленому рівні окупації нижча, ніж для повних агоністів. Найслабший частковий агоніст, **толазолін**, приводить до ледь помітної реакції навіть при 100 % окупації, і зазвичай його класифікують як *конкурентний антагоніст* (див. с. 12 та розд. 15).

Ці відмінності можна виразити кількісно через *ефективність* ( $e$ ), параметр, який, за початковим визначенням Стівенсона (Stephenson, 1956), описує «силу» комплексу «агоніст–рецептор» у викликанні реакції тканини. На простій схемі, показаній на рис. 2.1, ефективність описує схильність комплексу «лікарський засіб–рецептор» переходити в активний стан ( $AR^*$ ), а не у стан спокою ( $AR$ ). Лікарський засіб з нульовою



**Рис. 2.5** Конкурентний антагонізм ізопреналіну до пропранололу, виміряний на ізольованих смужках передсердь морських свинок. **А.** Криві «концентрація–ефект» за різних концентрацій пропранололу (зазначено на кривих). Зверніть увагу на поступовий зсув праворуч без зміни нахилу або максимуму. **Б.** Графік за Шильдом (рівняння 2.10). Рівноважна константа дисоціації ( $K_D$ ) для пропранололу визначається за відрізком, що відтинається на осі абсцис,  $2,2 \times 10^{-9}$  моль/л. Зверніть увагу, підрядковий індекс «В», використаний в « $K_D$ », вказує, що рівноважна константа дисоціації є константою антагоніста (позначений як лікарський засіб В), виміряного за наявності агоніста (позначений як лікарський засіб А). (Результати за матеріалами: Potter, L.T., 1967. Uptake of propranolol by isolated guinea pig atria. J. Pharmacol. Exp. Ther. 55, 91–100)





**Рис. 2.6** Ефекти необоротних конкурентних антагоністів на кривій «концентрація–ефект» агоністів.

**А.** Нейрони головного мозку щурів, що реагують на опіодний агоніст норморфін до та після впливу необоротного конкурентного антагоніста  $\beta$ -фунальтрексаміну протягом 30 хв, а потім були промиті для видалення антагоніста. Зверніть увагу на пригнічення максимальної реакції. **Б.** Відповіді клубової кишки морської свинки на гістамін до та після його введення зі збільшенням концентрацій агента, що алкілує рецептор (GD121), протягом 5 хв, а потім промивання для видалення антагоніста. Зверніть увагу, що крива «концентрація–відповідь» спочатку зміщується праворуч без пригнічення максимальної реакції. (А – за матеріалами: Williams, J.T., North, R.A., 1984. *Mol. Pharmacol.* 26, 489–497; Б – за матеріалами: Nickerson, M., 1955. *Nature* 178, 696–697)

ефективністю ( $e = 0$ ) не має схильності активувати рецептори і не спричиняє реакції тканин. Повний агоніст – це лікарський засіб, ефективність<sup>5</sup> якого є достатньою, щоб викликати максимальну відповідь, коли окуповано менше ніж 100 % рецепторів. Частковий агоніст має меншу ефективність, тому 100 % заповнення викликає лише субмаксимальну відповідь.

▼ Згодом було визнано, що ефективність має складові, залежні від лікарських засобів і тканин. Складову, залежну від лікарського засобу, називають *внутрішньою ефективністю*, і вона полягає у здатності молекули лікарського засобу-агоніста активувати рецепторний білок, щойно вона з ним зв'яжеться (див.: Kelly, 2013). Складові ефективності, залежні від тканин, – це кількість рецепторів, які експресує тканина, та ефективність зв'язку між активацією рецептора і вимірюваною реакцією тканини. Кількість експресованих рецепторів особливо актуальна для вивчення рецепторів у рекомбінантних експресійних системах, коли експресія рецепторів часто дуже висока, й агоністи з середньою ефективністю тоді виявляються повними агоністами. У різних типах клітин, що експресують такий самий рецептор, але з різною щільністю, конкретний лікарський засіб із середньою ефективністю в одній тканині може бути повним агоністом (висо-

кий рівень експресії рецепторів), а в інших – частковим агоністом (нижчий рівень експресії рецепторів) і навіть антагоністом (дуже низький рівень експресії рецепторів). Отже, термін «частковий агоніст» застосовний лише для опису дії лікарського засобу на певний тип тканини або клітини.

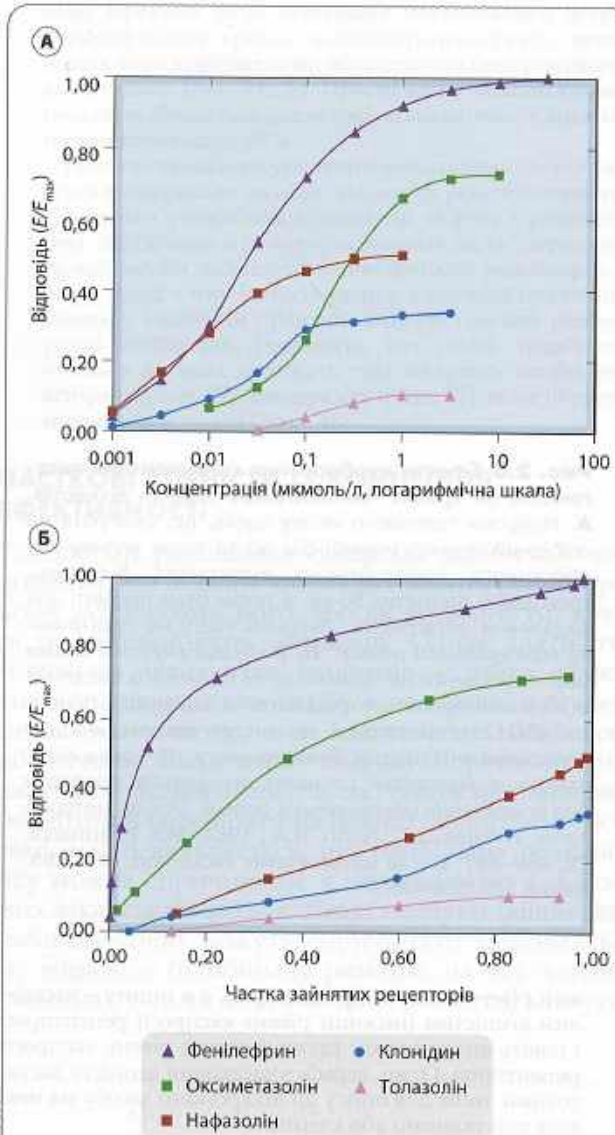
Для рецепторів, зв'язаних з G-білком, рентгеноструктурний аналіз їхніх кристалічних структур (описаний у розд. 3) та застосування молекулярно-динамічного моделювання зв'язування лікарських засобів дали поштовх до з'ясування молекулярної основи активації рецепторів і причини, чому деякі ліганди є агоністами, а деякі є антагоністами. Для студентів, котрі починають вивчати фармакологію, корисним відправним пунктом буде проста теоретична модель з двома станами (дворівнева модель), описана далі.

### ЧАСТКОВІ АГОНІСТИ ЯК АНТАГОНІСТИ

Раніше, обговорюючи ефективність часткових агоністів, ми аналізували ситуацію, коли тканина зазнавала впливу лише одного лікарського засобу – часткового агоніста. Однак ми також маємо розглянути, як частковий агоніст може змінити реакцію тканини на агоніст з вищою ефективністю. На рис. 2.8 показано, що наявність часткового агоніста індукує певний рівень реакції, який залежить від концентрації, застосованої на початку експерименту, але крім того, оскільки частковий агоніст конкурує з повним агоністом за рецептори, він ефективно діє як конкурентний антагоніст, зміщуючи криву

<sup>5</sup> У формулі Стівенсона ефективність – це величина, обернена окупації, потрібна для отримання 50 % максимальної відповіді, отже,  $e = 25$  означає, що 50 % максимальної відповіді досягається при 4 % окупації. Теоретичної верхньої межі ефективності немає.





**Рис. 2.7 Часткові агоністи.** **А.** Логарифмічні криві «концентрація–ефект» для низки агоністів  $\alpha$ -адренорецепторів, що спричиняють скорочення ізольованої смужки аорти кролика. Фенілефрин – повний агоніст. Інші засоби – часткові агоністи з різною ефективністю. Чим нижча ефективність лікарського засобу, тим менша максимальна реакція та нахил логарифмічної кривої «концентрація–відповідь». **Б.** Взаємозв'язок між відповіддю та окупацією рецепторів для низки агоністів. Зверніть увагу, що повний агоніст, фенілефрин, викликає майже максимальну відповідь, коли зайнято лише близько половини рецепторів, тоді як часткові агоністи приводять до субмаксимальної відповіді, навіть у разі захоплення всіх рецепторів. Ефективність толазоліну настільки низька, що його класифікують як антагоніст  $\alpha$ -адренорецепторів (див. розд. 15). У цих експериментах окупацію рецепторів не вимірювали безпосередньо, а розраховували на основі фармакологічних оцінок констант рівноваги лікарських засобів. (Дані за матеріалами: Ruffolo, R.R. Jr, et al., 1979. J. Pharmacol. Exp. Ther. 209, 429–436)

«концентрація–відповідь» повного агоніста пророч. Це не просто малозрозуміле теоретичне питання, а явище, що трапляється в клінічній практиці. При лікуванні осіб, які вживають героїн, слабкий частковий агоніст бупренорфін діє не лише як слабкий замітник опіоїдів, а як антагоніст та зменшує ймовірність передозування, коли особи, котрі вживають наркотики, зриваються та знову вживають героїн (див. розд. 50).

#### АКТИВАЦІЯ КОНСТИТУТИВНОГО РЕЦЕПТОРА ТА ЗВОРОТНІ АГОНІСТИ

▼ Хоча ми звикли думати, що рецептори активуються лише у разі зв'язання молекули агоніста, є приклади (див.: De Ligt et al., 2000), коли помітний рівень активації (конститутивна активація) можливий навіть за відсутності ліганду. Це, зокрема, рецептори бензодіазепінів (див. розд. 45), канабіноїдів (розд. 20), серотоніну (розд. 16) та деяких інших медіаторів. Крім того, виникають мутації рецепторів – або спонтанно, за деяких патологічних станів (див.: Bond & Ijzerman, 2006), або створені експериментально (див. розд. 4), – що приводять до помітної конститутивної активації. Якщо ліганд знижує рівень конститутивної активації, такі препарати відомі як *зворотні агоністи* (рис. 2.9; див.: De Ligt et al., 2000), на відміну від *нейтральних антагоністів*, які самі собою не впливають на рівень активації. Зворотні агоністи можна розглядати як лікарські засоби з негативною ефективністю, щоб відрізнити їх від агоністів (позитивна ефективність) і нейтральних антагоністів (нульова ефективність). Нейтральні антагоністи, зв'язуючись із сайтом зв'язування агоністів, будуть антагонізувати як агоністи, так і зворотні агоністи. Вперше зворотний агонізм спостерігали на рецепторі бензодіазепіну (розд. 45), але такі лікарські засоби є протисудомними, а отже, терапевтично не корисними! Все частіше знаходять нові приклади конститутивно активних рецепторів та зворотних агоністів (здебільшого серед рецепторів, зв'язаних з G-білком). Нещодавно для лікування психозів, пов'язаних із хворобою Паркінсона, було розроблено *пімавансерин*, зворотний агоніст рецептора 5-HT<sub>2A</sub> (див. розд. 41 і 47). Більшість антагоністів рецепторів, застосованих у клінічній практиці, насправді виявляються зворотними агоністами при випробуванні в системах, які демонструють активацію конститутивних рецепторів. Однак більшість рецепторів – наче коті – віддають перевагу неактивному стану, і для них немає практичної різниці між конкурентним антагоністом і зворотним агоністом.

У наступному підрозділі описано просту модель, яка пояснює повний, частковий та зворотний агонізм з погляду відносного афінитету різних лігандів для стану спокою та активованого стану рецептора.

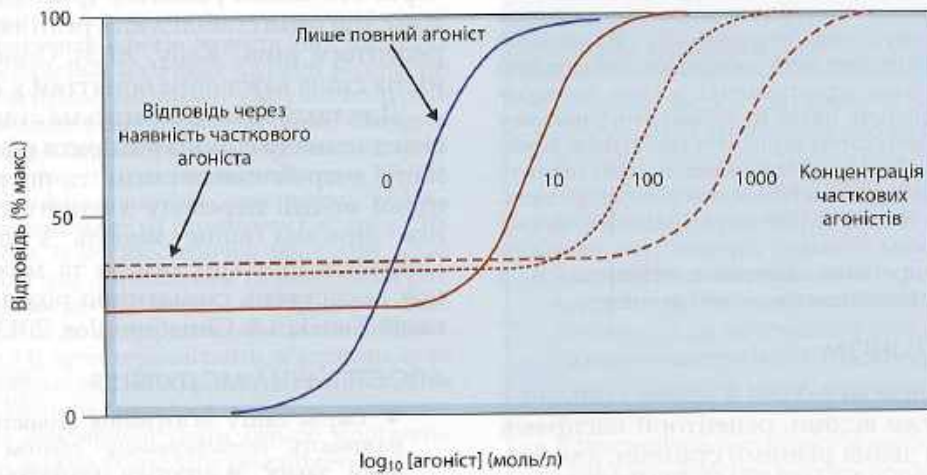
#### Модель рецепторів з двома станами

▼ На рис. 2.1 проілюстровано, що агоністи та антагоністи зв'язуються з рецепторами, але активують їх лише агоністи. Як можна виразити цю різницю та врахувати конститутивну активність теоретично? Модель з двома станами (рис. 2.10) забезпечує простий, але корисний підхід.

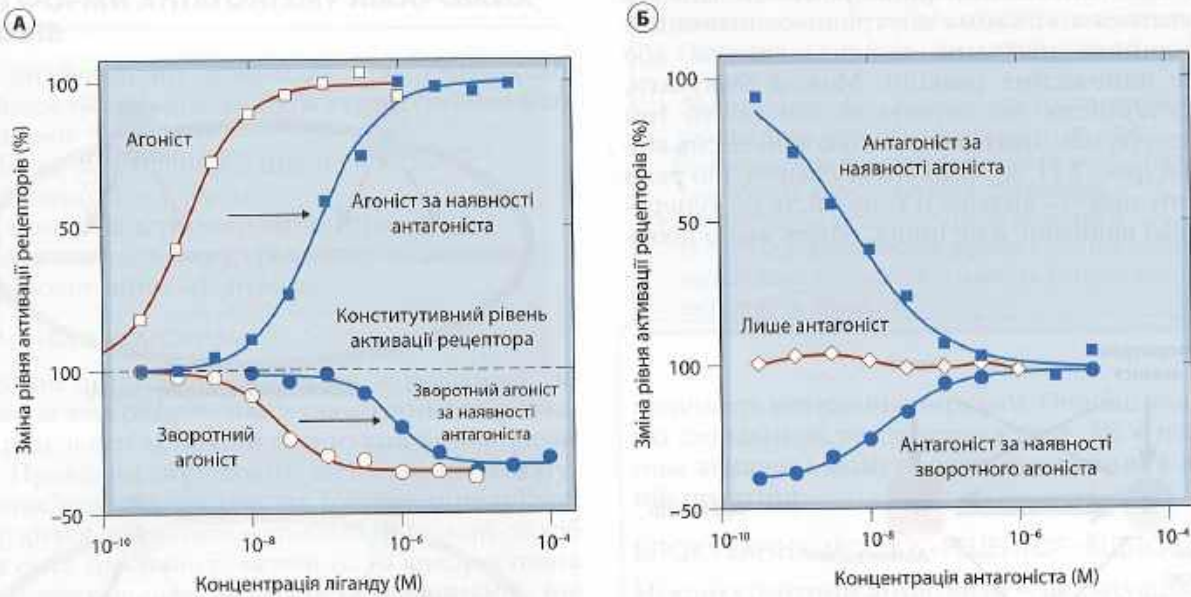
Як показано на рис. 2.1, ми передбачаємо, що зайнятий рецептор може перейти зі стану «спокою» (R) в «активований» стан (R\*), причому R\* сприяє зв'язуванню молекули агоніста, але не антагоніста.

Вище описано, як рецептори можуть проявляти конститутивну активацію (тобто конформація R\* може існувати без зв'язування будь-якого ліганду).





**Рис. 2.8** Гіпотетичні криві «концентрація–відповідь» для повного агоніста за відсутності та наявності зростання концентрацій часткового агоніста. Частковий агоніст матиме агоністичну дію, а отже, початкова реакція зростатиме зі збільшенням концентрації часткового агоніста, досягаючи максимуму, що дорівнює максимальній реакції часткового агоніста. Однак, коли додається повний агоніст за наявності часткового агоніста, його крива «концентрація–відповідь» зміщується праворуч



**Рис. 2.9** Зворотний агонізм. Взаємодія конкурентного антагоніста з нормальним та зворотним агоністами в системі, яка демонструє активацію рецепторів за відсутності доданих лігандів (конститутивна активація). **А.** Ступінь активації рецептора (вертикальна шкала) збільшується за наявності агоніста (порожні квадрати) та зменшується за наявності зворотного агоніста (порожні кола). Додавання конкурентного антагоніста зміщує обидві криві праворуч (заповнені символи). **Б.** Антагоніст сам собою не змінює рівень конститутивної активності (порожні символи), оскільки має однаковий афінитет до активного й неактивного станів рецептора. За наявності агоніста (заповнені квадрати) або зворотного агоніста (заповнені кола) антагоніст відновлює систему в напрямку конститутивного рівня активності. Ці дані (відтворено з дозволу: Newman-Tancredi, A., et al., 1997. Br. J. Pharmacol. 120, 737–739) було отримано за допомогою клонуваних людських рецепторів 5-гідрокситриптаміну (5-НТ), експресованих у клітинній лінії. (Агоніст, 5-карбоксамідотриптамін; зворотний агоніст, спіперон; антагоніст, WAY 100635; концентрація ліганду [M = моль/л]; інформацію щодо фармакології рецепторів 5-НТ наведено в розд. 16)

тому доданий лікарський засіб опиняється перед рівноважною сумішшю R та R\* (див. рис. 2.10). Якщо цей лікарський засіб має вищий афінитет до R\*, ніж до R, то спричинить зміщення рівноваги у бік R\* (тобто сприятиме активації та буде класифікований як

агоніст). Якщо він віддає значну перевагу R, майже всі захоплені рецептори набудуть конформацію R, а лікарський засіб діятиме як повний агоніст; якщо він виявляє лише помірний ступінь селективності щодо R\* (скажімо, у 5–10 разів), то конформацію R\* набуде

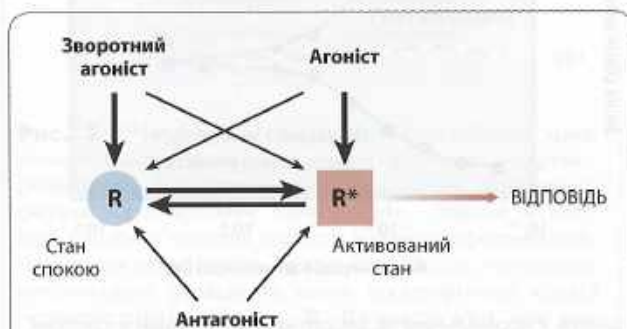


менша частина зайнятих рецепторів, і лікарський засіб буде частковим агоністом; якщо він не віддає перевагу певному стану, рівновагу  $R : R^*$  не буде порушено, і лікарський засіб діятиме як нейтральний антагоніст (нульова ефективність), а коли він виявлятиме селективність щодо  $R$ , то змістить рівновагу в бік  $R$  і буде зворотним агоністом (негативна ефективність). Тому ми можемо вважати ефективність властивістю, що визначається відносною спорідненістю ліганду до  $R$  та  $R^*$ , і таке формулювання, відоме як модель з двома станами, корисне тим, що надає фізичну інтерпретацію значенню ефективності, а також пояснює існування зворотних агоністів.

### ОДНОБІЧНИЙ АГОНІЗМ

Основною проблемою моделі з двома станами є те, що, як нам уже відомо, рецептори насправді не обмежуються двома різними станами, а мають багато більшу конформаційну гнучкість, тому є більше ніж одна неактивна та активна конформація. Різні конформації, які вони здатні набути, можуть бути переважно стабілізовані різними лігандами та чинити неоднакову функціональну дію, активуючи різні шляхи передачі сигналу (див. розд. 3).

Рецептори, які з'єднуються з другими інформаційними системами (див. розд. 3), можуть з'єднуватися з кількома внутрішньоклітинними ефекторними шляхами, викликаючи дві або більше одночасних реакцій. Можна очікувати, що всі агоністи, які активують той самий тип рецепторів, викликатимуть однаковий масив відповідей (рис. 2.11, А). Однак з'ясувалося, що різні агоністи можуть виявляти схильність до генерації однієї відповіді, а не іншої, навіть якщо діють



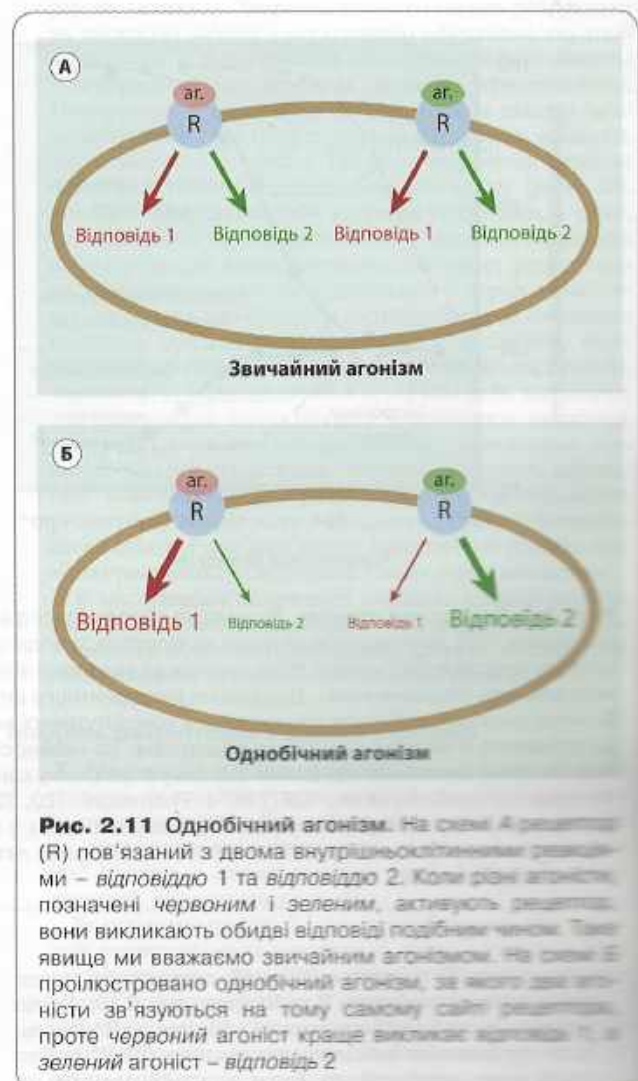
**Рис. 2.10** Модель із двома станами. Рецептор зображено у двох конформаційних станах: *стані спокою* ( $R$ ) та *активованому* ( $R^*$ ), які перебувають у рівновазі. Зазвичай за відсутності ліганду точка рівноваги зміщена далеко ліворуч, а в стані  $R^*$  спостерігають малу кількість рецепторів. Значна частина конститутивно активних рецепторів набуває конформацію  $R^*$  за відсутності будь-якого ліганду. Агоністи мають більший афінитет до  $R^*$ , ніж до  $R$ , тому рівновага зміщується в бік  $R^*$ . Чим більша відносна спорідненість до  $R^*$  порівняно з  $R$ , тим більша ефективність агоніста. Зворотний агоніст має вищий афінитет до  $R$ , ніж до  $R^*$ , і тому зміщує рівновагу ліворуч. Нейтральний антагоніст має однакову спорідненість до  $R$  і  $R^*$ , тому сам собою не впливає на конформаційну рівновагу, а зменшує зв'язування інших лігандів за рахунок конкуренції

через той самий рецептор (рис. 2.11, Б), можливо тому, що вони стабілізують різні активовані стани рецептора (див.: Kelly, 2013). Однобічна дія агоністів стала важливим поняттям у фармакології.

Для такої моделі з багатьма станами повторне визначення та спроба виміряти ефективність агоністів є проблематичними та потребують складнішої моделі переходу з одного стану в інший, ніж описана вище модель з двома станами. Помилки, підводні камені та можливий напрямок досліджень схематично розглянуто у публікації: Kenakin & Christopoulos, 2013.

### АЛОСТЕРИЧНА МОДУЛЯЦІЯ

▼ Окрім сайту зв'язування агоністів (котрий тепер називають *ортостеричним* сайтом зв'язування), з яким також зв'язуються конкурентні антагоністи, рецепторні білки мають багато інших (*алостеричних*) сайтів зв'язування (див. розд. 3), за допомогою яких лікарські засоби можуть впливати на функцію рецепторів у різний спосіб збільшуючи або зменшуючи спорідненість агоністів до сайту зв'язування агоністів, модифікуючи ефективність або викликаючи відповідь (рис. 2.12). Залежно від напрямку дії, ліганди можуть бути алостеричними антагоністами або алостерични-



**Рис. 2.11** Однобічний агонізм. На схемі А рецептор ( $R$ ) пов'язаний з двома внутрішньоклітинними реакціями – *відповіддю 1* та *відповіддю 2*. Коли різні агоністи, позначені червоним і зеленим, активують рецептор, вони викликають обидві відповіді подібним чином. Таке явище ми вважаємо звичайним агонізмом. На схемі Б проілюстровано однобічний агонізм, за якого два агоністи зв'язуються на тому самому сайті рецептора, проте червоний агоніст краще викликає відповідь 1, а зелений агоніст – відповідь 2



ми факторами, що сприяють дії агоніста, й ефект може полягати в зміні нахилу та максимуму логарифмічної кривої «концентрація–ефект» агоніста (див. рис. 2.12). Цей тип алостеричної модуляції функції рецепторів останнім часом привертає чималу увагу та спостерігається у різних типах рецепторів (див. огляд: Changeux & Christopoulos, 2016). Добре відомі приклади алостеричного сприяння – це гліцин на рецепторах NMDA (розд. 39), бензодіазепіни на рецепторах ГАМК<sub>A</sub> (розд. 45) та **синальцев** на рецепторах Ca<sup>2+</sup> (розд. 37). Одна з причин, чому алостерична модуляція може бути важливою для фармаколога та майбутньої розробки лікарських засобів, полягає в тому, що у родин рецепторів, таких як мускаринчутливі холінорецептори (див. розд. 14), ортостеричні сайти зв'язування дуже схожі, а розробка селективних агоністів та антагоністів для окремих підтипів виявилася складним завданням. Є думка, що алостеричні сайти більше відрізнятимуться та що можна розробити рецептор-селективні алостеричні ліганди. Крім того, позитивні алостеричні модулятори чинитимуть дію лише на рецептори, які активуються ендogenousними лігандами, та не впливають на рецептори, що не активуються. Це може забезпечити певний ступінь селективності (наприклад, для посилення опосередкованого ендogenousними опіоїдами інгібування у хребті, див. розд. 43) та зменшення профілю побічної дії.

## ІНШІ ФОРМИ АНТАГОНІЗМУ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Для інгібувальних взаємодій між лікарськими засобами також можуть бути характерними інші механізми.

До найважливіших з них належать:

- хімічний антагонізм;
- фармакокінетичний антагонізм;
- блокування зв'язку «рецептор–відповідь»;
- фізіологічний антагонізм.

### ХІМІЧНИЙ АНТАГОНІЗМ

Хімічний антагонізм стосується незвичайної ситуації, за якої дві речовини поєднуються в розчині; в результаті активний лікарський засіб втрачає дію. Приклади охоплюють застосування хелатувальних агентів (наприклад **димеркапролу**), які зв'язуються з важкими металами й у такий спосіб знижують токсичність останніх, та використання нейтралізувального антигіста **інфліксимабу**, що має протизапальну дію завдяки здатності секвеструвати запальний цитокін – фактор некрозу пухлини (ФНП; див. розд. 19).

### ФАРМАКОКІНЕТИЧНИЙ АНТАГОНІЗМ

Фармакокінетичним антагонізмом називають ситуацію, коли «антагоніст» ефективно знижує концентрацію активного лікарського засобу в місці застосування його дії. Це може відбуватися різними способами. Швидкість метаболічного розпаду активного лікарського засобу можна збільшити (наприклад, для зменшення антикоагулянтної дії **варфарину** вводять засіб, що прискорює його печінковий метаболізм, наприклад **фенітоїн**; див. розд. 10 і 58). Як варіант, можна зменшити швидкість абсорбції активного лікарського засобу з травного тракту або збільшити

## Агоністи, антагоністи та ефективність



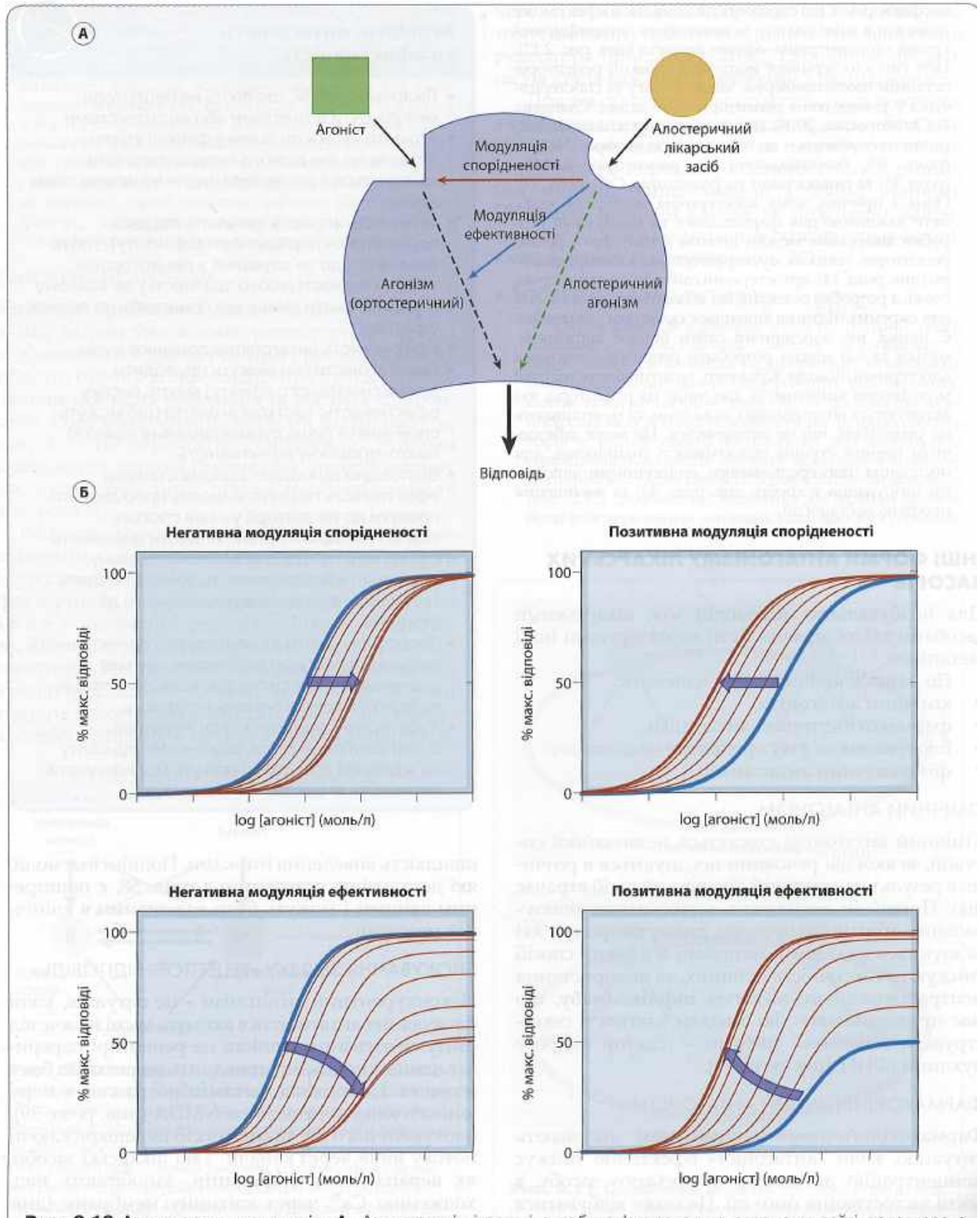
- Лікарські засоби, що діють на рецептори, можуть бути **агоністами** або **антагоністами**.
- Агоністи ініціюють зміни у функції клітин, виявляючи дію різного типу; антагоністи зв'язуються з рецепторами, не ініціюючи таких змін.
- Активність агоніста залежить від двох параметрів: **спорідненості** (афінітету), тобто схильності до зв'язування з рецепторами, та **ефективності** (тобто здатності у зв'язаному стані ініціювати зміни, що приводять до певних ефектів).
- Ефективність антагоністів дорівнює нулю.
- **Повні агоністи** (які можуть приводити до максимального ефекту) мають високу ефективність; **часткові агоністи** (що можуть спричинити лише субмаксимальні ефекти) мають проміжну ефективність.
- Відповідно до моделі з двома станами ефективність показує відносну спорідненість сполуки до рецептора у стані спокою та в активованому стані. Агоністи виявляють селективність щодо активованого стану; антагоністи її не виявляють. Хоча ця модель і корисна, та не враховує складності дії агоністів.
- **Зворотні агоністи** демонструють селективність щодо стану спокою рецептора, що має значення лише в ситуаціях, коли рецептори виявляють **конститутивну активність**.
- **Алостеричні модулятори** зв'язуються із сайтами рецептора, відмінними від сайту зв'язування агоністів, і можуть модифікувати активність агоніста.

швидкість виведення нирками. Подібні взаємодії, які детальніше розглянуто в розд. 58, є поширеним явищем і можуть бути важливими в клінічній практиці.

### БЛОКУВАННЯ ЗВ'ЯЗКУ «РЕЦЕПТОР–ВІДПОВІДЬ»

Неконкурентний антагонізм – це ситуація, коли блокування антагоніста в якомусь місці нижче від сайту зв'язування агоніста на рецепторі перериває ланцюг подій, що приводить до реакції з боку агоніста. Наприклад, **кетамін** потрапляє в пору іонного каналу рецептора NMDA (див. розд. 39), блокуючи його й у такий спосіб перешкоджаючи потоку іонів через канали. Такі лікарські засоби, як **верапаміл** та **ніфедипін**, запобігають надходженню Ca<sup>2+</sup> через клітинну мембрану (див. розд. 23) і, таким чином, неселективно блокують скорочення непосмугованих м'язів, яке спричиняють лікарські засоби, що діють на будь-який рецептор, зв'язаний з цими кальцієвими каналами. Зазвичай ефектом буде зменшення нахилу та максимуму логарифмічної кривої «концентрація–відповідь» агоніста, хоча також цілком можливим є певне зрушення праворуч.





**Рис. 2.12** Алостерична модуляція. **А.** Алостеричні лікарські засоби зв'язуються на окремому сайті рецептора з «традиційними» агоністами (нині їх часто називають «ортостеричними» агоністами). Вони можуть модифікувати активність рецептора, (i) змінюючи спорідненість до агоніста, (ii) змінюючи ефективність агоніста або (iii) безпосередньо самостійно викликаючи відповідь. **Б.** Вплив алостеричних модуляторів, що модифікують спорідненість та ефективність, на криву «концентрація–ефект» агоніста (синя лінія). За наявності алостеричного модулятора крива «концентрація–ефект» агоніста (тепер показана червоним кольором) зміщується у спосіб, що визначається типом алостеричного модулятора, до досягнення максимального ефекту модулятора. (А – адаптовано з дозволу: Conn et al., 2009, Nat. Rev. Drug Discov. 8, 41–54; Б – люб'язно надано: Christopoulos, A.)



## ФІЗІОЛОГІЧНИЙ АНТАГОНІЗМ

Фізіологічний антагонізм – це термін, що використовують у широкому значенні для опису протилежної дії двох лікарських засобів, протилежна дія яких в організмі зазвичай є взаємовиключною. Наприклад, гістамін діє на рецептори парієтальних клітин слизової шлунка, щоб стимулювати секрецію кислоти, тоді як омепразол блокує такий ефект, пригнічуючи протонну помпу; можна сказати, що ці два лікарські засоби діють як фізіологічні антагоністи.

## ДЕСЕНСИБІЛІЗАЦІЯ ТА ПЕРЕНОСИМІСТЬ

Часто дія лікарського засобу поступово зменшується, коли його застосовують постійно або багаторазово. Десенсибілізація та тахіфілаксія – синонімічні терміни, використовувані для опису цього явища, яке часто розвивається протягом кількох хвилин. Терміном «переносимість» зазвичай позначають поступовіше зниження чутливості до лікарського засобу, що розвивається протягом годин, днів або тижнів, але ця різниця не є чіткою. Також іноді вживають термін *рефрактерність* – переважно стосовно втрати терапевтичної ефективності. *Резистентність до лікарського засобу* – це термін, використовуваний для опису втрати ефективності протимікробними або протипухлинними лікарськими засобами (див. розд. 51 і 57). Ці явища може спричинити багато різних механізмів. Серед них:

- зміна рецепторів;
- транслокація рецепторів;
- виснаження медіаторів;
- посилений метаболічний розпад лікарського засобу;
- фізіологічна адаптація;
- активна екструзія лікарського засобу з клітин (здебільшого стосується хіміотерапії раку; див. розд. 57).

## ЗМІНА РЕЦЕПТОРІВ

Десенсибілізація серед рецепторів, безпосередньо зв'язаних з іонними каналами (див. розд. 3), часто буває швидкою та вираженою. На нервово-м'язовому з'єднанні (рис. 2.13, А) десенсибілізований стан спричиняє конформаційна зміна рецептора, що приводить до щільного зв'язування молекули агоніста без відкриття іонного каналу. Фосфорилування внутрішньоклітинних ділянок рецепторного білка є другим, повільнішим механізмом, за допомогою якого десенсибілізуються іонні канали.

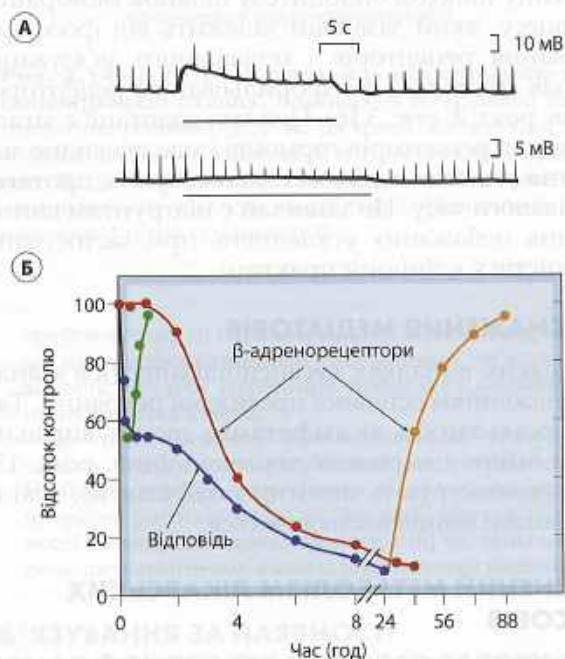
Більшість рецепторів, зв'язаних з G-білками (див. розд. 3), також демонструють десенсибілізацію (рис. 2.13, Б). Фосфорилування рецептора перешкоджає його здатності активувати каскади передавання сигналу, хоча він все ще може зв'язувати молекулу агоніста. Молекулярні механізми такого «роз'єднання» розглянуто далі в розд. 3.

## Види антагонізму лікарських засобів



Антагонізм лікарських засобів виявляється через різноманітні механізми:

- хімічний антагонізм (взаємодія в розчині);
- фармакокінетичний антагонізм (один лікарський засіб впливає на абсорбцію, метаболізм або виведення іншого);
- конкурентний антагонізм (обидва лікарські засоби зв'язуються з однаковими рецепторами); антагонізм може бути оборотним або необоротним;
- переривання зв'язку «рецептор–відповідь»;
- фізіологічний антагонізм (два агенти чинять протилежні фізіологічні ефекти).



**Рис. 2.13** Два види десенсибілізації рецепторів.

**А.** Ацетилхолін (ACh) на руховій кінцевій пластинці жаби. Короткі деполяризації (прогинання вгору) створено короткими імпульсами ACh, що надходить з мікропіпетки. Тривалий імпульс (горизонтальна лінія) приводить до послаблення відповіді впродовж приблизно 20 с унаслідок десенсибілізації, і за аналогічний проміжок часу вона відновлюється. **Б.**  $\beta$ -адренорецептори клітин гліоми щурів у культурі тканин. Ізопротеренол (1 мкмоль/л) додавали в нульовий момент часу, а відповідь аденилілциклази та щільність  $\beta$ -адренорецепторів вимірювали з інтервалами. На ранній стадії роз'єднання відповідь (синя лінія) послаблюється без зміни щільності рецепторів (червона лінія). Пізніше відповідь знижується ще більше одночасно зі зникненням рецепторів з мембрани шляхом інтерналізації. Зелена та помаранчева лінії показують відновлення відповіді та щільності рецепторів після змивання ізопротеренолу на ранній або пізній стадії. (А – взято з: Katz B., Thesleff S., 1957. J. Physiol. 138, 63; Б – з: Perkins, J.P., 1981. Trends Pharmacol. Sci. 2, 326)







рівноважну константу дисоціації ( $K$ ), яка є оберненою величиною константи спорідненості і має одиниці концентрації (моль/л).

Рівноважну константу дисоціації лікарського засобу А ( $K_A$ )<sup>6</sup> можна подати в такому вигляді:

$$K_A = k_{-1}/k_{+1} = x_A(N_{\text{tot}} - N_A)/N_A \quad (2.4)$$

Частка зайнятих рецепторів, або заповнення ( $P_A$ ), становить  $N_A/N_{\text{tot}}$ , що не залежить від  $N_{\text{tot}}$ .

$$P_A = \frac{x_A}{x_A + k_{-1}/k_{+1}} = \frac{x_A}{x_A + K_A} \quad (2.5)$$

Таким чином, якщо відома рівноважна константа дисоціації лікарського засобу, ми можемо розрахувати частку рецепторів, які він займатиме за будь-якої концентрації.

Рівняння (2.5) можна записати так:

$$P_A = \frac{x_A/K_A}{x_A/K_A + 1} \quad (2.6)$$

Цей важливий результат відомий як рівняння Гілла-Ленгмюра<sup>7</sup>.

Рівноважна константа дисоціації,  $K_A$ , є характеристикою лікарського засобу й рецептора; вона вимірюється як концентрація та чисельно дорівнює концентрації лікарського засобу, необхідній для окупації 50 % сайтів у стані рівноваги. (Перевірте за рівнянням (2.5), що коли  $x_A = K_A$ , тоді  $P_A = 0,5$ .) Чим вища спорідненість лікарського засобу до рецепторів, тим меншим буде значення  $K_A$ . Рівняння (2.6) описує взаємозв'язок між окупацією та концентрацією лікарського засобу та формує характерну криву, відому як *рівнобічна гіпербола* (рис. 2.14, А). У фармакологічних роботах часто використовують логарифмічну шкалу концентрації; вона перетворює гіперболу на симетричну S-подібну криву (рис. 2.14, Б).

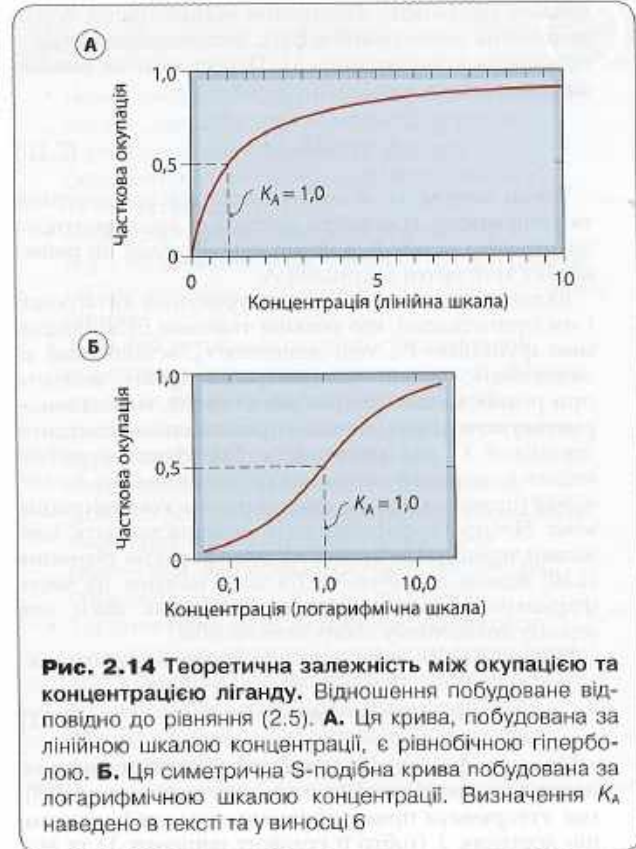
Такий самий підхід застосовують для аналізу даних експериментів, в яких зв'язування лікарських засобів вимірюють безпосередньо (див. с. 10–11, рис. 2.2). У цьому випадку співвідношення між зв'язаною кількістю (В) та концентрацією ліганду ( $x_A$ ) має бути:

$$B = B_{\text{max}}x_A/(x_A + K_A) \quad (2.7)$$

де  $B_{\text{max}}$  – загальна кількість сайтів зв'язування у препараті (часто виражається як пмоль/мг білка). Щоб подати результати в лінійній формі, рівняння (2.6) можна переставити так:

$$B/x_A = B_{\text{max}}/K_A - B/K_A \quad (2.8)$$

Графік  $B/x_A$  проти  $B$  (відомий як *графік Скетчарда*) є прямою лінією, з якої можна оцінити як  $B_{\text{max}}$ , так і  $K_A$ . Статистично така процедура не позбавлена



**Рис. 2.14** Теоретична залежність між окупацією та концентрацією ліганду. Відношення побудоване відповідно до рівняння (2.5). **А.** Ця крива, побудована за лінійною шкалою концентрації, є рівнобічною гіперболою. **Б.** Ця симетрична S-подібна крива побудована за логарифмічною шкалою концентрації. Визначення  $K_A$  наведено в тексті та у виносці Б

проблем, тому ці параметри нині зазвичай оцінюють за нетрансформованими значеннями зв'язування, використовуючи ітераційну процедуру нелінійного припасування кривої.

До цього моменту ми аналізували зв'язування одного ліганду з однорідною популяцією рецепторів. Щоб наблизитись до реальних умов у фармакології, потрібно розглянути (а) те, що відбувається за наявності більше ніж одного ліганду, і (б) те, яким чином реакція тканини пов'язана із захопленням рецепторів.

## ЗВ'ЯЗУВАННЯ ЗА НАЯВНОСТІ ПОНАД ОДНОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

▼ Припустимо, що два лікарські засоби, А й В, які зв'язуються з одним рецептором з рівноважними константами дисоціації  $K_A$  та  $K_B$  відповідно, наявні в концентраціях  $x_A$  і  $x_B$ . Якщо два лікарські засоби конкурують (тобто рецептор може вміщувати не більше одного за раз), то, із застосуванням тих самих міркувань, що й для описаної раніше ситуації з одним лікарським засобом, окупація лікарським засобом А визначається як:

$$P_A = \frac{x_A/K_A}{x_A/K_A + x_B/K_B + 1} \quad (2.9)$$

Порівняння цього результату з рівнянням (2.5) показує, що додавання лікарського засобу В, як очікувалося, зменшує окупацію лікарським засобом А. На рис. 2.4, А (с. 13) передбачувані криві зв'язування для А за наявності концентрацій В, що зростають, демонструють зміщення без будь-якої зміни нахилу або максимуму, що характеризує фармакологічний ефект конкурентного антагоніста (див. рис. 2.5). Ступінь зміщення праворуч на логарифмічній шкалі

<sup>6</sup> Тут і зараз ми використовуємо « $K_A$ », а не просто « $K$ », оскільки в наступному розділі розглядатимемо ситуацію, коли наявні два лікарські засоби, А і В, і там на позначення рівноважних констант дисоціації двох лікарських засобів ми будемо використовувати « $K_A$ » і « $K_B$ ».

<sup>7</sup> Арчібалд Вів'єн Гілл (Archibald Vivian Hill) вперше опублікував його в 1909 р., коли ще був студентом-медиком. Ірвінг Ленгмюр (Irving Langmuir), фізик і хімік, який працював над адсорбцією газів, вивів рівняння самостійно в 1916 р. Згодом обидва стали лауреатами Нобелівської премії. Дондавна рівняння було відоме фармакологам як рівняння Ленгмюра, хоча Гілл заслуговує визнання та згадки.



показує коефіцієнт збільшення концентрацій А для подолання конкуренції з В ( $r_A$ , задане  $x_A'/x_A$ , де  $x_A'$  – підвищена концентрація А). Переставлення рівняння (2.9) показує, що

$$r_A = (x_B/K_B) + 1 \quad (2.10)$$

Таким чином,  $r_A$  залежить лише від концентрації та рівноважної константи дисоціації конкурентного лікарського засобу В, а не від концентрації чи рівноважної константи дисоціації А.

Якщо А – агоніст, а В – конкурентний антагоніст, і ми припускаємо, що реакція тканини буде невідомою функцією  $P_A$ , тоді значення  $r_A$  встановлене за зміщенням кривої «концентрація–ефект» агоніста при різних концентраціях антагоністів, можна використовувати для оцінювання рівноважної константи дисоціації  $K_B$  для антагоніста. Такі фармакологічні оцінки  $r_A$  зазвичай називають *співвідношеннями доз агоністів* (правильніше – співвідношення концентрацій, хоча більшість фармакологів використовують давніший термін). Це просте та дуже корисне рівняння (2.10) відоме як *рівняння Шильда* і назване на честь фармаколога, який вперше застосував його для аналізу антагонізму лікарських засобів.

Рівняння (2.10) логарифмічно можна виразити так:

$$\log(r_A - 1) = \log x_B - \log K_B \quad (2.11)$$

Отже, графік  $\log(r_A - 1)$  проти  $\log x_B$ , який зазвичай називають графіком Шильда (див. раніше рис. 2.5), має утворювати пряму лінію кутовим коефіцієнтом, що дорівнює 1 (тобто її градієнт дорівнює 1) та відрізком, що відтинається на осі абсцис, який дорівнює  $\log K_B$ . Дотримуючись позначень рН та рК, можна виразити активність антагоніста як значення  $pA_2$ ; в умовах конкурентного антагонізму  $pA_2 = -\log K_B$ . Чисельно  $pA_2$  визначається як від'ємний логарифм молярної концентрації антагоніста, необхідної для отримання співвідношення доз агоніста, яке дорівнює 2. Як і при позначенні рН, його основною перевагою є те, що він дає прості числа,  $pA_2$  6,5 еквівалентно  $K_B$   $3,2 \times 10^{-7}$  моль/л.

Для конкурентного антагонізму характеристики  $r$  є такими:

- $r$  залежить лише від концентрації та рівноважної константи дисоціації антагоніста, а не від величини відповіді, обраної як орієнтир для вимірювань (якщо вона є субмаксимальною);
- $r$  не залежить від рівноважної константи дисоціації агоніста;
- $r$  збільшується лінійно з  $x_B$ , а нахил графіка ( $r_A - 1$ ) проти  $x_B$  дорівнює  $1/K_B$ ; цей взаємозв'язок, незалежно від характеристик агоніста, має бути однаковим для антагоніста проти всіх агоністів, які діють на ту саму сукупність рецепторів.

Ці прогнози перевірено для багатьох прикладів конкурентного антагонізму (див. рис. 2.5).

У цьому підрозділі ми уникли надто детального опису та значно спростили теорію. Чим більше ми дізнаємось про фактичні молекулярні подробиці того, як працюють рецептори для досягнення своїх біологічних ефектів (див. розд. 3), тим очевиднішими стають недоліки цього теоретичного підходу. Можна без жодних труднощів застосувати модель з двома станами, але ускладнення виникають, коли ми враховуємо участь G-білків (див. розд. 3) у схемі реакції (оскільки вони зміщують рівновагу між R та R\*) і коли ми вважаємо на той факт, що активація рецепторів не є простим перемикачем, як припускає

### Зв'язування лікарських засобів з рецепторами



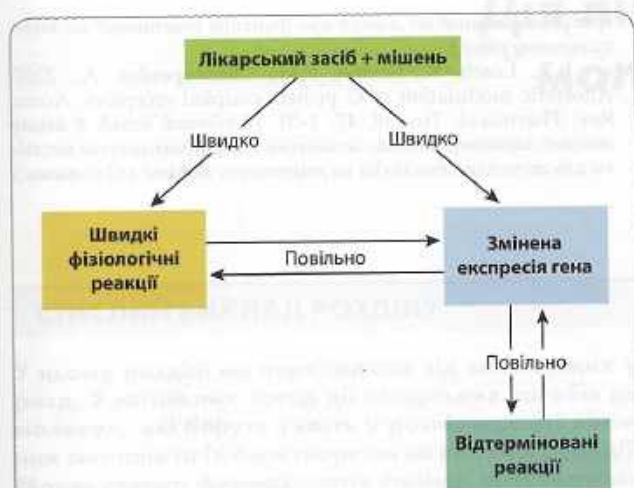
- Зв'язування лікарських засобів з рецепторами обов'язково підпорядковується *закону діючих мас*.
- У рівноважному стані захоплення рецепторів пов'язане з концентрацією лікарських засобів за *рівнянням Гілла–Ленгмюра* (рівняння (2.6)).
- Чим вищий афінітет лікарського засобу до рецептора, тим нижча концентрація, за якої він забезпечує певний рівень окупації.
- Ті самі принципи застосовуються, коли два або більше лікарських засобів конкурують за одні рецептори; кожен з них зменшує видимий афінітет до іншого.

модель з двома станами, а може набувати різних форм. Попри наполегливі зусилля теоретиків, яких вони докладають, щоб врахувати такі можливості, молекули, здається, завжди залишаються на крок попереду. Хай там як, цей тип базової теорії, застосований до моделі з двома станами, залишається корисною основою для розроблення кількісних моделей дії лікарського засобу. Як вступ рекомендуємо книгу Кенакіна (Kenakin, 1997), а в подальшому огляді (Kenakin & Christopoulos, 2011) наведено детальний звіт про значення кількісної оцінки при дослідженні дії лікарських засобів.

### ПРИРОДА ДІЇ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Розглядаючи дію лікарських засобів у цьому розділі, ми зосередилися на швидких наслідках активації рецепторів. Детальну інформацію про рецептори та їхній зв'язок з ефектами на клітинному рівні наведено в розд. 3. Нині ми досить добре розуміємо процеси на цьому рівні. Однак важливо усвідомлювати, особливо розглядаючи лікарські засоби в терапевтичному контексті, що їхній прямиий вплив на клітинні функції загалом приводить до вторинних, уповільнених наслідків, які часто дуже важливі в клінічній ситуації щодо терапевтичної ефективності та побічних реакцій (рис. 2.15). Наприклад, активація серцевих  $\beta$ -адренорецепторів (див. розд. 3 і 22) спричиняє швидкі зміни у функціонуванні серцевого м'яза, а також повільніші (від хвилин до годин) зміни функціонального стану рецепторів (наприклад, десенсибілізацію) й навіть повільніші (від годин до днів) зміни в експресії генів, які спричиняють довгострокові зміни (наприклад, гіпертрофію) в структурі та функції серця. Опіоїди (див. розд. 43) негайно забезпечують безпечний ефект, але через деякий час викликають звикання та залежність, а в деяких випадках і тривалу наркозалежність. У цих та багатьох інших прикладах природа механізму втручання незрозуміла, хоча зазвичай будь-яка довготривала фенотипічна зміна обов'язково передбачає зміни в експресії генів. Лікарські





**Рис. 2.15** Ранні та пізні реакції на лікарські засоби. Багато лікарських засобів діють безпосередньо на мішені (стрілка ліворуч) для забезпечення швидкої фізіологічної реакції. Якщо вона зберігається, ймовірно, це спричинить зміни в експресії генів, що зумовить уповільнення ефектів. Деякі лікарські засоби (стрілка праворуч) чинять основну дію на експресію генів, викликаючи уповільнені фізіологічні реакції. Лікарські засоби також можуть діяти обома шляхами. Зверніть увагу на двонаправлену взаємодію між експресією гена та реакцією

засоби часто використовуються для лікування хронічних захворювань, і розуміння довгострокової та негайної (гострої) дії лікарських засобів набуває все більшого значення. Традиційно

## Дія лікарських засобів

- Лікарські засоби діють переважно на клітинні мішені, що забезпечує ефекти на різних функціональних рівнях (наприклад, біохімічному, клітинному, фізіологічному та структурному).
- Безпосередня дія лікарського засобу на його мішень викликає негайні (гострі) реакції на біохімічному, клітинному або фізіологічному рівнях.
- Тривала активація рецепторів зазвичай призводить до **уповільнених довгострокових ефектів**, таких як десенсибілізація або зниження кількості рецепторів, гіпертрофія, атрофія або перебудова тканин, переносимість, залежність та звикання.
- Довгострокові уповільнені реакції виникають внаслідок змін у експресії генів, хоча механізми, за допомогою яких негайні дії сприяють цьому, часто не визначені.
- Терапевтичні ефекти можуть базуватися на негайних (гострих) реакціях (наприклад, застосування бронхолітичних засобів для лікування бронхіальної астми; розд. 29) або на уповільнених реакціях (наприклад, антидепресанти; розд. 48).

фармакологи зосереджувалися не на відтермінованих ефектах, а на короточасних фізіологічних реакціях, які набагато легше вивчати. Зараз центр уваги явно зміщується.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ТА РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

### Загальні

- Alexander, S.P.H., Kelly, E., Marrion, N., et al., 2015. The Concise Guide to Pharmacology. Br. J. Pharmacol. 172, 5729–6202. (Зведені дані про широкий спектр рецепторів, іонних каналів, транспортерів та ферментів, а також про лікарські засоби, що взаємодіють з ними, – цінні як довідкова інформація.)
- Colquhoun, D., 2006. The quantitative analysis of drug-receptor interactions: a short history. Trends Pharmacol. Sci. 27, 149–157. (Яскравий виклад для тих, хто цікавиться витокami однієї з основних ідей у фармакології.)
- Franks, N.P., 2008. General anaesthesia: from molecular targets to neuronal pathways of sleep and arousal. Nat. Rev. Neurosci. 9, 370–386. (Описано поточне розуміння того, що анестетики загальної дії взаємодіють зі специфічними мембранними білками, а не накопичуються у мембранних ліпідах.)
- Kenakin, T., 1997. Pharmacologic Analysis of Drug-Receptor Interactions, third ed. Lippincott-Raven, New York. (Корисний та детальний підручник, який охоплює більшу частину матеріалу цього розділу.)
- Kenakin, T., Christopoulos, A., 2013. Signalling bias in new drug discovery: detection, quantification and therapeutic impact. Nat. Rev. Drug Discov. 12, 205–216. (Детальний розгляд труднощів у вимірюванні ефективності та однобічної дії агоністів.)
- Neubig, R., Spedding, M., Kenakin, T., Christopoulos, A., 2003. International Union of Pharmacology Committee on receptor nomenclature and drug classification: XXXVIII. Update on terms and symbols in quantitative pharmacology. Pharmacol. Rev. 55, 597–606. (Короткий виклад термінів та символів,

що стосуються фармакологічних рецепторів, затверджених IUPHAR, – корисний як довідкова інформація.)

- Rang, H.P., 2006. The receptor concept: pharmacology's big idea. Br. J. Pharmacol. 147 [Suppl. 1], 9–16. (Короткий огляд походження та статусу концепції рецепторів.)
- Stephenson, R.P., 1956. A modification of receptor theory. Br. J. Pharmacol. 11, 379–393. (Класичний аналіз дії рецепторів, що вводить поняття ефективності.)

### Рецепторні механізми: агоністи та ефективність

- Bond, R.A., Ijzerman, A.P., 2006. Recent developments in constitutive receptor activity and inverse agonism, and their potential for GPCR drug discovery. Trends Pharmacol. Sci. 27, 92–96. (Обговорення патофізіологічних наслідків конститутивної активації рецепторів та терапевтичного потенціалу зворотних агоністів.)
- Changeux, J.P., Christopoulos, A., 2016. Allosteric modulation as a unifying mechanism for receptor function and regulation. Cell 166, 1084–1102. (Розширений огляд, що описує алостеричну модуляцію різних типів рецепторів.)
- De Ligt, R.A.F., Kourounakis, A.P., Ijzerman, A.P., 2000. Inverse agonism at G protein-coupled receptors: (patho)physiological relevance and implications for drug discovery. Br. J. Pharmacol. 130, 1–12. (Корисна оглядова стаття, в якій наведено багато прикладів конститутивно активних рецепторів та зворотних агоністів, а також обговорюється значення цих концепцій для дослідження механізмів захворювання та пошуку нових лікарських засобів.)



- Kelly, E., 2013. Efficacy and ligand bias at the  $\mu$ -opioid receptor. Br. J. Pharmacol. 169, 1430–1446. (Добре написаний звіт про проблеми вимірювання ефективності, а також обговорення зміщеної активності агоністів на важливому рецепторі.)
- Kenakin, T., Christopoulos, A., 2011. Analytical pharmacology: the impact of numbers on pharmacology. Trends Pharmacol. Sci. 32, 189–196. (Теоретичний підхід, автори намагаються

врахувати найновіші знання про функцію рецепторів на молекулярному рівні.)

- May, L.T., Leach, K., Sexton, P.M., Christopoulos, A., 2007. Allosteric modulation of G protein-coupled receptors. Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol. 47, 1–51. (Всебічний огляд, в якому описано характеристики, механізми та фармакологічні наслідки алостеричних взаємодій на рецептори, зв'язані з G-білками.)



Враховуючи найновіші знання про функцію рецепторів на молекулярному рівні, ми можемо краще зрозуміти механізми алостеричної модуляції GPCR. Це дозволяє розробити нові ліки, які можуть бути більш ефективними та менш токсичними. Наприклад, алостеричні модулятори можуть бути використані для лікування захворювань, пов'язаних з порушеннями функції GPCR, таких як депресія, хвороба Альцгеймера та деякі типи раку.

Розуміння механізмів алостеричної модуляції GPCR також має важливе значення для розробки нових препаратів. Наприклад, алостеричні модулятори можуть бути використані для лікування захворювань, пов'язаних з порушеннями функції GPCR, таких як депресія, хвороба Альцгеймера та деякі типи раку.

## СНСОК ВІКОРИСТАНОЇ ТА РОЗРОБЛОВОЇ ДІЯЛЬНОЇ

СНСОК (Система Нормального Стану Організму) є комплексною системою, яка регулює функції організму. Вона складається з різних компонентів, таких як гормони, ферменти та інші біологічні молекули. Ці компоненти взаємодіють між собою, щоб підтримувати стабільний стан організму. Вивчення СНСОК має важливе значення для розуміння механізмів захворювань та розробки нових ліків.

СНСОК регулює функції організму, включаючи метаболізм, імунітет та нервову систему. Вона також впливає на ріст та розвиток організму. Вивчення СНСОК може допомогти нам краще зрозуміти, як організм реагує на стрес та інші фактори навколишнього середовища. Це може допомогти розробити нові ліки, які можуть бути більш ефективними та менш токсичними.

СНСОК також має важливе значення для розробки нових препаратів. Наприклад, розуміння механізмів дії СНСОК може допомогти розробити ліки, які можуть бути більш ефективними та менш токсичними. Це може допомогти лікувати захворювання, пов'язані з порушеннями функції СНСОК, такі як депресія, хвороба Альцгеймера та деякі типи раку.

СНСОК (Система Нормального Стану Організму) є комплексною системою, яка регулює функції організму. Вона складається з різних компонентів, таких як гормони, ферменти та інші біологічні молекули. Ці компоненти взаємодіють між собою, щоб підтримувати стабільний стан організму. Вивчення СНСОК має важливе значення для розуміння механізмів захворювань та розробки нових ліків.

СНСОК регулює функції організму, включаючи метаболізм, імунітет та нервову систему. Вона також впливає на ріст та розвиток організму. Вивчення СНСОК може допомогти нам краще зрозуміти, як організм реагує на стрес та інші фактори навколишнього середовища. Це може допомогти розробити нові ліки, які можуть бути більш ефективними та менш токсичними.

СНСОК також має важливе значення для розробки нових препаратів. Наприклад, розуміння механізмів дії СНСОК може допомогти розробити ліки, які можуть бути більш ефективними та менш токсичними. Це може допомогти лікувати захворювання, пов'язані з порушеннями функції СНСОК, такі як депресія, хвороба Альцгеймера та деякі типи раку.



# Дія лікарських засобів: молекулярні аспекти

3

## СТИСЛИЙ ВИКЛАД РОЗДІЛУ

У цьому розділі ми переходимо від викладених у розд. 2 загальних засад дії лікарських засобів до молекул, які беруть участь у розпізнаванні хімічних сигналів та їх перетворенні на клітинні реакції. Молекулярна фармакологія стрімко просувається вперед, нові знання змінюють наше розуміння дії лікарських засобів та відкривають багато нових терапевтичних можливостей, про які йтиметься в наступних розділах.

Спочатку ми розглянемо типи білків-мішеней, на які діють лікарські засоби. Далі опишемо основні родини рецепторів та іонних каналів. На завершення ми обговоримо різні форми зв'язку «рецептор-ефектор» (механізми передавання сигналу), за допомогою яких рецептори залучені до регуляції функції клітин. Основною темою є взаємозалежність між молекулярною структурою рецептора та його функціональним зв'язком з певним типом ефекторної системи. У наступних двох розділах ми побачимо, як ці молекулярні явища змінюють важливі аспекти функціонування клітин, що є корисною основою для розуміння впливу лікарських засобів на неуразжені живі організми. Ми впевнені, що в найближчому майбутньому фармакологія міцно спиратиметься на досягнення клітинної та молекулярної біології, про які йдеться в цій книзі.

## БІЛКОВІ МІШЕНІ ДЛЯ ДІЇ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Описані в цьому розділі білкові мішені для дії лікарських засобів на клітини ссавців (рис. 3.1) загалом можна поділити на:

- рецептори;
- іонні канали;
- ферменти;
- транспортери (молекули-носії).

Переважає більшість важливих лікарських засобів діють на той чи інший із цих типів білків, хоча є й винятки. Наприклад, **колхіцин**, використовуваний для лікування нападів подагри (розд. 27), взаємодіє зі структурним білком тубуліном, тоді як деякі імуносупресивні засоби (наприклад, **циклоспорин**, розд. 27) зв'язуються з цитозольними білками, відомими як імунофіліни. Також застосовують терапевтичні антитіла, які діють шляхом секвестрування цитокінів (білки-медіатори, що беруть участь у запаленні; див. розд. 5 і 27). Мішенями для хімотерапевтичних

засобів (розд. 51-57), метою яких є придушення вторгнення мікроорганізмів або ракових клітин, є ДНК та складники клітинної стінки, а також інші білки.

## РЕЦЕПТОРИ

Рецептори (див. рис. 3.1, А) – це чутливі елементи в системі хімічного зв'язку, що координують функції та реакції всіх різних клітин організму, при цьому роль хімічних посередників виконують різні гормони та інші медіатори, про які йдеться в розд. 2 нашої книги. Багато терапевтично корисних лікарських засобів діють на рецептори відомих ендогенних медіаторів або як агоністи, або як антагоністи. Здебільшого ендогенний медіатор було відкрито раніше – часто на багато років, – ніж фармакологічно та біохімічно охарактеризовано рецептор. У деяких випадках, наприклад для канабіноїдних та опіїодних рецепторів (див. розд. 20 та 43), ендогенні медіатори виявили пізніше; а для *орфанних рецепторів*, або *рецепторів-«сиріт»* (див. далі), медіатор, якщо він взагалі існує, досі залишається невідомим. Система імунного захисту також використовує набір рецепторів (наприклад, Toll-подібні рецептори), які вміють розпізнавати фрагменти «чужорідних» бактерій та інших інвазивних організмів. Їх розглянуто окремо в розд. 7.

## ІОННІ КАНАЛИ

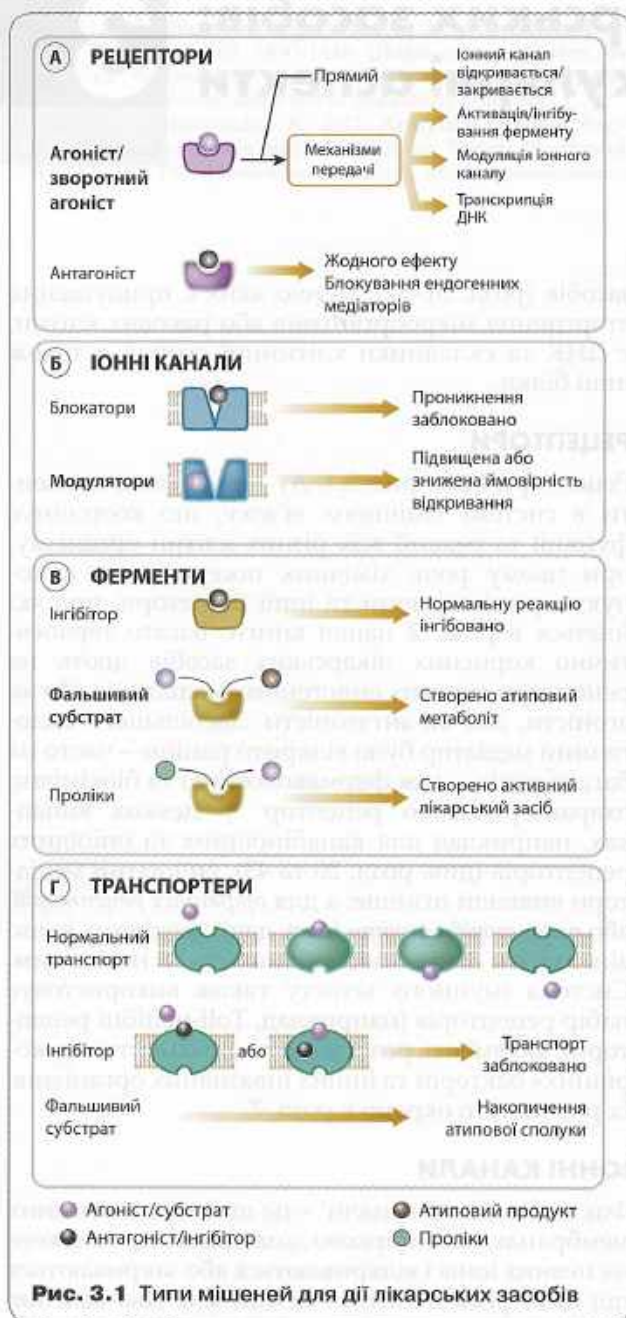
Фактично, іонні канали<sup>1</sup> – це шлюзи в клітинних мембранах, які вибірково дозволяють проходження певних іонів і відкриваються або закриваються під дією різноманітних механізмів. Два важливі типи становлять *лігандкервовані канали* та *потенціалзалежні канали*. Перші відкриваються лише тоді, коли зв'язано одну або кілька молекул агоністів, і відповідно класифікуються як рецептори, оскільки для їх активації потрібне зв'язування агоністів. Керування потенціалзалежними каналами відбувається через зміни у трансмембранному потенціалі, а не зв'язування агоніста.

Загалом, лікарські засоби можуть впливати на функцію іонних каналів кількома способами:

1. Зв'язуючись із самим канальним білком або з лігандзв'язувальним (*ортостеричним*) сайтом лігандкервованих каналів, або з іншими (*алостеричними*) сайтами, або, у найпростішому

<sup>1</sup> «Іонні канали та електричні властивості, які вони надають клітинам, причетні до кожної характеристики людини, яка відрізняє нас від каменя у полі» (Armstrong, C.M., 2003. Voltage-gated K channels. Sci. STKE 188, re10).





випадку, прикладом якого є дія місцевих анестетиків на потенціалзалежний натрієвий канал (див. розд. 44), молекула лікарського засобу фізично закупорює канал (див. рис. 3.1, Б), блокуючи проникнення іонів. До лікарських засобів, які зв'язуються з алостеричними сайтами канального білка і в такий спосіб впливають на ворітний механізм іонних каналів, належать:

- **бензодіазепіни** (див. розд. 45). Ці лікарські засоби зв'язуються з певним сайтом комплексу «рецептор ГАМК<sub>A</sub> – хлорний канал» (лігандкерований канал), який відрізняється від сайту зв'язування ГАМК і сприяє відкриттю каналу гальмівним нейромедіатором ГАМК (див. розд. 39);

- судинорозширювальні засоби типу **дигідропіридину** (див. розд. 23), які інгібують відкриття кальцієвих каналів L-типу (див. розд. 4).

2. Шляхом непрямої взаємодії за участю активованої субодиниці G-білка або іншого посередника (див. с. 40).
3. Змінюючи рівень експресії іонних каналів на поверхні клітини. Наприклад, **габапентин** зменшує введення нейрональних кальцієвих каналів у плазматичну мембрану (розд. 46).

Короткий опис різних родин іонних каналів та їхніх функцій наведено в наступних розділах.

## ФЕРМЕНТИ

Мішенями багатьох лікарських засобів є ферменти (див. рис. 3.1, В). Часто молекула лікарського засобу є аналогом субстрату, котрий діє як конкурентний інгібітор ферменту (наприклад **каптоприл**, що впливає на ангіотензинперетворювальний фермент; розд. 23); в інших випадках зв'язування є незворотним і неконкурентним (наприклад **аспірин**, який діє на циклооксигеназу; розд. 27). Також лікарські засоби можуть діяти як фальшиві субстрати, коли молекула лікарського засобу зазнає хімічного перетворення, утворюючи аномальний продукт, який порушує нормальний метаболічний шлях. Прикладом є протипухлинний засіб **фторурацил**, що замінює урацил як проміжний продукт у біосинтезі пуринів, але не може перетворитися на тимідилат, блокуючи таким чином синтез ДНК і запобігаючи діленню клітин (розд. 57).

Також слід зазначити, що лікарські засоби можуть потребувати ферментативного розпаду для перетворення з неактивної форми, проліків (див. розд. 10), на активну форму (наприклад **еналаприл** перетворюється естеразами на еналаприлат, який інгібує ангіотензинперетворювальний фермент). Крім того, як показано в розд. 58, токсичність лікарських засобів часто виникає внаслідок ферментативного перетворення молекули лікарського засобу на реактивний метаболіт. Саме таким чином **парацетамол** (див. розд. 27) спричиняє ураження печінки. З погляду первинної дії лікарського засобу, це небажана побічна реакція, але вона має чимале практичне значення.

## ТРАНСПОРТЕРИ

Рух іонів та малих полярних органічних молекул через клітинні мембрани зазвичай відбувається або через канали, або за допомогою транспортного білка (див. рис. 3.1, Г), оскільки молекули, які проникають, часто недостатньо розчинні в ліпідах, щоб самостійно проникнути в ліпідні мембрани. Таких транспортерів відомо багато; особливе фармакологічне значення мають ті, що відповідають за транспорт іонів та багатьох органічних молекул через ниркові каналці,



кишковий епітелій та гематоенцефалічний бар'єр, транспорт  $\text{Na}^+$  та  $\text{Ca}^{2+}$  з клітин, поглинання попередників нейромедіаторів (таких як холін) або самих нейромедіаторів (таких як аміни та амінокислоти) нервовими закінченнями, а також транспорт молекул лікарських засобів та їхніх метаболітів через клітинні мембрани та епітеліальні бар'єри. У наступних розділах часто йтиметься про транспортери.

У багатьох випадках гідроліз АТФ забезпечує енергію для транспорту речовин всупереч їхньому електрохімічному градієнту. Такі транспортні білки містять чіткий сайт зв'язування АТФ, і їх називають транспортерами АВС (англ. ATP-Binding Cassette – АТФ-зв'язувальні касетні транспортери). Важливими прикладами є натрієвий насос ( $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -АТФаза; див. розд. 4) та *мультирезистентні* (англ. multidrug resistance, MDR) транспортери, що витісняють цитотоксичні лікарські засоби з ракових та мікробних клітин, надаючи стійкість таким терапевтичним засобам (див. розд. 57). В інших випадках, включно з нейромедіаторними транспортерами, транспорт органічних молекул поєднаний з транспортом іонів (звичай  $\text{Na}^+$ ) або в одному напрямку (*симпорт*), або в протилежному напрямку (*антипорт*), і тому покладається на електрохімічний градієнт для  $\text{Na}^+$ , що генерує натрієвий насос, керований АТФ. Білки-носії містять сайт розпізнавання, що робить їх специфічними для конкретних сполук, що проникають, і такі сайти розпізнавання також можуть бути мішенями для лікарських засобів, дія яких передбачає блокування транспортної системи (наприклад, кокаїн блокує поглинання моноамінового нейромедіатора в нервових закінченнях; див. розд. 49).

Усе більше визнається важлива роль транспортерів як джерела індивідуальних змін у фармакокінетичних характеристиках різних лікарських засобів (див. розд. 11).

## РЕЦЕПТОРНІ БІЛКИ

### КЛОНУВАННЯ РЕЦЕПТОРІВ

У 1970-х роках фармакологія увійшла в новий період, коли рецептори, які до того часу були теоретичними одиницями, почали ставати біохімічними сутностями завдяки розвитку методів маркування рецепторів (див. розд. 2), що дало змогу витягти та очистити рецепторний матеріал.

Виділення та очищення рецепторних білків уможливило аналіз амінокислотної послідовності короткого відрізка, що дало змогу вирахувати відповідну базову послідовність мРНК та виділити повнорозмірну ДНК звичайними методами клонування, починаючи з бібліотеки кДНК, отриманої з тканинного джерела, багатого на рецептор, що становив інтерес. Перші клони рецепторів отримали саме таким чином, але згодом широко застосування набули експресійне клонування

та (із секвенуванням усього генома різних видів, у тому числі людини) стратегії клонування на основі гомологій послідовностей, які не потребують попереднього виділення та очищення рецепторного білка, й дотепер уже клоновано кілька сотень рецепторів усіх чотирьох структурних родин (див. рис. 3.3). Отримані таким чином дані послідовностей ідентифікували багато молекулярних варіантів (підтипів) відомих рецепторів, які не було виявлено в результаті фармакологічних досліджень (див.: IUPHAR/BPS, Guide to Pharmacology). Про фармакологічне, функціональне та клінічне значення цього поширеного молекулярного поліморфізму ще багато чого належить відкрити. Однак очікується, що такими варіаціями буде пояснено частину мінливості реакцій людей на терапевтичні засоби (див. розд. 12).

Для багатьох нових рецепторів, ідентифікованих завдяки клонуванню генів досі невідомі ендогенні ліганди, тому їх описують як орфанні рецептори, або рецептори-«сироти»<sup>2</sup>. Ідентифікація лігандів для цих передбачуваних рецепторів часто видається складним завданням. Усе частіше трапляються приклади (на зразок рецепторів вільних жирних кислот), коли важливі ендогенні ліганди виявляються зв'язаними з рецепторами, які дотепер вважали орфанними. Є надія, що нові терапевтичні засоби з'являться завдяки націленню саме на цей пул «незайнятих» рецепторів.

Багато інформації було отримано через введення клонованої ДНК, яка кодує окремі рецептори, в клітинні лінії, що створило клітини, які експресують чужорідні рецептори у функціональній формі. Такі штучно створені клітини дають змогу набагато точніше контролювати експресовані рецептори, ніж це можливо для природних клітин або неушкоджених тканин, і цю методику широко використовують для вивчення зв'язування та фармакологічних характеристик клонованих рецепторів. Таким чином можна вивчати експресовані рецептори людини, які часто відрізняються своєю послідовністю та фармакологічними властивостями від тваринних аналогів.

Отримання кристалів білка дає змогу аналізувати його структуру з дуже високою роздільною здатністю методами рентгеноструктурного аналізу, але, на жаль, оскільки багато рецепторів за звичайних умов вбудовані в мембранний ліпід, донедавна їх було складно кристалізувати. Значна частина отриманої інформації стосується того, як ліганди зв'язуються з рецепторами, але нині ми починаємо більше дізнаватися про індуковані

<sup>2</sup> Дивний дікенсовський термін, що видається непристойно поблажливим. Оскільки ми можемо припустити, що ці рецептори відіграють визначені ролі у фізіологічній передачі сигналів, їхнє «сирітство» показує наше невігластво, а не їхній статус. Більше інформації про орфанні рецептори можна знайти за посиланням: [www.guidetopharmacology.org/GRAC/FamilyDisplayForward?familyId=115#16](http://www.guidetopharmacology.org/GRAC/FamilyDisplayForward?familyId=115#16).



агоністами конформаційні зміни рецепторів та про те, як ініціюється передавання сигналів.

Тепер, коли гени чітко ідентифіковані, акцент змістився на фармакологічну характеристику рецепторів та визначення їхніх молекулярних характеристик і фізіологічних функцій.

## ВИДИ РЕЦЕПТОРІВ

Рецептори виявляють багато різних типів клітинних ефектів. Деякі з них дуже швидкі, наприклад ті, що беруть участь у швидкій синаптичній передачі, діючи протягом мілісекунд, тоді як інші опосередковані рецепторами ефекти, зокрема багато з тих, що виробляються гормоном щитоподібної залози або різними стероїдними гормонами, виникають протягом годин або днів. Є багато проміжних прикладів часових меж – наприклад, катехоламіни зазвичай діють за лічені секунди, тоді як для ефектів багатьох пептидів потрібно доволі багато часу. Не дивно, що тут задіяно різні типи зв'язку між окупацією рецептора та наступною реакцією. За молекулярною структурою та характером цього зв'язку (механізм трансдукції) можна розрізнити чотири типи, або надродини, рецепторів (рис. 3.2 і 3.3; табл. 3.1).

- 1-й тип: **лігандкеровані іонні канали** (також відомі як іонотропні рецептори<sup>3</sup>). Ланцюг відкриттів, що завершується молекулярною характеристикою цих рецепторів, описано у публікації: Halliwell, 2007. Зазвичай це рецептори, на які діють швидкі нейромедіатори (див. табл. 3.1).
- 2-й тип: **рецептори, зв'язані з G-білком** (англ. G protein-coupled receptor, GPCR), також відомі як **метаботропні рецептори**, або **7-трансмембранні (7-TM, серпентини або семиспиральні) рецептори**. Це мембранні рецептори, зв'язані з внутрішньоклітинними ефекторними системами переважно за допомогою G-білка (див. с. 37). Вони утворюють найбільшу родину<sup>4</sup> та включають рецептори багатьох гормонів та повільні медіатори (табл. 3.1).
- 3-й тип: **кіназа-зв'язані та споріднені рецептори**. Це велика й неоднорідна група мембранних рецепторів, що реагують здебільшого на білкові медіатори. Вони містять позаклітинний лігандзв'язувальний домен, сполучений з внутрішньоклітинним доменом єдиною трансмембранною спіраллю. У багатьох випадках внутрішньоклітинний домен

має ферментативну природу (з активністю протеїнкінази або гуанілатциклази). Деяким бракує ферментативної активності, але вони зв'язуються з внутрішньоклітинними ефекторними ферментами через зв'язування адаптерних білків. Прикладом цих останніх типів рецепторів є рецептори цитокінів (наприклад, рецептори фактора некрозу пухлини [ФНП]) та рецептори розпізнавання патерну (РРП), які розпізнають патоген-асоційовані молекулярні патерни (ПАМП) або «дистрес-асоційовані молекулярні патерни» (ДАМП), виявлені в патогенах, що стимулюють вроджену захисну мережу імунної системи (див. розд. 7). До РРП належать Toll-подібні рецептори (англ. Toll-like receptors, TLR) на клітинній поверхні та цитоплазматичні рецептори, такі як RIG-I-подібні рецептори (англ. RIG-I-like receptor, RLR) та NOD-подібні рецептори (англ. NOD-like receptors, NLR). Сигналізація про внутрішньоклітинні ефекти всіх цих імунних рецепторів відбувається за допомогою адаптерних білків і кіназ, щоб змінити транскрипцію клітини та викликати правильну імунну відповідь, необхідну для боротьби з будь-якими патогенними збудниками.

- 4-й тип: **ядерні рецептори**. Це рецептори, що регулюють транскрипцію генів<sup>5</sup>. Рецептори цього типу також розпізнають багато чужорідних молекул, індуюючи експресію ферментів, які їх метаболізують.

## МОЛЕКУЛЯРНА СТРУКТУРА РЕЦЕПТОРІВ

Молекулярну організацію типових членів кожної з цих чотирьох надродин рецепторів показано на рис. 3.3. Хоча окремі рецептори демонструють значну різницю послідовностей у певних ділянках, а довжина основних внутрішньоклітинних і позаклітинних доменів також варіює в межах однієї родини, загальні структурні закономірності та пов'язані шляхи передавання сигналу дуже подібні. Усвідомлення того, що лише чотири основні надродини рецепторів забезпечують міцну основу для інтерпретації складного масиву інформації про ефекти великої частини досліджених лікарських засобів, стало однією з найбільш підбадьорливих подій у сучасній фармакології.

## ГЕТЕРОГЕННІСТЬ ТА ПІДТИПИ РЕЦЕПТОРІВ

Зазвичай у межах певної родини рецепторів є кілька різновидів, або підтипів, молекул з певною архітектурою, але суттєвими відмінностями в послідовностях і часто у фармакологічних властивостях<sup>6</sup>. Нікотинчутливі холінорецептори

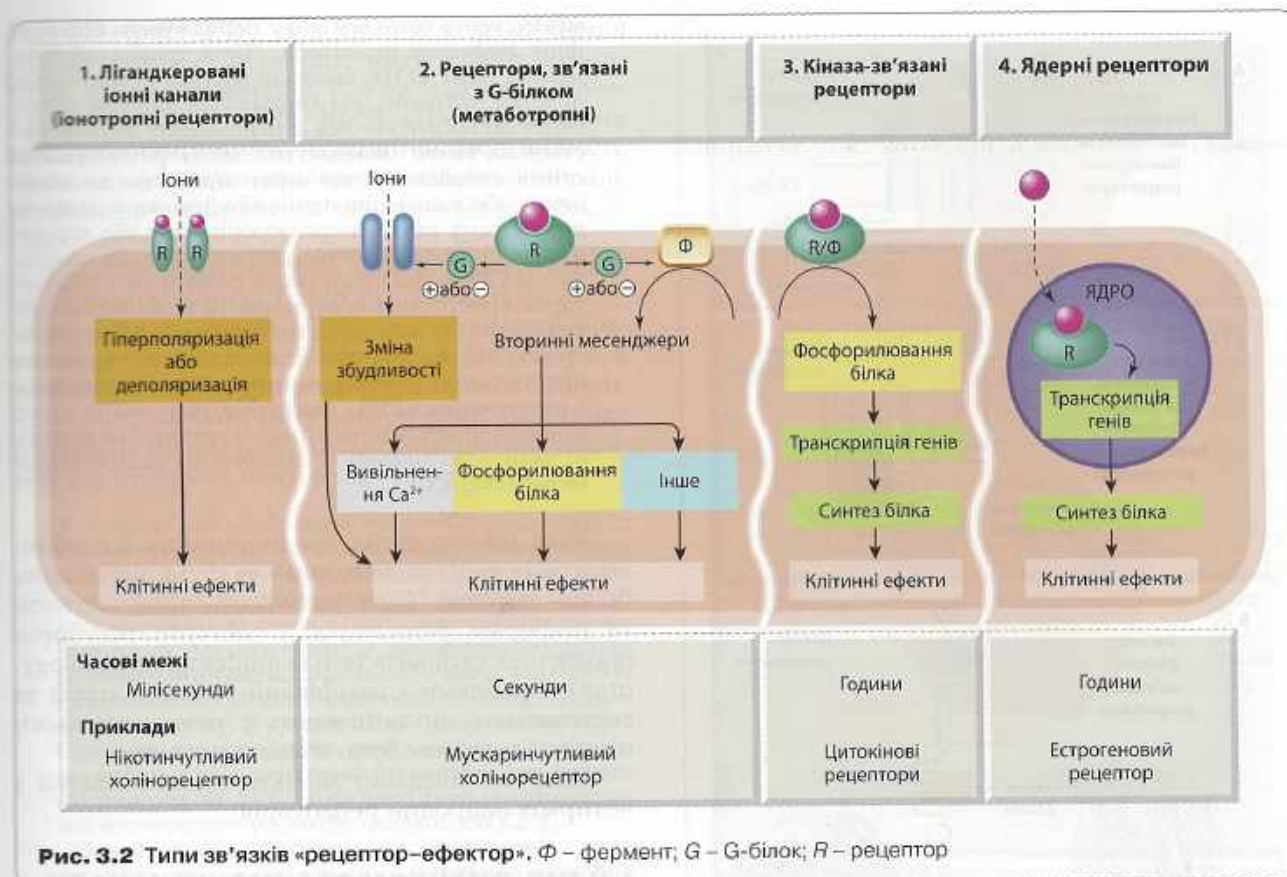
<sup>3</sup> Тут, зосереджуючись на рецепторах, ми розглядаємо лігандкеровані іонні канали як приклад родини рецепторів. Інші типи іонних каналів описано далі (с. 54); багато з них також є мішенями для лікарських засобів, хоча й не є рецепторами в суворому розумінні.

<sup>4</sup> Існує 865 GPCR людини, що становлять 1,6 % генома (Fredriksson & Schiöth, 2005). Вважають, що близько 500 з них є одорантними рецепторами, які беруть участь у відчуттях запаху та смаку, решта – рецепторами відомих або невідомих ендогенних медіаторів – достатня кількість для того, щоб забезпечити фармакологів роботою ще на деякий час.

<sup>5</sup> Термін «ядерний рецептор» є дещо некоректним, оскільки деякі з них фактично розташовані в цитозолі й мігрують у ядерний компартмент за наявності ліганду.

<sup>6</sup> Рецептори 5-гідрокситриптаміну (див. розд. 16) на сьогодні є чемпіонами з різноманітності, маючи 13 підтипів GPCR та 1 лігандкерований іонний канал, що відповідають на той самий ендогенний ліганд.





Таблиця 3.1 Чотири основні типи рецепторів

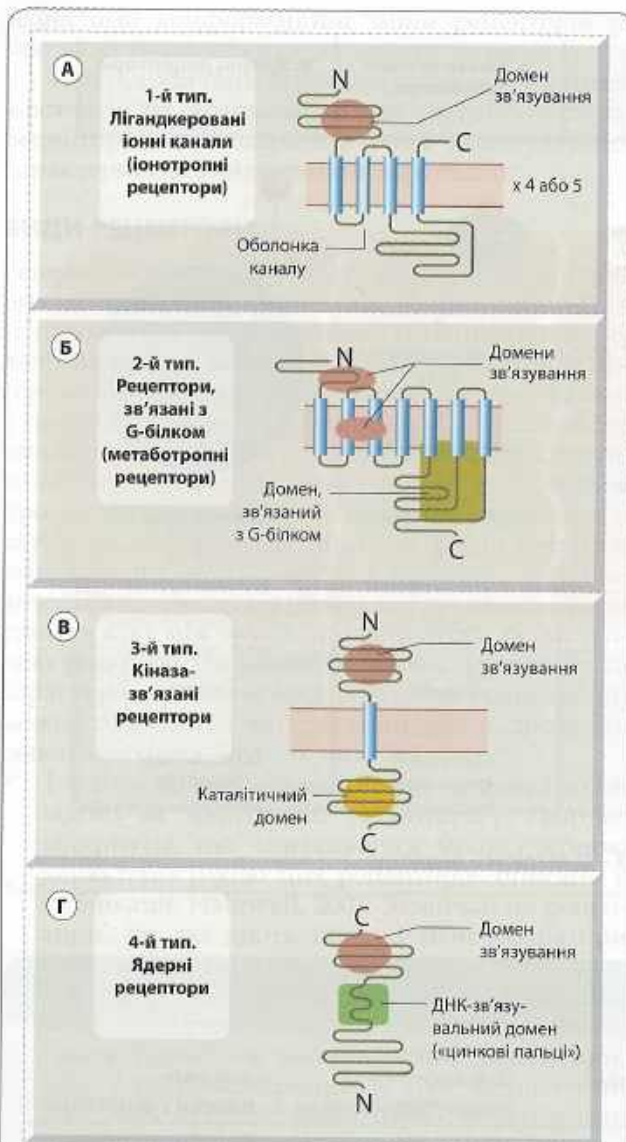
	1-й тип: лігандкеровані іонні канали	2-й тип: рецептори, зв'язані з G-білком	3-й тип: рецепторні кінази	4-й тип: ядерні рецептори
<b>Місце розташування</b>	Мембрана	Мембрана	Мембрана	Внутрішньоклітинний простір
<b>Ефектор</b>	Іонний канал	Канал або фермент	Протеїнкінази	Транскрипція генів
<b>Зв'язок</b>	Прямий	G-білок або арестин	Прямий	Через ДНК
<b>Приклади</b>	Нікотинчутливий холінорецептор, рецептор ГАМК <sub>A</sub>	Мускаринчутливий холінорецептор, адренорецептори	Інсулін, фактори росту, рецептори цитокінів	Стероїдні рецептори
<b>Структура</b>	Олігомерне складання субодиниць, що оточують центральну пору	Мономерне або олігомерне складання субодиниць, що містить сім трансмембранних спіралей з внутрішньоклітинним доменом, зв'язаним з G-білком	Одинарна трансмембранна спіраль, що пов'язує домен позаклітинного рецептора з доменом внутрішньоклітинної кінази	Мономерна структура з рецепторними та ДНК-зв'язувальними доменами

є типовими в цьому сенсі; різні підтипи локалізуються в різних ділянках мозку (див. табл. 40.2) і відрізняються від м'язових рецепторів. Деякі з відомих фармакологічних відмінностей (наприклад чутливість до блокувальних агентів) між м'язовими та мозковими рецепторами ацетилхоліну корелюють зі специфічними відмінностями в послідовності; однак, наскільки нам відомо, всі нікотинчутливі холінорецептори реагують на

той самий фізіологічний медіатор і мають однакову синаптичну відповідь, тому розвиток такої значної кількості варіантів досі залишається загадкою.

▼ Більша частина варіацій послідовностей, що лежить в основі різноманітності рецепторів, виникає на геномному рівні, тобто різні гени породжують неоднакові підтипи рецепторів. Додаткові зміни виникають внаслідок альтернативного сплайсингу





**Рис. 3.3** Загальна структура чотирьох родин рецепторів. Прямокутні сегменти представляють гідрофобні  $\alpha$ -спірально ділянки білка, що містять приблизно 20 амінокислот, які утворюють трансмембранні домени рецепторів. Затінені рожевим зони ілюструють ділянку ортостеричних лігандзв'язувальних доменів. **А.** 1-й тип: лігандкеровані іонні канали (іонотропні рецептори). Структуру субодиниці нікотинчутливого холінорецептора. Структуру субодиниць інших лігандкерованих іонних каналів показано на рис. 3.5. Багато лігандкерованих іонних каналів містять чотири або п'ять субодиниць показаного типу, весь комплекс містить 16–20 трансмембранних сегментів, що оточують центральний іонний канал. **Б.** 2-й тип: рецептори, зв'язані з G-білком (GPCR). Два показані лігандзв'язувальні домени ілюструють положення ортостеричних лігандзв'язувальних доменів на різних типах GPCR, на кожному GPCR має бути лише один такий домен. **В.** 3-й тип: зв'язані з кіназою рецептори. Як видно, більшість рецепторів фактора росту містять лігандзв'язувальний та ферментативний (кіназний) домени в тій самій молекулі, тоді як рецептори цитокінів не мають внутрішньоклітинного домену для кінази, але пов'язані з молекулами цитозольної кінази. Також існують й інші структурні варіанти. **Г.** 4-й тип: ядерні рецептори, які контролюють транскрипцію генів

мРНК, тобто один ген може породжувати більш як одну ізоформу рецептора. Після трансляції з геномної ДНК мРНК зазвичай містить некодувальні ділянки (інтрони), які вирізаються шляхом сплайсингу мРНК, перш ніж повідомлення перетворюється на білок. Залежно від місця розташування сайтів сплайсингу, він може привести до включення або видалення однієї або декількох ділянок, що кодують мРНК, породжуючи довгі або короткі форми білка. Це важливе джерело варіацій, особливо для GPCR, що продукують рецептори з різними характеристиками зв'язування та механізмами передавання сигналу, хоча його фармакологічну важливість ще належить з'ясувати. Іншим процесом продукування різних рецепторів з того самого гена, є редагування мРНК, яке передбачає заміну однієї основи в мРНК іншою, а отже, й потенційно незначні зміни в послідовності амінокислот експресованого рецептора.

Така молекулярна неоднорідність є особливістю всіх видів рецепторів – та функціональних білків загалом. Досі виявляють нові підтипи та ізоформи рецепторів, і доступні регулярні оновлення каталогів ([www.guidetopharmacology.org/](http://www.guidetopharmacology.org/)). Проблеми класифікації, номенклатури та систематики, що виникають у результаті цього потоку даних, вже було згадано раніше.

Далі ми опишемо характеристики кожної з чотирьох надродин рецепторів.

### 1-Й ТИП: ЛІГАНДКЕРОВАНІ ІОННІ КАНАЛИ

Нікотинчутливий холінорецептор, який локалізується в скелетному нервово-м'язовому з'єднанні (розд. 14), у вегетативних гангліях (розд. 14) та в мозку (розд. 40), є типовим прикладом лігандкерованого іонного каналу, відомого як цис-петльовий рецептор (він отримав таку назву, оскільки має у своїй структурі великий внутрішньоклітинний домен між трансмембранними доменами 3 і 4, що містить велику кількість залишків цистеїну [див. рис. 3.3, А]). До цього типу також належать рецептори ГАМК<sub>A</sub> і гліцину (розд. 39) та 5-гідрокситриптаміну 3-го типу (5-HT<sub>3</sub>; розд. 16 і 40). Є інші типи лігандкерованих іонних каналів, а саме: іонотропні рецептори глутамату (розд. 39) та пуринергічні P2X-рецептори (розд. 17 і 40), які за кількома ознаками відрізняються від нікотинчутливих холінорецепторів (див. рис. 3.5). Окрім лігандкерованих іонних каналів, виявлених на клітинній мембрані, що опосередковують швидку синаптичну передачу, існують внутрішньоклітинні лігандкеровані іонні канали, а саме: рецептори інозитолтрифосфату (IP<sub>3</sub>) та ріанодинової (див. розд. 4), які вивільняють Ca<sup>2+</sup> з внутрішньоклітинних пулів.

### МОЛЕКУЛЯРНА СТРУКТУРА

Лігандкеровані іонні канали мають спільні структурні риси з іншими іонними каналами, описаними на с. 54. Нікотинчутливий холінорецептор, клонований від електричного ската роду

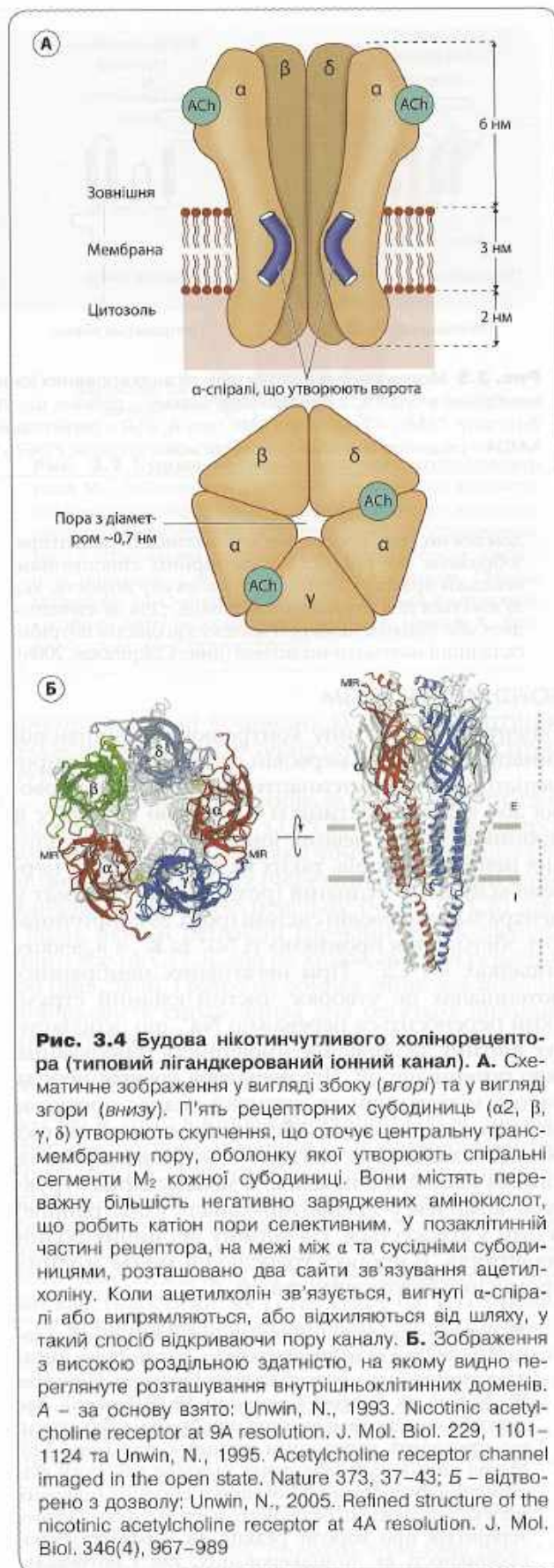


Торпедо (рис. 3.4)<sup>7</sup>, складається з пентамерної збірки різних субодиниць, яких відомо чотири типи, що називаються  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  та  $\delta$ , кожна з молекулярною масою ( $M_r$ ) 40–58 кДа. Субодиниці демонструють помітну гомологію послідовності, й кожна містить чотири трансмембранні спіралі, вставлені в мембрану, як показано на рис. 3.4, Б. Пентамерна структура ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) має два сайти зв'язування ацетилхоліну, кожен з яких лежить на межі між однією з двох субодиниць та сусідньою. Обидва мають зв'язувати молекули ацетилхоліну для активації рецептора. На рис. 3.4, Б зображено структуру рецептора. Кожна субодиниця охоплює мембрану чотири рази, тому канал містить не менше ніж 20 трансмембранних спіралей, що оточують центральну пору.

▼ Одна з трансмембранних спіралей ( $M_2$ ) від кожної з п'ятих субодиниць формує оболонку іонного каналу (див. рис. 3.4). П'ять спіралей  $M_2$ , які утворюють пору, різко заглиблюються всередину до половини мембрани, утворюючи звуження. Коли молекули ацетилхоліну зв'язуються з рецептором, у позаклітинній частині рецептора відбувається зміна конформації, яка скручує субодиниці, змушуючи перекручені сегменти  $M_2$  відхилитися від шляху й у такий спосіб відкриваючи канал. Оболонка каналу містить низку аніонних залишків, що робить канал селективно проникним для катіонів (насамперед  $\text{Na}^+$  та  $\text{K}^+$ , хоча деякі типи нікотинчутливих холінорецепторів також проникні для  $\text{Ca}^{2+}$ ).

Використання сайт-спрямованого мутагенезу, який дає змогу змінювати короткі ділянки або одиничні залишки амінокислотної послідовності, показало, що мутація критичного залишка в спіралі  $M_2$  змінює канал таким чином, що він втрачає здатність бути проникним для катіонів (а отже, збудливий у контексті синаптичної функції) та стає проникним для аніонів (це типово для рецепторів гальмівних медіаторів, таких як ГАМК і гліцин). Інші мутації впливають на такі властивості, як ворітний механізм та десенсibiliзація лігандкерованих каналів.

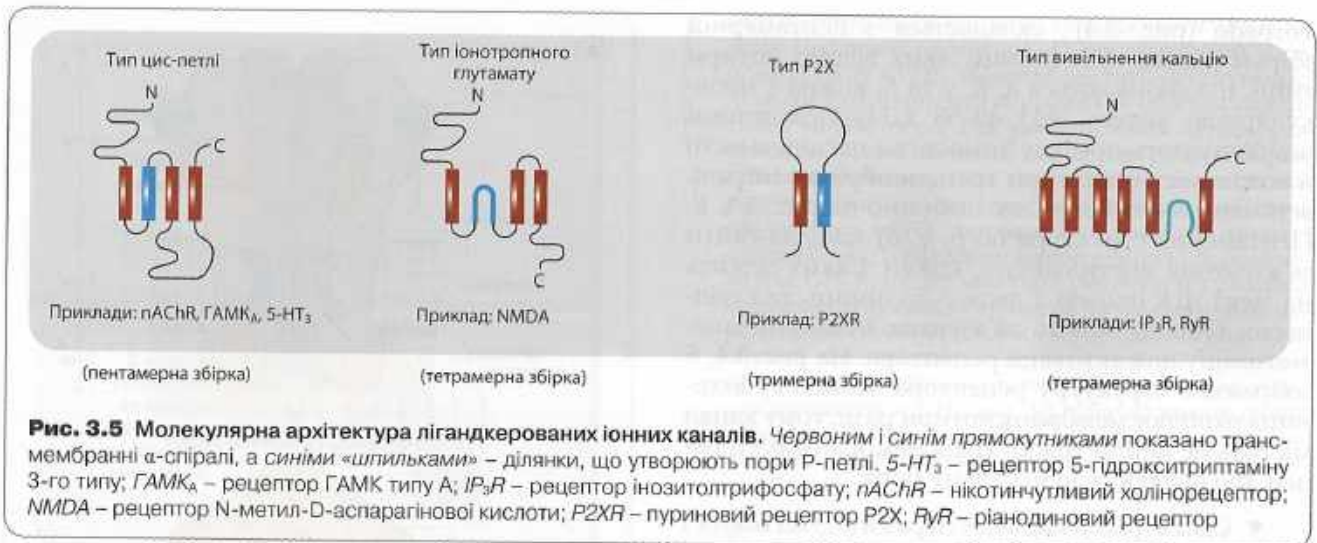
Інші лігандкеровані іонні канали, зокрема рецептори глутамату (див. розд. 39) та рецептори P2X (див. розд. 17 і 40), структури яких зображено на рис. 3.5, мають інакшу архітектуру. Іонотропні рецептори глутамату тетрамерні, пора побудована з петель, а не з трансмембранних спіралей, що є спільною рисою для багатьох інших (нелігандкерованих) іонних каналів (див. рис. 3.20). Рецептори P2X тримерні, кожна субодиниця має лише два трансмембранних домени (North, 2002). Нікотинчутливий холінорецептор та інші рецептори цис-петлі – пентамери з двома сайтами зв'язування агоністів на кожному рецепторі. Зв'язування однієї молекули агоніста з одним сайтом збільшує спорідненість зв'язування з іншим сайтом (позитивна кооперативність), і для активації рецептора та відкриття каналу мають бути зайняті обидва сайти. Деякі іонотропні рецептори глутамату мають аж чотири сайти зв'язування агоністів, а рецептори P2X – три, але вони, як видається, відкриваються, коли зв'язані дві молекули агоністів. Ми ще раз усві-



**Рис. 3.4** Будова нікотинчутливого холінорецептора (типовий лігандкерований іонний канал). А. Схематичне зображення у вигляді збоку (вгорі) та у вигляді згори (внизу). П'ять рецепторних субодиниць ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ ) утворюють скупчення, що оточує центральну трансмембранну пору, оболонку якої утворюють спіральні сегменти  $M_2$  кожної субодиниці. Вони містять переважно більшість негативно заряджених амінокислот, що робить катіон пори селективним. У позаклітинній частині рецептора, на межі між  $\alpha$  та сусідніми субодиницями, розташовано два сайти зв'язування ацетилхоліну. Коли ацетилхолін зв'язується, вигнуті  $\alpha$ -спіралі або випрямляються, або відхиляються від шляху, у такий спосіб відкриваючи пору каналу. Б. Зображення з високою роздільною здатністю, на якому видно переплетення розташування внутрішньоклітинних доменів. А – за основу взято: Unwin, N., 1993. Nicotinic acetylcholine receptor at 9 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 229, 1101–1124 та Unwin, N., 1995. Acetylcholine receptor channel imaged in the open state. *Nature* 373, 37–43; Б – відтворено з дозволу: Unwin, N., 2005. Refined structure of the nicotinic acetylcholine receptor at 4 Å resolution. *J. Mol. Biol.* 346(4), 967–989

<sup>7</sup> У ранніх дослідженнях електричного ската роду *Torpedo* використовували для виділення та очищення нікотинчутливих холінорецепторів, оскільки він дуже щільно експресує нікотинчутливі холінорецептори на своїх електропластинках. Нині ми усвідомлюємо, що субодиничний склад нервово-м'язових (розд. 14) та нейронних (розд. 14 і 40) нікотинчутливих холінорецепторів ссавців відрізняється від рецепторів ската, але тут ми зосереджуємося на рецепторах ската, щоб не ускладнювати обговорення.





домлюємо, що проста модель активації рецептора, зображена на рис. 2.1, є надмірним спрощенням, оскільки враховує лише одну молекулу агоніста, яка зв'язується для отримання відповіді. Для зв'язування двох або більшої кількості молекул агоністів потрібні складніші математичні моделі (див.: Colquhoun, 2006).

### ВОРИТНИЙ МЕХАНІЗМ

Рецептори цього типу контролюють найшвидші синаптичні події в нервовій системі, коли нейромедіатор діє на постсинаптичну мембрану нервової або м'язової клітини й тимчасово підвищує її проникність для певних іонів. Більшість збудливих нейромедіаторів, таких як ацетилхолін у нервово-м'язовому з'єднанні (розд. 14) або глутамат у центральній нервовій системі (розд. 39), спричиняють збільшення проникності Na<sup>+</sup> та K<sup>+</sup>, а в деяких випадках – і Ca<sup>2+</sup>. При негативних мембранних потенціалах це утворює чистий вхідний струм, який переноситься переважно Na<sup>+</sup>, що деполяризує клітину та збільшує ймовірність генерування нею потенціалу дії. Дія медіатора досягає піку за частку мілісекунд та зазвичай спадає протягом декількох мілісекунд. Абсолютна швидкість цієї реакції означає, що зв'язок між рецептором та іонним каналом є прямим, а молекулярна структура комплексу «рецептор-канал» (див. раніше) із цим узгоджується. На відміну від інших родин рецепторів, у процесі трансдукції немає жодних проміжних біохімічних стадій.

▼ Спосіб реєстрації *методом петч-клемп*, або локальної фіксації потенціалу (англ. patch clamp recording technique), розроблений Ервіном Нейером (E. Neher) та Бертом Сакманом (B. Sakmann), дає змогу безпосередньо вимірювати дуже малий струм, що проходить через один іонний канал (рис. 3.6). Метод петч-клемп забезпечує рідкісне в біології відстеження фізіологічної поведінки окремих білкових молекул у режимі реального часу й багато нових відкриттів про ворітні реакції та характеристики проникності як лігандкерованих, так і потенціал-залежних каналів. Величина одноканальної провідності підтверджує, що проникнення відбувається через фізичну пору мембрани, оскільки потік іонів

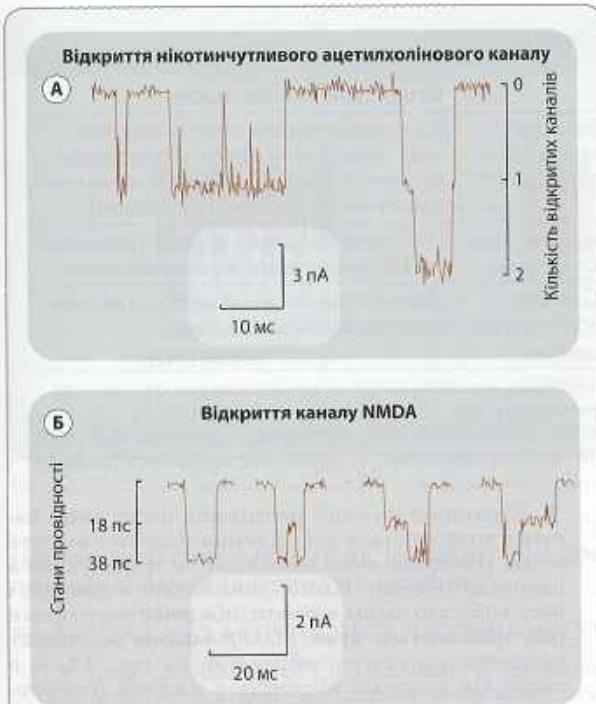
занадто великий (близько 107 іонів на 1 с), щоб бути сумісним з механізмом носія. Провідність каналу, яку забезпечують різні агоністи, однакова, тоді як середній час життя каналу змінюється. Схема взаємодії «ліганд-рецептор», наведена в розд. 2, є корисною моделлю ворітного механізму іонних каналів. Вважають, що конформація R\*, яка представляє відкритий стан іонного каналу, однакова для всіх агоністів, з огляду на відкриття того, що провідність каналу не змінюється. Кінетично середня тривалість відкриття каналу визначається переважно константою швидкості закриття,  $\alpha$ , та варіює залежно від лікарського засобу. Як пояснено в розд. 2 (див. рис. 2.1), для агоніста з високою ефективністю, що активує значну частину окупованих ним рецепторів, характеристика  $\beta/\alpha \gg 1$ , тоді як для лікарського засобу з низькою ефективністю  $\beta/\alpha$  матиме нижче значення.

Для деяких лігандкерованих іонних каналів ситуація складніша, оскільки різні агоністи можуть спричинити відкриття окремих каналів до одного або декількох різних рівнів провідності (див. рис. 3.6, Б). Це означає, що існує більш як одна конформація R\*. Крім того, десенсибілізація лігандкерованих іонних каналів (див. розд. 2) також передбачає один або кілька додаткових конформаційних станів, зумовлених агоністами. Ці висновки свідчать, що потрібна певна деталізація простої схеми, в якій представлено

### Лігандкеровані іонні канали

- Іноді їх називають іонотропними рецепторами.
- Вони беруть участь переважно у швидкій синаптичній передачі.
- Є кілька структурних родин; найпоширеніші – гетеромерні збірки з чотирьох або п'ятих субодиниць, з трансмембранними спіралями, розташованими навколо центрального водяного каналу.
- Зв'язування лігандів і відкриття каналу відбувається упродовж мілісекунд.
- Прикладами є нікотинчутливий холінорецептор, рецептори ГАМК типу А (ГАМК<sub>A</sub>), глутамату (рецептори N-метил-D-аспарагінової кислоти [NMDA]) та рецептори АТФ (P2X).



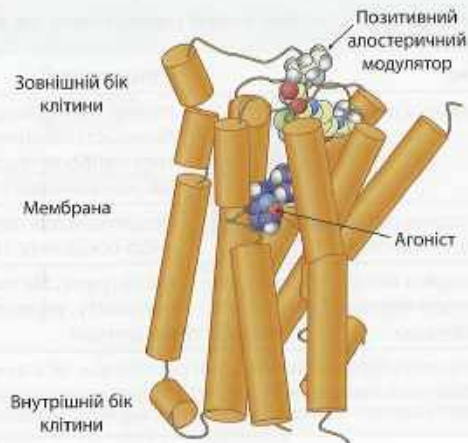


**Рис. 3.6** Відкриття одного каналу, зафіксовані методом петч-клемп. **А.** Іонні канали, керовані ацетилхоліном, на руховій кінцевій пластинці жаби. Піпетка, яку щільно прикладали до поверхні мембрани, містила 10 мкмоль/л АСh. Нахили лінії донизу позначають струм, що проходить через одиничні іонні канали в невеликій частині мембрани під піпеткою. Близьче до кінця запису видно, що два канали відкриваються з дискретним кроком від першого до другого. **Б.** Струми одноканального рецептора N-метил-D-аспарагінової кислоти (NMDA), зареєстровані для нейронів мозочка в зовнішній конформації «петча». Для активації каналу на зовнішню поверхню «петча» було додано NMDA. Канал відкривається до декількох рівнів провідності. На (Б) відкриття до вищого рівня провідності та подальші закриття є плавними, що вказує на відкриття одного каналу (не слід очікувати, що два канали відкриватимуться та закриватимуться одночасно), тоді як дискретні кроки на (А) свідчать про два канали. (А – люб'язно надано: D. Colquhoun і D.C. Ogden; Б – відтворено з дозволу: Cull-Candy, S.G. & Usowicz, M.M., 1987. Nature 325, 525–528)

лише один відкритий стан,  $R^*$ , і є прикладом того, як фактична поведінка рецепторів робить наші теоретичні моделі трохи заїдженними.

## 2-Й ТИП: РЕЦЕПТОРИ, ЗВ'ЯЗАНІ З G-БІЛКОМ

GPCR є найпоширенішим єдиним класом мішеней для терапевтичних засобів. До родини GPCR належить багато рецепторів, знайомих фармакологам, таких як мускаринові холінорецептори (AChR), адренорецептори, дофамінові рецептори, рецептори 5-НТ (серотонінові), рецептори багатьох пептидів, пуринові рецептори, зокрема хеморецептори, які беруть участь у нюху та виявленні феромонів, а також багато рецепторів-«сиріт» (див.: Fredriksson & Schiöth, 2005). Фармакологічні та молекулярні дослі-



**Рис. 3.7** Будова мускариновісного холінорецептора  $M_2$ . Зображення з високою роздільною здатністю демонструє конформацію мускариновісного холінорецептора  $M_2$ , зв'язаного як з агоністом (ортостеричним), так і з позитивним алостеричним модулятором. Коричневі циліндри – це трансмембранні домени. Повний розмір N- та С-кінцевих доменів і третьої внутрішньоклітинної петлі не показано. (Люб'язно надано А. Хриstopулосом [A. Christopoulos])

дження виявили величезну кількість їх підтипів. Усі вони мають характерну семиспіральну структуру (див. рис. 3.3, Б).

Багато нейромедіаторів, за винятком пептидів, здатні взаємодіяти як з GPCR, так і з лігандкеруваними каналами, завдяки чому та сама молекула може чинити швидко (через лігандкерувані іонні канали) та відносно повільну (через GPCR) дію. Однак окремі пептидні гормони діють здебільшого або на GPCR, або на кінзаза-зв'язані рецептори (див. далі), і рідко на обидва типи, але подібна вибірковість справедлива для багатьох лігандів, які впливають на ядерні рецептори<sup>8</sup>.

## МОЛЕКУЛЯРНА СТРУКТУРА

У 1986 р. було клоновано перший GPCR, що мав фармакологічне значення, –  $\beta_2$ -адренорецептор (розд. 15). Після цього молекулярну біологію дуже швидко почали застосовувати у фармакології, і з секвенуванням генома людини було встановлено амінокислотну послідовність усіх GPCR, що до того часу визначали за їхніми фармакологічними властивостями, як і структуру багатьох нових GPCR. Відносно нещодавно було подолано труднощі, пов'язані з кристалізацією GPCR, що дало змогу використовувати потужну методику рентгеноструктурної кристалографії для детального вивчення тривимірної молекулярної структури цих рецепторів (рис. 3.7) (Zhang et al., 2015). Також

<sup>8</sup> Однак зростає кількість прикладів різнопланової взаємодії. Стероїдні гормони, які зазвичай віддають перевагу ядерним рецепторам, періодично проходять через іонні канали та GPCR, а деякі ейкозаноїди діють на ядерні рецептори, а також на GPCR. Природа досить відкрита, хоча подібні приклади можуть викликати незадоволення серед фармакологів та змусити студентів впасти у відчай.



Таблиця 3.2 Основні класи рецепторів, зв'язаних з G-білком<sup>a,б</sup>

Клас	Рецептори <sup>б</sup>	Структурні особливості
A: родина родопсинів	Найчисленніша група. Рецептори для більшості аміних нейромедіаторів, багатьох нейропептидів, пуринів, простаноїдів, канабіноїдів тощо	Короткий позаклітинний (N-кінцевий) хвіст. Ліганд зв'язується з трансмембранними спіралями (амінами) або з позаклітинними петлями (пептидами)
B: родина рецепторів секретину/глюкагону	Рецептори для пептидних гормонів, у тому числі секретину, глюкагону, кальцитоніну	Позаклітинний хвіст середньої довжини, що містить лігандзв'язувальний домен
C: родина метаботропних рецепторів глутамату, чутливих до кальцію	Мала група. Метаботропні рецептори глутамату, рецептори ГАМК <sub>A</sub> , Ca <sup>2+</sup> -чутливі рецептори	Довгий позаклітинний хвіст, що містить лігандзв'язувальний домен

<sup>a</sup> До інших класів належать звиті рецептори, зв'язані з G-білками (GPCR), адгезійні GPCR та рецептори для феромонів.

<sup>б</sup> Повні переліки можна знайти за посиланням: [www.guidetopharmacology.org](http://www.guidetopharmacology.org)

було розроблено обчислювальні методи молекулярного стикування та ядерно-магнітного резонансу (ЯМР) для вивчення зв'язування лігандів та подальших конформаційних змін, пов'язаних з активацією (див.: Soumier et al., 2015). Завдяки цьому розпочалося отримання важливої інформації про конформацію рецепторів, зв'язаних з агоністами та антагоністами, а також про взаємодію рецепторів із G-білками. Такі дослідження дають змогу чіткіше уявити механізм активації GPCR і факторів, що визначають ефективність агоністів, а також забезпечують кращу основу для розробки нових лігандів GPCR.

GPCR складаються з єдиного поліпептидного ланцюга, зазвичай з 350–400 залишків амінокислот, але в деяких випадках може бути до 1100 залишків. Нормальну анатомію показано на рис. 3.3, Б. Їхня характерна структура містить сім трансмембранних  $\alpha$ -спіралей, подібних до розглянутих вище у підрозділі про іонні канали, із позаклітинними N-кінцевими доменами різної довжини та внутрішньоклітинним C-кінцевим доменом.

GPCR поділяють на три основні класи – А, В і С (табл. 3.2). Між членами одного класу наявна значна гомологія послідовностей, але між різними класами її небагато. Вони мають однакову семіспіральну трансмембранну структуру, але відрізняються в іншому, переважно – довжиною позаклітинного N-кінця та розташуванням домену зв'язування агоністів. Безумовно, клас А є найбільшим та охоплює більшість моноамінових, нейропептидних і хемокінових рецепторів. До класу В належать рецептори деяких інших пептидів, таких як кальцитонін і глюкагон. Клас С є найменшим; серед його основних членів метаботропні рецептори глутамату та ГАМК, а також Ca<sup>2+</sup>-чутливі рецептори<sup>9</sup>.

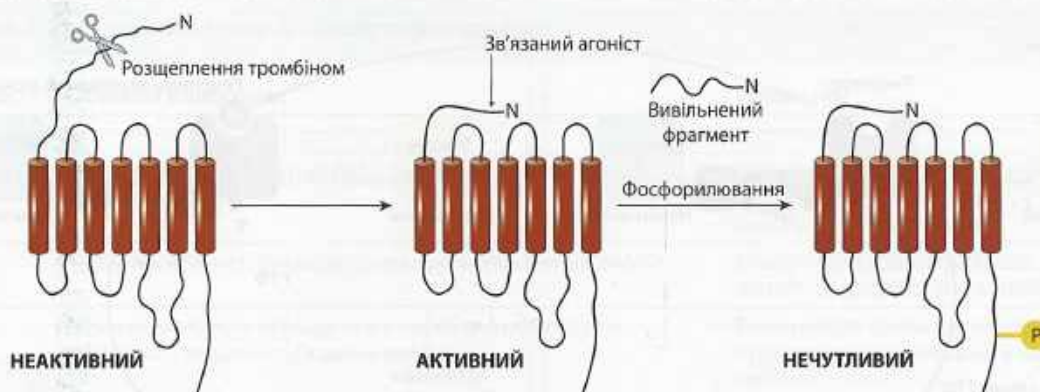
<sup>9</sup> Ca<sup>2+</sup>-чутливий рецептор (див.: Conigrave et al., 2000) – це незвичайний GPCR, що активується не звичайними медіаторами, а позаклітинним Ca<sup>2+</sup> в діапазоні 1–10 мМоль/л – надзвичайно низька спорідненість порівняно з іншими агоністами GPCR. Він експресується клітинами паразитоподібної залози і слугує для регулювання позаклітинної концентрації Ca<sup>2+</sup>, контролюючи секретію паратиреоїдного гормону (розд. 37). Цей гомеостатичний механізм відрізняється від механізмів регуляції внутрішньоклітинного Ca<sup>2+</sup>, розглянутих у розд. 4.

▼ Розумінню функції рецепторів цього типу багато в чому сприяли дослідження тісно пов'язаного білка, *родопсину*, який відповідає за трансдукцію в паличках сітківки. Цього білка багато в сітківці, і його набагато легше вивчати, ніж рецепторні білки (які трапляються дуже рідко); будова родопсину ідентична структурі, зображеній на рис. 3.3, Б, а також він викликає відповідь у паличці (гіперполяризацію, пов'язану з інгібуванням провідності Na<sup>+</sup>) за допомогою механізму із залученням G-білка (див. с. 38, рис. 3.9). Найбільш очевидна відмінність полягає в тому, що відповідь викликає фотон, а не молекула агоніста. Фактично, родопсин можна розглядати як такий, що містить власну вбудовану молекулу агоніста, а саме *ретиналь*, яка ізомерується з *транс* (неактивної) в *цис* (активну) форму, коли поглинає фотон.

Для малих молекул, таких як норадреналін (норепінефрин) та ацетилхолін, лігандзв'язувальний домен рецепторів класу А заглиблений у щілину між  $\alpha$ -спіральними сегментами всередині мембрани (див. рис. 3.3, Б і 3.7), подібно до слоту, окупованого ретиналем у молекулі родопсину<sup>10</sup>. Пептидні ліганди, такі як речовина Р (розд. 19), більш поверхнево зв'язуються з позаклітинними петлями, як показано на рис. 3.3, Б. На основі експериментів з кристалічними структурами та моносайтовим мутагенезом можна побудувати схему лігандзв'язувального домену цих рецепторів. Нещодавні досягнення в моделюванні молекулярного докінгу (стикування) лігандів з ліганд-рецептор-зв'язувальним доменом дали змогу розробляти нові синтетичні ліганди, переважно на основі знань про структуру рецепторів (див.: Manglik et al., 2016) – це важлива віха в розробленні лікарських засобів, яке у пошуках хімічного натхнення до цього часу покладалося здебільшого на структуру ендо-

<sup>10</sup> Гідрофільні малі молекули отримують доступ до свого лігандзв'язувального домену з позаклітинного простору по заповненій водою щілині, однак у випадку високоліпофільних молекул, таких як молекули, що активують канабіноїд CB<sub>1</sub> та лізофосфоліпідні рецептори S1P<sub>1</sub>, видається, що доступ відбувається через вбудований у мембрану канал збоку рецептора.





**Рис. 3.8** Активация рецептора, що активується протеїназою, шляхом розщеплення N-кінцевого позаклітинного домену. Інактивація відбувається фосфорилюванням. Відновлення вимагає ресинтезу рецептора

генних медіаторів (таких як гістамін) або рослинних алкалоїдів (таких як морфін)<sup>11</sup>.

### РЕЦЕПТОРИ, ЩО АКТИВУЮТЬСЯ ПРОТЕЇНАЗОЮ<sup>12</sup>

▼ Хоча активация GPCR зазвичай є наслідком дії агоніста, здатного до дифузії, вона може бути результатом активациї протеїнази. Визначено 4 типи рецепторів, що активуються протеазою (англ. *Proteinase-activated receptors, PAR*) (див. огляд: Ramachandran et al., 2012). Багато протеїназ, таких як тромбін (протеїназа, що бере участь у каскаді згортання крові; див. розд. 25), активують PAR, відрізаючи кінець позаклітинного N-кінцевого хвоста рецептора (рис. 3.8), щоб оголити 5 або 6 N-кінцевих залишків, які зв'язуються з рецепторними доменами у позаклітинних петлях, функціонуючи як «прив'язаний агоніст». Рецептори цього типу є в багатьох тканинах і, схоже, відіграють певну роль у запаленні та інших реакціях ураження тканин, коли виділяються тканинні протеїнази. Молекула PAR може бути активована лише один раз, оскільки розщеплення необоротне, а отже, необхідний постійний повторний синтез рецепторного білка. Інактивація відбувається шляхом подальшого протеолітичного розщеплення, що звільняє зв'язаний ліганд, або шляхом десенсibilізації, що передбачає фосфорилювання (див. рис. 3.8), після чого рецептор інтерналізується та розпадається, щоб бути заміненим свіжосинтезованим білком.

### G-БІЛКИ ТА ЇХНЯ РОЛЬ

G-білки належать до родини мембрано-резидентних білків, функція яких полягає у реагуванні на активацию GPCR і передаванні повідомлення всередині клітини ефекторним системам, що генерують клітинну відповідь. В організаційній ієрархії вони належать до рівня середнього керівництва, знаходячись між рецепторами – вибагливими мандаринами, які

### Рецептори, зв'язані з G-білками

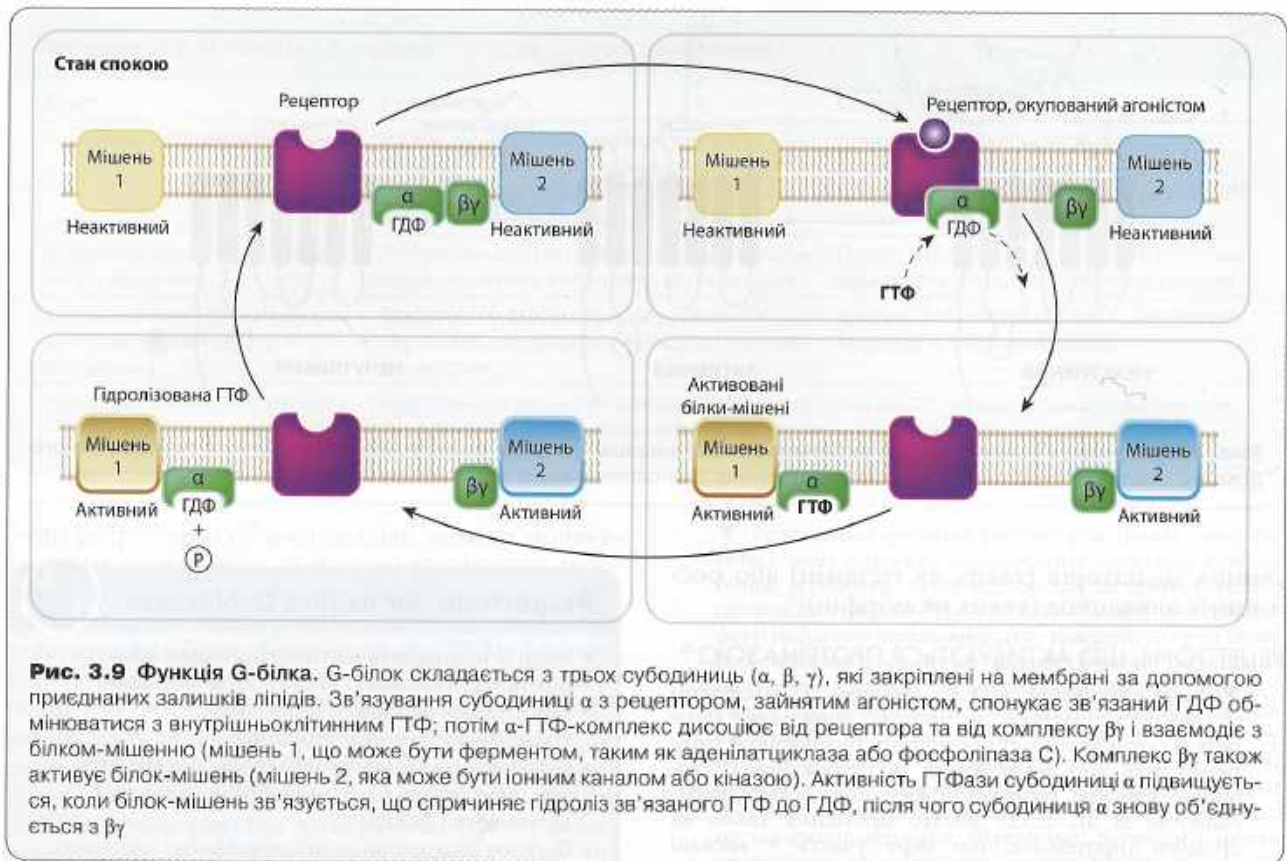
- Іноді їх називають метаботропними або семиспиральними (7-TDM) рецепторами.
- Конструкції складаються з сімох трансмембранних  $\alpha$ -спиралей.
- G-білок – це мембранний білок, що містить три субодиниці ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ), субодиниця  $\alpha$  має активність ГТФази.
- G-білок взаємодіє зі зв'язувальною кишенею на внутрішньоклітинній поверхні рецептора.
- Коли G-білок зв'язується з рецептором, зайнятим агоністом, субодиниця  $\alpha$  зв'язується з ГТФ, дисоціює та стає вільною, щоб активувати ефектор (наприклад, мембранний фермент). У деяких випадках у ролі активатора виступає субодиниця  $\beta\gamma$ .
- Активация ефектора припиняється, коли зв'язана молекула ГТФ гідролізується, що уможливорює возз'єднання субодиниці  $\alpha$  з  $\beta\gamma$ .
- Є кілька типів G-білків, які взаємодіють з різними рецепторами та контролюють різні ефектори.
- Серед прикладів – мускаринчутливі холінорецептори, адренорецептори, нейропептидні та хемокінові рецептори, а також рецептори, що активуються протеїназою.

перебувають у стані готовності реагувати на найслабший запах їхньої улюбленої хімічної речовини, та ефекторними ферментами або іонними каналами – бригадою робітників, що виконує роботу й не потребує знати, який гормон дав дозвіл на процес. Це білки-посередники, але насправді їх назвали G-білками з огляду на їхню взаємодію з нуклеотидами гуаніну, ГТФ та ГДФ. Більш детальну інформацію про структуру та функції G-білків можна знайти в оглядах: Milligan and Kostenis, 2006; Oldham and Hamm, 2008. G-білки складаються з трьох субодиниць:  $\alpha$ ,  $\beta$  й  $\gamma$  (рис. 3.9). Нуклеотиди гуаніну

<sup>11</sup> У минулому багато сполук-лідерів з'являлося за допомогою перегляду величезних хімічних бібліотек (див. розд. 60). Не потрібно було натхнення, а лише надійні аналізи, великі комп'ютери та ефективна робототехніка. Нині завдяки генеруванню кристалічних структур ми перейшли на більш розвинутий етап у відкритті лікарських засобів.

<sup>12</sup> Ці рецептори раніше називали активаторами протеази.





зв'язуються із субодиницею, яка має ферментативну (ГТФаза) активність, каталізуючи перетворення ГТФ на ГДФ. Субодиниці  $\beta$  й  $\gamma$  залишаються разом як комплекс  $\beta\gamma$ . Субодиниця  $\gamma$  закріплена на мембрані за допомогою ланцюга жирних кислот, з'єднаного з G-білком за допомогою реакції, відомої як *прениляція*. У стані спокою (див. рис. 3.9) G-білок існує у вигляді тримера  $\alpha\beta\gamma$ , який може бути або не бути зв'язаним із рецептором, а ГДФ захоплює сайт на субодиниці. Коли GPCR активується агоністом, це індукує незначні зміни залишків навколо лігандзв'язувальної кишені, що перетворюється на більші перестановки внутрішньоклітинних ділянок рецептора, котрі відкривають порожнину на внутрішньоклітинному боці рецептора, з якою може зв'язуватися G-білок, що приводить до високоафінної взаємодії  $\alpha\beta\gamma$  та рецептора. Ця індукована агоністами взаємодія  $\alpha\beta\gamma$  з рецептором відбувається протягом приблизно 50 нс, спонукаючи зв'язаний ГДФ дисоціювати та замінюватись на ГТФ (обмін ГДФ-ГТФ), що, у свою чергу, спричиняє дисоціацію тримера G-білка, вивільняючи  $\alpha$ -ГТФ із субодиниць  $\beta\gamma$ ; це «активні» форми G-білка, які дифундують у мембрані та можуть зв'язуватися з різними ферментами й іонними каналами, зумовлюючи активацію мішені (див. рис. 3.9). Спочатку вважали, що лише субодиниця  $\alpha$  має сигнальну функцію, а комплекс  $\beta\gamma$  лише виконує роль

шаперона, щоб утримувати летючі субодиниці за межами діапазону різних ефекторних білків, які вони могли б збудити. Однак комплекси  $\beta\gamma$  насправді самостійно виконують завдання та керують ефекторами приблизно так само, як і субодиниці  $\alpha$ . Асоціація субодиниць  $\alpha$  або  $\beta\gamma$  з ферментами-мішенями або каналами може спричинити активацію або гальмування, залежно від того, який G-білок задіяний (див. табл. 3.3). Активація G-білка приводить до ампліфікації (посилення), оскільки один комплекс «агоніст-рецептор» може активувати кілька молекул G-білка по черзі, й кожна з них може залишатися зв'язаною зі своїм ефекторним ферментом досить довго, щоб утворити багато молекул продукту. Часто продукт (див. далі) – це «вторинний месенджер», а подальше посилення відбувається до того, як створено остаточну відповідь клітини.

Сигналізація припиняється, коли гідроліз ГТФ до ГДФ відбувається через активність ГТФази, властиву субодиниці  $\alpha$ . Потім отриманий  $\alpha$ -ГДФ відмежується від ефектора та возз'єднується з  $\beta\gamma$ , завершуючи цикл.

▼ Приєднання субодиниці  $\alpha$  до ефекторної молекули фактично збільшує активність її ГТФази, величина цього збільшення є неоднаковою для різних типів ефекторів. Оскільки гідроліз ГТФ – це етап, який припиняє здатність субодиниці  $\alpha$  чинити свій ефект, регулювання активності її ГТФази за допо-



Таблиця 3.3 Основні підтипи G-білків та їхні функції<sup>a</sup>

Підтипи	Основні ефектори	Примітки
<b>Субодиноці G<math>\alpha</math></b>		
G $\alpha_s$	Стимулюють аденілатциклазу, зумовлюючи посилене утворення цАМФ	Активуються холерним токсином, який блокує активність ГТФази, у такий спосіб запобігаючи інактивації
G $\alpha_i$	Інгібують аденілатциклазу, зменшуючи утворення цАМФ	Блокуються токсином кашлюку, який запобігає дисоціації комплексу $\alpha\beta\gamma$
G $\alpha_o$	Обмежені ефекти субодиноці $\alpha$ (ефекти здебільшого виникають завдяки субодиноцям $\beta\gamma$ )	Блокуються токсином кашлюку. Трапляються переважно в нервовій системі
G $\alpha_c$	Активують фосфоліпазу C, збільшуючи продукування вторинних месенджерів інозитолтрифосфату та діацилгліцерину (див. с. 42–44), таким чином вивільняючи Ca <sup>2+</sup> з внутрішньоклітинних запасів і активуючи протеїнкіназу C (PKC)	
G $\alpha_{12/13}$	Активують Rho I, отже, Rho-кіназу	
<b>Субодиноці G<math>\beta</math>,<math>\gamma</math></b>		
	Активують калієві канали Гальмують потенціалзалежні кальцієві канали Активують GPCR-кінази (GRK, с. 44–45) Активують мітоген-активованій протеїнкіназний шлях Взаємодіють з деякими формами аденілатциклази та з фосфоліпазою C $\beta$	Ідентифіковано багато ізоформ $\beta\gamma$ , але конкретні функції поки не відомі

<sup>a</sup> У цій таблиці наведено лише ті ізоформи, що мають найбільше фармакологічне значення. Було визначено багато інших ізоформ, деякі з них виконують ролі у функціях нюху, смаку, зоровій трансдукції та інших фізіологічних функціях (див.: Offermanns, 2003).

<sup>b</sup> Спочатку індекси «s» та «i» використовували для позначення відповідно стимулювальної та інгібувальної дії на аденілатциклазу, але згодом у термінології почали використовувати «q» та «12/13», що вже менш логічно. GPCR – рецептор, зв'язаний з G-білком

могою ефекторного білка означає, що активація ефектора має тенденцію до самообмеження. Крім того, є родина, що налічує близько 20 клітинних білків – регуляторів сигнальних білків G-білків (англ. regulators of G protein signaling, RGS) (див. огляд: Sjögren, 2017), котрі мають збережену послідовність, яка специфічно зв'язується з субодиноцями  $\alpha$  для значного збільшення активності їх ГТФази, у такий спосіб прискорюючи гідроліз ГТФ та інактивуючи комплекс. Отже, білки RGS чинять інгібувальну дію на сигналізацію G-білка, механізм, що, як вважають, виконує регуляторну функцію в багатьох ситуаціях.

Різні GPCR з'єднуються з різними G-білками й, таким чином, викликають різні клітинні реакції. Наприклад, мускарінчутливі холінорецептори M<sub>2</sub> (mAChR) та  $\beta_1$ -адренорецептори, що є в клітинах серцевого м'яза, виявляють протилежні функціональні ефекти (розд. 14 та 15). Чотири основні класи G-білків (G $\alpha_s$ , G $\alpha_i$ , G $\alpha_o$  та G $\alpha_c$ ) мають фармакологічне значення (див. табл. 3.3). Насамперед, вони відрізняються субодиноцею, яку містять<sup>13</sup>.

<sup>13</sup> Людина має 21 відомий підтип G $\alpha$ , 6 – G $\beta$ , і 12 – G $\gamma$ , що теоретично забезпечує близько 1500 варіантів тримеру. Нам мало відомо про роль різних підтипів  $\alpha$ ,  $\beta$  й  $\gamma$ , але було б нерозважливо вважати, що варіації не грають функціональної ролі. Тепер вас не здивує (навіть якщо й трохи спантеличить) такий прояв молекулярної неоднорідності, адже це шлях еволюції.

G-білки демонструють селективність щодо рецепторів та ефекторів, з якими вони з'єднуються, маючи у своїй структурі специфічні домени розпізнавання, що доповнюють специфічні домени зв'язування G-білків у молекулах рецептора та ефектора. Наприклад, G $\alpha_s$  і G $\alpha_i$  приводять, відповідно, до стимуляції та інгібування ферменту аденілатциклази (рис. 3.10).

Одна функціональна відмінність, що була корисним інструментом під час досліджень для розрізнення того, який тип G-білка бере участь у різних ситуаціях, стосується дії двох бактеріальних токсинів, холерного токсину та токсину кашлюку (див. табл. 3.3). Ці токсини, які є ферментами, каталізують реакцію кон'югації (АДФ-рибозилування) на субодиноці  $\alpha$  G-білків. Холерний токсин діє лише на G $\alpha_s$  і спричиняє стійку активацію. Багато симптомів холери, зокрема надмірне виділення рідини з епітелію травного тракту (що призводить до «випорожнень у вигляді рисового відвару»), зумовлені неконтрольованою активацією аденілатциклази. Токсин кашлюку специфічно блокує G $\alpha_i$  та G $\alpha_o$ , запобігаючи дисоціації тримеру G-білка. Токсин кашлюку виділяється з бактерій *Bordetella pertussis*, які й спричиняють це захворювання.





**Рис. 3.10** Двонаправлений контроль ферменту-мішені, такого як аденілатциклаза, за допомогою  $G_i$  та  $G_s$ . Неоднорідність G-білків дає змогу різним рецепторам чинити протилежний вплив на фермент-мішень

Як і у випадку з холерним токсином, симптоми, спричинені токсином кашлюку, пов'язані з його впливом на G-білки, але в цьому випадку шляхом інгібування  $G_i$  та  $G_o$ , а не активації  $G_s$ , що призводить до змін у секретії дихальних шляхів та характерного кашлю, а не до сильної діареї, властивої холері.

#### МІШЕНІ ДЛЯ G-БІЛКІВ

Основними мішенями для G-білків, за допомогою яких GPCR контролюють різні аспекти функціонування клітин (див. табл. 3.3), є:

- аденілатциклаза, фермент, відповідальний за утворення цАМФ;
- фосфоліпаза C, фермент, відповідальний за утворення інозитолфосфату та діацилглицерину (DAG);
- іонні канали, особливо кальцієві та калієві канали;
- система *Rho A/Rho-кіназа* регулює активність багатьох сигнальних шляхів, що контролюють ріст клітин, їхню проліферацію та рухливість, скорочення гладких м'язів тощо;
- система *мітоген-активованих протеїнкіназ* (МАП-кіназа, *англ.* Mitogen-activated protein kinase, MAP kinase), яка контролює багато функцій клітин, зокрема клітинний поділ, а також є мішенню кількох кіназа-зв'язаних рецепторів.

#### Система аденілатциклаза/цАМФ

Відкриття Сазерлендом (Sutherland) та його колегами ролі цАМФ (циклічний 3',5'-аденозинмонофосфат) як внутрішньоклітинного медіатора одним помахом зруйнувало бар'єри, що існували між біохімією і фармакологією, та ввело поняття вторинного месенджера при передачі сигналу. цАМФ – це нуклеотид, синтезований у клітині з АТФ під дією мембрано-зв'язаного ферменту – аденілатциклази. Він продукується безперервно та інактивується гідролізом до 5'-АМФ під дією родини ферментів, відомих як фосфодіестерази (ФДЕ). Багато різних лікарських засобів, гормонів та нейромедіаторів діють на GPCR і збільшують або зменшують каталітичну активність аденілатциклази (див. рис. 3.10), у такий спосіб підвищуючи або знижуючи концентрацію цАМФ усередині клітини. У клітинах ссавців

існує 10 різних молекулярних ізоформ цього ферменту, окремі з яких вибірково реагують на  $G_s$  або  $G_i$ .

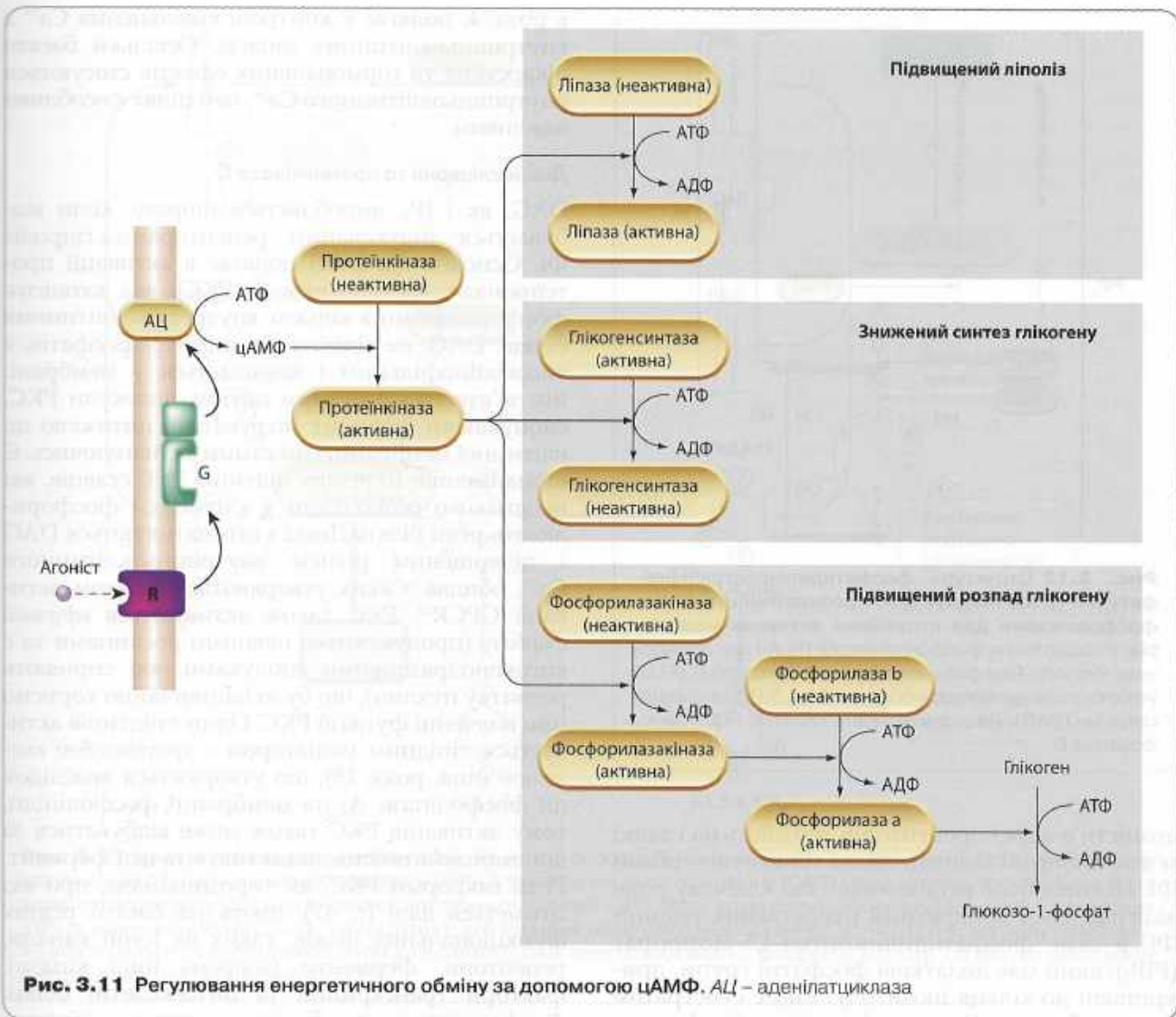
Циклічний АМФ регулює багато аспектів функції клітин, у тому числі ферменти, що беруть участь в енергетичному обміні, поділі та диференціації клітин, транспорті іонів, іонних каналах та скорочувальних білках у гладких м'язах. Однак такі різноманітні ефекти зумовлені спільним механізмом, а саме активацією протеїнкіназ цАМФ (відомих як циклічні АМФ-залежні протеїнкінази) в клітинах еукаріотів. Однією з важливих циклічних АМФ-залежних протеїнкіназ є *протеїнкіназа А* (*англ.* protein kinase A, PKA). Протеїнкінази регулюють функцію багатьох різних клітинних білків, контролюючи їх фосфорилування. На рис. 3.11 показано, як підвищене продукування цАМФ у відповідь на активацію  $\beta$ -адренорецепторів впливає на ферменти, що беруть участь у метаболізмі вуглеводів та жирів у печінці, жирових і м'язових клітинах. Результатом є скоординована реакція, за якої енергія, накопичена у формі глікогену та жиру, стає доступною у вигляді глюкози, щоб сприяти скороченню м'язів.

До інших прикладів регуляції PKA належить підвищена активність потенціалзалежних кальцієвих каналів у клітинах серцевого м'яза (див. розд. 22). Фосфорилування цих каналів збільшує кількість  $Ca^{2+}$ , що надходить у клітину під час потенціалу дії, а отже, збільшує силу скорочень серця.

У гладких м'язах PKA фосфорилує (цим інактивуючи) інший фермент – *кіназу легких ланцюгів міозину*, необхідну для скорочення. Це пояснює розслаблення непосмугованих м'язів, що досягається під дією багатьох лікарських засобів, які збільшують вироблення цАМФ у гладких м'язах (див. розд. 4).

Як згадувалося раніше, рецептори, пов'язані з  $G_i$ , а не з  $G_s$ , інгібують аденілатциклазу й цим зменшують утворення цАМФ, щоб викликати протилежні відповіді на ті рецептори, які активують  $G_s$ . Прикладом є певні типи mAChR (зокрема, рецептор  $M_2$  серцевого м'яза; див. розд. 14),  $\alpha_2$ -адренорецептори у гладких м'язах (розд. 15) та опіоїдні рецептори (див. розд. 43). Аденілатциклаза може бути активована безпосередньо такими лікарськими засобами, як





**форсколін**, використовуваний в експериментах для вивчення ролі системи цАМФ.

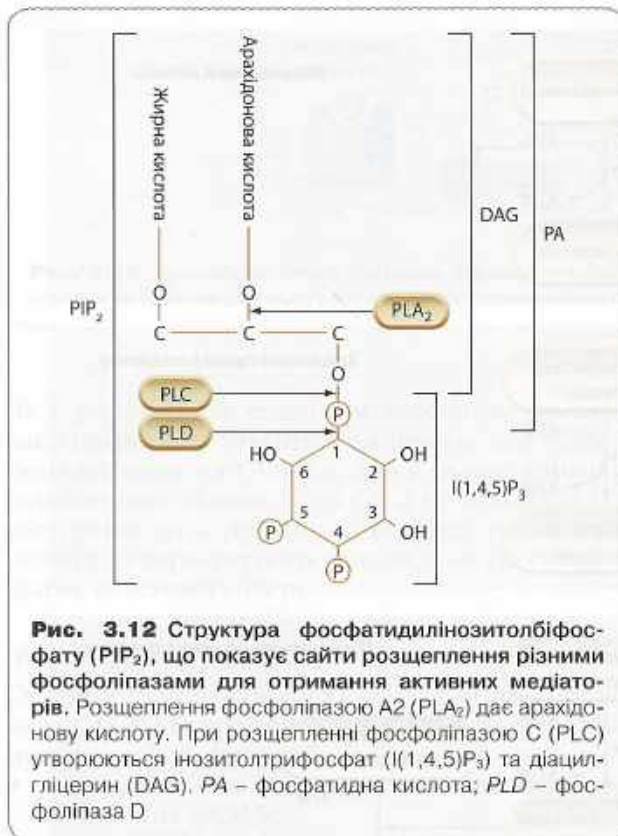
Циклічний АМФ гідролізується в клітинах важливою й повсюдною родиною ферментів ФДЕ. Є 24 підтипи ФДЕ, окремі з них більш селективні для цАМФ, тоді як інші – для цГМФ. Більшість з них слабо інгібуються такими лікарськими засобами, як метилксантини (наприклад, **теофіліном** та **кофеїном**; див. розд. 29 і 49). **Рофлуміласт** (застосовуваний для лікування хронічного обструктивного захворювання легень [ХОЗЛ]; розд. 29) є селективним щодо ФДЕ<sub>4β</sub>, що експресується у запальних клітинах; **мілринон** (позитивний інотроп, що змушує серце битися сильніше й іноді застосовується для керування симптоматикою у пацієнтів, які очікують трансплантації серця; розд. 22) – селективний щодо ФДЕ<sub>2A</sub>, котрий експресується в серцевому м'язі; **силденафіл** (більш відомий як **Віагра**; розд. 36) – селективний щодо ФДЕ<sub>5A</sub> і, отже, посилює судинорозширювальну дію оксиду азоту (NO) та лікарських засобів, що вивільняють NO, ефекти

якого опосередковані цГМФ (див. розд. 21). Схожість деяких видів дії цих лікарських засобів із дією симпатоміметичних амінів (розд. 15), ймовірно, відображає їхню спільну властивість збільшувати внутрішньоклітинну концентрацію цАМФ.

### Фосфоліпаза С/інозитолфосфатна система

Систему *фосфоінозитолів*, важливу внутрішньоклітинну систему вторинних месенджерів, було відкрито в 1950-х роках Хокінім і Хокінім (Hokin and Hokin), інтереси яких зосереджувались на механізмі секреції солі носовими залозами морських птахів. Вони з'ясували, що секреція супроводжується збільшенням обміну незначного класу мембранних фосфоліпідів – фосфоінозитолів (ФІ, *англ.* phosphoinositides, PI; рис. 3.12). Згодом Мікелл та Беррідж (Michell and Berridge) виявили, що багато гормонів, які зумовлюють збільшення вільної внутрішньоклітинної концентрації Ca<sup>2+</sup> (до яких належать, наприклад, агоністи мускаринчутливих холінорецепторів й





агоністи  $\alpha$ -адренорецепторів, що діють на гладкі м'язи та слинні залози), також збільшують обмін ФІ. Пізніше було встановлено, що ключову роль відіграє один конкретний представник родини ФІ, а саме фосфатидилінозитол-4,5-бісфосфат ( $PIP_2$ ), який має додаткові фосфатні групи, прикріплені до кільця інозитолу.  $PIP_2$  є субстратом для мембрано-зв'язаного ферменту фосфоліпази  $C\beta$  ( $PLC\beta$ ), який розщеплює його на  $DAG$  та інозитол-1,4,5-трифосфат ( $IP_3$ ; рис. 3.13), обидва з яких функціонують як вторинні месенджери, про що йтиметься далі. Активація  $PLC\beta$  різними агоністами опосередковується через  $G$ -білок ( $G_q$ , див. табл. 3.3). Після розщеплення  $PIP_2$  статус-кво відновлюється, як показано на рис. 3.13,  $DAG$  фосфорилується з утворенням фосфатидної кислоти (ФК), тоді як  $IP_3$  дефосфорилується, а потім повторно з'єднується з ФК, щоб утворити  $PIP_2$  ще раз<sup>14</sup>. Літій, агент, використовуваний у психіатрії (див. розд. 48), блокує цей шлях повторного використання (див. рис. 3.13).

#### Інозитолфосфати та внутрішньоклітинний кальцій

Інозитол-1,4,5-трифосфат ( $IP_3$ ) – це водорозчинний медіатор, який виділяється в цитозоль і діє на певний рецептор – рецептор  $IP_3$ , – що є лігандкеруваним кальцієвим каналом, наявним на мембрані ендоплазматичного ретикулу (див. рис. 3.5). Основна роль  $IP_3$ , докладніше описана

в розд. 4, полягає у контролі вивільнення  $Ca^{2+}$  з внутрішньоклітинних запасів. Оскільки багато лікарських та гормональних ефектів стосуються внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$ , цей шлях є особливо важливим.

#### Діацилгліцерин та протеїнкіназа $C$

$DAG$ , як і  $IP_3$ , виробляється щоразу, коли відбувається індукований рецепторами гідроліз ФІ. Основна дія  $DAG$  полягає в активації протеїнкінази, протеїнкінази  $C$  ( $PKC$ ), яка каталізує фосфорилування кількох внутрішньоклітинних білків.  $DAG$ , на відміну від інозитолфосфатів, є високоліпофільним і залишається у мембрані. Він зв'язується з певним сайтом молекули  $PKC$ , спонукаючи фермент мігрувати з цитозолу до клітинної мембрани, тим самим активізуючись. Є щонайменше 10 різних підтипів  $PKC$  ссавців, які неоднаково розподілені у клітинах і фосфорилують різні білки. Деякі з них активуються  $DAG$  і підвищеним рівнем внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$ , обидва з яких утворюються шляхом активації  $GPCR$ <sup>15</sup>.  $PKC$  також активуються ефірами форболу (продукуються певними рослинами та є високоподразливими сполуками, які сприяють розвитку пухлин), що було надзвичайно корисно при вивченні функції  $PKC$ . Один з підтипів активується ліпідним медіатором – арахідоною кислотою (див. розд. 18), що утворюється внаслідок дії фосфоліпази  $A_2$  на мембранні фосфоліпіди, тому активація  $PKC$  також може відбуватися за допомогою агоністів, які активують цей фермент. Різні ізоформи  $PKC$ , як тирозинкінази, про які йтиметься далі (с. 47), діють на багато різних функціональних білків, таких як іонні канали, рецептори, ферменти (зокрема інші кінази), фактори транскрипції та цитоскелетні білки. Фосфорилування білків кіназами відіграє центральну роль у передаванні сигналу та контролює багато різних аспектів функціонування клітин. Зв'язок  $DAG$ - $PKC$  забезпечує механізм, за допомогою якого  $GPCR$  можуть мобілізувати цю армію «фанатиків контролю».

#### Іонні канали як мішені для $G$ -білків

Ще однією основною функцією  $GPCR$  є керування функцією іонних каналів безпосередньо за допомогою механізмів, які не залучають вторинні месенджери, такі як цАМФ або інозитолфосфати. Як видається, пряма взаємодія  $G$ -білка з каналом через субодиниці  $\beta\gamma$   $G_r$ - та  $G_o$ -білків є загальним механізмом контролю каналів  $K^+$  і  $Ca^{2+}$ . Наприклад, у серцевому м'язі  $mAChR$  посилюють у такий спосіб проникність  $K^+$  (таким чином гіперполяризуючи клітини та пригнічуючи електричну активність; див. розд. 22). Аналогічні механізми діють у нейронах, де багато лікарських

<sup>14</sup> Альтернативними скороченнями для цих медіаторів є PtdIns (ФІ), PtdIns (4,5)- $P_2$  ( $PIP_2$ ), Ins (1,4,5)- $P_3$  ( $IP_3$ ).

<sup>15</sup>  $PKC$  спочатку називали  $Ca^{2+}$ -залежними протеїнкіназами ( $PKC$ ), на відміну від цАМФ-залежних  $PKA$ . Хоча пізніше виявилось, що підтипи не залежать від  $Ca^{2+}$ , назва  $PKC$  закріпилася.







засобів-інгібіторів, таких як опіюїдні анальгетики, знижують збудливість, відкриваючи певні канали  $K^+$  – відомі як активовані G-білком внутрішньо-випрямні канали  $K^+$  (GIRK) – або інгібуючи потенціалзалежні канали  $Ca^{2+}$  типу N та P/Q, таким чином зменшуючи вивільнення нейромедіатора (див. розд. 4 і 43).

#### Система Rho/Rho кіназ

▼ Цей шлях передавання сигналу (див.: Bishop & Hall, 2000) активується певними GPCR (а також механізмами, які не є GPCR), що з'єднуються з G-білками типу  $G_{12/13}$ . Субодиниця вільного G-білка взаємодіє з фактором обміну гуанозинових нуклеотидів, що сприяє обміну ГДФ-ГТФ в іншій ГТФазі, Rho. Rho-GDP, форма у стані спокою, є неактивною, але коли відбувається обмін ГДФ-ГТФ, Rho активується та своєю чергою активує Rho-кіназу. Rho-кіназа фосфорилює багато субстратних білків і контролює широкий спектр клітинних функцій, зокрема скорочення та проліферацію гладких м'язів, рух і міграцію клітин, ангиогенез та синаптичне ремоделювання. Вважають, що, посилюючи індуковану гіпоксією вазоконстрикцію легеневої артерії, активація Rho-кінази є важливою для патогенезу легеневої гіпертензії (див. розд. 23). Специфічні інгібітори Rho-кінази розробляють за кількома клінічними показаннями, одним з яких є глаукома – галузь, за якою слід спостерігати.

#### Система МАП-кіназ

▼ Система МАП-кіназ охоплює кілька шляхів трансдукції сигналу (рис. 3.15), які активуються не лише різними цитокінами та факторами росту, що діють на кіназа-зв'язані рецептори (див. с. 47, рис. 3.17), а й лігандами, що активують GPCR. До зв'язування GPCR з різними родинними МАП-кіназ можуть бути залучені субодиниці  $\alpha$  та  $\beta\gamma$  G-білка, а також *Src* та *арестини* – білки, що також беруть участь у процесі GPCR. Система МАП-кіназ контролює багато процесів, що стосуються експресії генів, поділу клітин, апоптозу та регенерації тканин.

#### ПОДАЛЬШИЙ РОЗВИТОК БІОЛОГІЇ GPCR

▼ До початку 1990-х років ми вважали, що більш-менш зрозуміли функції GPCR, які було розглянуто вище. Відтоді сюжет став заплутанішим, і подальший розвиток подій потребував суттєвого перегляду вихідної моделі.

#### Десенсibilізація GPCR

▼ Як описано в розд. 2, десенсibilізація є особливістю більшості GPCR, і механізми, що лежать в її основі, ґрунтовно вивчалися. Гомологічна десенсibilізація обмежена рецепторами, активованими десенсibilізуювальним агоністом, тоді як гетерологічна десенсibilізація додатково впливає на інші GPCR. Задіяно два основні процеси (див.: Kelly et al., 2008):

- фосфорилювання рецепторів;
- інтерналізація рецепторів (ендоцитоз).

Послідовність GPCR містить певні залишки (серин та треонін), переважно у C-кінцевому цитоплазматичному хвості, які можуть фосфорилюватися за допомогою специфічних GPCR-кіназ (GRK) і таких кіназ, як PKA та PKC.

Після активації рецептора GRK2 і GRK3 заповнюють плазматичну мембрану шляхом зв'язування з вільними субодиницями  $\beta\gamma$  G-білка. Потім GRK фосфорилюють рецептори в їхньому активованому (тобто зв'язаному з агоністами) стані. Фосфорилюваний рецептор слугує сайтом зв'язування для арестинів, внутрішньооклітинних білків, які блокують взаємодію між рецептором і G-білками, що приводить до селективної гомологічної десенсibilізації. Зв'язування арестину також націлене на рецептор для ендоцитозу в ямках, оточених клатрином (рис. 3.16). Потім інтерналізований рецептор може або дефосфорилюватися та повторно вставлятися в клітинну мембрану (ресенсibilізація), або передаватися в лізосоми для

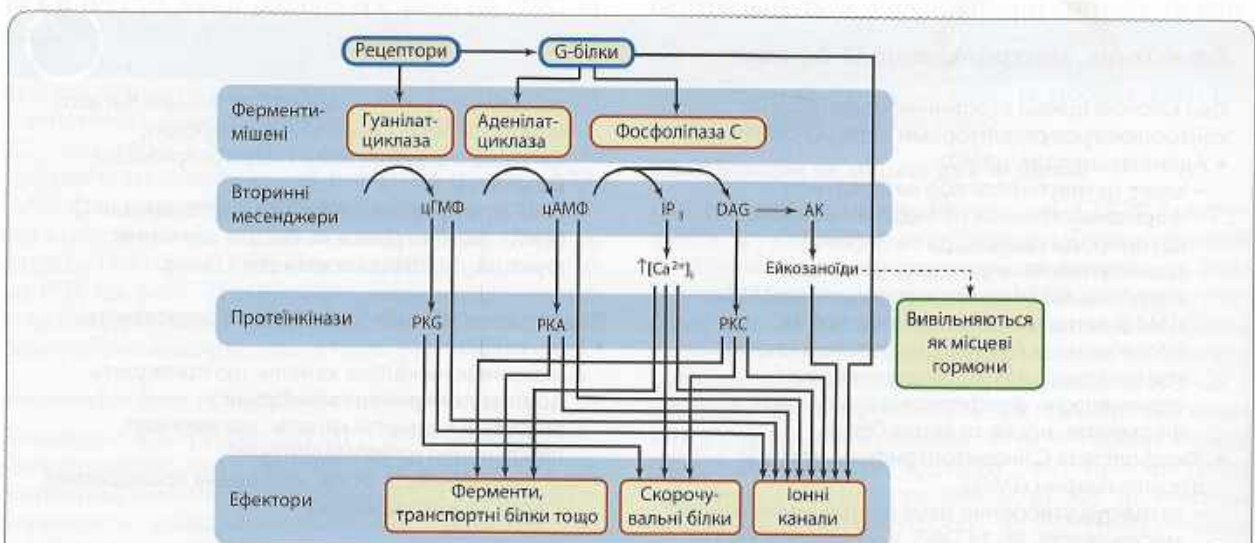
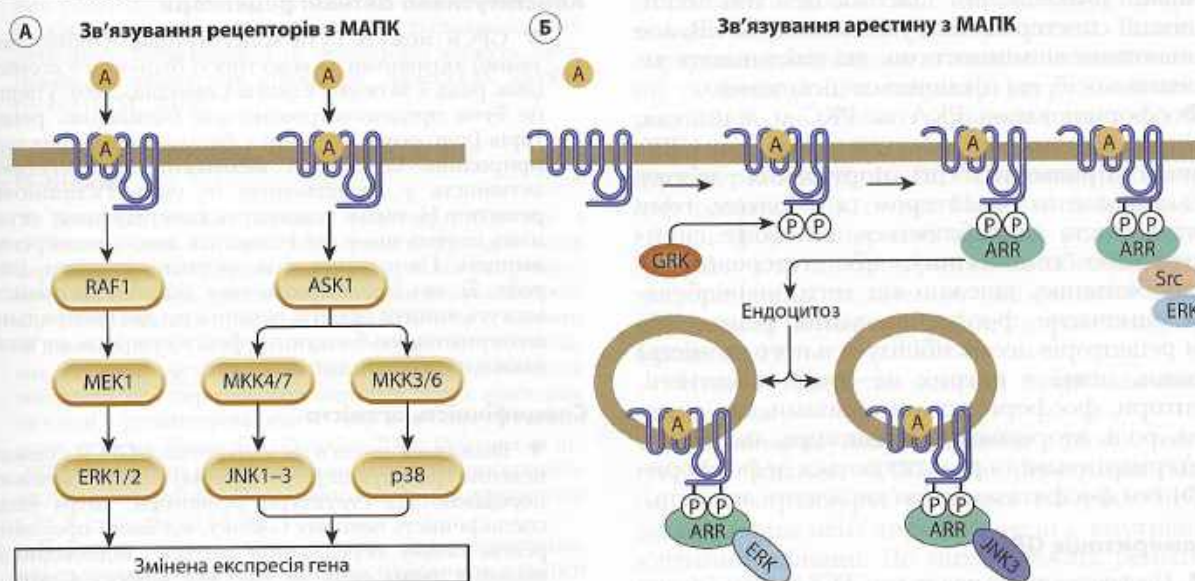
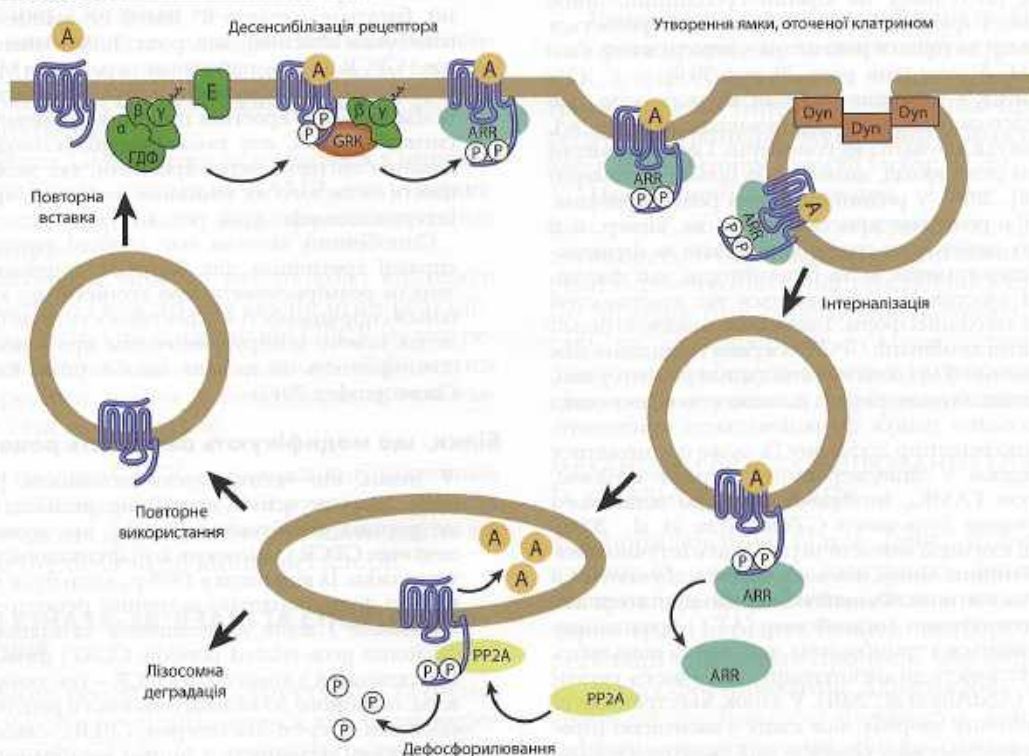


Рис. 3.14 Контроль клітинних ефекторних систем G-білками та вторинними месенджерами. На цій діаграмі не показано сигнальні шляхи, де арестини, а не G-білки, з'єднуються з рецепторами, зв'язаними з G-білками, та подальші події (див. текст та рис. 3.15). АК – арахідонова кислота; DAG – діацилгліцерин;  $IP_3$  – інозитолтрифосфат





**Рис. 3.15** Активація мітоген-активованого протеїнкіназного (МАПК) шляху рецептором, зв'язаним з G-білком (GPCR). **А.** Послідовна активація множинних компонентів МАПК шляху, до активації МАПК-кіназ за допомогою GPCR можуть бути залучені субодиниці  $G\alpha$  та  $G\beta$  (не показано). **Б.** Активація ERK та JNK3 через взаємодію з арестинами (pARR). Активація ERK може відбуватися або на клітинній мембрані із залученням Src, або безпосередньо після інтерналізації комплексу рецептор/арестин. ARR – арестин; GRK – кіназа рецептора, зв'язаного з G-білком



**Рис. 3.16** Десенсібілізація та міграція рецепторів, зв'язаних з G-білками (GPCR). За тривалої активації агоніста GPCR селективні кінази GPCR (GRK) заповнюють плазматичну мембрану та фосфорилують рецептор. Потім арестин (ARR) пов'язує та передає GPCR до ямок, оточених клатрином, для подальшої інтерналізації в ендосоми в межах динамін-залежного процесу. Далі GPCR дефосфорилується фосфатазою (PP2A) і повертається назад у плазматичну мембрану або передається в лізосоми для деградації. Dyn – динамін; GRK – кіназа рецептора, зв'язаного з G-білком; PP2A – фосфатаза 2A



деградації (*інактивзації*). Здається, цей тип десенсibilізації спостерігається у більшості GPCR, але з незначними відмінностями, які викликають захоплення в осіб, які цікавляться цією темою.

Фосфорилування PKA та PKC у залишках, відмінних від тих, на які спрямовано дію GRK, зазвичай призводить до порушення зв'язку між активованим рецептором та G-білком, тому ефект агоніста послаблюється. Це може спричинити або гомологічну, або гетерологічну десенсibilізацію, залежно від того, чи відбувається одночасне фосфорилування рецепторів (крім рецепторів десенсibilізувального агоніста) кіназами, деякі з котрих не дуже селективні. Рецептори, фосфорильовані кіназами, що виконують роль вторинного месенджера, ймовірно, не інтерналізовані та реактивуються дефосфорилуванням фосфатазами при видаленні агоніста.

### Олігомеризація GPCR

▼ Попередня думка про те, що GPCR існують і функціонують як мономерні білки (на відміну від іонних каналів, які зазвичай містять мультимерні комплекси; див. с. 32), була вперше заперечена під час досліджень рецептора ГАМК<sub>A</sub>. Є два підтипи цього GPCR, кодовані різними генами, а функціональний рецептор складається з гетеродимера обох підтипів (див. розд. 39). Аналогічна ситуація виникає з рецепторами глутамату, зв'язаними з G-білком. Як не дивно, хоча димер ГАМК<sub>A</sub> має два потенційні сайти зв'язування агоністів, по одному на кожній субодиноці, лише один з них є функціональним, і сигнал передається через димер до іншого рецептора в димері, який з'єднується з G-білком (див. розд. 39, рис. 39.9).

Інші GPCR є функціональними як мономери, але нині видається ймовірним, що більшість, якщо не всі, GPCR можуть існувати і як гомомерні, і як гетеромерні олігомери (наприклад, димери або більші олігомери) (Ferre et al., 2015). У родині опіоїдних рецепторів (див. розд. 43)  $\mu$ -рецептор кристалізувався як димер, а в клітинних лініях було створено стабільні та функціональні гетеродимери  $\kappa$ - та  $\delta$ -рецепторів, чия фармакологічні властивості відрізняються від властивостей будь-якої з вихідних форм. Також було виявлено більш різноманітні комбінації GPCR, зокрема поєднання між дофаміновими (D<sub>2</sub>) і соматостатиновими рецепторами, на які обидва ліганди діють із підвищеною ефективністю. Подальший пошук функціональних призначень показав, що рецептор дофаміну D<sub>2</sub> може поєднуватися безпосередньо з лігандкерованим іонним каналом, рецептором ГАМК<sub>A</sub>, інгібуючи функцію останнього без втручання будь-якого G-білка (Liu et al., 2000). Донині ці взаємодії вивчали переважно в штучно створених клітинних лініях, але вони також відбуваються в природних клітинах. Функціональні димерні комплекси між рецепторами ангіотензину (AT<sub>1</sub>) і брадикініну (B<sub>2</sub>) трапляються в тромбоцитах людини та виявляють більшу чутливість до ангіотензину, ніж «чисті» рецептори AT<sub>1</sub> (Abdalla et al., 2001). У жінок, які страждають на гіпертонічну хворобу, пов'язану з вагітністю (пре-еклампсична токсемія), кількість цих димерів збільшується внаслідок підвищеної експресії рецепторів B<sub>2</sub>, що викликає, як не парадоксально, підвищену чутливість до судинозвужувальної дії ангіотензину.

Поки що рано говорити, який саме вплив на звичайну фармакологію та терапевтичні засоби матиме ця нещодавно виявлена універсальність GPCR у зв'язуванні з іншими рецепторами для утворення функціональних комбінацій, але він може бути значним.

### Конститутивно активні рецептори

▼ GPCR можуть бути конститутивно (тобто спонтанно) активними за відсутності будь-якого агоніста (див. розд. 2 та огляд: Costa & Cotecchia, 2005). Уперше це було продемонстровано для  $\delta$ -опіоїдних рецепторів (див. розд. 43). Нині є багато інших прикладів природних GPCR, які виявляють конститутивну активність у дослідженнях *in vitro*. Гістаміновий рецептор H<sub>2</sub> також демонструє конститутивну активність *in vivo*, що може виявитись доволі поширеним явищем. Це означає, що зворотні агоністи (див. розд. 2), які пригнічують таку основну активність, можуть чинити ефекти, відмінні від дій нейтральних антагоністів, які блокують ефекти агоністів, не впливаючи на основну активність.

### Специфічність агоніста

▼ Вважалося, що зв'язок конкретного GPCR з певним шляхом трансдукції (передавання) сигналу залежить переважно від структури рецептора, котра надає специфічність певному G-білку, від якого проходить решта шляху передавання сигналу. Відповідно до моделі з двома станами, про яку йшлося в розд. 2, це означатиме, що всі агоністи, які діють на певний рецептор, стабілізують однаковий активований стан (R\*) і мають активувати той самий шлях трансдукції сигналу та продукувати однаковий тип клітинної відповіді. Нині стало зрозуміло, що це надмірне спрощення. У багатьох випадках, наприклад з агоністами, які діють на рецептори ангіотензину, або зворотними агоністами, що діють на  $\beta$ -адренорецептори, клітинні ефекти якісно відрізняються для різних лігандів, що свідчить про існування більше ніж одного – ймовірно, багатьох – станів R\* (іноді це явище називають *однобічним агонізмом*; див. розд. 2). Зв'язування арестинів з GPCR ініціює передавання сигналів MAP-кінази таким чином, що агоністи, котрі індукують десенсibilізацію GRK/арестин, припиняють певну кількість сигналів GPCR, але також здатні активувати передавання сигналів через арестини, яке може тривати навіть після того, як комплекс рецептор/арестин був інтерналізований (див. рис. 3.15).

Однобічний агонізм має глибокі наслідки – насправді еретичний для багатьох фармакологів, які звикли розмірковувати про агоністи під кутом зору їхньої спорідненості й ефективності та не більше, він додав нового виміру уявленням про ефективність і специфічність лікарських засобів (див.: Kenakin and Christopoulos, 2013).

### Білки, що модифікують активність рецепторів

▼ Білки, що модифікують активність рецепторів (*англ.* receptor activity-modifying proteins, RAMP), – це родина мембранних білків, які асоціюються з деякими GPCR і змінюють їхні функціональні характеристики. Їх відкрили в 1998 р., коли було встановлено, що функціонально активний рецептор *пептиду, пов'язаного з геном нейропептиду кальцитоніну* (*англ.* calcitonin gene-related peptide, CGRP) (див. розд. 16 і 19), складався з комплексу GPCR – так званого рецептора, подібного до кальцитонінового рецептора (*англ.* calcitonin receptor-like receptor, CRLR), – якому окремо бракувало активності, з іншим мембранним білком (RAMP1). Більш дивно, що CRLR у поєднанні з іншим RAMP (RAMP2) продемонстрував абсолютно інші фармакологічні властивості, активуючись незв'язаним пептидом, *адреномедуліном*. Іншими словами, специфічність агоністу надає як пов'язаний RAMP, так і сам GPCR. Було виявлено більше RAMP, і досі майже всі приклади стосуються пептидних рецепторів класу B (див. табл. 3.2), виняток – кальцій-чутли-



вий рецептор. RAMP є прикладом того, як взаємодія білків у край вибірково впливає на фармакологічну поведінку рецепторів, і ці рецептори можуть бути новою мішенню для створення лікарських засобів (Sexton et al., 2012).

### Передавання сигналів, що не залежить від G-білків

▼ Використовуючи термін «рецептор, зв'язаний з G-білком», щоб описати клас рецепторів, для яких характерна семиспіральна структура, ми дотримуємося переконань, загальноприйнятих для посібників, але нехтуємо тим фактом, що G-білки не є єдиним зв'язком між GPCR та різними ефекторними системами, які вони регулюють. У цьому контексті важливе значення має передавання сигналів через арестини, зв'язані з рецептором (див. с. 44), а не через G-білки (див. огляди: Pierce & Lefkowitz, 2001; Delcourt et al., 2007). Арестини можуть виконувати роль посередника для активації МАП-кіназного шляху за допомогою GPCR (див. рис. 3.15, б).

Є багато прикладів, коли різні «білки-адаптери», які зв'язують рецептори типу тирозинкінази з їхніми ефекторами (див. далі), також можуть взаємодіяти з GPCR (див.: Brzostowski & Kimmel, 2001), що дає змогу регулювати ті самі ефекторні системи рецепторами будь-якого типу.

Отже, проста думка, яка лягла в основу нашого розуміння GPCR, а саме: один ген GPCR – один білок GPCR – один функціональний GPCR – один G-білок – одна відповідь, – демонструє чіткі ознаки застарілості. Зокрема:

- один ген (завдяки альтернативному сплайсингу, редагуванню РНК тощо) може давати поштовх для розвитку понад одного рецепторного білка;
- один білок GPCR може зв'язуватися з іншими типами білків, такими як RAMP, для утворення більше ніж одного типу функціональних рецепторів;
- різні агоністи можуть неоднаково впливати на рецептор і викликати якісно різні реакції;
- шлях трансдукції сигналу від GPCR не потребує виключно G-білків, і може відбуватися перехресний зв'язок з рецепторами, пов'язаними з тирозинкіназою.

Очевидно, що GPCR – універсальні та сміливі молекули, навколо яких обертається значна частина сучасної фармакології, та ніхто навіть не думає, що ми дійшли до кінця цієї історії.

### 3-Й ТИП: КІНАЗА-ЗВ'ЯЗАНІ ТА СПОРІДНЕНІ РЕЦЕПТОРИ

Ці мембранні рецептори за структурою та функцією доволі сильно відрізняються від лігандкеруваних каналів і GPCR. Їх активують різноманітні білкові медіатори, включно з факторами росту й цитокінами (див. розд. 19), та гормони, такі як інсулін (див. розд. 32) і лептин (розд. 33), ефекти яких проявляються переважно на рівні транскрипції генів. Більшість зазначених рецепторів – великі білки, які складаються з єдиного ланцюга до 1000 залишків, з єдиною трансмембранною

спіральною ділянкою, що пов'язує великий позаклітинний лігандзв'язувальний домен з внутрішньоклітинним доменом змінної величини та функції. Основну структуру показано на рис. 3.3, В, але є багато варіантів (див. далі). Було клоновано понад 100 таких рецепторів, і є чимало структурних варіацій. Щоб отримати детальнішу інформацію, див. огляд: Hubbard & Miller, 2007. Ці рецептори відіграють важливу роль у контролі поділу клітин, проміжного метаболізму, росту, диференціації, запалення, відновлення тканин, апоптозу та імунних реакцій, що розглянуто далі в розд. 6 і 19.

Нижче наведено основні типи зазначених рецепторів:

**Рецепторні тирозинкінази** (англ. receptor tyrosine kinases, RTK). Ці рецептори мають основну структуру, показану на рис. 3.17, А, зокрема фрагмент тирозинкінази у внутрішньоклітинній ділянці. До них належать рецептори багатьох факторів росту, таких як **епідермальний фактор росту та фактор росту нервів**, та група **TLR**, які розпізнають бактеріальні ліпополісахариди та відіграють важливу роль у реакції організму на інфекцію (див. розд. 7). Інсуліновий рецептор (див. розд. 32) також входить до класу RTK, хоча має складнішу димерну структуру та побічно зв'язується з внутрішньоклітинними тирозинкіназами.

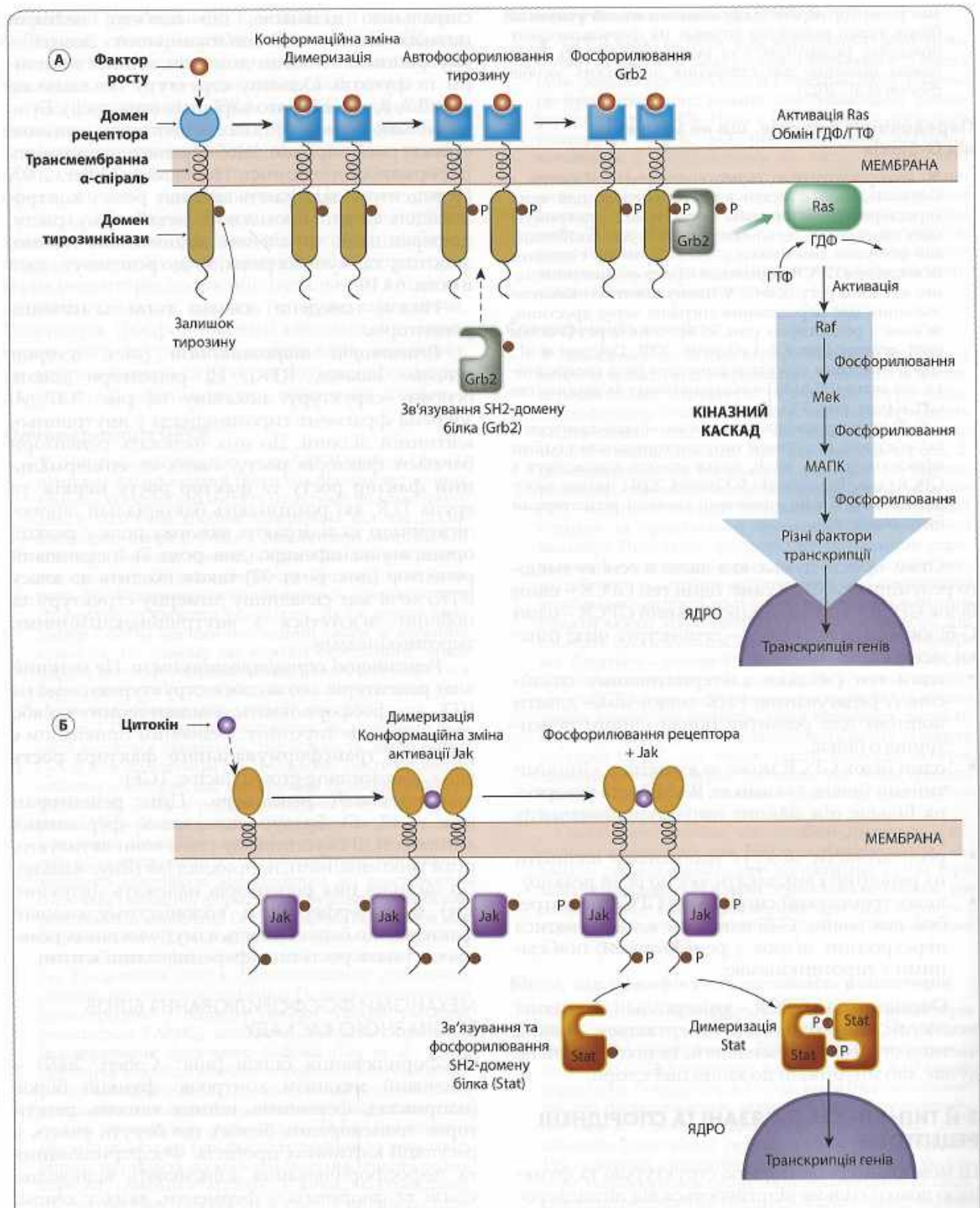
**Рецепторні серин/треонінкінази.** Це менший клас рецепторів, що за своєю структурою схожі на RTK, але фосфорилують залишки серину та/або треоніну, а не тирозину. Основним прикладом є рецептор **трансформувального фактора росту** (англ. transforming growth factor, TGF).

**Цитокінові рецептори.** Цим рецепторам (рис. 3.17, Б) бракує справжньої ферментної активності. В окупованому стані вони активують різні тирозинкінази, наприклад Jak (Янус-кіназу). До лігандів цих рецепторів належать цитокіни, такі як інтерферони і колоніестимулювальні фактори, що беруть участь в імунологічних реакціях, а також рості та диференціюванні клітин.

### МЕХАНІЗМИ ФОСФОРИЛЮВАННЯ БІЛКІВ ТА КІНАЗНОГО КАСКАДУ

Фосфорилування білків (див.: Cohen, 2002) – ключовий механізм контролю функції білків (наприклад, ферментів, іонних каналів, рецепторів, транспортних білків), що беруть участь у регуляції клітинних процесів. Фосфорилування та дефосфорилування здійснюють відповідно *кінази* та *фосфатази* – ферменти, яких у геномі людини представлено кілька сотень підтипів і які самі підлягають регуляції залежно від їхнього статусу фосфорилування. Нині докладється багато зусиль для створення схеми складних взаємодій між сигнальними молекулами, які беруть участь у дії лікарських засобів, та патофізіологічними процесами, такими як онкогенез, нейродегенерація, запалення тощо. Тут ми можемо





**Рис. 3.17** Механізми трансдукції кіназа-зв'язаних рецепторів. Першим кроком після зв'язування агоністів є димеризація, яка приводить до автофосфорилування внутрішньоклітинного домену кожного рецептора. Потім SH2-доменні білки зв'язуються з фосфорильованим рецептором і самі фосфорильовуються. Показано два добре охарактеризовані шляхи. **А.** Шлях фактора росту (Ras/Raf/мітоген-активована протеїнкіназа [МАП-кіназа]) (також див. розд. 6). Grb2 також може бути фосфорильований, але це негативно регулює його сигналізацію. **Б.** Спрощена схема шляху цитокінів (Jak/Stat) (також див. розд. 19). Деякі цитокінові рецептори можуть попередньо існувати як димери, а не димеризуватися при зв'язуванні цитокінів. Є кілька інших шляхів, і ці каскади фосфорилування взаємодіють із компонентами систем G-білків



### Кіназа-зв'язані рецептори



- Рецептори різних факторів росту містять тирозинкіназу у своєму внутрішньоклітинному домені.
- Цитокінові рецептори мають внутрішньо-клітинний домен, який зв'язує та активує цитозольні кінази, коли рецептор захоплений.
- Усі рецептори мають спільну архітектуру з великим позаклітинним лігандзв'язувальним доменом, з'єднаним через єдину мембранну спіраль з внутрішньоклітинним доменом.
- Трансдукція сигналу зазвичай передбачає димеризацію рецепторів з подальшим автофосфорильованням залишків тирозину. Залишки фосфотирозину діють як акцептори доменів SH2 різних внутрішньоклітинних білків, що дає змогу контролювати багато функцій клітин.
- Вони переважно беруть участь у подіях, що контролюють ріст та диференціацію клітин, і діють опосередковано, регулюючи транскрипцію генів.
- Є два важливі шляхи:
  - шлях Ras/Raf/МАР-кіназа, важливий для поділу, росту та диференціації клітин;
  - шлях Jak/Stat, активований багатьма цитокінами, який контролює синтез та вивільнення багатьох медіаторів запалення.

навести лише кілька фармакологічно важливих аспектів того, що перетворилося на величезну тему.

У багатьох випадках зв'язування ліганду з рецептором приводить до димеризації. Поєднання двох внутрішньоклітинних доменів кінази уможливорює взаємне автофосфорильовання внутрішньоклітинних залишків тирозину. Потім фосфорильовані залишки тирозину слугують сайтами докінгу з високою спорідненістю для інших внутрішньоклітинних білків, які формують наступну стадію в каскаді передавання сигналу. Одна важлива група таких білків відома як *SH2-доменні білки* (що означає гомологію *Src*, оскільки їх вперше було ідентифіковано в онкогенному продукті *Src*)<sup>16</sup>. Вони мають висококонсервативну послідовність, що містить близько 100 амінокислот, утворюючи сайт розпізнавання для фосфотирозинових залишків рецептора. Окремі SH2-доменні білки, яких зараз відомо багато, селективно зв'язуються з певними рецепторами, тому характер подій, спричинених деякими факторами росту, є дуже специфічним. Механізм узагальнено на рис. 3.17.

<sup>16</sup> v-Src – ген, виявлений у вірусі саркоми Рауса, який кодує тирозинкіназу, що спричиняє саркому (злоякісну пухлину) у курей, – з'ясовано, що цей ген має споріднену послідовність із власним геном курки, який називається c-Src (для клітинних, а не вірусних Src). Це був перший відкритий онкоген (у 1979 р.).

Те, що відбувається, коли SH2-доменний білок зв'язується з фосфорильованим рецептором, сильно варіює залежно від залученого рецептора; багато SH2-доменних білків є ферментами, такими як протеїнкінази або фосфоліпази. Деякі фактори росту активують певний підтип фосфоліпази C (PLC $\gamma$ ), спричиняючи розпад фосфоліпідів, утворення IP $_3$  та вивільнення Ca $^{2+}$  (див. с. 40). Інші білки, які містять SH2, поєднують фосфотирозинумісні білки з великою кількістю інших функціональних білків, зокрема багатьма білками, що беруть участь у контролі клітинного поділу та диференціації. Кінцевим результатом є активація або пригнічення шляхом фосфорильовання різноманітних факторів транскрипції, які мігрують до ядра та інгібують або індують експресію певних генів. Детальнішу інформацію можна знайти у публікації: Jin and Pawson, 2012. *Ядерний фактор kappa B (NFkB)* – фактор транскрипції, який відіграє ключову роль при множинних розладах, зокрема запаленні та раку (див. розд. 18 і 57; Karin et al., 2004). Зазвичай він наявний у цитозолі, в комплексі з інгібітором (I $\kappa$ B). Фосфорильовання I $\kappa$ B відбувається, коли певна кіназа (IKK) активується у відповідь на дію різних запальних цитокінів та агоністів GPCR. Це призводить до дисоціації I $\kappa$ B від NFkB та міграції NFkB до ядра, де він збуджує різні прозапальні й антиапоптичні гени.

▼ Два чітко визначені шляхи передавання сигналу схематично зображено на рис. 3.17. Шлях Ras/Raf опосередковує вплив багатьох факторів росту та мітогенів. Ras, який є протоонкогенним продуктом, функціонує як G-білок і передає сигнал (за допомогою обміну ГДФ/ГТФ) від білка домену SH2, Grb. Активація Ras, у свою чергу, активує Raf, що є першим із послідовності трьох серин/треонінкіназ, кожна з яких фосфорильовує та активує наступну по черзі. Остання з них, МАР-кіназа (яка також активується GPCR, див. раніше), фосфорильовує один або кілька факторів транскрипції, які ініціюють експресію генів, що приводить до різноманітних клітинних реакцій, зокрема поділу клітин. Цей трирівневий МАР-кіназний шлях є частиною багатьох внутрішньоклітинних сигнальних шляхів, що беруть участь у різноманітних процесах захворювання, зокрема виникненні злоякісних пухлин, запалення, нейродегенерації, атеросклерозі тощо. Кінази утворюють велику родину з різними підтипами, які виконують певні ролі. Вважають, що вони є важливою мішенню для майбутніх терапевтичних засобів. Багато видів раку пов'язані з мутаціями в генах, котрі кодують білки, які беруть участь у цьому каскаді, що призводить до активації каскаду за відсутності сигналу фактора росту (див. розд. 6 і 57). Щоб отримати детальнішу інформацію, див. огляд Avruch, 2007.

Другий шлях, шлях Jak/Stat (див. рис. 3.17, B), активується у відповідь на утворення великої кількості цитокінів. Димеризація цих рецепторів відбувається, коли зв'язується цитокін, і це привертає цитозольну одиницю тирозинкінази (Jak), яка зв'язується з димером рецептора та фосфорильовує. Як належать до родини білків, різні члени якої виявляють специфічність до різних рецепторів цитокінів. Серед мішеней для фосфорильовання Jak – родина факторів транскрипції (Stats). Ці SH2-доменні білки, які зв'язуються з фосфотирозиновими групами на комплексі «рецеп-



тор-Як» і самі фосфорилуються. Активовані таким чином, Stat мігрує до ядра та активує експресію генів.

Інші важливі механізми зосереджуються на *фосфатидилінозитол-3-кіназі* (ФІ<sub>3</sub>-кіназа, див.: Vanhaesebroeck et al., 1997), убіквітарній родині ферментів, що активується як GPCR, так і RTK та приєднує фосфатну групу до положення 3 PIP<sub>2</sub>, утворюючи PIP<sub>3</sub>. Інші протеїнкінази, особливо протеїнкіназа В (PKB<sup>17</sup>, також відома як Akt), мають сайти розпізнавання для PIP<sub>3</sub> і, таким чином, активуються, контролюючи широкий спектр клітинних функцій, зокрема апоптоз, диференціацію, проліферацію та міграцію. Akt також зумовлює активацію NO-синтази в ендотелії судин (див. розд. 21).

Нещодавні дослідження шляхів трансдукції сигналу дали надлишок молекулярних подробиць, які збивають з пантелику, часто сформульованих такою професійною мовою, що здатна відстрашити слабкодушких. Однак наполегливість буде винагороджено, оскільки немає сумнівів, що важливі нові лікарські засоби, особливо в галузі запалення, імунології та раку, будуть з'являтися саме в результаті націлювання на ці білки. Прогрес у лікуванні хронічного мієлоїдного лейкозу відбувся завдяки появі першого безпосередньо розробленого інгібітора кінази – **іма-тинібу**, лікарського засобу, що інгібує специфічну тирозинкіназу, яка бере участь у патогенезі захворювання (див. розд. 57).

На рис. 3.18 дуже спрощено та схематично показано центральну роль протеїнкіназ у шляхах передавання сигналу. Чимало, якщо не всі, задіяних білків, включно з рецепторами та самими кіназами, – це субстрати для кіназ, тому є дуже багато механізмів зворотного зв'язку та взаємного впливу між різними сигнальними шляхами. З огляду на те, що є понад 500 протеїнкіназ і така сама велика кількість рецепторів та інших сигнальних молекул, мережа взаємодій може мати надзвичайно складний вигляд. Розгляд подробиць став основною темою клітинної біології. Для фармакологів ідея простого зв'язку між рецептором та реакцією, яка керувала науковою думкою у ХХ ст., без сумніву, руйнується, хоча мине певний час, перш ніж складності сигнальних шляхів увійдуть до нового способу мислення про дію лікарських засобів.

#### 4-Й ТИП: ЯДЕРНІ РЕЦЕПТОРИ

До 1970-х років було з'ясовано, що рецептори до стероїдних гормонів, таких як естроген та глюкокортикоїди (розд. 36 і 34), наявні в цитоплазмі клітин і транслокуються в ядро після зв'язування зі своїм стероїдним партнером. Встановлено, що інші гормони, такі як гормон щитоподібної залози T<sub>3</sub> (розд. 35) та жиророзчинні вітаміни D та A (ретиноєва кислота), діють аналогічним чином. Порівняння даних про генні та білкові послідовності зумовило визнання того, що ці рецептори є членами набагато більшої родини споріднених

#### Фосфорилювання білка при передаванні сигналу



- До багатьох опосередкованих рецепторами подій входить фосфорилювання білка, яке контролює функціональні та зв'язувальні властивості внутрішньоклітинних білків.
- Тирозинкінази, зв'язані з рецепторами, тирозинкінази, активовані циклічними нуклеотидами, та внутрішньоклітинні серин/треонінкінази містять механізм «кіназного каскаду», що приводить до посилення опосередкованих рецепторами подій.
- Є багато кіназ з різною специфічністю субстратів, що забезпечує специфічність шляхів, активованих різними гормонами.
- Десенсибілізація рецепторів, зв'язаних з G-білками, відбувається в результаті фосфорилювання специфічними рецепторними кіназами, що приводить до того, що рецептор стає нефункціональним та інтерналізується.
- Є велика родина фосфатаз, які діють на дефосфорилювання білків і цим зворотно впливають на кінази.

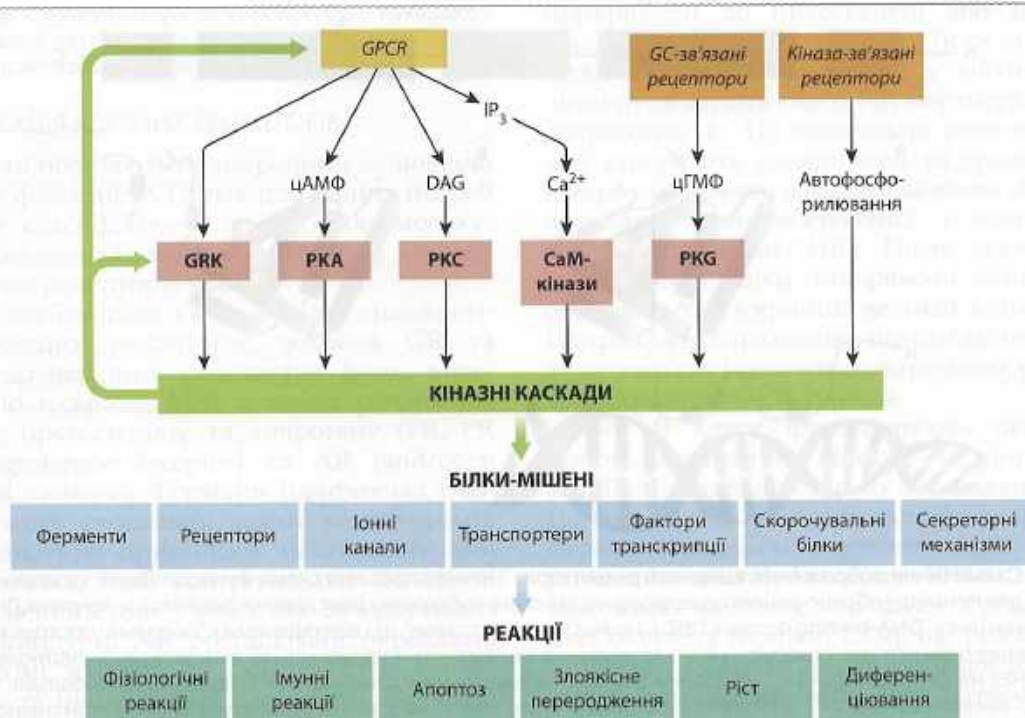
білків. Нині ми знаємо їх як *родину ядерних рецепторів* (англ. nuclear receptor, NR).

Окрім NR, таких як рецептори глюкокортикоїдів та ретиноєвої кислоти, ліганди яких добре охарактеризовані, ця родина охоплює велику кількість (~40 %) орфанних рецепторів – рецепторів без відомих чітко визначених лігандів (див. раніше). Перший із них було описано в 1990-х роках, це був *ретиноїдний X рецептор* (англ. retinoid X receptor, RXR) – рецептор, клонований на основі його подібності з рецептором вітаміну А, а згодом було встановлено, що він зв'язує похідну вітаміну А – 9-цис-ретиноєву кислоту. Ця подія викликала чималий інтерес до галузі NR, і протягом наступних років для багатьох NR («усиновлених сиріт», наприклад RXR) було охарактеризовано конкретних партнерів у зв'язуванні, хоча у випадку з багатьма іншими рецепторами («справжніми сиротами») їхніх партнерів ще належить ідентифікувати – або, можливо, їх навіть не існує як таких, оскільки однією з можливих функцій цих рецепторів є їхня «безладна» здатність зв'язуватися з багатьма спорідненими сполуками (такими як аліментарні фактори) з низьким афінитетом.

На відміну від інших рецепторів, описаних у цьому розділі, NR здатні взаємодіяти з ДНК безпосередньо й можуть розглядатися як *активовані лігандом фактори транскрипції*, які діють шляхом модифікації транскрипції генів. За допомогою цього механізму вони здатні контролювати транскрипцію та експресію багатьох генів і білків, тому, як можна уявити, є ключовими в регуляції обмінних процесів, процесів розвитку та інших важливих фізіологічних процесів. Ще однією унікальною властивістю NR є те, що вони зазвичай

<sup>17</sup> Протеїнкіназу В так назвали, щоб заповнити проміжок між протеїнкіназою А (залежною від цАМФ) та протеїнкіназою С (Ca<sup>2+</sup>-залежною). Як бачите, номенклатура відрізняється неабиякою увагою!





**Рис. 3.18** Центральна роль кіназних каскадів у трансдукції сигналу. Кіназні каскади (наприклад, зображені на рис. 3.15) активуються рецепторами, зв'язаними з G-білками (GPCR), або безпосередньо, або через різні вторинні месенджери, рецепторами, що генерують цГМФ, або кіназа-зв'язаними рецепторами. Кіназні каскади регулюють різні білки-мішені, які, у свою чергу, створюють широкий спектр коротко- та довгострокових ефектів. *CaM-кіназа* –  $Ca^{2+}$ /кальмодулінозалежна кіназа; *DAG* – діацилгліцерин; *GC* – гуанілатциклаза; *GRK* – GPCR-кіназа; *IP<sub>3</sub>* – інозитолтрифосфат; *PKA* – цАМФ-залежна протеїнкіназа; *PKC* – протеїнкіназа C; *PKG* – цГМФ-залежна протеїнкіназа

не вбудовані в мембрани, як GPCR або іонні канали, але наявні в інших відділах клітини. Деякі, зокрема стероїдні рецептори, що переважно містяться в цитоплазмі, активуються своїм лігандом і транслокуються із цитоплазми в ядро, тоді як інші, наприклад RXR, ймовірно, містяться здебільшого в ядерному відділі. Разом із тим, доступно все більше доказів існування невеликих пулів деяких NR, таких як рецептори естрогену та глюкокортикоїдів (англ. oestrogen receptor, ER, і glucocorticoid receptor, GR), на плазматичній мембрані й у таких органелах, як мітохондрії (Levin and Hammes, 2016), де вони можуть впливати безпосередньо на інші мішені, у тому числі на протеїнкінази, щоб сприяти негайній біологічній дії.

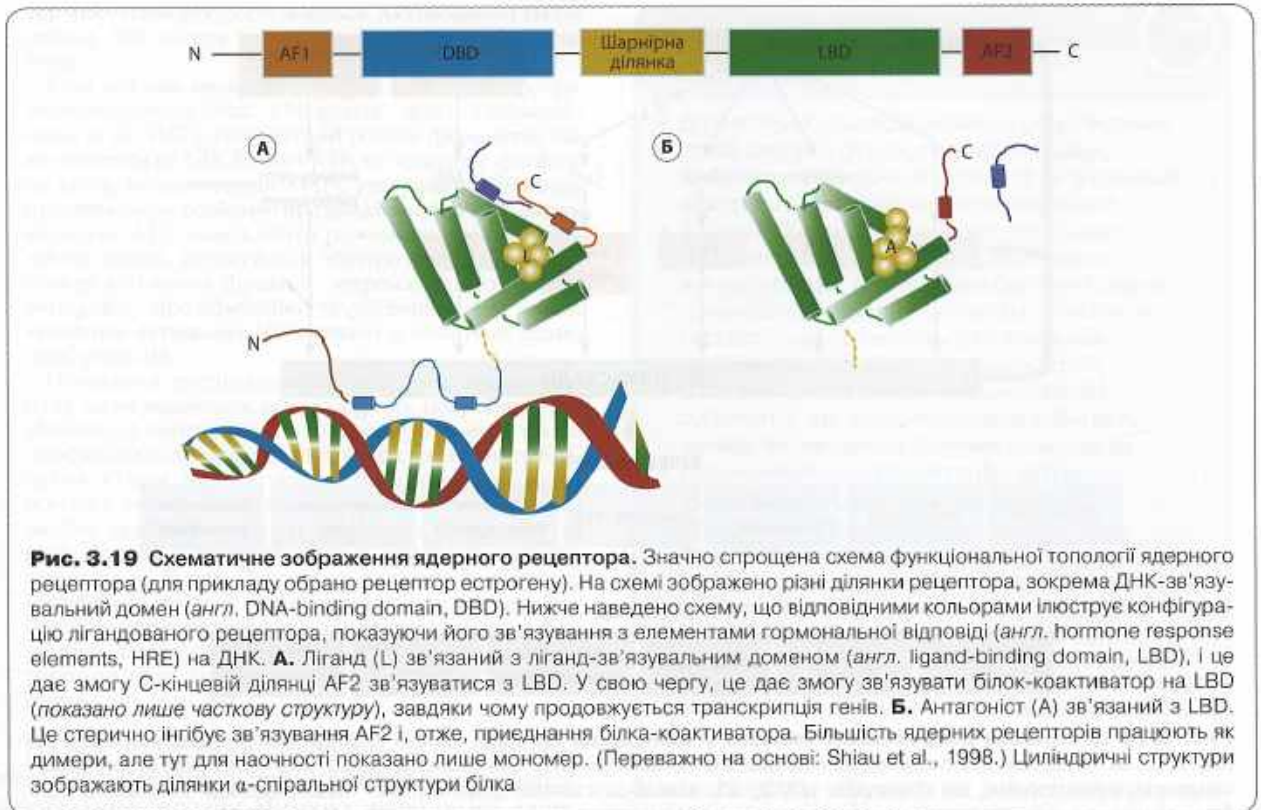
Надродина NR, ймовірно, еволюціонувала від одного віддаленого гена-предка шляхом дублювання та інших процесів. У людини налічується щонайменше 48 її членів, але більше білків може виникнути внаслідок альтернативних процесів сплайсингу. Хоча на NR припадає доволі незначна частка всіх рецепторів (менше 10 % від загальної кількості GPCR), вони є дуже важливими мішенями для лікарських засобів (Buttis et al., 2013) і відповідають за біологічні ефекти приблизно 10-15 % усіх рецептурних лікарських засобів. Вони здатні розпізнавати надзвичайно різноманітну групу речовин (переважно малі

гідрофобні молекули), які можуть виявляти повну або часткову агоністичну, антагоністичну або зворотну агоністичну активність. Деякі NR, що зв'язують свої ліганди з високою спорідненістю (наприклад, ER та GR), беруть участь переважно в ендокринному передаванні сигналів, але багато з них зв'язують ліганди з низькою спорідненістю та, можливо, діють як метаболічні (наприклад, ліпідні) сигналізатори. Таким чином, вони є критично важливими зв'язками між нашим аліментарним і метаболічним статусом та експресією генів, які регулюють метаболізм і розподіл ліпідів. NR також регулюють експресію багатьох ферментів, що метаболізують лікарські засоби, і транспортерів.

#### СТРУКТУРА ЯДЕРНИХ РЕЦЕПТОРІВ

▼ Усі NR – це мономерні білки (50–100 кДа), які мають приблизно аналогічну будову (детальнішу інформацію наведено на рис. 3.19 та в публікації: Bourguet et al., 2000). Найбільшу неоднорідність демонструє *N-кінцевий домен*. Він містить сайт *функції активації 1 (AF1)*, який зв'язується з іншими клітинно-специфічними факторами транскрипції незалежно від ліганду та змінює зв'язувальну або регуляторну здатність самого рецептора. За наявності ліганду він синергізується з *AF2*, утворюючи цілковито активний комплекс. Альтернативний сплайсинг генів може забезпечити кілька ізоформ рецепторів, кожна з яких матиме дещо різні *N-кінцеві ділянки*. *Основний домен* рецептора є дуже консервативним і складається зі





**Рис. 3.19** Схематичне зображення ядерного рецептора. Значно спрощена схема функціональної топології ядерного рецептора (для прикладу обрано рецептор естрогену). На схемі зображено різні ділянки рецептора, зокрема ДНК-зв'язувальний домен (англ. DNA-binding domain, DBD). Нижче наведено схему, що відповідними кольорами ілюструє конфігурацію лігандованого рецептора, показуючи його зв'язування з елементами гормональної відповіді (англ. hormone response elements, HRE) на ДНК. **А.** Ліганд (L) зв'язаний з ліганд-зв'язувальним доменом (англ. ligand-binding domain, LBD), і це дає змогу С-кінцевій ділянці AF2 зв'язуватися з LBD. У свою чергу, це дає змогу зв'язувати білок-коактиватор на LBD (показано лише часткову структуру), завдяки чому продовжується транскрипція генів. **Б.** Антагоніст (A) зв'язаний з LBD. Це стерично інгібує зв'язування AF2 і, отже, приєднання білка-коактиватора. Більшість ядерних рецепторів працюють як димери, але тут для наочності показано лише мономер. (Переважно на основі: Shiao et al., 1998.) Циліндричні структури зображають ділянки  $\alpha$ -спіральної структури білка

структури, відповідальної за розпізнавання та зв'язування ДНК. На молекулярному рівні він складається з двох петель, багатих на *цинкові пальці* – цистеїн (або цистин/гістидин), в амінокислотному ланцюзі, які утримуються в характерній конформації іонами цинку. Основною функцією зазначеної частини молекули є розпізнавання та зв'язування з елементами гормональної відповіді (англ. hormone response elements, HRE), розташованими в генах, які регулює ця родина рецепторів, але також вона відіграє роль у регулюванні димеризації рецепторів, що є вирішальним для функції більшості NR.

Це дуже гнучка *шарнірна ділянка* в молекулі, що дає їй змогу димеризуватися з іншими NR та регулює внутрішньо-клітинну міграцію рецептора. Вона може утворювати неоднакові за конфігурацією молекулярні комплекси, здатні по-різному взаємодіяти з ДНК. Нарешті, *С-кінцевий домен* містить *лігандзв'язувальний модуль* і є специфічним для кожного класу рецепторів, хоча й дуже консервативним за структурою. Це також важливо для димеризації та зв'язування білків коактиваторів та корепресорів (див. далі). Ділянка AF2 важлива для лігандзалежної активації і зазвичай дуже консервативна, хоча її немає в *Rev-erbAa* та *Rev-erbAb* – NR, які регулюють метаболізм (а також функціонують як частина циркадного механізму молекулярного годинника). Також поблизу С-кінця розташовані мотиви, що містять *сигнали ядерної локалізації* та інші, котрі у випадку деяких рецепторів можуть зв'язувати *додаткові білки теплового шоку* та інші білки.

#### КОНТРОЛЬ ТРАНСКРИПЦІЇ ГЕНІВ

▼ HRE – це короткі (зазвичай 4–6 пар основ) послідовності ДНК, з якими NR зв'язуються для модифікації транскрипції генів. Зазвичай вони симетрично розмі-

щені в парах або *напівсайтах*, хоча разом можуть бути розташовані по-різному (наприклад, *прості повтори* або *інвертовані повтори*). Кожен NR віддає перевагу певній *консенсусній послідовності* та нуклеотидному інтервалу між ними, але через родинну гомологію вони дуже схожі. У ядрі домен AF1 та AF2 зв'язаного з лігандом рецептора притягують великі комплекси інших білків, зокрема коактиватори або корепресори, для модифікації експресії генів. Деякі з цих коактиваторів – ферменти, що беруть участь у ремоделюванні хроматину, наприклад гістонацетилаза/гістондеацетилаза гістону, які разом з іншими ферментами регулюють розгортання ДНК, щоб полегшити доступ ферментів полімерази й, отже, транскрипцію генів. Комплекси корепресорів притягуються деякими рецепторами та містять гістондеацетилазу й інші фактори, які спричиняють ущільнення хроматину, перешкоджаючи подальшій активації транскрипції. Випадок *конститутивного андростан-рецептора* (англ. constitutive androstane receptor, CAR, див. далі) є особливо цікавим: як деякі G-білки, описані раніше в цьому розділі, CAR може утворювати конститутивно активний комплекс, який припиняє існування, коли він зв'язує свій ліганд. Механізми негативної регуляції генів за допомогою NR є особливо складними (належний опис цього явища наведено у публікації: Santos et al., 2011). На додаток до агоністів, NR також можуть бути націлені на конкурентні антагоністи, які запобігають окупації сайту зв'язування ендogenous лігандом, або на зворотні агоністи (чи антагоністи), які стерично перешкоджають зв'язуванню факторів коактиватора, зменшуючи тим самим конститутивну активність цих рецепторів. Дуже цікавим кроком уперед є ідентифікація селективних модюляторів рецепторів (наприклад, селективних модюляторів рецепторів естрогену – англ. selective oestrogen receptor modulators, SERM), які, змінюючи зв'язуван-



ня білків – коактиватора та корепресора, виявляють агоністичну активність в одних тканинах та антагоністичну активність в інших.

### КЛАСИФІКАЦІЯ ЯДЕРНИХ РЕЦЕПТОРІВ

NR зазвичай поділяють на підродини відповідно до їхнього філогенезу. Однак для наших потреб корисніше класифікувати їх на основі молекулярної дії на два основні класи (I та II) та дві інші менші групи рецепторів (III, IV).

Клас I здебільшого складається з ендокринних стероїдних рецепторів, зокрема GR та мінералокортикоїдних рецепторів (англ. mineralocorticoid receptors, MR), а також рецепторів естрогену, прогестерону та андрогену (ER, PR (англ. progesterone receptor) та AR (androgen receptor) відповідно). Гормони (наприклад глюкокортикоїди), розпізнані цими рецепторами, зазвичай діють за принципом негативного зворотного зв'язку, щоб контролювати біологічні події (докладніше див. у розд. 34). За відсутності їхнього ліганду ці NR розташовані переважно в цитоплазмі, входять до складу білків теплового шоку та інших білків і, можливо, зворотно

прикріплені до цитоскелета або інших внутрішньоклітинних структур. Після дифузії (або, можливо, транспортування) у клітину з крові ліганди зв'язують свого NR-партнера з високою спорідненістю. Ці лігандовані рецептори зазвичай утворюють гомодимери та транслюкуються в ядро, де можуть *трансактивувати* або *транспресувати* гени, зв'язуючись з «позитивними» або «негативними» HRE. Після зв'язування NR залучає інші білки, утворюючи комплекси, що сприяють транскрипції великої кількості генів. Наприклад, підраховано, що сам активований GR як прямо, так і опосередковано може регулювати транскрипцію ~ 1 % генома.

NR II класу функціонують дещо іншим чином. Зазвичай їхні ліганди – це ліпіди або інші метаболіти, певною мірою вже наявні в клітині. До цієї групи належать *активованій проліфераторами пероксисом рецептор* (англ. peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR), який розпізнає жирні кислоти; *печінковий X рецептор* (англ. liver oxysterol receptor, LXR), що розпізнає холестерин та діє як його індикатор, *фарнезоїдний рецептор X* (жовчної кислоти, англ. farnesoid receptor,

Таблиця 3.4 Деякі поширені фармакологічно значущі ядерні рецептори

Назва рецептора	Скорочення	Ліганд	Лікарські засоби	Місце розташування	Зв'язування ліганду	Механізм дії
<b>Тип I</b>						
Андроген	AR	Тестостерон	Усі природні й синтетичні глюкокортикоїди (розд. 34), мінералокортикоїди (розд. 30) та статеві стероїди (розд. 36), а також їхні антагоністи (наприклад, ралоксифен, 4-гідрокситамоксифен та міфепристон)	Цитозольний	Гомодимери	Транслокація в ядро. Зв'язування з HRE з двома напівсайтами з оберненою послідовністю. Рекрутинг (залучення) коактиваторів, факторів транскрипції та інших білків
Естроген	ER $\alpha$ , $\beta$	17 $\beta$ -естрадіол				
Глюкокортикоїд	GR $\alpha$	Кортизол, кортикостерон				
Прогестерон	PR	Прогестерон				
Мінералокортикоїд	MR	Альдостерон				
<b>Тип II</b>						
Ретиноїд X	RXR $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$	9-цис-ретиноєва кислота	Ретиноїдні лікарські засоби (розд. 28)	Ядерний	Гетеродимери часто з RXR	Зв'язування з HRE з двома напівсайтами з інвертованою або простою послідовністю повторення. У комплексі з корепресорами, які витісняються після зв'язування лігандів, що дає змогу зв'язувати коактиватори
Ретиноєва кислота	RAR $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$	Вітамін A				
Гормон щитоподібної залози	TR $\alpha$ , $\beta$	T3, T4	Препарати гормонів щитоподібної залози (розд. 35)			
Проліфератор пероксисом	PPAR $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$ , $\delta$	Жирні кислоти, простагландини	Розиглітазон, піоглітазон (розд. 32)			
Конститутивний андростан	CAR	Андростан	Стимуляція синтезу CYP та зміна метаболізму лікарських засобів (розд. 10)			
Прегнан X	PXR	Ксенобіотики				

Наведено лише приклади I та II класів



FXR); *ксенобіотичний рецептор X* (англ. xenobiotic receptor, SXR; у гризунів PXR), який розпізнає велику кількість чужорідних речовин, зокрема терапевтичні засоби, та CAR, який не лише розпізнає стероїд андростан, а й деякі лікарські засоби, такі як **фенобарбітал** (див. розд. 46). Справді, PXR та CAR схожі на охоронців в аеропорту, які попереджають команду зі знешкодження бомб при виявленні підозрілого багажу. Коли вони відчувають чужорідні молекули (ксенобіотики), то індують ферменти, що метаболізують лікарські засоби, такі як CYP3A (який відповідає за метаболізм близько 60 % усіх рецептурних лікарських засобів; див. розд. 10 та публікацію: di Masi et al., 2009). Ці рецептори також зв'язують деякі простагландини й нестероїдні лікарські засоби та протидіабетичні **тіазолідиндіони** (див. розд. 32) та **фібрати** (див. розд. 24).

На відміну від рецепторів I класу, ці NR майже завжди діють як гетеродимери разом із RXR, ретиноїдним рецептором X. Потім може бути утворено два типи гетеродимерів: *непермісивний гетеродимер*, що може бути активований лише самим лігандом RXR, і *пермісивний гетеродимер*, який можуть активувати або сама ретиноєва кислота, або ліганд її партнера. NR II класу зазвичай зв'язані з білками-корепресорами. Вони дисоціюють, коли ліганд зв'язується та дозволяє залучення коактиваторних білків, а отже, й зміни в транскрипції генів. Ці рецептори схильні опосередковувати позитивні ефекти зворотного зв'язку (наприклад, окупація рецептора посилюється, а не інгібує певну біологічну подію).

NR III класу дуже схожі на NR I класу тим, що утворюють гомодимери, але здатні зв'язуватися з HRE, які не мають інвертованої послідовності повторення. NR IV класу можуть функціонувати як мономери або димери, однак зв'язуються лише з одним напівсайтом HRE. Багато інших орфанних рецепторів належать до цих останніх класів.

Обговорення тут слід сприймати лише як широке керівництво щодо дії NR, оскільки також було виявлено багато інших типів взаємодій. Наприклад, деякі з цих рецепторів можуть зумовити негеномні – чи навіть геномні – дії, безпосередньо взаємодіючи з факторами в цитозолі, або можуть бути ковалентно модифіковані фосфорилуванням чи взаємодією білків з іншими факторами транскрипції таким чином, що їхня функція змінюється (див.: Falkenstein et al., 2000).

У табл. 3.4 узагальнено властивості деяких поширених NR, що мають значення для фармакологів.

### ІОННІ КАНАЛИ ЯК МІШЕНІ ДЛЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Ми розглянули лігандкеровані іонні канали як один з чотирьох основних типів рецепторів лікарських засобів. Є багато інших типів іонних каналів, що являють собою важливі мішені для

### Ядерні рецептори



- Родина з 48 розчинних рецепторів, які відчувають ліпідні та гормональні сигнали та модулюють транскрипцію генів.
- Їхні ліганди численні й різноманітні, це зокрема стероїдні лікарські засоби та гормони, гормони щитоподібної залози, вітаміни A і D, різні ліпіди та ксенобіотики.
- Виокремлюють дві основні категорії:
  - Ядерні рецептори (NR) I класу, що містяться в цитоплазмі, утворюють гомодимери за наявності свого ліганду та мігрують до ядра. Їхні ліганди здебільшого мають ендокринну природу (наприклад, стероїдні гормони).
  - NR II класу переважно конститутивно наявні в ядрі та утворюють гетеродимери з ретиноїдним X рецептором. Зазвичай їхні ліганди – це ліпіди (наприклад, жирні кислоти).
- Комплекси «ліганд–рецептор» ініціюють зміни в транскрипції генів, зв'язуючись з елементами гормональної відповіді в промоторах генів та залучаючи фактори коактиватора або корепресора.
- Ця родина рецепторів є мішенню для приблизно 10 % рецептурних лікарських засобів, а ферменти, які вона регулює, впливають на фармакокінетику близько 60 % усіх рецептурних лікарських засобів.

лікарських засобів, хоча їх зазвичай не класифікують як «рецептори», оскільки вони не є безпосередніми мішенями для швидких нейро-медіаторів, але лікарські засоби можуть впливати на них, змінюючи їхню здатність відкриватися та закриватися<sup>18</sup>.

Тут ми розглядаємо структуру та функцію іонних каналів на молекулярному рівні; їхню роль як регуляторів функції клітин описано в розд. 4.

Іони не здатні проникнути в ліпідний бішар клітинної мембрани, а можуть зробити це лише за допомогою мембранних білків у вигляді каналів або транспортерів. Концепцію іонних каналів було розроблено в 1950-х роках на основі електрофізіологічних досліджень механізму збудження мембрани (див. розд. 4). Електрофізіологія, особливо *метод фіксації напруги*, залишається принципово важливим інструментом для вивчення фізіологічних та фармакологічних властивостей іонних каналів. Від середини 1980-х років, коли

<sup>18</sup> Правду кажучи, різниця між лігандкерованими каналами та іншими іонними каналами є довільною. Групуючи лігандкеровані канали з іншими типами рецепторів у цій книзі, ми поважаємо історичну традицію, встановлену Ленглі (Langley) та іншими науковцями, які вперше визначили рецептори в контексті дії ацетилхоліну на нервово-м'язовий зв'язок. Поступ молекулярної біології може змусити нас у майбутньому переглянути цю семантичну проблему, але наразі ми не перепрошуємо за підтримку фармакологічної традиції.



Шосаку Нума (Shosaku Numa) клонував перші іонні канали в Японії, наукова спільнота багато дізналася про будову та функції цих складних молекул. Застосування реєстрації методом «петч-клемп», що дає змогу вивчати поведінку окремих каналів у режимі реального часу, було особливо цінним для розрізнення каналів на основі їхньої провідності та характеристик ворітного механізму. Довідкову інформацію містять доповіді Гілла (Hill, 2001), Ешкрофта (Ashcroft, 2000) та Каттеролла (Catterall, 2000).

Іонні канали складаються з білкових молекул, призначених для утворення заповнених водою пор, що охоплюють мембрану, та можуть перемикатися між відкритим та закритим станами. Швидкість і напрямок руху іонів через пору регулюється електрохімічним градієнтом відповідного іона, який є функцією його концентрації по обидва боки мембрани, та мембранного потенціалу. Іонні канали характеризуються:

- селективністю щодо окремих видів іонів, що визначається розміром пори та характером її покриття;
- ворітними властивостями (тобто характером подразника, який контролює перехід між відкритим та закритим станами каналу);
- молекулярною архітектурою.

### ВИБІРКОВА ПРОНИКНІСТЬ ДЛЯ ІОНІВ

Зазвичай канали є катіонселективними або аніонселективними. Основні катіонселективні канали є вибірковими щодо  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  або  $\text{K}^+$  або неселективними та проникними для всіх трьох. Аніонселективні канали переважно проникні для  $\text{Cl}^-$ , хоча трапляються й інші типи. Вплив модуляції іонних каналів на функцію клітини розглянуто в розд. 4.

### ВОРІТНИЙ МЕХАНІЗМ

#### ПОТЕНЦІАЛЗАЛЕЖНІ КАНАЛИ

У більшості випадків ці канали відкриваються, коли клітинна мембрана деполяризована<sup>19</sup>. Вони утворюють дуже важливу групу, оскільки лежать в основі механізму збудливості мембрани (див. розд. 4). Найважливішими каналами цієї групи є селективні натрієві, калієві або кальцієві канали.

Зазвичай відкриття (активація) каналу, зумовлене деполяризацією мембрани, короточасне, навіть якщо деполяризація зберігається. Це пояснюється тим, що в деяких каналах початкова активація супроводжується повільнішим процесом інактивациї.

Роль потенціалзалежних каналів у генерації потенціалів дії та в контролі інших функцій клітини описано в розд. 4.

### ЛІГАНДКЕРОВАНІ КАНАЛИ

Лігандкерovanі канали (див. рис. 3.5) активуються шляхом зв'язування хімічного ліганду з сайтом на молекулі каналу. Швидкі нейромедіатори, зокрема глутамат, ацетилхолін, ГАМК, 5-НТ та АТФ (див. розд. 14, 16, 17 і 39), діють таким чином, зв'язуючись із ділянками на зовнішньому боці мембрани. Крім того, також існують лігандкерovanі іонні канали, які реагують не на нейромедіатори, а на зміни в місцевому середовищі. Наприклад, канал TRPV1 на сенсорних нервах, який опосередковує больовий ефект інгредієнта перцю чилі капсаїцину, реагує на позаклітинні протони, коли рН тканини знижується, як це відбувається в запалених тканинах, а також на фізичний стимул – тепло (див. розд. 43).

Деякі лігандкерovanі канали в клітинній мембрані реагують на внутрішньоклітинні, а не на позаклітинні сигнали, і найважливішими з них є такі:

- Кальцій-активовані калієві канали, які є в більшості клітин і відкриваються, гіперполяризуючи клітину, коли рівень  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  зростає.
- Кальцій-активовані хлоридні канали широко експресуються в збудливих та незбудливих клітинах, де вони беруть участь у виконанні різноманітних функцій, таких як епітеліальна секреція електролітів та води, сенсорна трансдукція, регуляція збудливості нейронів і серця та регуляція судинного тонуусу.
- АТФ-чутливі калієві канали, що відкриваються, коли знижується внутрішньоклітинна концентрація АТФ, оскільки клітині бракує енергії. Ці канали, які цілком відрізняються від тих, що опосередковують збудливі ефекти позаклітинного АТФ, виникають у багатьох нервових і м'язових клітинах, а також у клітинах, котрі секретують інсулін (див. розд. 32), де вони є частиною механізму, що пов'язує секрецію інсуліну з концентрацією глюкози в крові.

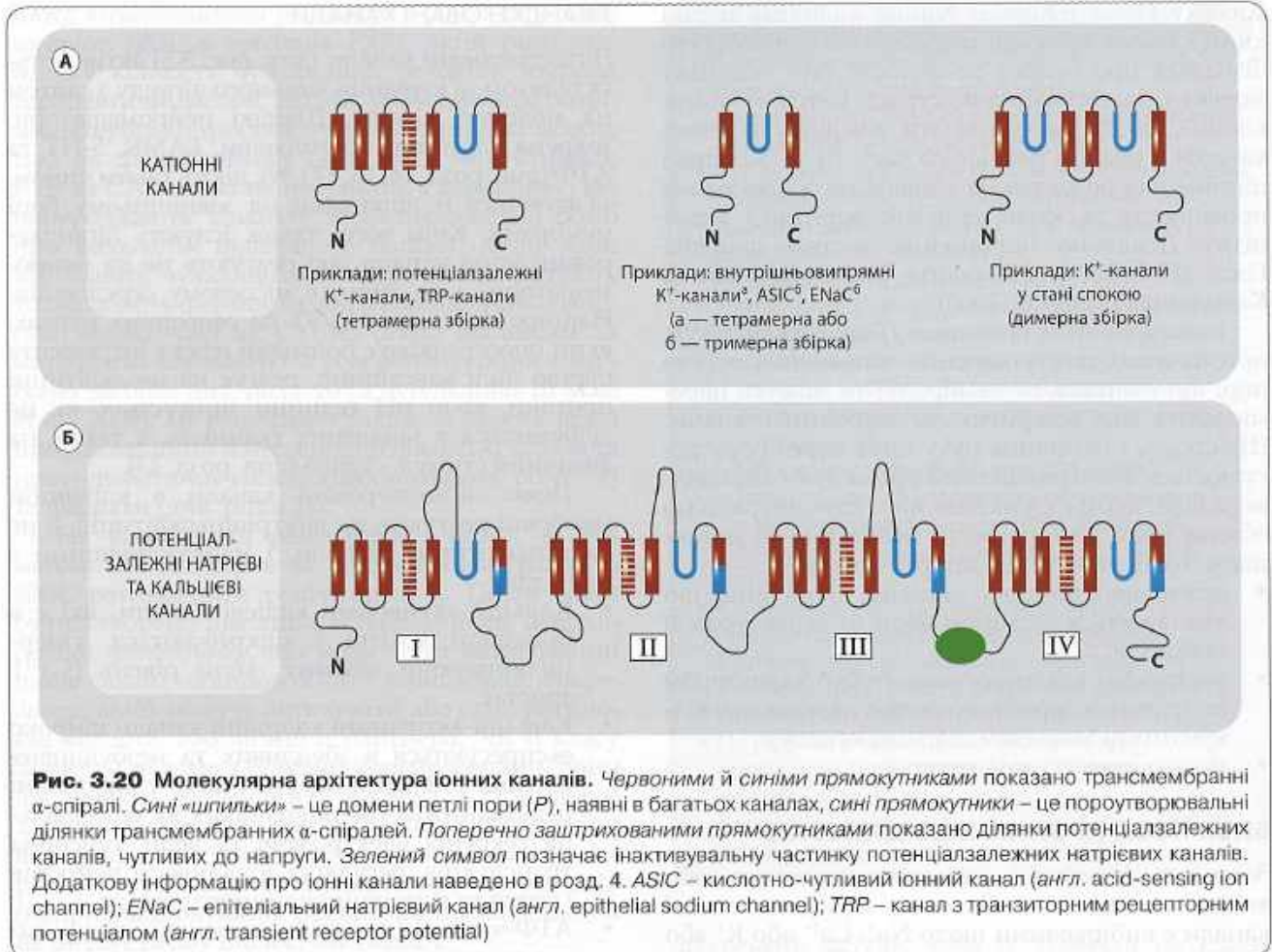
Іншими прикладами каналів клітинних мембран, що реагують на внутрішньоклітинні ліганди, є калієві канали, чутливі до арахідонової кислоти, та кальцієві канали, чутливі до DAG, функції яких вивчено недостатньо.

#### КАНАЛИ ВИВІЛЬНЕННЯ КАЛЬЦІЮ

Основні канали вивільнення кальцію –  $\text{IP}_3$  та ріанодинові рецептори (див. розд. 4) – це особливий клас лігандкерovanих кальцієвих каналів, які містяться в ендоплазматичному або саркоплазматичному ретикулумі, а не в клітинній мембрані та контролюють вивільнення  $\text{Ca}^{2+}$  з внутрішньоклітинних запасів (депо).  $\text{Ca}^{2+}$  також може вивільнитися з лізосомальних запасів за допомогою аденіндинуклеотиду фосфату нікотинової кислоти, який активує двопорові доменні кальцієві канали.

<sup>19</sup> Завжди є винятки з правил! Члени HCN-родини калієвих каналів, що містяться в нейронах і клітинах серцевого м'яза, активуються шляхом гіперполяризації.





**Рис. 3.20** Молекулярна архітектура іонних каналів. Червоними й синіми прямокутниками показано трансмембранні  $\alpha$ -спіралі. Сині «шпильки» – це домени петлі пори (P), наявні в багатьох каналах, сині прямокутники – це пороутворювальні ділянки трансмембранних  $\alpha$ -спіралей. Поперечно заштрихованими прямокутниками показано ділянки потенціалзалежних каналів, чутливих до напруги. Зелений символ позначає інактивувальну частинку потенціалзалежних натрієвих каналів. Додаткову інформацію про іонні канали наведено в розд. 4. ASIC – кислотно-чутливий іонний канал (англ. acid-sensing ion channel); ENaC – епітеліальний натрієвий канал (англ. epithelial sodium channel); TRP – канал з транзиторним рецепторним потенціалом (англ. transient receptor potential)

### ДЕПОКЕРОВАНІ КАЛЬЦІЄВІ КАНАЛИ

Коли внутрішньоклітинні запаси (депо)  $Ca^{2+}$  вичерпуються, у клітинній мембрані відкриваються «депокеровані» канали (англ. store-operated channels, SOC), щоб забезпечити надходження  $Ca^{2+}$ . Механізм, за допомогою якого відбувається це зв'язування, передбачає взаємодію чутливого до  $Ca^{2+}$  білка в мембрані ендоплазматичного ретикулуму з виділеним каналом  $Ca^{2+}$  у клітинній мембрані (див.: Stathopoulos & Ikura, 2017). У відповідь на GPCR, що зумовлюють вивільнення  $Ca^{2+}$ , завдяки відкриттю цих каналів концентрація цитозольного вільного  $Ca^{2+}$ ,  $[Ca^{2+}]_i$ , залишається підвищеною, навіть коли внутрішньоклітинні запаси виснажуються, а також забезпечується шлях поповнення запасів (див. розд. 4).

### МОЛЕКУЛЯРНА АРХІТЕКТУРА ІОННИХ КАНАЛІВ

▼ Іонні канали – це великі та складні молекули. Виявленню їхніх характерних структурних мотивів сприяло накопичення знань про їхню послідовність та структуру від середини 1980-х років, коли було клоновано перший потенціалзалежний натрієвий канал. Основні структурні підтипи зображено на рис. 3.20. Усі вони складаються з кількох (часто чотирьох) доменів, що подібні або ідентичні один одному,

організовані або як олігомерний масив окремих субодиниць, або як один великий білок. Кожна субодиниця або домен містить пучок з 2–6 трансмембранних спіралей.

Потенціалзалежні канали зазвичай мають одну трансмембранну спіраль, яка містить велику кількість основних (тобто позитивно заряджених) амінокислот. Коли мембрана деполяризована таким чином, що внутрішня частина клітини стає менш негативною, ця ділянка – датчик напруги – трохи зміщується до зовнішньої поверхні мембрани, що має ефект відкриття каналу (див.: Bezanilla, 2008). Багато потенціалзалежних каналів також демонструють інактивацію, що відбувається, коли внутрішньоклітинний відросток білка каналу зсувається, щоб закрити канал зсередини. Потенціалзалежні натрієві та кальцієві канали особливі тим, що вся структура з чотирма шестиспіральними домонами складається з однієї величезної молекули білка, домени пов'язані між собою внутрішньоклітинними петлями різної довжини (див. рис. 3.20, Б). Калієві канали утворюють найчисленніший і найбільш неоднорідний клас<sup>20</sup>. Потенціалзалежні калієві канали нагадують натрієві канали, за винятком того, що вони складаються з чотирьох субодиниць, а не з одного довгого ланцюга. Клас калієвих каналів, відомий як «канали вхідного випрямлен-

<sup>20</sup> Геном людини кодує понад 70 різних підтипів калієвих каналів – або жак, або золота можливість для фармаколога, залежно від перспективи.



ня» завдяки їхнім біофізичним властивостям, має двоспіральну структуру, показану на рис. 3.20, А, тоді як інші є класом «двопорових доменних» каналів, оскільки кожна субодиниця містить дві Р-петлі.

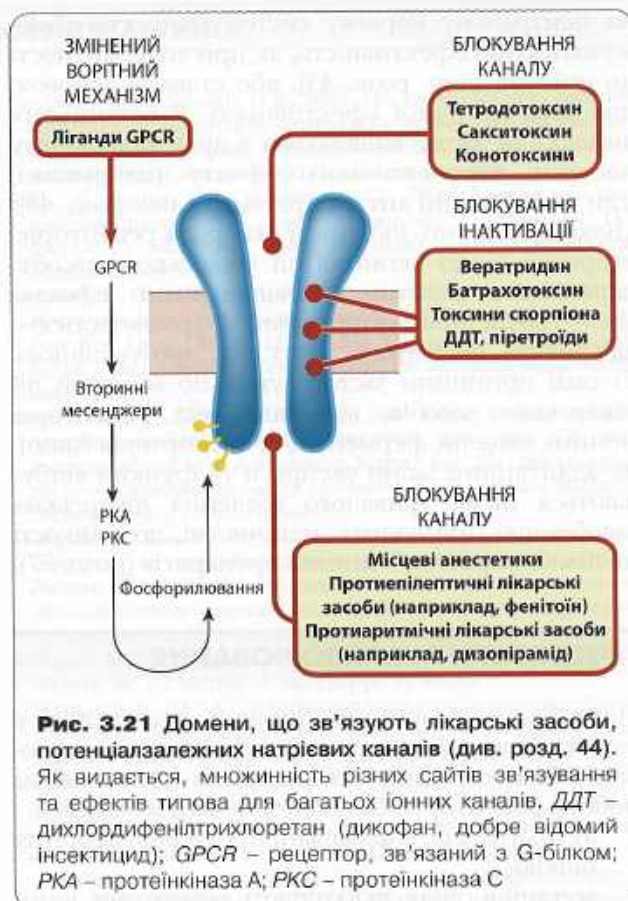
Різні архітектурні мотиви, показані на рис. 3.20, лише поверхово описують молекулярне різноманіття іонних каналів. У всіх випадках окремі субодиниці існують у декількох молекулярних різновидах, і вони можуть об'єднуватися в різні комбінації, утворюючи функціональні канали як *гетероолігомери* (на відміну від *гомоолігомерів*, побудованих з однакових субодиниць). Крім того, описані каналотворювальні структури зазвичай асоціюються з іншими мембранними білками, що суттєво впливає на їхні функціональні властивості. Наприклад, АТФ-керований калієвий канал існує у взаємодії з *рецептором сульфонілсечовини* (англ. *sulfonylurea receptor*, SUR), і саме через цей зв'язок різні лікарські засоби (у тому числі проти-діабетичні препарати класу сульфонілсечовини; див. розд. 32) регулюють канал. Значного прогресу досягнуто в розумінні взаємозв'язку між молекулярною структурою та функцією іонних каналів, але ми досі маємо лише фрагментарне уявлення про фізіологічну роль багатьох із цих каналів. Чимало важливих лікарських засобів діють, прямо чи опосередковано впливаючи на функцію каналу.

## ФАРМАКОЛОГІЯ ІОННИХ КАНАЛІВ

▼ Багато лікарських засобів та фізіологічних медіаторів, описаних у цій книзі, діють, змінюючи поведінку іонних каналів.

Структуру та проникність як потенціалзалежних, так і лігандкеруваних іонних каналів модулюють чимало факторів, зокрема такі.

- **Ліганди, які зв'язуються безпосередньо з різними ділянками каналного білка.** Це різноманітні лікарські засоби та токсини, які діють по-різному, наприклад блокують канал або впливають на ворітний механізм, тим самим полегшуючи або гальмуючи відкриття каналу.
- **Медіатори та лікарські засоби, які діють опосередковано, головним чином через активацію GPCR.** Останні виявляють свій ефект, переважно впливаючи на стан фосфорилування окремих амінокислот, розташованих у внутрішньоклітинній ділянці каналного білка. Як описано вище, ця модуляція передбачає вироблення вторинних месенджерів, що активують протеїнкінази. Відкриття каналу може бути полегшене або загальмоване, залежно від того, які залишки фосфорилуються. Лікарські засоби – агоністи  $\beta$ -адренорецепторів (розд. 15) – впливають у такий спосіб на функцію кальцієвих та калієвих каналів, виявляючи широкий спектр клітинних ефектів.
- **Внутрішньоклітинні сигнали, особливо  $Ca^{2+}$  та нуклеотиди, такі як АТФ та ГТФ** (див. розд. 4). Багато іонних каналів мають сайти зв'язування для цих внутрішньоклітинних медіаторів. Підвищений рівень  $[Ca^{2+}]_i$  відкриває певні типи калієвих та хлоридних каналів та інактивує напружені кальцієві канали. Як описано в розд. 4, функція іонних каналів та GPCR впливає на  $[Ca^{2+}]_i$ . Внутрішньоклітинний АТФ зв'язується та закриває калієві канали, відомі як родина АТФ-керуваних калієвих каналів (див. розд. 32), що також чутливі до препаратів сульфонілсечовини. Внутрішньоклітинні циклічні нуклеотиди, цАМФ і цГМФ, активують канали, проникні як для іонів кальцію та натрію, так і для іонів калію.



**Рис. 3.21** Домени, що зв'язують лікарські засоби, потенціалзалежних натрієвих каналів (див. розд. 44). Як видається, множинність різних сайтів зв'язування та ефектів типова для багатьох іонних каналів. ДДТ – дихлордифенілтрихлоретан (дикофан, добре відомий інсектицид); GPCR – рецептор, зв'язаний з G-білком; PKA – протеїнкіназа А; PKC – протеїнкіназа С

На рис. 3.21 наведено короткий огляд основних ділянок та механізмів, за допомогою яких лікарські засоби впливають на потенціалзалежні натрієві канали, що є типовим прикладом цього типу мішені лікарського засобу.

## КОНТРОЛЬ ЕКСПРЕСІЇ РЕЦЕПТОРІВ

Рецепторні білки синтезуються клітинами, які їх експресують, а рівень експресії саморегулюється за допомогою розглянутих вище шляхів подіями, опосередкованими рецепторами. Ми більше не можемо вважати рецептори фіксованими елементами в клітинних системах управління, що реагують на зміни концентрації лігандів та ініціюють ефекти через шлях передавання сигналу – вони самі підлягають регуляції. Короточасна регуляція функції рецепторів зазвичай відбувається через *десенсибілізацію*, що було описано раніше. Тривала регуляція здійснюється через *збільшення* або *зменшення експресії рецепторів*. Прикладами цього типу контролю є проліферація різних постсинаптичних рецепторів після денервації (див. розд. 13), підвищення регуляції різних G-білкових і цитокінових рецепторів у відповідь на запалення (див. розд. 18) та індукція рецепторів фактора росту деякими онкогенними вірусами (див. розд. 6). Довготривале медикаментозне лікування незмінно викликає адаптаційні реакції, які, особливо при застосуванні препаратів, що діють



на центральну нервову систему, можуть обмежувати їхню ефективність, як при толерантності до опіоїдів (див. розд. 43), або ставати основою для терапевтичної ефективності. В останньому випадку це може виявлятися в дуже повільному настанні терапевтичного ефекту (наприклад, при застосуванні антидепресантів; див. розд. 48). Цілком імовірно, що зміни експресії рецепторів, вторинні щодо негайної дії лікарського засобу, спричинені такими уповільненими ефектами – своєрідною «вторинною фармакологією», важливість якої лише зараз стає зрозумілішою. Ті самі принципи застосовують до мішеней дії лікарських засобів, відмінних від рецепторів (іонних каналів, ферментів, транспортерів тощо), де адаптаційні зміни експресії та функції відбуваються після тривалого введення лікарських засобів, що призводить, наприклад, до стійкості до деяких протипухлинних препаратів (розд. 57).

### РЕЦЕПТОРИ ТА ЗАХВОРЮВАННЯ

Поглиблене розуміння функції рецепторів у молекулярному аспекті виявило низку захворювань, безпосередньо пов'язаних із порушенням роботи рецепторів. Основні залучені механізми:

- аутоантитіла, спрямовані проти рецепторних білків;
- мутації в генах, які кодують рецептори, іонні канали та білки, що беруть участь у передаванні сигналу.

Прикладом першого є *міастенія* (див. розд. 14), захворювання нервово-м'язового з'єднання через аутоантитіла, які інактивують нікотинчутливі холінорецептори. Аутоантитіла також можуть імітувати ефекти агоністів, як у багатьох випадках гіперсекреції щитоподібної залози, спричиненої активацією рецепторів тиреотропіну (розд. 35).

Спадкові мутації генів, що кодують GPCR, є причиною різних спадкових хвороб (див.: Stoy & Gurevich, 2015). Мутовані рецептори **вазопресину** й **адренкортикотропних гормонів** (див. розд. 30 і 34) можуть викликати стійкість до цих гормонів. Мутації рецепторів можуть призвести до активації

ефекторних механізмів за відсутності агоністів. До одного з них входить рецептор тиреотропіну, що зумовлює постійну надмірну секрецію гормону щитоподібної залози; до іншого – рецептор лютеїнізувального гормону, що призводить до раннього статевого дозрівання. Адренорецепторні поліморфізми часто трапляються у людей, й останні дослідження показують, що певні мутації  $\beta_2$ -адренорецепторів, хоча безпосередньо й не спричиняють захворювання, пов'язані зі зниженою ефективністю агоністів  $\beta$ -адренорецепторів при лікуванні астми (розд. 29) та несприятливим прогнозом у пацієнтів із серцевою недостатністю, потенційно через *конститутивно активні мутації*, які роблять рецептори активними за відсутності агоністів (розд. 22). Мутації G-білків також можуть спричинити захворювання (див.: Spiegel & Weinstein, 2004). Наприклад, мутації певної субодиниці  $G\alpha$  зумовлюють одну з форм *гіпотиреозу*, тоді як мутації субодиниці  $G\beta$  – артеріальну гіпертензію. Багато видів раку пов'язані з мутаціями генів, які кодують рецептори фактора росту, кінази та інші білки, що беруть участь у передаванні сигналу (див. розд. 6).

Мутації в лігандкерованих (ГАМК<sub>A</sub> та нікотинчутливому) та інших ( $Na^+$  та  $K^+$ ) іонних каналах, що змінюють їхню функцію, породжують деякі форми ідіопатичної епілепсії (див. розд. Poduri & Lowenstein, 2011).

Враховуючи той факт, що родина рецепторів NR відіграє ключову роль у регуляції та координації росту, розвитку й органогенезу, розмноження, імунної системи і багатьох інших фундаментальних біологічних процесів, не дивним є зв'язок багатьох хвороб з неправильним функціонуванням системи NR. До таких станів належать запалення, рак, цукровий діабет, серцево-судинні захворювання, ожиріння та репродуктивні розлади (див.: Kersten et al., 2000; Murphy & Holder, 2000).

Дослідження генетичних поліморфізмів, що впливають на рецептори, сигнальні молекули, іонні канали та ефекторні ферменти, тривають, і очікується, що в найближчому майбутньому це приведе до кращого розуміння мінливості між людьми у сприйнятливості до хвороби та реакції на терапевтичні препарати (див. розд. 58).



## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ТА РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

## Загальні

IUPHAR/BPS. Guide to Pharmacology. www.guidetopharmacology.org/. (Вичерпний каталог молекулярних та фармакологічних властивостей відомих рецепторних та іонних каналів – а також транспортерів та деяких ферментів, що беруть участь у передаванні сигналу.)

Nelson, N., 1998. The family of Na<sup>+</sup>/Cl<sup>-</sup> neurotransmitter transporters. *J. Neurochem.* 71, 1785–1803. (Оглядова стаття, в якій описано молекулярні характеристики різних родин нейротранспортерів.)

## Іонні канали

Ashcroft, F.M., 2000. *Ion Channels and Disease*. Academic Press, London. (Корисний підручник, що висвітлює всі аспекти фізіології іонних каналів та їх значення для захворювань, з великою кількістю фармакологічної інформації.)

Bezani, F., 2008. How membrane proteins sense voltage. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9, 323–332. (Огляд останніх досліджень реакцій мембранних білків на зміни трансмембранного потенціалу.)

Catterall, W.A., 2000. From ionic currents to molecular mechanisms: the structure and function of voltage-gated sodium channels. *Neuron* 26, 13–25. (Загальний огляд структури, функції та фармакології натрієвих каналів.)

Colquhoun, D., 2006. Agonist-activated ion channels. *Br. J. Pharmacol.* 147, S17–S26. (Оглядова стаття, в якій розглянуто взаємозв'язок між зв'язуванням агоністів та відкриттям каналу.)

Halliwel, R.F., 2007. A short history of the rise of the molecular pharmacology of ionotropic drug receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 28, 214–219. (Якісний огляд основних відкриттів у цій активній галузі.)

Hille, B., 2001. *Ionic Channels of Excitable Membranes*. Sinauer Associates, Sunderland. (Чіткий та детальний виклад основних принципів дії іонних каналів з акцентом на їхніх біофізичних властивостях.)

North, R.A., 2002. Molecular physiology of P2X receptors. *Physiol. Rev.* 82, 1013–1067. (Енциклопедичний огляд структури та функції рецепторів P2X.)

Poduri, A., Lowenstein, D., 2011. Epilepsy genetics-past, present, and future. *Curr. Opin. Genet. Dev.* 21, 325–332.

Stathopoulos, P.B., Ikura, M., 2017. Store operated calcium entry: From concept to structural mechanisms. *Cell Calcium* 63, 3–7.

## Рецептори, зв'язані з G-білками

AbdAilla, S., Lother, H., El Massierey, A., Quitterer, U., 2001. Increased AT1 receptor heterodimers in preeclampsia mediate enhanced angiotensin II responsiveness. *Nat. Med.* 7, 1003–1009. (Перший приклад зв'язку порушеної гетеродимеризації GPCR із захворюванням людини.)

Adams, M.N., Ramachandran, R., Yau, M.K., et al., 2011. Structure, function and pathophysiology of protease activated receptors. *Pharmacol. Ther.* 130, 248–282. (Широкий огляд теми.)

Audet, M., Bouvier, M., 2012. Restructuring G protein-coupled receptor activation. *Cell* 151, 14–23. (Огляд найновіших розробок, пов'язаних з кристалізацією рецепторів, зв'язаних з G-білками.)

Conigrave, A.D., Quinn, S.J., Brown, E.M., 2000. Cooperative multi-modal sensing and therapeutic implications of the extracellular Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor. *Trends Pharmacol. Sci.* 21, 401–407. (Короткий опис Ca<sup>2+</sup>-чутливого рецептора, аномального типу GPCR.)

Costa, T., Cotecchia, S., 2005. Historical review: negative efficacy and the constitutive activity of G protein-coupled receptors. *Trends Pharmacol. Sci.* 26, 618–624. (Чіткий та продуманий огляд ідей, що стосуються активації конститутивних рецепторів та зворотних агоністів.)

Ferre, S., Casado, V., Devi, L.A., et al., 2015. G protein-coupled receptor oligomerization revisited: functional and pharmacological perspectives. *Pharmacol. Rev.* 66, 413–434. (Усебічний огляд олігомеризації GPCR та її наслідків для фармакології та клітинної сигналізації.)

Fredriksson, R., Schioth, H.B., 2005. The repertoire of G protein-coupled receptors in fully sequenced genomes. *Mol. Pharmacol.* 67, 1414–1425. (Оцінка кількості генів GPCR у різних видів – миші мають їх майже на 500 більше, ніж людина!)

Kelly, E., Bailey, C.P., Henderson, G., 2008. Agonist-selective mechanisms of GPCR desensitization. *Br. J. Pharmacol.* 153 (Suppl. 1), S379–S388. (Стислий огляд основних механізмів десенсибілізації GPCR.)

Kenakin, T., Christopoulos, A., 2013. Signalling bias in new drug discovery: detection, quantification and therapeutic impact. *Nat. Rev. Drug Discov.* 12, 205–216. (Детальний розгляд труднощів у вимірюванні ефективності та змиченої активності агоністів.)

Liu, F., Wan, Q., Pristupa, Z., et al., 2000. Direct protein-protein coupling enables cross-talk between dopamine D5 and  $\gamma$ -aminobutyric acid A receptors. *Nature* 403, 274–280. (Вперше продемонстровано пряме зв'язування GPCR з іонним каналом. Зверніть увагу, G-білка немає!)

Manglik, A., Lin, H., Aryal, D.K., et al., 2016. Structure-based discovery of opioid analgesics with reduced side effects. *Nature* 537, 185–190. (Захопливий звіт про використання обчислювального молекулярного моделювання при розробленні нового агоніста опіоїдних рецепторів.)

Milligan, G., Kostenis, E., 2006. Heterotrimeric G proteins: a short history. *Br. J. Pharmacol.* 147 (Suppl. 1), 46–55.

Offermanns, S., 2003. G proteins as transducers in transmembrane signalling. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 83, 101–130. (Детальний огляд підтипів G-білків та їхніх функцій у передаванні сигналу.)

Oldham, W.M., Hamm, H.E., 2008. Heterotrimeric G protein activation by G protein-coupled receptors. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 9, 60–71. (Корисний огляд структури та функції G-білків.)

Pierce, K.L., Lefkowitz, R.J., 2001. Classical and new roles of p-arrestins in the regulation of G protein-coupled receptors. *Nat. Rev. Neurosci.* 2, 727–733. (Якісний огляд сигналізації GPCR через арестин, не опосередкованої G-білками.)

Ramachandran, R., Noorbakhsh, F., defea, K., Hollenberg, M.D., 2012. Targeting proteinase-activated receptors: therapeutic potential and challenges. *Nat. Rev. Drug Discov.* 11, 69–86.

Sexton, P.M., Poyner, D.R., Simms, J., Christopoulos, A., Hay, D.L., 2012. RAMPs as drug targets. *Adv. Exp. Med. Biol.* 744, 61–74.

Simonds, W.F., 1999. G protein regulation of adenylate cyclase. *Trends Pharmacol. Sci.* 20, 66–72. (Огляд механізмів, за допомогою яких G-білки впливають на аденілатциклазу на рівні молекулярної структури.)

Sjögren, B., 2017. The evolution of regulators of G protein signalling proteins as drug targets – 20 years in the making: IUPHAR Review 21. *Br. J. Pharmacol.* 174, 427–437. (Корисний опис функцій білків RGS та їхнього потенціалу як мішеней для лікарських засобів.)

Sounier, R., Mas, C., Steyaert, J., et al., 2015. Propagation of conformational changes during p-opioid receptor activation. *Nature* 524, 375–378. (Описано використання NMR для вивчення конформаційних змін у GPCR при активації агоністом.)

Spiegel, A.M., Weinstein, L.S., 2004. Inherited diseases involving G proteins and G protein-coupled receptors. *Annu. Rev. Med.* 55, 27–39. (Стаття містить стислий огляд.)

Stoy, H., Gurevich, V.V., 2015. How genetic errors in GPCRs affect their function: Possible therapeutic strategies. *Genes Dis.* 2, 108–132. (Широкий огляд із багатьма прикладами мутацій GPCR, пов'язаних із захворюваннями.)

Xie, G.X., Palmer, P.P., 2007. How regulators of G protein signalling achieve selective regulation. *J. Mol. Biol.* 366, 349–365. (Загальний огляд білків RCS та їхнього способу дії.)

Zhang, D., Zhao, Q., Wu, B., 2015. Structural studies of G protein-coupled receptors. *Mol. Cells* 38, 836–842. (Інформативний огляд кристалічних структур GPCR.)

## Трансдукція сигналів

Avruch, J., 2007. MAP kinase pathways: the first twenty years. *Biochim. Biophys. Acta* 1773, 1150–1160. (Стислий загальний огляд. Одна із серії статей, присвячених MAP-кіназам, у цьому випуску.)



## Абсорбція та розподіл лікарських засобів

### СТИСЛИЙ ВИКЛАД РОЗДІЛУ

Фізичні процеси дифузії, проникності мембран, зв'язування із білками плазми та розподіл у жирі та інших тканинах лежать в основі абсорбції та розподілу засобів. Ці процеси описуються разом із більш детальним оглядом процесу абсорбції засобу і пов'язаних із цим практичних аспектів способу введення лікарських засобів, та їх розподілу різними комірками тіла. Описано процеси взаємодії засобів, спричинені тим, що один лікарський засіб змінює абсорбцію чи розподіл іншого. Наприкінці розділу розглянуто спеціальні системи доставки лікарського засобу, розроблені спеціально для ефективної та селективної доставки засобів до місця прикладення дії.

### ВСТУП

Розподіл засобу поділяють на чотири стадії, які можна позначити акронімом «ADME»:

- Абсорбція з місця введення (*Absorption*)
- Розподіл в організмі (*Distribution*)
- Метаболізм (*Metabolism*)
- Екскреція (*Excretion*)

Тут представлено загальні аспекти абсорбції та розподілу лікарських засобів, разом зі способами їх введення. Абсорбція і розподіл інгаляційних анестетиків (окремий випадок) описано в розд. 42. Механізми метаболізму та екскреції представлено в розд. 10. Ми почнемо з опису фізичних процесів, які лежать в основі розподілу лікарського засобу.

### ФІЗИЧНІ ПРОЦЕСИ, ЩО ЛЕЖАТЬ В ОСНОВІ РОЗПОДІЛУ ПРЕПАРАТУ

Молекули засобу рухаються тілом двома способами:

- із масовим потоком (тобто із током крові, лімфатичної чи спинномозкової рідини);
- через дифузію (тобто молекула за молекулою, на дуже малі відстані).

Хімічна природа засобу не впливає на його транспорт із масовим потоком. Серцево-судинна система забезпечує також наявність швидкої системи розподілу на великі відстані. На відміну від цього, характеристики дифузії різних засобів значно відрізняються. Зокрема, на здатність долати гідрофобні бар'єри дифузії сильно впливає

жиророзчинність. Розчинність у воді є частиною загального механізму транспорту засобу, оскільки завдяки саме цьому процесу відбувається доставка молекул засобу до та з неводних бар'єрів. Швидкість дифузії речовини в основному залежить від розміру її молекул, де коефіцієнт розчинення обернено пропорційний до квадратного кореня молекулярної маси. Звідси, в той час як великі молекули розчиняються повільніше за менші, варіативність залежно від молекулярної маси є помірною. Класичні «дрібномолекулярні» засоби здебільшого мають масу від 200 до 1000 Да, і відмінності у швидкості дифузії у воді має лише незначний вплив на їх загальну фармакокінетику, в той час як біофармацевтичні засоби зазвичай представлені значно більшими молекулами (розд. 5). Отже, молекулярна маса лікарського засобу на основі моноклональних антитіл складає близько 150 кДа і малої інтерферуючої РНК – 7,5 кДа тож дифузія може стати важливим обмежувальним фактором початку дії біофармацевтичних засобів.

Щодо дрібномолекулярних лікарських засобів, ми можемо лікувати ними, розглядаючи тіло як сукупність комірок, що тісно пов'язані, та в кожній із них концентрація засобу є одноманітною. Тік між комірками, зазвичай також із залученням процесу проникнення неводних бар'єрів дифузії, визначає, де саме та як довго лікарський засіб буде знаходитись в організмі після введення. Аналіз току засобу за допомогою простої коміркової моделі обговорюється в розд. 11.

### РУХ МОЛЕКУЛ ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ КРІЗЬ КЛІТИННІ БАР'ЄРИ

Мембрани клітин утворюють бар'єри між водовмісними комірками організму. Єдиний шар мембран відділяє внутрішньоклітинні та зовнішньоклітинні компоненти. Епітеліальний бар'єр, як-от слизова оболонка травного тракту чи ниркового каналця, складається із шару клітин, які щільно поєднані одна з одною, тож молекули мають перетнути принаймні дві клітинні мембрани (внутрішню та зовнішню), щоб потрапити з одного боку на інший. Анатомічне розташування та проникність ендотелію судин (шару клітин, який відокремлює внутрішньосудинні компоненти від тих, що знаходяться поза судиною) залежать від типу тканин. Проміжки між клітинами ендотелію заповнені нещільною матрицею білків, яка виконує функцію фільтра, що зупиняє великі молекули та пропускає дрібні.

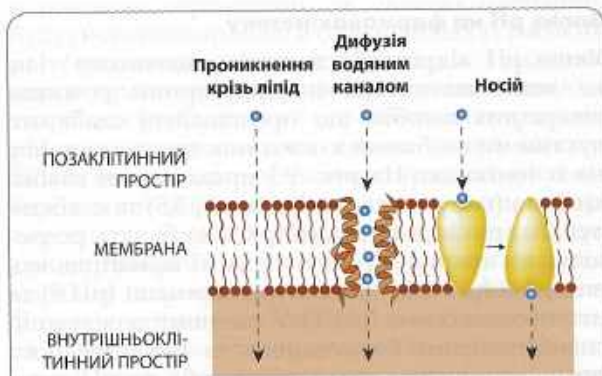


Межі молекулярного розміру не є точною величиною: вода швидко долає бар'єри, в той час як молекули розміром 80 000–100 000 Да долають бар'єри дуже повільно. В деяких ділянках, зокрема гематоенцефалічному бар'єрі (див. с. 154) ЦНС та плаценті, між клітинами спостерігаються непроникні перетинки, а ендотелій знаходиться в непроникному шарі періендотеліальних клітин (*періцитів*). Такі особливості попереджають проникнення потенційно небезпечних молекул до мозку чи плода, та мають значні наслідки щодо розподілу та активності лікарського засобу.

В інших органах (наприклад, печінці та селезінці) ендотелій переривчастий, що забезпечує вільний пасаж молекул між клітинами. У печінці гепатоцити утворюють бар'єр між інтра- та екстраваскулярними компонентами та виконують певні функції ендотеліальних клітин. Фенестрований ендотелій спостерігається в ендокринних залозах, що сприяє потраплянню гормонів чи інших молекул до кровотоку через пори ендотелію. Утворення фенестрованого ендотелію контролюється специфічним фактором росту ендотелію судин, що регулюється ендокринними залозами (названий EG-VEGF). Клітини ендотелію, що вкривають посткапілярні венули, мають спеціалізовані функції, пов'язані з міграцією лейкоцитів та запаленням, і ускладнення міжклітинного з'єднання може бути прийнятним за умови збереження можливості міграції лейкоцитів та відсутності витоку води чи легких іонів, який можна виявити (див. розд. 7).

Існує чотири основних шляхи, якими дрібні молекули долають клітинні мембрани (рис. 9.1):

- шляхом безпосередньої дифузії через ліпід;
- шляхом поєднання із *транспорттером розчинених речовин* (ТРР) чи іншим мембранним переносником;
- шляхом дифузії крізь водяні пори, утворені спеціальними глікопротеїнами мембрани (*аквапорини*), які попереджають проникнення ліпідів;
- шляхом *піноцитозу*.



**Рис. 9.1** Шляхи, якими розчинені речовини можуть проникати крізь мембрани. (Молекули також можуть долати клітинні бар'єри шляхом піноцитозу)

Щодо механізмів фармакокінетики, з усіх цих шляхів особливо важливими є дифузія через ліпід і транспорт із переносником.

▼ Дифузія аквапоринами є, можливо, важливим фактором у перенесенні газів, як, наприклад, двоокису вуглецю, але їх діаметр замалий (близько 0,4 нм), щоб молекули більшості лікарських засобів (які зазвичай перевищують у діаметрі 1 нм) могли крізь них пройти. Відповідно, розподіл лікарського засобу у пацієнтів із генетичними захворюваннями, які впливають на аквапорини, відрізняється незначно. При піноцитозі відбувається інвагінація частини мембрани клітини та захоплення клітиною малого пухирця, що містить позаклітинні компоненти. Далі цей пухирець може бути відкрито в межах клітини, або його може бути витіснено з іншого боку клітини. Цей механізм є важливим для транспорту деяких макромолекул (наприклад *інсуліну*, який завдяки такому процесу долає гематоенцефалічний бар'єр), проте не діє для дрібних молекул.

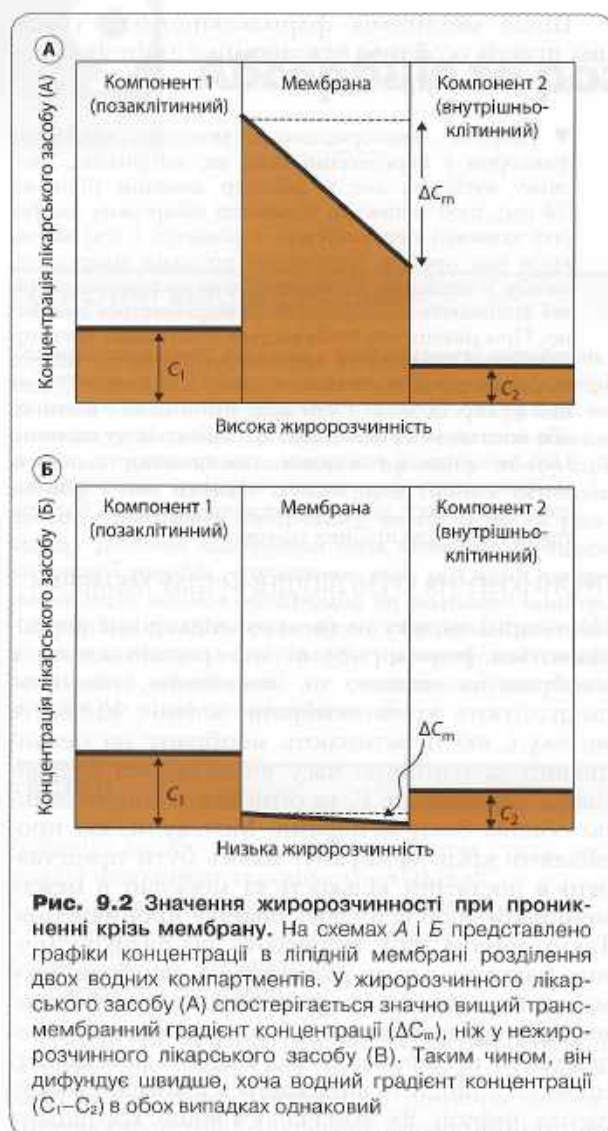
#### ПРОНИКНЕННЯ КРІЗЬ ЛІПІДНИЙ ШАР МЕМБРАН

Неполярні молекули (в яких електрони розподіляються рівномірно) вільно розчиняються в мембранних ліпідах та, відповідно, повністю дифундують крізь мембрани клітин. Кількість молекул, які перетинають мембрану на певній ділянці за одиницю часу визначається *коефіцієнтом проникності, P*, та різницею концентрацій по обидва боки мембрани. Молекули, які проникають крізь мембрану, мають бути представлені в достатній кількості та мобільні в межах мембрани, щоб відбулось швидке проникнення. Таким чином, на *P* впливають два фізико-хімічних фактори, а саме, *розчинність* у мембрані (яку можна виразити як коефіцієнт розподілу речовини між середовищем мембрани та водним середовищем) та *дифузність*, яка є мірою мобільності молекул у ліпіді та виражається у вигляді коефіцієнта дифузії. Як зазначалося вище, коефіцієнт дифузії має лише скромне значення, коли мова йде про традиційні лікарські засоби, тож найважливішим вирішальним фактором проникності мембрани традиційними лікарськими засобами із низькою молекулярною масою є коефіцієнт розподілу (рис. 9.2). Багато фармакокінетичних характеристик лікарського засобу, таких як швидкість всмоктування із кишківника, проникнення в інші тканини та ступінь виведення нирками, можна передбачити, якщо знати його жиророзчинність.

#### ЗАХОПЛЕННЯ ІОНІВ

Іонізація та проникність мембран впливають не лише на швидкість, з якою лікарські засоби проникають крізь мембрану, але також на рівноважний розподіл молекул лікарського засобу між водяними компонентами. Жиророзчинні молекули дифундують у клітини, де вони можуть метаболізуватися (наприклад, естеразами); це може вивільнити функціонально важливо заряджений (а отже, нездатний проникати) метаболіт, який у подальшому буде захоплено в





межах клітини. Цей факт активно використовувався, зокрема у перевірці функціонування внутрішньоклітинних медіаторів, таких як  $Ca^{2+}$ , за допомогою флуоресцентних індикаторів, як-от fura-2, що поміщається до клітини у вигляді незарядженого складного ефіру та захоплюється внутрішньоклітинно у зарядженій формі (див., наприклад, рис. 4.2). Той самий підхід нещодавно використовувався хіміками-фармацевтами, які шукали спосіб цілеспрямовано направляти лікарські засоби (деякі з них перебувають на стадії розробки) до внутрішньоклітинних ділянок дії за допомогою моноцитів і макрофагів, використовуючи естераз-чутливі хімічні мотиви, зв'язані із лікарським засобом, наприклад інгібітор гістондеацетилази (розд. 29). Так утворюються проліки (див. далі, с. 157), що доставляють лікарський засіб до клітин моноцитарно-макрофагальної клітинної лінії, які селективно експресують карбоксилестеразу-1 людини, заряджена активна форма лікарського засобу потрапляє в

цитоплазму моноциту, що є місцем прикладання його дії (Needham et al., 2011).

### pH та іонізація

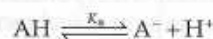
Одним із ускладнюючих факторів, коли мова йде про долання мембрани, є те, що багато лікарських засобів – слабкі кислоти чи луги, а отже, існують як в неіонізованій, так і в іонізованій формі, та співвідношення цих двох форм залежить від pH. Для слабкого луку, В, реакція іонізації є такою:



і константа дисоціації  $pK_a$ , виведена з рівняння Хендерсона-Хассельбаха

$$pK_a = pH + \log_{10} \frac{[BH^+]}{[B]}$$

Для слабкої кислоти, АН:



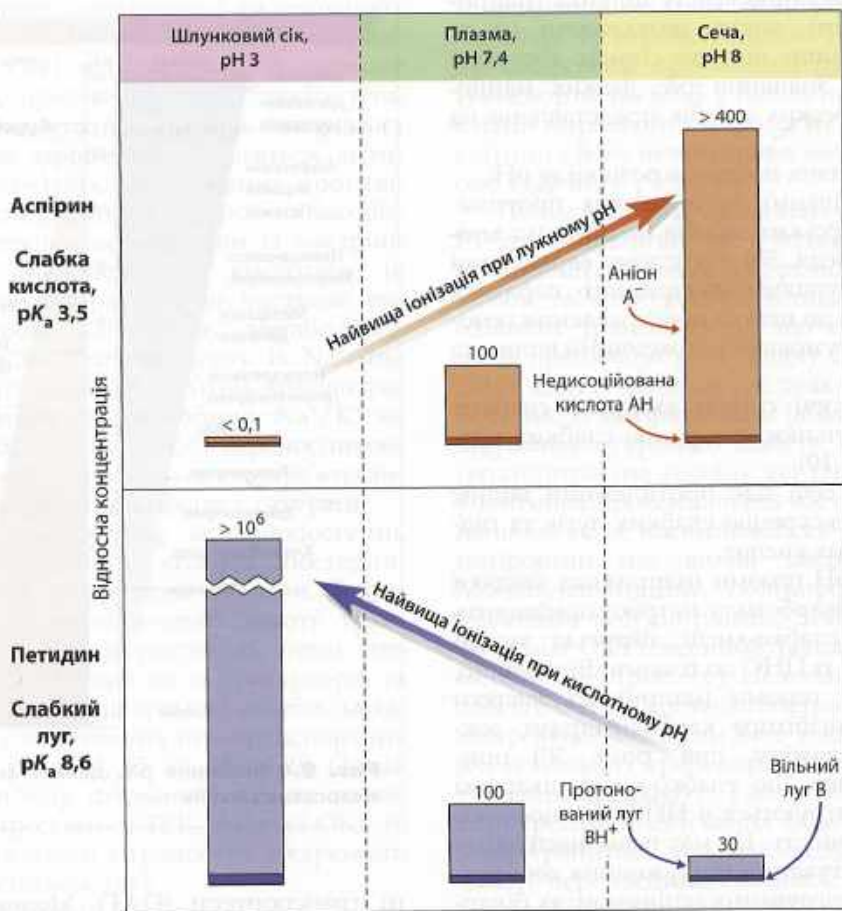
$$pK_a = pH + \log_{10} \frac{[A^-]}{[AH]}$$

У будь-якому випадку, в іонізованих формах,  $BH^+$  чи  $A^-$ , спостерігається дуже низька жиророзчинність і практично нездатність долати мембрану, окрім випадків, коли залучається спеціальний транспортний механізм. Жиророзчинність незаряджених форм, В чи АН, залежить від хімічної природи лікарського засобу; для багатьох лікарських засобів незаряджені різновиди мають значний показник жиророзчинності, що дозволяє швидко перетнути мембрану, однак є й винятки (наприклад, антибіотики аміноглікозидної групи, див. розд. 52), де навіть незаряджена молекула є недостатньо жиророзчинною, щоб суттєво перетнути мембрану. Зазвичай це відбувається через групи водневих зв'язків (як то, гідроксил у цукровому компоненті аміноглікозидів), які доставляють незаряджені гідрофільні молекули.

### Вплив pH на фармакокінетику

Якщо pH відрізняється між частинами тіла, це може вплинути на рівномірний розподіл лікарських засобів, що представлені слабкими лугами чи слабкими кислотами, шляхом впливу на їх іонізацію. На рис. 9.3 представлені слабка кислота (наприклад, аспірин,  $pK_a$  3,5) та слабкий луг (наприклад, петидин,  $pK_a$  8,6) будуть розподілятися трьома середовищами тіла, наприклад, плазмою (pH 7,4), сечею лужної реакції (pH 8) та шлунковим соком (pH 3). У кожному середовищі співвідношення іонізованого та неіонізованого препарату визначається  $pK_a$  засобу та pH середовища. Можна припустити, що неіонізовані форми можуть долати мембрану, а отже, сягають однакової концентрації в кожному середовищі. Вважається, що іонізовані форми взагалі не





**Рис. 9.3** Теоретичний розподіл слабкої кислоти (аспірин) та слабкого лугу (петидин) між водними середовищами (сечею, плазмою та шлунковим соком) відповідно до різниці рН між ними. Цифрами представлено відносну концентрацію (загальна концентрація в плазмі = 100). Припускається, що в кожному випадку незаряджені форми можуть проникнути крізь клітинний бар'єр шляхом розділення середовищ, і таким чином досягається однакова концентрація в усіх трьох середовищах. Варіації часткової іонізації як функція рН є джерелом великих загальних відмінностей концентрації щодо плазми

долають мембрану. У результаті, в рівновазі загальна (іонізована + неіонізована) концентрація лікарського засобу буде відрізнятися в кожному середовищі, де «кислі» препарати будуть сконцентровані в середовищах із високим рН («захоплення іонів»), і навпаки. Градієнти концентрацій, зумовлені захопленням іонів, у теорії можуть бути дуже значними, якщо різниця рН між середовищами значно відрізняється. Таким чином, концентрація аспірину в лужному середовищі ниркового каналця в чотири рази перевищує концентрацію в плазмі, а в плазмі концентрація буде вищою за концентрацію в кислому шлунковому соці близько в 6000 разів. У реальності такі великі градієнти не досягаються з двох основних причин. По-перше, досягнення повної непроникуваності заряджених форм є нереальним, і навіть мала проникність значно впливає на різницю концентрацій, яка може бути досягнута. По-друге, в середовищах тіла рідко спостерігається рівновага. Ані шлунковий сік, ані

рідина в ниркових каналцях не є нерухомими, та вихідний масовий потік молекул лікарського засобу значно змінює градієнти концентрації порівняно з теоретичними умовами рівноваги. Тим не менш, механізм розподілу рН правильно пояснює деякі якісні впливи змін рН у різних середовищах тіла на фармакокінетику слабких кислот чи лужних лікарських засобів, зокрема в світлі виведення нирками та подолання гематоенцефалічного бар'єра.

Зміна рН не є головним вирішальним фактором локалізації абсорбції лікарських засобів із травного тракту. Це пояснюється надважливим значенням величезної поверхні абсорбції завдяки ворсинкам та мікроворсинкам клубової кишки, значно більшої за поверхню абсорбції шлунка. Таким чином, абсорбція «кислого» лікарського засобу, такого як аспірин, посилюється завдяки лікарським засобам, що посилюють евакуацію вмісту шлунка (наприклад метоклопрамід), та сповільнюється лікарськими засобами, що



сповільнюють евакуацію вмісту шлунка (наприклад **пропантелін**), навіть незважаючи на те що кисле середовище шлунка сприяє абсорбції слабких кислот. Значення  $pK_a$  деяких найпоширеніших лікарських засобів представлено на рис. 9.4.

Є кілька важливих наслідків розподілу рН:

- Захоплення вільних лугів деяких протималярійних лікарських засобів (наприклад **хлорохіну**, див. розд. 55) у кислому середовищі травними вакуолями малярійного паразиту робить внесок до шляху перетравлення гемоглобіну, що обумовлює їх токсичний вплив на паразита.
- Підкислення сечі сприяє екскреції слабких лугів та сповільнює екскрецію слабких кислот (див. розд. 10).
- Підлучення сечі має протилежний вплив: воно знижує екскрецію слабких лугів та підвищує – слабких кислот.
- Підвищення рН плазми (наприклад завдяки прийманню бікарбонату натрію) призводить до того, що слабо-кислі лікарські засоби екстрагуються із ЦНС до плазми. Відповідно, зниження рН плазми (наприклад завдяки прийманню інгібітора карбоангідази, зокрема **ацетазоламід**, див. розд. 30) призводить до того, що слабо-кислі лікарські засоби концентруються в ЦНС, що посилює їх нейротоксичність. Це має певні наслідки у виборі обґрунтування підлучення сечі при лікуванні передозування аспірином: як бікарбонат, так і ацетазоламід підвищують рН сечі і таким чином посилюють виведення саліцилату, проте бікарбонат знижує, в той час як ацетазоламід підвищує транспорт саліцилату до ЦНС.

#### ТРАНСПОРТ ІЗ ПЕРЕНОСНИКОМ

У багатьох клітинних мембранах є спеціальні транспортні механізми, які регулюють вхід та вихід фізіологічно важливих молекул, таких як цукри, амінокислоти, нейротрансмітери та іони металів. У широкому сенсі ці механізми поділяються на *ТРР транспортери* та *АТФ-зв'язувальні касети (АЗК)*. Перші полегшують пасивний рух розчинених речовин за їх електрохімічним градієнтом, у той час як останні є активними насосами, що живляться від АТФ. Вважається, що ці транспортери кодується більш ніж 300 людськими генами, більшість з яких в основному діють на ендогенні субстанції, проте інші також транспортують і чужорідні хімічні сполуки («ксенобіотики»), зокрема лікарські засоби. Роль цих транспортерів у виконанні функцій нейротрансмітерів обговорюється в розд. 14, 15 та 38.

#### Органічні катіонні транспортери та органічні аніонні транспортери

Двома структурно пов'язаними ТРР, важливими в розподіленні лікарських засобів, є органічні катіонні транспортери (ОКТ) та органічні аніон-

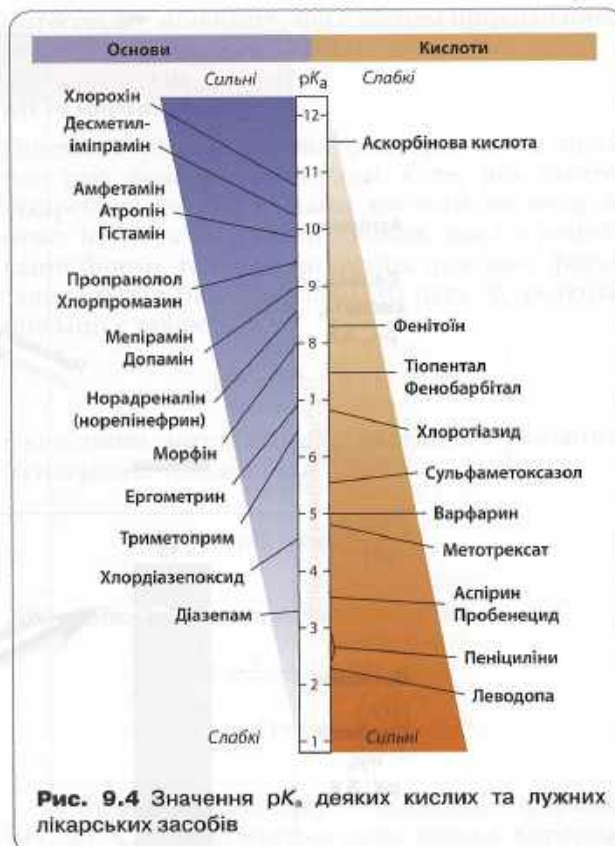


Рис. 9.4 Значення  $pK_a$  деяких кислих та лужних лікарських засобів

ні транспортери (ОАТ). Молекула-переносник складається із трансмембранного білка, який зв'язує одну чи більше молекул або іонів, змінює структуру та відпускає свій вантаж по іншій бік мембрани. Такі системи можуть функціонувати повністю пасивно, без жодного джерела енергії; в такому випадку вони просто полегшують процес досягнення трансмембранної рівноваги певної молекули, що транспортується, за електрохімічним градієнтом. ОКТ переносять дофамін, холін та різноманітні лікарські засоби, зокрема **векуроній**, **хінін** та **прокаїномід**. Вони є «уніпортерами» (тобто кожна молекула білку-транспортера зв'язує одну розчинену молекулу за раз та переносить її за градієнтом). ОКТ2 (наявні в проксимальних ниркових каналцях) концентрують лікарські засоби, такі як **цисплатин** (важливий лікарський засіб, який використовується для лікування раку, див. розд. 57), у цих клітинах, що призводить до їх селективної нефротоксичності; споріднені лікарські засоби (наприклад, **карбоплатин**, **оксаліплатин**) не транспортуються ОКТ2 і є менш нефротоксичними. Конкуренція із **циметидином** за ОКТ2 забезпечує можливість знизити нефротоксичність цисплатину (рис. 9.5). Інші ТРР пов'язані із електрохімічним градієнтом перенесення  $Na^+$  чи інших іонів крізь мембрану, яке відбувається завдяки АТФ-залежним іонним насосам (див. розд. 4); у цьому ж випадку транспорт може відбуватися проти електрохімічного градієнта. При цьому можливий обмін одні-



єї молекули на іншу («антипорт») чи транспорт двох молекул одночасно в тому самому напрямку («симпорт»). ОАТ відповідальні за ниркову секрецію уратів, простагландинів, деяких вітамінів та р-аміногіпуратів, а також лікарських засобів, таких як **пробенецид**, багатьох антибіотиків, протівірусних, нестероїдних протизапальних та протипухлинних лікарських засобів. Накопичення регулюється обміном із внутрішньоклітинними дикарбоновими кислотами (в основному  $\alpha$ -кетоглутаратом, що частково виробляється завдяки клітинному метаболізму, і частково – завдяки котранспорту із  $\text{Na}^+$ , що потрапляє у клітини за градієнтом концентрації). Метаболічна енергія для обміну  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  забезпечується АТФ. Транспорт із переносником, оскільки при цьому відбувається етап зв'язування, показує характеристики процесу сатурації.

Переносники цього типу загальнодоступні, й багато фармакологічних впливів спостерігаються саме внаслідок взаємодії із ними. Таким чином, деякі нервові закінчення мають транспортні механізми, які акумулюють певні специфічні нейротрансмітери чи їх прекурсори, та існує багато прикладів лікарських засобів, механізмом дії яких є інгібування цих транспортних механізмів (див. розд. 14, 15, 38, 48 та 49). Однак з загального погляду фармакокінетики, головні місця, де експресуються ТРР, зокрема ОКТ та ОАТ, а також важливим є транспорт лікарського засобу із переносником, такі:

- гематоенцефалічний бар'єр;
- травний тракт;
- ниркові каналці;
- жовчовивідні шляхи;
- плацента.

#### Транспортери Р-глікопротеїни

Р-глікопротеїни (Р-gps; Р – «permeability», проникність), що належать до надродини транспортерів АЗК, знаходяться на другому місці за важливістю серед класів транспортерів і відповідають за множинну лікарську резистентність ракових клітин, багато з яких експресують АТФ-залежні насоси широкої специфічності, так званий білок множинної лікарської резистентності 1 (*англ.* multidrug resistance protein 1, *mdrl*) – див. розд. 57. Це спостерігається у тварин, грибів та бактерій, і може виділятися як захисний механізм проти токсинів. Р-gps наявні в щіточковій облямівці мембран ниркових каналців, жовчних каналцях, нижній частині астроцитів мікросудин головного мозку<sup>1</sup> та травному тракту. Вони відіграють важливу роль в абсорбції, розподілі

та виведенні багатьох лікарських засобів, і часто поєднані із переносниками ТРР таким чином, що лікарський засіб концентрується, наприклад, транспортером ОАТ у базолатеральній мембрані клітин ниркового каналця й потім виводиться з клітини з боку лумінальної мембрани за допомогою Р-gp (див. розд. 30).

Поліморфні варіації в генах, що кодують ТРР і Р-gp, роблять внесок в індивідуальні генетичні варіації відповіді на різноманітні лікарські засоби та конкурентність лікарських засобів за однакові транспортери, що є причиною взаємодії препаратів (для огляду див. Yoshida et al., 2013). ОКТ1 транспортує деякі лікарські засоби, включно із **метформіном** (використовується для лікування цукрового діабету; див. розд. 32), до гепатотитів (на відміну від ОКТ2, що активний у клітинах проксимальної частини ниркових каналців, як це висвітлювалось раніше). Частково метформін має вплив завдяки гепатоцитам. Мононуклеотидний поліморфізм (*англ.* single nucleotide polymorphisms, *SNP*), який порушує функцію ОКТ1, впливає також на ефективність метформіну (рис. 9.6). Це є лише одним прикладом із багатьох впливів генетики на ефективність лікарського засобу чи його токсичність через зміну активності транспортерів, які впливають на розподіл препарату. Таким чином, індукція чи конкурентне інгібування молекул транспортера може трапитись за наявності другого ліганда, що зв'язує переносника, і виникає можливість лікарської взаємодії (див. рис. 9.5 і розд. 12).

#### Білки плазми та розподіл лікарських засобів в тканинах

Окрім описаних вище процесів, які забезпечують транспорт молекул лікарського засобу бар'єрами між різними рідкими середовищами, на розподіл та виведення лікарських засобів значний вплив мають також два додаткових фактори, а саме:

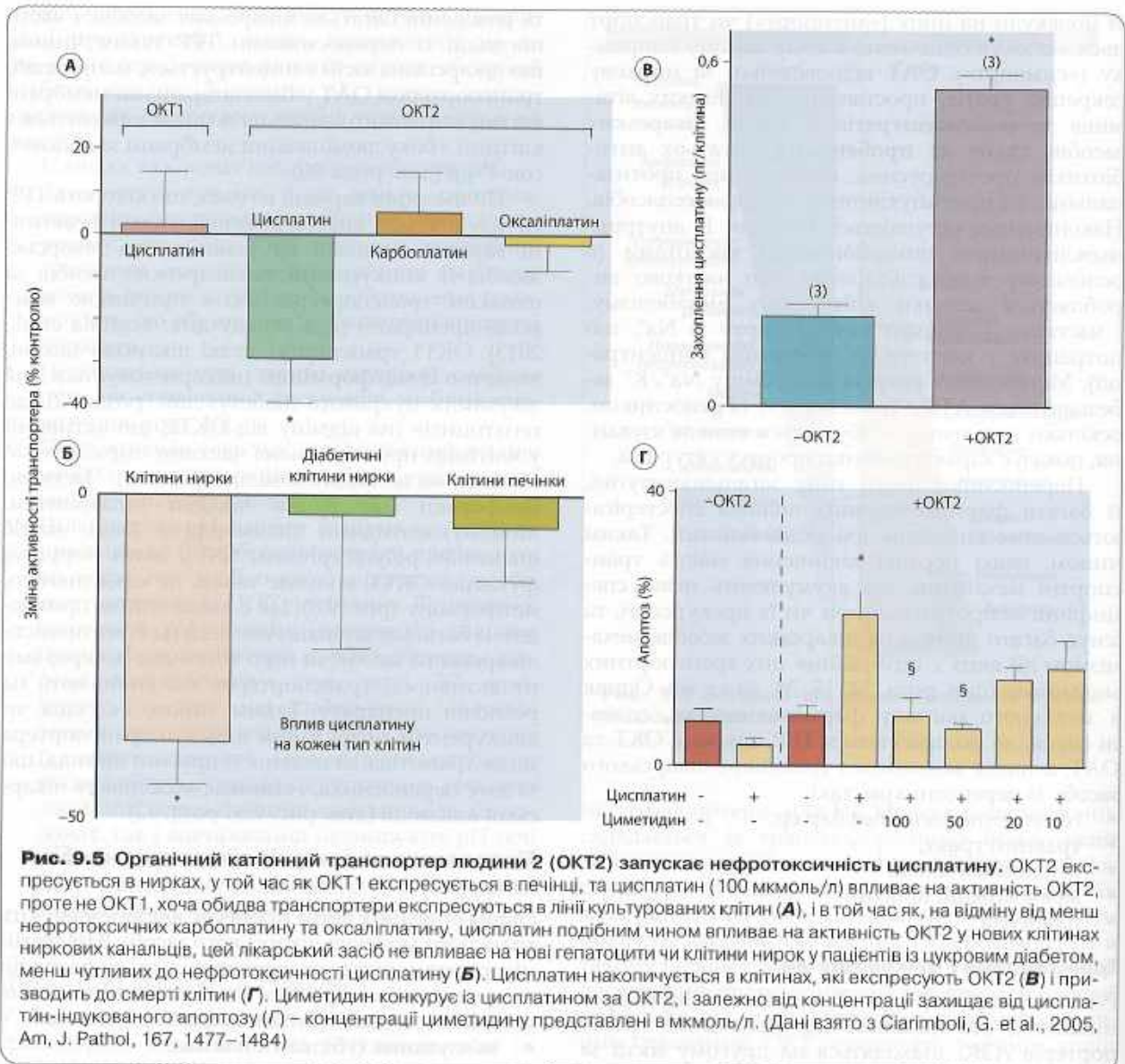
- зв'язування із білками плазми;
- розподіл у жировій та інших тканинах тіла.

#### ЗВ'ЯЗУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ІЗ БІЛКАМИ ПЛАЗМИ

За терапевтичної концентрації в плазмі, багато лікарських засобів в основному представлені у зв'язаній формі. Фракція незв'язаного та фармакологічно активного лікарського засобу в плазмі крові може бути меншою за 1 %, а все інше буде зв'язане із білками плазми. Очевидно мала різниця зв'язування білків (наприклад, 99,5 % та 99,0 %) може мати значний вплив на концентрацію вільної фракції лікарського засобу та дію препарату. Такі відмінності спостерігаються між показниками людської плазми та плазми інших видів, отриманих під час доклінічних досліджень лікарського засобу, та вони мають враховуватися при визначенні прийнятної дози для досліджень, які вперше проводяться за участю людей, під час розробки лікарських засобів. Найважливішим

<sup>1</sup> Це ілюструється відмінностями між штамми та видами. Наприклад, у собак породи Коллі спостерігається недостатність гена множинної лікарської резистентності (*mdrl*), який кодує Р-глікопротеїн, що виводить токсини зі спинномозкової рідини через гематоенцефалічний бар'єр. Це має свої наслідки для ветеринарії, оскільки івермектин (протигельмінтний лікарський засіб, розд. 56) є вкрай нейротоксичним для багатьох порід, які походять від коллі.





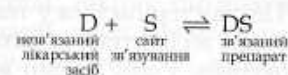
білком плазми, коли мова йде про зв'язування лікарських засобів, є альбумін, який зв'яже багато кислих лікарських засобів (наприклад, варфарин, нестероїдні протизапальні препарати, сульфонаміди) та меншою мірою – лужні лікарські засоби (наприклад, трициклічні антидепресанти та хлорпромазин). Інші білки плазми, включно із Р-глобуліном та кислим глікопротеїном, який підвищує активність запального захворювання, також залучені в процес зв'язування певних лужних лікарських засобів, як-от хінін.

Кількість лікарського засобу, зв'язаного білками плазми, залежить від трьох факторів:

- концентрації незв'язаного лікарського засобу;
- її спорідненості з сайтами зв'язування;
- концентрації білка.

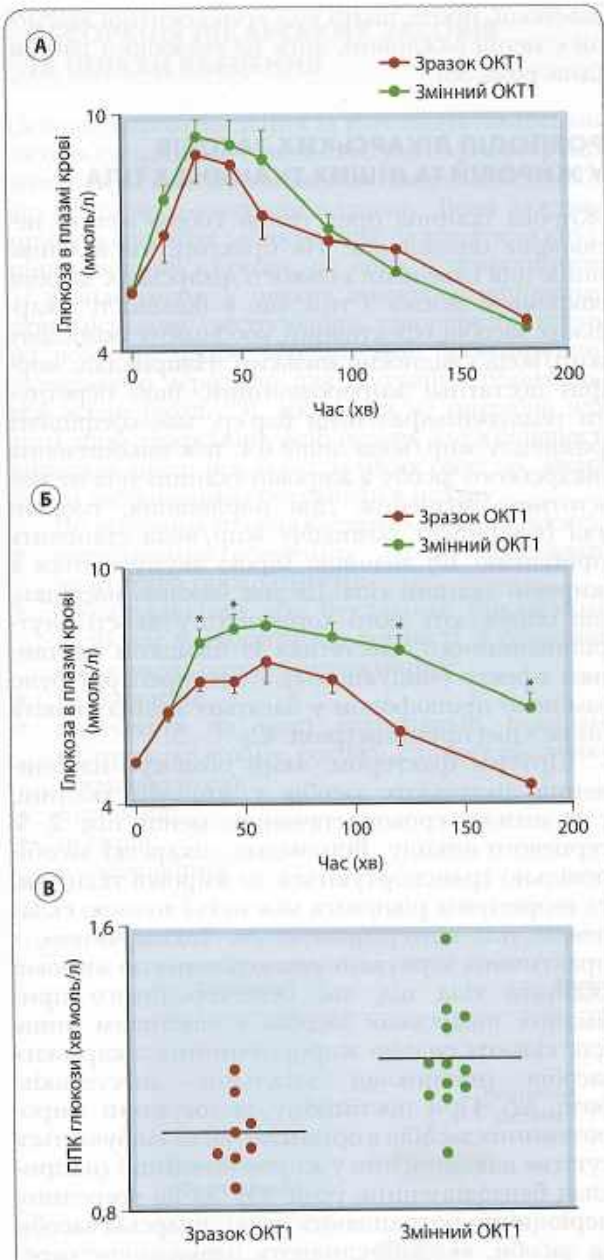
На перший погляд, реакція зв'язування може розглядатися як просте поєднання молекул

лікарського засобу з обмеженою кількістю сайтів зв'язування, що є точною аналогією до зв'язування препарату та рецептора (див. розд. 2):

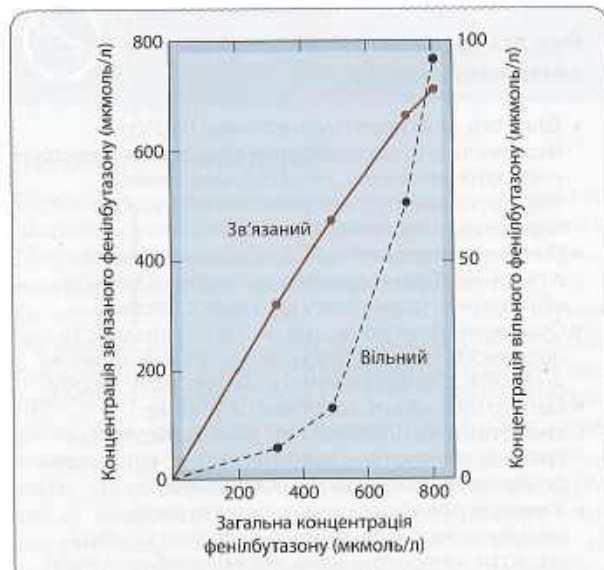


Звичайна концентрація альбуміну в плазмі крові становить близько 0,6 ммоль/л (4 г/100 мл). Таким чином, з наявністю двох сайтів на молекулу альбуміну, здатність зв'язувати лікарський засіб альбумінів плазми крові складатиме близько 1,2 ммоль/л. Для більшості лікарських засобів значення загальної концентрації в плазмі для досягнення лікувального ефекту є значно нижчою за 1,2 ммоль/л, тож за звичайних терапевтичних дозувань сайтів зв'язування більш ніж достатньо, і концентрація зв'язаного препарату (DS) зміню-





**Рис. 9.6** Генетичні варіанти органічних катіонних транспортерів 1 (ОКТ1) у здорових людей, пов'язані з різною відповіддю на метформін. **А.** Пероральний глюкозотолерантний тест (ПГТТ) показав подібні результати рівня глюкози в плазмі крові як у суб'єктів контрольної групи з лише референтними алелями ОКТ1, так і у суб'єктів, у яких спостерігалася принаймні один алель ОКТ1 зі зниженою функцією. **Б.** Для порівняння, після лікування метформіном відповідь на ПГТТ у тих самих референтних суб'єктів була нижчою ніж у тих, у кого наявний алель ОКТ1 зі зниженою функцією, тобто вплив метформіну в групі зі змінним алелем був послабленим. **В.** Вплив глюкози, визначений за площею під кривою глюкози та часу (ППК) у суб'єктів із референтними алелями ОКТ1 був значно нижчим,  $p = 0,004$ . (За матеріалами Yan Shu, et al., 2007. J. Clin. Invest. 117, 1422–1431)



**Рис. 9.7** Зв'язування фенілбутазону з альбуміном плазми. На графіках показано, як збільшується диспропорція концентрації незв'язаного препарату зі збільшенням загальної концентрації, що призводить до того, що сайти зв'язування сягають стану насичення. (Brodie, B., Hogben, C.A.M., 1957. J. Pharm. Pharmacol. 9, 345)

ється майже прямопропорційно до концентрації незв'язаного препарату  $[D]$ . За цих умов, фракція зв'язування,  $[DS]/([D] + [DS])$ , не залежить від концентрації лікарського засобу. Однак деякі лікарські засоби, наприклад толбутамід (див. розд. 32), діють при концентрації в плазмі, коли їх зв'язування з альбуміном плазми сягає стану насичення (тобто знаходиться на плато кривої зв'язування). Це означає, що із підвищенням дози диспропорційно підвищується концентрація вільного (фармакологічно активного) препарату. Це проілюстровано на рис. 9.7.

Альбумін плазми зв'язує багато різних лікарських засобів, тож між ними може виникнути конкуренція. Якщо два препарати (А та В) конкурують таким чином, прийом препарату В може знизити зв'язування з білками плазми й таким чином підвищити концентрацію вільного препарату А у плазмі. Для цього препарату В необхідно зайняти достатню кількість сайтів зв'язування. Дуже невелика кількість лікарських засобів впливає на зв'язування інших лікарських засобів, оскільки в терапевтичних концентраціях у плазмі вони займають лише крихітну фракцію доступних сайтів зв'язування. Винятком є сульфонаміди (розд. 52), оскільки в терапевтичній концентрації вони займають близько 50 % центрів зв'язування та можуть чинити шкідливий вплив шляхом витіснення інших лікарських засобів, чи, якщо мова йде про недоношених немовлят, білірубін (див. далі). У клінічній медицині було зроблено висновки, що зв'язувальна взаємодія такого плану є джерелом небажаної лікарської



### Рух лікарських засобів крізь клітинний бар'єр



- Для того щоб перетнути клітинні бар'єри (наприклад, слизову оболонку травного тракту, ниркових каналців, гематоенцефалічний бар'єр, плаценту), лікарські засоби мають перетнути ліпідні мембрани.
- В основному лікарські засоби перетинають ліпідні мембрани а) шляхом пасивної дифузії, і б) завдяки транспорту із переносником.
- Основним фактором, що визначає швидкість пасивного транспорту крізь мембрани шляхом дифузії є жиророзчинність лікарського засобу.
- Багато лікарських засобів є слабкими кислотами чи слабкими лугами; їхній ступінь іонізації змінюється залежно від рН, відповідно до рівняння Хендерсона–Хассельбаха.
- У випадку слабких кислот чи лугів лише незмінені види (протонована форма слабкої кислоти, непротонована форма слабого лугу) може подолати ліпідні мембрани; це сприяє підвищенню розподілу рН.
- Розподіл рН означає, що слабка кислота акумулює в середовищах із відносно високим рН, у той час як зі слабкими лугами картина зворотна.
- Транспорт із переносником у ниркових каналцях, гематоенцефалічному бар'єрі та епітелії травного тракту опосередковується транспортерами розчинених речовин (TRP), до яких належать органічні катіонні транспортери (ОКТ) та органічні аніонні транспортери (ОАТ), а також Р-глікопротеїни (P-gps) (транспортери класу АТФ-зв'язувальних касет [АЗК]). Це важливо для визначення розподілу багатьох лікарських засобів, схильності до генетичних змін та мішеней для взаємодії лікарських засобів.

### Зв'язування лікарських засобів із білками плазми



- Альбумін плазми крові зв'язує в основному кислі лікарські засоби (близько двох молекул на молекулу альбуміну).
- Насичуване зв'язування може призвести до нелінійної залежності між дозою та вільною (активною) концентрацією лікарського засобу, проте діапазон ефективної концентрації більшості препаратів лікарського призначення є нижчим за рівень, який міг би бути важливим.
- Зв'язування з білками плазми є джерелом відмінностей видів, важливим для тлумачення доклінічних фармакологічних досліджень та визначення перших дозувань для людей.
- β-Глобулін та кислий глікопротеїн також зв'язують певні лікарські засоби.
- Надмірне зв'язування з білками сповільнює виведення лікарського засобу (метаболізм і/або клубочкову фільтрацію).
- Конкуренція між лікарськими засобами за зв'язування з білком може призвести до клінічно значущої взаємодії лікарських засобів, проте це не є правилом.

взаємодії, проте такий вид конкурентної взаємодії є менш важливим, ніж це вважалося раніше (див. розд. 58).

### РОЗПОДІЛ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ У ЖИРОВІЙ ТА ІНШИХ ТКАНИНАХ ТІЛА

Жирова тканина представляє собою велике неполярне середовище. На практиці, це важливо лише для невеликої кількості лікарських засобів, зокрема у зв'язку з тим, що у більшості лікарських засобів ефективний коефіцієнт розподілу жир/вода є відносно низьким. Наприклад, морфін достатньо жиророзчинний, щоб перетнути гематоенцефалічний бар'єр, має коефіцієнт розподілу жир/вода лише 0,4, тож накопичення лікарського засобу в жировій тканині тіла не має істотного значення. Для порівняння, тиопентал (коефіцієнт розподілу жир/вода становить приблизно 10) значною мірою акумулюється в жировій тканині тіла. Це має важливі наслідки, що обмежують його корисність у якості внутрішньовенного анестетика із швидким настанням ефекту («індукцією»), і цей препарат було замінено пропофолом у багатьох країнах навіть лише з цієї причини (розд. 42).

Другим фактором, який обмежує накопичення лікарських засобів у жировій тканині, є її низьке кровопостачання: менш ніж 2 % серцевого викиду. Відповідно, лікарські засоби повільно транспортуються до жирової тканини, та теоретична рівновага між нею і водною складовою тіла відтермінується. Таким чином, з практичних міркувань розподілення до жирової тканини тіла під час безпосереднього приймання лікарських засобів є важливим лише для кількох сильно жиророзчинних лікарських засобів (наприклад загальних анестетиків; розд. 42). При постійному застосуванні жиророзчинних засобів в організмі часто відбувається суттєве накопичення у жировій тканині (наприклад бензодіазепіни; розд. 45). Якщо всередину періодично потрапляють деякі лікарські засоби та засоби, які забруднюють навколишнє середовище (наприклад інсектициди), вони повільно, але поступово накопичуються в жирових відкладеннях.

Лікарські засоби можуть накопичуватися не лише в жировій тканині. **Хлорохін** – протималарійний лікарський засіб (розд. 55), який має високу спорідненість до меланіну та поглинається багатою на меланінові гранули сітківкою, що обумовлює офтальмологічну токсичність хлорохіну. Тетрацикліни (розд. 52) повільно накопичуються в кістках і зубах, оскільки вони мають високу спорідненість до кальцію, тому їх не слід застосовувати у дітей. При постійному застосуванні **аміодарон** (антиаритмічний засіб; розд. 22) у дуже високих концентраціях накопичується в печінці та легенях, спричиняючи гепатит та інтерстиціальний фіброз легень.



**АБСОРБЦІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ  
ТА ШЛЯХИ ВВЕДЕННЯ**

Основні шляхи введення та виведення лікарських засобів схематично наведені на рис. 9.8. Абсорбція визначається як проходження лікарського засобу від місця його введення в плазму. Вона важлива при всіх способах застосування, за винятком внутрішньовенних ін'єкцій, де вона є повноцінною за визначенням. У деяких випадках, наприклад при місцевому застосуванні стероїдного крему на поверхні шкіри або інгаляції бронхорозширювального аерозолу для лікування бронхіальної астми (розд. 29), абсорбція не потрібна для того, щоб лікарський засіб подіяв, але в більшості випадків, перш ніж досягти місця своєї дії, лікарський засіб повинен потрапити в плазму.

- До основних шляхів введення ліків відносять:
- пероральний/всередину (коли лікарський засіб треба проковтнути);
  - сублінгвальний або букальний (лікарський засіб має знаходитися в контакт з слизовою оболонкою ротової порожнини);
  - ректальний;
  - нанесення на інші епітеліальні поверхні (наприклад, шкіру, рогівку, слизову оболонку піхви або носа);
  - інгаляція;
  - ін'єкція;
    - підшкірна;

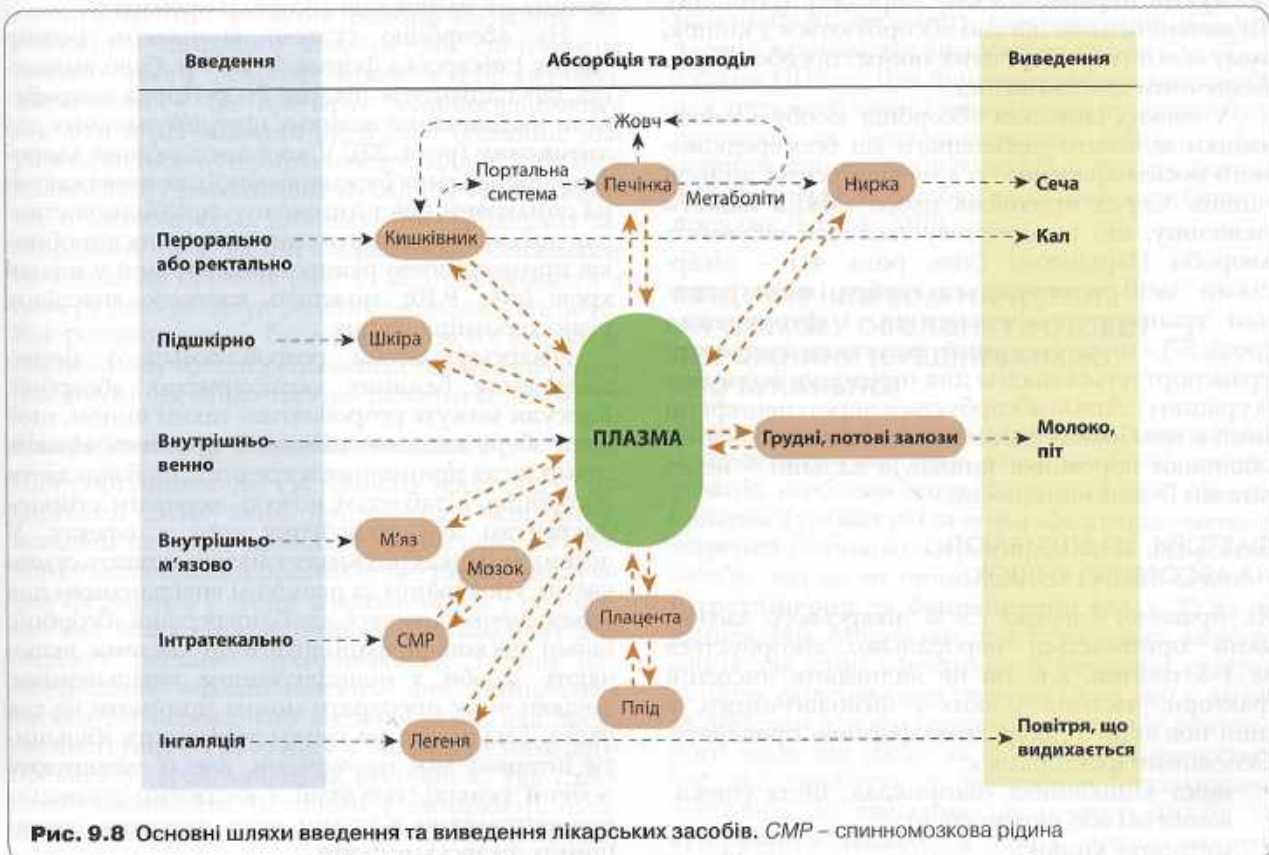
- внутрішньом'язова;
- внутрішньовенна;
- інтратекальна;
- інтравітреальна.

**ПЕРОРАЛЬНЕ ВВЕДЕННЯ**

Більшість низькомолекулярних лікарських засобів приймають перорально та ковтають. Поки лікарський засіб не потрапить до тонкої кишки, абсорбції майже не відбувається, хоча неполярні засоби, які наносяться на слизову оболонку щік або під язик, абсорбуються безпосередньо з ротової порожнини (наприклад, органічні нітрати, розд. 21, та бупренорфін, розд. 43). Пептиди та білки піддаються перетравленню (руйнуванню), а також не проходять епітеліальні бар'єри, тому пероральний шлях введення, як правило, не підходить для біофармацевтичних засобів, і, незважаючи на інноваційні фармацевтичні підходи направлені на подолання цих перешкод, їх ефективність обмежена при такому шляху введення (Renkuntla et al., 2013).

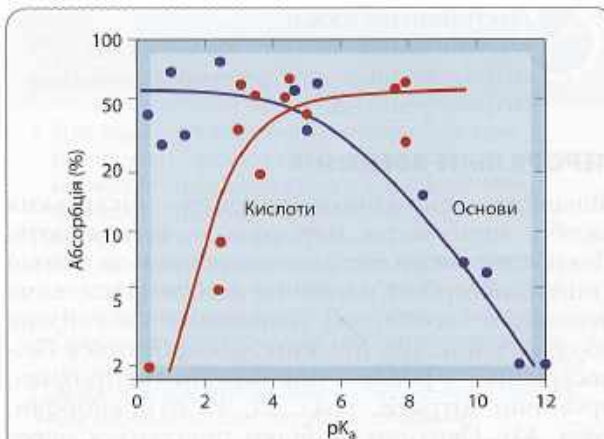
**АБСОРБЦІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ  
ІЗ ТОНКОЇ КИШКИ**

Механізм абсорбції в кишках більшості лікарських засобів такий самий, як і для інших епітеліальних бар'єрів, а саме – пасивне перенесення зі швидкістю, яка визначається



**Рис. 9.8** Основні шляхи введення та виведення лікарських засобів. СМР – спинномозкова рідина





**Рис. 9.9** Абсорбція лікарських засобів з тонкої кишки у вигляді функції  $pK_a$  для кислот та основ. Слабкі кислоти та основи абсорбуються добре; сильні кислоти та основи – погано. (За матеріалами Schanker, L.S. et al., 1957 J. Pharmacol. 120, 528)

іонізацією та розчинністю молекул засобу у ліпідах. На рис. 9.9 зображено абсорбцію різних слабких кислот та основ у вигляді функції  $pK_a$ . Як і слід було очікувати, сильні основи з  $pK_a$  10 або вище абсорбуються погано, як і сильні кислоти з  $pK_a < 3$ , оскільки вони повністю іонізовані. Отрута кураре, нанесена на стріли, які використовують індіанці Південної Америки, містить сполуки четвертинного амонію, що блокують нервово-м'язову передачу (розд. 14). Ці сильні основи погано абсорбуються з кишківника, тому м'ясо тварин, убитих таким способом, було безпечним для вживання.

У деяких випадках абсорбція засобу з тонкої кишки залежить здебільшого від опосередкованого носієм транспорту, а не від простої дифузії ліпідів. Серед прикладів цього можна навести **леводопу**, що використовується для лікування хвороби Паркінсона (див. розд. 41) – лікарський засіб поглинається носієм, який зазвичай транспортує фенілаланін, і **фторурацил** (розд. 57) – цитотоксичний лікарський засіб, який транспортується носієм для піримідинів (тиміну й урацилу). Залізо абсорбується через специфічні носії в мембранах епітеліальних клітин слизової оболонки порожньої кишки, а кальцій – через вітамін D-залежний носій.

#### ФАКТОРИ, ЯКІ ВПЛИВАЮТЬ НА АБСОРБЦІЮ КИШОК

Як правило, близько 75 % лікарського засобу, який приймається перорально, абсорбується за 1–3 години, але на це впливають численні фактори, частина з яких є фізіологічними, а інші пов'язані з лікарською формою препарату. Основними факторами є:

- вміст кишківника (наприклад, після споживання їжі або натщесерце);
- моторика кишківника;

- вісцеральний кровотік;
- розмір часток та лікарська форма;
- фізико-хімічні фактори, зокрема деяка взаємодія між лікарськими засобами;
- генетичний поліморфізм транспортерів і конкуренція між лікарськими засобами за транспортери.

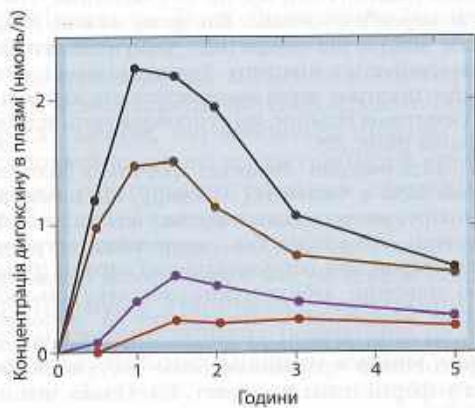
Споживання їжі, яке впливає як на вміст кишківника, так і на вісцеральний кровотік, досліджується, як правило, на раних етапах клінічних досліджень, і відповідним чином коригуються рекомендації з призначення. Суттєвий вплив чинить моторика кишківника.

Багато захворювань (наприклад мігрень, діабетична нейропатія) спричиняють гастростаз та уповільнюють абсорбцію лікарських засобів. Медикаментозне лікування також може впливати на моторику шляхом її зменшення (наприклад, засоби, які блокують мускаринові рецептори; див. розд. 14), або збільшення (наприклад **метоклопрамід** – прокінетичний препарат, який застосовується при мігрені з метою посилення абсорбції знеболювального препарату). Погіршити абсорбцію може надмірно швидкий рух вмісту кишківника (наприклад при деяких формах діареї). Деякі препарати (наприклад **пропранолол**) досягають вищої концентрації в плазмі, якщо їх приймати після їжі, ймовірно, тому, що їжа збільшує вісцеральний кровотік. І навпаки, вісцеральний кровотік значно зменшується на тлі гіповолемії або серцевої недостатності, що призводить до зменшення абсорбції препарату.

На абсорбцію суттєво впливають розмір часток і лікарська форма. У 1971 р. було виявлено, що пацієнти в лікарні Нью-Йорка потребували надзвичайно великих підтримувальних доз **дигоксину** (розд. 22). У ході дослідження здорових добровольців було виявлено, що, незважаючи на однаковий вміст дигоксину, приймання стандартних таблеток дигоксину від різних виробників призводило до різних концентрацій у плазмі крові (рис. 9.10), можливо, частково внаслідок різного розміру часток.

Лікарські засоби розробляються з метою досягнення бажаних характеристик абсорбції. Капсули можуть розроблятися таким чином, щоб вони зберігали свою цілісність протягом кількох годин після приймання всередину, щоб відкласти абсорбцію, а таблетки можуть вкривати стійким покриттям для досягнення того ж ефекту. У деяких випадках до складу капсули входить суміш часток з повільним та швидким вивільненням для забезпечення швидкої, але безперервної абсорбції. Більш досконалі фармацевтичні системи включають засоби з модифікованим вивільненням, завдяки чому препарати можна приймати не так часто. Такі засоби не тільки дозволяють збільшити інтервал між прийомами, але й зменшують побічні реакції, пов'язані з високими піковими концентраціями в плазмі після введення традиційних лікарських форм.





**Рис. 9.10** Пероральна абсорбція дигоксину залежно від різних лікарських форм. Чотири криві відображають середні плазмові концентрації чотирьох лікарських засобів, кожен з яких окремо приймався чотирма пацієнтами. Суттєві відмінності стали причиною стандартизації складу таблеток дигоксину після опублікування результатів цього дослідження. (Lindenbaum, J. et al., 1971. N Engl J Med 285, 1344)

Коли препарати приймають всередину, то намір, зазвичай, полягає в тому, щоб вони абсорбувалися та здійснили системний ефект, але є винятки. **Ванкоміцин** дуже погано всмоктується та приймається перорально з метою знищення токсинуотворювальної бактерії *Clostridium difficile* у просвіті кишки у пацієнтів з псевдомембранозним колітом (побічна реакція на вплив антибіотиків широкого спектра дії, спричинена появою цього мікроорганізму в кишківнику). **Мезалазин** – це препарат 5-аміносаліцилової кислоти в рН-залежній акрилової оболонці, яка розкладається в термінальному відділі клубової кишки та в проксимальному відділі товстої кишки, й застосовується для лікування запальних захворювань цих частин кишківника. **Олсалазин** належить до проліків (див. с. 157) і складається з димеру двох молекул 5-аміносаліцилової кислоти. Він розщеплюється бактеріями товстої кишки в дистальному відділі кишківника та застосовується для лікування пацієнтів з дистальним колітом.

#### Біодоступність та біоеквівалентність

Щоб потрапити до системного кровообігу, лікарський засіб, який приймається всередину, повинен не лише проникати крізь слизову оболонку кишок, але й пройти через ряд інактивуючих ферментів у стінці кишківника та у печінці, що має назву «пресистемного» метаболізму або «ефекту першого проходження». Термін *біодоступність* використовують для позначення частки ( $F$ ) перорально введеної дози, яка досягає системного кровообігу у вигляді незміненого препарату, враховуючи як абсорбцію, так і місцевий метаболізм. Величину  $F$  вимірюють шляхом визначення концентрації засобу в плазмі залежно від кривих часу у групи пацієнтів після

перорального та (окремого) внутрішньовенного введення (частка, що абсорбується після введення внутрішньовенної дози, за визначенням, становить 1). Площа під кривими (ППК), яка описує залежність концентрації в плазмі від часу, забезпечує інтегрований показник впливу лікарського засобу з урахуванням часу та концентрації, а  $F$  розраховується як відношення  $PPK_{i/o}/PPK_{v/o}$ . Біодоступність не є характеристикою виключно лікарського засобу: відмінності в активності ферментів стінки кишківника або печінки, рН шлунка або перистальтика кишок – все це на неї впливає. Через це не можна говорити суто про біодоступність певного засобу, а лише про певний лікарський засіб у індивіда в конкретному випадку, а величина  $F$ , визначена у групі здорових добровольців, може суттєво відрізнитися від значення, отриманого у пацієнтів з захворюваннями травної або кровоносної систем.

Біодоступність стосується лише загальної частки препарату, яка досягає системного кровообігу, незалежно від швидкості абсорбції. Якщо лікарський засіб повністю абсорбується за 30 хв, він досягне набагато вищої пікової концентрації в плазмі (та матиме більш виражений ефект), ніж якби він абсорбувався протягом кількох годин. Регуляторні органи, які повинні приймати рішення щодо ліцензування засобів, що є «еквівалентними генеричними продуктами» запатентованих засобів, вимагають підтвердження «біоеквівалентності» на підставі даних про максимальну досягнуту концентрацію ( $C_{max}$ ) та час між прийомами лікарського засобу  $C_{max}(T_{max})$ , а також  $PPK_{(0-t)}$ . Для більшості лікарських засобів для того, щоб новий генеричний препарат було прийнято як біоеквівалентний,  $PPK_{(0-t)}$  і  $C_{max}$  повинні становити від 80 до 125 % від цих значень для лікарського засобу, який уже перебуває у продажу (ЕМЕА, 2010).

#### ВВЕДЕННЯ ШЛЯХОМ НАНЕСЕННЯ НА СЛИЗОВУ ОБОЛОНКУ РОТОВОЇ ПОРОЖНИНИ (СУБЛІНГВАЛЬНО АБО БУКАЛЬНО)

Абсорбція безпосередньо з ротової порожнини є корисною у випадку, коли потрібна швидка реакція, особливо якщо лікарський засіб є нестабільним в умовах рН шлунка або швидко метаболізується печінкою. Серед прикладів лікарських засобів, які часто приймаються сублінгвально – **нітрогліцерин** та **бупренорфін** (розд. 22 та 43 відповідно). Мідазолам для букального застосування так само ефективно й безпечно купірує початок *епілептичного статусу* (розд. 46) у дітей, як діазепам для внутрішньовенного або ректального введення (Brigo et al., 2015). Скорочується час від прибуття у відділення невідкладної допомоги до введення лікарського засобу та купірування нападу, а також легше вводити препарат. Лікарські засоби, які всмоктуються з



ротової порожнини, потрапляють безпосередньо в системний кровообіг, минаючи порталну систему, тому уникають метаболізму першого проходження ферментами в стінці кишківника та печінці.

### РЕКТАЛЬНЕ ВВЕДЕННЯ

Ректальне введення застосовується для лікарських засобів, які необхідні для отримання місцевої (наприклад, протизапальні засоби, як-от супозиторії з **мезалазином** або клізми для застосування при виразковому коліті, див. розд. 31) або системної дії. Абсорбція після ректального введення може бути ненадійною, але швидкою та більш повною, ніж після перорального введення, оскільки до системного кровообігу через ворітну вену повертається лише частина капілярного дренажу. Цей шлях введення може бути корисним для пацієнтів із блюванням або тих, хто нездатний приймати ліки всередину (наприклад, після оперативних втручань або при паліативній допомозі), проте ректальне введення широко не застосовується навіть за умови достатнього обґрунтування та наявності супозиторіїв у продажу, наприклад супозиторіїв, які містять ерготамін, для лікування нападів мігрені – стану, за якого гастростаз та блювання можуть обмежити ефективність пероральних таблеток (розд. 16).

### НАНЕСЕННЯ НА ПОВЕРХНЮ ЕПІТЕЛІУ

#### ЗАСТОСУВАННЯ ШЛЯХОМ НАНЕСЕННЯ НА ШКІРУ

Препарати застосовують шляхом нанесення на шкіру, коли потрібен місцевий вплив на шкіру (наприклад стероїди для місцевого застосування, розд. 28). Проте можлива помітна абсорбція, що призводить до системних ефектів; абсорбцію іноді використовують у терапевтичних цілях, наприклад при місцевому застосуванні шляхом втирання гелів з нестероїдними протизапальними засобами, такими як **ібупрофен** (розд. 27).

Більшість засобів дуже погано всмоктуються через неушкоджену шкіру. Однак низка фосфорорганічних інсектицидів (див. розд. 14), дія яких починається після проникнення через кутикулу комах, всмоктуються через шкіру та спричиняє випадкові отруєння у працівників ферм.

▼ Повідомляється про випадок із 35-річним квітником у 1932 р. «Коли він ремонтував невелику електричну полумку на своєму робочому місці, він сів на стілець, на сидінні якого було розлито трохи рідини Niso-Fume (40 % розчин вільного нікотину). Він відчув, як розчин просочує його одяг аж до шкіри над лівою сідницею – ділянка була розміром приблизно з його долоню. Він не звернув на це увагу та продовжував працювати ще близько 15 хвилин, коли його раптом охопили нудота та слабкість ... і він відчув, як вкрився рясним потом. Дорогою до лікарні він втратив свідомість». Він вижив, а потім через 4 дні: «При виписуванні з лікарні йому дали той самий одяг, який був на ньому, коли його привезли. Одяг тримали у паперовому пакеті й там, де він був змочений роз-

чином нікотину, він все ще був вологим». Наслідки були передбачуваними. Він знову вижив, але після цього відчув, що «нездатний увійти до теплиці, де розпоршується нікотин». Трансдермальні лікарські форми нікотину зараз використовують для зменшення симптомів відміни, які супроводжують відмову від куріння (розд. 50).

Трансдермальні лікарські форми, в яких лікарський засіб є частиною пластиру, що накладається на шкіру, застосовуються все частіше, та в цій формі доступні кілька засобів, наприклад **естроген** та **тестостерон** для гормонозамісної терапії (розд. 36). Такі пластирі забезпечують доставку лікарського засобу з постійною швидкістю та допомагають уникнути досистемного метаболізму. Для лікування періодичного проривного болю доступний **фентаніл** у формі пластиру (розд. 43). Однак цей спосіб підходить лише для жиророзчинних засобів і є відносно дорогим.

### НАЗАЛЬНІ СПРЕЇ

Деякі аналоги пептидного гормону, наприклад **антидіуретичний гормон** (розд. 34) та **гонадотропін-релізінг-гормон** (див. розд. 36), вводяться у вигляді назальних спреїв, як і **кальцитонін** (розд. 37). Вважається, що всмоктування відбувається через слизову оболонку, що лежить над лімфоїдною тканиною, пов'язаною зі слизовою носовою порожниною. Вона схожа на слизову, що вкриває бляшки Пеєра в тонкій кишці, який також є надзвичайно проникним.

### ОЧНІ КРАПЛІ

Багато лікарських засобів застосовують у вигляді очних крапель – їх дія заснована на всмоктуванні через епітелій кон'юнктивальної сумки. Можна досягнути бажаних місцевих ефектів в оці, не спричиняючи при цьому системних побічних ефектів; наприклад **дорзоламід** є інгібітором карбоангідрази, який вводять у вигляді очних крапель з метою зниження внутрішньоочного тиску у хворих на глаукому. Потрібний ефект досягається без впливу на нирки (див. розд. 30), тим самим уникаючи ацидозу, який спричиняється пероральним введенням ацетазоламиду. Однак відбувається деяке системне всмоктування з ока, що може призвести до небажаних наслідків (наприклад, бронхоспазм у хворих на бронхіальну астму, які застосовують очні краплі **тимололу** від глаукоми).

### ВВЕДЕННЯ ШЛЯХОМ ІНГАЛЯЦІЇ

Інгаляція застосовується для летких та газоподібних анестетиків, а легені в цьому випадку слугують шляхами введення та виведення. Швидкий обмін, що виникає внаслідок великої площі поверхні та кровотоку, дозволяє досягти швидкого регулювання концентрації лікарського засобу в плазмі. Фармакокінетичні параметри інгаляційних анестетиків описані в розд. 42.

Лікарські засоби, що застосовуються для досягнення ефекту в легенях, також вводяться інгаляційно, зазвичай у вигляді аерозоллю.



Глюкокортикоїди (наприклад **беклометазону дипропіонат**) та бронходилататори (наприклад **сальбутамол**; розд. 29) вводяться цим шляхом, щоб досягти високих місцевих концентрацій у легенях, мінімізуючи системні ефекти. Водночас лікарські засоби, що вводяться шляхом інгаляції, зазвичай частково всмоктуються в кровообіг, що може спричинити розвиток системних побічних ефектів (наприклад, тремор після приймання сальбутамолу). Хімічна модифікація лікарського засобу може звести таке всмоктування до мінімуму. Наприклад, **іпратропій**, антагоніст мускарінчутливих рецепторів (розд. 14 і 29), є четвертинним аміачним іонним аналогом атропіну. Застосовується як інгаляційний бронходилататор, оскільки його низька абсорбція зменшує ймовірність розвитку системних побічних ефектів.

### ВВЕДЕННЯ ШЛЯХОМ ІН'ЄКЦІЇ

Внутрішньовенне введення – це найшвидший і найпевніший шлях введення засобу. У результаті болюсного введення швидко досягається висока концентрація лікарського засобу спочатку в правих відділах серця та легневих судинах, а потім у системному кровообігу. Пікова концентрація, що досягає тканин, надзвичайно сильно залежить від швидкості введення. Введення лікарського засобу шляхом внутрішньовенної інфузії за допомогою механічного насоса дозволяє уникнути невизначеності всмоктування з інших ділянок, уникаючи при цьому утворення високих пікових концентрацій у плазмі, які спричиняються болюсним введенням.

Підшкірна або внутрішньом'язова ін'єкція лікарських засобів зазвичай має швидший ефект, ніж пероральне введення, але швидкість всмоктування залежить від місця ін'єкції та місцевого кровотоку. Факторами, що обмежують швидкість абсорбції з місця ін'єкції, є:

- дифузія через тканини;
- виведення місцевим кровотоком.

Абсорбція з місця ін'єкції (іноді, але не завжди, бажана, див. далі) збільшується за рахунок посилення кровотоку. **Гіалуронідаза** (фермент, який розщеплює міжклітинний матрикс, збільшуючи тим самим дифузію) також збільшує абсорбцію лікарського засобу з місця ін'єкції. І навпаки, у пацієнтів з недостатністю кровообігу (шок), у яких зменшена перфузія тканин, абсорбція зменшується (розд. 23).

### МЕТОДИ ВІДТЕРМІНУВАННЯ АБСОРБЦІЇ

Іноді абсорбцію бажано затримати, наприклад для досягнення місцевого ефекту або подовження системної дії. Зокрема додавання адреналіну (епінефрину) до місцевого анестетика зменшує всмоктування анестетика в загальний кровообіг, що ефективно подовжує анестезувальну дію (розд. 44). Додавання протаміну та цинку до складу інсуліну утворює форму тривалої дії

(див. розд. 32). Прокаїн-пеніцилін (розд. 52) – це погано розчинна сіль **пеніциліну**; при введенні у вигляді водної суспензії він повільно всмоктується та здійснює пролонговану дію. Естерифікація стероїдних гормонів (наприклад, медроксипрогестерону ацетату, тестостерону пропіонату; розд. 36) та нейролептичних засобів (наприклад, флуфеназину деканоату; розд. 47) посилює їх розчинність в олії та уповільнює їх всмоктування, коли їх вводять в олійному розчині.

Іншим методом, який застосовується для досягнення повільної та безперервної абсорбції деяких стероїдних гормонів (наприклад **естрадіолу**; розд. 36), є підшкірна імплантація активного фармацевтичного препарату, наприклад у вигляді твердої гранули. Швидкість всмоктування є пропорційною площі поверхні імплантата.

### ІНТРАТЕКАЛЬНЕ ВВЕДЕННЯ

Ін'єкція лікарського засобу в субарахноїдальний простір за допомогою голки для люмбальної пункції використовується для деяких спеціалізованих цілей. Цим шляхом вводять **метотрексат** (розд. 57) при лікуванні окремих дитячих лейкозів, щоб запобігти рецидиву в ЦНС. Шляхом інtrateкального введення місцевого анестетика, такого як **бупівакаїн** (див. розд. 44), можна досягти регіонарної анестезії; цим шляхом також можуть застосовуватися опіюїдні анальгетики (розд. 43). **Баклофен** (аналог ГАМК; розд. 39) використовується для лікування інвалідизувальних м'язових спазмів. Він вводиться інtrateкально, щоб мінімізувати його побічну дію. Деякі антибіотики (наприклад аміноглікозиди) дуже повільно проникають через гематоенцефалічний бар'єр, і в рідкісних клінічних ситуаціях, коли вони є необхідними (наприклад, інфекції нервової системи, спричинені бактеріями, стійкими до інших антибіотиків), їх можуть вводити внутрішньовенно або безпосередньо в шлуночки головного мозку через резервуар. **Нусінерсен**, антисенсовий олігонуклеотид, який застосовується для лікування спінальної м'язової атрофії (розд. 41), вводять інtrateкально, та цей шлях може набувати все більшого значення з огляду на терапевтичний потенціал біофармацевтичних засобів для лікування неврологічних розладів та проблему проникнення цих засобів через гематоенцефалічний бар'єр (див. с. 154).

### ІНТРАВІТРЕАЛЬНЕ ВВЕДЕННЯ

**Ранібізумаб** (фрагмент моноклонального антитіла, який зв'язується із фактором росту судинного ендотелію; розд. 23) або рекомбінантний протеїн **афліберцепт** вводять шляхом інтравітреальної ін'єкції офтальмологами, які лікують пацієнтів із вологою віковою макулодегенерацією, макулярним набряком та хоріоїдальною неоваскуляризацією. При макулярному набряку застосовують інтравітреальні імплантати, які повільно



### Абсорбція та біодоступність лікарських засобів



- Лікарські засоби з дуже низькою жиророзчинністю, включно з тими, які є сильними кислотами або основами, як правило, погано всмоктуються у кишках.
- Деякі лікарські засоби (наприклад **леводопа**) поглинаються шляхом опосередкованого носієм переносу.
- Всмокткування з кишок залежить від багатьох факторів, зокрема:
  - моторики кишок;
  - рН кишківника;
  - розміру часток;
  - фізико-хімічної взаємодії із вмістом кишок (наприклад, хімічна взаємодія між кальцієм і тетрацикліновими антибіотиками);
  - генетичних поліморфізмів транспортерів лікарських засобів та конкуренції за транспортери.
- Біодоступність – це частка отриманої дози лікарського засобу, яка потрапила у системний кровотік. Вона може бути низькою внаслідок неповної абсорбції або тому, що лікарський засіб метаболізується в стінці кишківника чи печінці до того, як досягне системного кровообігу.
- Біоеквівалентність передбачає, що заміна одного лікарського препарату іншим не тягне за собою жодних небажаних наслідків з клінічного погляду.

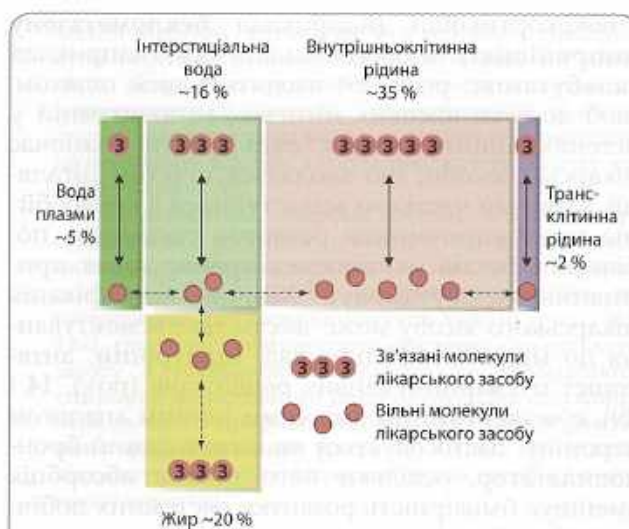
вивільняють кортикостероїди (такі як **флуоцинолон** або **дексаметазон**) протягом кількох місяців.

### РОЗПОДІЛ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ В ОРГАНІЗМІ

#### КОМПАРТМЕНТИ РІДИН В ОРГАНІЗМІ

Вода в організмі розподіляється на чотири основні компартменти (рис. 9.11). Вода становить від 50 до 70 % маси тіла, у жінок набагато менше, ніж у чоловіків.

Позаклітинна рідина складається з плазми крові (близько 4,5 % маси тіла), інтерстиціальної рідини (16 %) і лімфи (1,2 %). Внутрішньоклітинна рідина (30–40 %) – це сума вмісту рідини в усіх клітинах організму. Трансклітинна рідина (2,5 %) включає спинномозкову, внутрішньоочну, перитонеальну, плевральну та синовіальну рідини та секрецію травних соків. Плід також можна розглядати як особливий тип трансклітинного компартменту. У кожному з цих водних компартментів молекули лікарського засобу зазвичай існують як у вільному розчині, так і у зв'язаній формі; окрім того, засоби, які є слабкими кислотами або основами, існуватимуть як рівноважна



**Рис. 9.11** Основні компартменти рідин в організмі, виражені у відсотках до маси тіла. Молекули лікарських засобів існують у зв'язаному або вільному вигляді в кожному компартменті, але лише вільний лікарський засіб здатний переміщатися між ними

суміш зарядженої та незарядженої форм, а положення рівноваги залежатиме від рН.

Тому модель рівноважного розподілу між різними компартментами залежатиме від:

- проникності через тканинні бар'єри;
- зв'язування в межах компартменту;
- розподілу рН;
- розподілу у системі жир/вода.

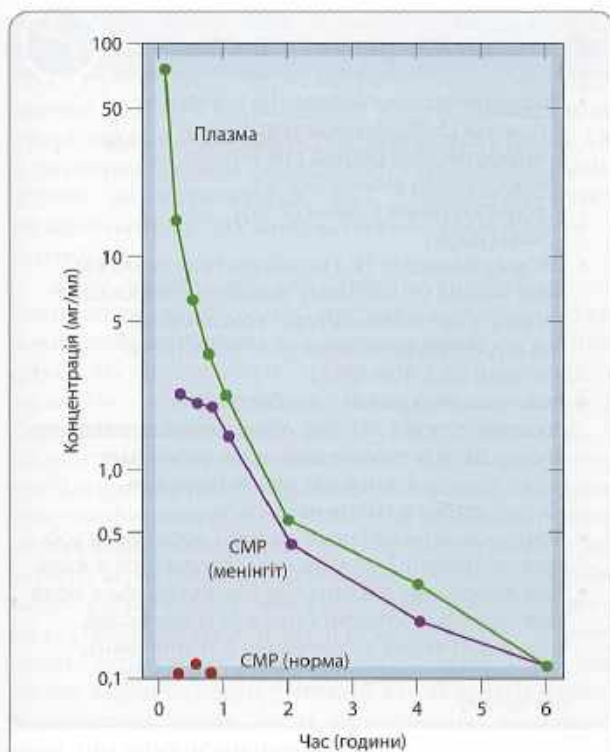
Щоб потрапити в трансклітинні компартменти з позаклітинного компартменту, лікарський засіб повинен перетнути клітинний бар'єр, особливо важливим прикладом якого є гематоенцефалічний бар'єр.

#### ГЕМАТОЕНЦЕФАЛІЧНИЙ БАР'ЄР

Поняття гематоенцефалічного бар'єра запропонував Пол Ерліх (Paul Ehrlich), щоб пояснити своє спостереження, згідно з яким внутрішньовенне введення барвника фарбувало більшість тканин, але не мозок. Цей бар'єр складається із суцільного шару ендотеліальних клітин, щільно з'єднаних і оточених перидитами. Отже, багато лікарських засобів з низькою жиророзчинністю не можуть досягти головного мозку. Однак запалення може порушити цілісність гематоенцефалічного бар'єра, внаслідок чого зазвичай непроникні речовини потрапляють до мозку (рис. 9.12), а також порушується механізм виведення засобів; отже, для лікування бактеріального менінгіту, який супроводжується інтенсивним запаленням, пеніцилін (розд. 52) можна вводити внутрішньовенно (а не інтратекально).

Окрім того, в деяких відділах ЦНС, включно з тригерною зоною хеморецепторів, бар'єр є проникним. Завдяки цьому **домперидон**, противоміотний антагоніст дофамінових рецепторів





**Рис. 9.12** Концентрація антибіотика (тіенаміцину) у плазмі та спинномозковій рідині після внутрішньовенного введення (в дозі 25 мг/кг). У здорових кроликів жоден лікарський засіб не досягає спинномозкової рідини (СМР), але у лабораторних тварин з менінгітом, спричиненим *Escherichia coli*, концентрація лікарського засобу в СМР наближається до такої в плазмі. (За матеріалами Patamascon, P., McCracken Jr, G.H., 1973. Antimicrob. Agents Chemother. 3, 270)

(розд. 31 і 41), який не проникає через гематоенцефалічний бар'єр, але потрапляє в тригерну зону хеморецепторів, використовується з метою запобігання нудоти, спричиненої агоністами дофаміну, такими як **апоморфін**, коли вони застосовуються для лікування хвороби Паркінсона на пізніх стадіях. Це досягається без втрати ефективності, оскільки дофамінові рецептори в базальних гангліях доступні лише для лікарських засобів, які перетинають гематоенцефалічний бар'єр.

**Метилналтрексон бромід** – це антагоніст  $\mu$ -опіоїдних рецепторів периферичної дії, який застосовується для лікування спричинених опіоїдами закрепів у пацієнтів, які потребують застосування опіоїдів у межах паліативної допомоги (розд. 43). Він має обмежену абсорбцію в кишках та не проникає через гематоенцефалічний бар'єр, тому не блокує бажаний ефект опіоїдів на ЦНС. Проникність гематоенцефалічного бар'єра підвищується низкою пептидів, включно з брадикініном. Наразі є зацікавлення в тому, щоб використовувати його для посилення проникнення протипухлинних засобів під час лікування пухлин головного мозку.

## ОБ'ЄМ РОЗПОДІЛУ

Теоретичний об'єм розподілу  $V_d$  (див. розд. 11) визначається як об'єм, який містив би загальну кількість лікарського засобу в організмі ( $Q$ ) у концентрації, рівній тій, яка наявна в плазмі ( $C_p$ ):

$$V_d = \frac{Q}{C_p}$$

Важливо уникати визначення діапазону  $V_d$  занадто тісно з певною анатомічною ділянкою. Лікарські засоби можуть діяти в дуже низьких концентраціях у ключовому компартменті, який забезпечує доступ до їх рецепторів. Наприклад, інсулін має вимірюваний  $V_d$ , подібний до об'єму води в плазмі, але здійснює свій вплив на м'язи, жир і печінку через рецептори, які піддаються впливу інтерстиціальної рідини, а не плазми (розд. 32).

## ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ, РОЗПОДІЛ ЯКИХ ОБМЕЖУЄТЬСЯ ПЕРЕВАЖНО ПЛАЗМОЮ

Об'єм плазми становить близько 0,05 л/кг маси тіла. Розподіл деяких лікарських засобів, таких як **гепарин** (розд. 25), обмежується плазмою, оскільки молекула занадто велика, щоб легко перетнути стінку капіляра. Частіше утримання лікарського засобу в плазмі після одноразового приймання відображає міцне зв'язування з білком плазми. Проте фармакологічний ефект здійснюється саме вільним лікарським засобом, який знаходиться в інтерстиціальній рідині. Після багаторазового приймання відбувається врівноваження, а вимірюване значення  $V_d$  збільшується. Деякі барвники надзвичайно міцно зв'язуються з альбуміном плазми, як-от Еванс блакитний, тому його  $V_d$  використовується в експериментах для вимірювання об'єму плазми.

## ЛІКАРСЬКІ ЗАСОБИ, РОЗПОДІЛ ЯКИХ ВІДБУВАЄТЬСЯ У ПОЗАКЛІТИННІЙ РІДИНІ

Загальний об'єм позаклітинної рідини становить близько 0,2 л/кг і це відповідає приблизному  $V_d$  для багатьох полярних сполук, таких як **векуроній** (розд. 14), **гентаміцин** та **карбеніцилін** (розд. 52). Ці засоби не можуть легко потрапити в клітини у зв'язку з їх низькою жиророзчинністю і вони не здатні вільно перетнути гематоенцефалічний або плацентарний бар'єри. Багато високомолекулярних біофармацевтичних препаратів, зокрема моноклональні антитіла (розд. 5), розподіляються у позаклітинному просторі та отримують доступ до рецепторів на поверхнях клітин, але не можуть легко потрапити всередину клітини. Біофармацевтичні препарати на основі нуклеїнових кислот, які впливають на внутрішньоклітинну ДНК або РНК, часто упаковуються в спеціальні системи доставки (див. с. 158), які полегшують доступ до внутрішньої частини клітин.



## РОЗПОДІЛ ВОДИ В ОРГАНІЗМІ

Загальний об'єм води в організмі становить близько 0,55 л/кг. Це приблизно відповідає розподілу багатьох засобів, які легко перетинають клітинні мембрани, як-от **фенітоїн** (розд. 46) та **етанол** (розд. 50). Зв'язування лікарських засобів поза межами компартменту плазми або розподіл у жирі організму збільшує  $V_d$  до значення, що перевищує загальний об'єм води в організмі. Таким чином, є багато засобів із значенням  $V_d$ , яке перевищує загальний об'єм організму, таких як морфін (розд. 43), трициклічні антидепресанти (розд. 48) та **галоперидол** (розд. 47). Гемодіаліз має обмежену ефективність у виведенні цих засобів з організму, тому в разі передозування процедура гемодіалізу не має користі.

## ВЗАЄМОДІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ УНАСЛІДОК ЗМІНЕНОЇ АБСОРБЦІЇ (ОСНОВНІ ПРИНЦИПИ ВЗАЄМОДІЇ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ДИВ. У РОЗД. 12)

Всмоктування в кишках уповільнюється засобами, які пригнічують спорожнення шлунка, такими як атропін або опіати, або прискорюється засобами, що пришвидшують спорожнення шлунка (наприклад, метоклопрамід; див. розд. 31). Або, наприклад, лікарський засіб А може фізично або хімічно взаємодіяти у кишках з лікарським засобом В таким чином, що пригнічує всмоктування засобу В. Наприклад,  $\text{Ca}^{2+}$  і  $\text{Fe}^{2+}$  окремо утворюють нерозчинні комплекси з **тетрацикліном**, що уповільнює їх всмоктування; **коlestирамін**, смола, що зв'язує жовчні кислоти, також зв'язує кілька засобів (наприклад, варфарин, дигоксин), запобігаючи їх абсорбції при одночасному застосуванні. Інший приклад – додавання **адреналіну (епінефрину)** до ін'єкцій місцевих анестетиків; у результаті вазоконстрикція уповільнює всмоктування анестетика, тим самим продовжуючи його місцевий ефект (розд. 44). Зараз починають застосовувати фізіологічно обґрунтоване моделювання для кількісного прогнозування ефектів генетичних поліморфізмів транспортерів лікарських засобів у кишках та гепатоцитах і взаємодії лікарських засобів через конкуренцію за ці транспортери (Yoshida et al., 2013).

## ВЗАЄМОДІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ, ЗУМОВЛЕНА ЗМІНЕНИМ РОЗПОДІЛОМ (ОСНОВНІ ПРИНЦИПИ ВЗАЄМОДІЇ МІЖ ЛІКАРСЬКИМИ ЗАСОБАМИ ДИВ. У РОЗД. 12)

Один лікарський засіб може змінити розподіл іншого, конкуруючи за спільне місце зв'язування з альбуміном плазми або білком тканини, але такі взаємодії рідко мають клінічну значущість, якщо вони не супроводжуються окремим впливом на виведення лікарського засобу (див. розд. 10, 12). Витіснення лікарського засобу із сайтів зв'язування в плазмі або тканинах тимчасово збільшує концентрацію вільного (незв'язаного) засобу, й

## Розподіл лікарських засобів

- До основних компартментів належать:
  - плазма (5 % від маси тіла);
  - інтерстиційна рідина (16 %);
  - міжклітинна рідина (35 %);
  - трансклітинна рідина (2 %);
  - жир (20 %).
- Об'єм розподілу ( $V_d$ ) визначається як об'єм, який містив би загальну кількість лікарського засобу в організмі ( $Q$ ) при концентрації, яка дорівнює вимірюваній концентрації в плазмі ( $C_p$ ),  $V_d = Q/C_p$ .
- Розподіл лікарських засобів, які не розчиняються в ліпідах, обмежений переважно плазмою та інтерстиціальними рідинами; після одноразового введення більшість не потрапляє в головний мозок.
- Жиророзчинні лікарські засоби досягають усіх компартментів і можуть накопичуватися в жирі.
- Для лікарських засобів, які накопичуються поза межами компартменту плазми (наприклад, у жирі або через зв'язування з тканинами),  $V_d$  може перевищувати загальний об'єм організму.

за цим настає посилене виведення, отже, утворюється нова концентрація в рівноважному стані, в якій знижено загальну концентрацію лікарського засобу в плазмі, але концентрація вільного лікарського засобу є подібною до такої перед введенням другого засобу, який «витісняє». Серед наслідків, які мають потенційну клінічну значущість, є такі:

- Шкода від тимчасового збільшення концентрації вільного лікарського засобу до досягнення нової рівноважної концентрації.
- Якщо дозу регулюють відповідно до вимірювань загальної концентрації в плазмі, слід розуміти, що одночасне застосування засобу, який витісняє, змінюватиме цільовий діапазон терапевтичних концентрацій.
- Якщо лікарський засіб, який витісняє, додатково знижує виведення першого, так що в новому рівноважному стані концентрація вільних речовин збільшується не тільки різко, а й хронічно, можлива сильна токсичність.

Хоча багато засобів мають помітну спорідненість з альбуміном плазми, й отже, можна очікувати їх потенційну взаємодію, насправді кількість випадків клінічно важливої взаємодії цього типу є досить малою. До засобів, що зв'язуються з білками та вводяться в досить великих дозах, щоб діяти як агенти, що витісняють, належать різні **сульфаніламід** та **хлоралгідрат**; дуже сильно зв'язується з альбуміном плазми трихлороцтова кислота – метаболіт хлоралгідрату. Витіснення білірубину з альбуміну такими лікарськими засобами в новонароджених з неонатальною жовтяницею може мати клінічно згубні наслідки:



метаболізм білірубину в печінці недоношеної дитини не розвинений, а незв'язаний білірубін може проникнути через незрілий гематоенцефалічний бар'єр і спричинити ядерну жовтяницю (фарбування базальних гангліїв білірубіном). Це спричиняє болісні та постійні порушення рухів, відомі як хореоатетоз, що характеризуються мимовільними посмикуваннями та корчами у дитини.

Дозу фенітоїну регулюють відповідно до вимірювання його концентрації в плазмі, й такі вимірювання зазвичай не відрізняють зв'язаний фенітоїн від вільного (тобто вони відображають загальну концентрацію лікарського засобу). Введення лікарського засобу, який витісняє, у хворого на епілепсію, стан якого на тлі фенітоїну стабілізується (розд. 46), знижує загальну концентрацію фенітоїну в плазмі крові внаслідок посилення виведення вільного лікарського засобу, але втрати ефективності при цьому не відбувається, оскільки не змінюється концентрація незв'язаного (активного) фенітоїну в новому рівноважному стані. Якщо не розуміти, що терапевтичний діапазон концентрацій у плазмі крові таким чином знижується, може бути призначена збільшена доза, що заподіє шкоду.

Лікарські засоби, які змінюють зв'язування з білками, іноді додатково зменшують виведення витісненого лікарського засобу, що спричиняє клінічно важливу взаємодію. *Саліцилати* витісняють *метотрексат* із місць зв'язування на альбуміну та знижують його секрецію в нефрон за рахунок конкуренції з ОАТ (розд. 10).

*Хінідин* та деякі інші антиаритмічні лікарські засоби, зокрема *верапаміл* та *аміодарон* (розд. 22), витісняють дигоксин із сайтів зв'язування в тканинах, одночасно зменшуючи його екскрецію нирками; отже, вони можуть спричинити тяжкі порушення ритму через токсичність дигоксину.

### СПЕЦІАЛЬНІ СИСТЕМИ ДОСТАВКИ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

З метою удосконалення доставки лікарських засобів та їх локалізації в тканинах-мішенях використовують або розробляють низку технологічних підходів. Серед них:

- проліки;
- кон'югати антитіло-лікарський засіб;
- пакування в ліпосоми;
- імплантовані пристрої з покриттям.

#### ПРОЛІКИ

Проліки – це неактивні прекуртори (попередники), які метаболізуються до активних метаболітів; вони описані в розд. 10. Деякі приклади в клінічному застосуванні не мають очевидних переваг, а те, що вони є проліками, було виявлено лише ретроспективно й випадково, адже

мета дослідження була іншою. Проте деякі з них дійсно мають переваги. Наприклад, цитотоксичний лікарський засіб **циклофосфамід** (див. розд. 57) стає активним лише після того, як він метаболізується в печінці; отже, його можна приймати всередину, не завдаючи серйозної шкоди епітелію кишківника. Леводопа всмоктується із травного тракту та перетинає гематоенцефалічний бар'єр за допомогою механізму транспортування амінокислот перед тим, як перетворитися в активний дофамін у нервових закінченнях базальних гангліїв (розд. 41). **Зидовудин** фосфорилується до свого активного метаболіту трифосфату лише в клітинах, які містять відповідну зворотну транскриптазу, й отже, має селективну токсичність до клітин, інфікованих ВІЛ (розд. 53). **Валацикловір** і **фамцикловір** – це ефірні проліки **ацикловіру** та **пенцикловіру** відповідно. Їх біодоступність є більшою, ніж у ацикловіру та пенцикловіру, які самі собою є проліками, що перетворюються в активні метаболіти в заражених вірусом клітинах (розд. 53). **Діацетилморфін** (героїн) – це пролікарський засіб, який проникає крізь гематоенцефалічний бар'єр навіть швидше, ніж його активні метаболіти морфін та 6-моноацетилморфін (розд. 43), що обумовлює посилене відчуття ейфорії й, отже, його адиктивний потенціал.

Доставка лікарських засобів на основі нуклеїнових кислот (антисенсові олігонуклеотиди та засоби малих інтерферувальних РНК) до їх внутрішньоклітинних ділянок дії є основною проблемою цього класу біофармацевтичних засобів (розд. 5). Модифікація цих засобів хімічними групами, які зв'язують специфічні поверхневі транспортери, дозволяє здійснити доставку ліків до певних клітин. Асіалоглікопротеїновий рецептор (ASGR) – це лектин, який активно експресується на клітинній поверхні гепатоцитів і зв'язує кінцеві залишки галактози та N-ацетилгалактозаміну (GalNAc), що призводить до селективного поглинання гепатоцитів (Prakash et al., 2016).

За допомогою відповідних проліків теоретично можна подолати й інші проблеми: наприклад, нестабільність лікарських засобів в умовах рН шлунка, пряме подразнення шлунка (аспірин був синтезований у XIX ст. при навмисній спробі утворити проліки саліцилової кислоти, які б могли толеруватися при прийманні всередину), нездатність лікарського засобу перетнути гематоенцефалічний бар'єр тощо. Хоча оптимістично налаштованому розробнику проліків «доведеться мати на увазі, що нормальна реакція організму на чужорідну речовину полягає в тому, щоб використати її як їжу», згадані вище успіхи в доставці засобів нуклеїнових кислот до гепатоцитів є помітним стимулом, адже ранні дослідження у людей надали можливість підтвердити певну концепцію в пацієнтів з дисліпідемією, гемофілією та однією з форм амлоїдозу.



## КОН'ЮГАТИ АНТИТІЛО–ЛІКАРСЬКИЙ ЗАСІБ

▼ Однією з цілей хіміотерапії при раку є підвищення селективності цитотоксичних засобів (див. розд. 57). Одним із підходів є приєднання лікарського засобу або токсину до антитіла, спрямованого проти специфічного до пухлини антигена, який вибірково зв'язуватиметься з клітинами пухлини (Thomas et al., 2016). **Адо-трастузумаб емтанзин та брентуксимаб ведотин** були схвалені Управлінням з контролю якості харчових продуктів та лікарських засобів США (FDA) для лікування окремих випадків метастатичного раку грудної залози та лімфоми Годжкіна відповідно.

## ПАКУВАННЯ В ЛІПОСОМИ

▼ Ліпосоми – це пухирці діаметром 0,1–1 мкм, які утворюються при обробці водної суспензії фосфоліпідів ультразвуком. Їх можна заповнити нерозчинними в жирах засобами, які зберігаються до порушення цілісності ліпосоми. Ліпосоми поглинаються мононуклеарними фагоцитами, особливо в печінці. Вони також концентруються у злоякісних пухлинах. У продажу є кілька хіміотерапевтичних засобів у ліпосомній формі (див. Yingchoncharoeu et al., 2016). **Амфотерицин**, протигрибковий лікарський засіб, який застосовується для лікування системних мікозів (розд. 54), доступний у ліпосомній формі, яка є менш нефротоксичною й переноситься краще, ніж зви-

чайна форма, хоча вартість її значно вища. Форма **доксорубіцину** тривалої дії, інкапсульованого в ліпосомах, доступна для лікування злоякісних новоутворень (включно з раком яєчників та мєломомою), а **паклітаксел** у наночастинках альбуміну використовують для лікування раку грудної залози (розд. 57). Ліпосомальний лікарський засіб **цитарабіну** доступний для інтратекального лікування лімфоматозного менінгіту, а ліпосомний лікарський засіб **вінкристину** – для окремих пацієнтів з гострим лімфобластним лейкозом.

## ІМПЛАНТОВАНІ ПРИСТРОЇ З ПОКРИТТЯМ

▼ Розроблено системи, які забезпечують доставку лікарського засобу з імплантатів до місця його дії. Серед прикладів – доставка гормонів до ендометрія з внутрішньоматкових пристроїв та доставка антитромботичних та антипроліферативних агентів (лікарських або радіофармацевтичних засобів) до вінцевих артерій зі *стентів* (трубчастих пристроїв, уведених через катетер після розширення просвіту ураженої вінцевої артерії з допомогою балона). Стенти зменшують можливість розвитку повторного стенозу, але він все одно може відбутися на краях пристрою. Покриття стентів засобами, такими як **сиролімус** (потужний імуносупресант; див. розд. 27), залитими у поверхневий полімер, допомагає запобігти розвитку цієї важливої клінічної проблеми.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ТА РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

### Абсорбція та біоеквівалентність лікарських засобів

EMA, 2010. Guideline on the investigation of bioequivalence. [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2010/01/WC500070039.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf). (Станом на 19 березня 2017 р.)

Yoshida, K., Maeda, K., Sugiyama, Y., 2013. Hepatic and intestinal drug transporters: prediction of pharmacokinetic effects caused by drug-drug interactions and genetic polymorphisms. *Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 53, 581–612. (Огляд стану прогнозування фармакокінетичних параметрів залежно від взаємодії лікарських засобів, опосередкованої транспортерами, та фармакогенетики.)

### Розподіл лікарських засобів (включно з гематоенцефалічним бар'єром)

Ciarimboli, G., 2008. Organic cation transporters. *Xenobiotica* 38, 936–971. (Обговорюється видовий та тканинний розподіл різних ізоформ гена ОКТ та поліморфізмів ОКТ як джерело змін у реакції на вплив лікарського засобу.)

Miller, D.S., Bauer, B., Hartz, A.M.S., 2008. Modulation of P-glycoprotein at the blood-brain barrier: opportunities to improve central nervous system pharmacotherapy. *Pharmacol. Rev.* 60, 196–209.

### Доставка лікарських засобів та способи введення

Brigo, F., Nardone, R., Tezzon, F., Trinka, E., 2015. Nonintravenous midazolam versus intravenous or rectal diazepam for the treatment of early status epilepticus: a systematic review with meta-analysis. *Epilepsy Behav.* 49, 325–336. («Мідазолам, який вводиться іншим, окрім внутрішньовенного, шляхом, так само ефективний й безпечний, як діазепам, що вводиться внутрішньовенно або ректально, кутірує початок епілептичного

статусу у дітей, а також, можливо, і в дорослих». Мідазолам букально був соціально більш прийнятним і простішим у введенні, а також ефективнішим, ніж діазепам ректально, для контролю судом.)

Huttunen, K.M., Raunio, H., Rautio, J., 2011. Prodrugs – from serendipity to rational design. *Rev.* 63, 750–771. (Огляд стратегій застосування проліків.)

Needham, L.A., Davidson, A.H., Bawden, L.J., Belfield, A., 2011. Drug targeting to monocytes and macrophages using esterase-sensitive chemical motifs. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 339, 132–142. (Іноваційний метод спрямування лікарських засобів на цю клітинну лінію, що вибірково експресує естеразу, яка вивільняє заряджену форму лікарського засобу внутрішньоклітинно – там, де лікарський засіб захоплюється та де знаходиться його мішень.)

Prakash, T.P., Yu, J., Migawa, M.T., et al., 2016. Comprehensive structure activity relationship of triantennary N-acetylgalactosamine conjugated antisense oligonucleotides for targeted delivery to hepatocytes. *J. Med. Chem.* 59, 2718–2733. (Передова технологія: потенційний шлях для потоку засобів на основі нуклеїнових кислот.)

Renukuntla, J., Vadlapudi, A.D., Patel, A., Boddu, S.H.S., Mitra, A.K., 2013. Approaches for enhancing oral bioavailability of peptides and proteins. *Int. J. Pharm.* 447, 75–93. (Лише обмежений успіх.)

Thomas, A., Teichner, B.A., Hassan, R., 2016. Antibody-drug conjugates for cancer therapy. *Lancet Oncol.* 17 (6), e254–e262. (Приблизливий підхід, два засоби, ліцензовано FDA.)

Yingchoncharoeu, P., Kanilowski, D.S., Richardson, D.R., 2016. Lipid-based drug delivery systems in cancer therapy: what is available and what is yet to come. *Pharmacol. Rev.* 63, 701–787. (Потенціал ліпідних наночастинок – кілька вже ліцензовано.)



# Метаболізм та виведення лікарських засобів

# 10

## СТИСЛИЙ ВИКЛАД РОЗДІЛУ

Описано I та II фази метаболізму лікарських засобів із приділенням особливої уваги значенню монооксигеназної системи цитохрому P450. Охоплено процеси жовчовиділення та enteroгепатичної рециркуляції лікарських засобів, а також взаємодії засобів, спричиненої стимулюванням або інгібуванням метаболізму. Описано виведення лікарських засобів та їх метаболітів нирками та розглянуто взаємодію лікарських засобів залежно від впливу на виведення нирками.

## ВСТУП

Елімінація лікарського засобу – це незворотне його виведення з організму. Вона відбувається в ході двох процесів: *метаболізму* та *екскреції*. Метаболізм складається з анаболізму та катаболізму, тобто, відповідно, накопичення й розщеплення речовин в організмі шляхом ферментативного перетворення однієї хімічної сполуки в іншу, тоді як екскреція полягає у виведенні з організму лікарського засобу або його метаболітів. Основні шляхи виведення:

- нирки;
- гепатобіліарна система;
- легені (важливо для летких/газоподібних анестетиків).

Більшість лікарських засобів виводяться з організму із сечею: в незміненому вигляді або у вигляді полярних метаболітів. Деякі засоби виділяються в жовч через печінку, але більшість з них потім повторно абсорбуються з кишок. Однак у деяких випадках (наприклад **рифампіцин**; розд. 52) у здорових людей значна частка незміненого лікарського засобу виводиться з калом, а у пацієнтів із прогресивним погіршенням функції нирок поступового значення набуває виведення з фекаліями таких засобів, як **дигоксин**, що зазвичай виводяться із сечею (розд. 22). Виведення через легені відбувається лише у випадку застосування високолетких або газоподібних засобів (наприклад, загальних анестетиків; розд. 42). Невелика кількість деяких засобів також виводяться з виділеннями, такими як молоко або піт. Виведення цими шляхами є кількісно незначним порівняно з виведенням із сечею, хоча іноді виведення з молоком може мати значення через вплив на дитину ([www.fpnotebook.com/ob/Pharm/MdctnsInLctn.htm](http://www.fpnotebook.com/ob/Pharm/MdctnsInLctn.htm)).

Ліпофільні речовини нирками не виводяться ефективно (див. далі, с. 168). Отже, більшість ліпофільних засобів метаболізуються до більш полярних продуктів, які потім виводяться із сечею. Лікарські засоби метаболізуються переважно в печінці, особливо за допомогою системи цитохрому P450 (CYP). Деякі ферменти P450 є позапечінковими та відіграють важливу роль у біосинтезі стероїдних гормонів (розд. 34) та ейкозаноїдів (розд. 18), але тут наш інтерес полягає у катаболізмі лікарських засобів печінковою системою P450.

## МЕТАБОЛІЗМ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Тварини розвинули складні системи детоксикації сторонніх хімічних речовин («ксенобіотиків»), включно з канцерогенами та токсинами, які містяться в отруйних рослинах. Лікарські засоби є особливим випадком таких ксенобіотиків, і, як і рослинні алкалоїди, вони часто виявляють *хіральність* (тобто мають більше одного стереоізомеру), що впливає на їх метаболізм у цілому. Метаболізм лікарських засобів включає два типи реакцій, відомі як I фаза і II фаза, які часто відбуваються послідовно. В обох фазах знижується розчинність ліпідів, збільшуючи тим самим виведення із сечею.

## РЕАКЦІЇ І ФАЗИ

Реакції I фази (наприклад, окиснення, відновлення або гідроліз) є катаболічними, та їх продукти часто є більш хімічно реактивними, а отже, як це не парадоксально, іноді більш токсичні або канцерогенні, ніж вихідний лікарський засіб. У ході реакцій I фази в молекулу часто вводиться реакційноздатна група, як-от гідроксил – цей процес відомий як «функціоналізація». Потім ця група слугує точкою атаки для кон'югуючої системи з метою приєднання такого замісника, як глюкуронід (рис. 10.1), що пояснює, чому реакції I фази так часто передують реакціям II фази. У ході реакцій I фази особливо важливого значення набуває печінка. Багато печінкових ферментів, що метаболізують лікарські засоби, включно з ферментами CYP, вбудовані в гладкий ендоплазматичний ретикулум. Їх часто називають «мікосомальними» ферментами, оскільки при гомогенізації та диференціальному центрифугуванні ендоплазматичний ретикулум розбивається на дуже дрібні фрагменти, які осідають лише після тривалого високошвидкісного центрифугування в мікосомній фракції. Щоб досягти цих



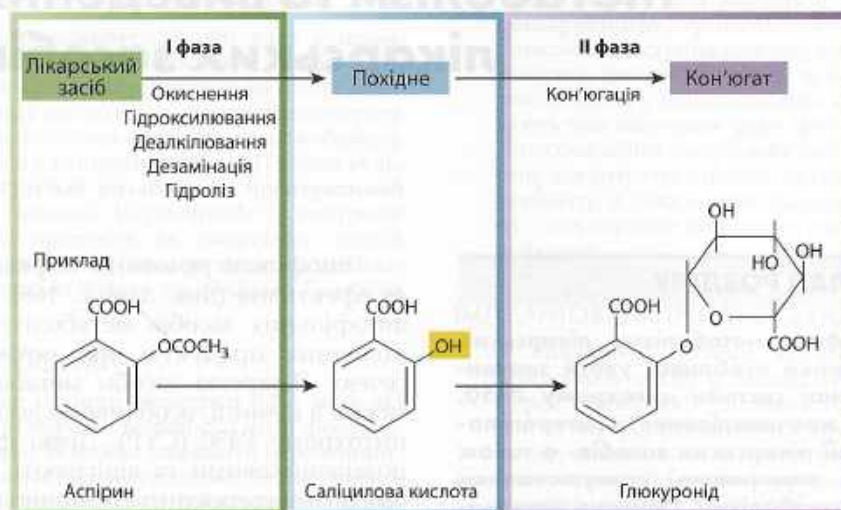


Рис. 10.1 Дві фази метаболізму лікарських засобів

метаболізуючих ферментів у житті, лікарський засіб повинен проникнути через клітинну мембрану. Полярним молекулам зробити це складніше, ніж неполярним, за винятком випадків, коли існують специфічні транспортні механізми (розд. 9), тому внутрішньоклітинний метаболізм важливий для жиророзчинних засобів, тоді як полярні засоби, принаймні частково, виводяться в незміненому вигляді із сечею.

#### МОНООКСИГЕНАЗНА СИСТЕМА P450

##### Характер, класифікація та механізми дії ферментів P450

Ферменти цитохрому P450 – це білки гему, що складаються з великої родини («надродини») споріднених, але відмінних між собою ферментів, кожен з яких називається CYP, за яким слідує набір цифр і буква. Ферменти P450 (розглянуті Guengerich et al., 2016 і Nair et al., 2016) відрізняються один від одного послідовністю амінокислот, чутливістю до інгібіторів та індуквальних агентів (див. далі), а також специфічністю реакцій, які вони каталізують. Різні члени родини мають різні особливості субстрату, які, проте, часто частково збігаються. Очищення та клонування ферментів P450 складають основу поточної класифікації, яка ґрунтується на подібності амінокислотних послідовностей. Не всі 57 людських CYP залучені до метаболізму лікарських засобів, але, за оцінками, CYP ферменти в родинах 1–3 опосередковують 70–80 % метаболізму I фази низькомолекулярних лікарських засобів, що використовуються у клінічній практиці (Ingelman-Sundberg, 2004). У великій міжнародній базі даних на 12 CYP припадає 93,0 % метаболізму лікарських засобів з 1839 відомих реакцій метаболізму лікарських засобів (Preissner et al., 2013). CYP 1A2, 3A4, 2D6, 2C9 та 2C19 відповідали за приблизно 60 % метаболізму лікарських засобів.

Таблиця 10.1 Приклади лікарських засобів, які є субстратами ізоферментів P450

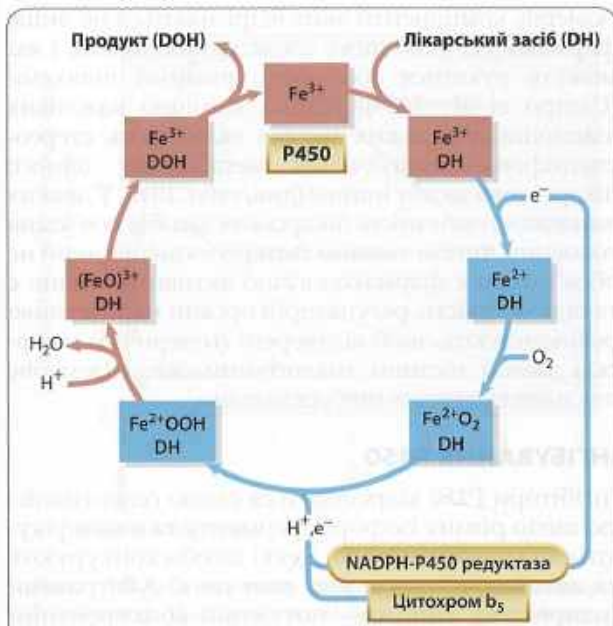
Ізофермент P450	Лікарський засіб (засоби)
CYP1A2	Кофеїн, парацетамол (→ NAPQI), тахрин, теофілін
CYP2B6	Циклофосамід, метадон
CYP2C8	Паклітаксел, репаглінід
CYP2C19	Омепразол, фенітоїн
CYP2C9	Ібупрофен, толбутамід, варфарин
CYP2D6	Кодеїн, дебризохін, S-метопролол
CYP2E1	Спирт, парацетамол
CYP3A4, 5, 7	Циклоспорин, ніфедипін, індинавір, симвастатин

*NAPQI* – N-ацетил-p-бензо-хінонімін, метаболіт, який відповідає за токсичність парацетамолу при передозуванні (за матеріалами <http://medicine.iupui.edu/flockhart/table.htm>)

Приклади терапевтичних засобів, які є субстратами для деяких важливих ізоферментів P450, наведені в табл. 10.1, корисна таблиця лікарських субстратів, інгібіторів та індукторів підтипів CYP надана Факультетом медицини/клінічної фармакології університету Індіани (<http://medicine.iupui.edu/clinpharm/ddis/main-table/> – станом на серпень 2018 р.).

Для окислення лікарських засобів монооксигеназною системою P450 необхідні лікарський засіб (субстрат, DH), фермент P450, молекулярний кисень, NADPH та NADPH-P450 редуктаза (флавопротеїн). Механізм пов'язаний зі складним циклом (рис. 10.2), але результат реакції





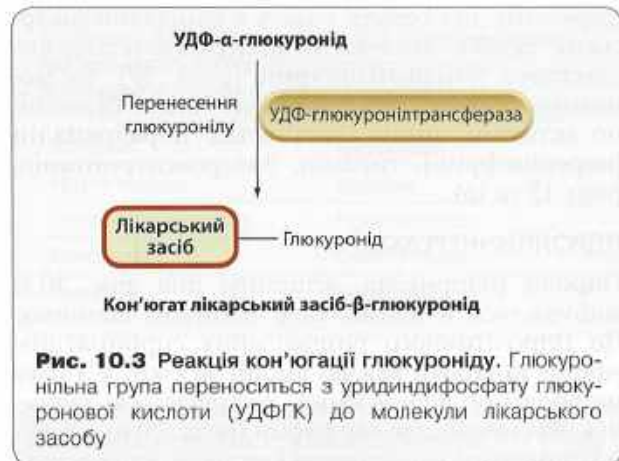
**Рис. 10.2** Цикл монооксигеназного P450. Кожен з рожевих або синіх прямокутників представляє одну молекулу цитохрому P450 (P450), яка проходить каталітичний цикл. Залізо в P450 знаходиться у вигляді або оксиду заліза (рожеві прямокутники), або окису заліза (сині прямокутники). P450, що містить оксид заліза ( $\text{Fe}^{3+}$ ), поєднується з молекулою лікарського засобу (DH) й отримує електрон від NADPH-P450 редуктази, яка відновлює залізо до  $\text{Fe}^{2+}$ . Потім відбувається поєднання з молекулярним киснем, протоном та другим електроном (або з NADPH-P450 редуктази, або з цитохрому  $b_5$ ) й утворюється комплекс  $\text{Fe}^{2+}\text{OOH-DH}$ . Він поєднується з іншим протоном, отримує воду та комплекс оксиду заліза ( $\text{FeO}^{3+}$ )-DH. ( $\text{FeO}^{3+}$ ) витягує атом водню з DH з подальшим утворенням пари короточасних вільних радикалів (див. текст), звільненням від комплексу окисненого лікарського засобу (DOH) та регенерацією ферменту P450

досить простий, а саме додавання одного атома кисню (з молекулярного кисню) до лікарського засобу з утворенням гідроксильованого продукту (DOH) – іншого атома кисню, який перетворюється у воду.

▼ Ферменти P450 мають унікальні спектральні властивості, а відновлені форми поєднуються з окисом вуглецю, утворюючи сполуку рожевого кольору (літера «Р» від англ. pink – «рожевий») з піками поглинання близько 450 нм (діапазон 447–452 нм). Перша підказка про те, що існує більше однієї форми CYP, впливає зі спостереження, що обробка щурів 3-метилхолантреном (3-MX), індуквальним агентом (див. далі), спричиняє зсув максимуму поглинання з 450 до 448 нм – 3-MX-індукована ізоформа ферменту максимально поглинає світло на трохи коротшій довжині хвилі, ніж неіндукована форма ферменту.

#### P450 та біологічна мінливість

Існують важливі відмінності в експресії та регуляції ферментів P450 між видами. Наприклад, шляхи, за допомогою яких певні харчові гетеро-



**Рис. 10.3** Реакція кон'югації глюкуроніду. Глюкуронільна група переноситься з уридиндифосфату глюкуронової кислоти (УДФГК) до молекули лікарського засобу

циклічні аміни (які утворюються при кулінарній обробці м'яса) виробляють генотоксичні продукти, включають одного члена надродини P450 (CYP1A2), який наявний переважно у людей і щурів (у яких після обробки такими амінами розвиваються пухлини товстої кишки), але не у яванських макак (у них ці пухлини не розвиваються). Такі видові відмінності мають вирішальне значення під час вибору видів для досліджень токсичності та канцерогенності у процесі розробки нових засобів, що планують застосовувати у людей.

У популяціях людей існують основні джерела індивідуальних варіацій ферментів P450, які мають велике значення для терапії. До них належать генетичні поліморфізми (альтернативні послідовності в локусі в ланцюзі ДНК – алелі – які зберігаються в популяції протягом декількох поколінь; розд. 12). Також важливі фактори навколишнього середовища, оскільки в раціоні й навколишньому середовищі наявні інгібітори та індуктори ферментів. Наприклад, компонент грейпфрутового соку пригнічує метаболізм лікарських засобів (що призводить до потенційно згубних наслідків, зокрема розвитку порушень серцевого ритму), тоді як брюссельська капуста та сигаретний дим індукують дію ферментів P450. Компоненти рослинного лікарського засобу звіробою (розд. 48) індукують ізоферменти CYP450, а також Р-глікопротеїн (Р-gp) (див. розд. 9). Взаємодія лікарських засобів, заснована на тому, що один лікарський засіб змінює метаболізм іншого, є поширеним та клінічно важливим явищем (див. розд. 12).

Не всі реакції окиснення лікарських засобів відбуваються із залученням системи P450. Деякі лікарські засоби метаболізуються в плазмі (наприклад, гідроліз **суксаметонію** холінестеразою плазми; розд. 14), легенях (наприклад, різні про-станоїди; розд. 18) або кишківнику (наприклад, **тирамін**, **сальбутамол**; розд. 15 і 29). **Етанол** (розд. 50) метаболізується розчинним цитоплазматичним ферментом – алкогольдегідрогеназою, на додаток до CYP2E1. Інші P450-незалежні



ферменти, що беруть участь в окисненні лікарських засобів, включають ксантиноксидазу, яка інактивує **6-меркаптопурин** (розд. 57), та моноаміноксидазу, яка інактивує багато біологічно активних амінів (наприклад, **норадреналін** [норепінефрин], тирамін, 5-гідрокситриптамін; розд. 15 та 16).

#### ГІДРОЛІТИЧНІ РЕАКЦІЇ

Гідроліз (наприклад, аспірину; див. рис. 10.1) відбувається в плазмі та в багатьох тканинах. До гідролітичного розщеплення сприйнятливі ефірні та (трохи важче) амідні зв'язки. У I фазі метаболізму відновлення зустрічається рідше, ніж окиснення, але **варфарин** (розд. 25) інактивується шляхом відновлення кетону до гідроксильної групи за допомогою CYP2A6.

#### РЕАКЦІЇ II ФАЗИ

Реакції II фази є синтетичними («анаболічними») та включають кон'югацію (тобто приєднання замісної групи), що зазвичай призводить до утворення неактивних продуктів, хоча й є винятки, наприклад активний сульфатний метаболіт **міноксидилу**, активатор калієвих каналів, який застосовують для лікування тяжкої артеріальної гіпертензії (розд. 23) та (у вигляді крему) для сприяння росту волосся. Реакції II фази відбуваються переважно в печінці. Якщо молекула лікарського засобу або продукт I фази має відповідну «основу» (наприклад, гідроксильну, тіолову або аміногрупу), вона схильна до кон'югації. Хімічною групою, яку буде вставлено, може бути глюкуроніл (рис. 10.3), сульфат, метил або ацетил. Трипептид глутатіон кон'югує лікарські засоби або їх метаболіти I фази через власну сульфгідрильну групу, як при детоксифікації **парацетамолу** (див. рис. 58.1). Глюкуронізація передбачає утворення високоенергетичної фосфатної («донорської») сполуки, уридиндифосфатної глюкуронової кислоти (УДФГК), з якої глюкуронова кислота переноситься на багатий електронами атом (N, O або S) на субстраті, утворюючи амідний, ефірний або тіоловий зв'язок. УДФ-глюкуронілтрансфераза, яка каталізує ці реакції, має дуже широку субстратну специфічність і охоплює багато лікарських засобів та інших чужорідних молекул. Кілька важливих ендогенних речовин, зокрема білірубін і кортикостероїди надниркових залоз, кон'югуються тим же шляхом.

Реакції ацетилювання та метилювання відбуваються з допомогою ацетил-КоА та S-аденозилметіоніну, відповідно, діють як групи-донори. Багато реакцій кон'югації зосереджені у печінці, але залучаються також інші тканини, такі як легені та нирки.

#### СТЕРЕОСЕЛЕКТИВНІСТЬ

Багато клінічно важливих лікарських засобів, таких як **соталол** (розд. 22), **варфарин** (розд. 25) та **циклофосфамід** (розд. 57), є сумішами стерео-

ізомерів, компоненти яких відрізняються не лише фармакологічною дією, але й метаболізмом, і які можуть рухатися абсолютно різними шляхами (Campro et al., 2009). Кілька клінічно важливих взаємодій лікарських засобів включають стереоспецифічне пригнічення метаболізму одного лікарського засобу іншим (див. табл. 10.6). У деяких випадках токсичність лікарських засобів пов'язана головним чином з одним із стереоізомерів, який не обов'язково є фармакологічно активним. Якщо є така можливість, регуляторні органи наполегливо рекомендують, щоб відтворені (генеричні) лікарські засоби містили аналогічний склад ізомерів, що зменшує ризик цих ускладнень<sup>1</sup>.

#### ІНГІБУВАННЯ P450

Інгібітори P450 відрізняються своєю селективністю щодо різних ізоформ ферменту та класифікуються за механізмом дії. Деякі засоби конкурують за активну ділянку, але самі не є субстратами (наприклад, **хінідин** – потужний конкурентний інгібітор CYP2D6, але не субстрат для нього). До неконкурентних інгібіторів належать такі засоби, як **кетоконазол**, який утворює тісний комплекс із формою Fe<sup>3+</sup> гемового заліза CYP3A4, спричиняючи оборотне неконкурентне інгібування. Так звані інгібітори на основі механізму вимагають окиснення ферментом P450. Серед прикладів – пероральний контрацептив **гестоден** (CYP3A4) та протигельмінтний лікарський засіб **діетилкарбамазин** (CYP2E1). Продукт окиснення (наприклад епоксидний проміжний продукт гестодену) ковалентно зв'язується з ферментом, який потім сам себе руйнує («суїцидне інгібування»; див. Pelkonen et al., 2008).

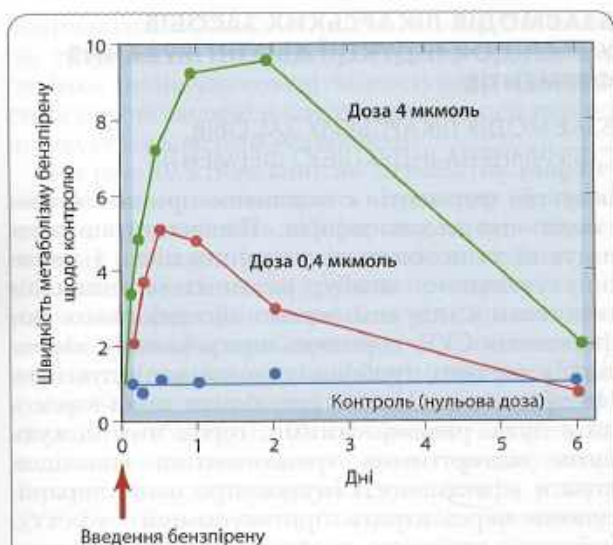
#### ІНДУКЦІЯ МІКРОСОМАЛЬНИХ ФЕРМЕНТІВ

Низка засобів, таких як **рифампіцин** (розд. 52), **етанол** (розд. 50) та **карбамазепін** (розд. 46), при багаторазовому застосуванні підвищують активність мікросомальної оксидази та кон'югуювальних систем. Багато канцерогенних хімічних речовин (наприклад, бензпірен, 3-MX) також мають такий ефект, який може бути суттєвим; на рис. 10.4 показано майже 10-разове збільшення швидкості метаболізму бензпірену через 2 дні після одноразового введення. Цей ефект називається індукцією і є результатом посиленого синтезу та/або зниженого розпаду мікросомальних ферментів (Pelkonen et al., 2008).

Індукція ферментів може збільшити токсичність та канцерогенність засобу, оскільки кілька метаболітів I фази є токсичними або канцерогенними; важливим прикладом лікарського засобу з високотоксичним метаболітом є **парацетамол** (див. розд. 58). Індукцію ферментів застосовують

<sup>1</sup> З краєвих спонукань – хоча корисність дорогих «новітніх» сполук, які насправді є лише чистим активним ізомером на відміну від рацематів, була поставлена під сумнів, а ферментативне взаємоперетворення стереоізомерів може зруйнувати таку хімічну складність.





**Рис. 10.4** Стимуляція печінкового метаболізму бензпірену. Молодим щурам давали бензпірен (внутрішньочеревно) в дозах, що наведено на рисунку, та періодично вимірювали активність метаболізму бензпірену в гомогенатах печінки протягом періоду до 6 днів. (За матеріалами: Conney, A.H. et al., 1957, J. Biol. Chem. 228, 753)

у терапевтичних цілях шляхом введення фенобарбіталу недоношеним дітям для індукції глюкуронілтрансферази, тим самим збільшуючи кон'югацію білірубину та знижуючи ризик розвитку ядерної жовтяниці (забарвлення та неврологічне пошкодження базальних гангліїв білірубіном, розд. 9).

▼ Механізм індукції не до кінця зрозумілий, але він подібний до механізму дії стероїдів та інших гормонів, які зв'язуються з ядерними рецепторами (див. розд. 3). Найбільш ретельно дослідженими індуквальними засобами є поліциклічні ароматичні вуглеводні (наприклад 3-MX). Вони зв'язуються з ліганд-зв'язувальним доменом розчинного білка, який називається ароматичним вуглеводневим ( $A_n$ ) рецептором. Цей комплекс транспортується до ядра за допомогою ядерного транслокатора рецептора  $A_n$  і зв'язує елементи відповіді рецептора  $A_n$  у ДНК, сприяючи тим самим транскрипції гена CYP1A1. На додачу до посиленої транскрипції, деякі індуквальні агенти (наприклад етанол, який індукуює CYP2E1 у людини) також стабілізують мРНК або білок P450.

### ПРЕСИСТЕМНИЙ МЕТАБОЛІЗМ («ЕФЕКТ ПЕРШОГО ПРОХОДЖЕННЯ»)

Деякі лікарські засоби настільки ефективно поглинаються клітинами печінки або кишківника, що кількість, яка надходить до системного кровообігу, значно менша, ніж кількість, яка абсорбується. Це явище відоме як пресистемний метаболізм (або ефект першого проходження) – воно зменшує біодоступність ліків (розд. 9), навіть коли лікарський засіб добре всмоктується. Пресистемний метаболізм важливий для багатьох лікарських засобів (у табл. 10.2

**Таблиця 10.2** Приклади лікарських засобів, які зазнають суттєвого пресистемного виведення («першого проходження»)

Аспірин	Метопролол
Нітроглицерин	Морфін
Ізосорбїду динітрат	Пропранолол
Леводопа	Сальбутамол
Лідокаїн	Верапаміл

### Метаболізм лікарських засобів

- Реакції I фази включають окиснення, відновлення та гідроліз. Вони:
  - зазвичай утворюють більш хімічно реактивні продукти, які можуть бути фармакологічно активними, токсичними або канцерогенними;
  - часто залучають монооксигеназну систему, в якій ключову роль відіграє цитохром P450.
- Реакції II фази включають кон'югацію (наприклад, глюкуронізацію) реакційноздатної групи (вона приєднується під час реакції I фази) і зазвичай призводять до утворення неактивних та полярних продуктів, які легко виводяться із сечею.
- Деякі кон'юговані продукти виводяться з жовчю, реактуються в кишках, а потім реабсорбуються («ентерогепатична циркуляція»).
- Індукція ферментів P450 може суттєво прискорити метаболізм засобів печінкою. Це може збільшити токсичність лікарських засобів з токсичними метаболітами й, так само як і інгібування ферментів, є важливою причиною взаємодії лікарських засобів.
- Пресистемний метаболізм у печінці або у стінці кишківника зменшує біодоступність кількох засобів, коли їх приймають усередину.

наведено деякі приклади) та становить проблему, оскільки:

- у разі приймання всередину потрібна набагато більша доза лікарського засобу, ніж при парентеральному введенні;
- в обсязі метаболізму першого проходження спостерігаються помітні індивідуальні варіації: як в активності ферментів, які метаболізують лікарські засоби, так і в результаті змін у печінковому або кишковому кровотоці. Печінковий кровотік може зменшуватися в результаті захворювань (наприклад на тлі серцевої недостатності) або внаслідок дії засобів, таких як антагоністи  $\beta$ -адренорецепторів, які погіршують кліренс не пов'язаних між собою засобів, наприклад лідокаїну, що піддаються досистемному метаболізму через високий коефіцієнт екстракції печінкою. На кишковий кровотік



дуже впливає споживання їжі, тому дослідження впливу їжі на фармакокінетичні властивості є звичайним явищем при розробці засобів для приймання всередину.

### ФАРМАКОЛОГІЧНО АКТИВНІ МЕТАБОЛІТИ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

У деяких випадках (табл. 10.3) лікарський засіб стає фармакологічно активним лише після метаболізму. Наприклад, **азатіоприн** (імуносупресант) (розд. 27), метаболізується до **меркаптопурину**; а **еналаприл** (інгібітор ангіотензинперетворювального ферменту) (розд. 23), гідролізується до своєї активної форми **еналаприлату**. Лікарські засоби, в яких вихідна сполука не має власної активності, називають *проліками*. Їх іноді розробляють спеціально для подолання проблем доставки лікарських засобів (розд. 9). Метаболізм може якісно змінити фармакологічну дію засобу. **Аспірин** пригнічує функцію тромбоцитів і має протизапальну активність (розд. 25 і 27). Він гідролізується до саліцилової кислоти (див. рис. 10.1), яка має протизапальну, але не антитромбоцитарну активність. В інших випадках метаболіти мають фармакологічну дію, подібну до дії вихідної сполуки (наприклад, бензодіазепіни, багато з яких утворюють активні метаболіти, що довго живуть та призводять до збереження седативного ефекту після зникнення вихідного лікарського засобу; розд. 45). Також бувають випадки, коли метаболіти відповідають за токсичність. Прикладом цього є токсична дія **циклофосфаміду** на сечовий міхур, яка зумовлена його токсичним метаболітом **акролеїном** (розд. 57). **Метанол** та **етиленгліколь** здійснюють токсичну дію через метаболіти, утворені алкогольдегідрогеназою. Отруєння цими речовинами лікується **етанолом** (або більш потужним інгібітором), який конкурує за активну ділянку ферменту.

### ВЗАЄМОДІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ УНАСЛІДОК ІНДУКЦІЇ АБО ІНГІБУВАННЯ ФЕРМЕНТІВ

ВЗАЄМОДІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ, СПРИЧИНЕНА ІНДУКЦІЄЮ ФЕРМЕНТІВ

Індукція ферментів є важливою причиною взаємодії лікарських засобів. Повільний початок індукції та повільне відновлення після відміни індукційного засобу, разом із потенціалом селективної індукції одного або декількох ізоферментів CYP, сприяють прихованому характеру клінічних проблем, зумовлених індукцією. Несприятливі клінічні результати такої взаємодії є дуже різноманітними; серед них можуть бути: відторгнення трансплантата внаслідок втрати ефективності імуносупресивної терапії, судоми через втрату протисудомного ефекту, небажана вагітність унаслідок втрати ефективності перорального контрацептиву та тромбоз (через втрату ефективності варфарину) або кровотеча (внаслідок відмови визнати необхідність зменшення дози варфарину при зменшенні індукції після припинення дії індукційного засобу). Понад 200 лікарських засобів спричиняють індукцію ферментів і тим самим знижують фармакологічну активність низки інших лікарських засобів. Деякі приклади наведені в табл. 10.4, а інші приклади представлені на вебсайті Медичного факультету Університету Індіани, про який згадувалося раніше (с. 160). Оскільки індукційний агент часто сам є субстратом для індукованих ферментів, цей процес може призвести до повільного розвитку переносимості. Цей фармакокінетичний тип переносимості, як правило, менш виражений, ніж фармакодинамічна толерантність, наприклад до опіоїдів (розд. 43), але він є клінічно важливим при початку лікування протиепілептичним засобом **карбамазепіном** (розд. 46). Лікування

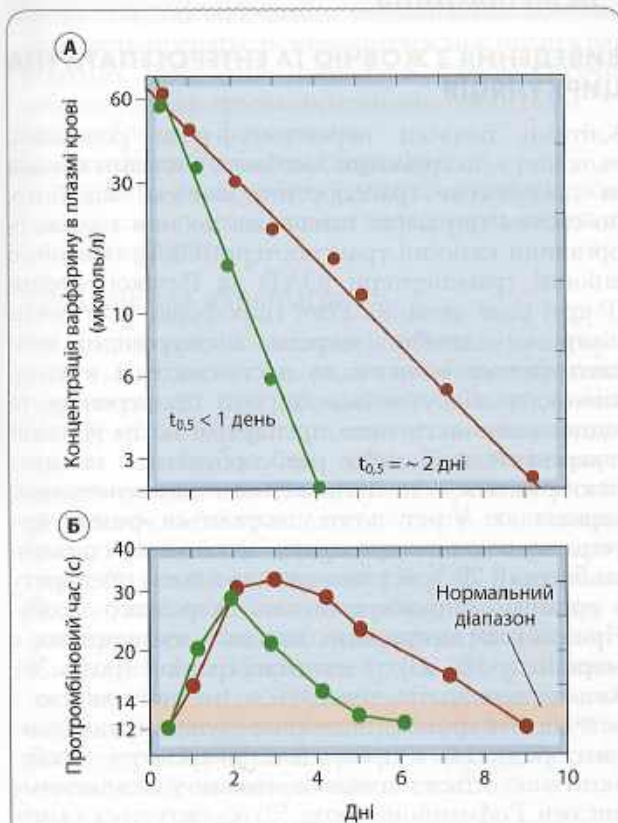
Таблиця 10.3 Деякі лікарські засоби, які виробляють активні або токсичні метаболіти

Неактивні (проліки)	Активний лікарський засіб	Активний метаболіт	Токсичний метаболіт	Див. розділи
Азатіоприн	→	Меркаптопурин		27
Кортизон	→	Гідрокортизон		34
Преднізон	→	Преднізолон		34
Еналаприл	→	Еналаприлат		23
Зидовудин	→	Зидовудин трифосфат		53
Циклофосфамід	→	Фосфорамід гірчиці	→	Акролеїн
		Діазепам	→	Оксазепам
	Морфін	→	Морфін-6-глюкуронід	43
	Галотан	→	Трифтороцтова кислота	42
	Метоксифлуран	→	Фторид	42
	Парацетамол	→	N-ацетил-p-бензохінонімін	27, 58



починається з низьких доз з метою уникнення токсичності (оскільки спочатку ферменти печінки не індуються) та поступово збільшується протягом декількох тижнів – за цей період індуюється власний метаболізм.

На рис. 10.5 показано, як антибіотик рифампіцин, який застосовують протягом 3 днів, знижує ефективність варфарину як антикоагулянта. І навпаки, ферментативна індукція може збільшити токсичність другого препарату, якщо токсичні ефекти опосередковуються активним метаболітом. Гарним прикладом є токсичність парацетамолу (ацетамінофену) (див. рис. 58.1): її спричиняє метаболіт СYP N-ацетил-p-бензохінонімін (NAPQI). Отже, ризик серйозного пошкодження печінки внаслідок передозування парацетамолу підвищується у пацієнтів, у яких СYP був індукований, наприклад, хронічним вживанням алкоголю.



**Рис. 10.5** Вплив рифампіцину на метаболізм та антикоагулянтну дію варфарину. **А.** Концентрація варфарину в плазмі крові (логарифмічна шкала) як функція часу після приймання одноразової пероральної дози 5 мкмоль/кг маси тіла. Після того, як пацієнту вводили рифампіцин (600 мг щодня протягом декількох днів), період напіввиведення варфарину з плазми зменшився приблизно з 2 днів до < 1 дня. **Б.** Вплив одноразової дози варфарину на протромбіновий час у звичайних умовах (крива червоного кольору) та після введення рифампіцину (крива зеленого кольору). (Ілюстрацію наведено за матеріалами O' Reilly, R.A. 1974. Ann. Intern. Med. 81, 337)

**Таблиця 10.4** Приклади лікарських засобів, які індують ферменти, що метаболізують лікарський засіб

Лікарські засоби, які індують дію ферментів	Приклади лікарських засобів з порушенням метаболізмом
Фенобарбітал	Варфарин
Рифампіцин	Пероральні контрацептиви
Гризеофульвін	Кортикостероїди
Фенітоїн	Циклоспорин
Етанол	Це вплине й на лікарські засоби, зазначені в лівому стовпчику.
Карбамазепін	

**Таблиця 10.5** Приклади лікарських засобів, які інгібують ферменти, що метаболізують лікарський засіб

Лікарські засоби, які інгібують дію ферментів	Лікарські засоби з порушенням метаболізмом
Алопуринол	Меркаптопурин, азатиоприн
Хлорамфенікол	Фенітоїн
Циметидин	Аміодарон, фенітоїн, петидин
Ципрофлоксацин	Теофілін
Кортикостероїди	Трициклічні антидепресанти, циклофосфамід
Дисульфірам	Варфарин
Еритроміцин	Циклоспорин, теофілін
Інгібітори моноаміноксидази	Петидин
Ритонавір	Саквінавір

#### ВЗАЄМОДІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ, СПРИЧИНЕНА ІНГІБУВАННЯМ ФЕРМЕНТІВ

Як і при індукції, взаємодію, спричинену інгібуюванням ферментів, важко передбачити на основі суто теоретичних засад. У разі сумнівів щодо можливої взаємодії краще перевірити це, наприклад, у Британському національному формулярі, який має безцінний додаток про взаємодію лікарських засобів із зазначенням відомого клінічного значення, або на вебсайті Медичного факультету Університету Індіани, адресу якого було вказано раніше (с. 160).

Інгібування ферментів, особливо ферментів СYP, уповільнює метаболізм і, отже, посилює дію інших лікарських засобів, інактивованих ферментом. Такі ефекти можуть бути клінічно важливими та є основними факторами, які слід враховувати при лікуванні пацієнтів з



**Таблиця 10.6** Стереоселективне та нестереоселективне пригнічення метаболізму варфарину

Пригнічення метаболізму	Лікарський засіб (засоби)
Стереоселективне для (S) ізомеру	Фенілбутазон Метронідазол Сульфінпіразон Триметоприм сульфаметоксазол Дисульфірам
Стереоселективне для (R) ізомеру	Циметидин <sup>a</sup> Омепразол <sup>a</sup>
Нестереоселективний ефект для обох ізомерів	Аміодарон

<sup>a</sup> Незначний вплив лише на протромбіновий час. (За матеріалами Hirsh, J., 1991. N. Engl. J. Med, 324, 1865–1875)

ВІЛ-інфекцією із застосуванням комбінованої терапії, оскільки кілька інгібіторів протеази є потужними інгібіторами СУР (розд. 53). Інші приклади лікарських засобів, які є інгібіторами ферментів, наведені в табл. 10.5. Щоб ускладнити ситуацію ще більше, кілька інгібіторів метаболізму лікарських засобів вибірково впливають на метаболізм різних стереоізомерів. Приклади препаратів, які таким чином пригнічують метаболізм активних (S) та менш активних (R) ізомерів варфарину, наведені в табл. 10.6.

Терапевтичні ефекти деяких препаратів є безпосереднім наслідком інгібування ферментів (наприклад, інгібітор ксантиноксидази **алопуринол**, який застосовується при подагрі; розд. 27). Ксантиноксидаза метаболізує кілька цитотоксичних препаратів та імуносупресантів, включно з **меркаптопурином** (активним метаболітом азатіоприну), дія якого таким чином посилюється та подовжується алопуринолом. **Дисульфірам**, інгібітор альдегіддегідрогенази, який застосовується для отримання несприятливої реакції на етанол (див. розд. 50), також інгібує метаболізм інших лікарських засобів, включно з **варфарином**, дію якого він посилює. **Метронідазол**, протимікробний засіб, який застосовується для лікування анаеробних бактеріальних інфекцій та низки протозойних захворювань (розд. 52 і 55), також інгібує цей фермент, тому пацієнтам, яким призначено цей препарат, рекомендують уникати вживання алкоголю.

Є також приклади лікарських засобів, які пригнічують метаболізм інших препаратів, хоча інгібування ферментів не є їхнім основним механізмом дії. Таким чином, глюкокортикостероїди та **циметидин** посилюють дію цілої низки лікарських засобів, зокрема деяких антидепресантів та цитотоксичних лікарських засобів.

Інгібування перетворення проліків у їхні активні метаболіти може призвести до втрати активності. Інгібітори протонної помпи (такі як **омепразол**, розд. 31) та антитромбоцитарний препарат **клопідогрель** (розд. 25) широко застосовуються разом, оскільки клопідогрель часто застосовується і разом з іншими антитромботичними препаратами сприяє розвитку шлункових кровотеч, а омепразол зменшує секрецію шлункової кислоти та ризик шлункової кровотечі (розд. 31). Клопідогрель діє через активний метаболіт, утворений СУР2С19, який інгібується омепразолом, що, можливо, тим самим зменшує антитромбоцитарний ефект. Не зрозуміло, наскільки це може бути клінічно важливим, але з цієї причини FDA продовжує застерігати від супутнього застосування цих препаратів.

## ВИВЕДЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ ТА МЕТАБОЛІТІВ

### ВИВЕДЕННЯ З ЖОВЧЮ ТА ЕНТЕРОГЕПАТИЧНА ЦИРКУЛЯЦІЯ

Клітини печінки переносять різні речовини, включно з лікарськими засобами, з плазми в жовч за допомогою транспортних систем, подібних до систем ниркових каналців; до них належать органічні катіонні транспортери (ОКТ), органічні аніонні транспортери (ОАТ) та Р-глікопротеїни (Р-gps) (див. розд. 9). Різні гідрофільні кон'югати лікарських засобів (зокрема, глюкуроніди) концентруються в жовчі та доставляються в кишківник, де відбуваються гідроліз глюкуроніду та відновлення активного препарату; потім вільний лікарський засіб може реабсорбуватися та цикл повторюється – це називається *ентерогепатичною циркуляцією*. У результаті утворюється «резервуар» рециркулюючого препарату, який може становити близько 20 % від загальної кількості препарату в організмі, подовжуючи дію лікарського засобу. Прикладами препаратів, для яких це важливо, є **морфін** (розд. 43) та **етинілестрадіол** (розд. 36). Кілька препаратів виводяться значною мірою з жовчю. **Векуроній** (недеполяризуючий міорелаксант; розд. 14) є прикладом лікарського засобу, який виводиться з жовчю переважно у незміненому вигляді. Рифампіцин (розд. 52) всмоктується з кишківника та повільно деацетилюється, зберігаючи свою біологічну активність. Обидві форми секретуються в жовчі, але деацетильована форма не реабсорбується, тому з часом більша частина препарату в цій формі виводиться з організму з калом.

### ВИВЕДЕННЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ І МЕТАБОЛІТІВ ІЗ СЕЧЕЮ

#### НИРКОВИЙ КЛІРЕНС

Виведення лікарських засобів нирками найкраще кількісно визначається за допомогою ниркового кліренсу ( $CL_{\text{нир}}$  див. розд. 11 і 30). Він



визначається як об'єм плазми, що містить кількість речовини, яка виводиться з організму нирками за одиницю часу. Його розраховують з показників концентрації в плазмі  $C_p$ , концентрації в сечі  $C_u$  та швидкості потоку сечі  $V_u$  за таким рівнянням:

$$CL_{ren} = (C_u \times V_u) / C_p$$

$CL_{ren}$  для різних препаратів сильно відрізняється, від менш ніж 1 мл/хв до теоретичного максимуму, встановленого ефективним нирковим плазматомоком, який становить приблизно 700 мл/хв, вимірним на підставі кліренсу *p*-аміногіпурової кислоти (ПАГК) (виведення ПАГК із сечею наближається до 100 %).

Лікарські засоби відрізняються за швидкістю їх виведення нирками, починаючи від **пеніциліну** (розд. 52), який (як і ПАГК) майже повністю виводиться з крові за єдиний транзит через нирки, до **аміодарону** (розд. 22) та **ризедронату** (розд. 37), які виводяться надзвичайно повільно. Більшість препаратів знаходиться між цими крайнощами. Виведення лікарських засобів із сечею забезпечується трьома основними процесами:

- 1) клубочкова фільтрація;
- 2) активна каналцева секреція;
- 3) пасивна реабсорбція (дифузія з концентрованої каналцевої рідини назад через каналцевий епітелій).

#### КЛУБОЧКОВА ФІЛЬТРАЦІЯ

За допомогою капілярів клубочків молекули лікарського засобу з молекулярною масою нижче приблизно 20 кДа проникають у клубочковий фільтрат. Альбумін плазми (з молекулярною масою приблизно 68 кДа) майже повністю непроникний, але більшість лікарських засобів, за винятком макромолекул, таких як **гепарин** (розд. 25) або біофармацевтичні препарати (розд. 5), вільно перетинають бар'єр. Якщо лікарський засіб зв'язується з альбуміном плазми, то фільтрується лише вільний препарат. Якщо, як у випадку з **варфарином** (розд. 25), лікарський засіб приблизно на 98 % зв'язується з альбуміном, концентрація у фільтраті становить лише 2 % від концентрації у плазмі крові та відповідно зменшується кліренс шляхом фільтрації.

#### КАНАЛЬЦЕВА СЕКРЕЦІЯ

До 20 % ниркового потоку плазми фільтрується через клубочки, а щонайменше 80 % доставленого лікарського засобу проходить до перитубулярних капілярів проксимальних каналців. Тут молекули лікарського засобу переносяться в просвіт каналців двома незалежними й відносно неспецифічними системами-носіями (див. розд. 9). Одна з них – ОАТ, транспортує кислі препарати в їхній негативно зарядженій аніонній формі (а також різні ендogenousні кислоти, такі як сечова кислота), тоді як ОКТ захоплює органічні основи в їх протонованій катіонній формі. Деякі важли-

**Таблиця 10.7** Важливі лікарські засоби та супутні домішки, які виділяються в проксимальні ниркові каналці транспортерами ОАТ або ОКТ

Органічні аніонні транспортери	Органічні катіонні транспортери
<i>p</i> -Аміногіпурова кислота	Амілорид
Фуросемід	Дофамін
Кон'югати глюкуронової кислоти	Гістамін
Кон'югати гліцину	Мепакрин
Індометацин	Морфін
Метотрексат	Петидин
Пеніцилін	Четвертинні амонієві сполуки
Пробенецид	Хінін
Сульфатні кон'югати	5-Гідрокситриптамін (серотонін)
Тіазидні діуретики	Тріамтерен
Сечова кислота	

ві препарати, які транспортуються цими двома системами-носіями, наведені в табл. 10.7. Носій ОАТ може переносити молекули лікарського засобу проти електрохімічного градієнта й, отже, може знизити концентрацію в плазмі майже до нуля, тоді як ОКТ полегшує транспорт електрохімічним градієнтом. Оскільки принаймні 80 % лікарського засобу, який надходить у нирку, презентується носієві, каналцева секреція є потенційно найефективнішим механізмом виведення лікарського засобу із сечею. На відміну від клубочкової фільтрації, транспорт, опосередкований носієм, може досягти максимального кліренсу препарату, навіть коли більша частина препарату зв'язана з білком плазми крові<sup>2</sup>. **Пеніцилін** (розд. 52), наприклад, хоча й зв'язується приблизно на 80 % і тому виводиться лише повільно шляхом фільтрації, майже повністю видаляється шляхом проксимальної каналцевої секреції, а отже, швидко елімінується.

Багато лікарських засобів конкурують за однакові транспортні системи (табл. 10.7), що призводить до взаємодії між лікарськими засобами. Наприклад, **пробенецид** був розроблений спочатку для посилення дії пеніциліну шляхом уповільнення його каналцевої секреції (див. далі).

<sup>2</sup> Оскільки фільтрація передбачає ізосмотичний рух як води, так і розчинених речовин, вона не впливає на вільну концентрацію препарату в плазмі. Так, рівновага між вільним та зв'язаним лікарським засобом не порушується та не виникає тенденції до дисоціації зв'язаного лікарського засобу, коли кров проходить по клубочковому капіляру. Таким чином, швидкість кліренсу препарату шляхом фільтрації знижується прямо пропорційно до зв'язаної фракції. У разі активної каналцевої секреції ситуація інша, тому що носій транспортує молекули лікарського засобу без супроводу води. Оскільки вільні молекули препаратів беруться з плазми, отже, концентрація вільної плазми падає, що зумовлює дисоціацію зв'язаного препарату з альбуміном плазми. Секреція лише трохи уповільнюється, навіть якщо лікарський засіб здебільшого зв'язаний, оскільки носій отримує доступ фактично до 100 % препарату: як зв'язаного, так і вільного.



## ДИФУЗИЯ В НИРКОВИХ КАНАЛЬЦЯХ

Вода реабсорбується, коли рідина проходить через каналці, при цьому об'єм сечі, що утворюється, становить лише близько 1 % від обсягу клубочкового фільтрату. Отже, якщо каналці вільно проникні для молекул лікарського засобу, приблизно 99 % відфільтрованого препарату буде реабсорбуватися пасивно за отриманим градієнтом концентрації. Тому жиророзчинні лікарські засоби виводяться погано, тоді як полярні препарати з низькою каналцевою проникністю залишаються в просвіті й поступово концентруються у міру реабсорбції води. Це властиве таким полярним препаратам, як **дигоксин** та аміноглікозидні антибіотики. Вони є прикладом порівняно невеликої, але важливої групи лікарських засобів (табл. 10.8), які не інактивуються за рахунок метаболізму, а основним фактором, який обумовлює тривалість їх дії, є швидкість виведення із сечею. Ці препарати слід з особливою обережністю застосовувати особам з можливим порушенням функції нирок, зокрема людям похилого віку та пацієнтам із захворюваннями нирок або будь-якими тяжкими гострими захворюваннями.

Ступінь іонізації багатьох лікарських засобів – слабких кислот або слабких основ – залежить від рН, і це помітно впливає на виведення їх із сечею. Ефект «захоплення іонів» (див. розд. 9) означає, що лужний препарат швидше виводиться з кислотою сечею, яка підтримує заряджену форму й, таким чином, пригнічує реабсорбцію. І навпаки, кислі препарати найшвидше виводяться з організму, якщо сеча є лужною (рис. 10.6).

### ВЗАЄМОДІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ УНАСЛІДОК ВИВЕДЕННЯ У ЗМІНЕНОМУ ВИГЛЯДІ

Основними механізмами, за допомогою яких один лікарський засіб може впливати на швидкість виведення іншого лікарського засобу з сечею, є такі:

- зміна зв'язування з білками, а отже, і фільтрації;
- пригнічення каналцевої секреції;
- зміна потоку сечі та/або рН сечі.

**Таблиця 10.8** Приклади лікарських засобів, які виділяються із сечею переважно в незміненому вигляді

%	Лікарські засоби, які виводяться
100–75	Фуросемід, гентаміцин, метотрексат, ателолол, дигоксин
75–50	Бензилпеніцилін, циметидин, окситетрациклін, неостигмін
~ 50	Пропантелін, тубокурарин

## ІНГІБУВАННЯ КАНАЛЬЦЕВОЇ СЕКРЕЦІЇ

**Пробенецид** (розд. 27) був розроблений для інгібування секреції **пеніциліну** й, таким чином, продовження його дії. Він також інгібує виведення інших лікарських засобів, зокрема **зидовудину** (див. розд. 53). Інші препарати мають випадковий пробенецидоподібний ефект і можуть посилювати дію речовин, виведення яких залежить від каналцевої секреції. Деякі приклади наведені в табл. 10.9. Оскільки діуретики, такі як **фуросемід**, діють із середини просвіту каналців, лікарські

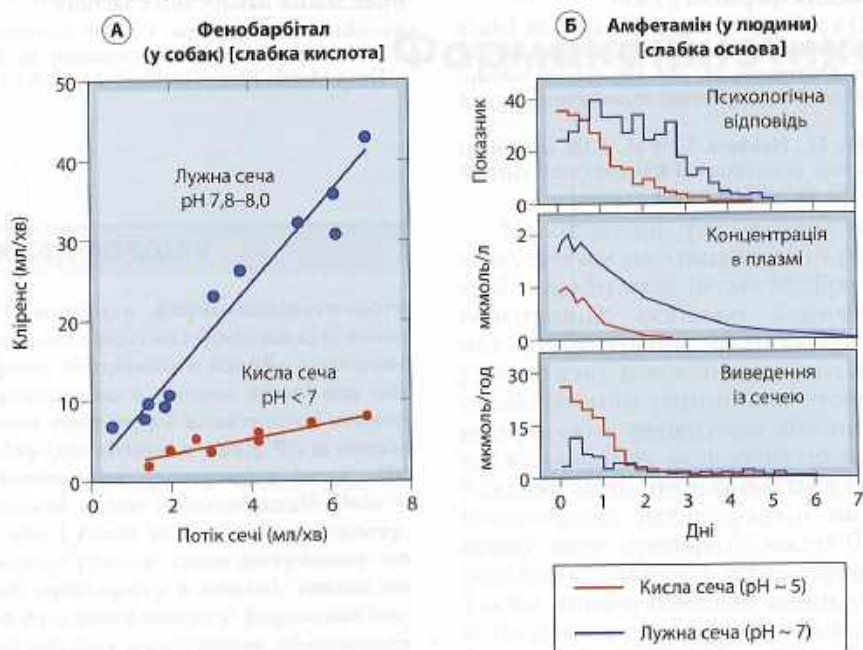
**Таблиця 10.9** Приклади лікарських засобів, які інгібують секрецію ниркових каналців

Препарат(и), які спричиняють інгібування	Препарат(и), що зазнають впливу
Пробенецид Сульфінпіразон Фенілбутазон Сульфаніламід Аспірин Тіазидні діуретики Індометацин	Пеніцилін Азидотимідин Індометацин
Верапаміл Аміодарон Хінідин	Дигоксин
Індометацин	Фуросемід (фурсемід)
Аспірин Нестероїдні протизапальні засоби	Метотрексат

### Виведення препаратів нирками

- Більшість лікарських засобів, якщо вони не зв'язуються з білком плазми, вільно проникають через клубочковий фільтр.
- Багато лікарських засобів, особливо слабких кислот і слабких основ, активно виділяються в ниркові каналці та швидко виводяться.
- Жиророзчинні препарати пасивно реабсорбуються разом з водою шляхом дифузії через каналцевий бар'єр, тому з сечею виводяться неефективно.
- Внаслідок розподілу рН слабкі кислоти швидше виводяться з лужною сечею і навпаки.
- Кілька важливих лікарських засобів виводяться переважно із сечею та можуть спричинити токсичність у людей похилого віку та пацієнтів із захворюваннями нирок.
- Є випадки клінічно важливої взаємодії між лікарськими препаратами у зв'язку з тим, що один препарат зменшує нирковий кліренс іншого (серед прикладів – діуретики/літій та індометацин/метотрексат), але це трапляється рідше, ніж взаємодія, обумовлена зміненим метаболізмом лікарських засобів.





**Рис. 10.6** Вплив pH сечі на виведення препарату. **А.** Кліренс фенобарбіталу у собаки як функція потоку сечі. Оскільки фенобарбітал кислий, підлужування сечі збільшує кліренс приблизно в п'ять разів. **Б.** Виведення амфетаміну у людей. Підкислення сечі збільшує швидкість виведення амфетаміну з сечею, знижуючи його концентрацію в плазмі та вплив на психічний стан пацієнта. (Дані наведені Gunne & Anggard, 1974. In: Torrell, T. et al. (eds) Pharmacology and Pharmacokinetics. Plenum, New York)

засоби, які пригнічують їх секрецію в канальцеву рідину, як-от нестероїдні протизапальні засоби, зменшують їх дію.

#### ШВИДКІСТЬ СЕЧОУТВОРЕННЯ ТА PH СЕЧІ

Діуретики, як правило, збільшують виведення з сечею інших препаратів та їх метаболітів, але це рідко має негайне клінічне значення. І навпаки, петльові та тiazидні діуретики опосередковано зменшують виведення літію; вони

призводять до виснаження  $\text{Na}^+$ , на яке нирка реагує посиленою проксимальною канальцевою реабсорбцією  $\text{Na}^+$  та  $\text{Li}^+$ , що здійснюється подібно до  $\text{Na}^+$ , і це може призвести до токсичності літію у пацієнтів, які отримують карбонат літію для лікування розладів настрою (розд. 48). Вплив pH сечі на виведення слабких кислот і основ використовується при лікуванні отруєнь саліцилатом (див. розд. 27), але не є причиною випадкової взаємодії.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ТА РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

### Загальна література для додаткового читання

- Coon, M.J., 2005. Cytochrome P450: nature's most versatile biological catalyst. *Annu. Pharmacol. Toxicol.* 45, 1–25. (Узагальнено окремі етапи циклів P450 та реакцій редуктази.)
- Nassar, A.F., 2009. *Drug Metabolism Handbook: Concepts and Applications*. Wiley-Blackwell, Hoboken, NJ. (Коллективний підручник, призначений для наукових працівників; буде неоціненним для вчених фармацевтичної промисловості.)
- Testa, V., Krämer, S.D., 2009. *The Biochemistry of Drug Metabolism*. Wiley-VCH, Weinheim. (Довідкова робота у 2 томах.)

### Метаболізм лікарських засобів

- Campo, V.L., Bernardes, L.S.C., Carvalho, I., 2009. Stereoselectivity in drug metabolism: molecular mechanisms and analytical methods. *Curr. Drug Metab.* 10, 188–205.
- Guengerich, F.P., Waterman, M.R., Egli, M., 2016. Recent structural insights into cytochrome P450 function. *Trends Pharmacol. Sci.* 37, 625–640. (Огляд.)

- Ingelman-Sundberg, M., 2004. Pharmacogenetics of cytochrome P450 and its applications in drug therapy: the past, present and future. *Trends Pharmacol. Sci.* 25, 193–200. (За підрахунками, персоналізоване лікування на основі гена P450 було б доречним у 10–20 % лікування низькомолекулярними препаратами.)
- Nair, P.C., McKinnon, R.A., Miners, J.O., 2016. Cytochrome P450 structure-function: insights from molecular dynamics simulations. *Drug Metab. Rev.* 48, 434–452. (Структурно-функціональні зв'язки в P450.)
- Preissner, S.C., Hoffmann, M.F., Preissner, R., Dunkel, M., Gewiess, A., Preissner, S., 2013. Polymorphic Cytochrome P450 Enzymes (CYPs) and their role in personalized therapy. *PLoS ONE* 8 (12), e82562. (Використання підходу глибокого аналізу тексту з метою виявлення найбільш релевантних поліморфізмів у людських CYP. Найважливішими поліморфізмами CYP були 1A2, 2D6, 2C9 та 2C19. 34 варіанти поширених алелей у людей європейської раси призвели до зміни активності ферментів.)



**Індукція та інгібування ферменту P450**

Henderson, L., Yue, Q.Y., Bergquist, C., et al., 2002. St John's wort (*Hypericum perforatum*): drug interactions and clinical outcomes. *Br. J. Clin. Pharmacol.* 54, 349-356. (Огляд індукції ізоферментів CYP450 та P-глікопротеїну компонентами цього рослинного засобу.)

Pelkonen, O., Turpeinen, M., Hakkola, J., et al., 2008. Inhibition and induction of human cytochrome P450 enzymes: current status. *Arch. Toxicol.* 82, 667-715. (Огляд.)

**Виведення лікарських засобів**

Kusuhara, H., Sugiyama, Y., 2009. In vitro-in vivo extrapolation of transporter-mediated clearance in the liver and kidney. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 24, 37-52. (Огляд.)





# Фармакокінетика

## СТИСЛИЙ ВИКЛАД РОЗДІЛУ

Ми розглянемо важливість фармакокінетичного аналізу та представимо простий підхід до цієї теми. Пояснимо, як кліренс лікарського засобу визначає рівноважну концентрацію в плазмі крові під час постійного введення ліків та як властивості всмоктування й розподілу (висвітлені в розд. 9), а також метаболізму та виведення (розкриті в розд. 10) діють на часозалежні зміни концентрації ліків у плазмі крові під час і після введення препарату. Буде показано вплив різних схем дозування на зміни концентрації препарату в плазмі. Також ми коротко згадаємо про популяційну фармакокінетику, а наприкінці розділу розглянемо обмеження фармакокінетичного підходу.

## ВСТУП: ВИЗНАЧЕННЯ ТА ЗАСТОСУВАННЯ ФАРМАКОКІНЕТИКИ

Фармакокінетика – це розділ фармакології, який вивчає процеси, що відбуваються з хімічними речовинами, введеними в живий організм, тобто з'ясовує, «що організм робить із лікарським препаратом». На практиці це передбачає вимірювання й інтерпретацію часозалежних змін концентрації препарату та його метаболітів у плазмі, сечі та в інших органах і тканинах. Це стає підґрунтям для розуміння того, що відбувається з лікарським засобом при введенні в організм тварини або людини, куди саме він потрапляє й наскільки швидко, завдяки чому можна з'ясувати фармакологічні ефекти препарату. На відміну від цього, фармакодинаміка («те, що лікарський засіб робить з організмом») описує ефекти, які є наслідком взаємодії препарату з відповідним рецептором або іншим основним місцем дії. Різниця між термінами важлива, хоча ці слова викликають розчарування у знавців етимології.

Термін «фармакодинаміка» вперше згадано у словнику 1890 р. («стосовно сили та дії препаратів»), тоді як фармакокінетичні дослідження стали можливими лише у другій половині ХХ ст. завдяки розробленню чутливих, специфічних і точних фізико-хімічних аналітичних методів, особливо вискоефективної хроматографії та мас-спектрометрії, для вимірювання концентрацій лікарських засобів у біологічних рідинах. На часозалежні зміни концентрації лікарського засобу після введення певної дози лікарського засобу впливають процеси всмоктування, розподілу, метаболізму та виведення (ADME), які ми детально розглянули в розд. 9 і 10.

На практиці фармакокінетика, як правило, фокусується на концентрації препарату в *плазмі крові*, проби якої легко відібрати за допомогою венепункції, оскільки зазвичай припускають, що концентрація лікарського засобу в плазмі крові тісно пов'язана з його концентрацією в позаклітинній рідині, яка оточує клітини, котрі експресують рецептори або інші мішені, з якими взаємодіють молекули препарату. Це лежить в основі того, що називається *стратегією цільової концентрації*. Індивідуальні варіації відповіді на певну дозу препарату часто більші, ніж варіабельність *плазмової концентрації* при цій дозі. Таким чином, плазмові концентрації ( $C_p$ ) важливі на ранніх стадіях розробки лікарських засобів (див. далі), а у випадку з кількома препаратами плазмові концентрації лікарських засобів також використовують у звичайній клінічній практиці для індивідуалізації дозування та досягнення бажаного терапевтичного ефекту з мінімізацією побічних дій у кожного окремого пацієнта – цей підхід відомий як терапевтичний лікарський моніторинг (ТЛМ). У табл. 11.1 наведено приклади окремих лікарських засобів, щодо яких встановлено терапевтичний діапазон концентрацій у плазмі крові, що забезпечує ТЛМ. Концентрація препарату в інших рідинах організму (наприклад, у сечі<sup>1</sup>, слині, спинномозковій рідині, молоці) може додати корисну інформацію.

Формальна інтерпретація фармакокінетичних даних складається з підбору даних концентрації та часу відповідно до моделі (абстрактної чи, що важливіше, фізіологічної) та визначення параметрів, які описують поведінку, що спостерігається. Параметри можна використати в регульованні режиму дозування для досягнення бажаної цільової концентрації в плазмі. Діапазон фармакологічно активної концентрації оцінюють на основі експериментів на клітинах, тканинах або лабораторних тваринах і модифікують у міру появи даних ранніх фармакологічних досліджень на людях, котрі часто тестують разові дози нового препарату, які послідовно вводять групам добровольців у дозах, що поступово зростають, – це дослідження одноразової зростаючої дози (ОЗД) (розд. 8). Деякі описові фармакокінетичні характеристики можна оцінити безпосередньо шляхом перевірки часозалежних змін концентрації лікарського засобу в плазмі після уведення доз. Важливими прикладами<sup>2</sup>, які детальніше буде

<sup>1</sup> Клінічна фармакологія свого часу настільки асоціювалася з вимірюванням умісту лікарських препаратів у сечі, що клінічні фармакологи стали такими собі новими алхіміками, які перетворюють сечу на авіаквитки.

<sup>2</sup> Важливо, оскільки дозозалежні побічні ефекти часто випливають при  $C_{max}$ .



**Таблиця 11.1** Приклади лікарських засобів, щодо яких клінічно застосовують терапевтичний лікарський моніторинг (ТЛМ) концентрацій у плазмі крові

Категорія	Приклад(и)	Див. розділи
Імуносупресанти	Циклоспорин, такролімус	27
Серцево-судинні препарати	Дигоксин	22
Респіраторні препарати	Теофілін	17, 29
ЦНС	Літій, фенітоїн	48, 46
Антибактеріальні препарати	Аміноглікозиди	52
Протипухлинні препарати	Метотрексат	57

проілюстровано дещо пізніше, є *максимальна плазмова концентрація препарату*, досягнута при введенні певної дози препарату ( $C_{\max}$ ), та *час* ( $T_{\max}$ ) між введенням препарату та досягненням  $C_{\max}$ . Інші фармакокінетичні параметри оцінюють математично на основі експериментальних даних; це, зокрема, *об'єм розподілу* ( $V_d$ ) та *кліренс* ( $CL$ ) – поняття, які було введено в розд. 9 та 10 відповідно і які ми розглянемо далі. Такий підхід застосовують як до класичних низькомолекулярних препаратів, так і до високомолекулярних біофармацевтичних препаратів (розд. 5), хоча якісні аспекти всмоктування, розподілу та виведення зазвичай дуже різні, тому фармакокінетичні параметри помітно відрізняються. Наприклад, лікарські засоби на основі антигіглі еволюціонували, щоб зберегти свою ефективність протягом тривалого періоду після дії антигена, а терапевтичні антигіглі зазвичай мають низький показник кліренсу та, як наслідок, тривалий період напіввиведення.

### ЗАСТОСУВАННЯ ФАРМАКОКІНЕТИКИ

Дослідження фармакокінетичних характеристик лікарських засобів у тварин і людей має вирішальне значення при розробці препаратів – як для розуміння доклінічних токсикологічних та фармакологічних даних<sup>3</sup>, так і для розрахунку відповідної дози та режиму дозуван-

<sup>3</sup> Наприклад, дози, які застосовують в експериментальних тварин, часто бувають набагато більшими, ніж у людей (розрахунки проводять «на одиницю маси тіла»), оскільки метаболізм ліків у гризунів зазвичай набагато швидший, одним із багатьох таких прикладів є метадон (розд. 43). При екстраполяції даних, отриманих у дослідженнях на тваринах, для оцінювання еквівалентної дози для людини при першому введенні в організм людини дози низькомолекулярних препаратів нормалізують до оціненої площі поверхні тіла, а не до маси тіла (так зване алометричне масштабування). Педіатри зазвичай використовують такий самий підхід, оцінюючи відповідні дози для немовлят і маленьких дітей, перераховуючи дози для дорослої людини на одиницю розрахункової площі поверхні тіла, а не на кілограм маси тіла.

ня під час клінічних випробувань (див. розд. 60). Регулятори лікарських засобів розробили нові фармакокінетичні параметри – *біодоступність* і *біоеквівалентність* (розд. 9), щоб підтримати ліцензування генеричних версій лікарських засобів, які виробляються після того, як оригінальний препарат втрачає патентний захист. Розуміння загальних принципів фармакокінетики має важливе значення для клінічної практики і потрібне для обґрунтування рекомендованих режимів дозування, інтерпретації концентрацій лікарських засобів для ТЛМ та своєчасного коригування схеми дозування. Це також важливо для визначення та оцінювання можливих лікарських взаємодій (див. розд. 9 і 10). Зокрема, спеціалістам з інтенсивної терапії та анестезіологам, які мають справу з тяжкохворими пацієнтами, часто потрібно індивідуально обирати режим дозування лікарського засобу залежно від швидкості досягнення терапевтичної концентрації в плазмі та визначати, чи можуть впливати порушення функцій нирок або захворювання печінки на фармакокінетичні властивості препарату.

### СФЕРА ЗАСТОСУВАННЯ ЦЬОГО РОЗДІЛУ

Тут описано:

- як загальний кліренс визначає рівноважну концентрацію в плазмі під час безперервного введення лікарського засобу;
- як змінюється концентрація лікарського засобу з часом – за допомогою простої моделі, в якій організм представлено як єдиний цілий об'єм розподілу препарату ( $V_d$ ). Ситуацію описують до рівноважного стану (або після припинення приймання препарату) з огляду на період напіввиведення ( $t_{1/2}$ );
- випадки, коли зазначена модель неадекватна і необхідно застосувати двокамерну модель;
- випадки, коли кліренс змінюється залежно від концентрації лікарського засобу («нелінійна кінетика»);
- випадки (наприклад, педіатрична фармакокінетика), коли доступно лише кілька показників і можуть використовуватися принципи популяційної кінетики.

Також ми розглянемо деякі обмеження, притаманні фармакокінетичному підходу. Детальніші відомості наведено в підручниках: Atkinson et al. (2012), Birkett, (2010) та Rowland and Tozer (2010).

### ЕЛІМІНАЦІЯ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ, ВИРАЖЕНА ЯК КЛІРЕНС

Загальний кліренс ( $CL_{tot}$ ) лікарського засобу незалежно від шляхів введення є основним фармакокінетичним параметром, що описує виведення (елімінацію) препарату. Це об'єм плазми, який містить загальну кількість препарату, що виводиться з організму за одиницю часу. Його



виражають як об'єм за одиницю часу, наприклад мл/хв або л/год. Нирковий кліренс ( $CL_{ren}$ ), важливий фармакокінетичний показник  $CL_{tot}$  описано в розд. 10.

Загальний кліренс лікарського засобу ( $CL_{tot}$ ) – це сума кліренсів (швидкості очищення) для кожного механізму, що бере участь у виведенні препарату: зазвичай нирковий кліренс ( $CL_{ren}$ ) і метаболічний кліренс ( $CL_{met}$ ) плюс будь-які додаткові помітні шляхи елімінації (виведення з фекаліями, з диханням тощо). Швидкість виведення лікарського засобу (в одиницях маси за одиницю часу) з плазмовою концентрацією  $C_p$  розраховують так:

$$\text{Швидкість виведення препарату} = C_p \times CL_{tot} \quad (11.1)$$

Кліренс лікарського засобу можна визначити індивідуально для кожного суб'єкта, шляхом вимірювання плазмової концентрації препарату (наприклад, в одиницях мг/л) з інтервалами під час внутрішньовенної інфузії з постійною швидкістю (вводячи, скажімо,  $X$  мг препарату на годину) до наближення рівноважного стану (рис. 11.1, А). У рівноважному стані швидкість введення в організм дорівнює швидкості виведення (елімінації), тому:

$$X = C_{ss} \times CL_{tot} \quad (11.2)$$

Перетворюючи це, отримаємо:

$$CL_{tot} = \frac{X}{C_{ss}} \quad (11.3)$$

де  $C_{ss}$  – рівноважна плазмозна концентрація, а  $CL_{tot}$  – об'єм за одиницю часу (л/год у наведеному прикладі).

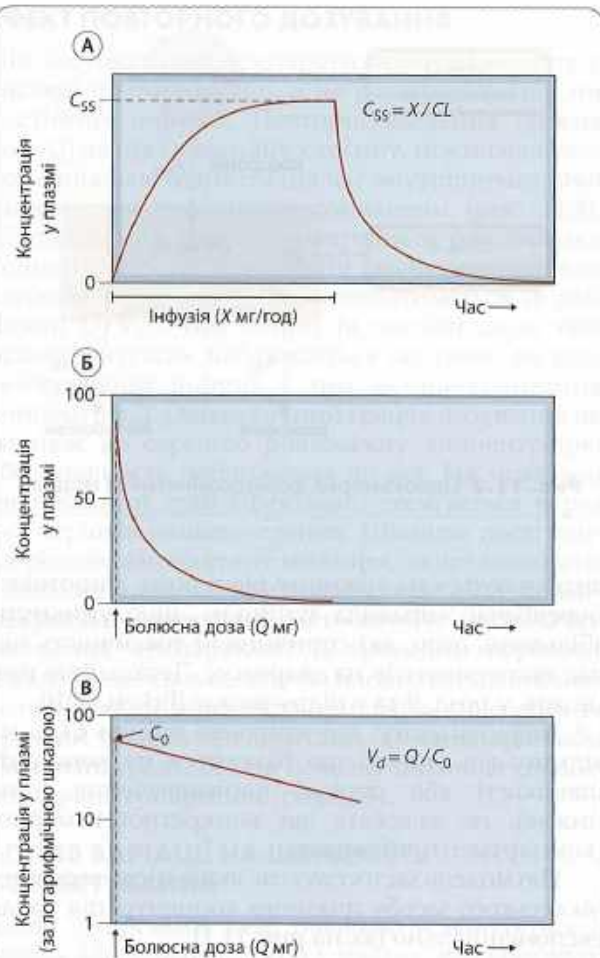
Для багатьох препаратів кліренс в окремого суб'єкта не залежить від дози (принаймні в межах діапазону доз, застосовуваних терапевтично; див. окремі винятки у підрозділі про кінетику насичення); отже, знаючи кліренс, можна розрахувати швидкість введення дози лікарського засобу, необхідної для досягнення бажаної рівноважної («цільової») концентрації в плазмі за формулою (11.2).

$CL_{tot}$  також можна оцінити, вимірюючи плазмову концентрацію препарату з інтервалом після одноразової внутрішньовенної болюсної дози, наприклад,  $Q$  мг (рис. 11.1, Б):

$$CL_{tot} = \frac{Q}{\text{ППК}_{0-\infty}} \quad (11.4)$$

де  $\text{ППК}_{0-\infty}$  – площа під усією кривою<sup>4</sup>, що визначає залежність  $C_p$  від часу після введення болюсної дози в момент часу  $t = 0$ .  $\text{ППК}_{0-\infty}$  відображає

<sup>4</sup> Площу отримують шляхом інтегрування часу від 0 до  $\infty$  і позначають як  $\text{ППК}_{0-\infty}$ . Площа під кривою – це добуток одиниць часу (на абсцисі) і концентрації (маса/об'єм) (на ординаті); отже, одиницями  $CL = Q/\text{ППК}_{0-\infty}$  є об'єм/час, як це повинно бути.



**Рис. 11.1** Криві залежності плазмової концентрації лікарського засобу від часу. **А.** Під час позначеної горизонтальною лінією постійної внутрішньовенної інфузії лікарського засобу зі швидкістю  $X$  мг/год його плазмозна концентрація ( $C_p$ ) збільшується від нуля до рівноважного значення ( $C_{ss}$ ); після припинення інфузії  $C_p$  знижується до нуля. **Б.** Після введення внутрішньовенної болюсної дози ( $Q$  мг) плазмозна концентрація різко зростає, а потім знижується до нуля. **В.** Наведені на графіку (Б) дані плазмової концентрації побудовано за логарифмічною шкалою. Прямая лінія показує, що концентрація знижується у геометричній прогресії. Екстраполяція назад до осі ординат у нульовий момент часу дає змогу оцінити концентрацію в нульовий момент ( $C_0$ ), а також об'єм розподілу ( $V_d$ )

інтегрований показник впливу тканини на лікарський засіб в одиницях часу, помноженого на концентрацію лікарського засобу. Разом із  $C_{max}$  надає інформацію про бажані й токсичні ефекти лікарських засобів і тому має важливе значення для передбачення можливих наслідків для людей на відміну від впливів, що спостерігаються під час фармакологічних та токсикологічних експериментів на тваринах, а також для передбачення того, як можуть відрізнятися ефекти у пацієнтів із порушеннями функції нирок або печінки та у здорових добровольців. На ранніх етапах клінічних випробувань ці показники впливу препарату



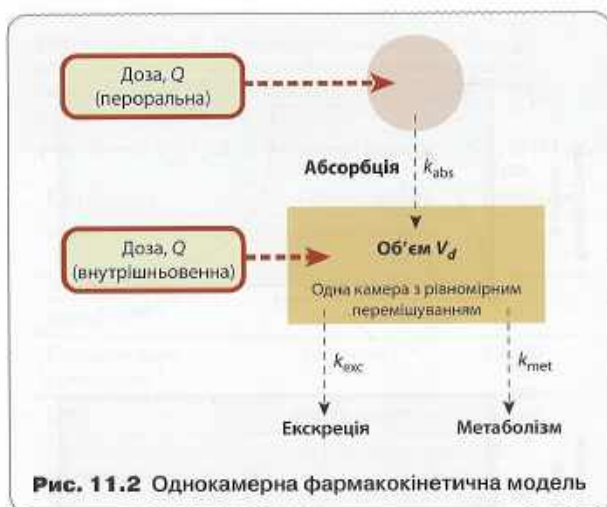


Рис. 11.2 Однокамерна фармакокінетична модель

визначаються на кожному рівні дози, а протокол передбачає «правила зупинки», щоб уникнути збільшень дози, які спричиняли токсичність під час експериментів на тваринах. Детальніше про це див. у розд. 9 та у підручнику: Birkett, 2010.

Зверніть увагу, що зазначені оцінки  $CL_{tot}$ , на відміну від оцінок, що базуються на константі швидкості або періоді напіввиведення (див. нижче), не залежать від конкретної камерної (компаратментної) моделі.

Цю модель застосовують, якщо після введення лікарського засобу плазмова концентрація падає експоненціально (як на рис. 11.1)

### ОДНОКАМЕРНА МОДЕЛЬ

Розглянемо дуже спрощену фармакокінетичну модель у людини, що складається з однієї з рівномірним перемішуванням камери об'ємом  $V_d$  (об'єм розподілу), в яку швидко вводять кількість лікарського засобу  $Q$  шляхом внутрішньовенної ін'єкції і з якої препарат виводиться або шляхом метаболізму, або шляхом екскреції (рис. 11.2). Для більшості ліків  $V_d$  – це очевидний об'єм, а не об'єм анатомічної камери. Він пов'язує загальну кількість препарату в організмі з його плазматичною концентрацією (див. розд. 9). Кількість лікарського засобу в організмі відразу після одноразового болюсного введення дорівнює введеній дозі  $Q$ . Початкову концентрацію  $C_0$  розраховують за формулою

$$C_0 = \frac{Q}{V_d} \quad (11.5)$$

На практиці  $C_0$  обчислюють шляхом екстраполяції лінійної частини напівлогарифмічної ділянки графіка залежності  $C_p$  від часу до його перехоплення в нульовий момент часу (рис. 11.1, B).  $C_p$  у будь-який момент часу залежить від швидкості виведення лікарського засобу (тобто від загального кліренсу,  $CL_{tot}$ ), а також від

дозы та  $V_d$ . Багато препаратів демонструють кінетику першого порядку, коли швидкість елімінації прямо пропорційна концентрації лікарського засобу. (Аналогічно тому, як вода з ванни спочатку витікає в отвір для пробки швидко, а її залишку завжди потрібен час для зливу. Порівняйте це з так званою кінетикою нульового порядку, коли воду постійно викачують з ванни.) З кінетикою першого порядку концентрація лікарського засобу знижується експоненціально (рис. 11.3), що описує рівняння

$$C_t = C_0 \exp\left(-\frac{CL_{tot}}{V_d} t\right) \quad (11.6)$$

(Зверніть увагу, що  $\exp$  – це ще один спосіб записати «e у степені», тому інакше це можна записати як:  $C_t = C_0 \cdot e^{-kt}$ .)

Приведено логарифм до основи e (записується як  $\ln$ ):

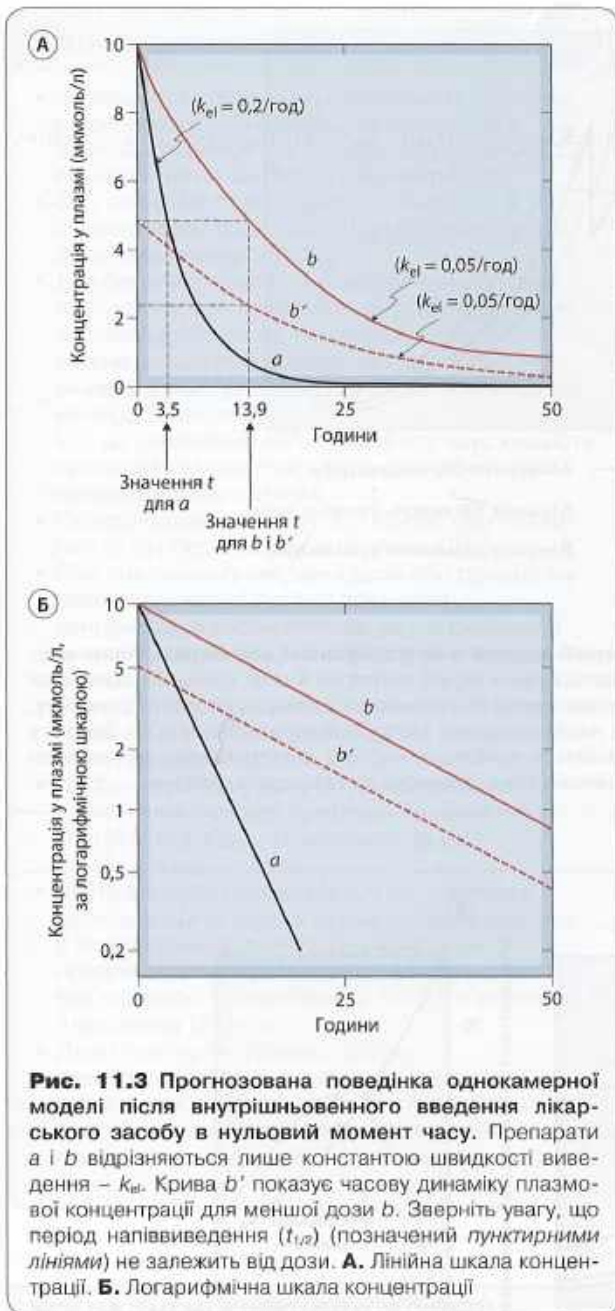
$$\ln C_t = \ln C_0 - \frac{CL_{tot}}{V_d} t \quad (11.7)$$

Побудова графіка залежності  $C_t$  у логарифмічному масштабі від  $t$  (у лінійному масштабі) дає пряму лінію з нахилом  $-CL_{tot}/V_d$ . Константа  $CL_{tot}/V_d$  – це константа швидкості виведення  $k_{el}$ , одиниця виміру якої – 1/час, тобто це частка лікарського засобу в організмі, що виводиться за одиницю часу. Наприклад, якщо константа швидкості становить 0,1/год, це означає, що 1/10 частина препарату, яка залишається в організмі, виводиться щогодини.

Період напіввиведення  $t_{1/2}$  – це час, протягом якого  $C_p$  зменшується наполовину, і дорівнює  $\ln 2/k_{el}$  ( $= 0,693/k_{el}$ ). Отже, період напіввиведення з плазми визначають  $V_d$ , а також  $CL_{tot}$ . Це дає змогу передбачити часозалежні зміни  $C_p$  при болюсному введенні препарату після початку або після завершення інфузії, коли  $C_p$  підвищується до рівноважного стану або знижується до нуля.

Коли застосовують однокамерну модель, концентрація лікарського засобу в плазмі під час постійної інфузії наближається до рівноважного стану приблизно експоненціально (див. рис. 11.1, A). Коли інфузію припиняють, концентрація експоненціально падає до нуля з однаковим періодом напіввиведення: після одного періоду напіввиведення концентрація знизиться до половини початкової концентрації, через два періоди напіввиведення – до 1/4 початкової концентрації, після трьох періодів напіввиведення – до 1/8 і так далі. Інтуїтивно очевидно, що чим триваліший період напіввиведення, тим довше лікарський засіб зберігатиметься в організмі після припинення введення. Менш очевидно, проте відповідає дійсності, що при тривалому прийманні препарату, чим довший період напіввиведення, тим більше часу накопичення лікарського засобу для досягнення рівня ним рівноважної концентрації:





один період напіввиведення для досягнення 50 % рівноважного стану, два – до 75 %, три – до 87,5 % тощо. Це надзвичайно важливо для клініциста, котрий вирішує, як розпочати лікування. Наприклад, якщо період напіввиведення певного препарату становить приблизно 24 год, для наближення до рівноважної концентрації під час інфузії з постійною швидкістю буде потрібно 3–5 днів. Якщо з огляду на клінічну ситуацію, що переважає, це занадто повільно, то може бути використано навантажувальну дозу для швидшого досягнення терапевтичної концентрації препарату в плазмі крові (див. далі). Величина такої дози визначається об'ємом розподілу (формула (11.5)).

### ЕФЕКТ ПОВТОРНОГО ДОЗУВАННЯ

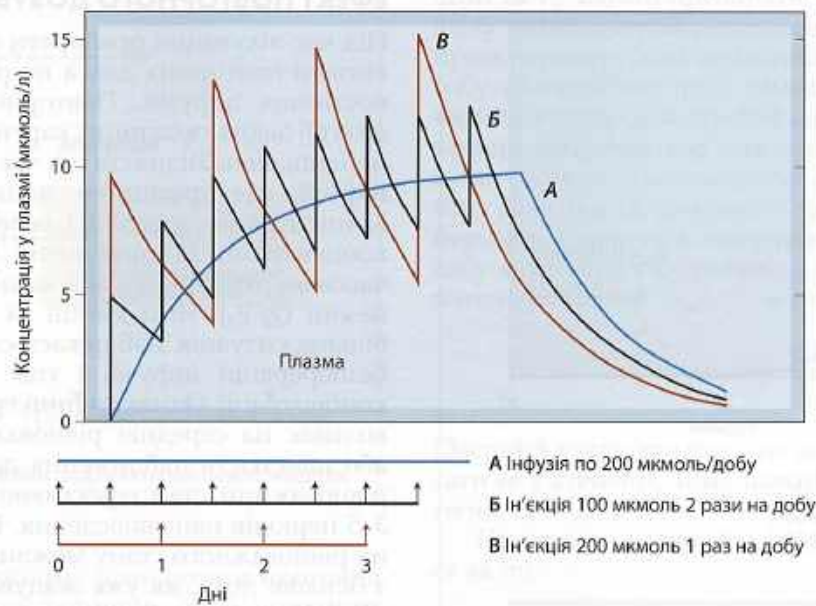
Під час лікування препарати зазвичай вводять у вигляді повторних доз, а не разових ін'єкцій чи постійних інфузій. Повторні введення (кожна доза  $Q$ ) дають складнішу картину, ніж плавне експоненціальне підняття під час внутрішньовенної інфузії, але принцип є однаковим (рис. 11.4). Концентрація зростає до середньої рівноважної концентрації за приблизно експоненціальною часовою динамікою, але коливатиметься (в діапазоні  $Q/V_d$ ). Чим менші та частіші дози, тим більше ситуація наближається до такої, як при безперервній інфузії, і тим менші коливання концентрації. Однак точний графік дозування не впливає на середню рівноважну концентрацію або швидкість наближення до неї. На практиці рівноважний стан ефективно досягається через 3–5 періодів напіввиведення. Швидше досягнення рівноважного стану можливе, якщо починати з більшої дози, як уже згадувалося. Таку навантажувальну дозу іноді застосовують на початку лікування препаратами із тривалим періодом напіввиведення з огляду на нагальність клінічної ситуації, як це може бути при лікуванні серцевих аритмій такими препаратами, як **аміодарон** або **дигоксин** (розд. 22), на початку антикоагуляційної терапії **гепарином** (розд. 25).

### ВПЛИВ ВАРІАЦІЇ НА ШВИДКІСТЬ ВСМОКТУВАННЯ

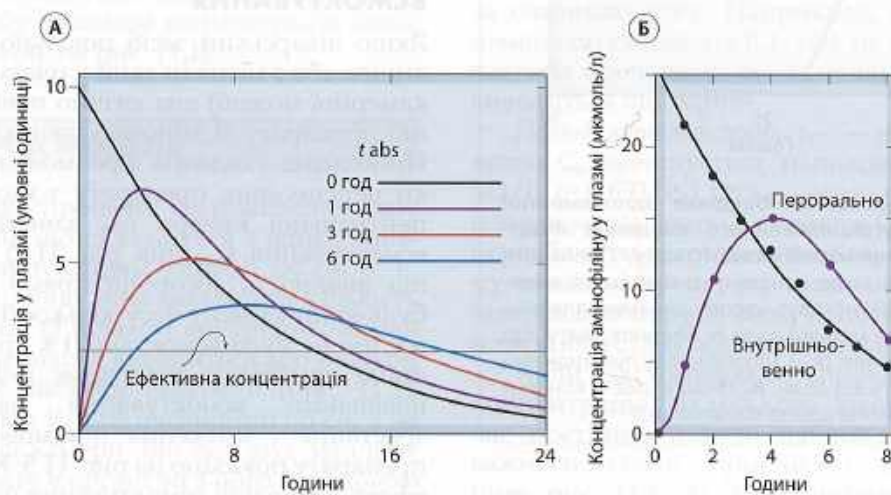
Якщо лікарський засіб повільно всмоктується з кишків або з місця ін'єкції у плазму, це (з погляду камерної моделі) аналогічно повільному введенню препарату зі змінною швидкістю в кровотік. Приблизне уявлення про моделювання кінетики перенесення препарату з місця введення до центральної камери дає константа швидкості всмоктування,  $k_{abs}$  (див. рис. 11.2). Це передбачає, що швидкість абсорбції прямо пропорційна в будь-який момент часу кількості препарату, яку все ще не було всмоктано, і в кращому випадку лише приблизно відповідає реальності. Вплив повільного всмоктування на часозалежне зростання і зниження плазматичної концентрації препарату показано на рис. 11.5. Криві показують ефект розподілу всмоктування однакової загальної кількості лікарського засобу протягом різного часу. У кожному випадку препарат всмоктується повністю, але пікова концентрація досягається пізніше, і вона тим нижче, чим повільніше всмоктування. В окремих випадках лікарська форма, яка вивільняє препарат із незмінною швидкістю під час проходження клубової кишки (розд. 9), наближається до інфузії з постійною швидкістю. Після завершення абсорбції концентрація в плазмі знижується з тим самим періодом напіввиведення, незалежно від швидкості всмоктування.

▼ Для розглянутої тут фармакокінетичної моделі площа під кривою залежності плазматичної концентрації від часу (*ПІК*) прямо пропорційна загальній кількості лікарського засобу, введеного до плазми-





**Рис. 11.4** Прогнозований профіль кінетики при однокамерній моделі з безперервним або періодичним введенням лікарського засобу. Плавна крива А показує ефект безперервної інфузії протягом 4 днів; крива Б – однакової загальної кількості лікарського засобу, даної у восьми рівних дозах; крива В – однакової загальної кількості препарату, введеної в чотирьох рівних дозах. Лікарський засіб має період напіввиведення 17 год і об'єм розподілу 20 л. Зверніть увагу, що в кожному випадку рівноважний стан фактично досягається приблизно через 2 дні (приблизно три періоди напіввиведення) і що середня концентрація, досягнута в рівноважному стані, однакова для всіх трьох графіків



**Рис. 11.5** Вплив повільного всмоктування лікарського засобу на концентрацію препарату в плазмі крові. **А.** Прогнозована поведінка однокамерної моделі при різних швидкостях всмоктування препарату з кишківника або місця ін'єкції. Період напіввиведення – 6 год. Періоди напівабсорбції ( $t_{1/2 \text{ abs}}$ ) позначено на діаграмі. (Нуль означає миттєве всмоктування, що відповідає внутрішньовенному введенню.) Зверніть увагу, що пікова плазматична концентрація знижується і затримується при повільному всмоктуванні, а тривалість дії дещо збільшується. **Б.** Рівні концентрації амінофіліну в плазмі крові людини після введення однакових пероральної та внутрішньовенної доз (Дані з: Swintowsky, J.V., 1956. J. Am. Pharm. Assoc. 49, 395)

вого компартменту і не залежить від швидкості, з якою він надходить. Неповна абсорбція або руйнування препарату в процесі його метаболізму під час першого проходження крізь печінку до того, як препарат потрапить у плазматичний компартмент, зменшує показник ППК після перорального прийому (див. розд. 9). Однак зміни швидкості всмоктування

не впливають на ППК. Знову ж таки, варто зазначити, що за умови повної абсорбції співвідношення між швидкістю введення та рівноважною концентрацією в плазмі крові (рівняння (11.3)) не залежить від  $k_{\text{abs}}$ , хоча величина коливань плазматичної концентрації з кожною дозою зменшується, якщо всмоктування сповільнюється.

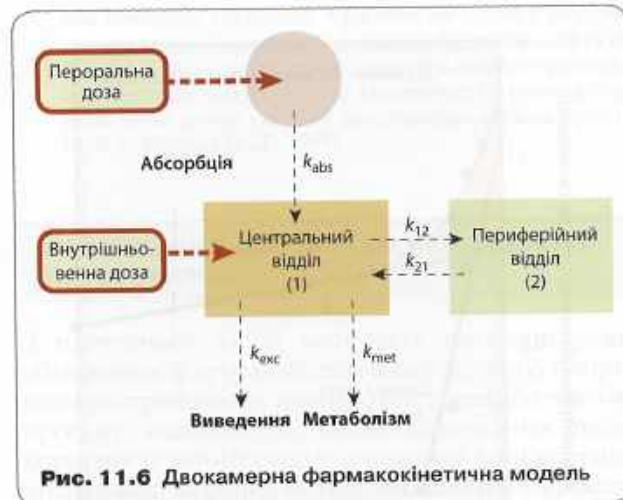


**Фармакокінетика**

- Загальний кліренс ( $CL_{tot}$ ) лікарського засобу є основним параметром, що описує його елімінацію: швидкість виведення дорівнює  $CL_{tot}$ , помноженій на плазмову концентрацію.
- $CL_{tot}$  визначає рівноважну плазмову концентрацію ( $C_{SS}$ ):  $C_{SS} = \text{Швидкість введення лікарського засобу} / CL_{tot}$ .
- Для багатьох препаратів зникнення з плазми відбувається за приблизно експоненціальною часовою динамікою. Такі лікарські засоби можна описати за допомогою однокамерної моделі, в якій організм розглядається як єдина камера з рівномірним об'ємом розподілу –  $V_d$ .  $V_d$  – це очевидний об'єм, який пов'язує кількість препарату в організмі в будь-який час із його концентрацією в плазмі.
- Період напіввиведення ( $t_{1/2}$ ) прямо пропорційний  $V_d$  та обернено пропорційний  $CL_{tot}$ .
- При повторному введенні дози або тривалому введенні препарату його плазмова концентрація наближається до рівноважного значення протягом 3–5 періодів напіввиведення з плазми.
- В екстрених ситуаціях для швидкого досягнення терапевтичної концентрації може знадобитися навантажувальна доза.
- Навантажувальну дозу ( $L$ ), необхідну для досягнення бажаної початкової плазмової концентрації  $C_{target}$ , визначають за  $V_d$ :  $L = C_{target} \times V_d$ .
- Часто виникає необхідність у застосуванні двокамерної моделі. У цьому випадку кінетика є біоекспоненціальною. Два компоненти приблизно показують процеси перенесення між плазмою і тканинами ( $\alpha$ -фаза) та елімінації з організму ( $\beta$ -фаза).
- Деякі препарати демонструють неекспоненціальну кінетику «насичення», що має важливі клінічні наслідки, особливо непропорційне підвищення рівноважної плазмової концентрації при збільшенні добової дози.

**УСКЛАДНЕНІ КІНЕТИЧНІ МОДЕЛІ**

Щойно ми розглянули просту однокамерну фармакокінетичну модель, в якій швидкості всмоктування, метаболізму та виведення вважають прямо пропорційними концентрації лікарського засобу в камері, з якої відбувається перенесення. Це важливий спосіб демонстрації деяких основних принципів, проте з погляду фізіології він є надмірно спрощеним. Характеристики різних органів (тканин) тіла, таких як мозок, жирова та м'язова тканини, помітно відрізняються за рівнем кровопостачання, коефіцієнтами розподілу та проникністю капілярів для лікарських препаратів. Зазначені відмінності, які не враховує однокамерна модель, можуть помітно вплинути на часозалежний розподіл та ефекти ліків, і багато теоретичних праць присвячено математичному



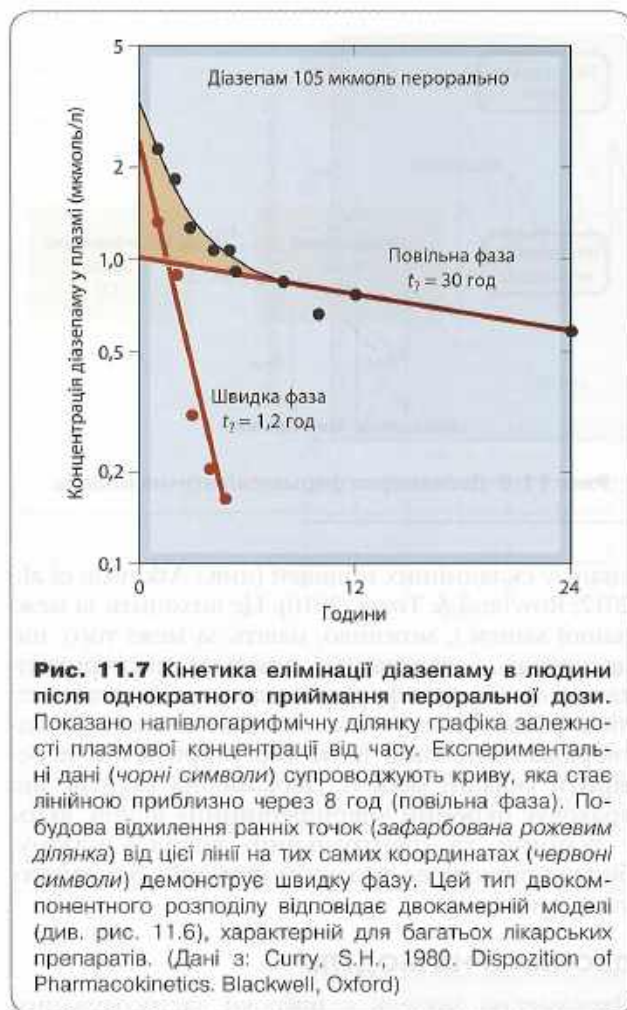
**Рис. 11.6** Двокамерна фармакокінетична модель

аналізу складніших моделей (див.: Atkinson et al., 2012; Rowland & Tozer, 2010). Це виходить за межі нашої книги і, можливо, навіть за межі того, що насправді є важливим, оскільки експериментальні дані про фармакокінетичні властивості ліків рідко бувають настільки точними або відтворюваними, щоб дати змогу критично перевірити складні моделі. Двокамерна модель, що враховує окремий «периферійний» відділ, яким є тканини, та «центральный» відділ – плазму, більше відповідає реальній ситуації, без зайвих ускладнень.

**ДВОКАМЕРНА МОДЕЛЬ**

Двокамерна модель є широко застосовуваним наближенням, при якому тканини об'єднано у периферійний відділ. Молекули лікарських засобів можуть надходити в цей відділ і виходити з нього лише через центральний відділ (рис. 11.6), яким зазвичай є плазма (або плазма та певний позасудинний простір у випадку з деякими ліками, які розподіляються особливо швидко). Ефектом додавання другої камери до однокамерної моделі є введення другого експоненціального компонента в передбачуваній часозалежній плазмовій концентрації, так що це передбачає швидку та повільну фази. Зазначену закономірність часто виявляють експериментально, і найбільш чітко вона проявляється, коли дані про концентрацію побудовано в напівлогарифмічному масштабі (рис. 11.7). Якщо, як це часто буває, розподіл лікарського засобу між центральним і периферійним відділами (компартаментами) є відносно швидким порівняно зі швидкістю виведення, то швидку фазу (часто її називають  $\alpha$ -фаза) можна представити як перерозподіл препарату (тобто молекули ліків переходять із плазми в тканини, тим самим швидко знижуючи концентрацію в плазмі). Концентрація в плазмі крові досягається після завершення швидкої фази, але до того, як відбулася помітна елімінація, що дає змогу виміряти комбіновані об'єми розподілу двох компартментів, а за напівперіодом для повіль-

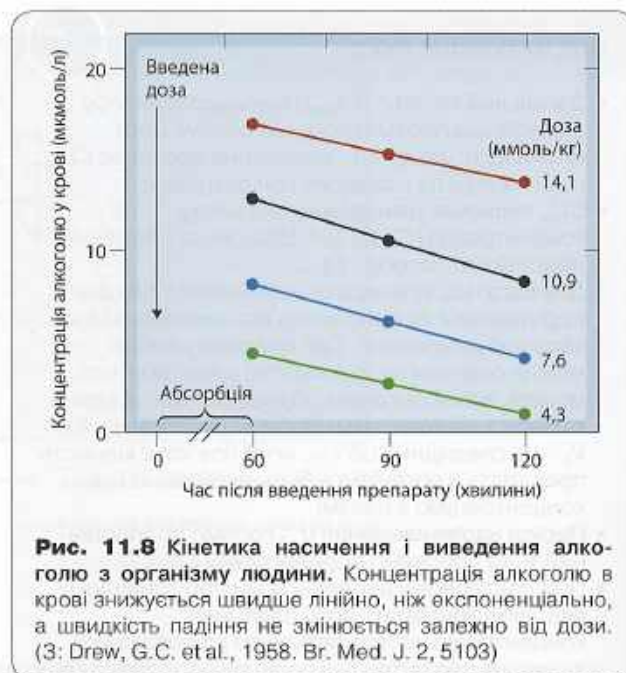




ної фази ( $\beta$ -фаза) – оцінити  $k_{el}$ . Якщо лікарський засіб швидко метаболізується або виводиться з організму, фази  $\alpha$  та  $\beta$  не розділені, тому розрахунок окремих значень  $V_d$  і  $k_{el}$  для кожної фази не є однозначним. Проблеми виникають також із певними препаратами (наприклад, високорозчинними у жирах), для яких нереально охопити всі периферійні тканини.

### КІНЕТИКА НАСИЧЕННЯ

У разі застосування деяких лікарських засобів, зокрема етанолу, фенітоїну та саліцилатів, часозалежне зникнення препарату з плазми не відповідає експоненціальній або біекспоненціальній залежності, показаній на рис. 11.3 та 11.7, а спочатку є лінійним (тобто препарат виводиться з постійною швидкістю, яка не залежить від концентрації в плазмі). Це явище часто називають кінетикою нульового порядку, щоб відрізнити її від звичайної кінетики першого порядку, яку ми розглядали раніше (терміни запозичено з хімічної кінетики теорії). Крайнім терміном є кінетика насичення, оскільки він передає основний механізм, а саме те, що носій або фермент насичується, і, оскільки концентрація лікарського субстрату зростає, швидкість виведення наближається



до постійної величини. На рис. 11.8 наведено приклад з етанолом: швидкість зникнення його з плазми є постійною і становить приблизно 4 ммоль/л на годину, незалежно від дози або концентрації етанолу в плазмі. Пояснити це можна тим, що швидкість окиснення за допомогою ферменту алкогольдегідрогенази сягає максимуму за низьких концентрацій етанолу через обмежену доступність кофактора НАД<sup>+</sup> (див. розд. 49, рис. 49.6).

Кінетика насичення має кілька важливих наслідків (рис. 11.9). Один з них полягає в тому, що тривалість дії більше залежить від дози, ніж у випадку з препаратами, які не виявляють метаболічного насичення. Іншим наслідком є те, що взаємозв'язок між дозою та рівноважною концентрацією в плазмі крові є стрімким та непередбачуваним і не підпорядковується правилу пропорційності, описаному рівнянням (11.3) для лікарських засобів із ненасичувальною кінетикою (див. інший приклад з етанолом на рис. 49.6). Максимальна швидкість метаболізму встановлює межу швидкості, з якою препарат можна вводити; якщо цю норму перевищити, кількість препарату в організмі буде збільшуватися нескінченно і ніколи не досягне рівноважного стану (див. рис. 11.9). Насправді цього не відбувається, тому що завжди є певна залежність швидкості елімінації від плазматичної концентрації (зазвичай через те, що інші, ненасичувальні, метаболічні шляхи або ниркова екскреція суттєво сприяють високим концентраціям). Проте рівноважні плазматичні концентрації препаратів такого типу широко і непередбачувано змінюються залежно від дози. Аналогічно варіації швидкості метаболізму (наприклад, за рахунок індукції ферментів) спричиняють непропорційно великі



зміни плазмової концентрації. Добре відомі ці проблеми багатьох лікарських засобів, зокрема протисудомного препарату фенітоїну, плазмову концентрацію якого для досягнення оптимального клінічного ефекту потрібно ретельно контролювати (див. розд. 46, рис. 46.4). Препарати, що демонструють кінетику насичення, менш передбачувані в клінічному застосуванні, ніж препарати з кінетикою першого порядку, тому в процесі розробки лікарських засобів можуть бути відхилені, якщо доступним є аналогічний за фармакологічною дією препарат з кінетикою першого порядку (розд. 60).

Клінічні аспекти застосування фармакокінетики узагальнено у відповідному блоці (с. 130).

### ПОПУЛЯЦІЙНА ФАРМАКОКІНЕТИКА

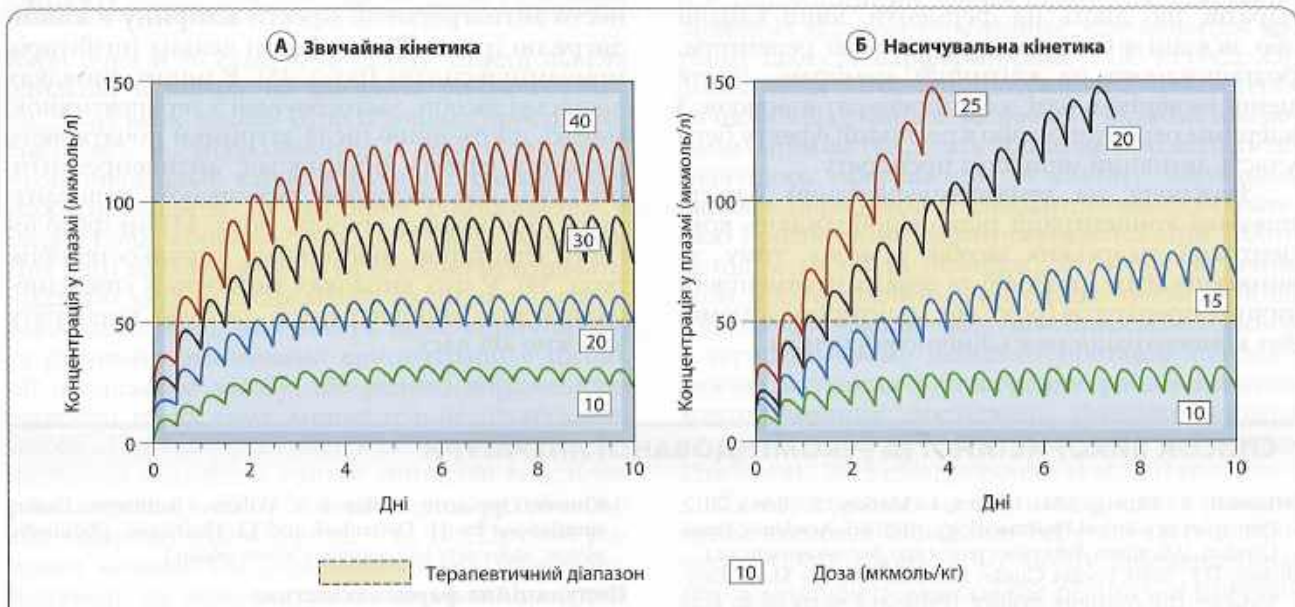
▼ У деяких ситуаціях, наприклад, коли препарат призначено для лікування хронічних захворювань у дітей, фармакокінетичні дані бажано отримувати у відповідній популяції пацієнтів, а не у здорових дорослих добровольців. Такі дослідження у дітей неминуче обмежені, і зразки для аналізу лікарських засобів часто отримують умовно під час медичної допомоги, з обмеженнями щодо якості даних та кількості зразків, відібраних у кожного пацієнта. Популяційна фармакокінетика вивчає способи найкращого аналізу таких даних. Описують дані від усіх суб'єктів, так ніби між особами не було кінетичних відмінностей, далі – дані кожної особи окремо, а потім окремі показники об'єднують. Такий підхід

має очевидні недоліки. Кращим методом є використання нелінійного моделювання змішаних ефектів (NONMEM). Статистичні технічні характеристики цих методів мають значні відмінності і виходять за межі теми цього розділу (детальніше можна прочитати у: Sheiner et al., 1997).

### ОБМЕЖЕННЯ ФАРМАКОКІНЕТИЧНОГО ПІДХОДУ

З наведеного вище матеріалу очевидні деякі обмеження фармакокінетичного підходу, наприклад екстраполяція параметрів у концептуально простих моделях. Є також обмеження щодо корисності моніторингу плазмової концентрації лікарських засобів з метою зменшення індивідуальної мінливості реакції на лікарський препарат (див. розд. 12). В основі очікуваної відповіді на препарат залежно від його плазмової концентрації лежать два головні припущення, з огляду на які ми можемо зменшити варіативність відповіді, враховуючи фармакокінетичні варіації (тобто варіацію ADME):

1. Плазмова концентрація лікарського засобу має чіткий взаємозв'язок з концентрацією препарату в безпосередньому оточенні його мішені (рецептор, фермент тощо).
2. Відповідь на препарат залежить лише від концентрації засобу в безпосередньому оточенні його мішені.



**Рис. 11.9** Порівняння кінетики ненасичення та кінетики насичення для лікарських засобів, які вводили перорально кожні 12 год. **А.** Криві, що демонструють уявний лікарський засіб, подібний до протиепілептичного препарату фенітоїну в найнижчій дозі, але з лінійною кінетикою. Рівноважна плазмова концентрація досягається протягом кількох днів і прямо пропорційна дозі. **Б.** Криві кінетики насичення, розраховані на основі відомих фармакокінетичних параметрів фенітоїну (див. розд. 45). Зверніть увагу, що при вищих дозах фенітоїну рівноважний стан не досягається і що невелике збільшення дози через деякий час має непропорційно великий вплив на концентрацію у плазмі крові. (Криві було розраховано за допомогою програми фармакокінетичного моделювання Sympak, написаної доктором Дж.Г. Блекманом (J.G. Blackman), Університет Отаго)



### Застосування фармакокінетики

- Фармакокінетичні дослідження, що проводяться під час розробки лікарських засобів, лежать в основі стандартних схем дозування, затверджених регуляторними органами.
- Іноді клініцистам потрібно індивідуалізувати схеми дозування, враховуючи індивідуальні варіації у конкретного пацієнта (наприклад, у новонародженого, у пацієнта з порушеннями та зміною функції нирок або у пацієнта, який приймає препарати, що можуть змінювати метаболізм лікарських засобів; див. розд. 10).
- Для такої індивідуалізації часто використовують дію ліків (фармакодинаміку), але є препарати (зокрема певні антиконвульсанти, імуносупресанти та антинеопластичні засоби), для яких визначено терапевтичний діапазон плазмових концентрацій, і щоб досягти концентрації в цьому діапазоні, важливо регулювати їх дозу.
- Знання кінетики дає змогу раціонально коригувати дозу лікарського засобу. Наприклад:
  - частота дозування такого препарату, як **гентаміцин**, що виводиться шляхом ниркової екскреції, може бути помітно зменшеною у пацієнта з нирковою недостатністю (розд. 52);
  - для досягнення цільового діапазону плазмової концентрації такого лікарського засобу, як **фенітоїн**, з кінетикою насичення (розд. 46, рис. 46.4), збільшення дози є набагато меншим, ніж для препарату з лінійною кінетикою.
- Навіть якщо невідома терапевтична концентрація, знання показника  $t_{1/2}$  препарату може бути дуже корисним:
  - для правильної інтерпретації побічних дій, які виникають через певний час після початку регулярного застосування (наприклад, бензодіазепінів; див. розд. 45);
  - при прийнятті рішення про необхідність встановлення першої навантажувальної дози на початку лікування такими препаратами, як **дигоксин** та **аміодарон** (розд. 22).
- Об'єм розподілу ( $V_d$ ) лікарського засобу визначає величину необхідної навантажувальної дози. Якщо  $V_d$  великий (як, наприклад, у багатьох трициклічних антидепресантів), гемодіаліз не буде ефективним способом прискорення виведення препаратів при їх передозуванні.

Перше з цих припущень є правдоподібнішим для тих небагатьох препаратів, ефект яких виявляється через мішень у циркулюючій крові (наприклад, фібринолітичний препарат, що діє на фібриноген) і є досить вірогідним для препаратів, що діють на ферменти, іонні канали або зв'язані з G-білками чи кіназою рецептора, розташованого на клітинній мембрані, проте менш імовірно в разі, коли препарат взаємодіє з ядерним рецептором або в реалізації ефекту бере участь активний метаболіт препарату.

Зважаючи на гематоенцефалічний бар'єр, плазмові концентрації рідко відображають концентрації лікарських засобів у мозку, тому, за винятком літію (розд. 48) та деяких протиепілептичних препаратів (розд. 46), моніторинг плазмових концентрацій не є клінічно корисним.

Друге припущення не відповідає дійсності, якщо лікарський засіб утворює стійкий ковалентний зв'язок зі своєю мішенню, створюючи ефект, який діє значно довше, ніж препарат, наявний у плазмі. До таких прикладів можна віднести антиагрегантні ефекти **аспірину** й **клопідогрелю** (розд. 25) та ефекти деяких інгібіторів моноаміноксидази (розд. 48). В інших випадках лікарські засоби, застосовувані з терапевтичною метою, діють лише після затримки початкового розвитку ефекту (наприклад, антидепресанти, розд. 48) або поступово викликають толерантність (наприклад, опіоїди, розд. 43) чи фізіологічну адаптацію (наприклад, кортикостероїди, розд. 34). У цих випадках змінюється співвідношення між концентрацією та дією препарату залежно від часу.

### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ТА РЕКОМЕНДОВАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

- Atkinson, A., Huang, S.M., Lertora, J., Markey, S. (Eds.), 2012. Principles of Clinical Pharmacology, third ed. Academic Press, London. (Містить детальний розділ про фармакокінетику.)
- Birkett, D.J., 2010. Pocket Guide: Pharmacokinetics Made Easy. McGraw-Hill Australia, Sydney. (Відмінний малий обсяг, який відповідає обіцянкам щодо назви.)
- Rowland, M., Tozer, T.N., 2010. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics, Concepts and Applications. Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore. Online simulations by H. Derendorf and G. Hochhaus. (Відмінний текст; наголошує на клінічному застосуванні.)
- Популяційна фармакокінетика**
- Sheiner, L.B., Rosenberg, B., Marethe, V.V., 1997. Estimation of population characteristics of pharmacokinetic parameters from routine clinical data. J. Pharmacokin. Biopharm. 5, 445-479.

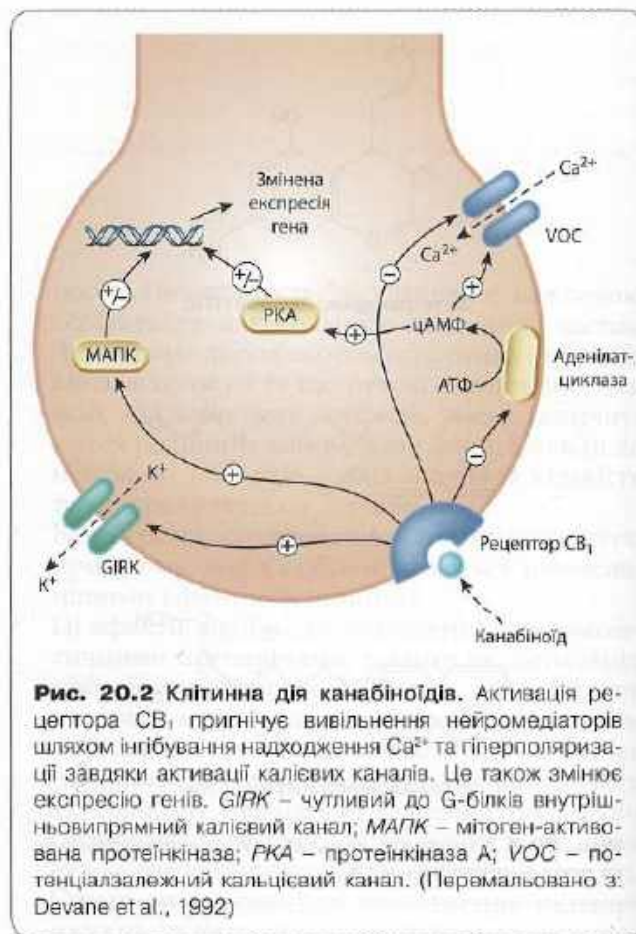


## КАНАБІНОЇДНІ РЕЦЕПТОРИ

Спочатку вважали, що оскільки канабіноїди є добре розчинними в ліпідах, то діють подібно до загальних анестетиків. Однак у 1988 р. було продемонстровано насичувальне високоафінне зв'язування канабіноїду, поміченого тритієм, у мембранах, отриманих з гомогенізованого мозку щурів. Завдяки цьому ідентифікували специфічні рецептори канабіноїдів у мозку. Нині їх називають рецепторами  $CB_1$ , щоб відрізнити від рецепторів  $CB_2$ , які згодом виявили у периферійних тканинах. Канабіноїдні рецептори є типовими представниками родини рецепторів, зв'язаних з G-білками (розд. 3). Рецептори  $CB_1$  пов'язані через  $G_{i/o}$  з інгибуванням аденілатциклази та потенціалзалежних кальцієвих каналів, а також з активацією чутливих до G-білків внутрішньовипрямних калієвих каналів (англ. G protein-sensitive inwardly rectifying potassium channels, GIRK), зумовлюючи гіперполяризацію мембран (рис. 20.2). Ці дії аналогічні ефектам, опосередкованим опіоїдними рецепторами (розд. 43). Рецептори  $CB_1$  розташовані в плазматичній мембрані нервових закінчень та інгибують вивільнення медіатора з пресинаптичних закінчень після деполяризації і проникнення  $Ca^{2+}$  (розд. 4). Рецептори  $CB$  також впливають на експресію генів, як безпосередньо активуючи мітоген-активовану протеїнкіназу, так і опосередковано знижуючи активність протеїнкінази A в результаті зменшення активності аденілатциклази (див. розд. 3).

Рецепторів  $CB_1$  багато в мозку, кількість їх подібна до кількості рецепторів глутамату та ГАМК – основних центральних збудливих і гальмівних нейромедіаторів (розд. 39). Вони розподілені неоднорідно й концентруються в гіпокампі (що пов'язано з впливом канабіноїдів на пам'ять), мозочку (що впливає на втрату координації), гіпоталамусі (це важливо для контролю апетиту та температури тіла; див. розд. 33 і далі в цьому розділі), у чорній субстанції, в дофаміновому мезолімбічному шляху, які причетні до психологічної «винагорода» (розд. 50) та до асоціації ділянок кори головного мозку. У стовбурі головного мозку відносно небагато рецепторів  $CB_1$ , і це узгоджується з тим, що канабіноїди не здійснюють серйозного пригнічення функції дихання або серцево-судинної системи. На клітинному рівні рецептори  $CB_1$  переважно локалізовані пресинаптично та інгибують вивільнення медіатора, що показано на рис. 20.2. Однак як і опіоїди, вони можуть підвищувати активність деяких нейрональних шляхів, пригнічуючи інгібуючі зв'язки, зокрема ГАМК-ергічні інтернейрони в гіпокампі (морському конику) та мигдалеподібному тілі.

Окрім загальноновизнаного розташування в ЦНС рецептори  $CB_1$  експресуються також у периферійних тканинах, наприклад на ендоте-



**Рис. 20.2** Клітинна дія канабіноїдів. Активація рецептора  $CB_1$  пригнічує вивільнення нейромедіаторів шляхом інгибування надходження  $Ca^{2+}$  та гіперполяризації завдяки активації калієвих каналів. Це також змінює експресію генів. *GIRK* – чутливий до G-білків внутрішньовипрямний калієвий канал; *MAPK* – мітоген-активована протеїнкіназа; *PKA* – протеїнкіназа A; *VOC* – потенціалзалежний кальцієвий канал. (Перемальовано з: Devane et al., 1992)

ліальних клітинах, адипоцитах та периферійних нервах. Канабіноїди сприяють ліпогенезу через активацію рецепторів  $CB_1$ , і це могло б бути однією з причин їхнього впливу на масу тіла (див.: DiPatrizio & Piomele, 2012).

За амінокислотною послідовністю рецептори  $CB_2$ , які знаходяться переважно в лімфоїдній тканині (селезінці, мигдалинах і тимусі, а також циркулюючих лімфоцитах, моноцитах і тканинних тучних клітинах), і рецептори  $CB_1$  гомологічні лише приблизно на 45 %. Рецептори  $CB_2$  також наявні на мікроглії – імунних клітинах ЦНС, що при активації сприяють виникненню хронічного болю (розд. 38). Локалізація таких рецепторів на клітинах імунної системи була несподіваною, але це може пояснювати інгібуючий вплив канабісу на імунні функції. Рецептори  $CB_2$  відрізняються від рецепторів  $CB_1$  реакцією на канабіноїдні ліганди (табл. 20.1). Вони пов'язані через  $G_{i/o}$  з аденілатциклазою, каналами *GIRK* і мітоген-активованою протеїнкіназою аналогічно до  $CB_1$ , але не з потенціалзалежними кальцієвими каналами (які не експресуються в імунних клітинах). Таким чином, про їхні функції відомо досить мало. Ці рецептори наявні в місцях атеросклеротичних уражень (див. розд. 24), а агоністи  $CB_2$  потенційно здатні чинити протиатеросклеротичну дію на макрофаги та щістні клітини (Chiurchiu et al., 2014).