

# Základy chemie léčiv

## Úvod

**Cílem cyklu přednášek nazvaného Organická chemie ve farmacii je úvod do problematiky výzkumu, vývoje a výroby léčiv.**

V posledním půlstoletí prošla chemie léčiv obdobím neobyčejného rozmachu a dnes patří spolu s chemií materiálů pro nanotechnologie mezi nejdynamičtější se rozvíjející obory chemie. Dynamika oboru ale sebou nese potřebu se neustále vyrovnávat s novými poznatky. Úloha organického chemika v této oblasti je velmi důležitá a bude zdůrazněna na příkladech praktického přístupu k výzkumu a vývoji léčiv. Problematika léčiv se ovšem neomezuje jen na aplikace organické chemie, ale má multidisciplinární charakter. Naše společnost je společností informační. K dispozici jsou dnes na počítačích „velká data“ – obrovské množství informací z různých oblastí souvisejících s hledanou problematikou. Problémem přitom je jejich vytřídění a správné vyhodnocení. Pro řádné pochopení současné problematiky chemie léčiv je přitom třeba mít určitý přehled i o dalších oblastech, které s výzkumem, vývojem, výrobou, ale i s distribucí a použitím léčiv souvisejí a je ovlivňují. Každé z těchto oblastí by bylo možné věnovat samostatné cykly přednášek. Informace o nich přednášené v tomto cyklu mohou sice být jen velmi stručné, nelze se ale o souvisejících oblastech nezmínit. Účelem je získání alespoň základního přehledu, na nějž by pak u těch, kteří se ve svém budoucím zaměstnání budou léčivy zabývat, mohlo navázat prohlubování specifických znalostí v určité specializované oblasti.

Přednášky budou zahájeny definicí základních pojmů a stručnou exkurzí do historie chemie léčiv – farmakochemie – i do „žhavé současnosti“ – lékové politiky. Pochopení problematiky léčiv se neobejde bez poznání principů farmakologie, která nás učí, jak léky působí, na něž pak může navázat výklad o chemických aspektech výzkumu a vývoje léčiv a zkouškách účinnosti.

Výzkum a vývoj léčiv má různé fáze, které sice nemají ostře oddělené hranice a v praxi se mnohdy vzájemně prolínají, ale které vyžadují odlišný přístup. Nejprve musí být nové léčivo objeveno. K objevům nových léčiv v minulosti často přispívala šťastná náhoda, postupně se však začal prosazovat racionální přístup.

Ten dnes vychází z pochopení biologické a biochemické podstaty onemocnění. Jakmile se zjistí, s jakými abnormálními biochemickými procesy v buňkách a tkáních je spojeno určité onemocnění, začne hledání látek, které by mohly tyto procesy ovlivnit žádoucím směrem.

Toto hledání může být virtuální spočívající v počítačovém modelování interakcí různých molekul s cílovými strukturami v organismu nebo může vycházet ze známých nebo předpokládaných vztahů mezi strukturou různých látek k jejich biologickému účinku, vždy však vyústí v testování různých kandidátů na nová léčiva, screeningu. Přitom se zprvu většinou naleznou látky, které jsou sice účinné, ale stále mají mnohé nedostatky. Proto ještě nejsou konečným léčivem s optimálními vlastnostmi, ale pouze určitým vodítkem pro další dopracování struktury. K tomu dochází ve druhé fázi výzkumu a vývoje, v tzv. fázi návrhu. Přitom se různě obměňuje struktura vodítkové látky a zjišťuje, jaký to má efekt. V minulosti k tomu vedla pracná a zdlouhavá postupná syntéza a testování různých derivátů, dnes situaci usnadňují nové syntetické metodiky, prohlubující se znalosti vztahů mezi strukturou a vlastnostmi látek a moderní výpočetní technika. Jakmile je vyvinuta látka, která má požadované vlastnosti, je třeba vypracovat pro její výrobu optimální technologický proces a současně i analytické postupy pro hodnocení kvality. Pak je ještě zapotřebí látku zpracovat do formy vhodné pro podání pacientovi jako léčivý přípravek. To je úkolem farmaceutické technologie.

Léčiva musí být kvalitní, bezpečná a účinná, což musí být prokázáno náročným testováním. To zahrnuje jak testy chemické, tak i biologické, které vrcholí klinickými zkouškami u člověka. Jejich výsledky pak jsou předkládány k posouzení lékovým autoritám v žádosti o povolení léčiva.

Do tohoto cyklu proto bude zahrnuta i přednáška věnovaná problematice zkoušení a povolování léčiv. Léčiva jsou specifickým zbožím a jejich výrobci mají zájem na tom, aby jim jejich zboží přinášelo zisk, zejména když do výzkumu a vývoje museli vynaložit značné částky. Více než v jiných oblastech aplikované chemie se proto u léčiv dostává do popředí otázka patentové ochrany, kterou rovněž nelze v tomto cyklu přednášek opomenout.

Ve většině učebnic farmakochemie navazují na obecné stati kapitoly věnované problematice jednotlivých skupin léčiv. To ale nedovoluje omezený semestrální rozsah těchto přednášek. O něco podrobněji, ale stále jen velmi stručně, bude proto diskutována pouze jedna skupina – protinádorová léčiva.

Někdy se hovoří o tom, že moderní medikamentózní terapie stojí na několika pilířích: nízkomolekulárních léčivech, biopolymerních léčivech reprezentovaných terapeutickými bílkovinami, jako jsou neupravované i různě modifikované protilátky, přirozenými i syntetickými oligonukleotidy a nových zatím teprve budovaných pilířích, které tvoří „imunoterapie“, genová a buněčná terapie. I když hlavní pozornost věnujeme problematice syntetických nízkomolekulárních léčiv, pro získání uceleného obrazu o současných trendech, je třeba se alespoň stručně zmínit i o těchto dalších pilířích.

Některé aspekty chemie léčiv budou ilustrovány v doplňkových materiálech zabývajících se stručnou historií chemie léčiv a případovými studiemi.

Jedna případová studie je věnována problematice tamoxifenu, léku, který blokuje receptory ženského pohlavního hormonu estrogeneru v buňkách nádorů prsu a výsledkům i problémům, které přineslo jeho využití v prevenci. Materiál o dilevaluolu poměrně podrobně popisuje vývoj chirálního léčiva, které mělo nahradit dříve používaný racemát. To se však nestalo a proto mohly být zveřejněny detaily z průběhu jeho vývoje. Sildenafil (známý pod názvem Viagra) je příkladem, jak vedlejší účinky mohou z neúspěšně vyvíjeného léčiva proti vysokému krevnímu tlaku učinit šlágr trhu. Případová studie Paklitaxel přináší kromě informací o tomto úspěšném protinádorovém léčivu i údaje o tom, jak je možné využívat (i zneužívat) patentoprávní situaci k získání a udržení monopolu na trhu. Text o inhibitech kinasy BCR-ABL informuje o moderních přístupech k výzkumu a vývoji jednoho typu cílených protinádorových léčiv.

## Základní pojmy

**Chemie léčiv** neboli **farmakochemie** se zabývá objevováním, navrhováním a syntézou biologicky účinných látek a jejich zpracováním do formy léčivých přípravků použitelných v terapii nebo diagnostice. **Léčiva** jsou látky, které mohou svým působením pozitivně ovlivňovat průběh procesů probíhajících v živém organismu a tím přispět k předcházení, léčbě nebo zmírnění příznaků nemocí. Příčinou působení léčiv jsou interakce jejich molekul s určitými cílovými strukturami v organismu, které vyvolávají terapeuticky využitelnou biologickou odezvu.

Cílovými strukturami léčiv bývají nejčastěji přirozené makromolekulární látky, jako jsou bílkoviny nebo nukleové kyseliny a jejich supramolekulární komplexy, agregáty nebo soustavy ve vlastním nebo i cizím (např. v bakteriích) organismu.

Před poměrně krátkou dobou byla chemie léčiv založena jen na zkušenostech, intuici, šťastných náhodách nebo metodě pokusu a omylu. Obrovský rozvoj tzv. biodisciplin (biochemie, molekulární a buněčná biologie a z jejich oblastí zejména genomika, proteomika a imunologie) přinesl poznání příčin nemocí na molekulární a buněčné úrovni a tím umožnil racionální přístup k hledání vztahů mezi strukturou látek a jejich biologickou účinností. **Chemie léčiv se díky tomu oprostila od empirie a stala se svěbytnou exaktní chemickou disciplínou.** Moderní trend výzkumu a vývoje léčiv, který se prosazuje od 90. let minulého století, je označován jako **translační výzkum** (translational research). Jeho charakteristickým rysem je úzká spolupráce odborníků z různých odvětví a rychlé promítání poznatků z jedné oblasti do druhé, především přenos klinických dat do laboratoří („od pacientova lůžka na laboratorní stůl“). Jak již bylo zdůrazněno, současná farmakochemie je **interdisciplinární obor**, který shrnuje poznatky organické chemie, biochemie a molekulové biologie, molekulového modelování, farmakologie, chemické a farmaceutické technologie, analytické chemie, chemometrie a statistiky. Farmakochemik by navíc měl mít určitý přehled i o fyziologii a medicíně, informatice, ekonomice, zdravotní politice, marketingu, patentovém právu a v neposlední řadě i o etice a sociálních vědách.

Od farmakologie se farmakochemie odlišuje důrazem na chemickou stránku problematiky léčiv, zatímco farmakologie se zaměřuje na vlastnosti léčiv z hlediska jejich biologického účinku. Farmacie se stejným slovním základem byla původně zaměřena na vydávání léků a chápána spíše jako profese než jako vědní obor. Nyní se pod pojem farmacie obecně zahrnuje celá problematika výzkumu, výroby, kontroly a distribuce léčiv.

Ve srovnání s rozsahem výzkumu je počet nově povolovaných léčiv poměrně malý.

To ale neznamená, že by výzkum a vývoj léčiv byl za zenitem a že pro každé významné onemocnění jsou k dispozici účinné léky. Nízký počet nově povolovaných léčiv je spíše důsledkem značného zprísnění požadavků na nová léčiva, zejména na průkaz jejich účinnosti a bezpečnosti.

**Důvodů, proč se zabývat výzkumem a vývojem léčiv je stále mnoho:**

- stále ještě chybí účinná léčba řady nemocí, jako je roztroušená skleróza, Alzheimerova choroba, mnohé typy rakoviny, prionová onemocnění („nemoc šílených krav“) apod.
- objevují se nová virová onemocnění, jako jsou infekce viry Zika, SARS (těžký akutní respirační syndrom), MERS (blízkovýchodní respirační syndrom), heartlandská nemoc, horečka chikunguya, nejnovější infekce koronaviry i „stará“ onemocnění způsobená novými mutacemi virů „prasečí“ a „ptačí“ chřipky apod.
- roste počet alergií a nemocí způsobených environmentálními faktory a nezdravým životním stylem
- bakterie, viry a nádorové buňky se stávají rezistentními vůči dosavadním léčivům
- objevují se léčiva eliminující nebo alespoň zmírňující poruchy, u nichž se dříve možnost medikamentózní léčby vůbec nepředpokládala (deprese, impotence, inkontinence, apod.)
- se stárnutím populace se zvyšuje počet degenerativních i dalších onemocnění

- objevují se možnosti chemoprevence různých onemocnění
- zvyšují se požadavky na účinnost a bezpečnost léčiv a na kvalitu života léčeného pacienta, což znamená, že některá léčiva přestávají být přijatelná pro své vedlejší účinky
- zvyšují se požadavky na selektivitu léčiv, aby jejich účinek byl přesněji zacílen na nemocné buňky a tkáně s určitým defektem a nepostihoval zdravé buňky („cílená léčiva“)
- nové možnosti diagnostiky umožňují přechod k individualizované terapii, „léčení na míru“, tj. podávání takových léčiv, která pro daného pacienta přinesou co nejvyšší terapeutický užitek
- léčiva se stávají součástí integrované léčby (např. podávání imunosupresiv při transplantacích)
- roste složitost molekul léčiv a s tím složitost jejich výroby, zpříšňují se požadavky na jejich bezpečnost a s tím i na jejich zkoušení, což vyvolává růst cen léčiv
- růst nákladovosti zdravotní péče spolu s konkurencí firem naopak vyvolávají tlak na snižování cen léčiv
- je požadována farmakoekonomická výhodnost, tj. příznivý poměr mezi přínosy léčiva a náklady spojenými s jeho používáním

Podle zákona o léčivech č. 378/2007 Sb. jsou **léčivými přípravky („léky“)** léčivé látky nebo kombinace více léčivých látek, popř. i další látky, zpracované do formy určené k podání lidem nebo zvířatům s tím, že v případě onemocnění lidí nebo zvířat mají léčebné nebo preventivní účinky, mohou obnovovat fyziologické funkce organismu prostřednictvím farmakologického, imunologického nebo metabolického účinku nebo umožní stanovení diagnózy.

Pojem **léčivo** není v zákoně definován. Někdy jsou pod tento pojem zahrnovány jak léčivé látky, tak i léčivé přípravky, jindy se považuje jen za zkrácený termín pro léčivou látku, zatímco krátkým synonymem pro léčivý přípravek je slovo **lék**. V těchto přednáškách bude pojem **léčivo** používán v obecném významu, pojmy **léčivá látka** nebo **léčivý přípravek** budou užity tam, kde je třeba rozlišovat. Anglický termín pro **léčivo** je *drug*, což ovšem znamená i drogu.

**Léčivé látky**, účinné substance neboli aktivní farmaceutické složky léčivých přípravků (zkratka API, z angl. Active Pharmaceutical Ingredient) patří mezi nejdražší průmyslově využívané materiály.

Mohou být přírodního nebo syntetického původu nebo jsou přírodními produkty, které mohou být definováním způsobem chemicky modifikovány. Jejich škála sahá od jednoduchých anorganických sloučenin až po složité směsi látek, jakými jsou vakcíny, složky krve nebo rostlinné preparáty. V asi 40 tis. přípravcích schválených národními i mezinárodními lékovými autoritami se nyní používá více než 1500 individuálních léčivých látek, z toho je přes 1200 nízkomolekulárních sloučenin. Zbytek jsou látky makromolekulárního charakteru, přičemž naprostá většina z nich je biologického původu (terapeutické bílkoviny, polynukleotidy atd.). Molekulová hmotnost léčivých látek se pohybuje od 6 (lithné ionty používané v psychiatrii) až po desítky tisíc daltonů (např. protinádorové léčivo monoklonální protilátka trastuzumab má mol. hmotnost 145,5 tis.D)

Léčivé přípravky obsahují specifikovaná množství jedné nebo více léčivých látek, obvykle ve směsi s pomocnými látkami (excipienty). Forma léčivého přípravku je dána způsobem podání. Ten závisí na vlastnostech léčivé látky (chemická i metabolická stabilita, rozpustnost, biologická dostupnost apod.), na charakteru onemocnění, popř. místu výskytu nemocné tkáně (topické přípravky).

Léčivé přípravky mohou být připravovány z léčivých a pomocných látek kvalifikovanými farmaceuty v lékárnách. V současné době však na trhu zcela převažují hromadně vyráběné léčivé přípravky (HVLP) z produkce farmaceutických firem. HVLP mají specifický název a jsou distribuovány v obalech, které umožňují, aby před podáním pacientovi byl přípravek bez rizika za vymezených podmínek dopravován a po určité době skladován.

Zákonné předpisy upřednostňují **bezpečnost** a její zajištění **před účinností**. Do kategorie léčivých přípravků jsou proto řazeny i přípravky, které nemají léčebný účinek, ale podávají se pacientům jako „**in vivo diagnostika**“ k určení typu nebo rozsahu onemocnění (např. rentgenokонтрастní látky) nebo s cílem ovlivnit fyziologické funkce (přípravky pro narkózu). Dále tam jsou řazeny i některé **přípravky z léčivých rostlin** a tzv. **homeopatika**, i když ta podle zákona o léčivech „nemají zcela vlastnosti léčivých přípravků a látky v nich obsažené nejsou vždy látkami s prokázaným léčivým účinkem“.

**Homeopatika** zavedl do terapie v letech 1796-1810 století německý lékař Hahnemann jako protiklad proti tehdy používaným léčivům, která svými drastickými účinky pacientům spíše škodila, než pomáhala. Principem homeopatie jako léčebné metody je podle Hahnemanna léčení na základě podobnosti (řecky homoiios = podobný), tj. léčení nemocí látkami, které vyvolávají podobné příznaky jako nemoc sama. Tím se homeopatie liší od standardní, **alopatické medicíny** (allos = jiný). Látky vyvolávající podobné příznaky jako nemoc bývají extrahovány z rostlin, živočišných tkání nebo i minerálů vodou nebo alkoholem. Aby neškodily, musí být dostatečně naředěny. Princip léčení podobného podobným není zcela nesprávný, využívá jej i moderní medicína, např. při očkování oslabenými bakteriemi nebo viry. Hahnemann ale zavedl do terapie i pochybný princip „potencování“ látky velkým ředěním – „čím více látku zředíte, tím je výsledný lék účinnější“ ale znamená, že pacient bývá léčen prakticky nulovou dávkou látky.

Látky nebo extrakty vyvolávající podobné příznaky jako nemoc (např. v případě populárního homeopatického přípravku Oscilloccinum jde o asepticky zfiltrovaný autolyzát jater a srdce divoké kachny, o níž se mylně předpokládalo, že je nositelem „oscilokoka“, který podle starých představ měl způsobovat chřipku) se přitom se opakovaně ředí vodou nebo laktosou (pevně nerozpustné produkty) buď desetinásobkem (ředění „D“) nebo stonásobkem („C“), někdy i tak, že se obsah nádoby vyleje nebo vysype a pak znovu naplní. Počet ředění se vyjadřuje číslem za písmenem. Jestliže např. homeopatický lék nese označení C 12, pak účinná látka byla zředěna  $100^{12}$  krát, tj.  $10^{24}$  krát. Mol látky obsahuje  $6,02 \times 10^{23}$  molekul. V 1 l roztoku nebo 1 kg pevného homeopatického přípravku potence C12 tak nemusí být ani jedna molekula látky – a přitom pacient užívá jen několik kapek nebo malých pilulek léku (přípravek Oscilloccinum má dokonce ředění C200 – přičemž  $100^{200}$  je víc, než počet atomů v celém vesmíru). Homeopaté vysvětlují účinek způsobem ředění – „potencováním a dynamizováním“, který má zaručit, že látka zanechá v přípravku svůj „otisk“ nebo „energií“ (podle jednoho českého homeopata může jít i o „určité uspořádání subatomárních částic“). Otázkou je, zda takové uspořádání může zajistit specifický způsob „dynamizování“, kdy je např. předepsáno, že se nádobou s ředěnou směsí musí desetkrát uhodit o koňskou kůži. Homeopatické léky jsou nesporně bezpečné, pokud jde o účinek, tak ten se může projevit v jen důsledku tzv. placebového efektu („víra tvá tě uzdravila“), který bývá posílený pohovorem homeopata s pacientem o jeho problémech. Pro absenci specifického účinku nemá být u homeopatik uváděna léčebná indikace, výrobci ale umí tento zákaz obcházet. Pokusy prokázat účinnost homeopatik srovnáním s placebem vesměs selhaly, což homeopaté vysvětlují nutností individuálního přístupu k pacientovi.

**Léčivé přípravky**, ať již s prokázanou nebo neprokazovanou účinností, **musí vždy být bezpečné**. Aby jejich bezpečnost nebyla ohrožena nekvalitní výrobou, musí být vyráběny za velmi přísných a kontrolovaných podmínek podle **zásad správné výrobní praxe (SVP, anglicky Good Manufacturing Practice, GLP)**.

Tyto podmínky zatím nemusí splňovat výroba tzv. potravinových doplňků nebo léčebné kosmetiky, které zákon mezi léčivé přípravky neřadí. V r. 2010 však formuloval americký Úřad pro potraviny a léčiva FDA zásady SVP i pro jejich výrobu. Ty jsou sice mírnější, než požadavky SVP pro léčiva, přesto znamenají značné zpřísnění dosavadních podmínek výroby a kontroly. Výroba homeopatik a *in vivo* diagnostických přípravků ale musí požadavky SVP splňovat.

**Potravinové doplňky**, jako jsou různé vitaminové přípravky, minerální látky apod., nebo **kosmetické přípravky** (včetně tzv. „léčebné kosmetiky“) **musí být bezpečné, ale nemusí být účinné**.

Některé účinné samozřejmě jsou (třeba vitaminové přípravky), účinnost jiných, která nemusí být prokazována řádnými klinickými zkouškami, bývá ale sporná. Údaj „klinicky zkoušeno“ často uváděný na obalech bývá zavádějící, protože se buď vztahuje jen na kontrolu bezpečnosti nebo dokonce bývá vymyšlený. Jsou-li klinicky zkoušeny, pak vesměs jde o nedostatečně kontrolované zkoušky s malým souborem pacientů. Na rozdíl od léčiv neposuzuje u nás bezpečnost potravinových doplňků a přípravků tzv. léčebné kosmetiky Státní ústav kontroly léčiv (SÚKL), ale Státní zdravotní ústav (SZÚ). Ten kontroluje obsah a testuje dodané nebo vyžádané vzorky. Prodej přípravků povolí, pokud nemají dráždivé, alergenní nebo jiné nebezpečné účinky. Zakázány byly např. některé přípravky ke stimulaci růstu svalové hmoty nabízené ve fitness centrech. Ty byly účinné díky obsahu anabolických steroidů, které jsou jinak dostupné jen na lékařský předpis, protože mívají nebezpečné vedlejší účinky. SZÚ kromě posuzování bezpečnosti kontroluje také hygienické podmínky při výrobě potravinových doplňků nebo kosmetických přípravků. Lze očekávat, že po zavedení specifických zásad SVP pro tyto přípravky po vzoru USA i v Evropě budou tyto kontroly zpřísněny.

**Rostlinné přípravky** mohou často mít zajímavý léčebný účinek. Rostliny obsahují mnoho účinných látek, řada z nich se izoluje a pak používá jako chemická léčiva.

Výhodou nativních rostlinných přípravků může být to, že obsahují směsi účinných nebo i dalších látek, u nichž se projevuje synergický účinek, tj. směs může být účinnější, než by činil součet účinků jejich jednotlivých složek. Nevýhodou ale je nestandardnost – obsah léčivých látek v rostlinách kolísá podle místa výskytu, podmínek růstu, doby sběru, způsobu zpracování a skladování apod. Jako léčiva jsou proto povolovány jen některé rostlinné přípravky se standardizovaným obsahem, jiné mohou mít nanejvýš charakter potravinových doplňků, popř. kosmetických přípravků.

Rostlinné přípravky – na rozdíl od syntetických léčiv – bývají často považovány za zcela bezpečné, což však není pravda. Látky obsažené v rostlinách mohou mít vedle léčivých účinků i škodlivé vedlejší účinky, některé jsou dokonce jedovaté. Pro schopnost hojit rány je např. bylinkáři často používán kostival. Ten však obsahuje pyrrolizidinové alkaloidy, z nichž 5 je značně toxických, protože mohou způsobit vážná onemocnění ledvin, plic, popř. vyvolávat rakovinné bujení. V Německu proto jsou kostivalové masti a tinktury dostupné jen na základě předpisu vystaveného lékařem, v některých dalších zemích jsou dokonce zcela zakázány. U nás jsou ale běžně prodávány. V poslední době byl v Evropě zakázán dovoz některých rostlinných přípravků tradiční čínské medicíny připravovaných z rostlin rodu *Aristolochia* (podražcovité, do tohoto rodu patří i u nás rostoucí *Aristolochia clematis*), které obsahují silně kancerogenní kyselinu aristolochovou (v ČR však jsou tyto přípravky nadále nabízeny na internetu).

Ve vztahu k nemoci může mít léčivo **účinek léčebný** - kurativní, **zmírňující** - paliativní (nemoc sice nevyléčí, ale zmírňuje její průběh a příznaky, zvyšuje kvalitu života pacienta a prodlužuje dobu přežití), **podpurný, doplňkový** - adjuvantní a **ochranný** - preventivní.

Tyto účinky jsou dány **interakcemi molekul léčiva s různými cílovými strukturami v organismu**. Některá léčiva přitom mohou interagovat s několika cílovými strukturami. Mohou proto být použita **ve více indikacích**, tj. k léčbě různých onemocnění. Na druhé straně mohou interakce s různými cílovými strukturami způsobit, že léčivo bude mít vedle příznivých účinků i některé **nežádoucí vedlejší účinky**. Vedlejší účinky mohou vyplývat i z mechanismu účinku léčiva. Ve větší či menší míře je má každé léčivo.

Např. nádorová onemocnění jsou charakteristická relativně rychlým růstem a dělením rakovinných buněk. Jako protinádorová léčiva se proto používají látky, které růst a dělení buněk zastavují. Jejich zásah ale nebývá specifický a může ovlivnit i normální tkáňové buňky. Ty většinou rostou pomaleji a dělí se méně často, takže nebývají protinádorovými léčivy příliš poškozovány. Existují ale výjimky, jimiž jsou např. krvinky, které se vytvářejí v kostní dřeni, buňky vlasových kořínek nebo buňky žaludeční a střevní sliznice. Vedlejším účinkem léčiv zastavujících růst nádorových buněk proto bývá přechodné narušení krvetvorby, vypadávání vlasů, nevolnost a zvracení apod.

U každého léčiva se posuzuje vztah mezi prospěchem a poškozením organismu vedlejšími účinky. Je-li tento poměr nevýhodný, není léčivo povoleno. Jedním z cílů výzkumu a vývoje nových léčiv je **maximalizovat příznivý účinek** a přitom **minimalizovat nežádoucí nepříznivé účinky**. **Účinek léčiva, ať již příznivý nebo nežádoucí, má přitom pravděpodobnostní charakter.**

Žádný lék nepůsobí na všechny pacienty stejně - nemá stejnou **terapeutickou odezvu**. Mnoho nemocí má **multifaktoriální charakter** – mohou být způsobeny narušením funkce více různých biomakromolekul, např. enzymů, které se podílejí na určitých biologických procesech, jakými je např. v případě rakoviny nekontrolované dělení buněk. Léčivo interagující s určitým enzymem metabolické dráhy může účinně léčit pacienta, u něhož bylo podobné onemocnění způsobeno vadnou funkcí tohoto enzymu, nepomůže však jinému pacientovi, u něhož stejnou nemoc způsobila porucha funkce jiného enzymu.

Organismus je složitým útvarům s **individuálními odchylkami**, které se mohou projevit i na úrovni **cílové struktury pro léčivo**, např. v rozdílné aktivitě určitého enzymu v buňce způsobené rozdílným počtem jeho molekul nebo určitou změnou jeho prostorové stavby.

Změny složení a prostorové stavby mohou být tak malé, že cílová struktura zůstane funkční, mohou však mít dopad na její interakci s léčivem. Někdy bývají takové změny výsledkem mutace, záměny bází v řetězci DNA genu. Výskyt genů s jediným změněným kodonem je označován jako **polymorfismus jednotlivých nukleotidů** (Single Nucleotide Polymorphism, zkratka SNP) a je mu věnována pozornost v souvislosti s tzv. individualizovanou terapií. Změny genů vedou ke změně struktury kódovaných proteinů, které bývají cílovou strukturou léčiva. Některé změny přitom mohou interakci léčiva s jeho cílovou strukturou usnadnit nebo naopak zhoršit, což se pak projeví odchylkami v účinnosti látky. Důležitý je i počet genů kódovaných proteinů, které jsou cílovými strukturami pro léčivo. Ten závisí na počtu kopií jednotlivých genů v genomu a na tom, jak je ztížen nebo naopak usnadněn prepis genů. Prepis genů přitom závisí na epigenetických změnách v buňce, tj. na ovlivnění exprese genů, které není způsobeno změnami sekvencí DNA v genomu, ale methylací DNA nebo modifikacemi histonů, základních bílkovin, kolem nichž jsou řetězce DNA ovínuty. Transkripci a translaci genů a tím i počet cílových bílkovinných struktur léčiv v buňkách ovlivňuje i přítomnost, množství, struktura a aktivita malých interferujících a dalších nekódujících ribonukleových kyselin.

Pro účinek léčiva jsou důležité nejen rozdíly v jeho interakci s cílovou strukturou, ale i individuální **odchylky v metabolismu léčiva** způsobené odchylkami ve struktuře enzymů podílejících se na přeměnách, odbourání a eliminaci léčiva.

Také u těchto odchylek bývá příčinou polymorfismus genů. Rozdíly ve struktuře metabolizujících enzymů mohou způsobit zvýšení nebo naopak snížení jejich aktivity, popř. dokonce i inaktivaci. Jeden pacient pak metabolizuje léčivo rychleji, jiný pomaleji. U prvního je pak třeba zvýšit dávku léčiva, zatímco u druhého může narůst koncentrace léčiva v organismu natolik, že se prohloubí vedlejší účinky. Metabolismus léčiva ale mohou ovlivnit kromě malých změn ve struktuře degradujících nebo transformujících enzymů i jiná léčiva nebo složky potravy, nikotin z tabákového kouře apod., jejichž molekuly mohou soutěžit o stejnou cílovou strukturu, popř. mohou stimulovat nebo naopak inhibovat enzymy metabolické dráhy.

**Z historie farmakochemie** - viz samostatný doplňkový materiál

## Klasifikace léčiv

Léčivé přípravky mívají různé obchodní názvy, i když obsahují stejnou účinnou látku. Aby bylo usnadněno vyhledávání informací v různých zdrojích, jsou léčiva roztříděna podle účinných látek systémem mezinárodní ATC (Anatomicko-Terapeuticko-Chemické) klasifikace do různých skupin a podskupin. **Výsledkem je ATC kód, který je specifickým označením léčiva naznačujícím do které skupiny léčivo patří.** Podle ATC systému jsou členěny i některé učebnice věnované farmakoterapii.

ATC kódy přiděluje léčivům mezinárodní pracovní skupina pro metodologii statistiky léčiv Světové zdravotnické organizace (WHO, World Health Organization) v Oslo. Metodika přidělování a kódy jednotlivých skupin léčiv jsou ve směrnici WHO na stránce [https://www.whooc.no/atc/structure\\_and\\_principles/](https://www.whooc.no/atc/structure_and_principles/), kódy přidělené novým léčivům jsou v publikaci ATC Index, [http://www.whooc.no/atc\\_ddd\\_index/](http://www.whooc.no/atc_ddd_index/) a v časopisech WHO Pharmaceutical Newsletter a WHO Drug Information. Od r. 1987 je spolu s kódy jednotlivých léčiv zveřejňována v těchto publikacích i výše jejich doporučené denní dávky (DDD).

Základem ATC klasifikace je „**anatomické**“ rozřídění léčiv do skupin podle místa nebo způsobu účinku. Tyto základní skupiny jsou označovány velkými písmeny A – V, většinou podle prvních písmen anglického názvu místa účinku. Jsou to:

A – léčiva působící na trávicí trakt a ovlivňující metabolismus potravy (Alimentary tract and metabolism)

B – léčiva ovlivňující krevtvorbu a orgány krevtvorby (Blood and blood forming organs)

C – léčiva působící na kardiovaskulární systém (Cardiovascular system)

D – dermatologické přípravky (Dermatologicals)

G – léčiva působící na pohlavní a močové orgány a pohlavní hormony (Genito-urinary system and sex hormones)

H – hormonální preparáty se systémovým účinkem, kromě pohlavních hormonů (Systemic hormonal preparations, excluding sex hormones)

J – obecně působící antiinfektiva pro systémové použití (General antiinfectives for systemic use)

L – protinádorové a imunomodulační látky (Antineoplastics and immunomodulating agents)

M – léčiva působící na svalový a kosterní systém (Musculo-skeletal system)

N – léčiva působící na nervový systém (Nervous system)

P – léčiva proti parazitům, insekticida a repelenty (Antiparasitic products, insecticides and repellents)

R – léčiva působící na respirační systém (Respiratory system)

S – léčiva působící na smyslové orgány (Sensory organs)

V – různé (Various).

Každá z těchto základních skupin je dále rozčleněna čísly od 01 na hlavní podskupiny charakteristické podobným **terapeutickým** využitím léčiv.

Nejvíce podskupin, 16, má skupina A. První podskupinu tam tvoří stomatologické přípravky, do jedné z dalších patří např. projímadla, do další léky proti průjmovým onemocněním, do jiné léky proti nevolnosti a zvracení. Do samostatných podskupin patří dále také vitaminy, minerální doplňky a dokonce anabolické preparáty.

Hlavní podskupiny jsou dále jemněji členěny do dalších podružných podskupin pomocí dvou písmenných symbolů. Při tomto jemném rozřídění už přichází v úvahu i **chemická povaha** léčiv. Nakonec je každému léčivu v podskupině přiděleno **pořadové číslo** počínaje 01.

Např. skupina protinádorových léčiv a imunomodulátorů L, má čtyři podskupiny: 01 – antineoplastika, 02 – léky pro endokrinní terapii (= terapii hormonálně závislých nádorových onemocnění), 03 – imunostimulanty a 04 – imunosupresiva. Léky první podskupiny L01 Antineoplastika (protinádorové léky) jsou dále rozděleny na podružně podskupiny L01A Alkylující látky, L01B Antimetabolity, L01C Rostlinné alkaloidy a další přírodní látky, L01D Cytotoxická antibiotika a příbuzné látky a L01X Ostatní antineoplastika. Alkylující látky pak jsou dále děleny na L01AA – Analoga dusíkatého yperitu – „hořčičného plynu“ (Nitrogen mustard analogues), L01AB – Alkylsulfonáty, L01AC – Etyleniminy, L01AD- Nitrosomočoviny, L01AG Epoxidy a L01AX – Ostatní alkylující látky. Podobně jsou dále děleny jednotlivé podskupiny. Jednotlivá léčiva pak mají např. symbol L01AA01 Cyklofosfamid, L01CD02 Docetaxel nebo L01XA02 Karboplatina.

ATC klasifikace je jednoduchá, přehledná a logická, ani ona však není dokonalá. Je-li léčivo používáno v různých indikacích nebo kombinacích, může mít přiděleno i několik ATC kódů.

Např. finasterid, antiandrogen, který inhibuje testosteron- $\alpha$ -reduktasu, se používá ve formě tablety s 5 mg účinné látky jako lék proti benigní (nezhoubné) hyperplázii prostaty (název originálního léčiva Proscar). V této indikaci má ATC kód G04CB01. Kromě toho se ale finasterid pod názvem Propecia používá i jako lék proti alopecii (plešatění), v tomto případě jako 1 mg tableta. Pro tuto druhou indikaci (gramáž není rozhodující) obdržel ATC kód D11AX10.

Obchodní názvy přípravků různých výrobců se samozřejmě liší u, i když obsahují stejnou účinnou látku a mají stejnou indikaci. V tomto případě mají všechny přípravky stejné ATC kódy, což usnadňuje orientaci a vyhledávání léčiva.

**Poznámka k názvosloví léčiv:** Někdy mohou mít stejná léčiva používaná v Evropě a řadě mimoevropských zemí na straně jedné a USA na straně druhé odlišné nejen obchodní názvy přípravků, ale i názvy účinných složek, tzv. generické názvy. V Evropě jsou používány generické názvy INN (International Non-proprietary Name) přidělované podle mezinárodního názvoslovného systému Světové zdravotnické organizace WHO, které jsou pravidelně zveřejňovány (<https://www.who.int/medicines/publications/druginformation/innlists/en/>).

V USA jsou názvy léčivům přidělována podle systému USAN (US Adopted Name). Jejich přehled lze zakoupit jako slovníkovou přílohu k aktuálnímu americkému lékopisu (USP Dictionary). V převážné většině případů jsou sice názvy INN a USAN stejné, existují však výjimky. Asi nejnámější názvoslovnou výjimkou je paracetamol (INN), který se v USA jmenuje acetaminofen (acetaminophen). V ATC Indexu mají přednost názvy systému INN. Rozdíly v názvech léčiv mohou být způsobeny i tím, že si některá firma přisvojí generický název. Tak se stalo v případě adrenalinu, který si pro svůj léčivý přípravek přisvojila v r. 1901 americká firma Parke, Davis & Co. Ve Velké Británii a některých dalších zemích, kde přípravek nebyl prodáván, byl název adrenalin používán nadále jako generický, jinde byl nahrazen názvem epinefrin (epinephrine, INN).

## Léková legislativa.

V 19. století zkoušeli lékaři a chemici léčiva sami na sobě nebo na několika málo pacientech. Přitom byly opomíjeny vedlejší účinky, ačkoliv mohly být příčinou poškození zdraví nebo v krajním případě i smrti pacienta. Je smutné, že muselo dojít k tragickým událostem, než byly zavedeny a pak zpřísnovány zákony regulující vývoj, výrobu a prodej léčiv. Nejprve se stala jejich předmětem **bezpečnost**.

V r. 1937 jedna americká firma zahájila výrobu „sulfanilamidového elixíru“, sirupu s protinfekčním účinkem, Během pouhých dvou měsíců od uvedení na trh zemřelo po požití sirupu více než sto pacientů, mezi nimi řada dětí. Ukázalo se, že příčinou byl diethylenglykol použitý v sirupu jako rozpouštědlo.

Tato tragédie vedla k tomu, že již v následujícím roce byl v USA přijat **zákon o potravinách, léčivech a kosmetických přípravcích**, který se stal předlohou podobných zákonů v jiných zemích.

Zákon požadoval, aby u nových léků byla testována jejich bezpečnost a aby na štítcích bylo varování před vedlejšími účinky a možnými kontraindikacemi. Přísná kontrola léčiv a surovin pro jejich výrobu byla postupně uzákoněna v řadě dalších zemí. Přesto ještě v r. 2006 zemřela v Panamě asi stovka dětí, které používaly sirup proti kašli obsahující místo glycerinu zmíněný toxický diethylenglykol. V Číně si podobná záměna propandiolu za diethylenglykol vyžádala 14 životů. Ještě na konci první dekády 21. století byl diethylenglykol používán také ve falšovaných zubních pastách Sensodyne. Nové zákony zavedly také kategorii léčiv na předpis. Do té doby si kromě narkotik mohl každý pacient zakoupit v lékárně jakýkoliv lék.

Od r. 1940 byly zákony o léčivech doplňovány. U nových léčiv se musela prokazovat nejen jejich bezpečnost, ale i **účinnost** a **kvalita**. Opatření směřující k tomu, aby se na trh dostala jen ta léčiva, která jsou účinná, bezpečná a kvalitní, vyústila ve formulování zásad již zmíněné „**správné výrobní praxe**“ (SVP, angl. Good Manufacturing Practice, zkratka GMP), souboru požadavků a opatření, kterými se musí řídit každý výrobce léčiv.

Nedodržuje-li výrobce zásady SVP, nesmí své výrobky prodávat jako léčiva. Platí to jak o léčivých přípravcích, tak i o léčivých látkách. U těch musí být zásady SVP respektovány alespoň při výrobě posledních meziproductů syntézy a zejména finální účinné látky, nazývané aktivní farmaceutická ingredience (Active Pharmaceutical Ingredient, zkratka API). Není-li tomu tak, mohou být produkty nabízeny a prodávány jen jako chemikálie, samozřejmě za nižší cenu než by byla cena léčivé látky vyrobené v souladu se SVP. Nesmí být přímo používány v léčivých přípravcích, nanejvýš jako surovina k dalšímu dočištění. Podobně přísná ustanovení platí i pro pomocné látky: nejsou-li vyráběny podle zásad SVP, nesmí být použity pro výrobu léčivých přípravků.

Zásady SVP zahrnují technická opatření (např. vzduchotechnické ošetření zajišťující aseptickou výrobu), kontrolní postupy i organizační opatření. Mezi ně patří zejména požadavky na **řádné dokumentování** každého kroku při vývoji, výrobě, kontrole, schvalování a povolování léčiva, způsoby projednávání a schvalování změn v technologii výroby nebo jakosti surovin a meziproductů.

Obsah a charakter příslušných dokumentů bude zmíněn v následujících kapitolách. Význam dokumentačních povinností je značný, **nedostatky ve vedení dokumentace mohou zapříčinit i zákaz výroby**.

Na SVP navázaly zásady **správné laboratorní praxe** (SLP; GLP) týkající se práce ve všech laboratořích provádějících zkoušení léčiva (od chemické analýzy po sledování metabolismu a toxikologické zkoušky), **správné klinické praxe** (SKP, GCP) určující podmínky zkoušení léčiv na pacientech a nakonec i **správné distribuční praxe**.

V druhé polovině 20. století požadavky na bezpečnost léčiv dále vzrostly. Zasloužila se o to další tragédie, kterou tehdy způsobilo používání léku, který byl na základě výsledků tehdy běžných zkoušek povolen jako účinný a bezpečný.

Koncem 50. let se v několika zemích, zejména ale v Německu, rodily děti s nevyvinutými končetinami. V r. 1962 bylo zřejmé, že to bylo v souvislosti s používáním thalidomidu. Thalidomid, sedativum vyráběné firmou Grünenthal pod názvem Contergan, byl předepisován jako „bezpečný“ lék těhotným ženám pro potlačení ranní nevolnosti.



Lék je sice výtečným sedativem a hypnotikem, má však teratogenní účinek, tj. negativně působí na růst embrya v děloze, tím že blokuje růst nových cév. To se však zjistilo, až se narodily poškozené „conterganové“ nebo také „tuleňovité“ děti s nevyvinutými končetinami. Předtím nikoho nenapadlo, že by léky dobře snášené dospělými, mohly škodit dosud nenarozeným dětem a teratogenní účinky se nezjišťovaly. Aféra s thalidomidem si vynutila zpřísnění legislativních opatření týkající se zkoušek bezpečnosti léčiv a zjišťování nežádoucích vedlejších účinků. Nová opatření se dotkla prakticky všech fází „života“ léčiva – od výzkumu a vývoje přes zkoušení a schvalování léčiv, výrobu léčiv a její kontrolu až po distribuci. Bylo podstatně rozšířeno preklinické testování. Nyní se musí při pokusech na zvířatech zkoumat i teratogenita a embryotoxicita léčiva. Dále se zpřísnily i požadavky na klinické zkoušení a vedlejší účinky léčiv začaly být povinně sledovány i po jejich povolení a uvedení na trh.

Léčiva, která se při klinickém zkoušení jeví jako zcela bezpečná, mohou po uvedení na trh a způsobit u některých pacientů závažné zdravotní problémy. Byl proto zvýšen důraz na sledování vedlejších účinků i po uvedení léčiva na trh, **farmakovigilanci**.

Jakmile je léčivo povoleno, dostane se k širšímu okruhu pacientů než při klinických zkouškách. U některých skupin pacientů mohou proto být zjištěny závažné vedlejší účinky, které se předtím neprojevily. Když se ukáže, že jejich příčinou byl nový lék, nařídí autority doplnění údajů o varování, že lék nesmí být v určitých případech předepisován, např. bere-li pacient i další léky. V krajních případech může být dokonce nařízeno jeho stažení z trhu, Někdy stáhnou lék dobrovolně i sami výrobci, aby předešli soudním žalobám a placení odškodného poškozeným.

## Úvod do farmakologie

**Farmakologie** je vědní obor, který se zabývá **interakcemi mezi léčivy a organismem**. Zahrnuje **farmakodynamiku**, která studuje **způsob a míru účinku léčiv na organismus** a **farmakokinetiku**, o níž lze zjednodušeně říci, že zkoumá **působení organismu na léčivo**.



## Farmakodynamika

Podání různých látek vyvolává v organismu určitou **biologickou odezvu**. Tato odezva může být příznivá nebo nežádoucí, míra této odezvy – **účinek** – obvykle závisí na koncentraci látky. Léčiva jsou látkami, u nichž převažuje příznivý účinek, který lze využít v terapii. Účinek léčiva vyvolávají jeho **interakce s určitými cílovými strukturami v organismu**.

Cílovými strukturami léčiv (použitý překlad pro anglické slovo *target* = terč, cíl) jsou nejčastěji různé biomakromolekuly, zejména bílkoviny, převážně ve vlastním, někdy ale i v cizím organismu (patogeny), které řídí nebo alespoň určitým způsobem ovlivňují různé buněčné procesy a jejich projevy. Mohou být na povrchu nebo i uvnitř buněk. V důsledku variability organismů se u různých jedinců může lišit počet biomakromolekul stejného typu i detaily jejich prostorové stavby.

Biochemické procesy v buňkách některých jedinců mohou proto mít abnormální průběh, což se projeví vznikem patologických stavů. Léčiva přitom mohou svými interakcemi s cílovými strukturami ovlivňovat buněčné procesy a tím do určité míry normalizovat patologický stav organismu.

Farmakologové nemají jednotný názor na množství různých cílových struktur léčiv v lidském organismu a v lidských patogenech, což je s ohledem na rozsah výzkumu nových léčiv poněkud překvapivé.

Publikován byl údaj o 14 tisících různých cílových strukturách léčiv, reálnější odhady počtu cílových struktur majících určitý vztah k onemocněním se však pohybují spíše ve stovkách. Na základě rozboru účinku používaných léčiv byl před několika lety určen počet 324 cílových struktur v lidském organismu a patogenech, z toho připadalo na schválená nízkomolekulární léčiva 248 struktur. Obě čísla mezitím narostla, k čemuž přispělo zejména studium lidského genomu.

Důležitými cílovými strukturami jsou buněčné receptory.

V minulosti byl pojem receptor používán pro všechny cílové struktury léčiv. Toto širší chápání pojmu receptor přetrvává v některých učebnicích farmakologie dodnes; zde bude používán v užším významu.



Léčiva mohou interagovat s jednou i více cílovými strukturami.

Schopnost léčiva interagovat s více cílovými strukturami (anglický termín *target promiscuity*) může být výhodná, ale i nežádoucí. Výhodná je v případě některých multifaktoriálních chorob, jako je např. hypertenze, cukrovka 2. typu nebo rakovina, nebo při léčbě některých pacientů trpících několika chorobami. Přitom bývá pacientovi podáváno několik různých léčiv, což může být nepříjemnou komplikací účinné léčby. Jedním z cílů snah farmaceutických chemiků proto může být vývoj vhodných „promiskuitních“ léčiv, která by mohla nahradit několik léčiv dosavadních tím, že budou vhodně modulovat funkci několika cílových struktur současně. Na druhé straně ale bývá ovlivnění různých cílových struktur příčinou závažných nežádoucích účinků léčiva. Pak je třeba hledat selektivněji působící látky, které takové nežádoucí účinky nemají.

Na interakcích léčiva s cílovými strukturami může participovat jedna nebo i více funkčních skupin jeho molekuly. Uplatňují se přitom tyto typy interakcí:

- **Iontové interakce** mezi ionizovanými skupinami s opačnými náboji.  
Tyto interakce jsou velmi silné (20-40 kJ/mol), jejich síla však závisí na pH prostředí, které určuje stupeň ionizace. Iontové interakce se podílejí např. na vazbě některých neurotransmitérů nebo hormonů, např. dopaminu nebo adrenalinu, na jejich receptory. Tyto látky mají v molekule ionizovanou aminoskupinu, která interaguje s ionizovanou karboxylovou skupinou receptoru (např. methylamoniová skupina ionizovaného adrenalinu se váže iontovou vazbou na aspartátový zbytek Asp 113 vazebného místa adrenergních receptorů).
- **Vodíkové vazby (vodíkové můstky)** mezi skupinami s charakterem donorů a akceptorů protonu.  
Vodíkové vazby  $A-H \cdots B$  jsou slabší než vazby iontové (energie 5-20 kJ/mol), přesto jsou pro interakce léčiv s cílovými strukturami velmi důležité. Např. na zmíněných interakcích adrenalinu s adrenergním receptorem se vedle iontové vazby podílejí i vodíkové vazby mezi fenolickými hydroxyly molekuly adrenalinu (donory) a hydroxyly serinových zbytků 204 a 207 receptoru (akceptory).
- **Tzv. halogenové vazby**, tj. interakce mezi atomy halogenů a donory elektronů.  
Halogeny, i když jsou výrazně elektronegativní, mohou mít ve své struktuře místa s elektropozitivním charakterem, tzv. sigma díry. Ukazuje se, že tato kladná místa mohou svými interakcemi s elektronegativními skupinami (zejména kyslíkovými atomy) cílové struktury přispívat ke stabilizaci systému léčivo-cílová struktura a ovlivňovat tak farmakologické vlastnosti léčiva. Příkladem mohou být interakce hormonů štítné žlázy obsahujících jod s donory elektronů v jejich cílové struktuře. Síla halogenových vazeb klesá v řadě  $-J > -Br > -Cl$ , fluor se prakticky na halogenových vazbách nepodílí. Studium halogenových vazeb a jejich významu pro účinnost léčiv je zatím jen v počátku, ale vzhledem k tomu, že až 40% léčiv obsahuje ve své molekule halogeny, může v budoucnosti přispět k navrhování účinnějších léčiv. (Referát o vazbách se  $\sigma$ -dírou - viz: [http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2016\\_05\\_371-375.pdf](http://www.chemicke-listy.cz/docs/full/2016_05_371-375.pdf)).
- **Interakce pól (iont)-dipól a dipól-dipól**  
Interakce léčiv s charakterem dipólů s ionizovanými nebo dipolárními skupinami ve vazebném místě cílové struktury jsou poměrně silné (energie interakcí pól-dipól 8-20 kJ/mol, dipól-dipól 3-15 kJ/mol) a významně ovlivňují účinnost. Pokud ze sterických důvodů nemůže dipolární látka ve vazebném místě zaujmout správnou orientaci, aby dílčí náboje dipólu mohly elektrostaticky interagovat s ionizovanými nebo dipolárními skupinami cílové struktury, její účinnost klesá. Ukázalo se to např. při studiu účinnosti analogu cimetidinu, léčiva proti žaludečním vředům.
- **Van der Waalsovské interakce**  
Změny elektronové hustoty způsobené pohybem elektronů v nepolárních skupinách vedou k tomu, že se přechodně vytváří místa s vyšší a nižší elektronovou hustotou, která můžeme považovat za přechodné dipóly. Přestože mají časově omezenou životnost, umožňují, aby docházelo k van der Waalsovským interakcím mezi místy, kde přechodně vzniká elektronový deficit s místy, kde je elektronová hustota krátkodobě zvýšena. I když jde o relativně slabé interakce (energie 0,5-5 kJ/mol), mají vliv na afinitu léčiv k cílovým strukturám
- **$\pi$ - $\pi$  interakce mezi aromatickými systémy**  
Mezi nekovalentní síly ovlivňující afinitu léčiv k cílovým strukturám patří i přitažlivé interakce mezi aromatickými kruhy s konjugovanými  $\pi$ -elektrony. Uplatňují se při vytváření terciární struktury bílkovin nebo dvojité šroubovice DNA. U některých léčiv se mohou jejich aromatické systémy účastnit  $\pi$ - $\pi$  interakcí s aromatickými jádry fenylalaninu v bílkovinách. Jiným příkladem  $\pi$ - $\pi$  interakcí léčiv je vkládání (interkalace) některých cytostatik s planární aromatickou strukturou mezi báze DNA. Přitom dochází k deformaci dvojité šroubovice, kterou je potlačena replikace i transkripce DNA.
- **Hydrofobní interakce**  
Na interakcích léčiv s cílovými strukturami se mohou podílet nejen jejich polární, ale i nepolární hydrofobní skupiny v molekule. Na rozdíl od jiných interakcí, které jsou charakterizovány entalpickými změnami v systému léčivo – cílová struktura, jsou hnací silou hydrofobních interakcí entropické změny vyvolané změnami struktury vody v okolí hydrofobních skupin. Kapalná voda není zcela homogenní, ale jsou v ní místa se zvýšenou uspořádaností molekul. V okolí hydrofobních skupin je těchto míst více než jinde. Přesný fyzikální popis změn struktury vody při vzájemných interakcích hydrofobních skupin je velmi složitý. Zjednodušeně si však místa se zvýšenou uspořádaností molekul vody můžeme představit jako malé ledovečky obklopující hydrofobní skupiny. Dojde-li ke kontaktu hydrofobních skupin, pak počet ledoveček v systému musí klesnout, protože se do okolí interagujících skupin už nevejdou.

Část jich proto musí „roztát“. Tím se zvýší neuspořádanost systému, takže vzroste jeho entropie. Za příklad hydrofobní interakce může sloužit interakce mezi aromatickým kruhem adrenalinu a fenylovým zbytkem fenylalaninu 290, která se spolu s  $\pi$ - $\pi$  interakcí spolupodílí na vazbě adrenalinu na adrenergický receptor. Jiným příkladem mohou být interakce alkylskupin v molekule léčiva s alifatickými řetězci zbytků valinu, leucinu a isoleucinu v bílkovinách.

### → Kovalentní a koordinační vazby

Většina léčiv se váže na cílové struktury v důsledku nekovalentních interakcí, některá léčiva se však mohou vázat i **kovalentně**. Kovalentní vazby jsou velmi silné, k jejich rozštěpení je zapotřebí značné množství energie (150-600 kJ/mol), takže je lze považovat za ireverzibilní. Při vazbě léčiv na cílové struktury mohou být využity jen výjimečně. Příkladem jsou alkylační cytostatika, která blokují dělení buněk vytvořením ireverzibilní kovalentní vazby při reakci alkylační látky s nukleofilními skupinami guaninu, popř. dalších bází v DNA. Tím je znemožněna transkripce a translace genů. Jiné látky, léčiva nebo i některé polutanty, se mohou kovalentně vázat na skupiny aktivních míst enzymů nebo receptorů a tím je trvale zablokovat. Zvláštní skupinu tvoří léčiva, která se na určitá místa své cílové struktury (nejčastěji kovové ionty v aktivních místech metaloenzymů, ale i nukleofilní skupiny v DNA) váží **koordinační vazbou**

### Cílovými strukturami léčiv mohou být zejména:

- **Receptory.** Jsou to bílkovinné útvary na povrchu nebo i uvnitř buněk, jejichž prostřednictvím jsou buněčné funkce a projevy řízeny prostřednictvím určitých signálních molekul, tzv. chemických posílů, jako jsou neurotransmitéry, hormony, růstové faktory apod.

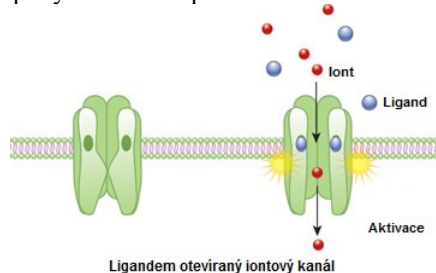
Přenos signálů do buňky může být **endokrinní** (prostřednictvím hormonů sekretovaných endokrinními žlázami a transportovaných krví k cílovým buňkám), **parakrinní** (uvnitř tkáně), **kontaktní** nebo **synaptický** (mezi zakončeními nervových buněk) nebo **autokrinní**, kdy si buňka produkuje signální molekuly pro své receptory sama. Při navázání signální molekuly změní receptor svoji konformaci, což v buňce vyvolá určitou odezvu, kterou často je spuštění kaskády následných enzymatických reakcí přenášejících signál do jádra nebo i jiných buněčných útvarů. Přirozené signální molekuly a látky, které interagují s receptorem stejným způsobem, se nazývají **agonisté**. U některých bílkovinných molekul s charakterem receptorů nemusí být dosud známy látky působící jako přirození agonisté. Takové bílkoviny pak jsou označovány jako **sirotčí receptory** (orphan receptors). Je-li dodatečně jejich agonista objeven, hovoří se pak o „adoptovaném sirotčím receptoru“. **Antagonisté** jsou látky, které se sice mohou na receptor navázat, neaktivují jej však, ale naopak blokují. Přirozená signální molekula pak nemůže s receptorem interagovat a vyvolat odpovídající buněčnou odezvu. Léčiva s účinkem agonistů mohou korigovat poruchy vyvolané nedostatkem přirozené signální molekuly. Naopak, onemocnění vyvolaná nadměrným výskytem signálních molekul nebo receptorů, lze potlačit podáváním antagonisticky působících léčiv. Některá léčiva mohou ovlivňovat více typů nebo podtypů receptorů, antagonistu jednoho receptoru může dokonce být agonistou druhého. Interakce s více receptory může být výhodná, ale někdy může být příčinou vedlejších účinků.

**Receptory na povrchu buněk** přenášejí signály z vnějšího prostředí do buněk. Patří mezi ně:

- **Iontové kanály**, které regulují průchod iontů ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Cl}^-$ ) buněčnou membránou.

Řada procesů v buňce je ovlivňována koncentrací iontů. Ionty nemohou normálně difundovat buněčnou membránou. Ta je tvořena lipidickou dvojvrstvou a vytváří tak pro polární látky nepropustnou bariéru. K tomu, aby se ionty dostaly do buňky nebo z ní ven, slouží iontové kanály. Jsou to jakési "tunely" tvořené soustavou několika bílkovin procházejících napříč buněčnou membránou. Nemohou být trvale otevřeny, protože průchod iontů do buňky a zpět by byl nekontrolovatelný. V buňce by zůstávaly jen ty ionty, které jsou v jejím okolí a koncentrace iontů vnitř a vně buňky by byly stejné. Normálně jsou tedy iontové kanály zavřené a otevírají se, až k tomu dostanou signál.

U **iontových kanálů otevíraných ligandem** se kanál otevře při „nasednutí“ určité regulační molekuly nebo iontu na receptorové místo jedné z bílkovin iontového kanálu. Bílkovina přitom změní konformaci. Dominovým efektem se následně změní konformace dalších bílkovin iontového kanálu. Kanál se přitom otevře, takže určité ionty přes něj mohou procházet. Některá léčiva mohou funkci iontových kanálů ovlivňovat. Např. "Ca blokátory" snižují krevní tlak tím, že blokují otevření iontových kanálů pro vápenaté ionty. Při blokádě klesne koncentrace vápníku v buňkách cévního a srdečního svalstva, což má za následek rozšíření cév a snížení síly potřebné k srdečnímu stahu. Mezi iontové kanály otevírané ligandem většinou patří i synaptické receptory účastníci se přenosu nervového vzruchu.



Jiné **iontové kanály** se otevírají nebo zavírají při změnách elektrostatického potenciálu buněčné membrány (takové kanály mají důležitou úlohu při přenosu nervového vzruchu), další se otevírají působením světla (rhodopsinové kanály) nebo po **mechanickém podráždění** (např. iontové kanály buněk středního ucha).

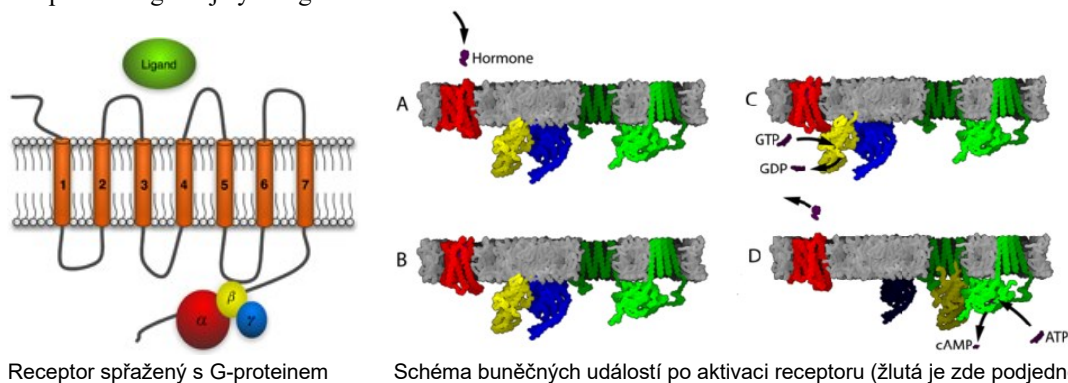
## → Receptory spřažené s G-proteiny

Receptorů spřažené s G-proteiny (GPCR, G-protein-coupled receptors) je velký počet. Podílejí se na smyslovém vnímání, řízení přenosu nervového vzruchu, ovlivňování chování a nálady a na dalších funkcích organismů. Jsou tvořeny bílkovinou, která sedmkrát prochází buněčnou membránou. Detailní struktury nejsou dosud příliš známé, nedávno byla rentgenokrytalograficky zjištěna trojrozměrná struktura teprve druhého receptoru tohoto typu. Vazebné místo pro ligand mají na extracelulární straně, uvnitř buňky mají vazebné místo pro tzv. G-protein. Aktivace receptoru extracelulárními přenašeči signálů vyvolává uvnitř buňky tvorbu "druhých posílů", tj. molekul cyklického adenosin-3',5'-fosfátu (cAMP), inositoltrifosfátu (IP<sub>3</sub>), diacylglycerolu (DG), popř. i dalších látek. Ty pak spouští v buňkách kaskády aktivací reakcí končících signálem k zahájení určitého buněčného procesu. cAMP např. zprostředkovává v buňce přenos signálů od řady extracelulárních nízkomolekulárních látek a peptidických hormonů, např. adrenalinu, histidinu, kortikotropinu (ACTH), IP<sub>3</sub> a DG se podílejí na přenosu signálů vyvolaných interakcí noradrenalinu nebo vasopressinu s jejich receptory, atd.

Přenos signálu z vnějšího prostředí dovnitř do buňky přitom probíhá poměrně složitým způsobem. Po nasednutí signální molekuly na extracelulární část receptoru se změní konformace bílkoviny. Na intracelulární straně se přitom otevře vazebné místo pro G-protein. G-protein je složen ze tří podjednotek  $\alpha$ ,  $\beta$  a  $\gamma$ ; podjednotka  $\alpha$  obsahuje GDP.

Při interakci s receptorem se změní charakter vazebného místa G-proteinu pro GDP. GDP se přitom uvolní a místo něho se naváže GTP. Tím se destabilizuje struktura G-proteinu, který se následně rozpadne. Podjednotka  $\alpha$  s navázaným GTP pak putuje buněčnou membránou, až se dostane k adenylátcyklase a naváže se na tento enzym. Přitom se změní struktura adenylátcyklasy a zpřístupní se její vazebné místo pro ATP. Adenylátcyklasa pak přemění ATP na cAMP. Přitom může katalyzovat přeměnu více molekul, čímž se signál uvnitř buňky zesílí.

Existují i jiné typy G-proteinů: G<sub>i</sub> protein, jehož podjednotka  $\alpha$  naopak adenylátcyklasu deaktivuje nebo G-protein, který aktivuje fosfolipasu C. Ta štěpí fosfatidylinositoldifosfát na inositoltrifosfát (IP<sub>3</sub>) a diacylglycerol (DG), které se v buňce účastní přenosu signálů jinými signalizačními drahami než cAMP.



Dlouhodobá aktivace receptoru agonistou může však vést k jeho **desenzitizaci**. Přitom dochází k fosforylaci serinových a threoninových zbytků v třetí cytoplasmatické smyčce receptoru. Na fosforylovanou smyčku se pak váže bílkovina  $\beta$ -arrestin. Vazba arrestinu vyvolá změnu aktivní konformace receptoru na inaktivní s uzavřeným vazebným místem pro G-protein. K přenosu signálu pak už nedochází. Desenzitizace receptoru je reverzibilní.

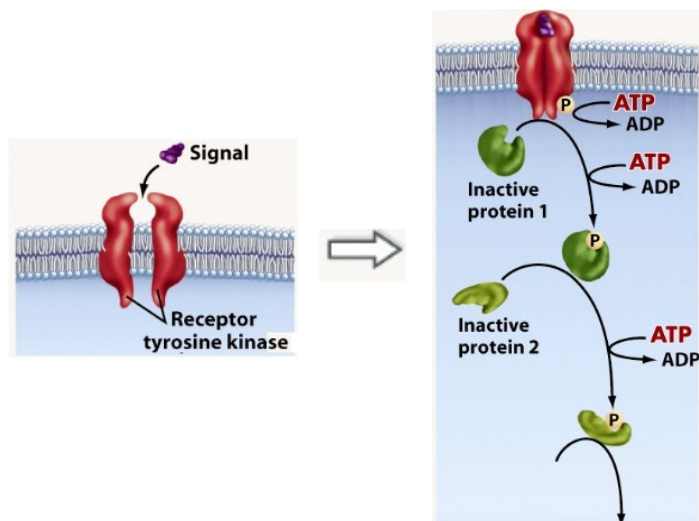
**Při řadě onemocnění dochází k narušení přenosu signálů prostřednictvím receptorů spřažených s G-proteiny. GPCR jsou proto cílovou strukturou řady důležitých léčiv z nejrůznějších terapeutických skupin.**

Patří mezi ně zejména léčiva určená k léčbě poruch centrálního nervového systému, ale i řada jiných léků, např. ranitidin používaný v terapii žaludečních vředů, léky proti hypertenzi losartan a valsartan, goserelin a další protinádorově působící analoga hormonu gonadoliberinu, apod. Ze seznamu 200 nejprodávanějších léků patří mezi léky zacílené na GPCR asi třetina. V r. 2012 obdrželi za výzkum receptorů spřažených s G-proteiny Nobelovu cenu za chemii Robert Lefkowitz a Brian Kobilka. Téměř 20 let před Lefkowitzem a Kobilkou, v r. 1994, byla Nobelova cena za fyziologii a medicínu udělena M. Rodbellovi a A.G. Gillmanovi, kteří objevili způsob iniciace kaskády reakcí při buněčné signalizaci s účastí GTP a G-proteinů a v r. 1971 obdržel Nobelovu cenu E.W.Sutherland Jr. za objev cAMP a jeho role.

## → Extracelulární receptory s katalytickou aktivitou

Do této skupiny patří obvykle bílkoviny s extracelulární doménou pro vazbu ligandu, řetězcem hydrofobních aminokyselin procházejícím jen jedenkrát buněčnou membránou a vnitrobuněčnou funkční doménou s katalytickou funkcí nebo místem pro aktivující interakci s enzymy. Důležitou rodinu těchto receptorů tvoří **receptory s tyrosinkinásou aktivitou**. Molekula agonisty se naváže na vazebné místo dvou receptorových bílkovin, přičemž dojde k jejich propojení, heterodimerizaci. Přitom se změní struktura bílkovinných řetězců a otevře se aktivní místo enzymu. Tyrosinkinasa receptoru pak začne katalyzovat fosforylaci intracelulárních bílkovin na fenolickém hydroxyly tyrosinu. Tím jsou tyto bílkoviny aktivovány a mohou zahájit kaskádu různých vnitrobuněčných procesů, jimiž jsou v buňce přenášeny různé signály, především k růstu a dělení buňky.





### Receptory s tyrosinkinasovou aktivitou

Signální molekula (např. růstový faktor) interaguje s extracelulární částí receptoru. Přitom dojde k dimerizaci receptoru a současně se změní konformace receptorové bílkoviny. Díky této změně mohou být hydroxylové skupiny tyrosinu na intracelulární části receptoru fosforylovány. Fosforylace je kinasa aktivována a katalyzuje fosforylaci dalších bílkovin v buňce. Kaskádou fosforylačních aktivačních reakcí je pak až do buněčného jádra předáván signál k dělení buňky nebo jiným projevům buňky. Předání signálu lze zabránit několika způsoby (využívanými v protinádorové terapii):

Vně buňky (pomocí protilátek):

- Vyvázáním ("neutralizací") signální molekuly, která pak nemůže interagovat s receptorem

- Zábránou dimerizace

- Obsazením vazebného místa receptoru

- Uvnitř buňky (malé lipofilní molekuly)

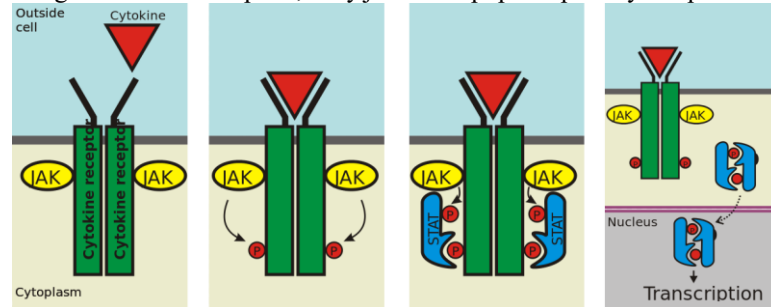
- Inhibicí tyrosinkinasy receptoru

V nádorech dochází k poruchám regulace růstu buněk zapříčiněných buď nadměrnou expresí růstových faktorů, popř. jejich receptorů, nebo mutacemi které vedou k trvalé aktivaci tyrosinkinasy receptoru. Výsledkem je nekontrolované dělení a růst nádorových buněk. Agonisty tyrosinkinasy receptorů, podobně jako i dalších receptorů s katalytickou aktivitou, jsou vesměs malé bílkoviny nebo peptidy, např. peptidický hormon insulin nebo růstové faktory. Pozornost je přitom věnována zejména receptorům pro vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF) a pro epidermální růstový faktor (EGF). VEGF aktivuje prostřednictvím kinasy spřažené s receptorem (VEGFR) buněčné bílkoviny podílející se na angiogenezi, tj. růstu a dělení buněk, které vytváří cévy zásobující rostoucí nádor živinami. Zabránil-li se interakci VEGF s VEGFR, zastaví se růst nových cév a tedy i přísun živin potřebných pro růst nádoru. Antiangiogenní látky přitom nádorové buňky přímo nelikvidují, ale tím, že zastaví jejich množení a růst, mohou zlepšit vyhlídky likvidace nádoru vlastním imunitním systémem organismu a/nebo chemoterapií. Látky, které brání interakci růstových faktorů s receptorem nebo inhibují tyrosinkinasy receptorů proto jsou důležitými protinádorovými léčivy. K léčivům, která takto působí, patří např. protilátky proti receptorům. Problémem přitom je existence více typů VEGF (5 typů) i VEGFR (3 typy). Přesto je takto zacílená terapie úspěšná. Příkladem uplatnění protilátky v protinádorové terapii může být trastuzumab, (Herceptin), protilátka proti VEGFR2 (označovanému také HER2), který je nadměrně exprimován v asi 30% nádorů prsu.

Kromě tyrosinkinasy jsou s receptory s katalytickou aktivitou spřažené i **serin-threoninové kinyasy**. V tomto případě dochází k fosforylaci na hydroxylových skupinách aminokyseliny serinu nebo threoninu. Podobně jako u tyrosinkinasy spouští tato fosforylace kaskádu signalizačních reakcí, které mají významnou úlohu při regulaci buněčné proliferace, diferenciace a embryonálního vývoje, jakož i programované buněčné smrti (apoptózy). Do rodiny serin-threoninových kinas patří např. MAPK, mitogeny (látkami spouštěcími buněčné dělení – mitózu) aktivovaná proteinkinasa, nebo proteinkinasa B, označovaná také jako AKT kinasa. Agonisty receptorů těchto kinas jsou např. transformující růstové faktory  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) regulující vývoj a diferenciaci kmenových a imunitních buněk a morfogenezi kostí. Poruchy regulace serin-threoninových proteinkinasy proto mohou způsobit abnormální vývoj kostí, kardiovaskulární a autoimunitní onemocnění nebo rakovinu. Látky, které tuto regulaci obnovují, jsou proto důležitými léčivy. Do rodiny receptorů s katalytickou aktivitou dále patří i **receptorové tyrosinfosforylasy**, jež jsou spíše než specifickými ligandy aktivovány kontaktem tkáňových buněk. Na rozdíl od tyrosinkinasy fosfátové skupiny z tyrosinových zbytků bílkovin odštěpují, čímž zastavují přenos signálů k buněčnému dělení a tím ovlivňují velikost a tvar tkání. Dále mezi ně patří malá skupina **receptorů pro natriuretické peptidy** s guanylylcyklasovou aktivitou, které po aktivaci převádějí guanosin-5'-trifosfát (GTP) na guanosin-3',5'-cyklofosfát (cGMP), signální molekulu, která mimo jiné řídí vylučování sodných iontů v ledvinách a **integriny**, které navázáním na extracelulární matici nebo na sousedící buňky zajišťují integritu tkání. Jejich interakce s ligandem spouští signalizační kaskádu ovlivňující genovou expresi, růst a dělení buněk, buněčnou migraci a buněčnou smrt – apoptózu. Tři rodiny receptorů s katalytickou aktivitou, mezi nimiž neexistuje žádná ostrá hranice, se podílejí na funkcích imunitního systému organismu. Jsou to **receptory rozeznávající vzory podoby** (pattern recognition receptors), **cytokinové receptory** (interleukinové, interferonové receptory a receptory pro faktor nekrózy nádorů) a **receptory imunitních kontrolních bodů** (immunity checkpoint receptors), které se v poslední době dostaly do popředí zájmu.

**Receptory rozeznávající vzory podoby** (PRR, Pattern Recognition Receptors) se podílejí na imunitní odezvě organismu vůči patogenním agens. Jejich interakce s ligandy, kterými jsou molekuly spojené s patogeny (PAMP, Pathogen-Associated Molecular Patterns), různé cizorodé bílkoviny a peptidy, cukry, peptidoglykany, lipoproteiny, lipopolysacharidy a nukleové kyseliny bakterií a virů, ovlivňuje transkripci genů. To pak má za následek zvýšenou expresi genů pro cytokiny a aktivaci buněčných enzymů podílejících se na destrukci patogenních agens nebo jimi napadených buněk.

Cytokiny jsou malé bílkoviny produkované buňkami imunitního systému i některými dalšími buňkami. Svými interakcemi s příslušnými receptory mohou vyvolávat rychlý růst a dělení buněk účastnících se imunitní obrany proti patogenům, některé z nich mohou účinek jiných cytokinů zvyšovat nebo naopak brzdít. Faktory nekrózy nádorů TNF ovlivňují prostřednictvím svých receptorů zejména buněčnou smrt (apoptózu) a zánětlivé reakce. Některé cytokinové receptory (receptory pro interleukiny, interferony a růstové faktory) po interakci s ligandem na extracelulární části změní svoji konformaci, což umožní navázání Janusovy kinasy (JAK) na nitrobuněčnou část receptoru. Sprážená kinasa pak fosforyluje komplex přenašečů signálu a aktivátorů transkripce STAT (Signal Transducers and Activators of Transcription), který pak v buněčném jádře řídí prepis genů. U některých cytokinových receptorů („chemokinové“ receptory) je ale tyrosinkinasaová doména přímo integrální součástí receptoru, který je v tomto případě sprážený s G-proteinem.

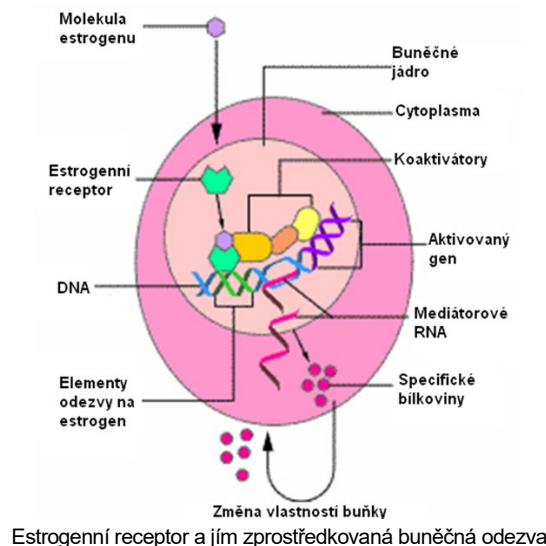


Klíčové stupně JAK-STAT signalizační dráhy dvou podtypů cytokinových receptorů (podle Wikipedie)

Důležité buňky imunitního systému, cytotoxické T-lymfocyty, mají na svém povrchu receptory, které slouží jako „imunitní kontrolní body“. Jejich interakcemi s příslušnými ligandy může být imunitní systém aktivován nebo naopak deaktivován. Při trvalém působení patogenů, k němuž dochází při chronických infekcích, mohou být imunitní buňky „vyčerpány“. Přitom ztrácejí svoji funkčnost – schopnost produkovat cytokiny, množit se, vytvářet generace paměťových imunitních buněk a zejména pak schopnost likvidovat eliminovat viry napadené nebo rakovinné buňky. „Vyčerpání“ je spojeno s nárůstem počtu inhibujících receptorů na povrchu cytotoxických T-lymfocytů.

Blokování těchto receptorů nebo jejich ligandů může cytotoxické funkce imunitních buněk obnovit. Protinádorová léčiva, studovaná jsou i při léčbě chronických virových onemocnění způsobených viry žloutenky a HIV.

→ **Nitrobuněčné (intracelulární) receptory.** Reagují na signální molekuly, které díky svému lipofilnímu charakteru mohou pronikat přes buněčnou membránu, nebo které si buňky vytvářejí samy. Jejich ligandy jsou steroidy, hormony štítné žlázy, retinoidy a eikosanoidy (thromboxany a prostaglandiny),.



Estrogenní receptor a jím zprostředkovaná buněčná odezva

Intracelulárními receptory jsou např. estrogenní receptory v buňkách některých ženských tkání, jako je prs nebo děloha. Vyskytují se tam v jádrech buněk ve formě komplexu s jiným proteinem. Když dojde k interakci receptoru s ženským pohlavním hormonem estrogenem, komplex se rozštěpí. Uvolněný receptor dimerizuje a dimer s navázaným estrogenem pak interaguje s aktivátory procesu transkripce genů regulujících růst a dělení buněk. Tím je ovlivňován vývoj ženského organismu i jeho funkce. Estrogeny ale také mohou podporovat růst buněk některých nádorů prsu a ženských pohlavních orgánů. Látky blokující estrogenní receptory (tamoxifen, toremifen) jsou proto používány jako protinádorová léčiva.

- ▶ **Přirozené signální molekuly.** Cílovou strukturou léčiv mohou být vedle receptorů i jejich přirození agonisté. Jak bylo ukázáno, blokáda receptorů znemožní přenos signálu z vnějšího prostředí do buňky. Buňka pak na vnější signál nereaguje. Stejný efekt mohou však mít i různé látky, které se mohou navázat na signální molekulu a tím zabránit její interakci s receptorem.

Důležitá je zejména „neutralizace“ mitogenních látek, které dávají buňce signál k buněčnému dělení, mitose. Mitogenní účinnost mají již zmíněné **růstové faktory**, dále pak některé **cytokiny** nebo **hormony** i **některé nízkomolekulární látky**. Jako léčiva vážící se na signální molekuly polypeptidického charakteru a tím blokující přenos signálu se v posledních letech uplatnily především některé protilátky. Bevacizumab, protilátka proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru VEGF, se používá v protinádorové terapii. Jiné protilátky, ale i fúzní bílkoviny nebo rozpustné bílkoviny napodobující strukturu extracelulárních receptorů jsou vyvíjeny pro léčbu zánětlivých autoimunitních onemocnění způsobených produkcí nadměrného množství cytokinu TNF $\alpha$ .

- ▶ **Enzymy.** Léčiva, jejichž cílovou strukturou jsou enzymy, které katalyzují metabolické přeměny v organismu, působí tak, že enzymy buď inhibují, nebo naopak aktivují.

Enzymy působí tak, že se do jejich aktivního místa naváže substrát, který je pak reakcí katalyzovanou enzymem přeměněn na produkt. Ten je z aktivního místa uvolněn. Při vazbě substrátu do aktivního místa se uplatňují různé typy nekovalentních interakcí, jako jsou iontové nebo vodíkové vazby, interakce dipól-dipól nebo van der Waalsovy síly. Aby enzymová reakce mohla proběhnout, musí charakter aktivního místa umožnit dostatečně pevnou vazbu substrátu, avšak poměrně slabou vazbu produktu. Jinak by aktivní místo zůstalo zablokované produktem. Aktivní místo nemusí mít vždy ideální tvar pro substrát, často při interakci se substrátem dochází k indukované konformační změně. Při ní se tvar aktivního místa změní tak, aby nekovalentní vazebné síly byly maximální možnou měrou využity pro vazbu substrátu.

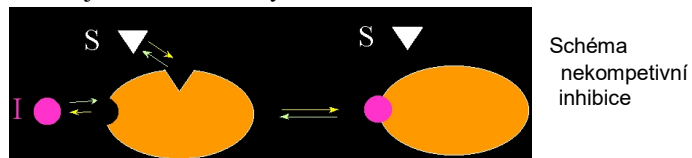
### Léčiva ovlivňující aktivitu enzymů lze podle mechanismu účinku rozdělit na:

- **Kompetitivní inhibitory**, které soutěží s přirozeným substrátem o aktivní místo enzymu.

Čím větší je koncentrace inhibitoru, tím více aktivních míst je obsazeno a tím menší množství substrátu se může přeměnit na normální produkt. Enzymové inhibitory tak brání přirozeným metabolickým přeměnám probíhajícím v organismu. Nazývají se proto také antimetabolity.

- **Nekompetitivní inhibitory**, které se neváží v aktivním místě, ale na jiném místě enzymové molekuly, tzv. **alosterickém** místě.

Při vazbě nekompetitivního inhibitoru do alosterického místa dochází ke změně tvaru celé molekuly enzymu, tedy i aktivního místa. Substrát pak je vázán slaběji nebo nemůže být navázán vůbec.



Kompetitivní i nekompetitivní inhibitory mohou být **reverzibilní** nebo **ireverzibilní**.

Reverzibilní inhibitory jsou vázány poměrně slabě, takže mohou být z vazby na enzym vytěsněny, v případě kompetitivní inhibice přirozeným substrátem. Vazba ireverzibilních inhibitorů je naopak velmi pevná, někdy může jít i o vazbu kovalentní. Nemohou proto být z vazebného místa vytěsněny, takže blokuji aktivitu enzymu trvale.

- **Aktivátory enzymů** jsou látky, které naopak reakci enzymu se substrátem podporují

Aktivátory působí tak, že zlepšují podmínky pro přeměnu substrátu na produkt tím, že příznivě ovlivňují prostorové uspořádání aktivního centra enzymu. Dochází k tomu zpravidla při konformační změně způsobené vazbou aktivátoru do alosterického místa enzymu. Podobně jako inhibitory, mohou i aktivátory enzymů být reverzibilní nebo ireverzibilní. Aktivace může být i nepřímá, prostřednictvím jiných enzymů. Ty mohou aktivovat první enzym buď kovalentním navázáním vhodné skupiny, nejčastěji fosfátové (proteinkinasy) do alosterického centra nebo naopak odštěpením části molekuly, jejíž přítomnost průběh enzymatické reakce blokuje (patří sem např. přeměna neaktivních zymogenů na aktivní enzym, např. trypsinogenu na trypsin).

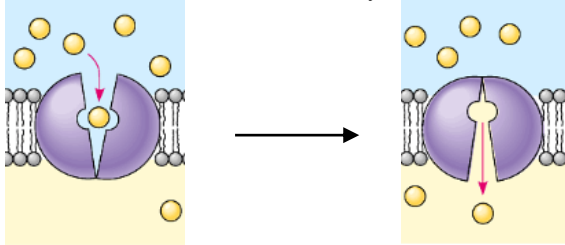
Léčiva ovlivňující aktivitu enzymů mají v terapii velmi důležité postavení.

Např. statiny, léčiva snižující hladinu cholesterolu v organismu, jsou inhibitory 3-hydroxy-3-methylglutaryl-koenzymu A (HMG-CoA) reduktázy, klíčového enzymu biosyntézy cholesterolu.

Léky proti bolesti, jako je např. ibuprofen, inhibují enzym cyklooxygenasu. Mezi nově zaváděné inhibitory enzymů patří cíleně směřovaná protinádorová léčiva, jako je imatinib, gefitinib, erlotinib, sunitinib, lapatinib apod. Koncovka –tinib přitom označuje inhibitory, které blokují tyrosinkinasy receptorů pro EGF nebo VEGF. Příkladem enzymového aktivátoru je oxid dusnatý, který aktivací guanylátcyklasy rozšiřuje cévy a tím snižuje krevní tlak. Důležitý je jeho účinek zejména na věnčité tepny zásobující srdce krví. Donorem NO je nitroglycerin používaný pacienty s anginou pectoris. Jiným příkladem aktivátoru může být sildenafil (Viagra).

- **Bílkovinné přenašeče (transportéry).** Jsou to transmembránové proteiny umožňující, aby se do buňky dostávaly různé látky, které jsou natolik hydrofilní, že nemohou pronikat normálními difuzními procesy přes buněčnou membránu tvořenou lipidickou dvouvrstvou.

Bílkovinné přenašeče procházející přes buněčnou stěnu mají lipofilní povrch a otevřenou hydrofilní dutinu. Do dutiny mohou vstupovat hydrofilní molekuly polárních látek, jakými jsou aminokyseliny, nukleotidy, nebo některé neurotransmitéry, např. adrenalin nebo dopamin. Přitom dojde ke změně konformace bílkoviny, vstup do dutiny se uzavře a naopak se otevře výstupní otvor na druhé straně buněčné membrány. Tím je přenášená molekula z dutiny uvolněna.



Schematické znázornění funkce bílkovinného přenašeče

Některé látky mohou dutiny přenašečů zablokovat, takže pak do buňky se nedostane běžně transportovaná látka. Působí tak některá léčiva onemocnění centrálního nervového systému, např. tricyklická antidepresiva, ale i drogy. Jestliže např. přenašeče adrenalinu obsadí amfetamin, pak na povrchu nervových buněk bude adrenalinu přebytek, protože nemůže být "stažen" zpět do buňky. Přebytečný adrenalin interaguje s více receptory než normálně, čímž se zvyšuje nervová aktivita. Některá jiná léčiva bílkovinné ovšem přenašeče neblokují, ale využívají je jako "černí pasažéři" k proniknutí do buněk (např. antiparkinsonikum DOPA se tak dostává do buněk místo dopaminu).

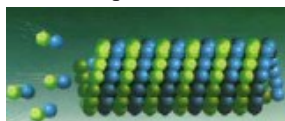
Transport molekul ven z buněk zajišťuje jiný typ bílkovinných přenašečů.

Jejich důležitou skupinou jsou tzv. ABC přenašeče (ATP-Binding Cassette transporter), které transportují molekuly léčiv ven z buněk i proti koncentračnímu gradientu. K tomu získávají energii z ATP. Patří mezi ně např. MRP1 (Multi-drug Resistance Protein 1), BCRP (Breast Cancer Resistance Protein) nebo P-gp1 (P-glykoprotein 1).

Tyto přenašeče způsobují mnohočetnou lékovou rezistenci (MDR, **M**ulti**D**rug **R**esistance). Ta se může vyvinout např. u některých nádorů, kde pak způsobí selhání chemoterapie. Látky blokující aktivitu ABC přenašečů proto zlepšují účinnost chemoterapie nádorových onemocnění. Patří mezi ně např. deriváty cyklosporinu, léčiva používaného při transplantacích, nebo kardiovaskulárního léčiva verapamilu. Mechanismus jejich účinku zatím není dostatečně prozkoumán, některé z těchto látek ovlivňují hladinu glutathionu, který se na transportu léčiv z buněk podílí.

- **Strukturní bílkoviny** vytvářející vnější a vnitřní strukturu buněk a tkání. Patří mezi ně např. aktin, kolagen a keratin. Cílovou strukturou několika protinádorových léčiv je **tubulin**

Tubulin je bílkovina, která uvnitř buňky polymeruje za vzniku miniaturních trubiček - mikrotubulů. Ty jsou zodpovědné za integritu buněk a mobilitu struktur v buňkách - např. při dělení buněk vytváří "mitotické vřetánko" které se primárně podílí na rozdělení chromosomů a tím i na dělení buněk. Po rozdělení buňky mikrotubuly depolymerují. Zablokování polymerace tubulinu (alkaloidy *Vinca*) nebo depolymerace mikrotubulů (paklitaxel) blokuje dělení buněk. Léky působící na mikrotubuly se proto používají v protinádorové terapii.



- **Nukleové kyseliny** jsou důležitou cílovou strukturou **léčiv nádorových a autoimunitních onemocnění**. Patří mezi ně látky, které na nukleové kyseliny působí různými mechanismy. Jsou to:

→ **Alkylační činidla** – alkylací je narušena normální funkce DNA a tedy i dělení buněk.

Alkylační činidla reagují s nukleofilními skupinami molekuly DNA, nejčastěji s dusíkem v poloze 7 guaninu. Monoalkylovaná DNA snáze podléhá mutacím. Při alkylaci bifunkčními nebo trifunkčními alkylačními činidly a DNA dochází k zesítnění – propojení bází buď na stejném řetězci dvojité spirály DNA (intrastrand cross-linking) nebo na obou řetězcích (interstrand cross-linking). Podobě působí platinová cytostatika, která však nepropojuje báze DNA kovalentní, ale koordinační vazbou s atomem platiny. Bifunkční alkylující látky propojují spíše báze komplementárních řetězců, platinové deriváty reagují přednostně se sousedícími guaniny jednoho řetězce. Zesítnění brání replikaci i transkripci.

→ **Interkalační látky** - se "vmezeřují" mezi páry bází v řetězcích DNA.

Interkalační látky mají planární molekulu, jinak by nemohly proniknout mezi báze. Mají aromatický charakter a zpravidla jsou poměrně hydrofobní. Jejich antimikrobní a protinádorová účinnost je vysvětlována tím, že svým proniknutím mezi báze deformují dvojitou šroubovici DNA a tím brání její replikaci a inhibují působení enzymu topoisomerasy II, enzymu, který řídí prostorové uspořádání DNA. Mezi interkalační látky patří např. anthracyklinová protinádorová antibiotika, jako je široce používaný doxorubicin.

Do této skupiny patří i planární sloučeniny interagující s „G-kvadruplety“ na konci telomer.



Telomery jsou zvláštní struktury na konci chromosomů, které obsahují mnohonásobně se opakující sekvence nukleotidů bohaté na guanin. Při každém buněčném dělení se konce telomer zkracují, zkrácení pod minimální délku dává signál k buněčné smrti – apoptose. Telomery tak působí jako určité biologické hodiny.

Zároveň, ale i nádorové buňky obsahují aktivní formu enzymu telomerasy, který koncové struktury telomer prodlužuje, takže ke zkrácení nedochází. V normálních buňkách dospělého organismu je telomerasa inaktivní. Předpokládá se proto, že inhibice telomerasy by mohla zastavit dělení nádorových buněk a inhibitory telomerasy jsou proto intenzivně studovány jako potenciální protinádorové léky. Účinek telomerasy lze však zablokovat i jiným mechanismem. Oligonukleotidové sekvence bohaté na guanin vytváří na konci telomer zvláštní struktury se čtyřmi paralelními řetězci oligonukleotidů, tzv. G-kvadruplety. Tyto struktury je třeba rozrušit, aby telomerasa mohla řetězce prodloužit. Potenciálním protinádorovými léčivy proto mohou být i takové látky, které G-kvadruplety nerozvolňují, ale naopak stabilizují. Tyto látky mají planární strukturu podobně jako běžné interkalátory, tato struktura je však rozsáhlejší. Inhibují topoisomerasu II a s kvadruplexy interagují silněji než se zdvojenými řetězci standardní DNA.

→ Látky přerušující řetězce DNA se váží do malého žlábků dvojité spirály DNA, kde pak rozštěpí řetězce nukleotidů, obvykle radikálovým mechanismem.

Do této skupiny patří endiyny, zajímavé látky s konjugovanými trojnými vazbami produkované mikroorganismy, které mají výrazný protinádorový účinek (kalicheamycin, neokarzinostatin). Jejich endiynové seskupení cykloaromatizuje na aromatický biradikál, který se stabilizuje odštěpením dvou vodíků z DNA. Přitom vzniká biradikál v molekule DNA, jehož reakce s kyslíkem vede k rozštěpení nukleotidového řetězce. Pro malou specifitu a nepříznivé vedlejší účinky je však uplatnění endiynů zatím jen omezené.



Alkylace DNA (monoalkylace, propojení 2 bází komplementárních řetězců, 2 bází na jednom řetězci)

Schematické znázornění interkalace

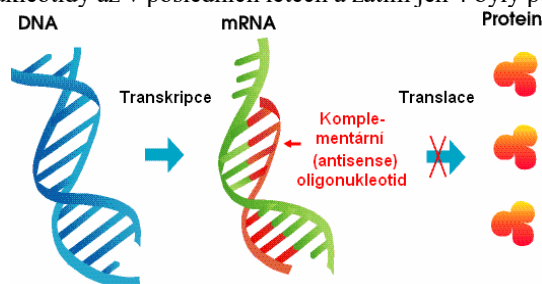
Přerušování řetězců DNA

→ Látky narušující mechanismy opravy poškozené DNA

Cílovou strukturou těchto látek jsou sice reparační enzymy, přesto se jeví jako účelné je zmínit i v tomto odstavci. Působením vnějších faktorů, jakými je např. záření nebo působení alkylujících látek a radikálů, ale i v průběhu replikace často dochází k narušení DNA. Aby byl zajištěn nenarušený přenos genetické informace na další generace, mají buňky vyvinutý mechanismus odezvy na poškození DNA (DNA Damage Response, DDR), který zahrnuje zjišťování poruch DNA a jejich opravu. Pokud se oprava poškozené DNA nezdaří, pak dochází k buněčné smrti, apoptóze. Je-li přenášena nežádoucí genetická informace mutovaného genu, která může být příčinou nádorového bujení, pak je naopak účelné opravu DNA zablokovat. Např. u nositelů mutací genů *BRCA1* a *BRCA2*, které jsou odpovědné za některé nádory prsu, se využívá „syntetická letalita“, zablokování mechanismu reparace jednořetězcových zlomů DNA poly(ADP-ribosa) polymerasou (PARP). Inhibitory PARP, jako je olaparib a další „-pariby“, zabrání opravě, což pak při replikaci vede k dvouřetězcovým zlomům DNA, které vyvolají apoptózu nádorových buněk.

→ Komplementární („antisense“) oligonukleotidy jsou řetězce nukleotidů vytvářející sekvenci, která odpovídá sekvenci ve vybraném úseku m-RNA a může se tedy na něj vázat na základě párování bází. Tím je zablokován přepis m-RNA na bílkovinu.

Komplementární oligonukleotidy nabízí vysoce specifický účinek v přerušení exprese některých genů (např. "onkogenů") na jejich bílkovinné produkty. Studovány jsou již od 70. let, jejich využití v terapii však naráží na řadu problémů se stabilitou a přípravou, které jsou postupně řešeny. Do klinického zkoušení se dostaly první komplementární oligonukleotidy až v posledních letech a zatím jen 4 byly povoleny pro použití v terapii.



Za specifický druh komplementárních oligonukleotidů lze považovat **malé interferující ribonukleové kyseliny, siRNA a mikroRNA, miRNA**. Jsou to přirozené oligoribonukleotidy, které mají důležitou úlohu v regulaci buněčných procesů. Jejich účinkem, který je souhrnně nazýván RNA interference, je „umlčení“ genů (gene silencing).

siRNA jsou tvořeny krátkými zdvojenými řetězci RNA s 21-25 nukleotidy, miRNA jsou jednořetězcové. Oba typy mohou způsobit postranlační umlčení genů, tj. zablokovat přepis mRNA na odpovídající bílkovinu. Ruší tak funkci genu, aniž by přitom došlo k jeho poškození. siRNA asociují s nukleasovým komplexem nazvaným RISC (RNA-induced silencing complex) a tím jej nasměrují k m-RNA s komplementární sekvencí. RISC potom část m-RNA rozštěpí. Zbytek molekuly se pak stane vysoce náchylný k další degradaci a rozpadne se. miRNA rovněž blokuje translaci mRNA, nemusí však vyvolávat její štěpení. Při některých onemocněních může docházet k nadměrné produkci určitých typů miRNA. Zatímco siRNA mohou být využity přímo jako léčiva, miRNA se proto spíše stávají cílovou strukturou jiných léčiv, tzv. **antagomirů**, které miRNA blokuje. První informace o umlčení genů malými interferujícími RNA byly publikovány teprve v r. 1998. Přesto nyní už značně pokročila řada projektů zaměřených na potenciální využití RNA interferencí v léčbě virových a nádorových onemocnění, onemocnění srdce, genové terapii apod.

Poznání různých typů RNA, které nekódují bílkoviny, ale mohou regulovat procesy translace a/nebo i transkripce, se v posledních letech rychle rozšiřuje. Perspektivně se cílovou skupinou léčiv mohou např. stát **dlouhé nekódující RNA** (lncRNA – long non-coding RNA). Jsou to ribonukleové kyseliny tvořené 100-200 nukleotidy. Dlouhé nekódující RNA se patrně podílejí – zatím jen nedostatečně známým způsobem – na regulaci transkripce genů, např. na tom, že v organismu potomků jsou exprimovány geny pouze z jedné rodičovské alely. Jejich funkce, které jsou v současné době intenzivně studovány, ale mohou být mnohem rozmanitější.

→ **Látky interagující s ribosomální RNA** - blokuje biosyntézu bílkovin v ribosomech.

Ribosomální RNA je cílovou strukturou účinku některých antibiotik, jako je streptomycin, tetracykliny nebo chloramfenikol. Tyto látky inhibují pohyb ribosomu podél mRNA a blokuje přenos rostoucího polypeptidového řetězce z jednoho zbytku tRNA na druhý.

- ▶ **Lipidy** jsou základní složkou buněčných membrán. Membrány jsou tvořeny dvěma vrstvami fosfolipidů uspořádanými tak, že na jejich povrchu jsou skupiny hydrofilní, uvnitř hydrofobní. Dvojvrstva fosfolipidů představuje bariéru mezi vnějším a vnitřním prostředím buňky, která brání průchodu vody, iontů a polárních molekul a umožňuje, aby koncentrace těchto látek uvnitř a vně buněk byla odlišná. Změny v buněčné membráně ovlivňují vnitřní prostředí buňky a tím i její projevy.

Předpokládá se, že inhalační anestetika působí tak, že zvyšují fluiditu buněčných membrán a tím narušují přenos signálů, především nervového vzruchu, do buňky. Některá antibiotika a antimykotika vytvářejí spirálové struktury procházející buněčnou membránou. Ty pak fungují jako kanálky pro průchod iontů a polárních molekul membránou. Jiná antibiotika přímo slouží jako přenašeče iontů přes buněčnou membránu. Vankomycin - antibiotikum používané jako poslední šance v těch případech, kdy jiná antibiotika selhávají, atakuje bakteriální přenašeče lipidů (přesněji stavebních bloků buněčných membrán sestávajících z lipidické, disacharidické a peptidické složky). Tím blokuje výstavbu buněčných stěn rezistentních bakterií, která je nezbytným předpokladem pro jejich růst a množení.

- ▶ **Sacharidy (glykokonjugáty) na povrchu buněk**. Konjugáty sacharidů s proteiny nebo lipidy zakotvené v buněčné membráně mají velký význam pro vzájemné rozpoznávání a komunikaci buněk. Jsou rovněž důležité pro vzájemnou adhezi buněk mezi sebou v tkáních.

Na povrchu nádorových buněk jsou některé specifické glykoproteiny, které jsou považovány za nádorové antigeny. Protilátky proti těmto antigenům mohou být využity k přípravě tzv. cíleně směřovaných protinádorových léčiv. Konjugát léčiva s protilátkou zařídí, aby léčivo bylo přivedeno přímo k nádorové buňce. Glykoproteiny povrchu buněčných stěn hrají velkou roli i v mechanismech virové nebo bakteriální infekce. Virus nebo bakterie rozpoznají určitou glykoproteinovou strukturu na povrchu hostitelské buňky, adherují k ní a tím nastartují proces infekce. Zablokování procesu rozpoznání nebo adheze může zabránit infekci. V poslední době se tímto směrem ubírá např. výzkum nových léků proti HIV. Látky, které blokuje interakce selektinů, glykoproteinů buněčných membrán cévní výstelky, s povrchovými sacharidy bílých krvinek, mohou být novými protizánětlivými léky, jiné látky interagující s glykoproteiny zprostředkujícími buněčnou adhezi mohou být použity jako léky proti nadměrné srážlivosti krve, ale i jako nové antikoncepční přípravky. Interakce glykokonjugátů povrchu buněk hrají velkou roli i při alergických a autoimunitních onemocněních.

- ▶ **Volné molekuly a ionty**.

Některá léčiva mohou interagovat s molekulami a ionty, které se mohou volně vyskytovat v tělních tekutinách a jejichž nadbytek může být příčinou různých poruch. Patří mezi ně např. cholestyramin, iontoměníč, který vychytává ze zažívacího traktu žlučové kyseliny a tím vlastně snižuje i množství cholesterolu, z něhož žlučové kyseliny vznikají. S kovovými ionty interagují chelatující látky jako je desferal a podobná léčiva snižující zátěž organismu nadměrným množstvím železa, která může způsobit narušení funkce jater a zapříčinit i nadměrný vznik škodlivých kyslíkatých radikálů Fentonovou reakcí. Chelatující látky se také používají jako antidota při otravách těžkými kovy.

V této kapitole se lze zmínit o cílových strukturách léčiv jen velmi stručně. Podrobnější informace jsou v různých učebnicích farmakologie (např. na <http://watcut.uwaterloo.ca/webnotes/Pharmacology/downloads/pharma-book.pdf> lze takovou učebnici zdarma stáhnout). Přehled cílových struktur léčiv a jejich charakteristik lze nalézt i na portálu Mezinárodní unie základní a klinické farmakologie IUPHAR Guide to Pharmacology: <http://www.guidetopharmacology.org/targets.jsp>

## Afinita léčiva k cílové struktuře, účinnost a potence léčiv

Vysokomolekulární cílové struktury mohou mít v důsledku variability genetické výbavy větší či menší rozdíly ve stavbě molekuly, které se pak mohou projevit v individuálních rozdílech v účinku různých léčiv. Individuální rozdíly ve struktuře genů kódujících stejný bílkovinný produkt způsobené zděděnými nebo nově vzniklými mutacemi jsou nazývány **genový polymorfismus**.

Často přitom jde o tzv. jednonukleotidový polymorfismus (Single Nucleotide Polymorphism, zkratka SNP), rozdíly způsobené „bodovou mutací“, tj. změnou jediného nukleotidu v genu. Důsledkem je záměna jedné aminokyseliny v kódovaném proteinu (enzym, receptor, strukturální bílkovina, růstový faktor). Tato záměna nemusí mít na funkčnost bílkoviny vliv, ovlivní-li však prostorovou stavbu aktivního místa, mohou se v její funkci projevit rozdíly, např. se zrychlí nebo zpomalí enzymová reakce. To pak může vést ke změně účinků léčiva na pacienta nebo změně průběhu eliminace léčiva z organismu. Jinak velmi účinný lék může být pro určitého pacienta bezcenný nebo může působit jen ve zvýšených dávkách. Naopak, někdy může dokonce dojít ke zvýšenému výskytu vedlejších účinků, což může ohrozit i pacientovo zdraví. Lékaři proto mají stav pacientů sledovat a podle potřeby upravovat nebo měnit terapeutický režim.

Účinky léčiva ovšem nezávisí jen na prostorové stavbě cílových struktur, ale i na jejich počtu. Ten určují jednak individuální rozdíly v **počtu kopií určitého genu** (CNV, copy number variation), jednak **regulace exprese genu** – zda je potlačen nebo podpořen vznik bílkovin, které gen kóduje.

Mapování lidského genomu přineslo zjištění, že počet kopií určitého genu může být u různých jedinců proměnný. Podobně jako v případě SNP mohou být rozdíly počtu kopií genů děděné nebo mohou vznikat během vývoje organismu – v důsledku chromosomálních mutací – delecí, duplikací, inverzí nebo translokací určitých kódujících úseků DNA. Odhaduje se, že u nepřibuzných jedinců se liší počty genů v asi 0,4% genomu. Nové mutace, k nimž dochází během vývoje, mohou zapříčinit rozdíly v jemné struktuře (polymorfismu) i v počtu genů dokonce u původně identických jedinců, jakými jsou jednovaječná dvojčata. Změny v počtu kopií některých genů mohou být spojeny s určitým onemocněním – např. u jednoho typu nádoru plic byl zjištěn zvýšený počet kopií genů kódujících receptor pro epidermální růstový faktor.

Expresi genů ovlivňují **epigenetické změny**, k nimž dochází buď v DNA (methylace cytosinových zbytků) nebo v histonech – bázičických bílkovinách, kolem nichž jsou řetězce DNA ovinuty. Tyto změny mohou ztížit nebo naopak ulehčit transkripci genů. Kromě toho má na expresi genů vliv i již zmíněná **RNA interference**.

Situaci dále komplikuje i možnost rozdílného sestřihu genů při transkripci DNA a rozdílné posttranslační modifikace proteinů. Zatímco genů je jen něco přes 20 tisíc, díky jejich rozdílnému sestřihu DNA nebo posttranslačním modifikacím je kódovaných bílkovin mnohem více. Individuální odchylky při expresi genů a posttranslačních modifikacích proteinů (např. rozdíly v připojené cukerné složce glykoproteinů ovlivňující imunitní charakteristiky) závisí na řadě faktorů: typu tkáně, věku, pohlaví apod., ale třeba i na životním stylu. Rostoucí znalosti molekulární biologie a pokroky bioanalytických technik umožňují definovat a zjišťovat stále více takových individuálních odchylek. Počet prováděných genetických vyšetření roste, genomika a proteomika postupně pronikají do biochemické diagnostiky. Jejich využívání je jedním z předpokladů zavedení tzv. **individualizované terapie**, podávání léků "na míru", s níž se počítá v brzké budoucnosti.

Při klinických zkouškách léčiva se individuální odchylky do jisté míry opomíjejí. Ze souboru výsledků se zjišťují průměrné hodnoty pro průměrného pacienta, který však může být vybrán i v rámci určité skupiny (podle pohlaví, věku, charakteru onemocnění apod.). Výsledky zkoušek přitom mají **statistický charakter**. Každý pacient ovšem průměru nemusí odpovídat. U reálných pacientů jsou údaje o účinnosti splněny s větší či menší **pravděpodobností**.

Pravděpodobnostní charakter údajů o léčivech je třeba mít neustále na paměti. Farmakodynamické nebo farmakokinetické zákonitosti jsou platné pro velké soubory, nemusí však platit pro jednotlivce. Lékaři proto mají účinky léků na pacienta sledovat a podle výsledků terapii individuálně upravovat.

Po podání léčiva se v systému ustaví dynamická rovnováha mezi volným léčivem, neobsazenými cílovými strukturami a léčivem navázaným na cílové struktury. Čím rychleji přitom interaguje léčivo s cílovou strukturou a čím pevnější je vazba léčiva na místo cílové struktury, kde dochází k interakci, tedy čím vyšší je jeho **afinita** k cílové struktuře, tím více je tato rovnováha posunuta ve prospěch komplexu léčivo-cílová struktura a tím více se může projevit účinek.

Mírou afinity léčiva k cílové struktuře je disociační konstanta komplexu léčivo-cílová struktura  $K_D$  ( $K_D = K_A$ ). Čím je afinita vyšší, tím snáze léčivo interaguje s cílovou strukturou. Malá afinita znamená, že koncentrace léčiva musí být vyšší, aby došlo k interakci. Většina léčiv má disociační (afinitní) konstanty řádu  $10^{-10} - 10^{-6} \text{ mol.dm}^{-3}$ . Protože jde o velmi malé koncentrace, vyjadřuje se někdy afinita léčiv k cílové struktuře pomocí hodnoty  $pD$  ( $= -\log K_D$ ).

Léčivo nemusí interagovat jen s jedinou cílovou strukturou. Interakce s různými strukturami vyvolávají různé biologické odezvy. Jejich intenzita závisí na afinitě léčiva k jednotlivým cílovým strukturám.

Někdy mohou různé interakce zvýšit žádoucí účinek nebo mohou umožnit využití léčiva v různých indikacích. Často se však stává, že interakce molekul léčiva s jednou cílovou strukturou vyvolá žádoucí terapeutický účinek, ale interakce s jinou se naopak projeví nežádoucím toxickým efektem.

Nežádoucí účinek mohou ale mít i terapeuticky účinné interakce léčiva s jedinou cílovou strukturou.

Tak např. blokáda receptorů pro epidermální růstový faktor (EGFR) využívaná v protinádorové terapii, protože brzdí růst některých nádorů, působí nepříznivě na kožní buňky. Asi 80% léčených pacientů pak trpí vyrážkami a u 10-15% vyžadují projevy kožní toxicity doplňkovou léčbu nebo i přerušeni léčby.

Cílem práce farmakochemiků je připravovat léčiva, která mají co nejvyšší terapeutický a co nejnižší toxický účinek. Zcela eliminovat nežádoucí účinky se ale zpravidla nedaří. U každého léčiva je proto třeba zvažovat poměr mezi přínosy a riziky, které jeho podání pacientovi přináší.

V r. 1920 postuloval Clark teorii, podle níž biologická odezva na podání léčiva závisí na množství obsazených cílových struktur (receptorů). Jakmile jsou veškeré cílové struktury obsazeny, pak už další zvyšování dávky (správněji: koncentrace léčiva v krevní plasmě) nemůže vést k zesílení odezvy. Zbytečné zvyšování dávky může naopak způsobit nepříjemné zvýšení výskytu nežádoucích vedlejších účinků.

Závislost odezvy na dávce (koncentraci) léčiva má v ideálním případě typický sigmoidní tvar: Optimální terapeutický účinek bývá dosahován při podání takových dávek léčiva, které sice nevyvolávají maximální účinek, ale při nichž se ještě neprojeví výrazněji vedlejší účinky. Např. krevní tlak pacienta by se měl pohybovat v určitém optimálním rozmezí. Maximální účinek léků snižujících krevní tlak může být spojen s poklesem tlaku na příliš nízké hodnoty, které už nestačí k tomu, aby krev pronikla do všech kapilár. Předávkování tak může způsobit výpadky v zásobování důležitých orgánů kyslíkem a živinami.



Do popředí se proto dostává otázka určení **optimální terapeutické dávky** léčiva.

Dávka se obvykle vyjadřuje v mg léčiva na kg hmotnosti nebo na  $\text{m}^2$  povrchu těla. Povrch těla člověka s hmotností 70 kg přitom činí asi  $1,7 \text{ m}^2$ . Je-li léčivo podáno v **podprahové dávce**, pak je jeho koncentrace příliš nízká a požadovaný účinek se neprojeví. Je-li naopak koncentrace léčiva příliš vysoká, pak se sice může projevit výrazný terapeutický efekt, současně však už mohou být i nežádoucí vedlejší účinky natolik silné, že nad terapeutickým přínosem převáží. V tomto případě se hovoří o **toxické dávce** (TD), jejímž krajním případem je **letální dávka** (LD), která pacienta usmrtí. **Účinná (efektivní) dávka** (ED) je dávka, která vyvolá optimální terapeutický účinek. Aby byly omezeny individuální odchylky, určují se tyto dávky u většího souboru jedinců a stanoví se obvykle tak, že se zjistí dávka, kdy se účinek projeví v 50% případů.

Velikost nebezpečné dávky se zjišťuje u pokusných zvířat, např.  $LD_{50}$  představuje dávku, která se projeví úhynem 50% zvířat. Hodnoty zjištěné u pokusných zvířat pak slouží k odhadu bezpečných dávek pro klinické zkoušky u člověka.

Ukazatelem bezpečnosti léčiva je **terapeutický index**, tj. poměr  $LD_{50}/ED_{50}$  (resp.  $TD_{50}/ED_{50}$ ). Podaná dávka léčiva by měla být taková, aby se jeho plasmatická koncentrace pohybovala potřebnou dobu v **terapeutickém rozmezí** („terapeutickém okénku“), tj. v intervalu, kde je dosažen příznivý poměr mezi požadovaným účinkem a toxickým působením.

Vztahování účinku léčiva na dávku není vždy dostatečně vypovídající. Individuální odchylky ve farmakokinetických parametrech (viz dále) mohou způsobit, že při stejné dávce léčiva je v určitém čase koncentrace léčiva v krevní plasmě různých pacientů různá. Při preklinických a klinických studiích se proto zkoumá účinek léčiva v závislosti na jeho koncentraci v krevní plasmě ( $C_p$ ).

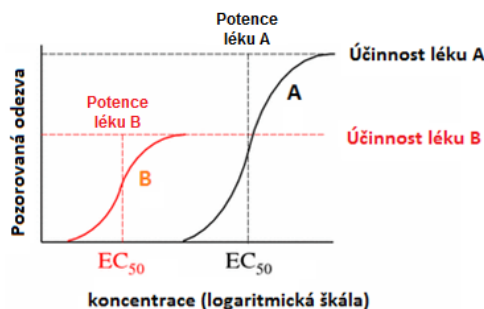
Při zkouškách nového léčiva se sleduje biologická odezva v závislosti na podané dávce. Míra schopnosti léčiva vyvolat určitou intenzitu biologické odezvy je nazývána **potence**, česky někdy také **síla**.

Termín **síla** je ale poněkud zavádějící, protože farmaceuti stejným termínem také označují obsah účinné látky v určité lékové formě, např. v tabletách. Ty mohou být vyráběny o různé „síle“ pro podání různým kategoriím pacientů, kdy množství účinné látky obsažené v tabletě činí např. 10 mg, 25 mg, 50 mg a 80 mg.

Léčiva s velkou potencí vyvolávají výraznou odezvu už při nižších koncentracích, zatímco k vyvolání odezvy u léčiv s malou potencí je nutná koncentrace vyšší. **Potence je úměrná k afinitě a účinnosti**.

Např. mezi léčivy tlumícími bolest se vysokou potencí vyznačuje morfin, zatímco ibuprofen má potenci jen malou.

Při srovnávání účinků různých látek vyvolávajících určitou biologickou odezvu se ukázalo, že rozdílné mohou být nejen dávky (koncentrace) vyvolávající určitou odezvu, ale i velikost této odezvy. Ta je označována jako **účinnost**<sup>1</sup>.



Např. léčivo A vyvolává téměř dvojnásobnou odezvu (např. více snižuje krevní tlak) ve srovnání s léčivem B (červený graf), je tedy účinnější. Má ale podstatně menší afinitu k cílové struktuře a tedy i potenci, takže k dosažení 50% maximální odezvy musí být jeho koncentrace v plasmě podstatně vyšší.

Jak už bylo řečeno, podle Clarkovy teorie účinnosti závisí biologická odezva (E) na stupni obsazenosti cílových struktur (T) léčivem (L).

Maximální odezva E<sub>max</sub> je dosažena, jsou-li obsazeny všechny cílové struktury. E<sub>max</sub> je tedy úměrná celkové koncentraci cílových struktur [T<sub>T</sub>]. Poměr zjištěné odezvy k maximální odezvě pak bude rovný poměru množství obsazených cílových struktur k jejich celkovému množství:

$$\frac{E}{E_{\max}} = \frac{[TL]}{[T_T]}$$

Pro disociační konstantu K<sub>D</sub> komplexu léčivo – cílová struktura platí:

$$K_D = \frac{[L][T]}{[TL]}$$

Celkové množství (koncentrace) cílových struktur je: [T<sub>T</sub>] = [T] + [TL].

Z těchto vztahů lze odvodit:

$$K_D = \frac{[L]([T_T] - [TL])}{[TL]} = \frac{[L][T_T]}{[TL]} - \frac{[L][TL]}{[TL]} = \frac{[L][T_T]}{[TL]} - [L]$$

$$K_D + [L] = \frac{[L][T_T]}{[TL]}$$

$$\frac{K_D + [L]}{[L]} = \frac{[T_T]}{[TL]}$$

Dosažením do první rovnice obdržíme:  $\frac{E}{E_{\max}} = \frac{[TL]}{[T_T]} = \frac{[L]}{K_D + [L]}$

<sup>1</sup> Poznámka: Anglický termín pro **účinnost** je u léčiva *efficacy*. Podobný termín *effectiveness*, kterému by mohl odpovídat překlad **efektivnost**, se vztahuje k účinnosti za reálných podmínek. Léčivo, které je sice velmi účinné, může mít takové vedlejší účinky, že může být podáváno jen ve snížených dávkách. Efektivnost je tedy mírou upotřebitelnosti léčiva a může tedy být menší než účinnost. Třetí podobné anglické slovo *efficiency*, česky zde snad **užitkovost**, vyjadřuje poměr mezi vstupy a výstupy systému a je spíše ekonomickým termínem, u léčiv to může být např. poměr mezi cenou a přínosy jeho použití v terapii.

Pro 50% maximální odezvy ( $E/E_{\max} = 0,5 = EC_{50}$ ) pak odvodíme, že  $K_D = EC_{50}$ . To znamená, že koncentrace léčiva, která vyvolá 50% maximálního účinku je rovna disociační konstantě komplexu cílová struktura-léčivo a tedy i afinitní konstantě.  $EC_{50}$  je proto vhodnou mírou pro vzájemné porovnávání potence různých léčiv. Účinné bývají běžně mikro až nanomolární koncentrace léčiv, tedy řádově  $10^{-6} - 10^{-9}$  M. Někdy se proto místo hodnoty  $EC_{50}$  používá její záporný logaritmus  $pD_2$ , ( $pD_2 = -\log K_D = -\log EC_{50}$ ).

**Clarkův model** účinnosti je však jen velkým zjednodušením situace. Je vhodný snad v případech, kdy cílovými strukturami jsou extracelulární receptory, ale ani přitom nedokáže vysvětlit všechny experimentálně zjišťované skutečnosti.

V 50. letech minulého století proto modifikovali Clarkův model nezávisle na sobě Ariens a Stephenson. Rozdíl v chování různých léčiv vysvětlili tím, že proces vyvolání biologické odezvy je dvoustupňový. V prvním stupni dochází k vazbě léčiva na cílovou strukturu a až v druhém kroku je iniciována odezva. Druhý krok je řízen schopností komplexu cílové struktury s léčivem odezvu vyvolat. Ariens tuto schopnost označoval jako vnitřní aktivitu (intrinsic activity)  $\alpha$  a zavedl pojem úplných agonistů ( $\alpha=1$ ), parciálních agonistů ( $0 < \alpha < 1$ ) a antagonistů ( $\alpha=0$ ). Stephenson předpokládal, že vazba ligandu na cílovou strukturu vyvolá stimul (S), jehož intenzita závisí na afinitě léčiva k cílové struktuře a jeho účinnosti E (pro níž zavedl termín efficacy). Čím vyšší je účinnost, tím větší je odezva a tím nižší dávka léčiva je zapotřebí k vyvolání maximálního účinku. V r. 1961 formuloval Paton „rychlostní“ teorii účinnosti. Podle této teorie stimul vzniká jen při obsazení volných vazebných míst cílových struktur. Obsazení vazebného místa je spojeno s konformační změnou, která spouští kaskádu událostí vyvolávajících biologickou odezvu. Pokud zůstává vazebné místo obsazeno, k další odezvě nedochází. (Teorii lze přirovnat ke hře na klavír. Tón zazní jen při stisknutí klávesy, pak už dál nezní, i když zůstává klávesa stisknuta. Původní Clarkova teorie může přitom být analogicky přirovnána ke hře na varhany, kdy tón zní po celou dobu stisku klávesy). Podle Patona nezávisí účinek na množství cílových struktur a jejich obsazenosti, ale na rychlosti, jakou se léčivo váže na cílovou strukturu a jakou je z ní uvolňováno. Účinnost pak má být závislá na rychlostních konstantách asociace a disociace ligandu, korelace však není dobrá.

Dalším pokusem o vysvětlení nesouladu některých výsledků s Clarkovou teorií byl model dvou stavů. Podle tohoto modelu mohou být cílové struktury buď v aktivním – relaxovaném (R) stavu nebo inaktivním – rigidním stavu (tensed state, T), mezi nimiž je dynamická rovnováha. Vazba léčiva může posunout rovnováhu buď k relaxovanému stavu, čímž je biologická odezva zesílena, nebo k rigidnímu stavu, kdy je odezva naopak potlačena. Posledním příspěvkem k receptorové teorii účinnosti léčiv je model ternárního komplexu, který popisuje interakce ligandu, receptoru a G-proteinu a počítá nejen s pouhým soutěžením dvou ligandů o receptor, ale i s možností jejich vzájemného ovlivňování.

## Kontrolní otázky pro zopakování

1. Proč je chemie léčiv multidisciplinárním oborem a jaké disciplíny se podílejí na jejím rozvoji
2. Co je léčivá látka a co léčivý přípravek?
3. Které přípravky jsou zákonem řazeny mezi léčiva, i když nemají prokázaný léčivý účinek a proč?
4. Čím se odlišuje léčivý přípravek od kosmetických přípravků nebo nutričních doplňků?
5. Jaké jsou účinky léčiv?
6. Proč mohou různá léčiva na různé pacienty působit různě?
7. Kdy vznikla chemie léčiv a co předcházelo jejímu vzniku?
8. Vyjmenujte alespoň tři významné historické mezníky chemie léčiv.
9. Jaké jsou současné trendy chemie léčiv?
10. Jaké jsou základní požadavky na léčivo?
11. Jakými opatřeními je zajišťována bezpečnost léčiva?
12. Co jsou „správné praxe“ a jaký je jejich cíl?
13. Co to je ATC klasifikace léčiv a k čemu slouží? Podle jakých principů jsou léčiva klasifikována?
14. Co je předmětem farmakodynamiky?
15. Jaké jsou cílové struktury léčiv?
16. Jaké interakce se uplatňují mezi molekulou léčiva a cílovou strukturou?
17. Co si představujete pod pojmem hydrofobní interakce (hydrofobní vazba)?
18. Jaké jsou hlavní typy receptorů?
19. Jaký je rozdíl mezi agonistou a antagonistou receptoru?
20. V čem se liší kompetitivní a nekompetitivní inhibitory enzymů?
21. S jakými dalšími (kromě receptorů a enzymů) bílkovinnými cílovými strukturami mohou léčiva interagovat?
22. Jak mohou léčiva interagovat s DNA?
23. Mohou být cílovou strukturou léčiv RNA? Jaké typy RNA a jak na ně lze působit?
24. Co je příčinou vedlejších účinků léčiv?
25. Co to je terapeutické rozmezí?
26. Jak lze vzájemně porovnávat účinky různých léčiv stejné terapeutické kategorie?
27. Proč není účinek vždy úměrný podané dávce léčiva?
28. Proč mohou léčiva působit na různé pacienty odlišně?
29. Vysvětlíte pojmy potence, účinnosti a efektivita léčiva