

A gyógyszerhatás fizikai- kémiai alapjai

Rozmer Zsuzsanna – Perjési Pál



**„Megújuló gyógyszerési kompetenciák
gyakorlatorientált elsajátítását szolgáló digitális tananyagok fejlesztése
magyar és angol nyelven,
az egyetemi oktatók felkészítése a 21. század oktatási kihívásaira”
Azonosítószám: TÁMOP -4.1.2.A/1-11/1-2011-0016**

Pécsi Tudományegyetem – Pécs, 2015

© Rozmer Zsuzsanna, Perjési Pál, 2015

A projekt az Európai Unió támogatásával
az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg

Kézirat lezárva: 2015. július 30.

Nemzeti Fejlesztési Ügynökség
www.ujsechenyiterv.gov.hu
06 40 638 638



A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

A kiadásért felel a: Pécsi Tudományegyetem

Felelős szerkesztő: Dr. Perjési Pál

Egyéb fejlesztő: Erdősné Moravec Zsuzsanna

Műszaki szerkesztő: Bencze Zsolt és Erdősné Moravec Zsuzsanna

Lektorálta: Dr. Halmos Gábor

Terjedelem: 143 oldal

Tartalom

ÁBRAJEGYZÉK.....	7
ELŐSZÓ.....	9
I A GYÓGYSZERHATÁS MOLEKULÁRIS ALAPJAI. A GYÓGYSZERCÉLPONTOK ÉS SZERKEZETI JELLEGZETESSÉGEIK	10
I.1 A GYÓGYSZERHATÁS MOLEKULÁRIS ALAPJAI.....	11
I.1.1 Kémiai kölcsönhatás kialakítása nélkül ható vegyületek	11
I.1.2 Kémiai kölcsönhatás kialakításával ható vegyületek	12
I.2 A GYÓGYSZERCÉLPONTOK (CÉLMOLEKULÁK) SZERKEZETI JELLEGZETESSÉGEI.....	14
I.2.1 A fehérjék szerkezete.....	14
I.2.2 A lipidek tulajdonságai	17
I.2.3 A sejtmembránok szerkezete	20
I.3 IRODALOM	22
II RECEPTOROK, MINT GYÓGYSZERCÉLPONTOK.....	23
II.1 SEJTFELSZÍNI RECEPTOROK.....	26
II.1.1 Ligandum-aktivált ioncsatornák (ionotróp receptorok).....	26
II.1.2 Saját enzimaktivitás nélküli receptorok (metabotróp receptorok).....	28
II.1.3 Saját enzimaktivitással bíró receptorok	31
II.2 INTRACELLULÁRIS RECEPTOROK.....	32
II.3 IRODALOM	35
III ENZIMEK, MINT GYÓGYSZERCÉLPONTOK.....	36
III.1 AZ ENZIMKATALÍZIS MECHANIZMUSA.....	36
III.2 AZ ENZIMEK CSOPORTOSÍTÁSA	37
III.3 AZ ENZIMREAKCIÓK KINETIKÁJA	39
III.4 AZ ENZIMREAKCIÓK GÁTLÁSA	42
III.5 IRODALOM	45
IV TRANSZPORTEREK ÉS IONCSATORNÁK, MINT GYÓGYSZERCÉLPONTOK	46
IV.1 FACILITÁLT DIFFÚZIÓ.....	46
IV.2 A TRANSZPORTFOLYAMATOK ENERGIAVISZONYAI	48
IV.3 AKTÍV TRANSZPORT	49
IV.4 CSATORNAKÉPZŐ FEHÉRJÉK	51
IV.4.1 Ionofórok	52
IV.4.2 Feszültségfüggő ioncsatornák.....	53
IV.4.3 Ligandumfüggő ioncsatornák	55

IV.5	IRODALOM.....	56
V	NUKLEINSAVAK, MINT GYÓGYSZERCÉLPONTOK.....	57
V.1	NUKLEOZIDOK, NUKLEOTIDOK.....	57
V.2	DEZOXINUKLEINSAV (DNS).....	59
V.3	RIBONUKLEINSAVAK.....	61
V.4	IRODALOM.....	62
VI	A HATÓANYAG-GYÓGYSZERCÉLPONT KÖLCSÖNHATÁS FIZIKAI-KÉMIAI JELLEGZETESSÉGEI.....	63
VI.1	MÁSODLAGOS KÖLCSÖNHATÁSOK.....	63
VI.1.1	Rövidtávú taszítás.....	63
VI.1.2	Ion-Ion kölcsönhatás.....	64
VI.1.3	Ion-Indukált dipól kölcsönhatás.....	64
VI.1.4	Permanens dipól-Permanens dipól (Keesom) kölcsönhatások.....	65
VI.1.5	Permanens dipól- Indukált dipól (Debay) kölcsönhatás.....	65
VI.1.6	Pillanatszerűen indukált dipól-Indukált dipól (London) kölcsönhatás.....	65
VI.1.7	Hidrogénhidas kölcsönhatás („hidrogénkötés”).....	66
VI.2	AFFINITÁS ÉS AKTIVITÁS.....	67
VI.3	HATÉKONYSÁG ÉS HATÁSERŐSSÉG.....	70
VI.4	SZELEKTIVITÁS.....	71
VI.5	IRODALOM.....	72
VII	A HATÓANYAG-GYÓGYSZERCÉLPONT KÖLCSÖNHATÁS FIZIKAI-KÉMIAI JELLEGZETESSÉGEI. SZERKEZET, TÉRSZERKEZET.....	74
VII.1	DIASZTEREOIZOMEREK.....	74
VII.2	ENANTIOSZTEREOIZOMEREK.....	76
VII.3	A GYÓGYSZERHATÁS DIASZTEREO- ÉS ENANTIOSZTERO- SZELEKTIVITÁSA.....	79
VII.4	IRODALOM.....	81
VIII	A GYÓGYSZERVEGYÜLETEK FIZIKAI-KÉMIAI JELLEMZŐI. SAV-BÁZIS TULAJDONSÁGOK.....	82
VIII.1	A SAVAK ÉS BÁZISOK ERŐSSÉGE. A pK_A ÉRTÉK FOGALMA.....	82
VIII.2	HATÓANYAGOK SAVAS ÉS BÁZIKUS FUNKCIÓS CSOPORTJAI.....	84
VIII.2.1	Savas funkciós csoportok.....	84
VIII.2.2	Bázikus funkciós csoportok.....	88
VIII.3	A pK_A ÉRTÉK JELENTŐSÉGE.....	90
VIII.4	A pK_A ÉRTÉK MEGHATÁROZÁSÁNAK LEHETŐSÉGEI.....	93
VIII.4.1	Potenciometriás titrálás.....	93

VIII.4.2 UV-Vis spektrofotometriás titrálás.....	97
VIII.4.3 Egyéb módszerek.....	98
VIII.5 IRODALOM	100
IX A GYÓGYSZERVEGYÜLETEK FIZIKAI-KÉMIAI JELLEMZŐI. OLDHATÓSÁG.....	101
IX.1 AZ OLDATOK DEFINÍCIÓJA.....	101
IX.2 AZ OLDÓDÁS FOLYAMATA	102
IX.3 AZ OLDHATÓSÁG DEFINÍCIÓJA, FAJTÁI.....	104
IX.4 AZ OLDHATÓSÁGOT BEFOLYÁSOLÓ TÉNYEZŐK.....	106
IX.4.1 Molekulaszerkezet és oldószer	106
IX.4.2 Hőmérséklet	106
IX.4.3 Az ionizálható vegyületek oldhatósága	106
IX.4.4 Idegen anyagok jelenléte, az anyag és az oldószer tisztasága.....	110
IX.5 AZ OLDHATÓSÁG MEGHATÁROZÁSÁNAK KÍSÉRLETES MÓDSZEREI.....	110
IX.5.1 A kinetikai oldhatóság meghatározási módszerei.....	111
IX.5.2 A termodinamikai oldhatóság meghatározási módszerei	112
IX.6 IRODALOM	113
X A GYÓGYSZERVEGYÜLETEK FIZIKAI-KÉMIAI JELLEMZŐI. LIPOFILITÁS ÉS MEGOSZLÁSI HÁNYADOS.....	114
X.1 A MEGOSZLÁSI HÁNYADOS FOGALMA.....	114
X.2 A MEGOSZLÁSI HÁNYADOS SZEREPE	116
X.3 A LIPOFILITÁS ÉS A FOSZFOLIPOFILITÁS	117
X.3.1 Az oktanol/víz rendszer	117
X.3.2 A foszfolipofilitás	118
X.4 A MEGOSZLÁSI HÁNYADOS MEGHATÁROZÁSÁNAK MÓDSZEREI	118
X.4.1 Direkt meghatározási módszerek.....	119
X.4.2 Indirekt meghatározási módszerek	120
X.4.3 Predikciós módszerek	122
X.5 IRODALOM	122
XI A GYÓGYSZERVEGYÜLETEK FIZIKAI-KÉMIAI JELLEMZŐI. PERMEÁBILITÁS.....	123
XI.1 A PERMEÁBILITÁS FOGALMA	123
XI.2 A BIOLÓGIAI MEMBRÁNOK ÉS TRANSPORTFOLYAMATOK	123
XI.2.1 A biológiai membránok felépítése.....	123
XI.2.2 Penetrációs mechanizmusok	124
XI.3 A PERMEÁBILITÁS JELENTŐSÉGE.....	125
XI.4 A PERMEÁBILITÁS MEGHATÁROZÁSÁNAK KÍSÉRLETES MÓDSZEREI	126

XI.4.1	A PAMPA-modell.....	126
XI.4.2	Sejtes modellek	127
XI.5	IRODALOM.....	128
XII	METABOLIZMUS	129
XII.1	FÁZIS I – VAGY FUNKCIONALIZÁCIÓS REAKCIÓK	130
XII.1.1	Oxidációs reakciók.....	131
XII.2	FÁZIS II – VAGY KONJUGÁCIÓS REAKCIÓK	137
XII.2.1	Konjugáció glükuronsavval	138
XII.2.2	Konjugáció szulfáttal	138
XII.2.3	Konjugáció aminosavakkal	139
XII.2.4	Konjugáció glutationnal	140
XII.2.5	Acetilezés	141
XII.2.6	Metilezés	142
XII.3	IRODALOM.....	143

Ábrajegyzék

I-1. ábra: A peptidkötés szerkezete.....	14
I-2. ábra: A fehérjék alfa-hélix szerkezete.....	15
I-3. ábra: A fehérjék béta-redő szerkezete.....	16
I-4. ábra: A fehérjék béta-fordulat szerkezete.....	16
I-5. ábra: A fehérjék harmadlagos szerkezete.....	17
I-6. ábra: Az L- α -foszfatidsav (2-(R)-foszfatidsav) szerkezete.....	18
I-7. ábra: A szvingozin (D- <i>eritro</i> -4-sztingenin) szerkezete.....	19
I-8. ábra: A koleszterin szerkezete.....	20
I-9. ábra: A sejthártya mozaikmodellje.....	21
I-10. ábra: A foszfolipidek megoszlása az emberi vörösvérttest plazmamembránjában.....	22
II-1. ábra: A receptor, a másodlagos hírvivő és az effektor fogalma.....	23
II-2. ábra: A dózis-válasz görbe különböző formái.....	24
II-3. ábra: A receptor ioncsatornák egyszerűsített szerkezete.....	26
II-4. ábra: A G-fehérjéhez kapcsolt receptorok aktiválásának modellje.....	30
II-5. ábra: A sejtmagreceptorok egyszerűsített felépítése.....	33
II-6. ábra: Az ösztrogén receptor működési ciklusa.....	34
III-1. ábra: Enzimkatalizált reakció sebességének (v) változása a szubsztrát-koncentráció $[S]$ függvényében. (v_{max} : maximális sebesség, K_M : Michaelis-Menten állandó).....	40
IV-1. ábra: Az egyszerű diffúzió, a facilitált diffúzió és az aktív transzport egyszerűsített mechanizmusa.....	47
IV-2. ábra: Az egyszerű diffúzió és a facilitált diffúzió sebességének és a transzportálandó anyag koncentrációjának összefüggése.....	47
IV-3. ábra: Az uniport, a szimport és az antiport transzporterek működésének elve.....	48
IV-4. ábra: A mobilis ionszállítók és a csatornaképző ionofórok működése.....	52
IV-5. ábra: A nátriumion-csatorna nyugalmi, aktivált és inaktivált állapota.....	54
IV-6. ábra: A helyi érzéstelenítők nátriumion csatornákra kifejtett hatásának <i>Hille</i> szerinti értelmezése.....	54
V-1. ábra: A nukleinsav bázisok nukleozid származékainak szerkezete.....	57
V-2. ábra: Az adenzin-trifoszfát (ATP) és a gyűrűs adenzin-monofoszfát (cAMP) szerkezete.....	58
V-3. ábra: A DNS B-formája.....	60
VI-1. ábra: A másodlagos kölcsönhatások energiájának távolságfüggése.....	63
VI-2. ábra: A hidrogénhidás kölcsönhatás kialakulása.....	66
VI-3. ábra: Teljes és részleges agonista dózis-válasz görbéi.....	67
VI-4. ábra: A dózis-biológia válasz összefüggés lineáris és szemilogaritmikus koordináta-rendszerben történő ábrázolása.....	68
VI-5. ábra: Két különböző hatékonyságú („A” valamint „B” és „C”) és két különböző hatáserősségű („A” és „B” valamint „C”) hatóanyag dózis-válasz görbéje.....	71
VII-1. ábra: A 2-metil-pentán (1) és 3-metil-pentán (2), valamint az etanol (3) és dimetil-éter (4) szerkezete.....	74
VII-2. ábra: A (Z)-2-butén (1) és az (E)-2-butén (2), valamint a <i>cisz</i> -1,2-dimetil-ciklopentán (3) és <i>transz</i> -1,2-dimetil-ciklopentán (4) szerkezete.....	75
VII-3. ábra: Az alanin két enantiomerje.....	76

Azonosító szám:

TÁMOP-4.1.2.A/1-11/1-2011-0016

7

VII-4. ábra: A D-szorbit és a D-mannit szerkezete.....	76
VII-5. ábra: A gliceraldehid enantiomerek Fischer-féle projekciós képletei.....	77
VII-6. ábra: A D-gliceraldehid, a D-tejsav és az L-alanin projekciós képletei.....	78
VII-7. ábra: A D/L és az R/S konfigurációs prefixumok közötti összefüggés.....	79
VII-8. ábra: Az (E)-cinnarizin (1) és a (Z)-tamoxifén (2) szerkezete.....	80
VII-9. ábra: A kinin és a kinidin szerkezete.....	80
VII-10. ábra: A ligandum-receptor kölcsönhatás hárompontos illeszkedési modellje.....	81
VIII-1. ábra: Potenciometriás titrálási görbe.....	94
VIII-2. ábra: A potenciometriás titrálási görbe, valamint első és második differencia-hányados görbéi.....	94
VIII-3. ábra: Potenciometriás titrálási görbék – a paracetamol disszociációs állandójának meghatározása különbségi potenciometriás módszerrel.....	95
VIII-4. ábra: Benzokain UV-Vis spektrumának pH-függése.....	98
IX-1. ábra: A gyógyszerhatóanyag oldódását befolyásoló tényezők.....	101
IX-2. ábra: Az oldódást kísérő hőváltozások.....	103
IX-3. ábra: Egyértékű gyenge sav, egyértékű gyenge bázis és amfoter vegyület oldhatóság-pH profiljai.....	108
IX-4. ábra: A gyomor és a patkóbél (duodenum) kémhatásának változása étkezés előtt, valamint étkezést követően.....	109
X-1. ábra: Egyértékű gyenge sav, egyértékű gyenge bázis és amfoter vegyület lipofilitás-pH profiljai.....	116
X-2. ábra: A „pH-megoszlás hipotézis”.....	117
XI-1. ábra: A biológiai membránok felépítése.....	124
XI-2. ábra: A BCS osztályozási rendszer.....	126
XI-3. ábra: A PAMPA-modell sematikus vázlata.....	126
XI-4. ábra: A sejtes-modell sematikus vázlata.....	127
XII-1. ábra: A benzoésav hippursavvá történő átalakulásának reakciója.....	129
XII-2. ábra: A xenobiotikumok átalakulásának két lehetséges útja.....	129
XII-3. ábra: A propranolol metabolizmusa.....	136
XII-4. ábra: A monoamin-oxidáz enzimek működésének mechanizmusa.....	136
XII-5. ábra: A paracetamol és az ibuprofén glükuronsav-konjugátummá történő átalakulásának UDP-glükuronil-transzferáz (UGT) enzimek által katalizált reakciója.....	138
XII-6. ábra: A paracetamol szulfát-konjugátummá történő átalakulásának szulfotranszferáz (SULT) enzimek által katalizált reakciója.....	139
XII-7. ábra: A benzoésav glicin-konjugátuma (hippursav) képződésének reakciója.....	140
XII-8. ábra: Az etakrinsav és a redukált glutation (GSH) glutation-S-transzferáz (GST) enzimek által katalizált reakciója.....	140
XII-9. ábra: A glutation-konjugátumok merkaptursav-származékká történő metabolizmusának reakcióútja.....	141
XII-10. ábra: A prokainamid acetilszármazékká történő átalakulásának N-acetiltranszferáz (NAT) enzimek által katalizált reakciója.....	141
XII-11. ábra: A norepinefrin katechol-O-metiltranszferáz (COMT) enzimek által katalizált O-metilezési reakciója.....	142

Előszó

A biztonságos, a lehető legkevesebb nemkívánt hatással rendelkező hatóanyagok fejlesztése, a hatóanyagok nemkívánt kölcsönhatásainak elkerülése, elengedhetlenné teszi a vegyületek hatásainak molekuláris szintű megismerését. E terület e farmakológiai, a biokémiai és a gyógyszerkémiai vizsgálatok egyik legintenzívebben művelt területe. A biológiai hatás kialakulásának komplex jellegéből eredően a jelenségek vizsgálatának metodikái, célkitűzései a három különböző területen végzett vizsgálatok során különbözőek lehetnek. Az azonban közös kísérleti tapasztalat, hogy a testidegen vegyületek biológiai hatásait néhány alapvető fizikai-kémiai tulajdonsága, így többek között a (tér)szerkezet, az ionizációs készség, valamint a lipofil-hidrofil fázisok közötti megoszlási hányados határozza meg.

Jelen elektronikus tananyag a PTE ÁOK Gyógyszertudományi Doktori Iskola keretében meghirdetett tantárgy főbb fejezeteinek alapján íródott. A tantárgy keretében a hallgatók megismerkednek a celluláris gyógyszer-célpontok valamint a hatóanyagok szerkezetével és a hatás kialakulásával kapcsolatos legfontosabb fizikai-kémiai tulajdonságokkal, a hatóanyag-celluláris célmolekula kölcsönhatások természetével, valamint a kölcsönhatás és a biológiai hatás közötti kapcsolat alapjaival. Bár a tananyag elsősorban Ph.D. hallgatók képzése céljából készült, azt hasznosan tanulmányozhatják a Gyógyszerészi kémia tantárgy iránt érdeklődő graduális hallgatók is.

A címben megjelölt terület összetettsége következtében, egy a fenti oktatási célkitűzésekkel összeállított tananyag szükségszerűen nem lehet teljes. Bizonyára kellő alapot nyújt azonban a gyógyszerek hatásmechanizmusát alaposabban megismerni vágyó és /vagy új hatóanyagok/gyógyszerformák fejlesztésén dolgozó munkatársak számára.

A szerkesztők köszönetüket fejezik ki Dr. Halmos Gábor egyetemi tanár Úrnak (Debreceni Egyetem), aki lelkiismeretes lektori munkájával, építő jellegű megjegyzéseivel, javításaival járult hozzá, hogy a hallgatók hiteles, megbízható forrásból ismerkedjenek meg a gyógyszerek hatása és azok fizikai-kémiai tulajdonságai közötti alapvető összefüggésekkel.

A tananyag modulszerű felépítése lehetővé teszi, hogy a jövőben szükség szerint újabb területekkel, a gyógyszerhatás molekuláris alapjainak további kémiai, biokémiai, fizikai-kémiai aspektusainak további részletes tárgyalásával bővüljön. Ezzel kapcsolatban a tananyag szerkesztője örömmel vesz minden hozzá eljuttatott javaslatot. Természetesen a szerkesztő köszönettel vesz bármi, a javításra vonatkozó megjegyzést.

Pécs, 2014. július.

A szerkesztők

I A gyógyszerhatás molekuláris alapjai. A gyógyszercélpontok és szerkezeti jellegzetességeik

A testidegen anyagok élő szervezetekre gyakorolt hatásának vizsgálata egyike a legősibb természettudományos vizsgálatoknak. E vizsgálatok alapjait azok a mai is ismert ősi megfigyelések adták, melyek az ehető és nem-ehető (mérgező) növények, termések stb. megkülönböztetéséhez, valamint a fájdalmak enyhítését, a láz csökkentését, a sebek gyógyulását, stb. eredményező természetes anyagok (levelek, gyökerek, kövek, stb.) megismeréséhez vezettek. Az első időkben – az adatgyűjtés korában – a legfontosabb ismeretet a természetes hatóanyag felismerése és a szervezetre gyakorolt hatásának ismerete jelentette. Bár az első írásos dokumentumok az ókori Kínában születtek, az Európában legismertebbé vált korai dokumentumot *G. Ebers* 1874-ben Egyiptomban találta meg. Ez az egyik legrégebbi orvosi szöveg az i.e. 1500 körül keletkezett, 21 m hosszú papirusztekercset, amely 1000 év orvosi történelmét írja le, és 876 gyógykészítményt valamint több mint 500 növényt sorol fel. Ezeknek a növényeknek a harmada ma is használt gyógynövény (például: kömény, szennalevél, kakukkfű, lenmag, fokhagyma). I.e. 500 körül az egyiptomi herbalistákat tekintették a legjobbaknak. Rómától Babilonig ők voltak az uralkodók orvosai.

A görög és a római orvosok rendszerezték a gyógynövények ismeretét, fajtáit és felhasználásukat. *Hippokratész* (i. e. 460-377), az „orvostudomány atyja” könyvében, a *Corpus Hippocraticum*ban több mint 200 gyógynövényt írt le. A különféle betegségeket az emberi létezés természetes velejárójának tartotta, melyek megfelelő készítményekkel gyógyíthatók. *Arisztotelész* (i. e. 384 -322) szintén készített gyógynövényeket taglaló könyvet. A görög-római *Dioszkoridész* (i.sz. 40-90) az ismeretek összegzése és elemzése után, 78-ban megírta Európa első gyógynövény jegyzékét. A *De Materia Medica* című művében 600 gyógynövényt tárgyal. Könyve 1500 éven keresztül a herbalisták alapműve volt. Marcus Aurelius császár elismert orvosa, *C. Galenus* (129-199) részletesen taglalt, többkötetes gyógynövény könyveket alkotott. A gyógynövényekből különböző gyógyszerformákat (főzetek, tinktúrák, kenőcsök, tapaszok stb.) készített, amiket ma galenusi készítményekként ismerünk.

A modern gyógynövénygyógyászat alapjait a 16. század elején *Paracelsus* rakta le. *Paracelsus Herbarius* című könyvében írta le részletesen a különböző gyógynövényeket. Míg a középkorban a betegségeket isten büntetésének tartották, addig *Paracelsus* a korát megelőző különböző nézeteket összegezve úgy gondolta, hogy nem a lélek tisztátlansága, hanem a test pillanatnyi ásványi egyensúlyának megbomlása okozza a betegségeket, amelyeket a test kémiai állapotának orvosolásával lehet meggyógyítani. *Paracelsus* volt az első orvos, aki gyógyszerként volt képes alkalmazni egyébként mérgező, például higany-, kén- vagy vasvegyületeket. Mondása: „A mennyiség teszi a mérget.” (Eredeti megfogalmazásban: „*Alle Ding' sind Gift und nichts ohn' Gift; allein die Dosis macht, das ein Ding kein Gift ist.*”: „Minden dolog mérgező, ha önmagában nem is az; csupán a mennyiség teszi, hogy egy anyag nem mérgező.”)

A gyógyszeres terápia tudományos alapjának megteremtése a *C. Bernard* (1813-1878) nevéhez kapcsolódik, aki 1850-ben a kuráré vizsgálata során elvégezte az első pontos farmakológiai analízist, és ezzel lefektette az experimentális farmakológia alapköveit. Az első önálló farmakológiai tanszéket 1849-ben alapították a dorpai (ma Tartu, Észtország, akkor német nyelvű oroszországi univerzitás volt) egyetemen *R. Buchheim* (1820-1879) vezetésével. Tanítványát, a lett származású *O. Schmiedeberget* (1838-1921), tekintik a modern gyógyszeres oktatás megalapítójának.

A kísérletes farmakológia kezdettől fogva szorosan együtt fejlődött a szerves kémiával, ami előbb a növényi hatóanyagok izolálásával és szerkezet-felderítésével, majd a szintetikus módszerek fejlesztésével vitte előre a farmakológiai tudományok fejlődését. Az önálló tudománnyá nőtt gyógyszerkémia a kísérletes farmakológia molekuláris szinten történő értelmezésének fizikai-kémiai alapjait rendszerbe foglaló tudományág.

A gyógyszerhatás molekuláris szinten történő első értelmezése *P. Erlich* (1854–1915) és *J.N. Langley* (1852-1925) munkáiban jelenik meg. *Erlich* koncepciója szerint a gyógyszerhatás alapfeltétele a hatást kiváltó molekula és valamely sejtalkotó elem („receptor”) kapcsolódása („*Corpora non agunt nisi fixata*”). *Erlich* elképzelése szerint a kórokozó mikroszkopikus élőlények sejtjeinek a protoplazmája számos oldalláncot, ún. „receptort” tartalmaz. Normális körülmények között ezeknek a funkciója a sejt metabolizmusához szükséges tápanyag és oxigén felvétele. Kedvező hatás esetén a gyógyszer molekulája, a szerkezetére jellemző sajátos csoportok (farmakofor csoportok) segítségével, éppen ezekhez a receptorokhoz kapcsolódik, és ezzel meggátolja a mikroorganizmus normális élettevékenységet. A kötődés a gyógyszer molekulája és a „receptor” között (tipikusan másodlagos) kémiai kötések kialakulásával történhetik. Például a bázikus tulajdonságú festékek a receptorok savas jellegű csoportjaival kapcsolódnak.

Erlich munkahipotézise helyesnek bizonyult, bár elmélete az elmúlt időszakban tovább finomodott. Mindezek ellenére, *Ehrlich* egész munkásságát - a kemoterápia megalapozását és a receptor elmélet kidolgozását - határkönek is, de talán még inkább iránymutatónak tekinthetjük a gyógyszerkutatásban.

I.1 A gyógyszerhatás molekuláris alapjai

Az eredeti elképzések mai ismereteink alapján sokat fejlődtek. Így a gyógyszervegyületek (testidegen anyagok) biológiai hatásaink kialakulása molekuláris alapjai szempontjából a vegyületek két nagy csoportba oszthatók:

- 1.) Endogén celluláris (makro)molekulákkal (célmolekulákkal) kémiai kölcsönhatás kialakítása nélkül biológiai hatást eredményező vegyületek, valamint
- 2.) Az endogén celluláris (makro)molekulákkal (célmolekulákkal) kémiai kölcsönhatás kialakítása révén biológiai hatást eredményező vegyületek. Ez utóbbi vegyületek csoportja két további alcsoportba osztható, az alapján, hogy a kölcsönhatás természete
 - a.) kovalens, vagy
 - b.) nem-kovalens természetű.

I.1.1 Kémiai kölcsönhatás kialakítása nélkül ható vegyületek

Ebbe a csoportba tartozó vegyületek hatásukat fizikai, illetve fizikai-kémiai tulajdonságaik alapján fejtik ki. E csoportba tartoznak például

- a bélfal síkosításával ható hashajtók,
- a sós hashajtók,
- az ozmotikus hashajtók,
- az ozmotikus diuretikumok, vagy
- az inhalációs általános érzéstelenítők (anesztetikumok).

Az indifferens, *fel nem szívódó olajokat* (pl. paraffinolaj) hashajtóként lehet használni. A béltartalommal emulziót képezve a bélfalat sikamlóssá teszi, így enyhe hashajtó hatást vált ki.

A *sós hashajtók* fizikokémiai tulajdonságok alapján hatnak. A csoport jellegzetes képviselői a glaubersó (nátrium-szulfát-dekahidrát) és a keserűsó (magnézium-szulfát-heptahidrát). A fenti sók jellemzője a szulfátion tartalom. A szulfátionok rosszul szívódnak fel és így a bélsatornában maradnak. A béltartalom izotóniás a plazmával, így a nagy szulfátion-koncentráció miatt, a víz a béltraktusból nem szívódik fel. A belek víztartalma feszíti a bélfalakat és ezáltal növeli a perisztaltikát. Így a béltartalom gyorsabban távozik.

Az *ozmotikus hashajtók* hatásának fizikai-kémiai alapja megegyezik a sós hashajtóékkal: a gyomor-bélrendszerből nem szívódnak fel, a belek víztartalma feszíti a bélfalakat és ezáltal növeli a perisztaltikát. E csoportba tartozó jellegzetes vegyületek a mannit, a szorbit, a glicerin, a metilcellulóz, a guargumi és a laktulóz.

Az *inhalációs anesztetikumok* hatásmechanizmusát is fizikokémiai tulajdonságokkal lehet magyarázni. A csoport jellegzetes képviselői a dinitrogén-oxid, az éter, a halotán, az izoflurán, stb. *L. Pauling* elmélete szerint az inhalációs anesztetikumok a membránfehérjékhez kapcsolódó vízzel klatrát komplexet alkotnak. A vizet ezek a vegyületek megkötik, és így az idegtevékenységet biztosító ionok (nátriumion, kálium, klorid) mozgását gátolják. A feltevést – a komplex létét – röntgen diffrakciós mérésekkel igazolták.

I.1.2 Kémiai kölcsönhatás kialakításával ható vegyületek

I.1.2.1 Kovalens kölcsönhatás kialakítása révén ható vegyületek

Az ide sorolható vegyületeket további alcsoportokra oszthatjuk. Ezek egyikét azok a vegyületek képviselik, melyek a szervezet *endogén kis molekulatömegű vegyületeivel* lépnek kémiai reakcióba. E vegyületek egy gyakran alkalmazott csoportját képviselik az antacid szerek. Az antacid szerek (pl. nátrium-hidrogén-karbonát, kalcium-karbonát, bázisos magnézium-karbonát, alumínium-oxid) a fokozott gyomorsósav-termelés okozta panaszok enyhítésére szolgáló vegyületek. Általános jellemzőjük, hogy gyenge bázisok, melyek a gyomor sósavtartalmával sót képeznek.

A csoport másik nagy alcsoportját azok a vegyületek képviselik, melyek a *celluláris makromolekulákkal (célmolekulákkal)* reagálnak *kovalens kölcsönhatás* kialakításával. E vegyületek legismertebb példái az (a) alkiláló hatású daganatellenes szerek, valamint az (b) irreverzibilis enzim inhibitorok.

A *biológiai alkilezőszerek* fontosabb csoportjait
a nitrogénmustár-származékok,
a nitrózokarbamid- (nitrózourea-) származékok, valamint
a mitomicinek képviselik.

A vegyületek metabolikus átalakulása eredményeképpen reaktív elektrofil származékok keletkeznek, melyek képesek reagálni a célmolekulák (p. fehérjék, nukleinsavak, poliszacharidok) nukleofil csoportjaival. Az elektrofil metabolitok nagy reaktivitása eredményeképpen a vegyületek szelektivitása elsősorban a vegyületek megoszlásának és a reaktív metabolitok elsődleges képződési helyének különbözőségén alapul.

A celluláris célmolekulákkal kovalens kötést kialakító vegyületek között kiemelkedő jelentőséggel bírnak a szelektív gátló hatással bíró származékok. E származékok legtöbbje, mint különböző *enzimek irreverzibilis gátlója* ismert. Az ide tartozó vegyületek legismertebb példái

az acetilszalicilsav (szelektív COX-1 gátló)
 a tranilcipromin (nem-szelektív MAO gátló)
 a szelegilin (szelektív MAO-B gátló)
 a diizopropil-fluor-foszfát (acetilkolin-eszteráz gátló)
 az allopurinol (xantin-oxidáz gátló)
 a penicillinek és kefalosporinok (DD-transzpeptidáz gátlók).

I.1.2.2 Nem-kovalens kölcsönhatás kialakítása révén ható vegyületek

A legtöbb gyógyszerként alkalmazott vegyület kialakulásának molekuláris alapjait a vegyületek celluláris célmolekulákkal kialakított nem-kovalens kölcsönhatások képezik. A nem-kovalens kölcsönhatások nem eredményeznek új molekulákat. Meghatározó szerepet töltenek azonban be az ionok és molekulák egymás közötti kapcsolat kialakításában. A kapcsolat a kovalens kölcsönhatásoknál gyengébb, megfordítható (reverzibilis), érzékenyen változik a környezet molekuláris változásai függvényében. A legfontosabb nem-kovalens kölcsönhatásokat és rövid jellemzőit a I-1. táblázat foglalja össze.

I-1 táblázat: Nem-kovalens kölcsönhatások és legfontosabb jellemzőik.

Kölcsönhatás típusa	Jellemzés	Példa	Energia távolságfüggés
Ion-Ion	leghosszabb hatótáv, nem irányfüggő	ammóniumion - karboxilátion	$1/r$
Ion-Permanens dipólus	Erőssége függ a dipólus irányítottságától	ammóniumion - vízmolekula	$1/r^2$
Permanens dipólus-Permanens dipólus	Erőssége függ a két dipólus egymáshoz viszonyított orientációjától	vízmolekula - vízmolekula	$1/r^3$
Ion-Indukált dipólus	Erőssége függ az indukálható molekula polarizálhatóságától	ammóniumion - fenilcsoport	$1/r^4$
Permanens dipólus-Indukált dipólus	Erőssége függ az indukálható molekula polarizálhatóságától	vízmolekula - fenilcsoport	$1/r^6$
London-féle diszperziós effektus	Fluktuáló pillanatszerű töltések kölcsönös szinkronizációja	fenilcsoport - fenilcsoport	$1/r^6$
Rövidtávú taszítás	Elektronpályák közeledésekor, rendkívül rövidtávú	elektronpálya - elektronpálya	$1/r^{12}$
Hidrogénhidas kölcsönhatás	Elektrosztatikus, részlegesen kovalens	szekunder aminocsoport - karbonilcsoport	kötéshossz

A celluláris célmolekulák tipikusan a szervezet makromolekulái lehetnek. Ezek

- a.) a fehérjék,
- b.) a nukleinsavak,
- c.) a lipidek (sejtmembránok) és
- d.) a szénhidrátok

E makromolekulák mindegyike sokrétű funkciót tölt be az élő szervezetben. A gyógyszerhatás molekuláris szintű megismerése szempontjából legfontosabb csoportjai a fehérjék, a nukleinsavak, valamint a sejteket és a sejtorganellumokat körülvevő kettős lipidmembránok. Ez utóbbiakban számos fehérje természetű, különböző fiziológiás funkcióval rendelkező sejtalkotót is megtalálhatunk, melyek közül számos képezheti gyógyszermolekulák célpontjait. A terápiás szempontból legfontosabb celluláris célpontok funkcióinak gyógyszervegyületekkel történő módosításának lehetőségeit a II.-V. fejezetek tárgyalják.

A makromolekulák esetén a kölcsönhatás kialakulásában résztvevő molekulaszakasz megnevezése – az adott makromolekula celluláris funkciójától függően – célmolekula, kötőhely, aktív centrum, stb. lehet. E fejezet keretében a fehérjék és a lipidek szerkezeti jellegzetességei kerülnek bemutatásra. A nukleinsavak szerkezeti jellegzetességeit az V. fejezet mutatja be. A nemkovalens kölcsönhatásokat meghatározó fizikai-kémiai tulajdonságokat a VIII.-XII. fejezetek mutatják be.

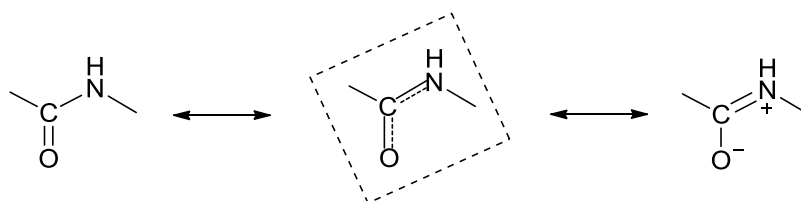
I.2 A gyógyszercélpontok (célmolekulák) szerkezeti jellegzetességei

I.2.1 A fehérjék szerkezete

A fehérjék az aminosavak polimerjeinek tekinthetők és kémiai vagy enzimatis hidrolízisükkor aminosavakra bomlanak. A fehérjék ún. *elsődleges szerkezete* maga az aminosav sorrend, amely az egymással peptidkötéssel kapcsolódó aminosavakból épül fel. A peptidkötés az egymást követő aminosavak karboxil- és aminocsoportjai között kialakuló savamid kötés (I-1. ábra). A kötésben a nitrogénatom nemkötő elektronpárja valamint a karbonilcsoport pi- és n-elektronjai konjugált rendszert képeznek, melynek következtében

1. A peptidkötés C-N kötésének kötésrendje megnő, a kötés körül a rotáció normál körülmények között gátoltá válik. A stabilisabb *transz* elrendeződés *cisz* térszerkezetté történő átrendeződéséhez (izomerizációjához) viszonylag nagy energia szükséges. A kedvezményezett *transz* formában a H-N-C=O atomok egy síkban helyezkednek el (lásd I-1. ábra).
2. A konjugáció eredményeképpen a savamid nitrogénatom vízzel szemben nem mutat bázikus tulajdonságot.

I-1. ábra: A peptidkötés szerkezete.



A láncot felépítő aminosavak sorrendjét az N-terminálistól indulva adjuk meg, leggyakrabban az egyes aminosavakat szimbolizáló két- vagy hárombetűs kódok segítségével.

A fehérjék egyenes láncú szerkezet energetikailag nem kedvező, ezért a fehérjeláncok egyes szakaszai –egymással kölcsönhatásba kerülve, *másodlagos*, *harmadlagos* és oligomer fehérjék esetén *negyedleges szerkezeti* elemeket hoznak létre. A háromdimenziós elrendeződés (konformáció) kialakításában résztvevő kölcsönhatások közül megemlítendő

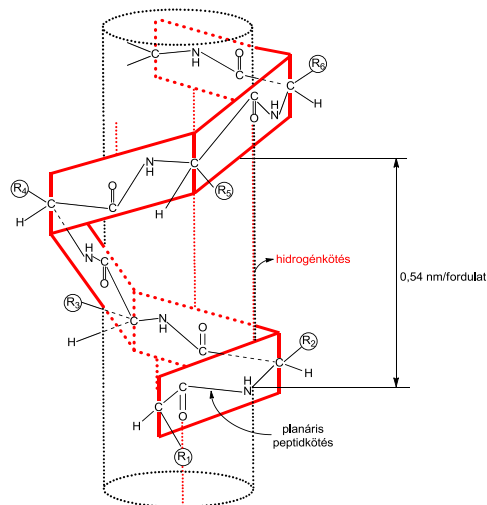
- a hidrogénkötések,
- az ionos kötések,
- a hidrofób kölcsönhatások, valamint a diszulfidhidak.

Mint látható, a fehérjék térszerkezetét (konformációját) a környezet által aránylag könnyen módosítható kölcsönhatások (a diszulfid hidak kivételével nem-kovalens kölcsönhatások) alakítják ki. Maguk a kölcsönhatások kooperativitást mutatnak: néhány kialakuló kapcsolat a továbbiak létrejöttét segíti. A fehérjék egyik alapvető tulajdonsága, hogy konformációjuk szoros kapcsolatban van a funkciójukkal; a funkció ellátása egy adott konformációhoz kötött. Így a konformáció módosulása (pl. testidegen anyagokkal történő kölcsönhatás kialakulása következtében) a fehérje funkcióját megváltoztathatja.

A fehérjék ún. másodlagos szerkezetét a peptidkötések és karbonil- és amidocsoportjai között kialakuló hidrogénhidak stabilizálják. A szerkezet annál stabilabb, minél nagyobb számú hidrogénhid kialakítására van lehetőség. A fehérjék szerkezetvizsgálata alapján megállapítható volt, hogy három kitüntetett ismétlődést (periodicitást) mutató másodlagos szerkezeti elem figyelhető meg: a csavarmentes *alfa hélix*, a redőzött *béta redő* és a *béta fordulat* képezik.

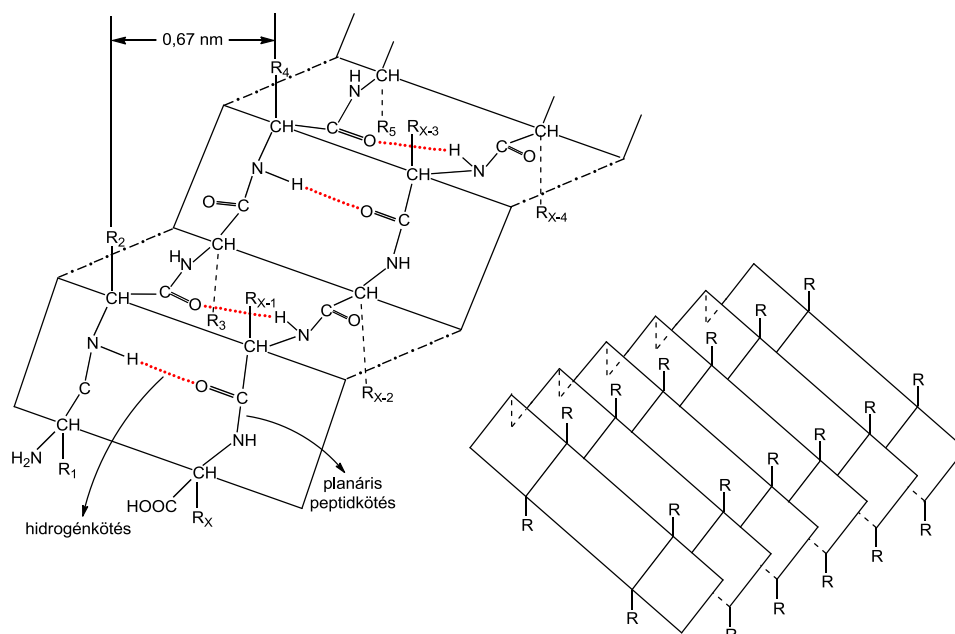
Az *alfa-hélix* esetében a peptidlánc NH és CO csoportjai között hidrogénhidak alakulnak ki oly módon, hogy minden negyedik aminosav egymáshoz kapcsolódik (I-2. ábra). A kialakuló stabil helikális szerkezet kialakításában leggyakrabban Ala, Cys, Leu, Met, Glu, Gln, His és Lys oldalláncok vesznek részt.

I-2. ábra: A fehérjék alfa-hélix szerkezete.



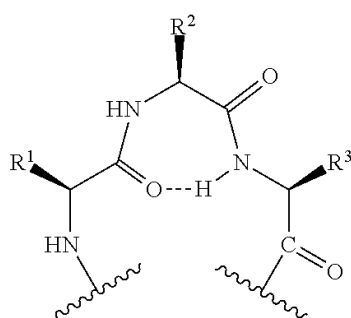
A *béta-redő* esetében nem a láncon belül, hanem a láncok között alakulnak ki a hidrogénhidak, a polipeptidláncok nem tekerednek fel, lemezes szerkezet alakul ki. (I-3. ábra). A Val, Ile, Phe, Tyr, Trp, Thr aminosavak gyakrabban fordulnak elő a béta redős szerkezetekben. A résztvevő láncok orientációjának függvényében a béta-redő lehet *paralel* vagy *antiparalel*.

I-3. ábra: A fehérjék béta-redő szerkezete.



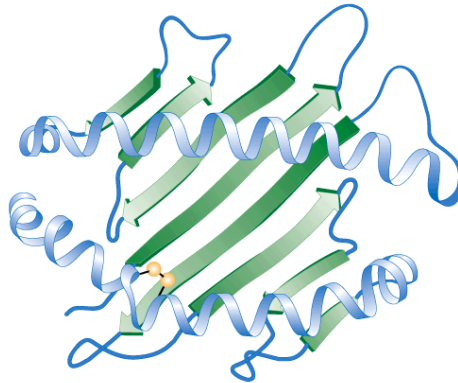
A *béta-fordulat* (*kanyar*) néhány aminosavból álló struktúra, amely két béta-redőt vagy alfa-hélixet köt össze (I-4. ábra). A Gly, Ser, Asp, Asn, Pro oldalláncok a béta fordulatos szerkezeteket preferálják.

I-4. ábra: A fehérjék béta-fordulat szerkezete.



A fehérjék feltekeredése során a másodlagos elemek összerendeződnek, először ún. szupermásodlagos elemek vagy *modulok* alakulnak ki, majd ezek további szerveződése alakítja ki a fehérjére jellemző háromdimenziós szerkezetet, a *harmadlagos szerkezetet* (I-5. ábra). Ezáltal alakulnak ki a fehérjemolekuláknak a funkció szempontjából kitüntetett kémiai struktúrái. A biológiailag aktív fehérjék funkciója csak ép (natív) harmadlagos szerkezet esetén biztosított.

I-5. ábra: A fehérjék harmadlagos szerkezete.



Bizonyos fehérjék esetén nem egyetlen polipeptidlánc alkotja a funkcionáló molekulát. Az ilyen fehérjéket oligomer fehérjéknek hívjuk, míg az egyes alkotó polipeptidek a protomerek, illetve alegységek. Az ilyen típusú fehérjék esetén a fehérjék alegységükből történő felépítettségét *negyedleges szerkezetnek* nevezzük. Ez a több alegységes fehérjék esetében bír nagy jelentőséggel, ahol a harmadlagos szerkezettel rendelkező alegységek tovább rendeződnek és így nyerik el funkcionális formájukat (pl. hemoglobin).

1.2.2 A lipidek tulajdonságai

A lipidek az élő szervezet kémiai igen heterogén csoportját alkotják. Közös fizikai-kémiai tulajdonságuk - ellentétben a fehérjékkel, a nukleinsavakkal és szénhidrátokkal – különböző mértékű, de mindig meghatározó apolaritásuk. Vízoldékonyságuk csekély, következésképpen apoláris oldószerekben (pl. petroléter, kloroform, éter, benzol) jól oldódnak. A lipidek az élő szervezetben több fontosabb funkciót látnak el:

- 1.) Hatékony energiaforrások
- 2.) Jó hő- és elektromos szigetelő, valamint mechanikai védelmet nyújtó anyagok.
- 3.) Fehérjékkel képzett komplexeik (lipoproteinek) fontos sejtalkotórészek.
- 4.) A szervezet anyagcsere-folyamatait szabályozó anyagok (hormonok, vitaminok, stb.).

A lipidek csoportosítása, mivel kémiai különböző szerkezetű anyagok, meglehetősen önkéntes. A lipideket osztályozhatjuk az apoláris tulajdonságokért felelős komponensek szerkezete alapján. Így megkülönböztethetünk

- a.) zsírsav-származékokat (*elszappanosítható* lipideket) és
- b.) poliprenil-származékokat (*nem-elszappanosítható* lipideket).

1.2.2.1 Elszappanosítható lipidek

Az elszappanosítható lipidek állandó összetevői a zsírsavak és a glicerin. További csoportosításuk alapját a két komponens mellett megtalálható szerkezeti elemek képezik. Ez alapján az elszappanosítható lipideket az alábbi csoportokba sorolhatjuk:

1. Egyszerű lipidek (trigliceridek)
Neutrális zsírok (zsírok, növényi olajok)

- Viaszok
2. Összetett lipidek
 - 2a. Foszfolipidek
 - Foszfogliceridek
 - Sztingolipidek
 - 2b. Glikolipidek
 - Sztingolipidek

Neutrális zsírok

A neutrális zsírok az élőlények tartalék tápanyagai. Az állati (és emberi) sejtekben megtalálható neutrális zsírok páros szénatomszámú, 12-22 szénatomot tartalmazó karbonsavak (zsírsavak) glicerinnel képzett észterei. Az emberi szervezetben a C₁₆ és a C₁₈ zsírsavak fordulnak elő legnagyobb mennyiségben. Közülük a legelterjedtebb a palmitinsav (16:0), a sztearinsav (18:0) és az olajsav (18:1 n-9). (Az 18:1 n-9 jelölés a 18 szénatomszámú zsírsavban megtalálható 1 darab C9-C10 atomok között elhelyezkedő szén-szén kettős kötés helyzetét jelöli.) A természetes zsírsavakban előforduló szén-szén kettős kötések konfigurációja a legtöbb esetben (Z). A szobahőmérsékleten szilárd triglicerideket zsíroknak, a folyadék állagúakat olajoknak nevezzük.

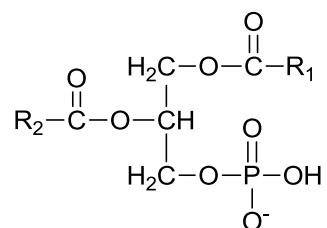
Viaszok

A viaszok hosszú szénláncú alkánok, és hosszú szénláncú alifás alkoholok telített zsírsavakkal képzett észtereinek az elegye. A viaszok gyümölcsök és külső rétegének védőhártyáját, madarak tollának víztaszító bevonatát képezik.

Foszfogliceridek

A *foszfogliceridek* elsősorban a biológiai membránok felépítésében vesznek részt. Szerkezeti jellemzőjük, hogy a glicerinnel két alkoholos hidroxilcsoportját zsírsav, míg az egyik láncvégi hidroxilcsoportját foszforsav észteresíti. Így alakul ki a foszfogliceridek alapvegyülete az *L-α-foszfatidsav* (I-6. ábra). A celluláris foszfatidokban kizárólagosan L-konfigurációjú α-foszfatidsav (2-(R)-foszfatidsav) fordul elő.

I-6. ábra: Az L-α-foszfatidsav (2-(R)-foszfatidsav) szerkezete.



A foszfogliceridek egyik vége foszforsav részt és alkoholt tartalmaz, amelyek együttesen a poláros, míg a szénhidrogénláncot tartalmazó rész az apoláros részt alkotja; emiatt a foszfoglicerideket *amfipatikus vegyületeknek* hívjuk. A foszfogliceridek tehát *poláros lipidek*. A foszfogliceridek felépítésében a következő alkoholok vesznek részt:

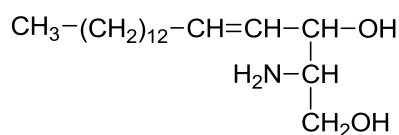
Foszfoglicerid	Alkoholkomponens	Szerkezet/Összegképlet
Foszfatidil-aminoetanol (kefalin)	aminoetanol	HOCH ₂ CH ₂ NH ₂
Foszfatidil-kolin (lecitin)	kolin	HOCH ₂ CH ₂ N ⁺ (CH ₃) ₃
Foszfatidil-szerin	szerin	HOCH ₂ CHNH ₂ COOH
Foszfatidil-inozitol	<i>mio</i> inozitol	C ₆ H ₁₂ O ₆
Biszfoszfatidil-glicerin (kardiolipin)	glicerin	HOCH ₂ CHOHCH ₂ OH

A foszfolipidek egy speciális csoportját képezik azok a származékok (*plazmalogének*), melyekben a glicerin C1-hidroxilcsoportjához éterkötéssel telített alifás láncú alkohol, vagy enoléter kötéssel α,β -helyzetben (*E*)-konfigurációjú kettős kötést tartalmazó telítetlen alkohol kapcsolódik. A vegyületek a foszfátidokhoz hasonló szerkezetű molekulákat képeznek, melyek elsősorban az izom- és idegmembránokban fordulnak elő nagyobb mennyiségben.

Szfingolipidek

A *szfingolipidek* olyan foszfolipidek, amelyeknek az alapvázát nem a glicerin, hanem egy 20 C-atomos aminoalkohol, a 4-szfingenin (szfingozin) alkotja. A szvingozin két aszimmetriás szénatomot tartalmaz. A természetben csak az egyik enantiomer (*D-eritro*-4-szfingenin) fordul elő (I-7. ábra).

I-7. ábra: A szvingozin (*D-eritro*-4-szfingenin) szerkezete.



A szfingolipidek általános felépítésében az aminocsoporthoz savamid kötéssel zsírsav, leggyakrabban sztearinsav kapcsolódik. Az alapváz C1-es pozíciójához glikozidos kötéssel cukorkomponens, vagy foszforsav-észter funkciós csoporton keresztül egyéb poláros csoport (pl. kolin) kapcsolódik. A kapcsolódó csoportok szerkezete alapján a szfingolipidek a (a) *foszfolipidek* vagy a (b) *glikolipidek* csoportjába sorolhatók.

A foszfolipid csoportba sorolható, legelterjedtebb *szfingomielinben* a szvingozin aminocsoportját sztearinsav acilezi, míg a primer alkoholos hidroxilcsoporthoz foszforil-kolin (kolin-foszfát) kapcsolódik.

A szfingolipidek legnagyobb csoportját azok molekulák képezik, melyekben a primer alkoholos hidroxilcsoporthoz glikozidos kötéssel cukorkomponens kapcsolódik. A cukorkomponens szerkezete alapján a vegyületek három csoportba sorolhatók:

- 1.) *Neutrális glikoszfingolipidek* (cerebrozidok),
- 2.) *Negatív töltésű, szíálsavat tartalmazó szfingolipidek* (gangliozidok), valamint
- 3.) *Galaktocerebrozidok kénsavészterei* (szulfatált glikolipidek).

I.2.2.2 Nem-elszappanosítható lipidek

A nem-elszappanosítható lipidek főbb csoportjait a
- terpének,

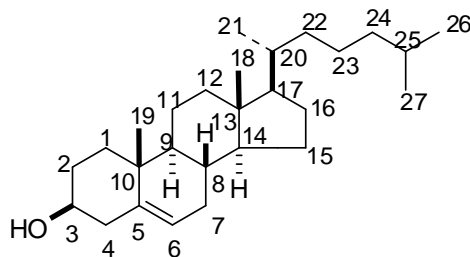
- szteroidok,
- zsírban oldódó vitaminok (A, D, E, K), valamint a
- prosztaglandinok

képezik.

A gyógyszerhatás fizikai-kémiai alapjainak megismerése szempontjából a nem-elszappanosítható lipidek legfontosabb csoportját a szteroidok képezik. Ezért e tananyag keretében csak e származékok kerülnek tárgyalásra.

A szteroidok összetett felépítésű, sokrétű biológiai funkcióval rendelkező vegyületek. Közös szerkezetük alapját a négy gyűrű kondenzációjával kialakult *szterán*-vagy más néven gonánváz alkotja. A szervezetben szintetizálódó szteránváz vegyületek (szteroidok) szintézisének előanyaga a *koleszterin*. A molekulában két metilcsoport (C10 és C13), egy alifás (izooktil) oldallánc (C17) valamint egy hidroxilcsoport (C3) található. A B gyűrűben egy kettős kötés van. A B/C és C/D gyűrűk *transz*-kapcsolódásúak, ezért a molekula elnyújtott térszerkezetű (I-8. ábra). A koleszterin szabad állapotban vagy zsírsavakkal képzett észterei formájában minden sejtben megtalálható. Részt vesz a sejtmembránok felépítésében is.

I-8. ábra: A koleszterin szerkezete.



A természetes szteroidok legfontosabb csoportjai a következők:

1. *Szterinek*. A koleszterinből származtatható, C3-helyzetben hidroxilcsoportot és C17-helyzetben szénhidrogénláncot hordozó vegyületek.
2. *D-vitaminok*. Vitaminhatású szterinszármazékok. Valójában nem vitaminok, mert prekursoruk a szervezetben képződő koleszterin.
3. *Epesavak*. Alapvegyületük a C17-oldalláncban karboxilcsoportot hordozó kolánsav. Detergens hatású vegyületek. A zsírokat emulgeálják a gyomor-bél rendszerben.
4. *Szteroid hormonok*. A vegyületek két nagy csoportját a nemi hormonok, valamint a mellékvesekéreg-hormonok képviselik.
5. *Szteroidglikozidok*. Növényi szteroidszármazékok. A gyógyászatban szívelégtelenség kezelésére alkalmazható származékok (pl. digitoxin).
6. *Szteroid-alkaloidok*. Általában mérgező tulajdonságú, növényi származékok. Kiindulási anyagai lehetnek gyógyászatilag értékes szteroidszármazékok előállításának.

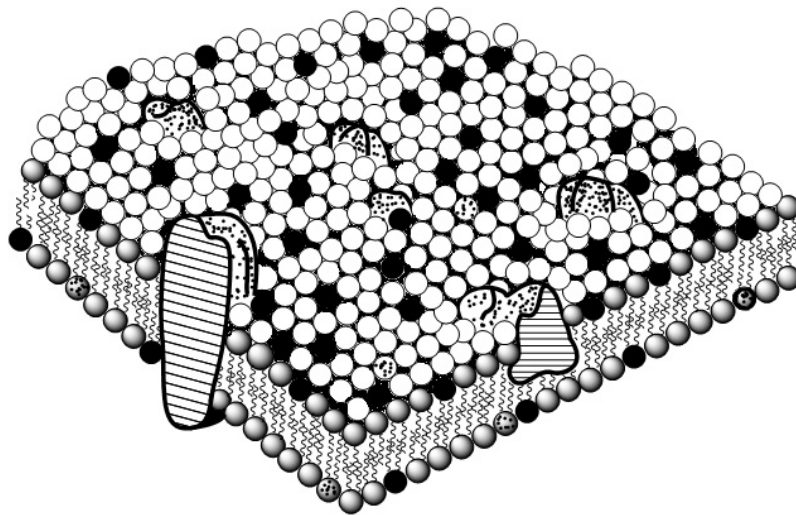
1.2.3 A sejtmembránok szerkezete

Az élő szervezetek alaki és működési egysége a sejt. A sejt belső terét a külső környezettől a *sejthártya* választja el, de egyben össze is köti azzal. Az általánosan elfogadott fluid-mozaik (folyékony-mozaik) membránmodell szerint a sejthártya váza

egy *foszfolipid kettősréteg*. A foszfolipid molekulák apoláros részeikkel egymás fele néznek, köztük Van der Waals-erők összekötő kapocsként hatnak. A foszfatidokon kívül más lipidek is megtalálhatók a membránban: a koleszterin a membránalkotók fixálását végzi, a glikolipidek (szfingomielin) a sejt azonosításában játszanak szerepet. A lipidalkotók függőleges irányban alig, oldalirányban azonban gyorsan mozognak, cserélnek helyet, egymással (*laterális diffúzió*), ezért a membrán félig folyékony (I-9. ábra).

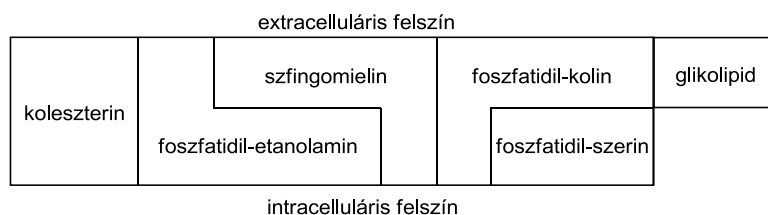
A sejthártya másik fontos összetevőjét a *membránfehérjék* csoportja adja. Ezek zömmel amfipatikus molekulák, azaz poláros és apoláros részeik is vannak. Ennek megfelelően strukturálódnak a membránba. A membránfehérjék lehetnek (a) perifériális fehérjék, vagy (b) integráns fehérjék. A perifériális fehérjék a membrán külső vagy belső felszínét képező hidrofil foszfatidrészekhez, vagy más membrán-fehérjékhez kötődnek. Az integráns fehérjék amfipatikusak, apoláros részeikkel beleolvadnak a kettős foszfatidréteg apoláros részébe.

I-9. ábra: A sejthártya mozaikmodellje.



A biológiai membránok kémiai összetételének tanulmányozása során felismerték, hogy a lipidek eltérő mennyiségben fordulnak elő a kettősréteg extracelluláris és intracelluláris oldalán. Így például az emberi vörösvértest membránjában a kolint tartalmazó foszfolipidek (szfingomielin és foszfatidil-kolin) szinte kizárólagosan az extracelluláris oldalon helyezkednek el. A primer aminocsoportot hordozó foszfolipidek (foszfatidil-etanolamin, foszfatidil-szerin) viszont az intracelluláris oldalon koncentráltabbak. A koleszterin szimmetrikus eloszlású, a plazmamembránok mindkét oldalán azonos mennyiségben mutatható ki (I-10. ábra)

I-10. ábra: A foszfolipidek megoszlása az emberi vörösvértest plazmamembránjában.



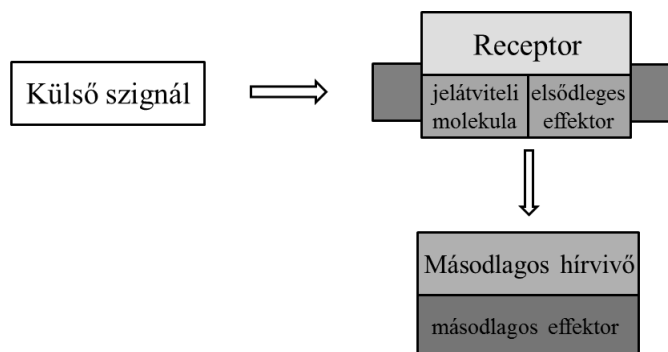
I.3 Irodalom

- Guba F.: Orvosi biokémia. Medicina Könyvkiadó, Budapest (1988)
- Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design and Action. (Editor: Smith H.J.) Harwood Academic Publishers, Amsterdam (1998)
- Novák L., Nyitrai J., Hazai L.: Biomolekulák kémiája. MKE, Budapest (2001)
- Ádám V., Dux L., Faragó A., Fésüs L., Machovich R., Mandl J., Sümegi B.: Orvosi biokémia. Medicina Kiadó, Budapest (2001)
- Atkins P.W.: Fizikai kémia I-III. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest (2002)
- Gergely P., Erdődi F., Vereb Gy.: Általános és bioszervetlen kémia. (Szerk.: Gergely P.) Semmelweis Kiadó, Budapest (2003)
- Gyógyszerészi kémia. Szerk.: Fülöp F., Noszál B., Szász Gy., Takácsné Novák K. Semmelweis Kiadó, Budapest (2010)
- A gyógyszerkutatás kémiája. Szerk. Keserű Gy. M. Akadémiai Kiadó, Budapest (2011)
- Gyógyszerek. Szerk. Faigl F. Elektronikus tankönyv. BME, Budapest (2011)
- Lemke T.L., Williams D.A., Roche V.F., Zito S.W.: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 7th Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2013)

II Receptorok, mint gyógyszer-célpontok

A *receptorok* az élővilág jelfelismerésre és továbbításra specializálódott makromolekulái. A szervezet receptorainak jelentős hányada ún. *szenzoros receptor*, melyek a látás, szaglás, hallás, mechanikai, kémiai vagy egyéb inger közvetítésében vesznek részt. Biokémiai értelemben a receptor olyan fehérje, amely egy bizonyos (általában kisméretű) molekulával kölcsönhatást alakít ki, és az annak következtében megváltozott háromdimenziós szerkezet a molekuláris környezetében további változásokat okoz. A receptorok jelfelismerő és jeltovábbító funkciója működési ciklus során valósul meg. Ennek első fázisa során egy *extracelluláris eredetű szignál*, vagy *szignált indukáló molekula* jut el/kötődik az (általában a sejtmembránba ágyazott) *receptorhoz*. Ennek eredményeképpen, megfelelő konformációs átrendeződés révén, a receptor továbbítja az információt az *(elsődleges) effektor*nak, vagy egy *jelátviteli molekulának* (transducer). A jelátviteli molekulák intracellulárisan lokalizálódó ún. *másodlagos hírvivő* részeket (ionok, molekulák) aktiválnak, melyek a *másodlagos effektor*tal történő kölcsönhatás eredményeképpen eredményezik a biológiai válaszreakciót (II-1. ábra). A *receptorok* a gyógyszeres terápiában használt hatóanyagok elsődleges célpontjai. A receptort specifikusan kötő anyagot *ligandum*nak, ezen belül a receptor aktivációját kiváltó anyagot *agonistának*, míg a receptor aktivációját gátló anyagot *antagonistának* nevezzük.

II-1. ábra: A receptor, a másodlagos hírvivő és az effektor fogalma.



Az eredeti „*receptor-teóriákban*” a „receptor” kémiai természete értelemszerűen nem volt részletes vizsgálatok tárgya. Az ismeretek szélesedésével és mélyülésével azonban ismertté vált, hogy az eredeti „receptor” fogalom számos celluláris makromolekulát, illetve makromolekulákból felépülő funkcionális egységet (*célmolekulát*) jelenthet.

Így a gyógyszerhatást kiváltó gyógyszermolekula-celluláris célmolekula kölcsönhatások az alábbi fő csoportokba sorolhatók:

1. Kölcsönhatás *receptorokkal*
2. Kölcsönhatás metabolikus, regulatorikus *enzim*ekkel
3. Kölcsönhatás transzporfehérjékkel, *transzporterekkel*
4. Kölcsönhatás *strukturális fehérjékkel*
5. Kölcsönhatás *nukleinsavakkal*

Jelen fejezet a fenti beosztás szerint értelmezett receptorok természetével foglalkozik.

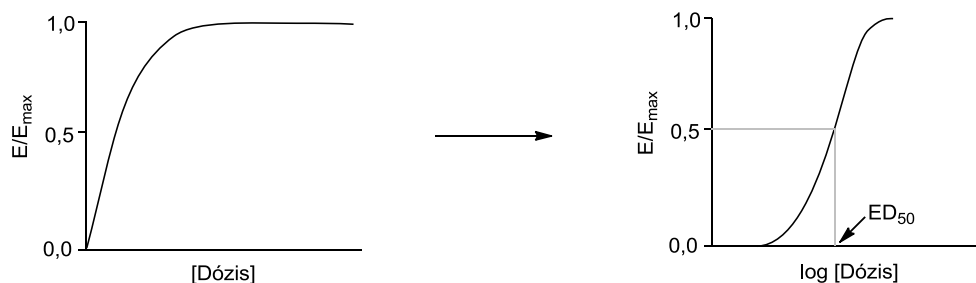
A gyógyszerek (testidegen anyagok) biológiai hatása gyakran egy ismert endogén vegyület (pl. acetilkolin, norepinefrin, szerotonin, gamma-aminovajsav, stb.) biológiai hatásának kialakulásában szerepet játszó receptorral kialakított kölcsönhatás eredménye. Így gyógyszerkutatás egyik fő célpontjai a receptorok, amelyeken ható gyógyszermolekulák a biológiai működéseket specifikusan befolyásolni képesek.

Ahhoz, hogy egy testidegen molekula kötődése egy fehérjéhez receptorkötődésnek legyen tekinthető (más szóval, a fehérje receptornak legyen tekinthető) a következő legfontosabb kritériumnak kell megfelelnie:

1. A receptornak nagy affinitást kell mutatnia a ligandum iránt,
2. A receptornak nagyfokú szerkezeti és sztereospecificitást kell mutatnia a ligandummal szemben,
3. A receptor alacsony ligandum-koncentrációnál telíthető legyen,
4. A ligandum-receptor kölcsönhatás reverzibilis legyen,
5. A receptor expressziója mutasson megfelelő eloszlást és szöveti specificitást,
6. A ligandum megfelelő agonistákkal és antagonistákkal a receptor-kötődésből felszabadítható legyen, valamint
7. A ligandum *in vitro* receptor affinitása és *in vivo* farmakológiai hatásossága pozitív korrelációt mutasson.

A receptorok működése és a receptorhoz kötődő anyagok hatáskiváltó képessége kvantitatív módon, ún. *dózis-hatás összefüggésekkel* is jellemezhető, melynek nagy jelentősége van a modern gyógyszerkutatásban. Ennek lényege, hogy amennyiben a ligandumot fokozatosan növekvő koncentrációban adjuk a receptorhoz, a kiváltott válasz mértéke először lassan, majd egyre meredekebben emelkedik - azzal párhuzamosan, hogy a receptorok kötőhelyeit elfoglalja - majd egy bizonyos koncentráció fölött már nem növelhető tovább, amikor már valamennyi kötőhely foglalt. A fokozatos dózis-hatás(válasz) görbe egyedi változást fejez ki egy adott gyógyszer növekvő koncentrációi mellett. A változás nagysága összefüggésben van a receptorok számával, melyekkel a gyógyszer kapcsolatba lép. E dózis-válasz görbék szemilogaritmikus (válasz-log dózis) formái jellegzetes szigmoid alakot öltenek, melyről leolvasható a ligandum hatékonysága (ED_{50}), vagyis a félmáximális hatáshoz szükséges ligandum dózis, illetve a hatáserőssége (E_{max}), ami a maximálisan kiváltható válasszal egyenlő (II-2. ábra).

II-2. ábra: A dózis-válasz görbe különböző formái.



A dózis-válasz görbe alakja és lefutása függ a ligandum (gyógyszer) receptorral szemben mutatott *affinitásától* és a *belső aktivitástól*. Az affinitás erősségét a dózis-válasz görbe X tengelyhez viszonyított helyzete, míg a belső aktivitást a válasz nagysága határozza meg:

A **hatékonyság** (*potency*) az adott nagyságú hatás kiváltásához szükséges ligandum dózis (koncentráció). A gyógyszer hatékonysága azt fejezi ki, hogy mennyi gyógyszerre van szükség a hatás elérésére (pl. ED_{50}). A gyógyszer hatékonyságát a gyógyszer receptorhoz való *affinitása* határozza meg és az alkalmazott gyógyszer azon mennyisége, mely ahhoz szükséges, hogy a gyógyszer a receptort elérje.

A **gyógyszerhatás erőssége** (*efficacy*) az a maximális gyógyszerhatás, amely egyáltalán elérhető az adott gyógyszerrel (E_{max}). A hatáserősséget számos tényező határozza meg, mint a gyógyszer-receptor komplexek száma, a gyógyszer képessége hogy aktiválja a receptort, ha kötődött (*belső aktivitás*) és a célszerv állapota.

A **meredekség** (*slope*) a dózis-válasz görbe középső szakaszán mérhető. A meredekség gyógszertől és hatástól függő.

A különféle testidegen anyagok lipofil tulajdonságuktól függően extra vagy intracellulárisan lokalizálódó receptorokhoz kötődhetnek. A *lipofil* molekulák (pl. szteroid hormonok, tiroid hormonok, D_3 vitamin) a plazmamembrán lipid rétegén keresztül diffundálnak és *intracelluláris receptorukhoz* kötődnek. A *hidrofil/vízoldékony* vegyületek (pl. peptid hormonok, neurotranszmitterek), nem képesek áthatolni a lipidben gazdag rétegen, ezért hatásuk kiváltásához a membránba ágyazódó, a membrán felszínén lokalizálódó ligandum kötőhellyel bíró *sejtfelszíni (extracelluláris) receptorokra* van szükségük. A receptorok különböző típusait celluláris lokalizációik és funkcióik alapján a következő csoportokba sorolhatjuk

1.) Sejtfelszíni (extracelluláris) receptorok

- a.) Ligandum-aktivált ioncsatornák (ionotróp receptorok)
- b.) Saját enzimaktivitás nélküli receptorok (metabotróp receptorok)
 - G-fehérje kapcsolt receptorok
 - Tirozin-kinázhoz kapcsolt receptorok
 - Proteolízisen keresztül szabályozó receptorok
- c.) Saját enzimaktivitással bíró receptorok (metabotróp receptorok)
 - Tirozin-kináz receptorok
 - Tirozin-foszfataz receptorok
 - Guanilát-cikláz receptorok
 - Szerin/Treonin-kináz receptorok

2.) Intracelluláris receptorok

- d.) Intracelluláris sejtmag receptorok
 - Homodimer receptorok
 - Ösztrogén receptorok
 - Androgén receptorok
 - Progeszteron receptorok
 - Glükokortikoid receptorok
 - Mineralokortikoid receptorok
 - Heterodimer receptorok
 - Retinsav receptorok
 - D_3 -vitamin receptorok
 - Tiroid receptorok

II.1 Sejtfelszíni receptorok

A sejtfelszíni receptorok a sejtmembránba integrálódó komplexek, melyek ligandum-kötőhelyei leggyakrabban az extracelluláris oldalon található. A ligandum-aktivált ioncsatornák és a saját enzimaktivitás nélküli receptorok működésének alapját az inaktív receptor ligandum-kötődés következtében bekövetkező konformációváltása képezi. Az ioncsatornához kötött receptorok egyes ionok be(ki)áramlását szabályozzák a sejtekbe(ből). A ligandum kötődése vezet a csatorna nyitásához. A G-fehérje kapcsolt receptorok a G-fehérjék aktiválásán keresztül másodlagos hírvivő molekulák (cAMP, IP₃ és DAG) keletkezését indítják be, ami enzimek és gének aktivitásának változásához vezet. Egyes receptorok (pl. citokin receptorok, eritropoetin, interferonok, interleukinek receptorai, Fc receptorok) tirozin-kináz enzimekhez kapcsoltan működnek. A proteolízisen keresztül szabályozó receptorok (pl. tumor nekrosis faktor receptorok) aktiválása proteolitikus folyamatot indítanak el. A feszültségfüggő ioncsatornák a IV. fejezetben kerülnek bemutatásra.

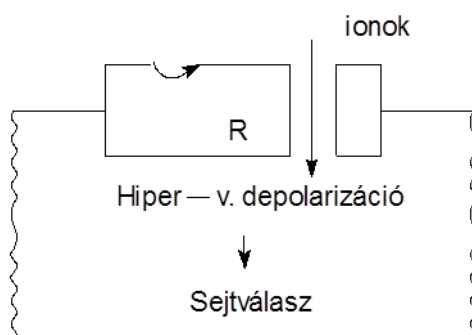
II.1.1 Ligandum-aktivált ioncsatornák (ionotróp receptorok)

Az ionok extracelluláris és intracelluláris koncentrációja több alapvető celluláris funkció kritikus meghatározója. Ezért az ioncsatornák fiziológias működése alapvető fontosságú. Az ioncsatornák működésének gátlása és aktiválása egyaránt lehetséges. Az elsődleges inger alapján történő csoportosítás szerint megkülönböztethetők

feszültségfüggő ioncsatornák, és
ligandum-aktivált ioncsatornák.

A *ligandum-aktivált ioncsatornák* más néven *receptor ioncsatornák*, vagy *ioncsatorna-(ionotróp)receptorok* leggyakrabban az idegrendszerben és kontraktilis sejtekben (sima/harántcsíkolt/szívizom) fordulnak elő. A ligandummal történő kölcsönhatás eredményeképpen az ioncsatorna receptorok kinyílnak és az extra- és intracelluláris ionkoncentráció grádiens következtében nátrium-, kálium-, kalcium- vagy kloridionok áramlanak át az ioncsatornán keresztül (II-3. ábra). A gyors ionáramlás eredményeképpen az ioncsatorna receptorok gyors információ/ingerületátvitelt eredményeznek. A *feszültségfüggő ioncsatornák* a IV. fejezetben kerülnek bemutatásra.

II-3. ábra: A receptor ioncsatornák egyszerűsített szerkezete.



Az ioncsatorna receptorokat szerkezetük és működésük mechanizmusa alapján 3 csoportba soroljuk:

I.) *Cisz-hurok receptor ioncsatornák.*

Nevüket két cisztein egység diszulfid-híd képződése révén kialakított hurokról kapták. Általában pentamer szerkezetű fehérjék, mindegyik alegységük 4 transzmembrán régiót tartalmaz. A cisz-hurok ioncsatorna receptorokat az ioncsatornán áteresztett ionok töltése, illetve a csatornát aktiváló endogén ligandum kémiai struktúrája alapján csoportosíthatjuk.

1. Anion-típusú cisz-hurok receptor ioncsatornák

- a.) GABA_A (kloridion) receptorok,
- b.) glicin (kloridion) receptorok.

Gátló szerepet töltenek be a központi idegrendszerben.

2. Kation-típusú cisz-hurok receptor ioncsatornák

- a.) acetilkolin nikotinos (nAChR) (nátrium-, kálium- és kalciumion) receptor
- b.) szerotonin (5-HT₃) (nátrium-, kálium- és kalciumion) receptorok.

Serkentő szerepet töltenek be a központi idegrendszerben.

II.) *Glutamát-aktivált receptor ioncsatornák.*

A glutamát-receptorok közös jellemzője, hogy 4 alegységből felépülő heterotetramer szerkezetű fehérjék. Az egyes alegységek 4 membránba (M1-4) ágyazott régiót tartalmaznak. Mindegyik receptor aktiválható glutamáttal, de számos egyéb vegyület létezik, melyek csak adott szerkezetű és felépítésű glutamát-receptorokhoz kötődnek. Ezek alapján 3 receptor alcsalád különíthető el.

- 1. AMPA (α -amino-3-hidroxi-5-metiloxazol-4-propionsav)-aktivált (GluA) receptorok
- 2. Kainát(KA)-aktivált (GluK) receptorok
- 3. NMDA (N-metil-D-aszpartát)-aktivált (GluN) receptorok.

A receptorok Na⁺, K⁺ és Ca²⁺-ionok számára átjárhatók. A Ca²⁺-ionokra elsősorban az NMDA receptorok permeabilisek, az AMPA és a kainát receptorok esetében a Ca²⁺-ion permeabilitás általánosan nem jellemző, csak bizonyos esetekben figyelhető meg. Serkentő szerepet töltenek be a központi idegrendszerben.

III. *ATP-aktivált receptor ioncsatornák.*

Az ATP-aktivált receptorok három homológ alegységből állnak, minden alegység két transzmembrán régiót tartalmaz. A receptorok ioncsatornája ATP kötődése eredményeképpen aktiválódik. E csoportba sorolhatók a purinerg receptorok P_{2X} alcsaládjá. A receptorok Na⁺, Mg²⁺ és Ca²⁺-ionok számára átjárhatók.

A legfontosabb receptor ioncsatornákat a II-1. táblázat mutatja be.

II-1 táblázat: Fontosabb ioncsatorna-receptorok.

Receptor	Fiziológiás agonista	Ioncsatorna	Antagonista*
Nikotin	Acetilkolin	Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺	Tubokurarin
GABA _A	gamma-Aminovajsav	Cl ⁻ , HCO ₃ ⁻	Bicucullin
Glicin	Glicin	Cl ⁻ , HCO ₃ ⁻	Sztrichnin
Szerotonin (5-HT ₃)	Szerotonin	Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺	Granizetron
AMPA, Kainát	Glutaminsav	Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺	CNQX, DNQX
NMDA	Glutaminsav	Na ⁺ , K ⁺ , Ca ²⁺	AP5, AP7
P _{2X}	ATP	Na ⁺ , Mg ²⁺ , Ca ²⁺	Szuramin

*Nem teljes felsorolás

A *ligandum-aktivált ioncsatornák* egy másik csoportját képezik az *intracelleuláris* ioncsatornák, melyek másodlagos hírvivőkkel történő kapcsolódást követően aktiválódnak. Ide tartoznak

- a) a ciklikus nukleotid-aktivált receptor ioncsatornák (nemszelektív kationcsatornák),
- b) az inozitol-trifoszfát (IP₃) receptor ioncsatorna (kalciumion csatorna), valamint
- c) a rianodin receptor ioncsatorna (kalciumion csatorna).

A receptor ioncsatornákon ható szerek között számos a központi idegrendszer GABA_A receptorain ható gyógyszermolekulát találunk, melyek közül legfontosabbak a barbiturátok és a benzodiazepinek.

A GABA_A receptoron ható barbiturátok a receptor barbiturát specifikus kötőhelyéhez kapcsolódva – megnövelve a csatorna nyitott állapotának idejét - fokozzák a gamma-aminovajsav (GABA) által kiváltott kloridion áramot, tartósan hiperpolarizálva a membránt és ezáltal csökkentve a neuronok ingerelhetőségét. Nagyobb koncentrációban gátló hatást fejtenek ki a glutamát-aktivált AMPA-receptorokra is.

A benzodiazepinek ún. alloszterikus moduláció útján fejtik ki hatásukat: specifikus kötőhelyükhöz történő kapcsolódásuk eredményeképpen megnövelik a receptor érzékenységét a GABA iránt. Az eredmény a kloridion-csatorna nyitási frekvenciájának megnövekedése. (Különbség a barbiturátok hatásmódjától.)

II.1.2 Saját enzimaktivitás nélküli receptorok (metabotróp receptorok)

Mivel gyógyszerkincsünk jelentős hányada G-fehérjéhez kapcsolt receptorokon fejt ki hatását, ezért e tananyag keretében a saját enzimaktivitással nem rendelkező sejtfelszíni receptorok közül csak a G-fehérjéhez kapcsolt receptorok kerülnek bemutatásra. A tirozin-kinázhoz kapcsolt receptorok és a proteolízisen keresztül szabályozó receptorok szerkezetéről, működéséről és szabályozásáról számos jó összefoglaló mutatja be.

II.1.2.1 G-fehérjéhez kapcsolt receptorok

A G-fehérjéhez kapcsolt receptorok (GFKR) szupercsaládjába nagyszámú receptor tartozik, és az emberi genom egyik legnagyobb (a kódolt fehérjék kb. 3 %-a) családját alkotják. E receptorok mind a belső környezetből (hormonok, neurotranszmitterek), mind a külső térből érkező információ (fény, szagok, ízek) közvetítésében részt vesznek. E receptorcsaládba 300-nál is több receptor tartozik, így a ma használt gyógyszerek közel 50%-a is GFKR-en keresztül hat. A receptorok nem rendelkeznek intracelluláris effektor funkcióval, ligandumjuk kötésének következtében az adott receptorra jellemző sejten belüli jelpályák indulnak be, melyek kiváltják a sejtválaszt.

A G-fehérjékhez kapcsolt receptorok hét transzmembrán régióval, valamint extra- és intracelluláris hurokrendszerrel rendelkeznek, és monomer vagy oligomer formát is ölthetnek. A receptorokhoz kötődő vegyületek biológiai hatásának kialakulásában alapvető fontosságú G-fehérjék ugyancsak a membránba ágyazódnak, de a receptorral ellentétben mobilisak, és kapcsolatot tudnak létesíteni a receptor és az effektor molekulák között. Ez utóbbiak lehetnek (a) intracelluláris ioncsatornák (mint pl. káliumion-csatorna, feszültségfüggő kalciumion-csatornák), vagy (b) sejten belüli jelátvivő enzimek (mint pl. az adenilát-cikláz, guanilát-cikláz vagy a foszfolipáz-C). A

jelátvitel ezen második szintjét az effektor által felszabadított másodlagos messenger (hírvivő) molekulák szabályozzák. A G-fehérjék által aktivált legfontosabb hírvivő molekulákat (ionokat) és azok legfontosabb tulajdonságait a II-2. táblázat foglalja össze.

II-2 táblázat: A legfontosabb hírvivő molekulák (ionok) tulajdonságai.

Hírvivő molekula (ion)	Forrás	Intracelluláris cél-molekulák/sejtalkotók	Elimináció
Kalciumion	I. Plazma membrán: a.) feszültségfüggő kalcium-csatornák b.) ligandumvezérelt kalcium-csatornák II. Endoplazmatikus retikulum: IP ₃ receptorok Rianodin receptorok	Kalmodulin Protein-kinázok Protein-foszfátázok Ioncsatornák További kalciumion-kötő fehérjék	I. Plazma membrán: 1. Na ⁺ /Ca ²⁺ -csere-transzport 2. Ca ²⁺ -ATPáz II. Endoplazmatikus retikulum: Ca ²⁺ -ATPáz III. Mitokondrium belső membrán: Ca ²⁺ -uniporter
Ciklikus AMP (cAMP)	Adenilát-cikláz-ATP reakció	Protein kináz A Ciklikus nukleotid-vezérelt intracelluláris receptorok	cAMP-foszfodieszteráz
Ciklikus GMP (cGMP)	Guanilát-cikláz-ATP reakció	Protein kináz G Ciklikus nukleotid-vezérelt intracelluláris receptorok	cAMP-foszfodieszteráz
Inozitol-trifoszfát (IP ₃)	Foszfolipáz C-PIP ₂ reakció	Inozitol-trifoszfát (IP ₃) receptorok (endoplazmatikus retikulumon)	Foszfátázok
Diacil-glicerin (DAG)	Foszfolipáz C-PIP ₂ reakció	Protein kináz C	Számos enzim

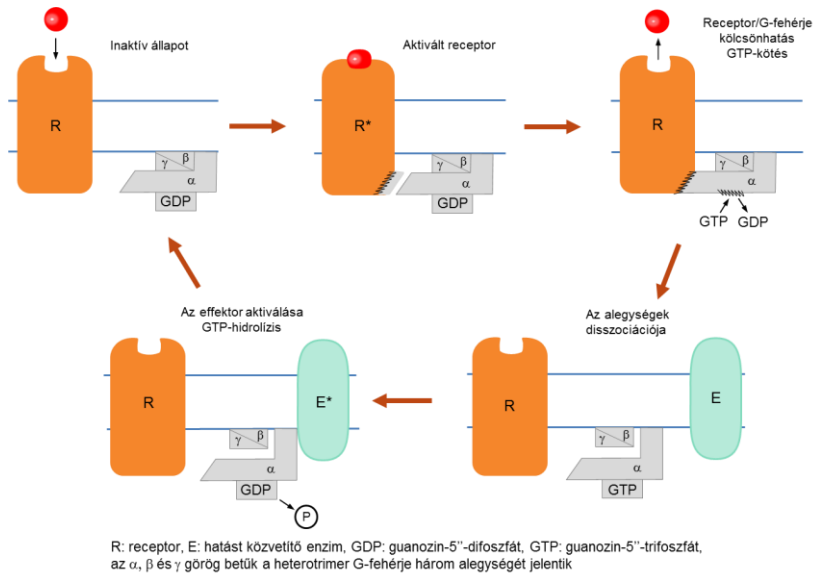
Megjegyzés: PIP₂: foszfatidil-inozitol-biszfoszfát

A táblázatban szereplő molekulák mellett megemlítendő a nitrogén monoxid (NO), (mint intracelluláris jelátviteli molekula) ami a nitrogén monoxid szintáz által L-argininből szintetizálódik. A simaizom sejtekben a NO a guanilát-ciklázot aktiválja, ami a GTP-t cGMP-vé alakítja. A cGMP a protein-kináz G-t - egy szerin/treonin-kinázot - aktivál. A kináz részt vesz a simaizom relaxációjában, a trombocita funkció szabályozásában, a spermium sejtek anyagcseréjében, a sejtosztódásban és a nukleinsav szintézisben.

A G-fehérjék a receptor intracelluláris IL2 és IL3 részeihez kötődnek. A trimer G-fehérjék α-, β- és γ alegységekből álló komplexek. Inaktív formában a G-fehérje α alegysége GDP-t köt. Ligand kötés hatására a GDP GTP-re cserélődik, ami egy aktív formát eredményez. Az aktív G_α disszociál a komplexről és effektor fehérjékhez

asszociálódik. Végül a GTP-t a G_α hidrolizálja és az inaktív G_α újból asszociálódik a $G_{\beta\gamma}$ -7-TM receptor komplexhez. A G_γ alegység C-terminális izoprenil láncsal rendelkezik, ami az alegységet a plazma membránhoz horgonyozza (II-4. ábra). Ha a jeltovábbítás a $G_{\beta\gamma}$ -alegység révén történik, a jeltovábbításban ioncsatorna-moduláció (kalcium- és kálium-ioncsatornák) játszik szerepet.

II-4. ábra: A G-fehérjéhez kapcsolt receptorok aktiválásának modellje.



Szerkezetük és funkciójuk alapján hét különböző G_α alegységet különítünk el II-3. táblázat).

II-3 táblázat: A G-fehérjék osztályozása α -alegységeik alapján.

G-fehérje α -alegység	Előfordulás	Funkció
G_s	minden szövet	Adenilát-cikláz aktiválás Kalciumion-csatorna aktiválás
$G_{s(olf)}$	szaglőideg	Adenilát-cikláz aktiválás
G_i	csaknem minden szövet	Adenilát-cikláz gátlás Káliumion-csatorna aktiválás
G_t	retina	cGMP-foszfodiesteráz (transzducin) aktiválás
G_o	agy	Kalciumion-csatorna gátlás
G_q	csaknem minden szövet	Foszfolipáz C aktiválás
$G_{12/13}$	minden szövet	Monomer („kis”) G-fehérjék aktiválása

A legfontosabb, transzmitterekkel aktivált G-fehérjékkel kapcsolt receptorokat, valamint gyógyszerként alkalmazott agonistáit és/vagy antagonistáit a II-4. táblázat foglalja össze.

II-4 táblázat: Transzmitterekkel aktivált G-fehérjékkel kapcsolt receptorok jellemzése.

Receptor	Fiziológiás agonista	Nem-fiziológiás agonista*	Antagonista*
Ópiát (mu, kappa, delta)	enkefalinok	Morfin	Naloxon, Naltrexon
Dopamin (D1-D5)	dopamin	Apomorfin (D2-D5) Brómokriptin (D2) Pergolid (D2-D4)	Klórpromazin (D2) Levopromazin (D2) Szulpirid (D2/D3) Tiaprid (D2/D3)
Szerotonin (5-HT1-5-HT7)	szerotonin (5-HT)	Ergotamin (5-HT1B), Meszkalin (5-HT2A), Tradozon (5-HT2C), 5-Metoxi-triptamin (5-HT7)	Klozapin, Riszperidon, Mianszerin (5-HT2A), Amitriptilin, Klozapin, Fluoxetin (5-HT2C), Amitriptilin, Klozapin, Imipramin (5-HT7)
Muszkarin	acetilkolin	Pilokarpin	Trihexifenidil, Metixén, Atropin, Homatropin, Ciklopentolát, Prociklidin
Adrenerg (alfa)	noradrenalin, adrenalin	Fenilefrin, Klonidin, Guanfacin,	Fentolamin, Ergotamin, Prazozin, Teratozin, Doxazozin
Adrenerg (alfa+béta)	noradrenalin, adrenalin	Izoprenalin, Dobutamin, Efedrin	
Adrenerg (béta)	noradrenalin adrenalin	Szalbutamol, Terbutalin, Fenoterol,	Oxprenolol, Propranolol, Pindolol, Atenolol, Betaxolol
GABA _B	GABA	Baklofén	Szaklofén
Glutamát (NMDA)	Glutaminsav	N-metil-D-aszpartát (NMDA)	Amantadin
Hisztamin (H1)	hisztamin	2-Piridiletamin	Difénhidramin, Dimetindén, Kloropiramin, Cetirizin, Prometazin, Loratidin, Terfenadin, Asztemizol
Hisztamin (H2)	hisztamin	5-Metilhisztamin	Cimetidin, Ranitidin, Famotidin
Angiotenzin-I	Angitenzin-II	Novokinidin	Lozartán, Valzartán, Irbezartán

*Nem teljes felsorolás.

II.1.3 Saját enzimaktivitással bíró receptorok

Saját enzimaktivitással bíró receptorok több alegységből álló transzmembrán fehérjék, melyek intracelluláris doménje saját (intrinsic) enzimikus aktivitással rendelkezik. A ligandum-kötődés hatására konformáció változás jön létre a transzmembrán hélixben, ami az enzimikus aktivitás kialakulásához és a jelátviteli kaszkád beindulásához vezet.

A saját enzimaktivitással bíró receptorok a következő csoportokba sorolhatók:

1. Receptor tirozin-kinázok (RTK) (pl. EGF, VEGF, PDGF, inzulin és FGF receptorok)
2. Receptor tirozin-foszfatazok (pl. leukocita common antigen (CD45))
3. Receptor guanilat-ciklázok (pl. pitvari (atrialis) nátriumürítő faktor (ANF) receptorok)
4. Receptor szerin/treonin-kinázok (pl. aktivin és TGF- β receptorok)

A saját enzimaktivitással rendelkező receptorok közül farmakológiai szempontból kiemelkedő jelentőségűek *tirozin-kináz aktivitással* rendelkező receptorok. E receptorok közé tartoznak bizonyos (a) hormonok, mint pl. az inzulin, (b) az immunrendszer jelátvivő anyagainak, a citokineknek (pl. interleukin-1-béta, TNF-alfa) a receptorai, valamint (c) az ún. növekedési faktorok (pl. EGF, VEGF, PDGF) receptorai. E két utóbbi receptorcsaládon ható újfajta gyógyszerek robbanásszerű fejlődést eredményeztek a gyógyszerfejlesztés egyes területein. Így megemlíthetők

1. A daganatsejtekben túlexpresszált, tirozin-kináz aktivitással bíró epidermális növekedési faktor (EGF) aktivitását gátló (kismolekulájú) *imatinib*; valamint
2. A daganatsejtekben túlexpresszáldó EGF, valamint vaszkuláris endothel növekedési faktor (VEGF) aktiválódásának gátlása ún. monoklonális ellenanyagokkal. Előbbi (EGF) esetén a *rituximab*, és a *cetuximab*, utóbbi (VEGF) esetén a *bevacizumab* a megemlíthető példa.

A fenti gyógyszerek (receptor tirozin-kináz gátlók és monoklonális ellenanyagok) a tirozin-kináz receptorokhoz kapcsolódó jelátviteli utak befolyásolásával eredményesen tudják megakadályozni az autoimmun betegségekben kórosan fokozott gyulladáskeltő citokinek termelődését, illetve egyes rosszindulatú daganatok növekedését.

II.2 Intracelluláris receptorok

Az intracelluláris receptorok a sejtthártyán belül lokalizálódó receptor tulajdonságokkal rendelkező molekulakomplexek. Az intracelluláris receptorok két nagy csoportba sorolhatók:

- (a) sejtmag receptorok (nukleáris receptorok), és
- (b) az intracelluláris sejtorganellumok (pl. endoplazmás (szarkoplazmás) retikulum, mitokondrium) membránjába intergrálódó receptorok. (Ez utóbbi receptorok e tananyag keretében nem kerülnek részletes bemutatásra.)

A sejtmagreceptorok elsősorban lipofil tulajdonságú hormonok szteroid hormonok, tiroid hormonok, retinoidok, D-vitaminok, lipid szenzorok, valamint zsírsavak és archidonsav származékok hatásait közvetítik. A nukleáris receptorok alapállapotban a citoplazmában (I. típusú receptorok) vagy a sejtmagban (II. típusú receptorok) ko-represszor fehérjékhez (pl. HSP90), vagy DNS-hez kapcsolódva találhatóak.

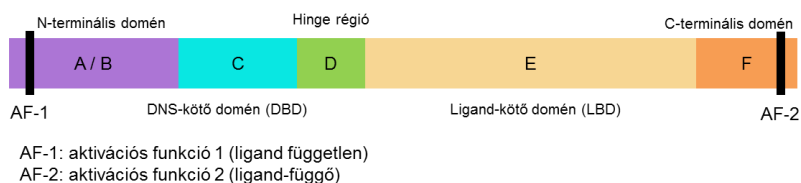
A sejtmagreceptorok szekvencia-homológia alapján a következő csoportokba sorolhatók:

- I. Tiroidhormon-szerű receptorok:
 - Tiroidhormon receptor (TR)
 - D-vitamin receptor (VDR)
 - Retinsav receptor (RAR)
 - Farnezil X-receptor (FXR)
 - Peroxiszóma proliferációt aktiváló receptor (PPAR)

- Hepatitis X-receptor (LXR)
- Pregnán X-receptor (PXR)
- Konstitutív androszteron receptor (CAR)
- II. Retinoid X-szerű receptorok
 - Retinoid X-receptor (RXR)
- III. Ösztrogén-szerű receptorok (szteroid hormon receptorok)
 - Mineralokortikoid receptor (MR)
 - Glükokortikoid receptor (GR)
 - Ösztrogén receptor (ER)
 - Progesztogén receptor (PR)
 - Androgén receptor (AR)
- IV. IB idegnövekedési faktor-szerű receptorok
 - IB idegnövekedési faktor receptor
- V. Szteroidogén-faktor-szerű receptorok
 - Szteroidogén-faktor-1 receptor (SF1)
- VI. Csírasejt nukleáris-faktor-szerű receptorok
 - Csírasejt nukleáris-faktor

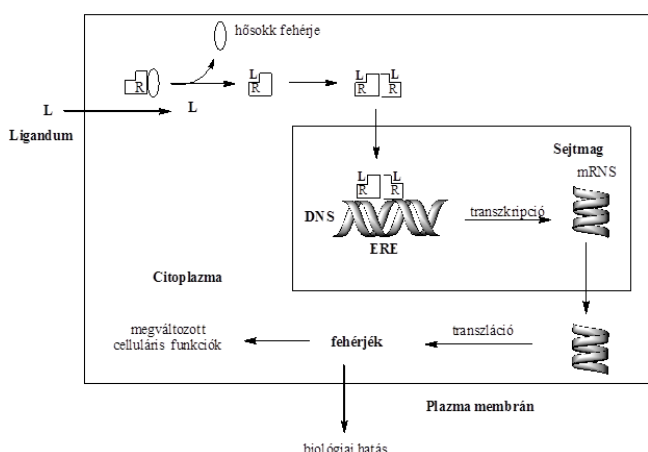
A sejtmagreceptorok ligandum-függő transzkripció faktorok. Szerkezetüket tekintve nagy fokban konzerváltak: egyetlen polipeptidlánc, mely középső régiójában ciszteinben gazdag, Zn^{2+} -ionokat kötő régiót (LBD), ún. „cinkujjakat” tartalmaz, amely segítségével a sejtmagban a DNS szál megfelelő régiójához tud kötődni, míg C-terminális régiója specifikus ligandumját pl. a szteroid hormonokat köti (II-5. ábra).

II-5. ábra: A sejtmagreceptorok egyszerűsített felépítése.



A sejtmagreceptorok működésének molekuláris szintű leírása a szteroid hormonok példáján bemutatva a következőképpen írható le: A lipofil tulajdonságú szteroid hormonok passzív diffúzióval bejutnak a sejtekbe, ahol kapcsolódnak citoplazmában megtalálható (I. típusú) receptorokhoz. Ekkor a ligandumhoz kötött citoplazmatikus receptorok a korepresszor (ún. hősokk-) fehérjétől elválnak, bejutnak a sejtmagba, majd önmagukkal dimerizált formában Zn-ujjaikkal a DNS megfelelő receptort kötő szakaszaihoz (ERE) kötődnek. A DNS-hez kötött ligandum-aktivált receptorok ko-aktivátorokat kötnek meg, és a kötődés következtében olyan génszakaszok, amelyek represszió alatt vannak, felszabadulnak a gátlás alól és megkezdődik új fehérjék transzkripciója majd szintézise. A szteroid-hatás effektor molekulái a szintetizált és a véráram segítségével a receptoraihoz eljuttatott fehérjék. Az ösztrogén receptor működési ciklusát a II-6 ábra mutatja be.

II-6. ábra: Az ösztrogén receptor működési ciklusa.



A II. osztály tagjai ligandumot nemkötő formái a sejtmagban található és ott gátló hatást fejtenek ki az általuk szabályozott gének transzkripciójára. Valamennyien heterodimert képeznek egy retinoid X-receptorral (RXR), a *cisz*-9-retinsav receptorával. A ligandum-kötődés eredményeképpen a gátló hatás megszűnik és transzaktiváció történik.

Számos sejtmagreceptorral kölcsönhatást kialakító gyógyszermolekula került klinikai kipróbálásra és használatos különböző betegségek kezelésére. Így például, a szexuáliszteroidokat szubsztitúciós terápiákra (endokrin betegségekben), fogamzásgátlásra és emlőtumorer kezelésére alkalmazhatók. A szintetikus glükokortikoid analógok gyulladáscsökkentő, immunszuppresszív szerek (pl. autoimmun betegségek, transzplantáció, néhány leukémia). A tiroxint tiroidektómia utáni szubsztitúciós terápiában, az A- és D-vitaminokat vitaminhiány esetén alkalmazzuk. A legfontosabb, sejtmagbéli receptorokat, valamint gyógyszerként alkalmazott agonistáit és/vagy antagonistáit a II-5. táblázat foglalja össze.

II-5 táblázat: Sejtmagbéli receptorok, valamint gyógyszerként alkalmazott agonistái és antagonistái.

Receptor	Fiziológiás agonista	Nem-fiziológiás agonista*	Antagonista*
Tiroidhormon receptor (TR)	trijódtironon, terajódtironin	dextrotiroxin	
Mineralokortikoid receptor (MR)	kortikoszteron, kortizol, aldoszteron	dexametazon	spironolakton, kanrenon, eplerenon
Glükokortikoid receptor (GR)	kortizol, kortikoszteron	prednizon, prednizolon, betametazon, triamcinolon	mefipriszton (kevert)
Ösztrogén receptor (ER)	öszttron, ösztradiol, ösztriol	etinilösztradiol, mesztranol, dietilstilbösztrol, dienösztrol	klomifén, tamoxifén, raloxifén (kevert agonista/antagonista) fulvesztrant,
Progesztogén receptor (PR)	progeszteron	etiszteron, noretiszteron, levonorgesztrel, medroxiprogeszteron,	mifepriszton (kevert), onapriszton
Androgén receptor (AR)	dihidrotesztoszteron, tesztoszteron	metiltesztoszteron, fluoximeszteron, nandrolon, danazol	ciproteron, flutamid, bikalutamid

II.3 Irodalom

- Guba F.: Orvosi biokémia. Medicina Könyvkiadó, Budapest (1988)
- Ádám V., Dux L., Faragó A., Fésüs L., Machovich R., Mandl J., Sümegi B.: Orvosi biokémia. Medicina Kiadó, Budapest (2001)
- Atkins P.W.: Fizikai kémia I-III. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest (2002)
- Humán farmakológia. Szerk.: Vizi E. Sz. Medicina Könyvkiadó, Budapest (2002)
- Gyógyszerészi kémia. Szerk.: Fülöp F., Noszál B., Szász Gy., Takácsné Novák K. Semmelweis Kiadó, Budapest (2010)
- A gyógyszerkutatás kémiája. Szerk. Keserű Gy. M. Akadémiai Kiadó, Budapest (2011)
- A farmakológia alapjai. Szerk.: Gyires K., Fürst Zs. Medicina Kiadó, Budapest (2001).
- Gyógyszerek. Szerk. Faigl F. Elektronikus tankönyv. BME, Budapest (2011)
- Lemke T.L., Williams D.A., Roche V.F., Zito S.W.: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 7th Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2013)

III Enzimek, mint gyógszercélpontok

Az enzimek a szervezet biokatalizátorai. Az enzimek működésére –mint minden más katalizátor hatására – alapvetően az jellemző, hogy anélkül, hogy a folyamat szabadenergia.-változását (illetve egyensúlyi reakciók esetén az egyensúlyi állandó számszerű értékét – befolyásolnák, jelentősen csökkentik az aktiválási energiát. Ennek eredményképpen adott hőmérsékleten a reakció sebessége megnő. A reakció lejátszódásához, vagy az egyensúlyi állapot eléréséhez szükséges idő megrövidül. A szervetlen katalizátorokhoz viszonyítva az enzimek jelentős mértékben csökkentik az aktiválási energiát. Így enzimek jelenlétében a kémiai reakciók sebessége nagyságrendekkel megnövekszik. Az enzimkutatások modern korának kezdetét *J. B. Sumner* munkásságától számíthatjuk, akinek először sikerült tisztított *ureáz* enzimet kristályosítani (1926). Sumner megállapította, hogy az enzim fehérje természetű vegyület.

Az azóta eltelt időben megismert enzimek legtöbbjéről beigazolódott, hogy azok egyszerű, vagy összetett fehérjék. (Néhány RNS molekula is rendelkezik enzimaktivitással, de az RNS-enzimek túlmutatnak e tananyag keretein.) Az enzimek fehérje természetéből következik, hogy minden a fehérjékre jellemző fizikai-kémiai sajátosság jellemző az enzimekre is. Így a szerkezeti, térszerkezeti felépítés, a makromolekulákra jellemző fizikai-kémiai tulajdonságok, a környezettől függő konformáció mind fontos szerepet játszanak az enzimek katalitikus funkciójának megvalósulásában. Egyes enzimek funkciójához elegendő csupán egy fehérjemolekula, más enzimek működéséhez azonban nem-fehérje természetű molekulák is szükségesek. Ezeket a vegyületeket *kofaktoroknak* nevezzük. A kofaktorok lehetnek (a) prosztetikus csoportok, (b) koenzimek és (c) fémionok. A *prosztetikus csoportok* szerves molekulák vagy fémionok, amelyek kovalens vagy koordinatív kötéssel, irreverzibilisen kapcsolódik az enzimhez. A *koenzimek* az enzimhez reverzibilisen (nem-kovalens kötéssel) kötődő, az enzim méretéhez képes kis szerves molekulák, amelyek az enzim aktív részét képezik. Az enzimhez koordinatív kötésekkel kötődő fémionokat tartalmazó enzimeket *metalloenzimeknek* nevezik. A katalitikusan aktív enzim-kofaktor komplexet (összetett fehérjét) *holoenzimnek*, míg a kofaktortól megfosztott (katalitikusan inaktív) fehérjét *apoenzimnek* nevezzük.

III.1 Az enzimkatalízis mechanizmusa

Az enzimek által katalizált reakciókban az enzim, vagy enzim kofaktor komplex kapcsolódik az ún. *szubsztrát* molekulához, melynek szerkezetében csupán néhány atomot érintő változás játszódik le. A szubsztrát és a kofaktor molekuláihoz viszonylag nagyméretű enzimfehérjének csak egy kis szegmense vesz részt a kapcsolat(ok) kialakításában. A szubsztrát megkötésében szerepet játszó szegmens az enzim ún. *aktív centruma*. Az aktív centrum részt vesz a szubsztrát megkötésében és a lejátszódó reakció katalizálásában. Az aktív centrum e két funkciójához kapcsolódó szakasza (kötőhely és katalitikus hely) általában nem ugyanaz. A kötőhely szerkezete határozza meg, hogy milyen szerkezetű vegyületek képesek megkötődni az enzim molekulán (szubsztrát-specifitás), míg a katalitikus hely szerkezete a katalizált reakció típusát határozza meg. Az aktív centrum atomcsoportjainak térbeli elrendeződése (a molekula konformációja) határozza meg a szubsztrát megkötésének specifikusságát.

Az enzim és a szubsztrát közötti kötődés első értelmezése *E. Fischer* nevéhez fűződik. Fischer az enzimfehérje és a szubsztrát között kialakuló kapcsolatot úgy

fogalmazta meg, hogy szubsztrát úgy illeszkedik az enzim aktív centrumához, mint kulcs a zárba. A ma már túlhaladott, leegyszerűsített leírás mind a fehérje mind a szubsztrát molekulákat rögzített szerkezetű háromdimenziós elrendeződéseknek tekinti. Későbbi vizsgálatok eredményei azonban igazolták, hogy a molekulák flexibilis képződmények és a molekuláris környezettől függően azok többféle konformációt (háromdimenziós szerkezetet) vehetnek fel. A fehérjék (enzimek, receptorok) és a szubsztrát, illetve agonista/antagonista molekulák kapcsolódásának újabb elméleteit a VII. fejezet mutatja be.

Az enzimek aktív centruma háromdimenziós szerkezetének megváltozása befolyásolja az enzimek működését. Az enzimek aktivitását befolyásoló tényezők megemlítendőek a

1. hőmérséklet
2. pH
3. fémionok
4. koenzimek
5. allosztérikus modulátorok.

Az enzimek legtöbbje – a hidrolázok kivételével – összetett fehérje. Az összetett fehérjékben jelen lévő fémionok és koenzimek (összefoglaló néven kofaktorok) elengedhetetlen szerepet töltenek be a katalitikus reakciók folyamatában. A maximális aktivitáshoz a kofaktorok sztöchiometrikus jelenlétére is szükség van.

A koenzimek általában másodlagos kölcsönhatásokkal (ritkábban kovalens kötéssel) kapcsolódnak az enzim aktív centrumához. A koenzimek közvetlenül részt vesznek a katalitikus folyamatokban és megszabják a reakciók jellegét. A legtöbb vitamin valamilyen koenzim tulajdonsággal bíró molekula előanyagának tekinthető. Az egyes enzimesoportok (osztályok) katalitikus folyamatában szerepet játszó koenzimeket az „Enzimek csoportosítása” alfejezet mutatja be. A koenzimek felsorolásakor a vitaminok dőlt betűvel vannak jelölve.

A fémionok hatása az enzimek aktivitására többféle kölcsönhatás eredménye lehet. Vannak enzimek (ún. *metalloenzimek*), melyekben a fémionok koordinatív kötésekkel kapcsolódnak az enzim aktív centrumához. Az ide tartozó enzimek közül többek között megemlíthetők a citokrom P-450 enzimek (vasionok), a xantin-oxidáz és a tirozináz enzimek (rézionok), valamint a karboxi-peptidáz és a szénsav-anhidratáz (cinkion). Más enzimek esetén (pl. pepszin) egyes fémionok (pl. alumíniumion) ún. miliófaktorként megnövelik az enzim aktivitását (enzimek fémion-aktiválása.) Ugyanakkor, egyes fémionok – irreverzibilisen megváltoztatva az enzim aktív centrumának konformációját – az enzim inaktiválódását eredményezik. Így például, a szénsav-anhidratáz enzimben a cinkiont rézionok vagy kadmiumionok kiszoríthatják a komplexből, így csökkentve (megszüntetve) az enzim aktivitását.

III.2 Az enzimek csoportosítása

Az enzimeket a Nemzetközi Biokémiai Unió erre a feladatra kijelölt bizottsága (Enzyme Commission, E.C.) az enzimek által katalizált reakciók típusai alapján hat osztályba sorolta:

E.C.1. Oxidoreduktázok.

Az oxidoreduktázok olyan enzimek, amelyek hidrogénatom- vagy elektronátvitelt, ritkábban oxigénatom-bevitelt katalizálnak. A gyógyszerek, testidegen anyagok metabolikus átalakítási reakcióit katalizáló enzimek közül ide tartoznak például a citokrom P-450 (CYP) és a flavin monooxigenáz (FMO) enzimek. Az enzimek katalitikus folyamatában résztvevő koenzimek a következők:

Nikotinsavamid-adenin-dinukleotid (foszfát) (NAD⁺ és NADP⁺)
B₃ vitamin (niacin) (NAD⁺ és NADP⁺ prekuzora)
Flavin mononukleotid (FMN)
Flavin-adenin-dinukleotid (FAD)
B₂ vitamin (riboflavin) (FMN és FAD prekuzora)
Liponsav

E.C.2. Transzferázok

A transzferázok funkcionális csoportokat visznek át egyik szubsztrátról a másikra (vagy ugyanazon szubsztrát egyik csoportjáról a másikra). Testidegen anyagok átalakítási reakcióit katalizáló enzimek közül ide tartoznak például az aciltranszferázok, a szulfotranszferázok, és a metiltranszferázok. A sejt fiziológiás folyamataiban résztvevő enzimek közül e csoport tagjai a foszfo-transzferázok és az aminoszulfotranszferázok. Az enzimek katalitikus folyamatában résztvevő koenzimek a következők:

Adenozin-trifoszfát (ATP)
Ciklikus-adenozin-monofoszfát (cAMP)
Citidin-monofoszfát (CMP)
Uridin-difoszfát (UDP)
Tiamin-pirofoszfát
B₁-vitamin (tiamin) (tiamin-pirofoszfát prekuzora)
Piridoxál-foszfát
B₆ vitamin (piridoxin) (piridoxál-foszfát prekuzora)
Tetrahidrofolsav (THF)
Folsav (THF prekuzora)
Biotin (H-vitamin)
Koenzim-A (CoA)
Pantoténsav (CoA prekuzora)
S-Adenozil-metionin (SAM)
3'-Foszfoadenozin-5'-foszfoszulfát (PAPS)

E.C.3. Hidrolázok

A hidrolázok víz közreműködésével különböző kovalens kötések hasítását katalizálják. A kötésspecifitásuk alapján különböző csoportokba sorolhatók. Így külön csoportot képeznek az észtereket, a glikozidokat, a peptidokat, a nem-protein savamidokat, a savanhidrideket, stb. hasító enzimek.

E.C.4. Liázok

A liázok kismolekulák (pl. víz, ammónia, széndioxid) eliminációját vagy a molekulák kettős kötésére történő addícióját katalizálják. Az eliminációs folyamatok eredményeképpen kettős kötés alakul ki, az addíciós reakciókban kettős kötés szűnik meg a szubsztrát molekulákban. Az ide tartozó enzimek osztályozásának alapja a reakciókban képződő vagy megszűnő kettős kötés természete (pl. szén-szén, szén-nitrogén, szén-oxigén) alapján történik. A liázok egy különleges csoportját képezik a

vízmolekulát hasító enzimek, a hidrolázok. A liázok esetében is gyakran használjuk a triviális enzimneveket, így a szubsztrát nevéhez fűzött dekarboxiláz, dehidratáz, aldoláz elnevezéseket. Az enzimek katalitikus folyamatában résztvevő koenzimek a következők:

Tiamin-pirofoszfát (*B₁-vitamin*)

Piridoxál-foszfát (*B₆-vitamin*)

K-vitaminok

E.C.5. Izomerázok

Az izomerázok molekulán belüli szerkezetváltozást katalizálnak, melyek során a szubsztrát molekulák elemi összetétele nem változik meg. Osztályba sorolásuk alapját a katalizált reakciók típusa képezi. Így az ide tartozó enzimek között megtalálhatók racemázok és epimerázok, *cisz-transz*-izomerázok, intramolekuláris transzferázok, stb. Az izomerázok egyik, a gyógyszerhatások szempontjából kiemelkedő jelentőségű képviselői a kevésbé hatékony *R*-arilpropionsav származékok hatékonyabb *S*-konfigurációjú származékokká történő epimerizációját katalizáló enzimek. Az enzimek katalitikus folyamatában résztvevő koenzimek a következők:

Glükóz-1,6-difoszfát

Glicerinsav-2,3-difoszfát

Deoxiadenozil-kobalamin (a *B₁₂-vitamin* koenzim formája)

E.C.6. Ligázok

A ligázok két szubsztrátmolekula kovalens kötéssel történő összekapcsolódását katalizálják. Az energiaigényes folyamatokat minden esetben ATP vagy más makroerg nukleozid-trifoszfát vagy –difoszfát egyik pirofoszfát kötésének hidrolízise kíséri (különbség a liázoktól). A ligázok a sejtekben folyó anyagcsere-folyamatok kulcsenzimeik: minden energiát igénylő szintézis katalízisében részt vesznek. Az enzimek katalitikus folyamatában résztvevő koenzimek a következők:

Adenozin-trifoszfát (ATP)

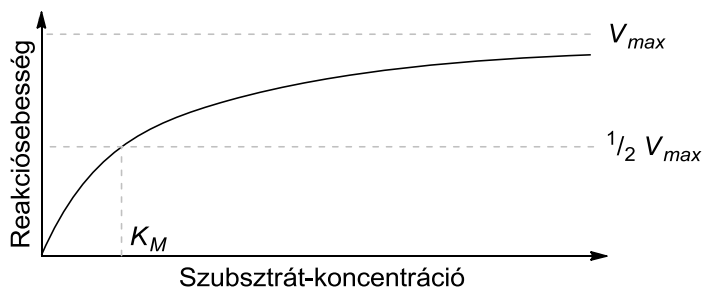
Nikotinsavamid-adenin-dinukleotid (foszfát) (*NAD⁺* és *NADP⁺*)

B₃ vitamin (niacin) (*NAD⁺* és *NADP⁺* prekursora)

III.3 Az enzimreakciók kinetikája

Azt a ma már általánosan elfogadott elméletet, amely szerint az enzimkatalízis lényege, hogy az enzim a kémiai reakcióban résztvevő anyagokkal köztiterméket, ún. enzim-szubsztrát komplexet, képez először *L. Michaelis* és *M. Menten* fogalmazta meg a szacharóz invertáz enzim által katalizált hidrolízisének vizsgálata során (1913). Vizsgálataik során megállapították, hogy a katalizált reakció sebessége (*v*) állandó körülmények (enzim-koncentráció, hőmérséklet, pH, ionerősség) esetén a szubsztrátkoncentráció [*S*] függvényében telítési görbét ad: kis szubsztrát-koncentrációk esetén csaknem lineárisan változik, míg kellően nagy szubsztrát-koncentrációk esetén csaknem állandó értéken marad (III-1. ábra).

III-1. ábra: Enzimkatalizált reakció sebességének (v) változása a szubsztrát-koncentráció $[S]$ függvényében. (v_{max} : maximális sebesség, K_M : Michaelis-Menten állandó).



Megemlítendő, hogy a tapasztalat igen hasonló a receptor agonista koncentráció és a mérhető biológiai aktivitás közötti összefüggés vizsgálata során tapasztaltakkal (lásd II. fejezet). A folyamat - kismolekulák kötődése (adszorpciója) makromolekulák (fémek) felületéhez - első értelmezését és matematikai leírását *I. Langmuir* írta le gázok szilárd felületen történő adszorpciójának vizsgálata során (1918). Az ún. *Langmuir-izoterma* biokémiai és farmakológiai megfelelőjét *Hill-egyenlet*ként ismeri szakirodalom.

Michaelis és Menten szerint az enzimkatalizált reakciók kinetikáját az alábbi egyenlet írja le:



- ahol E az enzim
 S a szubsztrát
 ES az enzim-szubsztrát komplex
 P a termék
 k_1 az enzim-szubsztrát komplex képződésének sebességi állandója
 k_2 az enzim-szubsztrát komplex disszociációjának képződési állandója
 k_3 a termék képződésének sebességi állandója

A fentiek alapján a katalizált reakció sebessége a

$$v = k_3 [ES] \quad (2)$$

míg az ES komplex képződése és disszociációja a

$$v_k = k_1 [[E] [S]] \quad (3)$$

$$v_d = k_2 [ES] \quad (4)$$

sebességi egyenletekkel írható le.

Egy adott $[E_t]$ enzim-koncentráció mellett az enzim-molekulák egy része szabad enzimmolekulaként $[E]$, más része enzim-szubsztrát komplexként $[ES]$ van jelen:

$$[E_t] = [E] + [ES] \quad (5)$$

A reakciót katalizáló enzim akkor működik maximális sebességgel (v_{max}), ha az összes enzimmolekula (E_t) enzim-szubsztrát komplex formájában van jelen. Ilyenkor $[ES] = [E_t]$ és a katalizált reakció maximális sebessége:

$$v_{max} = k_3 [E_t] \quad (6)$$

A fenti egyenletekből belátható, hogy adott szubsztrát-koncentráció esetén a reakció kezdeti sebessége (v) (amikor még $[P]$ kicsi és az $(ES) \rightarrow (E) + (P)$ folyamat egyirányúnak tekinthető) úgy aránylik a maximális sebességhez, ahogy az adott szubsztrát-koncentrációnál kialakuló enzim-szubsztrát komplex koncentrációja $[ES]$ aránylik az össze enzimmolekula koncentrációjához:

$$\frac{v}{v_{max}} = \frac{[ES]}{[E_t]}$$

Amint az (1) egyenletből látható az $[ES]$ attól függ, hogy hogyan aránylik egymáshoz az ES képződésének és továbbalakulásának a sebessége:

$$(ES) \text{ képződésének a sebessége} = k_1 [E] [S] \quad (8)$$

$$(ES) \text{ továbbalakulásának a sebessége} = k_2 [ES] + k_3 [ES] = (k_2 + k_3) [ES] \quad (9)$$

A reakció megindulását követően igen gyorsan beáll a stacionárius („Steady state”) állapot, melyre az jellemző, hogy az (ES) komplex képződésének és továbbalakulásának sebessége meggyezik:

$$k_1 [E] [S] = (k_2 + k_3) [ES] \quad (10)$$

A (10) egyenlet átrendezésével

$$[ES] = \frac{[E][S]}{(k_2 + k_3)/k_1}$$

A $(k_2 + k_3)/(k_1)$ összefüggésből adódó érték egy állandó érték, melyet Michaelis-konstansnak (K_M) nevezünk:

$$K_M = \frac{k_2 + k_3}{k_1}$$

A K_M konstans bevezetésével az

$$[ES] = \frac{[E][S]}{K_M}$$

összefüggést kapjuk.

A (5) egyenletet figyelembe véve:

$$[E_t] = \frac{[E][S]}{K_M} + [E]$$

Az [ES] és az [E_t] kifejezett értékeit behelyettesítve a (7) egyenletbe, majd a lehetséges egyszerűsítéseket elvégezve a

$$\frac{v}{v_{max}} = \frac{\frac{[S][E]}{K_M}}{\frac{[S][E]}{K_M} + [E]} = \frac{[S]}{[S] + K_M}$$

kifejezéshez jutunk. Ez utóbbi egyenlet átrendezésével a *Michaelis-Menten egyenlet szokásos formáját* kapjuk meg:

$$v = \frac{v_{max} [S]}{[S] + K_M}$$

Ez a kifejezés írja le az I-1 ábrán bemutatott, tapasztalati összefüggést az enzimkatalizált reakció sebessége (v) és a szubsztrát-koncentráció ([S]) között. Kis szubsztrát-koncentrációnál, amikor [S] sokkal kisebb, mint a K_M , akkor $v = [S] v_{max}/K_M$, azaz a sebesség egyenesen arányos a szubsztrát-koncentrációval. Nagy szubsztrát-koncentrációnál, amikor [S] sokkal nagyobb, mint a K_M , $v = v_{max}$, azaz a maximális sebesség független a szubsztrát-koncentrációtól.

Amennyiben a reakció sebessége éppen fele a maximális sebességnek, vagyis $v = 0,5 v_{max}$:

$$0,5 v_{max} = \frac{v_{max} [S]}{[S] + K_M}$$

azaz

$$[S] + K_M = 2 [S]$$

illetve

$$K_M = [S]$$

A Michaelis-állandó tehát számértékileg egyenlő azzal a szubsztrát-koncentrációval, amely mellett egy adott enzimmennyiség az általa elérhető maximális reakciósebesség felét éri el. Nagy K_M gyenge, kis K_M erős kölcsönhatást jelez az enzim és a szubsztrát között.

Megjegyezendő, hogy az enzimkinetikának ez az összefoglalása a legegyszerűbb reakciókra érvényes, melyekben az enzim egyetlen szubsztráttal lép reakcióba és katalizálja a kémiai átalakulást. Reálisan a szervezetben lejátszódó reakciók ennél összetettebbek, de elvileg hasonlóképpen mennek végbe.

III.4 Az enzimreakciók gátlása

Az enzimek aktivitásának módosítása (típusosan gátlása) számos gyógyszervegyület hatásának molekuláris alapját képezi. Az enzimek specifikus gátlói

általában kis molekulatömegű szerves vegyületek, melyek átmenetileg vagy véglegesen gátolhatják (megszüntethetik) az enzimek aktivitását. A gátló vegyületek előbbi csoportját reverzibilis, az utóbbit irreverzibilis gátlóknak (inhibitoroknak) nevezzük. A gátló vegyületek molekuláris mechanizmusának felderítésének egyik legfontosabb eszköze az enzimkatalizált reakció kinetikájának vizsgálata gátló hatású vegyület(ek) távollétében és jelenlétében. A nem-specifikus enzimgátló vegyületek közös jellegzetessége, hogy denaturálják a fehérjéket. A specifikus enzimgátló vegyületek specifikus hatást gyakorolnak egy-egy enzimre (enzimcsoportra), melyek alapvetően a következő csoportokba oszthatók:

1.) *Koenzim inhibitorok* (pl. cianidion, hidrazin, hidroxilamin, melyek gátolják a piridoxál-foszfát hatását, a dikumarol, ami a K-vitaminok antagonistája).

2. *Miliófaktor funkciót betöltő fémionok hatásának gátlói* (pl. fluoridionok melyek az enoláz enzimek által katalizált reakciókban a magnéziumionokkal és foszfátionokkal komplexet képezve hozzákapcsolódnak az enzim aktív centrumához).

3. *Prosztetikus csoportok gátlói* (például a cianidion, ami a citokrom-oxidázok vasion tartalmú hem prosztetikus csoportját gátolja).

4. *Apoenzim inhibitorok*, melyek a holoenzimek apoenzim (fehérje) komponensével lejátszódó kölcsönhatás eredményeképpen gátolják az enzimaktivitást. Ebbe a csoportba tartozik a gyógyászatilag alkalmazott enzim inhibitorok legnagyobb része.

5. Fiziológias hőmérséklet és pH-modulátorok.

A specifikus enzimgátlás több szempontból is jelentőséggel bír. Egyrészt segítségükkel az anyagcserefolyamatok egyes lépései tanulmányozhatók, az enzimek működésének molekuláris szintű vizsgálatára (mechanizmusának felderítésére) használhatók, és nem utolsó sorban gyógyszervegyületekként (inszekticidekként, peszticidekként) alkalmazhatók.

A specifikus gátlók három csoportját különböztethetjük meg. Minden csoport estén a gátlás lehet reverzibilis és irreverzibilis.

1. Kompetitív (vagy szubsztrát-analóg) gátló szerek.

2. Enzim-szubsztrát komplex (ES) gátló szerek. (Unkompetitív gátlók.)

3. Nem kompetitív gátló szerek. (Nemkompetitív gátlók.)

1. A *kompetitív gátlás* az aktív centrum szubsztrátkötő vagy katalitikus helyén játszódik le. Ezekben az esetekben a gátló anyag (I) szerkezete nagy hasonlóságot mutat a szubsztrát (S) szerkezetével. Amennyiben mindkét vegyület jelen van, úgy a két molekula mintegy vetélkedik az apoenzimhez történő kötődés kialakításáért.

2. Az *unkompetitív gátlók* a szabad enzimre nem hatnak, de a már kialakult enzim-szubsztrát (ES) komplexhez képesek kötődni. Ezáltal a termék (P) képződésének sebességét csökkentik.

3. A *nemkompetitív gátló* szerek – amint azt az elnevezés is mutatja – nem kompetitív (versengő) módon gátolják az enzim katalitikus funkcióját. Az inhibitorok szerkezete kevésbé, vagy egyáltalán nem hasonlít a szubsztráthoz. Ennek következtében nem ugyanahhoz a fehérjeszakaszhoz kötődnek, mint a szubsztrát. A kötődés lehet reverzibilis és irreverzibilis. Ezek között a vegyületek között gyógyszerhatás szempontjából legnagyobb jelentőséggel az ún. allostérikus enzimek (reverzibilis) gátló hatással bíró modulátorai bírnak.

Amint a bevezetőben említésre került, számos gyógyszermolekula hatását enzimekre gyakorolt hatása útján fejt ki. Néhány, jellegzetes enzimgátló hatással bíró gyógyszervegyület tulajdonságait a III-1. táblázat foglalja össze.

III-1 táblázat: Enzimgátlással bíró gyógyszervegyületek.

Enzim	Szubsztrát	Gátlószer*	Terápiás jelentőség
GABA-transzamináz	gamma-aminovajsav (GABA)	vigabatrín (irreverzibilis)	antiepileptikum
DOPA-dekarboxiláz	3,4-dihidroxi-fenilalanin (DOPA)	karbidopa, benszerazid	Parkinson-kór elleni gyógyszerek mellékhatásainak csökkentése
Monoaminoxidáz B (MAO-B)	dopamin	szelegilin, razagilin	Parkinson-kór elleni szerek
Acetilcolin-észteráz	acetilcolin	fizosztigmin, neosztigmin, diizopropil-fluor-foszfát (irreverzibilis)	glaukómaellenes szer
Foszfodiestheráz 3 (PDE3)	cAMP, cGMP	amrinon, milrinon, enoximon	szívelégtelenség gyógyszerei
Angiotenzin-konvertáz (ACE)	angiotenzin-II	kaptopril, enalapril, lizinopril, spirapril	antihipertenzív szerek
HMG-CoA-reduktáz	hidroximetilglutaril-koenzim-A	klofibrát, fenofibrát, gemfibrozil, lovasztatin, szimvasztatin, paravasztatin, atorvasztatin	hiperlipidémia elleni szerek
Karboanhidráz	széndioxid	acetazolamid, metazolamid, dorzolamid	diuretikus és glaukómaellenes hatás
Tiroid-peroxidáz (TPO)	tirozin	propiltiouracil, tiamazol, karbimazol	hipertireózis gyógyszerei
Ciklooxygenáz	arachidonsav	acetilszalicilsav (irreverzibilis) indometacin, diklofenák, celecoxib	hőcsökkentő fájdalomcsillapító/nemszteroid gyulladáscsökkentő szerek
Xantin-oxidáz	xantin	allopurinol (irreverzibilis)	köszvény ellenes szer
DD-Transzpeptidáz	D-alanin	penicillin és kefalosporin antibiotikumok (irreverzibilis)	antibakteriális szerek

*Nem teljes felsorolás

III.5 Irodalom

- Guba F.: Orvosi biokémia. Medicina Könyvkiadó, Budapest (1988)
- Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design and Action. (Editor: Smith H.J.) Harwood Academic Publishers, Amsterdam (1998)
- Novák L., Nyitrai J., Hazai L.: Biomolekulák kémiája. MKE, Budapest (2001)
- Ádám V., Dux L., Faragó A., Fésüs L., Machovich R., Mandl J., Sümegi B.: Orvosi biokémia. Medicina Kiadó, Budapest (2001)
- Atkins P.W.: Fizikai kémia I-III. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest (2002)
- Humán farmakológia. Szerk.: Vizi E. Sz. Medicina Könyvkiadó, Budapest (2002)
- Gyógyszerészi kémia. Szerk.: Fülöp F., Noszál B., Szász Gy., Takácsné Novák K. Semmelweis Kiadó, Budapest (2010)
- A gyógyszerkutatás kémiája. Szerk. Keserű Gy. M. Akadémiai Kiadó, Budapest (2011)
- A farmakológia alapjai. Szerk.: Gyires K., Fürst Zs. Medicina Kiadó, Budapest (2001).
- Gyógyszerek. Szerk. Faigl F. Elektronikus tankönyv. BME, Budapest (2011)
- Nyitrai L., Pál G.: A biokémia és molekuláris biológia alapjai. Elektronikus tankönyv. ELTE, Budapest (2013)
- Lemke T.L., Williams D.A., Roche V.F., Zito S.W.: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 7th Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2013)

IV Transzporterek és ioncsatornák, mint gyógyszercélpontok

A sejtmembránok kettős lipidrétegének fizikai-kémiai tulajdonságai alapján a poláros vegyületek átjutása a rétegen erősen korlátozott. Ez alól csak a víz képez kivételt, ami szabadon permeál, ha a membrán két oldalán ozmotikus különbség áll fenn. A víz és a más kisméretű poláros molekulák azokon a réseken jutnak át, melyek a membrán foszfolipidek zsírsav oldalláncainak folytonos mozgása következtében jönnek létre. A víz mellett hasonlóképpen juthatnak át más kisméretű, töltéssel nem rendelkező poláris molekulák (pl. karbamid) is. A sejtmembrán lipid kettősrétege töltéssel bírómolekulákra pedig abszolút impermeabilis, teljesen mindegy milyen méretű a molekula. Ugyanakkor a lipid kettősréteg belső, erősen hidrofób közegén apoláris kismolekulák (pl. molekuláris oxigén, széndioxid, nitrogén) tudnak átjutni. A folyamatot *egyszerű diffúzió*nak nevezzük. Egyszerű diffúzió során a molekuláris részecskék a koncentráció gradiens irányában, fehérjékkel vagy más membránalkotó komponensekkel nem-specifikus kölcsönhatás kialakítása és energiabefektetés nélkül jutnak át a membránon.

Az egyszerű lipid kettősréteggel ellentétben, a sejtmembránokon a poláros molekulák is átjutnak. A sejtmembrán a lipid kettősrétegbe ágyazva számos fehérje természetű molekulakomplexet is tartalmaz, melyek biztosítják a membránok szelektív áteresztőképességét. Ezek közül kiemelten fontos szerepet töltenek be a transzporterek és az ioncsatornák.

IV.1 Facilitált diffúzió

A szájon át a szervezetbe kerülő gyógyszerek (testidegen anyagok) a szájüreg, illetve a gyomor-bél rendszer epithél sejtjein keresztül felszívódva kerülnek be a centrális vérkeringésbe. A gyógyszervegyületek (testidegen anyagok) membrántranszportjának leggyakoribb útja az ún. *facilitált diffúzió*. Facilitált diffúzió során a molekuláris részecskék a koncentráció gradiens irányában, a *membránba ágyazódott fehérjékkel* specifikus kölcsönhatás kialakítása és energiabefektetés nélkül jutnak át a membránon (IV-1. ábra).

Minden eddig vizsgált membrántranszport protein egy transzmembrán fehérje, ami többször szeli át a membránt. Ezért folytonos útvonalat biztosítanak a hidrofíl molekula számára a membránon keresztül, anélkül, hogy annak a Lipid kettősréteg hidrofób részével kapcsolatba kellene lépnie. E fehérjéknek két nagy csoportjuk van:

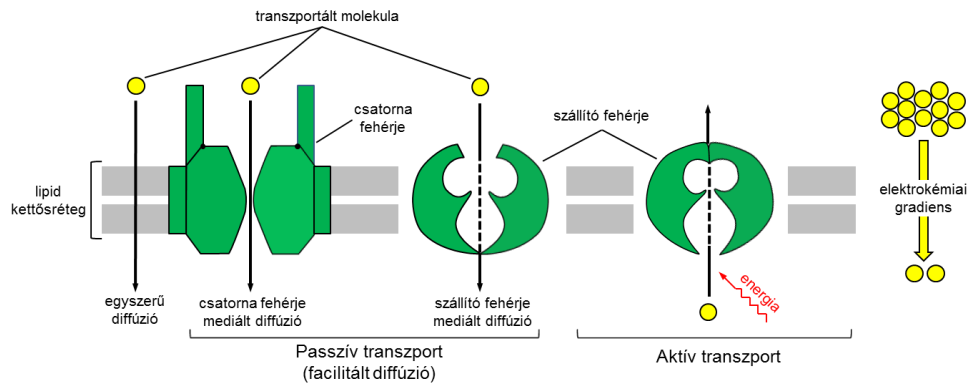
1. *Szállító (karrier) fehérjék* vagy más néven *permeázok* vagy *transzporterek*.

Ezek a fehérjék az extracelluláris (vagy az intracelluláris) oldalon nem-kovalens kölcsönhatást alakítanak ki a transzportálandó anyaggal és a fehérje konformáció-változásának révén lehetővé válik annak intracelluláris (extracelluláris) disszociációja a fehérje-transzport molekula komplexből.

2. *Csatorna fehérjék*.

A csatorna fehérjék esetében a transzportálandó molekula nem kötődik a membránfehérjéhez. A csatornafehérjék a membránt átszelő hidrofíl pórust képeznek, amin keresztül transzportálódik az ion, vagy a molekula. A csatorna fehérjéken keresztül a transzport természetesen sokkal gyorsabb (kb.1000-szer) mint szállító fehérjékkel.

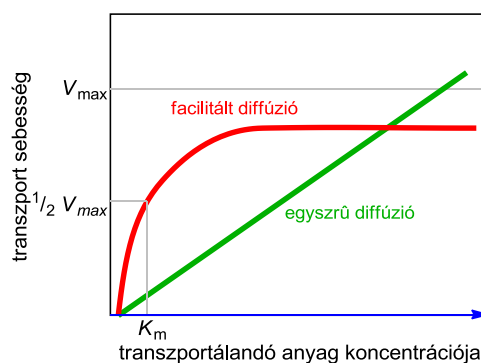
IV-1. ábra: Az egyszerű diffúzió, a facilitált diffúzió és az aktív transzport egyszerűsített mechanizmusa.



A facilitált diffúzió sok szempontból hasonlít az enzimreakciókhoz – de ez esetben új termék nem keletkezik. A membránba ágyazott fehérjék nem-kovalens kölcsönhatást alakítanak ki a transzportálandó anyaggal és a fehérje konformációváltozásának révén lehetővé válik annak intracelluláris transzlokációja. A kölcsönhatás („felismerés”) *szerkezet- és sztereospecifikus*, a folyamat kompetitív és nem-kompetitív módon gátolható.

Amennyiben a transzport sebességét a transzportálandó anyag koncentrációjának függvényében vizsgáljuk, úgy az enzimekhez hasonló telítési görbét kapunk. (VI-2. ábra). A görbe alapján megállapítható a transzport maximális sebessége és a (Michaelis-Menten-állandó analógiájára) a transzport K_t értéke. Facilitált diffúzió során az anyagok mindig a koncentráció-gradiens irányába mozognak az egyensúlyi koncentrációk kialakulásáig. Ezzel ellentétben, az egyszerű diffúzió hasonló vizsgálata során azt tapasztaljuk, hogy a koncentráció-gradiens növekedésével a transzportfolyamat sebessége egyenes arányosságot mutat (IV-2. ábra).

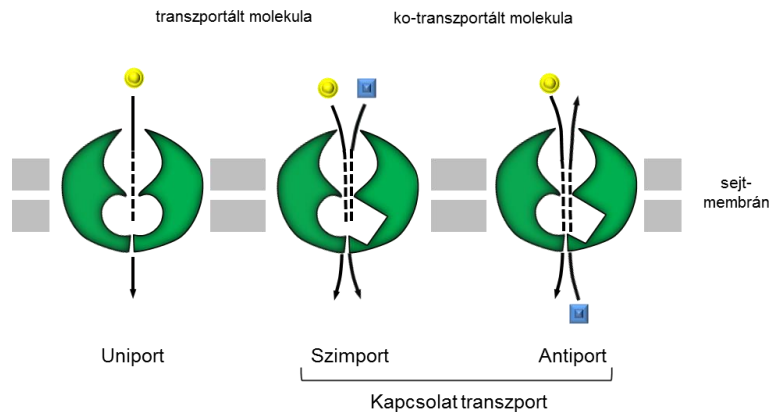
IV-2. ábra: Az egyszerű diffúzió és a facilitált diffúzió sebességének és a transzportálandó anyag koncentrációjának összefüggése.



Néhány szállító fehérje (transzporter) csak egy molekulát (iont) visz egy adott irányba a membránon keresztül (*uniporter*). Ilyen pl. az eritrociták membránjában megtalálható *glukóz-transzporter* (GLUT-1), melyen keresztül a glukóz (koncentráció gradienssel megegyező irány) transzportjának sebessége mintegy 50 000-szer nagyobb, mint a lipid kettősrétegen mért diffúzió sebessége. Más karrierek viszont szimultán egy másik anyagot is szállítanak (*kapcsolt transzporterek*, vagy *kotranszporterek*). Ez lehet:

1. *szimport*, ha a transzportált és kotranszportált molekulák (ionok) egy irányba mozognak, vagy
2. *antiport*, ha a transzportált és a kotranszportált molekulák (ionok) ellentétes irányba mozognak (IV-3. ábra).

IV-3. ábra: Az uniport, a szimport és az antiport transzporterek működésének elve.



Az egyik fontos –ugyancsak az eritrociták membránjában található – antiport típusú kapcsolt transzportfolyamat a *klorid (Cl⁻) - bikarbonát (HCO₃⁻) cseretranszport*. Megemlítendő, hogy a kapcsolt transzporterek működése a legtöbb esetben a Na⁺K⁺-ATPáz által fenntartott Na⁺ (és/vagy K⁺) koncentráció-gradies terhére történik. Ezeket a transzportfolyamatokat a *másodlagos aktív transzport* folyamatok közé sorolhatjuk (lásd később).

IV.2 A transzportfolyamatok energiaviszonyai

A transzportfolyamatok energiaviszonyait az a szabadenergia-változás jellemzi, ami a membrán egyik oldalán c_1 koncentrációban jelen lévő részecskéknek a membrán ellentétes oldalán c_2 koncentrációjú környezetbe történő átjutását kíséri. Ez semleges molekulák transzportja esetén a következő képlettel fejezhető ki:

$$\Delta G = 2,3 RT \log \frac{[c_2]}{[c_1]}$$

ahol

R = az egyetemes gázállandó

T = a hőmérséklet (K)

$[c_2]$ és $[c_1]$ = az illető molekula (ion) koncentrációja ($\text{mol}(\text{dm}^3)^{-1}$) a membrán két oldalán

Ha az anyag a nagyobb koncentrációjú oldatból (c_1) a kisebb koncentrációjú oldatba ($c_1 > c_2$) transzportálódik, akkor ΔG előjele negatív, azaz a transzport önként (energiabefektetés nélkül) végbemegy (*passzív transzport*). Ellenkező irányú transzportfolyamat esetén ΔG értéke pozitív, azaz a folyamat önként nem, csak energia befektetés (felhasználás) révén játszódik le (*aktív transzport*). Ionok transzportja esetén nemcsak a koncentráció, hanem a membrán két oldalán meglévő össztöltés különbözősége (membránpotenciál) is befolyásolja a folyamatot jellemző

szabadenergia-változást. Ebben az esetben a fenti összefüggés a következőképpen módosul:

$$\Delta G = 2,3 RT \log \frac{[c_2]}{[c_1]} + zF\psi$$

ahol

z = az ion töltése

F = a Faraday-állandó (96480 J/(Vmol))

ψ = a membránpotenciál (V)

Egy ion transzportjának energiaigényét tehát az *elektrokémiai potenciál* – a koncentrációkülönbség és az elektromos potenciálkülönbség összege – határozza meg.

IV.3 Aktív transzport

A sejteknek szükségük van olyan transzport-folyamatokra is, amik molekulákat transzportálnak a membránon át a koncentráció (illetve az elektrokémiai) gradienssel szemben. Ez a folyamat az ún. *aktív transzport* és mindig karrier fehérjék katalizálják. Természetesen ezek energiaigényes folyamatok és ezért mindig egy energia felszabadító folyamattal kell, hogy kapcsolatos legyenek. Az aktív transzport energiaigénye alapvetően három különböző forrásból fedezhető:

1. ATP hidrolízis,
2. fény, vagy
3. koncentráció különbség.

A legtöbb ilyen transzport-folyamat közvetlenül kapcsolódik az ATP terminális foszfátjának hidrolíziséhez, aminek felszabaduló energiája a transzportfolyamat energiaigényét fedezi. Ezek az ún. *elsődleges transzport-folyamatok*.

Ilyen például a plazmamembránban található, a sejtek aszimmetrikus Na^+ és K^+ eloszlását meghatározó Na^+K^+ -ATPáz, a sejtek homeosztázisában fontos szerepet játszó Ca^{2+} -ATPáz, vagy a gyomor parietális sejtjeiben található K^+H^+ -ATPáz. A Na^+K^+ -ATPáz – ami minden sejt plazmamembránjában megtalálható transzporter - működése során a nátriumionokat visszajuttatja az extracelluláris, a káliumionokat pedig az intracelluláris térbe. A transzporter specifikus gátlói a szívglükozidok (IV-1. táblázat). A kalciumion-transzporterek – melyek az extracelluláris (10^{-3} M) és az intracelluláris (10^{-7} M) kalciumion koncentráció fenntartásában vesznek részt - a sejtek plazmamembránjában és az izomsejtek endoplazmás retikulumában (amit az izomsejtekben *szarkoplazmás retikulumnak* hívunk) található. Ez a sejtalkotó egy kalciumion raktár az izomsejtben, és amikor ebből a kalciumion kiürül, az akciós potenciál hatására izomkontrakciót vált ki. A K^+H^+ -ATPáz a gyomor lumenből káliumionokat pumpál a sejtbe, a sejtbe pedig hidrogénionokat transzportál a lumenbe. Ezáltal meghatározó szerepet tölt be a gyomornedv savas pH-jának fenntartásában. (Az intracelluláris organellek membránjában és a mitokondrium belső membránban található ATPázok ismertetése túlmutat e tananyag keretein.) A Na^+K^+ -ATPáz és a K^+H^+ -ATPáz transzporterek („pumpák”) működésének befolyásolása gyógyszer-együletek hatásának molekuláris alapját képezik (IV-1. táblázat).

A plazmamembránba integrálva található az ún. *ABC fehérjék*, melyek terápiás szempontból is jelentőséggel bíró *elsődleges transzporterek*. Az ABC fehérjék nevüket

az intracellulárisan megtalálható ATP kötőhelyük jellegzetes szerkezete alapján („ATP binding cassette”) kapták. Az ABC fehérjék legtöbbször jellemző, hogy ATP hidrolízise során felszabaduló energia felhasználásával többnyire hidrofób karakterű anyagokat „pumpálnak” ki a sejtekből. Ezek között megtalálhatók lipidek, polipeptidek, szteroidok, valamint toxinok, antibiotikumok és tumorellenes szerek. A humán ABC fehérjék több csoportba oszthatók, melyek közül orvosi biológiai szempontból igen jelentős a *multidrog transzporter* (MDR1), vagy más néven *P-glikoprotein*. A transzporter fokozott expressziója szerepet játszik a citosztatikumok sejtekből történő transzportjában, lerontva ezzel a gyógyszeres kezelés hatékonyságát. A tumorsejtek citosztatikumok iránti érzéketlenségének kialakulásában jelentős szerepet játszik egy másik transzporter is, a *multidrog-rezisztencia fehérje* (MRP1). Ez utóbbi transzporter specifitása nem korlátozódik a hidrofób karakterű molekulákra. Mindkét transzporter gátlása és/vagy funkciójának megfordítása intenzív kutatások tárgyát képezi.

Az fény hatására bekövetkező aktív transzport egyik jól ismert példája a *Halobacterium halobium* bakteriorodopszin összetett fehérjéje által, fotonok elnyelése útján működő protonpumpája. A bakteriorodopszin fényelnyelő csoportja a retinál, ami Schiff-bázis képzése révén kapcsolódik a fehérjéhez.

Vannak olyan transzport-folyamatok is, melyekben a szükséges energiát egy másik anyag (ion) az elektrokémiai gradiensnek megfelelő irányba történő egyidejű transzportja biztosítja. A legtöbb ilyen transzporter a plazmamembrán két oldalán kialakuló nátriumion-gradienst használja fel, és a transzporttal egyidejűleg nátriumion transzportja történik a sejtbe. Minthogy az aszimmetrikus nátriumion-koncentráció (nátriumion-gradiens) fenntartása ATP felhasználásával történik, ezeket a transzportfolyamatokat *másodlagos aktív transzportfolyamatoknak* nevezzük. A másodlagos aktív transzportfolyamatok között megtalálhatók szimport (kotranszport) és antiport (cseretranszport) folyamatok is.

A *szimport transzporterek* (kotranszporterek) jelentősebb képviselői

1. a Na^+ -glukóz kotranszporterek,
2. a $\text{Na}^+(\text{Cl}^-)$ -aminosav kotranszporterek
3. a $\text{Na}^+(\text{Cl}^-)$ -neurotranszmitter kotranszporterek
- 2 a Na^+Cl^- kotranszporter,
3. a K^+Cl^- kotranszporter,
4. a $\text{Na}^+\text{K}^+2\text{Cl}^-$ kotranszporter, valamint
5. a Na^+I^- kotranszporter.

Az *antiport transzporterek* (cserélők) jelentősebb képviselői

1. a $\text{Na}^+\text{Ca}^{2+}$ cseretranszporter,
2. a Na^+H^+ cseretranszporter, valamint
3. a K^+NH_4^+ cseretranszporter.

A fenti ún. másodlagos aktív transzporterek egy speciális csoportját képezik $\text{Na}^+(\text{Cl}^-)$ -neurotranszmitter (noradrenalin (NA), dopamin (DA), szerotonin (5-HT)) és $\text{Na}^+(\text{Cl}^-)$ -aminosav (pl. GABA) kotranszporterek, melyek gátlása többek között antiepileptikumok (GABA), antidepresszív szerek (szerotonin) és a Parkinson-kór terápiajában (dopamin) alkalmazott szerek hatásának alapja. A különböző transzporterek működését befolyásoló vegyületek között több, a gyógyászatban is használatos vegyület megtalálható. Ezeket a vegyületeket a IV-1. táblázat foglalja össze.

IV-1 táblázat: Transzportereken ható gyógyszer-vegyületek

Transzporter	Gátlószer*	Terápiás jelentőség
Na ⁺ K ⁺ -ATPáz	sztofantin, digoxin, digitoxin	szívelégtelenség gyógyszerei
K ⁺ H ⁺ -ATPáz	omeprazol, lansoprazol, pantoprazol, rabeprazol, ezomeprazol	Gyomorsav szekréciót csökkentő szerek
Na ⁺ Cl ⁻ kotranszporter	klorotiazid, hidroklorotiazid, metolazon, klórtalidon, indapamid, klopamid	sóürítő diuretikumok
Na+K+2Cl ⁻ kotranszporter	etakrinsav, furoszemid, bumetanid, piretanid, torszemid,	csúcshatású diuretikum
Na+I ⁻ kotranszporter	kálium perklorát	hipertireózis kezelésére alkalmazott szer
Na ⁺ -glukóz kotranszporter	dapagliflozin	antidiabetikus szer
Na+Cl ⁻ -GABA kotranszporter	tiagabin	antiepileptikus szer
Na+Cl ⁻ -5HT kotranszporter	kломipramin, citalopram, fluoxetin, fluvoxamin, paroxetin, szertralin, zimelidin	antidepresszív szer
Na+Cl ⁻ -NA kotranszporter	dezipramin, talopram, reboxetin	antidepresszív szer
Na+Cl ⁻ -DA kotranszporter	rimkazol	antiparkinson szer

*Nem teljes felsorolás

IV.4 Csatornaképző fehérjék

A transzporterektől eltérő mechanizmussal működnek a csatornaképző fehérjék. Egy ioncsatorna több fehérje alegységből felépülő, a sejtmembránok lipid kettősrétegébe integrálódó a membránt áthidaló struktúra. Az ilyen több-alegységből álló struktúrák hidrofil csatornát képezve lehetővé teszik bizonyos ionoknak az elektrokémiai gradiens diktálta irányú (passzív transzport) átjutását a membránon.

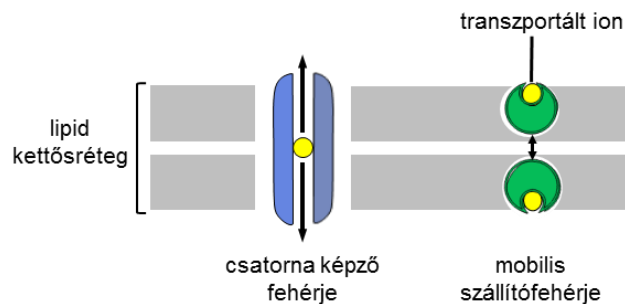
A membránba beágyazódott ioncsatornákat többféleképpen csoportosíthatjuk. Így az egyik csoportosítás alapja, hogy a csatornák milyen ionokat képesek áttereszteni. E szempont alapján a legfontosabb ioncsatornák a következők.

1. Kloridion-csatornák.
2. Protoncsatornák.
3. Nátriumion-csatornák
4. Káliumion-csatornák
5. Kalciumion-csatornák
6. Akvaporinok
7. Nemszelektív kation-csatornák

IV.4.1 Ionofórok

A felsorolt természetes csatornákon kívül ismeretesek olyan testidegen hidrofób molekulák (*ionofórok*) melyek képesek beintegrálódni a sejtmembránok lipid kettősrétegébe és megnövelni a membrán permeabilitását bizonyos szerves ionokra. Az ionofórok leárnnyékolják az ion töltését és ezáltal teszik lehetővé a hidrofób rétegen való keresztülhatolást. Az ionofóroknak két nagy csoportjuk van: (a) *mobilis ionszállítók* és (b) *csatornaképző ionofórok* (IV-4. ábra).

IV-4. ábra: A mobilis ionszállítók és a csatornaképző ionofórok működése.



A mobilis ionszállítók klasszikus példája a *valinomycin*. A valinomycin egy gyűrűs, felszínén hidrofób polipeptid, ami káliumionokkal kelát-komplexet képez. A membránba ágyazódott polipeptid extracelluláris káliumiont komplexál, ami az intracelluláris membrán felszínére transzlokálódik, majd intracellulárisan szabaddá válik. A csatornaképző ionofórok egyik példája a *gramicidin*. A gramicidin egy 15 aminosavból álló hidrofób protein. Két alfa-hélix konformációjú, sejtmembránba ágyazódott protein összekapcsolódásával képződik egy transzmembrán csatorna, ami egyértékű kationok (Na^+ , K^+ , H^+) számára átjárható. Csatornaképzés képezi a polién makrolid antibiotikumok (pl. *natamicin*, *nisztatin*, *B-amfotericin*) antifungális hatásának fizikai-kémiai alapjait is.

Az ioncsatornák alapvetően két strukturális csoportba oszthatók. Ezek egyike az ún. *szívárgó csatornák*, amelyek az ionok folyamatos (de kis áteresztőképességgel bíró) mozgását teszik lehetővé a pórusokon keresztül. A másik ioncsatorna típust az ún. *szabályozott csatornák* alkotják. A szabályozott ioncsatornáknál, a csatorna típusától függően, a pórushoz való hozzáférést egy „kapu” biztosítja, amely kinyit vagy bezár kémiai vagy elektromos szignálok, ill. hőmérséklet vagy mechanikai erő hatására. Utóbbiak a következő altípusokba sorolhatók:

- a.) feszültségfüggő ioncsatornák,
- b.) ligandum-szabályozott ioncsatornák (más néven ionotróp receptorok),
- c.) mechanikus inger által szabályozott ioncsatornák
- d.) hőingerek által aktivált ioncsatornák,
- e.) fény által aktivált ioncsatornák,
- f.) ATP-szenzitív ioncsatornák,
- f.) gyűrűs nukleotidok által szabályozott ioncsatornák,
- g.) kalciumion-aktivált ioncsatornák, valamint
- h.) foszforiláció által szabályozott ioncsatornák.

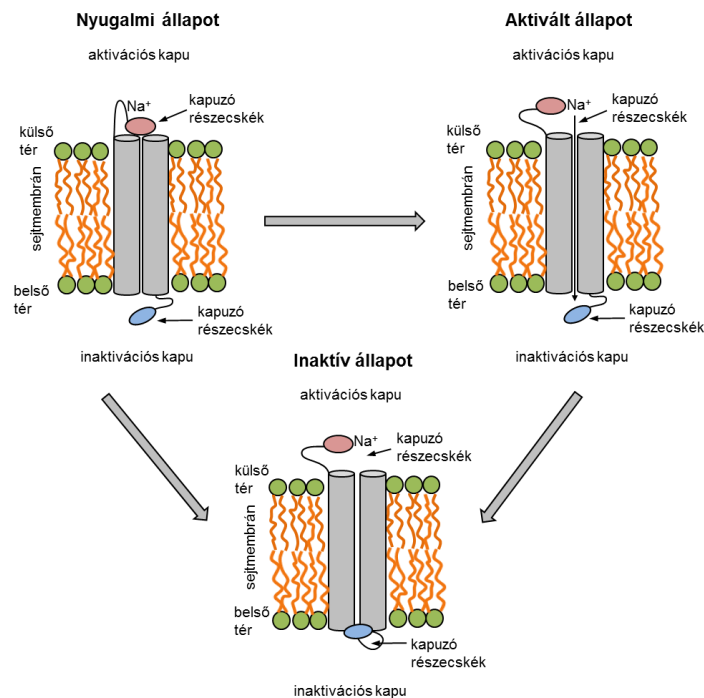
E tananyag keretében a feszültségfüggő és a ligandum-szabályozott ioncsatornák kerülnek bemutatásra. (A ligandum-szabályozott ioncsatornák bemutatása a II. fejezet része.)

IV.4.2 Feszültségfüggő ioncsatornák

A feszültségfüggő ioncsatornák az ioncsatornák olyan típusai, amelyek a környező feszültségváltozás hatására aktiválódnak. A nyugalmi potenciál kialakításában résztvevő ioncsatornák közös sajátága, hogy vezetőképességük független a membránpotenciál értékétől. Az ideg- és az izomsejtek membránja abban különbözik a többi sejt membránjától, hogy olyan ioncsatornákkal is rendelkezik, amelyeknek vezetőképessége függ a membránpotenciál aktuális értékétől és esetleg időben is változik. Ide tartoznak az ideg és izomsejtek feszültségfüggő (a) *nátriumion*-, (b) *káliumion*-, valamint (c) *kalciumion-csatornái*. A csatornák ion-specifikusak, bár hasonló méretű ionok számára bizonyos fokig átjárhatók.

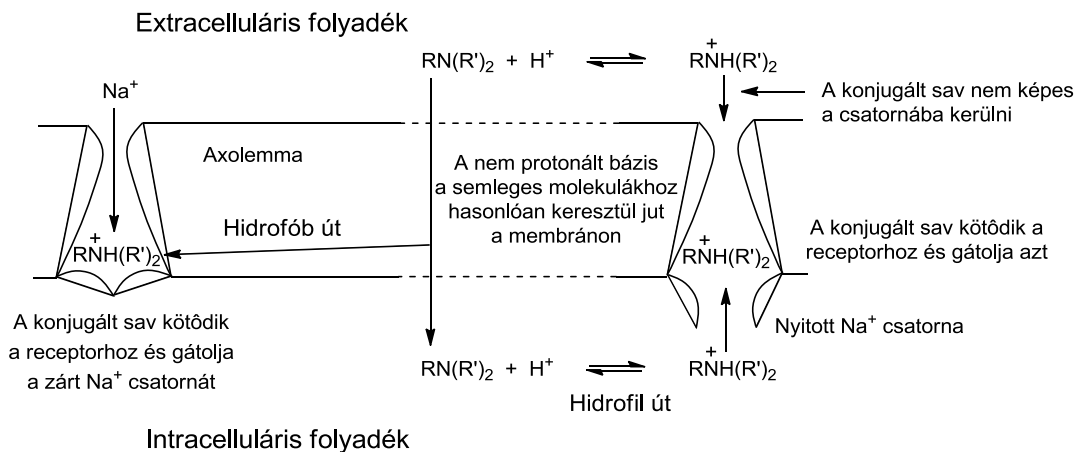
A csatornák vezetőképességének feszültségfüggését ún. kapuzó (gating) részecskék jelenlétével magyarázzuk. Az *aktivációs kapu* reagál a feszültségváltozásra: a nátrium-csatornák kapui depolarizációs-, míg a kálium-csatornák kapui repolarizációs környezetben nyílnak ki. Az ioncsatorna aktivációs kapuját a feszültség szenzor szabályozza, azáltal, hogy elmozdul a membrán potenciál változás hatására. Néhány csatorna esetén (pl. a nátriumion-csatorna) egy másik kapuzó mechanizmus is van, amely ugyancsak feszültségfüggő módon nyitja, ill. zárja a csatornát, ez az ún. *inaktivációs kapu*. A csatorna akkor vezetőképes, ha mindkét kapu nyitva van, ez a csatorna *aktivált állapota*. Amennyiben az inaktivációs kapu a membránpotenciál változás hatására, ill. az idő függvényében bezáródik, a csatorna vezetőképessége megszűnik. Ez az *inaktivált állapot*. Az újra aktiválhatóság feltétele a *nyugalmi állapot* helyreállása. (IV-5. ábra). A káliumion-csatornák esetében – melyek szerkezete hasonló, de nem azonos a nátriumion-csatornákéval - nincs inaktivációs kapu, a depolarizáció nyitja az aktivációs kaput, repolarizáció hatására pedig a kapu záródik.

IV-5. ábra: A nátriumion-csatorna nyugalmi, aktivált és inaktivált állapota.



A feszültségfüggő nátriumion-csatornák gátlásán keresztül fejtik ki hatásukat a helyi érzéstelenítők (szerek). A vegyületek legtöbbje tercier alifás amin (pl. prokain, tetrakain, lidokain, bupivakain) melyek nemprotonált formája paracelluláris (lipofil) úton, míg protonált formája transzcéluláris (hidrofil) úton képes átjutni a membránon. A vegyületek kötőhelye az ioncsatorna-fehérje intracelluláris oldalán található, melyhez a vegyületek hárompontos kölcsönhatáson keresztül kötődnek. A tapasztalatok szerint a vegyületek nagyobb affinitással kötődnek az aktivált állapotú csatornák kötőhelyéhez, így hatékonyan képesek blokkolni a depolarizációt okozó nátriumion-áramot. A helyi érzéstelenítők hatásának molekuláris szintű értelmezését 1984-ben *B. Hille* írta le (IV-6. ábra).

IV-6. ábra: A helyi érzéstelenítők nátriumion csatornákra kifejtett hatásának *Hille* szerinti értelmezése



A görcsgátló (antiepileptikus) hatású vegyületek közül számos vegyület hatásának alapját a feszültségfüggő nátriumion-csatornák működésének gátlása képezi. E vegyületek (pl. fenitoin, primidon, karbamazepin, valproinsav, lamotrigin, zonizamid) főként az inaktív állapotú csatornákhöz kötődnek és lassítják azok nyílt állású konformációjának kialakulását.

Ugyancsak a feszültségfüggő nátriumion-csatornák működésének gátlása képezi a molekuláris alapját a I. osztályba sorolt antiaritmiás szerek hatásának. A csatorna működésének különböző fázisait befolyásoló szerek három alosztályba csoportosíthatók:

1. Refrakter szakaszt növelők (kinidin, prokainamid, dizopiramid)
2. Repolarizációt gyorsítók (lidokain, mexiletin, fenitoin)
3. Depolarizációt késleltető szerek (propafenon, flekainid)

Az antiaritmiás szerek III. osztályába tartozó – repolarizációt késleltető - szerek (amiodaron, szotalol, ibutilid) hatása a káliumion-csatornák működésének gátlásán alapul. A IV. csoportba sorolt antiaritmiás szerek (verapamil, diltiazem) az L típusú (lásd később) kalciumion-csatorna gátlói.

A feszültségfüggő kalciumion-csatornák által létrehozott kalciumion-áram fontos szerepet játszik a simaizom kontrakcióban, neurotranszmitterek felszabadulásában és számos hormon szekréciójában. A szerkezetük alapján, a kalciumion-csatornák két nagy csoportba oszthatók:

1. Alacsony küszöbpotenciállal aktiválódó csatornák.
T (tranzient) csatornák.
2. Magas küszöbpotenciállal aktiválódó csatornák
L (long-lasting) (lassan inaktiválódó csatornák) csatornák
N (neither T nor L) csatornák.
P (Purkinje) csatornák.
R csatornák

A terápiás szempontból legfontosabb L típusú csatornák, melyek specifikus gátlói a dihidropiridinek (pl. nifedipin), a fenilalakilaminok (pl. verapamil) és a benzotiazepinek (pl. diltiazem). A vegyületek blokkolják a kalciumion-csatornákat, ezáltal csökkentik a kontraktilitást, értágulatot, vérnyomáscsökkenést okoznak. A dihidropiridin származékok, különösen a második (pl. amlodipin, felodipin, nikardipin, lacidipin) és harmadik (pl. nizoldipin) generációs vegyületek magas szelektivitást mutatnak az érfalakban expresszáldó csatornák gátlása terén, összehasonlítva a szívizomban expresszáldó csatornák gátlásával. A verapamil és a diltiazem hasonló szelektivitása elhanyagolható. Következésképpen, a dihidropiridin származékok (dipinek) elsődlegesen mint antihipertenzív szerek kerülnek terápiás alkalmazásra.

A talamikus idegsejtek alacsony küszöbű (T-típusú) kalciumion-csatornák gátlásával alakul ki számos antiepileptikum (trimetadion, etoszukcimid, valproinsav, zonizamid) – elsősorban az abszessze rohamok kialakulását gátló - hatása.

IV.4.3 Ligandumfüggő ioncsatornák

A ligandumfüggő ioncsatornák bemutatása a II. fejezet része.

IV.5 Irodalom

Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design and Action. (Editor: Smith H.J.) Harwood Academic Publishers, Amsterdam (1998)

Ádám V., Dux L., Faragó A., Fésüs L., Machovich R., Mandl J., Sümegi B.: Orvosi biokémia. Medicina Kiadó, Budapest (2001)

Humán farmakológia. Szerk.: Vizi E. Sz. Medicina Könyvkiadó, Budapest (2002)

Gyógyszerészi kémia. Szerk.: Fülöp F., Noszál B., Szász Gy., Takácsné Novák K. Semmelweis Kiadó, Budapest (2010)

A gyógyszerkutatás kémiája. Szerk. Keserű Gy. M. Akadémiai Kiadó, Budapest (2011)

A farmakológia alapjai. Szerk.: Gyires K., Fürst Zs. Medicina Kiadó, Budapest (2001)

Gyógyszerek. Szerk. Faigl F. Elektronikus tankönyv. BME, Budapest (2011)

Lemke T.L., Williams D.A., Roche V.F., Zito S.W.: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 7th Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2013)

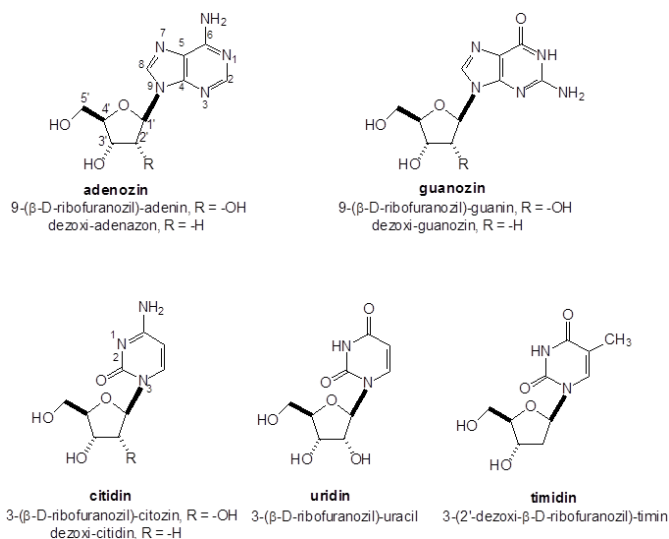
V Nukleinsavak, mint gyógyszercélpontok

A nukleinsavakat először az 1930-as években izolálták. Az 1940-es években született meg az a felismerés, hogy ezek az anyagok minden élő szervezet egyik alapvető sajátosságával, az önreprodukcióval és az öröklődő sajátosságok meghatározásával szoros kapcsolatban vannak.

V.1 Nukleozidok, nukleotidok

A nukleinsavak, a fehérjékhez hasonlóan, szintén polimerek. Építőelemei az ún. *nukleozidok*, melyek egymással foszforsavon keresztül, 3',5'-foszfodiészter-kötéssel kapcsolódnak össze. A nukleozid építőelemek egy ún. *nukleobázis* és egy *D-ribóz* vagy *D-2-deoxiribóz* egységből felépülő N-glikozidok (V-1. ábra). A nukleobázisok pirimidin vagy purin származékok. A pirimidin származékok *timin* (T), *citozin* (C) és *uracil* (U), a purin származékok *adenin* (A) és *guanin* (G) lehetnek. A cukorrész a pirimidinbázisok N3-, a purinbázisok N9-atomjához kapcsolódik β -konfigurációjú N-glikozidos kötéssel.

V-1. ábra: A nukleinsav bázisok nukleozid származékainak szerkezete



A nukleozidok foszforsavval képzett észter származékai a *nukleotidok*. A monofoszfátok mellett nukleozid-difoszfátok és nukleozid-trifoszfátok is képződhetnek a szervezetben. Ezekben a származékokban a foszforsav egységek savanhidrid kötéssel kapcsolódnak egymáshoz. A nukleotidok és származékaik az anyagcsere-folyamatok fontos regulátorai. Így képesek

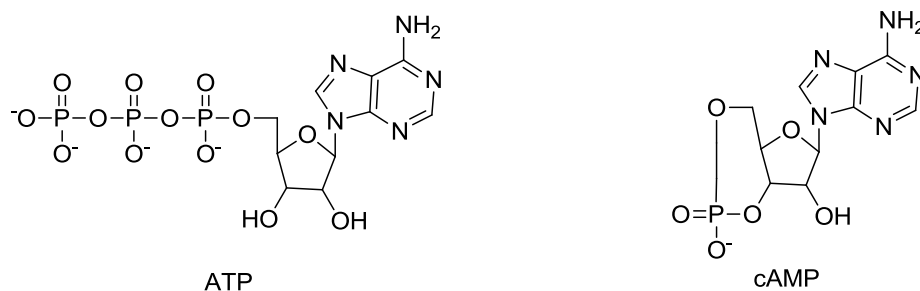
- 1.) kémiai energia tárolására (pl. ATP),
- 2.) másodlagos hírvivő szerepet betölteni (pl. cAMP, cGMP), valamint
- 3.) enzimkatalizált folyamatokban (koenzimként) részt venni (pl. ATP, ADP, AMP, CMP, UDP).

Megemlítendő, hogy néhány további – nem nukleinsav-alkotó nukleotid – ugyancsak fontos szerepet játszik endogén és exogén anyagok enzimkatalizált metabolikus átalakulásaiban, mint

- 1.) koenzimek (pl. NAD, FAD), valamint
- 2.) energetikai aktivátorok (pl. UDP-glukóz, S-adenozil-metionin, 3'-Foszfoadenozin-5'-foszfoszulfát).

Az adenzin-trifoszfát (ATP) és a gyűrűs adenzin-monofoszfát (cAMP) szerkezetét az V-2. ábra mutatja be.

V-2. ábra: Az adenzin-trifoszfát (ATP) és a gyűrűs adenzin-monofoszfát (cAMP) szerkezete.



A szintetikus nukleozid származékok között számos daganatos megbetegedés és vírusfertőzés kezelésére alkalmazott gyógyszervegyületet találhatunk. A vegyületek leggyakrabban olyan pirimidin és purin származékok, melyek (a) heterociklusos gyűrűje, vagy (b) N-glikozidos kötéssel kapcsolódó szubsztituense a természetes nukleozidoktól különböző szerkezeti elemeket tartalmaznak. Ezek a szintetikus analógok a daganatos vagy a vírusfertőzött sejtekben

- (a) a nukleotid-párképződés, és/vagy
- (b) az endogén nukleotidok specifikus enzimekhez történő kötődése útján megakadályozzák a nukleinsavak szintézisét.

A terápiában használt legfontosabb nukleozid-analóg vírusellenes és daganatellenes szereket az V-1. táblázat foglalja össze.

V-1 táblázat: A terápiában használt legfontosabb nukleozid-analóg vírusellenes és daganatellenes szerek.*

Név	Heterociklusos rész	Cukorrész	Alkalmazás*
Vírusellenes szerek*			
aciklovir	guanozin	nyítláncú	herpeszvírus elleni szer
ganciklovir	guanozin	nyítláncú	herpeszvírus elleni szer
penciklovir	guanozin	nyítláncú	herpeszvírus elleni szer
iodoxuridin	módosított uracil	D-2-deoxiribóz	herpeszvírus elleni szer
epervudin	módosított uracil	D-2-deoxiribóz	herpeszvírus elleni szer
lamivudin	citozin	módosított D-2-deoxiribóz	hepatitisz-B elleni szer
ribavirin	triazol származék	D-ribóz	RSV elleni szer
zidovudin	timin	módosított D-2-deoxiribóz	HIV elleni szer

Név	Heterociklusos rész	Cukorrész	Alkalmazás*
didanozin	módosított guanin	D-2,3-dideoxiribóz	HIV elleni szer
Daganatellenes szerek*			
6-merkaptopurin	módosított adenin	nincs	akut limfómás leukémia
5-fluoruracil	módosított uracil	nincs	gyomor-bél-rendszeri, emlő-, valamint fej-nyak-táji daganatok
tegafur	módosított uracil	oxolán	gyomor-bél-rendszeri daganatok
citarabin	citozin	D-arabinóz	akut mieloid leukémia
gemcitabin	citozin	módosított D-ribóz	nem-kissejtes tüdőkarzinóma
kapecitabin	módosított citozin	módosított D-ribóz	végbél- és vastagbél karzinóma

*Nem teljes felsorolás

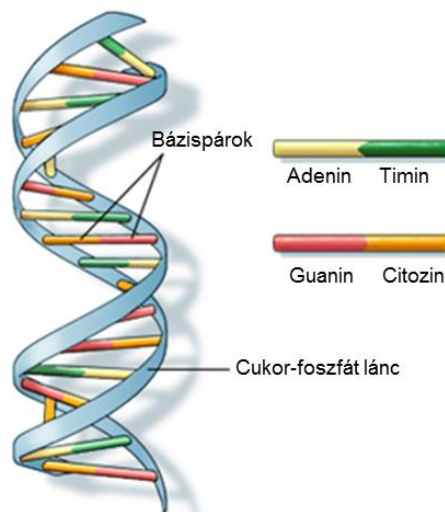
A nukleinsavak az egymást követő nukleozidok foszforsavon keresztül, 3',5'-foszfodiészter-kötéssel összekapcsoló polimerjei. Ez a szerkezet a nukleinsavak ún. *elsődleges szerkezete*. A nukleinsavaknak az azokat felépítő bázisoktól és a cukorrésztől függően két nagy csoportjuk van: a *dezoxiribonukleinsavak* (DNS) és a *ribonukleinsavak* (RNS). Az RNS cukorrésze D-ribóz, a DNS cukor építőeleme D-2-deoxiribóz. A purinbázisok mindkét nukleinsav csoportban megegyeznek: adenin (A) és guanin (G). A piridinbázisok a két nukleinsav csoportban különböznek: az RNS nukleinbázisai citozin (C) és uracil (U), míg a DNS esetén citozin (C) és timin (T).

V.2 Dezoxinukleinsav (DNS)

A DNS legnagyobb mennyiségben a sejtmagban, kisebb mennyiségben a mitokondriumban található. Mivel a jelenleg gyógyszerként alkalmazott DNS-célpontú vegyületek támadáspontja a sejtmag DNS állománya, így e tananyag keretében csak a nukleáris DNS-sel foglalkozunk.

A DNS molekula lineáris szerkezetű, két polinukleotid láncból álló kettős csavar (hélix). A két polinukleotid lánc egymással ellentétes (antiparalel) lefutású, 5'-3' lefutási irányukat tekintve a legtöbb esetben jobbmenetes csavar alakú (P- hélix). A *J. Watson* és *F. Crick* által javasolt térbeli elrendeződés szerint két helikális térszerkezetű polinukleotid lánc a molekula tengelyére csaknem merőlegesen (az eltérés mintegy 6°) elhelyezkedő komplementer bázisai (A-T és G-C) között hidrogénkötések alakulnak ki, melyek jellegzetes geometriát biztosítanak a molekuláknak. A bázispárok ribózhoz történő aszimmetriájának következtében a hélix mentén nagy és kis árok keletkezik. Ez a DNS nagy víztartalmú környezetben (így a DNS számára természetesnek tekinthető) ún. B-konformációja (V-3. ábra). Ekkor a víz a kis árokba beépül. A nagy árok teszi lehetővé, hogy a bázisok más molekulák számára hozzáférhető legyen. Töményebb oldatokban a DNS ún. A-formája képződik. Ebben a formában a két árok közel azonos méretű.

V-3. ábra: A DNS B-formája.



A DNS-célpontú vegyületek túlnyomó többsége a daganatos megbetegedések terápiájában használatos. Jelenleg a DNS-célpontú vegyületek két csoportját különböztetjük meg.

1.) *Biológiai alkilezőszerek*

A biológiai alkilezőszerek csoportjába tartoznak azok a vegyületek, melyek fiziológiás körülmények között alkilezni képesek a celluláris makromolekulák nukleofil atomjait/atomcsoportjait. A hatás akkor a legkifejezettebb, ha a reakció a DNS molekulákat érinti, melyek primér szerkezete így irreverzibilisen módosul. E csoportba tartozó szerek a

- (a) Nitrogénmustár származékok
 - Ciklofoszfamid
 - Ifoszfamid
 - Klorambucil
 - Buszulfán
- (b) Nitrózókarbamid származékok
 - Karmusztin
 - Fotemusztin
 - Lomusztin
- (c) Triazén származékok
 - Temozolomid
 - Dakarbazin
- (d) Mitomicin

2.) *DNS-interkalátorok*

Az interkaláló vegyületek közel planáris, kondenzált aromás gyűrűket tartalmazó molekulák, melyek a DNS egymás fölött elhelyezkedő purin- és pirimidinbázisai közé ékelődnek és pi-kölcsönhatások révén ott rögzülnek. Ezáltal a DNS szerkezete lokálisan eltorzul és a torzult szerkezet megakadályozza a topoizomeráz II enzim működését, ezáltal a DNS replikációját. A DNS interkalátorok fontosabb csoportjai és képviselői a következők:

- (a) Topotekán és irinotekán
- (b) Bleomicin A_2+B_2

- (d) Antraciklin glikozidok
 - Danorubicin
 - Doxorubicin
 - Karubicin
- (e) Mitoxantron

V.3 Ribonukleinsavak

A nukleinsav családok másik csoportját a ribonukleinsavak (RNS) képezik. A natív RNS általában egyszálas polinukleotid. Az egymással komplementer szakaszok az RNS molekulákban is képesek egymással hidrogénkötést kialakítva összekapcsolódni, így egyes RNS-molekulákban hajtűszerű hurkok alakulhatnak ki (pl. a tRNS molekulákban).

Szerkezetüket és celluláris funkcióikat tekintve az RNS molekulák öt nagy csoportba sorolhatók, melyek néhány képviselőjét a V-2. táblázat foglalja össze.

V-2 táblázat: Az RNS molekulák csoportjai és néhány képviselői.

Típus	Rövidítés	Funkció	Előfordulás
Génexpressziókban résztvevő RNS-ek			
hírvivő (messenger) RNS	mRNS	fehérjék kódolása	minden sejt
transzfer RNS	tRNS	aminosavak szállítása	minden sejt
riboszómális RNS	rRNS	fehérjeszintézis	minden sejt
Posztranszlációs módosításokban és DNS replikációban résztvevő RNS-ek*			
rövid sejtmagi (small nuclear) RNS	snRNS	RNS-átszabás (splicing)	eukariota sejtek
Regulációs folyamatokban résztvevő RNS-ek*			
antiszensz RNS	aRNS, asRNS	más RNS-ekkel komplementerek, RNS interferencia	minden sejt
mikroRNS	miRNS	RNS interferencia mediátorai	legtöbb eukariota sejt
rövid interferencia RNS	siRNS	RNS interferencia mediátorai	legtöbb eukariota sejt
Parazita RNS-ek			
Egyéb RNS-ek			

*Nem teljes felsorolás

Az RNS-en ható gyógyszervegyületek egyik fontos csoportját képezik a riboszómális RNS-en ható antibiotikumok. A vegyületek viszonylag nagy affinitással kötődnek a baktériumok riboszómális RNS-éhez, gátolva ezzel a baktériumok fehérjeszintézisét. E csoportba tartozó antibiotikumok (nem teljes felsorolás) a(z)

- (a) Tetracén-vázás antibiotikumok

-
- Tetraciklin
 - Oxitetraciklin
 - Klórtetraciklin
 - Doxiciklin
 - (b) Aminoglikozid antibiotikumok
 - Szteptomicin
 - Neomicin
 - Kanamycin
 - Tobramicin
 - Gentamicin
 - (c) Makrolid antibiotikumok
 - Eritromicin
 - Oleandomicin
 - Azitromicin
 - Klaritromicin
 - Jozamicin
 - (d) Kloramfenikol

A génexpressziók szabályozásának részletesebb megismerésének eredményeképpen további RNS-támadáspontú gyógyszervegyületek kerültek tervezésre valamint preklinikai és klinikai kivizsgálásra. E vegyületek két fontosabb csoportját képezik az

- (a) antiszensz-alapú biológiai gyógyszerek, valamint az
- (b) RNS interferencia (RNSi) befolyásolásán alapuló biológiai gyógyszerek.

A *biológiai gyógyszerek* szerkezetének, hatásmechanizmusának ismertetése túlmutat e tananyag keretein. Így az érdeklődő olvasók további ismereteket a területen megjelent szakkönyvekből szerezhetnek.

V.4 Irodalom

- Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design and Action. (Editor: Smith H.J.) Harwood Academic Publishers, Amsterdam (1998)
- Novák L., Nyitrai J., Hazai L.: Biomolekulák kémiája. MKE, Budapest (2001)
- Ádám V., Dux L., Faragó A., Fésüs L., Machovich R., Mandl J., Sümegi B.: Orvosi biokémia. Medicina Kiadó, Budapest (2001)
- Humán farmakológia. Szerk.: Vizi E. Sz. Medicina Könyvkiadó, Budapest (2002)
- Gyógyszerészi kémia. Szerk.: Fülöp F., Noszál B., Szász Gy., Takácsné Novák K. Semmelweis Kiadó, Budapest (2010)
- A gyógyszerkutató kémia. Szerk. Keserű Gy. M. Akadémiai Kiadó, Budapest (2011)
- A farmakológia alapjai. Szerk.: Gyires K., Fürst Zs. Medicina Kiadó, Budapest (2001).
- Gyógyszerek. Szerk. Faigl F. Elektronikus tankönyv. BME, Budapest (2011)
- Nyitrai L., Pál G.: A biokémia és molekuláris biológia alapjai. Elektronikus tankönyv. ELTE, Budapest (2013)
- Lemke T.L., Williams D.A., Roche V.F., Zito S.W.: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 7th Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2013)

VI A hatóanyag-gyógyszercélpont kölcsönhatás fizikai-kémiai jellegzetességei.

VI.1 Másodlagos kölcsönhatások

Az élő szervezetekben a *specifikus kölcsönhatások*nak kiemelkedő szerepük van. A számos különböző fehérje csaknem mindegyike csupán néhány más fehérjével vagy kismolekulával képes stabilis komplexet képezni. A receptorok például tipikusan csak néhány molekulával alkotnak komplexet. Ugyanez igaz az enzimekre, ellenanyagokra, vagy más funkciót betöltő fehérjékre is. A specifikus kölcsönhatások kialakításának lehetőségeit elsősorban a gyógyszermolekula és celluláris makromolekula

- a.) (elektron)szerkezete,
- a.) térszerkezete
- b.) sav-bázis tulajdonsága, valamint
- c.) lipofil tulajdonsága

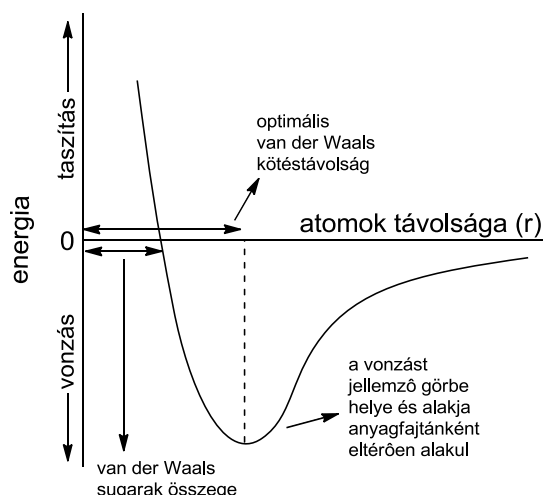
határozza meg. Mindezekkel a tulajdonságokkal a tananyag további fejezetei foglalkoznak.

Amint az I. fejezetben részletesen bemutatásra került, a gyógyszervegyületek többsége biológiai hatásának alapját a vegyületek celluláris makromolekulákkal (célmolekulákkal) kialakított másodlagos (nem-kovalens) kölcsönhatások képezik. A másodlagos kölcsönhatásokat és azok legfontosabb jellemzőit az I-1. táblázat mutatja be. E fejezetben az egyes kölcsönhatások közül a gyógyszerhatások kialakulása szempontjából legfontosabb kölcsönhatások kerülnek bemutatásra.

VI.1.1 Rövidtávú taszítás

Amikor két atom atommagjai közötti távolság csökken, egy bizonyos határon belül a két atom között taszítás lép fel. Ennek energiája a magtávolság (r) függvényében rendkívül meredeken, $1/r^{12}$ szerint változik (VI-1. ábra).

VI-1. ábra: A másodlagos kölcsönhatások energiájának távolságfüggése.



Ismert, hogy a szabad atomok "méretét" a *van der Waals sugár* adja meg. Ez az jellemző távolság, amin belül egy atomot egy másik atom nem közelíthet meg jobban (kivéve, ha kovalens kötés jön köztük létre). Így az atomok van der Waals sugarainak összege adja meg azt a legkisebb távolságot, amelyre két atom egymást megközelítheti. Ennél a távolságnál nagyobb távolságok esetén bármely két atom között elektrosztatikus eredetű vonzó kölcsönhatás alakul ki (VI-1. ábra).

Ennek oka, hogy az atomok elektronfelhője soha sem tökéletesen egyenletesen van elosztva. Két egyenetlenül elosztott elektronfelhővel bíró atom vonzani tudja egymást, hiszen mindkettőben kialakul egy pozitívabb és egy negatívabb oldal, amelyek egymás felé fordulva elektrosztatikus vonzást fejtenek ki egymásra. Ennél kisebb távolság esetén a vonzás csökken, majd átcsap taszításba, míg nagyobb távolság esetén a résztvevő részecskékre jellemző mértékben csökken a távolság függvényében (VI-1. ábra). Hasonlóképpen értelmezhető a molekulák közötti taszító és vonzó erők kialakulása is.

Attól függően, hogy aktuálisan milyen részecskék közötti kölcsönhatásról van szó, más és más lesz az optimális kölcsönhatási távolság, a kölcsönhatási energia értéke ebben a távolságban, valamint a kölcsönhatási energia függése a távolság növelésétől. Az egyes vonzó másodlagos kölcsönhatások típusba sorolása ennek megfelelően történik (lásd I.1. táblázat).

VI.1.2 Ion-ion kölcsönhatás

A pozitív és a negatív töltéssel rendelkező ionok között mind szilárd, mind folyadékfázisban vonzó típusú elektrosztatikus kölcsönhatás alakulhat ki. Az ion-ion kölcsönhatások viszonylag nagy szabadentalpia-változással (2-20 kJ/mol) járó kölcsönhatások, erősségük mintegy tízszer kisebb, mint egy átlagos kovalens kötésé.

Az elektrosztatikus kölcsönhatás erőssége egyenesen arányos a töltések nagyságával és fordítottan arányos a töltések közötti távolsággal (*Coulomb-törvény*). Következésképpen az ion-ion kölcsönhatások távolságfüggése viszonylag gyenge. Ez azt jelenti, hogy saját méretükhöz képest az ionok már nagy távolságból képesek vonzani egymást. A töltések között kialakuló kölcsönhatás erősségét nagymértékben befolyásolja a közeg *dielektromos állandója* is. Alacsony dielektromos állandójú (apoláros) közegben a kölcsönhatások erősebbek, mint magas dielektromos állandójú (poláros) környezetben.

Fiziológiás körülmények között számos funkciós csoport hordoz teljes töltést. Így az aminosavak karboxilcsoportja egyszeres negatív, míg aminocsoportjuk egyszeres pozitív töltést hordoz. Az arginin guanidino-csoportja széles pH tartományban egyszeres pozitív töltést, a DNS cukorfoszfát láncában minden egyes foszfátcsoport egy teljes negatív töltést hordoz.

VI.1.3 Ion-Indukált dipól kölcsönhatás

Az apoláros molekulák, illetve funkciós csoportok (pl. fenilcsoport) is polárisává válhatnak, amennyiben egy másik részecske polarizálja azokat. Amennyiben egy teljes töltésű ion és egy apoláros molekula (funkciós csoport) kellő közelségbe kerül, az ion polarizálhatja azt. Az indukált dipól ionnal ellentétes oldala az ion felé néz, és elektrosztatikus vonzás alakul ki a két részecske között. Ennek eredményeképpen meglehetősen erős (2-15 kJ/mol) kölcsönhatás alakulhat ki. Az ion-indukált dipól kölcsönhatás egyik példája, ahogyan egy fehérjemolekulában egy aromás oldalláncú aminosav, például a *fenilalanin benzolgyűrűje* kölcsönhatásba lép egy *arginin*, vagy egy

lizin oldallánc *pozitív töltésű* csoportjával. Egyik további példája az ion-indukált dipól kölcsönhatásoknak az acetilkolin kvaterner ammónium ionja és a nikotinos acetilkolin receptor kötőhelyében elhelyezkedő triptofán aromás gyűrűje között.

Azokat a másodlagos kölcsönhatásokat, amelyekben nem szerepel teljes töltésű ion *van der Waals kölcsönhatásoknak* nevezzük. Ezek a kölcsönhatások a molekulán belüli töltésszimmetriából következnek. A van der Waals kölcsönhatások három típusát különböztetjük meg: A legerősebb (2-8 kJ/mol) a permanens dipól-permanens dipól kölcsönhatás, gyengébb a permanens dipól-indukált dipól (1-5 kJ/mol) és a leggyengébb (0,1-2 kJ/mol) a pillanatszerűen indukált dipól-indukált dipól kölcsönhatás.

VI.1.4 Permanens dipól-Permanens dipól (Keesom) kölcsönhatások

Az eltérő elektronegativitású atomok között kialakuló poláris kovalens kötések vektorainak összege – megfelelő molekula-geometria esetén – a teljes molekula polarizáltságát (elektrosztatikus töltésmegosztását) eredményezheti. A molekula poláris jellegét a *dipólusmomentummal* jellemezhetjük. (A dipólusmomentum fizikai vektormennyiség, mely a negatív töltések súlypontjából a pozitívak súlypontja felé irányul, nagyságát pedig a két töltéssúlypont közötti távolság és a parciális töltés szorzata adja meg.) A dipólusos molekulák közötti kölcsönhatás – az ion-ion kölcsönhatáshoz hasonlóan – elektrosztatikus kölcsönhatás, ami a kölcsönhatásban résztvevő mindkét partner részéről térben orientált. A kölcsönhatásnak erőssége az abban résztvevő csoportok *polarizálhatóságától* függ. A permanens dipól-permanens dipól kölcsönhatások egyik tipikus biokémiai példája a *víz-molekulák* és a *peptidkötések* között kialakuló kölcsönhatás.

VI.1.5 Permanens dipól- Indukált dipól (Debay) kölcsönhatás

A permanens dipól-indukált dipól kölcsönhatás kialakulása során egy dipólusos molekula (pl. vízmolekula) polarizál egy polarizálható, de izoláltan apoláris molekulát. A permanens dipól-indukált dipól kölcsönhatás erőssége – hasonlóan az ion-indukált dipól kölcsönhatás erősségéhez - az indukált dipólust adó csoport/molekula *polarizálhatóságától* függ. A kölcsönhatás erőssége a két csoport távolságának növekedésével meredeken csökken (I.1. táblázat). Ilyen kölcsönhatás alakulhat ki például *víz-molekulák* és *apoláros aromás aminosavak* között.

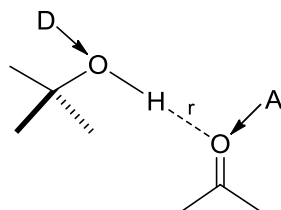
VI.1.6 Pillanatszerűen indukált dipól-Indukált dipól (London) kölcsönhatás

Amennyiben két apoláros atom, molekula, vagy funkcióscsoport kellően közel kerül egymáshoz, elektronfelhőik szinkronizáltan polarizálódnak. Az így kialakuló átmeneti dipólusok között elektrosztatikus vonzás alakulhat ki. Az apoláris molekulák között kialakuló vonzóerők értelmezésére először (1930) *F. London* tett javaslatot, ezért ezt a kölcsönhatást *London-féle diszperziós kölcsönhatásnak* is nevezzük. A London-féle diszperziós kölcsönhatások a másodlagos kölcsönhatások közül a *legkisebb kötési energiájú*, és ezeknek van a legnagyobb távolságfüggése. Jó példa erre a fehérjékben egymáshoz térben közel kerülő *aromás oldalláncok gyűrűinek egymásra lapolódása*, vagy a DNS kettős hélix szerkezetben, a *DNS szálban* egymást követő *bázisok* részleges, lépcsőzetesen eltoló *átfedése* („base stacking”). Ennek a kölcsönhatásnak az erőssége is az abban résztvevő csoportok *polarizálhatóságától* függ.

VI.1.7 Hidrogénhidás kölcsönhatás („hidrogénkötés”)

A *hidrogénhidás kölcsönhatás* a legerősebb intermolekuláris kölcsönhatás. A hidrogénhidás kölcsönhatás két (egy donor és egy akceptor) csoport összesen három atomja közreműködésével jön létre (VI-2. ábra).

VI-2. ábra: A hidrogénhidás kölcsönhatás kialakulása.



A *donor* csoportban van egy *nagy elektronegativitású atom* (pl. O, vagy N), és egy ehhez kovalensen kötött hidrogénatom. A nagy elektronegativitású atom miatt a kovalens kötés poláros, a donor csoporthoz kapcsolódó részben elektronhiányos hidrogénatom ún. lazított hidrogénatom. Az *akceptor* csoport tartalmaz egy olyan, rendszerint *szintén nagy elektronegativitású atomot*, amelynek *nemkötő elektronpárja* van. Ez a nemkötő elektronpár alakít ki kölcsönhatást a nagy töltéssűrűségű, elektronhiányos hidrogénnel.

A hidrogénhidás kötés *számos szempontból kovalens jellegű*. Egyrészt az energiája (10-30 kJ/mol) magasabb a tipikus másodlagos kölcsönhatások energiájánál. Másrészt, amikor az említett három atom hidrogénhidat alkot, akkor a hidrogén és az akceptor csoport fogadó atomja közelebb kerülhetnek egymáshoz, mint van der Waals sugaraik összege. Harmadrészt a létrejövő kötések száma nem tetszőleges, tehát egyfajta vegyérték-szerű tulajdonság is megjelenik.

Hidrogénhidás kötések kialakulásának eredménye például a hidrogén-fluorid, a víz és az ammónia molekulatömegéhez viszonyított relatíve magas forráspontja. A szerves molekulákban számos olyan funkciós csoport van, amelyek között hidrogénhidás kölcsönhatás jöhet létre. Így hidrogén-akceptorként szerepelhet az éter és a karbonilcsoportok oxigénatomja, valamint a terciér aminok nitrogénatomja, míg hidrogén-donorként leggyakrabban az alkoholos/fenolos hidroxilcsoportok, valamint a primer és szekunder aminocsoportok szerepelnek.

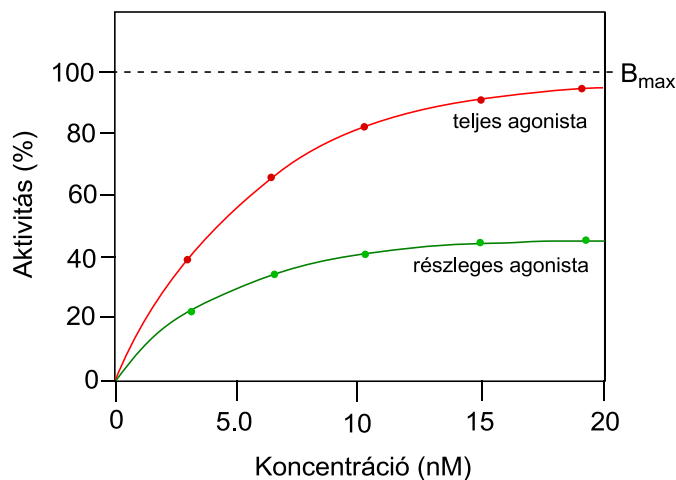
A hidrogénhidás kötések természetüknél fogva *erősen távolság- és irányfüggő* tulajdonságúak. Ennek köszönhetően a hidrogénhidás kötés komoly „szervezőkészséggel” bír. Így például a fehérjékben lévő főlánc szabályos konformációs állapotai, a peptidlánc mentén megtalálható csoportok közötti hidrogénhidás kötések eredménye. A kettősszalú DNS-ben az egymást kiegészítő (komplementer) két szál egymással szemben lévő bázisai között hidrogénhidás kötések vannak (lásd I. fejezet.).

VI.2 Affinitás és aktivitás

Amint azt az enzim-szubsztrát kölcsönhatás kvantitatív összefüggései kapcsán bemutattuk, a másodlagos kölcsönhatáson alapuló szubsztrát koncentráció - reakciósebesség összefüggés telítési görbét mutat (III-1. ábra). Hasonló kísérleti tapasztalatok voltak nyerhetők az agonista koncentrációja és a mérhető biológiai válasz nagysága közötti összefüggés vizsgálata során. Amennyiben a ligandumot fokozatosan növekvő koncentrációban adjuk a receptorhoz, a kiváltott válasz mértéke először lassan, majd egyre meredekebben emelkedik, majd egy bizonyos koncentráció fölött már nem növelhető tovább.

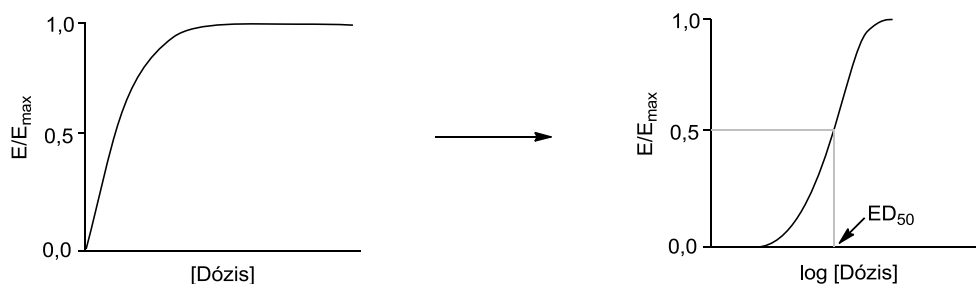
Ugyanazon a receptoron kötődő agonista vegyületek (ligandumok) összehasonlítása során megállapítható volt, hogy az egyes agonisták által kapott biológiai válasz nagysága különbözőségeket mutatott. Egyes agonisták alkalmazása eredményeképpen a biológiai válasz nagysága elérte az endogén agonista alkalmazásakor mérhető maximumot, más agonisták esetén azonban a maximális válasz nagysága kisebb volt annál (VI-3. ábra). Ez esetben a maximális választ adó agonistát *teljes agonistának*, az annál kisebb nagyságú (maximális) biológiai választ eredményező agonistát *részleges agonistának* nevezzük. Az agonisták biológiai hatását gátló vegyületeket összefoglaló néven *antagonistáknak* hívjuk.

VI-3. ábra: Teljes és részleges agonista dózis-válasz görbéi.



A dózis-biológiai válasz összefüggések ábrázolására a lineáris koordináta-rendszer helyett gyakran fél-logaritmikus ábrázolást választunk, amikor az x tengelyen a koncentráció (dózis) logaritmusát ábrázoljuk. Ekkor a dózis-válasz görbék jellegzetes szigmoid alakot öltenek, melyről leolvasható a ligandum *hatékonysága* (ED_{50}), vagyis a fél-maximális hatáshoz szükséges ligandum dózis, illetve a *hatáserősség* (E_{max}), amely a maximálisan kiváltható válasszal egyenlő (VI-4. ábra).

VI-4. ábra: A dózis-biológia válasz összefüggés lineáris és szemilogaritmikus koordináta-rendszerben történő ábrázolása.



A vizsgálatok későbbi szakaszában, a receptorok (célmolekulák) azonosítása és izolálását követően kezdődtek meg azok a munkák, melyeknek az agonisták és az antagonisták biológiai válaszreakcióinak vizsgálatán túlmenően a *vegyületek és a receptorok kölcsönhatásának vizsgálata*. Izotópjelzett vegyületekkel végzett kötődési vizsgálatok segítségével megállapítható volt, hogy mind az agonisták mind az antagonisták a legtöbb esetben reverzibilis kötést alakítanak ki a receptorokkal, ami az egyensúlyra vezető reakciókra alkalmazható tömeghatás törvénye alapján definiált egyensúlyi disszociációs konstans (K_D) értékével jellemezhető.

$$K_D = \frac{[L][R]}{[LR]}$$

Ahol K_D = a disszociációs konstans

$[L]$ = a szabad ligandum egyensúlyi koncentrációja

$[R]$ = a szabad receptor egyensúlyi koncentrációja

$[LR]$ = a ligandum-receptor komplex egyensúlyi koncentrációja.

A disszociációs konstans (K_D) számszerű értéke nem más, mint az a ligandum-koncentráció, ahol a ligandum a kötőhelyek 50%-át foglalja el. Minél kisebb a K_D értéke, annál erősebb a ligandum(L)-receptor(R) kölcsönhatás.

Igazolható, volt, hogy a receptorok – az enzimekhez hasonlóan - véges számú kötőhellyel rendelkeznek, melyek különböző koncentrációban jelenlévő agonista vagy antagonistá vegyülettel telíthető. E vizsgálatok alapján definiálható volt az agonista/antagonista vegyületek adott receptorral szemben mutatott *termodinamikai affinitása*. A nagy affinitású (kis K_D értékkel bíró) vegyületek kisebb koncentrációk esetén képesek telíteni a rendelkezésre álló aktív helyeket, mint a kis affinitású (nagy K_D értékkel bíró) vegyületek. Az azonos helyen kötődő ligandumok affinitásának erősségét a dózis-válasz görbe X tengelyhez viszonyított helyzete (ED_{50}) határozza meg.

A kísérletek során a képződő receptor-ligandum komplexek termodinamikai stabilitása mellett azok kinetikus stabilitása is. Ha a ligandumok kicserélődése lassan megy végbe a komplexeket kinetikailag *inert*, ha a szabad ligandum gyorsan kicserélődik a komplex ionban kötöttel, a komplexet kinetikailag *labilis* komplexnek nevezzük.

A dózis-biológiai válasz görbék kvantitatív (a kötődési és a biológiai vizsgálatok eredményei közötti kapcsolat) elemzésével először *J. Langley*, *A. Hill* és *A. Clark*

foglalkozott. Munkáik eredményeképpen született meg a gyógyszer-receptor kölcsönhatás ún. *telítési elmélete*. Az elmélet első kidolgozója A. Clark volt, aki a gyógyszer-receptor kölcsönhatást az egyensúlyok tanának tömeghatás törvénye alapján értelmezte. Értelmezése szerint a biológiai hatás nagysága egyenesen arányos az agonista-receptor komplexek számával.

Az elméletet később A.J. Ariens és R.P. Stephenson fejlesztette tovább a *belső (intrinszik) aktivitás* definiálásával. Az elmélet szerint

- (1) Az *agonisták* azok a gyógyszerek, melyek kötődni tudnak a receptorhoz, és azt aktiválni is képesek (ún. *belső (intrinszik) aktivitással* rendelkeznek);
- (2) A *belső (intrinszik) aktivitás* a receptorral kölcsönhatást kialakító gyógyszermolekula biológiai hatást kiváltó képessége; míg
- (3) Az *antagonisták* a receptorral kölcsönhatásba lépő (termodinamikai affinitással rendelkező), de biológiai választ nem indukáló (belső (intrinszik) aktivitással nem rendelkező) vegyületek.

A *belső (intrinszik) aktivitás* bevezetésével értelmezhetővé váltak azok a kísérleti eredmények, melyek azt mutatták, hogy azonos termodinamikai aktivitással (K_D értékkel) bíró agonisták biológiai válaszreakciói különbözőségeket mutattak. Az *belső (intrinszik) aktivitást* a dózis-válasz görbe magassága határozza meg.

A dózis-válasz görbe kvantitatív értelmezésének egy az előző – elsősorban az ligandum-aktivált ionsatornák vizsgálata alapján kimunkált – elméletétől különböző elméletének alapja D.E. Koshland Jr. ún. *indukált illeszkedési (induced-fit) elmélete*, melyet a szerzők (D.E. Koshland Jr., G. Némethy és D. Filmer) az enzimkatalizált reakciók molekuláris mechanizmusának értelmezésére dolgozott ki (*KNF modell*). Az elmélet szerint az enzim kötőhelyének konformációja flexibilis. A szubsztrát kötődése az enzim kötőhelyének konformáció-változását eredményezi, ami így alkalmas válik a katalitikus funkciójának betöltésére. Az elmélet alapján a biológiai hatás kialakulásának feltétele - az enzim-szubsztrát komplex kialakulása mellett - az enzimfehérje konformáció változása.

A *szubsztrát* kötődik az enzimhez és a hatás kialakulásához szükséges konformáció-változást eredményezi

Az *antagonista* kötődik az enzimhez, de a kötődés nem indukálja a hatás kialakulásához szükséges konformáció-változást.

A gyógyszer-receptor kölcsönhatás és azt annak eredményeképpen megfigyelhető biológiai válasz kialakulásának egyik következő elmélete W.D.M. Paton munkásságának eredménye. Paton ún. *kinetikus elmélete* szerint (1967) az időegység alatt aktuálisan kialakuló gyógyszer-receptor kölcsönhatások száma (képződésük sebessége) egyenesen arányos a biológiai hatás mértékével (erősségével). Az elmélet szerint

- (1) Az *agonisták* gyorsan asszociáló és gyorsan disszociáló;
- (2) A *részleges (parciális) agonisták* közepes sebességgel asszociáló és közepes sebességgel disszociáló, míg
- (3) Az *antagonisták* gyorsan asszociáló, de lassan disszociáló vegyületek.

A dózis-válasz görbék gyógyszer-receptor kölcsönhatások alapján történő értelmezésének egy következő példája az ún. *makromolekuláris pertubáció elmélete*. Az elmélet alapja az a feltételezés, hogy a ligandum-receptor kapcsolat kialakulásának eredményeképpen kéttípusú (specifikus és nonspecifikus) pertubáció következhet be a

makromolekula szerkezetében. A biológiai hatás intenzitását a hatást eredményező - a hatás szempontjából optimális konformációjú - gyógyszer-receptor komplexek képződésének sebessége határozza meg. Az elmélet alapján:

(1) Az *agonisták* a receptor (celluláris makromolekula) megfelelő konformációs változását eredményezi, míg

(2) Az *antagonisták* a receptor (celluláris makromolekula) megfelelő konformációs változása hiányában nem eredményeznek választ (hatást).

A makromolekuláris pertubáció elméletének kiterjesztése az ún. *alloszterikus elmélet* (Monod-Wyman-Changeux modell (*MWC modell*)). Az *MWC modell* kimunkálójának – J. Monod, J. Wyman, és J.-P. Changeux – feltételezése szerint a szabályozott fehérjék, így az enzimek és receptorok, regulátor-molekulák távollétében különböző, egymásba átalakítható állapotban (konformációban) léteznek. A különböző konformerek arányát a termikus egyensúlyokra érvényes összefüggések adják meg. Az eredeti modell leírásakor használt jelöléseket használva, minden fehérje, fehérje alegység, regulátor molekulák távollétében két kitüntetett konformációval – *R* (Relaxált)-aktív és *T* (feszült)-inaktív – rendelkezik. A ligandum (*L*) mindkét konformációhoz kötődhet, különböző erősséggel. A termodinamikailag kevésbé stabilis *R* konformáció ligandum-kötő képessége (affinitása) nagyobb. Így, a ligandum kötődése a fehérjéhez – a tömeghatás törvénye alapján – megnöveli az *R* konformer részesedését az egyensúlyi elegyben. Az elmélet szerint

(1) Az *agonisták* az *R* (aktív) formához kötődnek erősebben (képeznek stabilisabb komplexet) és így a hatékony konformer részesedését növelik meg;

(2) A *parciális agonisták* mindkét formával összemérhető stabilitású komplexet alkotnak; míg

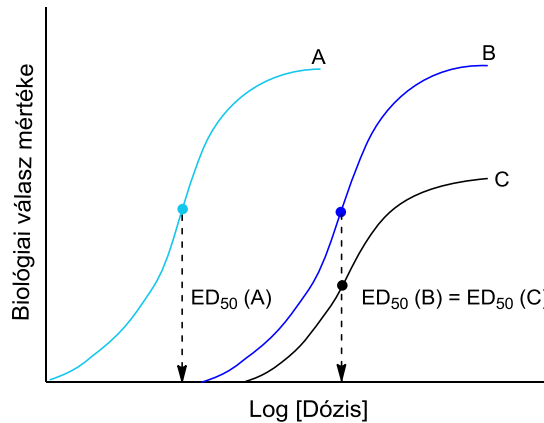
(3) Az *antagonisták* az inaktív *T* formához kötődnek erősebben, és növelik meg annak részesedését a konformer-populációban.

Mai ismereteink szerint a ligandumok szelektálnak a fehérjék eleve létező konformációi között, az *MWC* modellnek megfelelően. Az oligomer oldalláncai pedig illeszkednek a kötődő ligandumhoz, a *KNF* modellel összhangban. Vagyis az *MWC* és *KNF* modellek antitézise szintézis felé közeledik.

VI.3 Hatékonyság és hatásereőség

A gyógyszer *hatékonysága* (*potency*) azt fejezi ki, hogy mekkora dózisú gyógyszerre van szükség a kívánt hatás elérésére. A gyógyszer hatékonyságát a gyógyszer receptorhoz való affinitása, az alkalmazott gyógyszer mennyisége, valamint belső (intrinszik) aktivitása határozza meg. A gyógyszerek hatékonyságát általában azok *ED*₅₀ értékével jellemezzük. Az *ED*₅₀ érték az a dózis, ami az adott hatóanyag által az adott receptorral történő kölcsönhatás eredményeképpen kiváltható maximális biológia válasz 50 %-ának kiváltásához szükséges. Két teljes agonistát összehasonlítva az hatékonyabb, amelyik *ED*₅₀ értéke alacsonyabb. (Megjegyzendő, hogy az *ED*₅₀ értékek erősen függenek a vizsgálati körülményektől, így összehasonlítás alapjául csak azonos kísérleti körülmények között meghatározott értékek szolgálhatnak.) Így például a VI-5. ábrán bemutatott három – ugyanazon a receptoron kötődő- hatóanyag közül az „B” anyag hatékonysága (*ED*₅₀ értéke) a „C” anyagéval megegyező, de mindkét anyag hatékonysága kisebb (*ED*₅₀ értéke nagyobb) mint az „A” anyagé.

VI-5. ábra: Két különböző hatékonyságú („A” valamint „B” és „C”) és két különböző hatáserősségű („A” és „B” valamint „C”) hatóanyag dózis-válasz görbéje.



A gyógyszer *hatáserőssége* (*efficacy*) az a maximális gyógyszerhatás, amely elérhető az adott hatóanyagok adott receptorral történő kölcsönhatásának eredményeképpen. A hatáserősséget számos tényező határozza meg, mint a gyógyszer-receptor komplexek száma (K_D), a gyógyszer képessége, hogy aktiválja a receptort, ha kötődött (belső (intrinusz) aktivitás), és a célszerv állapota. A VI-5. ábrán bemutatott három hatóanyag közül az „A” és a „B” anyagok hatáserőssége megegyező, míg a „C” anyag hatáserőssége kisebb, mint az „A” és a „B” anyagoké.

Külön vizsgálatok tárgyát képezik azok a körülmények, amikor egy agonista hatóanyag receptor-kölcsönhatását egy másik anyag jelenlétében vizsgáljuk. Ekkor alapvetően három különböző tapasztalatot nyerhetünk:

- (1) A második anyag nem befolyásolja a vizsgált hatóanyag biológiai válaszreakcióját;
- (2) A második anyag csökkenti a vizsgált hatóanyag biológiai válaszreakcióját (antagonizmus);
- (3) A második anyag növeli a vizsgált hatóanyag biológiai válaszreakcióját (szinergizmus).

A gyógyszerként forgalomba kerülő hatóanyagok legnagyobb hányada csökkenti az endogén agonista vegyületek hatását (antagonisták). Az antagonisták hatását természetesen kötődési és biológiai vizsgálati módszerekkel történő vizsgálati módszereinek bemutatása túlmutat e tananyag keretein. Érdeklődő olvasó számos kitűnő szakkönyvet talál e területekről.

VI.4 Szelektivitás

A gyógyszerkutatás egyik definiált célkitűzése, hogy a kifejlesztett hatóanyagok nagy affinitásúak és szelektívek legyenek egy adott biológiai célpontra nézve. Egy ilyen hatóanyag többféle előnnyel rendelkezik, többek között feltételezett mellékhatás mentességével.

A ma forgalomban lévő hatóanyagok között számos olyan vegyületcsoportot találunk, melyek szelektív hatással bírnak az azonos receptor-családokba tartozó, de különböző biológiai hatásokat és/vagy különböző szervezetben belüli expressziót mutató

receptor alcsaládok képviselőivel szemben. Néhány gyógyászatilag jelentős szelektív hatóanyagcsoport képviselőit a VI-1. táblázat foglalja össze.

VI-1 táblázat: Szelektív támadáspontú gyógyszerek.

Molekuláris célpont (hatás)	Hatóanyag(csoport)*	Alkalmazás
GABA _A receptor (modulátor)	barbiturátok, benzodiazepinek	Nyugtatók, altatók, szorongásoldó szerek
GABA _B receptor (agonista)	baklofén	Izomgörcs-oldó
Opioid mu-receptor (agonista)	morfin	Major analgetikum
Adrenerg alfa-receptor (agonista)	Nafazolin, xilometazolin	Orrnnyálkahártya-ödéma ellenes szer
Adrenerg alfa receptor (antagonista)	prazosin, doxazosin	Magas vérnyomás ellenes szer
Adrenerg béta-receptor (agonista)	terbutalin, szalbutamol	Asztma tüneteinek kezelése
Adrenerg béta-receptor (antagonista)	propranolol, atenolol	Szívelégtelenség-, aritmia-, magas vérnyomás-ellenes szerek
MAO-A enzim (inhibitor)	moklobemid	Depresszióellenes szer
MAO-B enzim (inhibitor)	szelegilin	Parkinson-kór ellenes szer
COX-1 enzim (inhibitor)	acetilszalicilsav	Hőcsökkentő, fájdalomcsillapító, nemszteroid gyulladáscsökkentő
COX-2 enzim (inhibitor)	celecoxib	Hőcsökkentő, fájdalomcsillapító, nemszteroid gyulladáscsökkentő

*Nem teljes felsorolás

Míg elsődleges célkitűzés a szelektív szerek fejlesztése, egyes indikációs területeken a több támadáspontú (nem-szelektív) hatóanyagok alkalmazása általános gyakorlat. A molekulák több receptor iránt mutatott affinitása erősíthetik a hatóanyag kívánt hatását. Egyik legismertebb példái a többcélpontú hatóanyagoknak az antipszichotikumok és az antidepresszív szerek csoportja.

VI.5 Irodalom

Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design and Action. (Editor: Smith H.J.) Harwood Academic Publishers, Amsterdam (1998)

Ádám V., Dux L., Faragó A., Fésüs L., Machovich R., Mandl J., Sümegi B.: Orvosi biokémia. Medicina Kiadó, Budapest (2001)

Atkins P.W.: Fizikai kémia I-III. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest (2002)

Humán farmakológia. Szerk.: Vizi E. Sz. Medicina Könyvkiadó, Budapest (2002)

Gyógyszerészi kémia. Szerk.: Fülöp F., Noszál B., Szász Gy., Takácsné Novák K. Semmelweis Kiadó, Budapest (2010)

- A gyógyszerkutatás kémiája. Szerk. Keserű Gy. M. Akadémiai Kiadó, Budapest (2011)
A farmakológia alapjai. Szerk.: Gyires K., Fürst Zs. Medicina Kiadó, Budapest (2001)
Gyógyszerek. Szerk. Faigl F. Elektronikus tankönyv. BME, Budapest (2011)
Nyitrai L., Pál G.: A biokémia és molekuláris biológia alapjai. Elektronikus tankönyv. ELTE, Budapest (2013)
Lemke T.L., Williams D.A., Roche V.F., Zito S.W.: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 7th Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2013)

VII A hatóanyag-gyógyszercélpont kölcsönhatás fizikai-kémiai jellegzetességei. Szerkezet, térszerkezet

A gyógyszerhatás előző fejezetekben bemutatott molekuláris alapjai alapján nem meglepő, hogy a hatóanyag-receptor kölcsönhatás egyik meghatározó tényezője a résztvevő molekulák háromdimenziós szerkezete. A hatóanyagok háromdimenziós szerkezete két szinten jellemezhető, melyek (a) a molekulák szerkezete és (b) a molekulák térszerkezete.

A molekulák (tér)szerkezetének jellemzése szempontjából lényeges definiálni az *izoméria* fogalmát és megismerni az izomerek (tér)szerkezetei közötti különbségeket. A legáltalánosabban használható definíció szerint *izomerek* azok a vegyületek, melyek azonos összegképlettel, de különböző fizikai-kémiai tulajdonságokkal rendelkeznek. Az így definiált izomerek szimmetriatulajdonságaik alapján két nagy csoportba sorolhatók:

- (1) Az egymással fedésbe nem hozható, nem-tükörképi vegyületeket – *diasztereoizomereket*, valamint
- (2) Az egymással fedésbe nem hozható, tükörképi párokat – *enantiosztereoizomereket*.

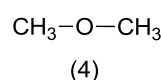
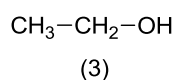
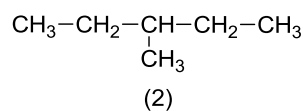
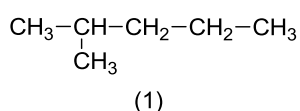
VII.1 Diasztereoizomerek

A diasztereoizomerek – nem-tükörképi, egymással fedésbe nem hozható szerkezetek – szerkezeti különbözőségeik és/vagy fizikai-kémiai tulajdonságaikban megfigyelhető különbözőségeik alapján több csoportba sorolhatók. Ezek közül a szerves kismolekulák (a jelenleg forgalomban lévő hatóanyagok legnagyobb része ebbe a csoportba tartozik) között a legfontosabb csoportok a következők.

1.) Szerkezeti izomerek

A szerkezeti vagy (struktúr-) izomerek) azok a vegyületek, amelyekben az azonos összegképlet mellett az alkotó atomok kapcsolódási sorrendje (konstitúciója) eltér. A szerkezeti izomerek gyakran különböző funkciós csoportokat tartalmaznak, ezáltal teljesen eltérő molekulák, vagyis jellemző kémiai (pl. reakciókészség), illetve fizikai-kémiai (pl. olvadáspont, forráspont, oldhatóság) tulajdonságaik semmilyen hasonlóságot nem mutatnak egymással. Szerkezeti izomerek pl. a 2-metil-pentán és 3-metil-pentán, valamint az etanol és dimetil-éter (VII-1. ábra).

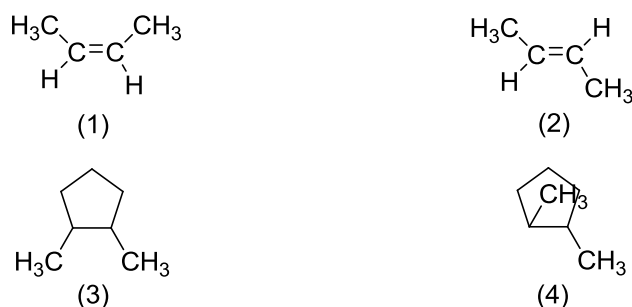
VII-1. ábra: A 2-metil-pentán (1) és 3-metil-pentán (2), valamint az etanol (3) és dimetil-éter (4) szerkezete.



2.) Geometriai izomerek

A geometriai izomerek azonos szerkezettel, de különböző térbeli elrendeződéssel bíró vegyületek. Kialakulásuk előfeltétele a molekulán belüli gátolt rotáció. Ez megtörténhet (a) szén-szén kettős kötés, vagy (b) kis gyűrűragszámú cikloalkánok körében. Geometriai izomerek pl. a (Z)-2-butén és (E)-2-butén, valamint a *cisz*-1,2-dimetil-ciklopentán és *transz*-1,2-dimetil-ciklopentán (VII-2. ábra)

VII-2. ábra: A (Z)-2-butén (1) és az (E)-2-butén (2), valamint a *cisz*-1,2-dimetil-ciklopentán (3) és *transz*-1,2-dimetil-ciklopentán (4) szerkezete



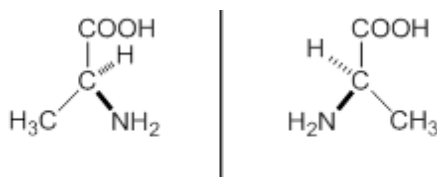
Megfelelőképpen szubsztituált szén-szén kettős kötésű vegyületek, vagy cikloalkánok esetén két különböző geometriai szerkezettel (konfigurációval) bíró vegyületek képződhetnek. Megkülönböztetésükre a szén-szén kettős kötésű vegyületek esetén a (Z)/(E), míg cikloalkán származékok esetén a *cisz/transz* előtagot használjuk. Azt a térszerkezeti formát, amelyben a két metilcsoport a sík azonos oldalára esik (tehát térbelileg is közelebb van egymáshoz) (Z)-(vagy *cisz*)-izomernek, a másik térszerkezeti formát, melyben a két metilcsoport ellentétes oldalon foglal helyet és így egymástól távolabb kerül, (E)- (vagy *transz*)-izomernek nevezzük. Összetettebb szerkezetű vegyületek konfigurációjának megállapítását leíró szabályok megtalálhatók a szerves kémia tankönyvekben. A geometriai izomerek fizikai állandói (olvadáspont, forráspont, oldhatóság, dipólusmomentum stb.) – a szerkezeti izomerekhez hasonlóan – eltérnek egymástól.

3.) Optikai izomerek

Az optikai izomerek nevüket onnan kapták, hogy akirális oldószerrel készült oldatai képesek a síkban poláros fény síkját elforgatni. Az optikai aktivitás oka a vegyületek molekuláinak aszimmetrikus (királis) szerkezete. Az aszimmetrikus szerkezet leggyakrabban ún. aszimmetrikus (királis) szénatom jelenlétéhez kötődik. Bármely olyan (sp³ hibridállapotú) szénatom amihez négy különböző atom vagy atomcsoport kapcsolódik *aszimmetrikus szénatom*. A szénatomon kívül más tetraédres térszerkezettel bíró, négy különböző ligandumhoz kapcsolódó atom – például nitrogén-, kén-, foszforatom – is lehet aszimmetrikus szerkezetű. A ligandumoknak a centrális atom körüli elhelyezkedését az aszimmetriás atom *konfigurációjának* nevezzük.

Amennyiben egy molekulában egyetlen aszimmetrikus atom (aszimmetria centrum) található, úgy annak a molekulának két, egymással entiómer sztereoizomerje létezik. Az alanin két enantiomerjét a VII-3. ábra mutatja be.

VII-3. ábra: Az alanin két enantiomerje.



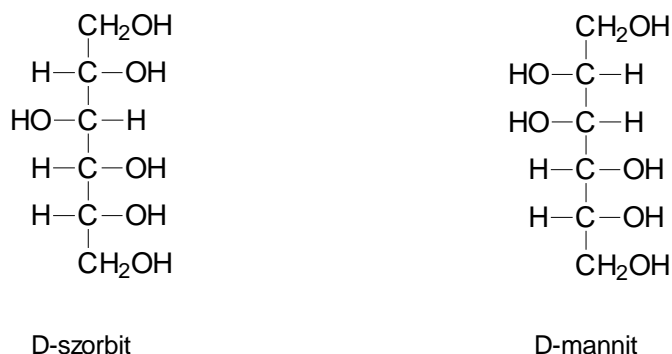
Amennyiben egy molekulán belül kettő vagy annál több aszimmetriás atom (kiralitáscentrum) található, úgy a vegyületek szimmetriatulajdonságainak összehasonlítása alapján a vegyületeket két csoportba sorolhatjuk:

1.) Az összehasonlítandó vegyületek egyikében található aszimmetriás atomok konfigurációja a másik vegyületben rendre ellentétes (tükörképi). Ekkor a két vegyület *enantiosztereoiszomer*.

2.) Az összehasonlítandó vegyületek egyikében található aszimmetriás atomok konfigurációja a másik vegyületben nem minden esetben ellentétes (tükörképi). Ekkor a két vegyület *diasztereoiszomer*.

A diasztereoomer vegyületek egyik jól ismert példája a D-szorbit és a D-mannit izomériája. Mind a D-szorbit mind a D-mannit négy aszimmetriás szénatomot hordoz, melyek közül csak a C2 szénatom konfigurációja ellentétes (tükörképi) a két molekulában (VII-4. ábra). Azokat az optikailag aktív diasztereoizomereket, melyek csak egy kiralitáscentrum konfigurációjában különböznek egymástól, *epimerek*nek nevezzük. A D-mannit és a D-szorbit epimerek.

VII-4. ábra: A D-szorbit és a D-mannit szerkezete.



Az optikailag aktív diasztereoizomerek fizikai-kémiai tulajdonságai – a szerkezeti és a geometriai izomerekhez hasonlóan különbözőek.

VII.2 Enantiosztereoiszomerek

Az enantiosztereoiszomer (röviden entiomér) párok egymással fedésbe nem hozható tükörképi párok. Jellemző tulajdonságuk, hogy molekuláik aszimmetrikus (királis) szerkezetűek.

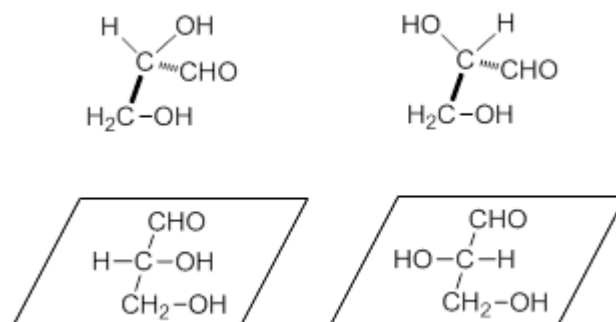
Az enantiosztereoiszomer vegyületek minden mérhető fizikai-kémiai tulajdonsága (így például olvadáspontja, forráspontja, töréspontja, akirális oldószerben mérhető oldhatósága, stb.) megegyezik. Különbözést csak egy másik királis molekulával vagy más korpuszkuláris tulajdonsággal is rendelkező anyaggal (pl. síkban polárizált fény) történő kölcsönhatásaik során mutatnak.

Így például az enantiomerek akirális oldószerrel készült oldatai a síkban poláros fény síkját egyenlő mértékben, de ellentétes irányban képesek elforgatni. A poláros fény síkját az óramutató járásával megegyező irányba forgató enantiomert – a kémiai neve elé írt – (+), míg az óramutató járásával ellentétes irányba forgató enantiomert (-) előtaggal jelezzük. Optikai forgatóképességük alapján az enantiomereket *optikai izomereknek* is nevezzük. (Optikailag aktív izomerek diasztereoizomerek is lehetnek, így az enantiosztereoizomerek optikai izomerekként történő általánosítása félrevezető lehet.) Az optikai forgatóképesség irányát diasztereoizomerek esetén is megegyezően tüntetjük fel a vegyület kémiai neve előtt.

Az endogén biomolekulák között egyetlen aszimmetrikus szénatommal rendelkező vegyületcsaládok az oldalláncban szubsztituált hidroxil- és aminosavak. E vegyületek esetében a szubsztituens hordozó szénatom aszimmetrikus szénatommá válik, ezért két enantiomer struktúrával rendelkeznek.

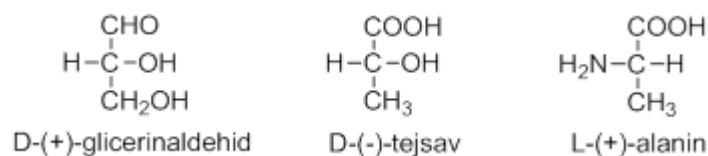
Az alaninnál összetettebb szerkezetű enantiomereknek a VII-3. ábrán bemutatott módon történő ábrázolása összetett rajztechnikai feladat. Ezért a gyakorlatban a háromdimenziós szerkezetek két dimenzióba vetített (ún. projekciós) képleteit használjuk. A vetítési szabályok (*Fischer-projekció*) részletes ismertetése a gyógyszerészi kémia tankönyvben megtalálható. Az aldózok legegyszerűbb képviselőjének tekinthető glicerin-aldehid két enantiomer szerkezete, valamint szabály szerinti kétdimenziós vetített képlete a következő (VII-5. ábra):

VII-5. ábra: A glicerin-aldehid enantiomerek Fischer-féle projekciós képletei



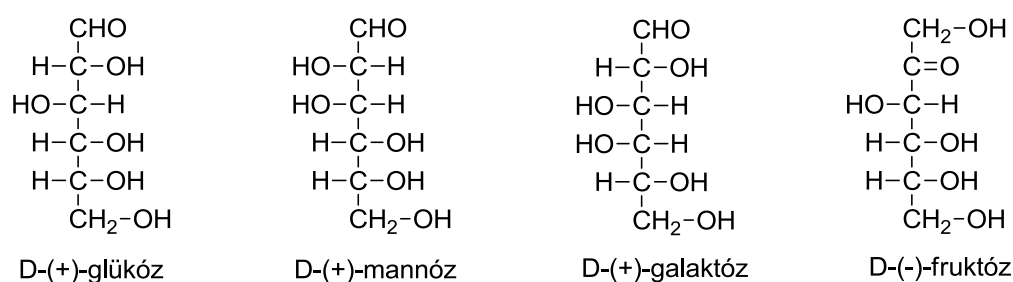
Az enantiomerek, illetve az enantiomerek aszimmetrikus szénatomja két tükörképi struktúrája konfigurációjának jellemzése leggyakrabban a jobbra forgató glicerin-aldehid aszimmetrikus szénatomjára történő visszavezetésen alapuló, ún. *relatív konfigurációs előtaggal* történik. E konfiguráció alapján a jobbra forgató glicerin-aldehid aszimmetrikus szénatomjának konfigurációjára visszavezethető aszimmetrikus szénatomok (és egyidejűleg a monoszubsztituált karbonsavak) konfigurációját D-előtaggal, még az ellentétes (tükörképi) szerkezetre visszavezethető szénatomok (hidroxil- és aminosavak) konfigurációját L-előtaggal jelöljük. A D-glicerin-aldehid, a D-tejsav és az L-alanin projekciós képleteit, valamint konfigurációik és optikai forgatóképességeik irányát is feltüntetve elnevezéseit a VII-6. ábra mutatja be.

VII-6. ábra: A D-glicerinaldehid, a D-tejsav és az L-alanin projekciós képletei.



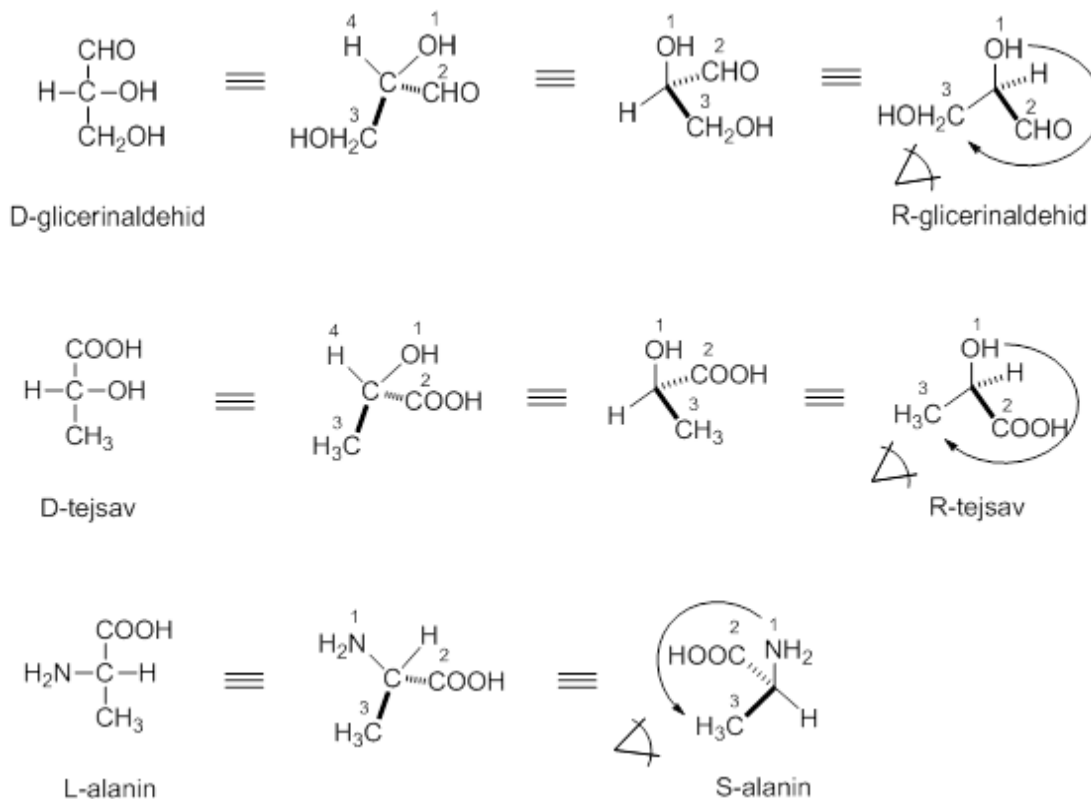
A tetrózokban, pentózokban, hexózokban és heptózokban – ahol egynél több aszimmetriás szénatom található a molekulában – az enantiomerek megkülönböztetése a formil-, illetve a ketocsoporttól legtávolabb eső aszimmetriás szénatom és a D-glicerinaldehid konfigurációjának összehasonlítása és a forgatóképesség megadása alapján történik.

Gyógyszerészi gyakorlatban előforduló hexózok vetített képlete és triviális neve a következő:



Az aszimmetrikus szénatomok konfigurációját a D és L (relatív) konfigurációs prefixumok mellett az általánosabban alkalmazható R és S prefixumokkal is jellemezhetjük. Az R és S konfigurációs prefixumok használatának részletes ismertetését mellőzve, a D, L és az R, S prefixumok közötti kapcsolat bemutatása céljából a VII-7. ábrán a fenti három vegyület aszimmetriás szénatomjai konfigurációjának jellemzésére használatos prefixumok összehasonlítása kerül bemutatásra.

VII-7. ábra: A D/L és az R/S konfigurációs prefixumok közötti összefüggés.

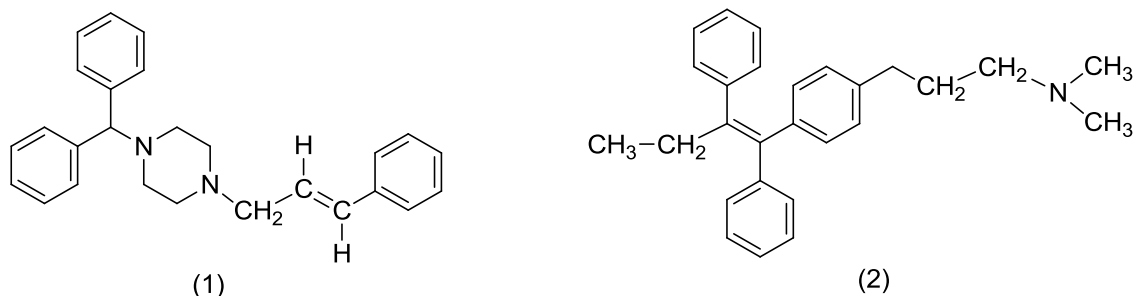


VII.3 A gyógyszerhatás diasztereo- és enantioszteroselektivitása

A gyógyszerhatás kialakulásának szempontjából legfontosabb makromolekulák (fehérjék, nukleinsavak, szénhidrátok) építőkövei mind aszimmetrikus molekulák, melyeknek az élő szervezetben csupán az egyik enantiomer formája található meg (L-aminosavak, D-monoszacharidok). Ugyanakkor a makromolekulák (pl. béta-DNS) vagy a makromolekulák egyes szakaszainak (pl. RNS, fehérjék) helikális szerkezete ugyancsak aszimmetriás tulajdonságot (jobbmentes csavar) kölcsönöz a teljes molekulának. Így a szervezetbe kerülő hatóanyagok molekuláris szinten királis környezetbe kerülnek. A királis celluláris makromolekulákkal a testidegen anyagok (hatóanyagok) két enantiomerje különböző kölcsönhatást alakít ki. Hasonlóképpen, mint a jobb és a bal kéz egy balkezes kesztyűvel. Ennek eredményeképpen az enantiosztereoizomer hatóanyagok biológiai hatásai eltéréseket mutatnak.

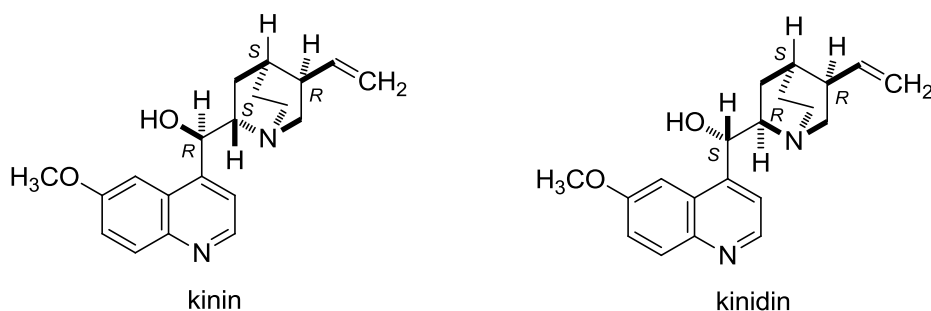
Természetesen a diasztereoizomer hatóanyagok celluláris makromolekulákkal kialakított kölcsönhatásai is különbözőek, és ennek eredményeképpen a diasztereoimer hatóanyagok biológiai hatásai is eltérőek. Így például, a *cinnarizin* (*E*) izomerje, míg a *tamoxifén* (*Z*) izomerje a hatásos diasztereoimer (VII-8. ábra) Sem a *cinnarizin* (*Z*) izomerje, sem a *tamoxifén* (*E*) izomerje nem rendelkezik a gyógyszerként forgalomba került (*E*) illetve (*Z*) izomerek farmakológiai hatásaival.

VII-8. ábra: Az (*E*)-cinnarizin (1) és a (*Z*)-tamoxifén (2) szerkezete.



A diasztereomer optikai izomerek biológiai hatása szintén különböző. Egyik jól ismert példája e különbözőségnek a kinin és a kinidin szerkezete és biológiai hatásai különbözősége. Mind a kinin, mind a kinidin négy aszimmetriás szénatommal rendelkezik (VII-9. ábra). A két molekula egymásnak nem teljes tükörképe (enantiomerje), csak részleges tükörképek, diasztereomerek. A két molekulában a kinuklidin gyűrű C4 és C5 szénatomjának konfigurációja megegyezik, a C2 valamint az alkoholos hidroxilcsoportot hordozó összekötő szénatom konfigurációi tükörpépei egymásnak.

VII-9. ábra: A kinin és a kinidin szerkezete.



A két diasztereomer vegyület biológiai hatása különböző: a kinin a maláriás láz gyógyszere, míg a kinidin e mellett gátolja a perifériás és a szívizom alfa-receptorokat.

Az enantiomerek aszimmetrikus szerkezetéből következően az enantiomer-párok biológiai hatásaiban is a legtöbb esetben különbözőség mutatkozik. Az enantiomer-párok és a királis receptorok (bal és jobbkezes kesztyű - balkéz) kölcsönhatásának különbözősége eredményeképpen

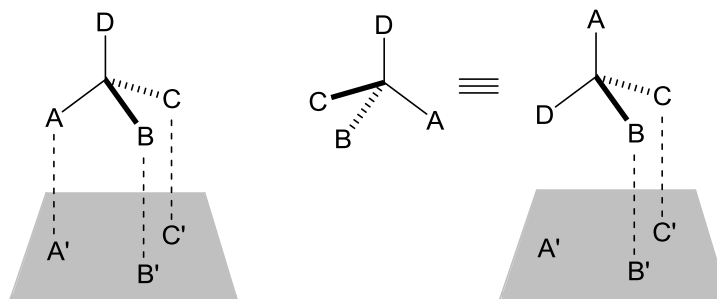
1. Az egyik enantiomer hatástalan (pl. (+) morfin),
2. Az egyik enantiomer hatása jóval gyengébb (pl. *R*-carvediol, *R*-ibuprofén),
3. Az egyik enantiomer számos nemkívánt hatással rendelkezik (pl. *R*-penicillamin), vagy
4. Az egyik enantiomer más hatással rendelkezik (pl. *R*-szalbutamol: bronchodilatátor hatás, *S*-szalbutamol: hiperkalémia és gyulladáskeltő hatás).

A gyógyszerfejlesztés korai szakaszaiban a szintetikus előállított enantiomer-párok együtt (ún. racém keverék formájában) kerültek törzskönyvezésre és terápiás alkalmazásra. Az aszimmetrikus szintézismódszerek fejlődésével elérhető költségek mellett lehetővé vált racém elegyek helyett enantiomer-tiszta hatóanyagok alkalmazása (*királis váltás*) a gyógyászatban. Ez a legtöbb esetben javuló farmakokinetikai és farmakodinámiai hatást eredményezett. Számos esetről számol be azonban a

szakirodalom, amikor a racém elegy felváltása a hatékonyabb enantiomerrel (*eutomerrel*) újabb, nem várt komplikációkat eredményezett. Így például a racém labetol helyett bevezetni kívánt (R,R)-labetol klinikai kipróbálása során az nemvárt hepatotoxikus hatást mutatott.

Az enantiomerek biológiai hatásai közötti különbségek értelmezésének az ún. hárompontos illeszkedési modell a legmegbízhatóbb és legelterjedtebb szemléltetési módja. A modell leírása *E.H. Easson* és *E. Stedman* nevéhez fűződik (1933), megteremtve a királis megkülönböztetési folyamatok értelmezésének alapját (VII-10. ábra).

VII-10. ábra: A ligandum-receptor kölcsönhatás hárompontos illeszkedési modellje.



Királis receptor kötőhely esetén a kölcsönhatás mértékét az enantiomereknek a kötőhellyel kialakított eltérő kölcsönhatása határozza meg (VII-10. ábra). A királis receptor kötőhelyhez kapcsolódó csoportok hárompontos kölcsönhatás (ezek lehetnek: sztérikus gátlás, π - π -, dipól-dipól-, ionos kölcsönhatás, komplexképzés, stb.) kialakítására képesek, így az enantiomer-párok kötődése között – a teljes, illetve a részleges illeszkedés következtében – különbség lesz tapasztalható.

VII.4 Irodalom

- Easson E.H., Stedman E.: Studies on the relationship between chemical constitution and physiological action. *Biochem. J.* 27, 1257- 1266 (1933)
- Guba F.: Orvosi biokémia. Medicina Könyvkiadó, Budapest (1988)
- Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design and Action. (Editor: Smith H.J.) Harwood Academic Publishers, Amsterdam (1998)
- Novák L., Nyitrai J., Hazai L.: Biomolekulák kémiája. MKE, Budapest (2001)
- Ádám V., Dux L., Faragó A., Fésüs L., Machovich R., Mandl J., Sümegi B.: Orvosi biokémia. Medicina Kiadó, Budapest (2001)
- Atkins P.W.: Fizikai kémia I-III. Nemzeti Tankönyvkiadó, Budapest (2002)
- Humán farmakológia. Szerk.: Vizi E. Sz. Medicina Könyvkiadó, Budapest (2002)
- Gyógyszerészeti kémia. Szerk.: Fülöp F., Noszál B., Szász Gy., Takácsné Novák K. Semmelweis Kiadó, Budapest (2010)
- A gyógyszerkutatás kémiája. Szerk. Keserű Gy. M. Akadémiai Kiadó, Budapest (2011)
- A farmakológia alapjai. Szerk.: Gyires K., Fürst Zs. Medicina Kiadó, Budapest (2001)
- Gyógyszerek. Szerk. Faigl F. Elektronikus tankönyv. BME, Budapest (2011)
- Nyitrai L., Pál G.: A biokémia és molekuláris biológia alapjai. Elektronikus tankönyv. ELTE, Budapest (2013)
- Lemke T.L., Williams D.A., Roche V.F., Zito S.W.: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 7th Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2013)

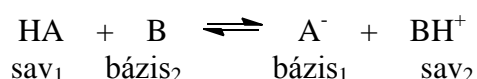
VIII A gyógyszervegyületek fizikai-kémiai jellemzői.

Sav-bázis tulajdonságok

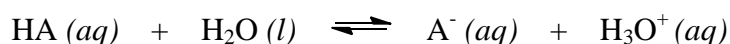
A szervezet molekulái és a gyógyszerhatóanyagok között kialakuló kölcsönhatások fontos tényezői az ionos kölcsönhatások is, amit elsősorban a molekula protonáltsági állapota határoz meg, így a hatóanyag sav-bázis tulajdonságainak ismerete nélkülözhetetlen a hatás kialakulásának megértésében. Az ionizációs készség jelentős mértékben befolyásolja egy adott gyógyszervegyület *in vivo* felszívódását, eloszlását és kiürülését.

VIII.1 A savak és bázisok erőssége. A pK_a érték fogalma

A Brønsted-Lowry féle sav-bázis elmélet szerint a *savak* (általánosan HA) protont képesek leadni, azaz protondonorok, míg a *bázisok* (általánosan B) protont képesek felvenni, azaz protonakceptorok. A sav-bázis reakciókban konjugált sav-bázis párok szerepelnek. A sav proton leadásával a konjugált bázisává alakul át, míg egy bázis a proton felvételével a konjugált savvá alakul.



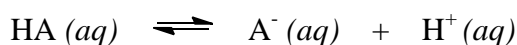
A *savak* híg vizes oldatokban fennálló protonátviteli egyensúlyait a reakció egyensúlyi állandójával jellemezhetjük. (A K_a kifejezésben az „a” az angolból vett *acid* szóra utal.)



$$K_a = \frac{[\text{A}^-][\text{H}_3\text{O}^+]}{[\text{HA}]}$$

A sav disszociáció állandóját leíró összefüggésben a víz – mint nagy feleslegben jelen levő oldószer – aktivitását egységnyinek tekinthetjük.

A K_a tulajdonképpen a sav egyszerűsített disszociációs egyensúlyának felel meg.



Az összefüggésből látható, hogy a sav erőssége annál nagyobb, minél nagyobb K_a értéke. Az *erős savak* (pl. HCl, HNO₃, HClO₄, H₂SO₄ első disszociációs lépése) esetén a disszociáció gyakorlatilag 100%, vagyis teljesen disszociálnak. Így erős savak esetében a K_a értéke gyakorlatilag végtelen nagy.

A *gyenge savak*ban a disszociáció mértéke kisebb, az egyensúlyi hidrogénion-koncentrációból és az összes savkoncentrációból számítható.

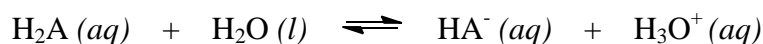
$$\text{disszociáció \%} = \frac{[\text{H}^+]}{[\text{HA}]_{\text{összes}}} \times 100$$

A savak disszociációs egyensúlyait - mivel az egyensúlyi állandók értékei nagyon széles tartományba esnek - célszerűbb a K_a értékek 10-es alapú negatív logaritmusának értékeivel, vagyis a pK_a értékekkel jellemezni.

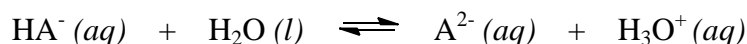
$$pK_a = -\log K_a$$

Savak esetében minél kisebb a pK_a érték, annál erősebb savról van szó. Mivel a skála logaritmusos skála, így a pK_a értékben egy egységnyi eltérés 10-szeres különbséget jelent savi erősségben.

Többértékű savak több lépésben disszociálnak. Lépcsőzetes protonálódási állandó definiálható, amely a savas karakterű csoportok számától függ. Kétértékű sav esetén a második savi disszociációs állandó értéke általában több nagyságrenddel kisebb, mint az első, mert a már negatív töltésű HA^- anionból sokkal nehezebb eltávolítani egy protont, mint a semleges H_2A részecskéből.

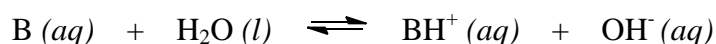


$$K_{a1} = \frac{[HA^-][H_3O^+]}{[H_2A]}$$



$$K_{a2} = \frac{[A^{2-}][H_3O^+]}{[HA^-]}$$

A *bázisok* vizes oldatban az alábbi egyensúllyal jellemezhetők, disszociáció állandójuk a következőképpen definiálható:



$$K_b = \frac{[BH^+][OH^-]}{[B]}$$

Minél nagyobb K_b érték, annál erősebb a bázis. Az *erős bázisok* vizes oldatban gyakorlatilag teljesen protonált állapotban vannak, míg a *gyenge bázisok* vizes oldatban csak részben protonálódnak.

A gyenge savak anionjai, vagyis konjugált bázis párjai viszonylag erős bázisoknak tekinthetők. Az erős savak anionjai pedig viszonylag gyenge bázisoknak számítanak.

Egy sav és konjugált bázis párja disszociációs állandóinak szorzata a víz ionszorzatával egyenlő.

$$K_a \times K_b = K_w$$

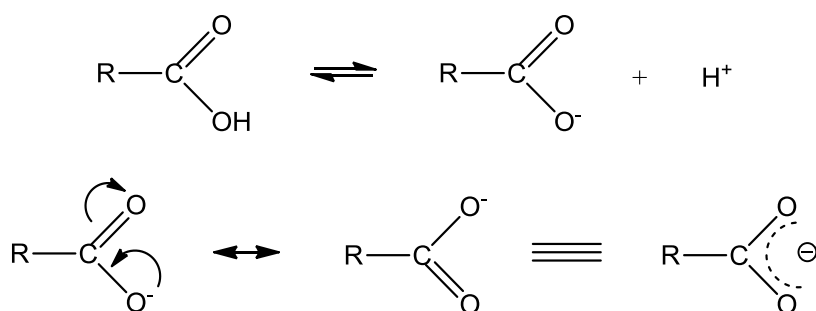
A K_b állandó helyett ma a bázisok erősségének kifejezésére is a K_a , illetve a pK_a érték használatos, ami a bázis konjugált sav formájának disszociációs állandója. Az összefüggésekből következik, hogy bázisok esetén minél nagyobb a pK_a érték, annál erősebb bázisról van szó.

VIII.2 Hatóanyagok savas és bázikus funkciós csoportjai

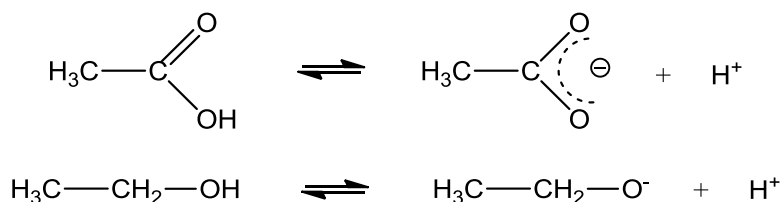
A gyógyszermolekulák nagy hányada tartalmaz bázikus funkciós csoportot (75%) vagy/és savi funkciós csoportot (20%), és csupán kb. 5% semleges (nem-ionizálható).

VIII.2.1 Savas funkciós csoportok

A gyógyszervegyületek körében a leggyakrabban előforduló savas karakterű funkciós csoport a *karboxilcsoport*. A karbonsavak pK_a értéke széles tartományban ($pK_a=2-7$) mozog. A karboxilcsoport deprotonálódásakor keletkező *karboxilátion*ban a két oxigénatom egyenrangú, az ion rezonancia révén stabilizálódik.

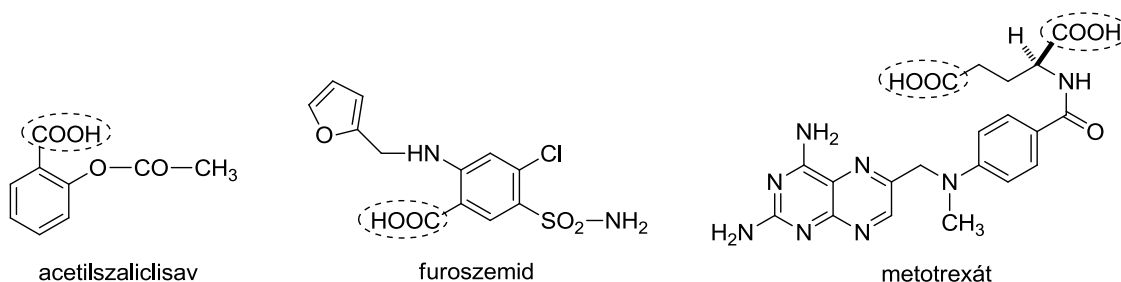


A rezonancia stabilizáló hatását jól demonstrálja, ha összehasonlítjuk például az ecetsav és az etanol savi erősségét. Mindkét molekula elviekben képes proton leadására, de míg az ecetsavból képződő acetát ion stabilizálódik, a negatív töltés megoszlik, addig az etanoból képződő etanolát (etoxid) anionban a töltés csak az oxigénatomhoz köthető.

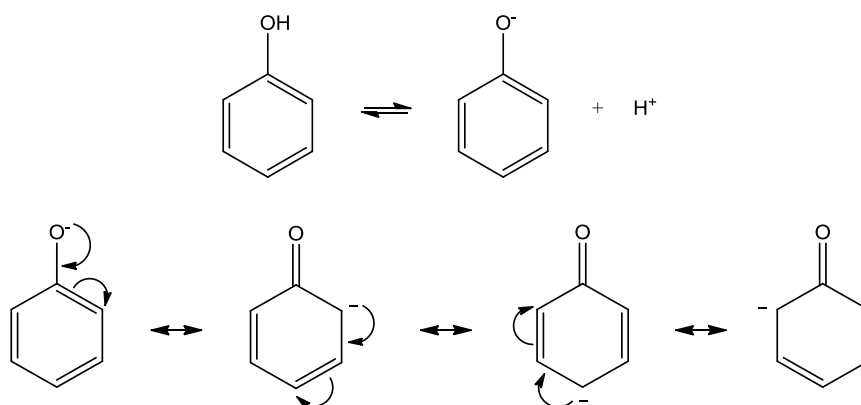


Az ecetsav pK_a értéke 4,7; míg az etanol pK_a értéke 16 körüli, vagyis az ecetsav kb. 10^{11} -szer erősebb sav, mint az etanol. Az alkoholos hidroxilcsoportot tartalmazó vegyületek a víznél is gyengébb savak, így biológiai közegben semlegesnek tekinthetők. Az alkoholos hidroxilcsoport ionizációjához olyan erős bázisra van szükség, mint pl. a fém nátrium.

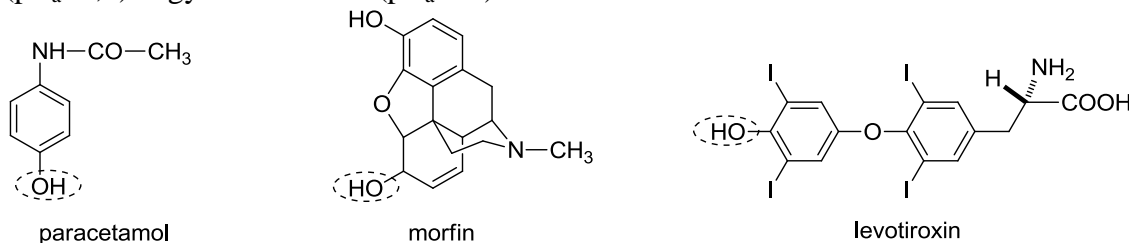
Számos gyakran használt gyógyszervegyület karbonsavszármazék, mint pl. a nem-szteroid gyulladáscsökkentő, láz- és fájdalomcsillapító *acetilszalicilsav* (aszpirin) ($pK_a=3,5$), a diuretikumokhoz tartozó *furoszemid* ($pK_a=3,9$) vagy a daganatterápiában használt *metotrexát* ($pK_a = 3,8$ és $4,8$).



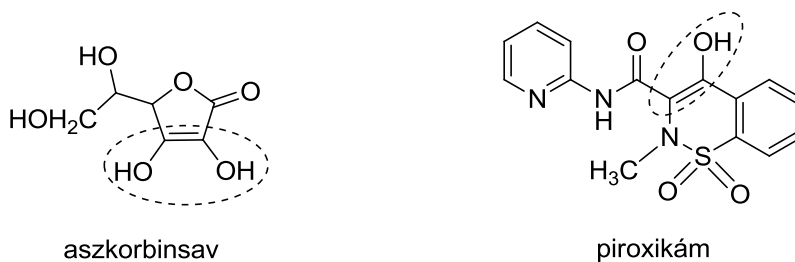
A *fenolos hidroxilcsoport* is igen gyakori a gyógyszervegyületek körében. A fenolok az alkoholoknál jóval erősebb savak, pK_a értékük 9-11 közötti. A deprotonálódáskor képződő *fenolátion* szintén stabilizálódik rezonancia révén.



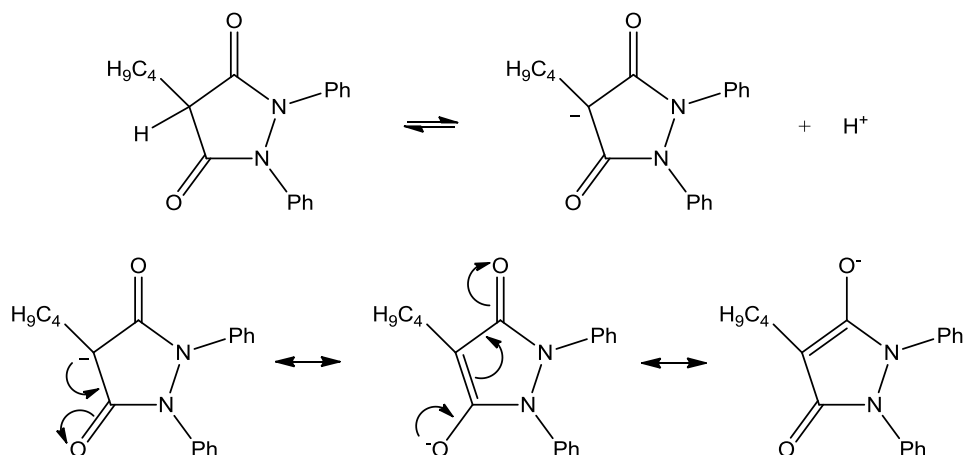
A fenolok pK_a értéke 10 körül van, ami azt jelenti, hogy kb. 10^6 -szor gyengébb savak, mint a karbonsavak, de kb. 10^6 -szor erősebb savak az alkoholoknál. Fenolos hidroxilcsoportot tartalmazó gyógyszermolekula pl. a *paracetamol* ($pK_a=9,5$), a *morfin* ($pK_a=9,9$) vagy a *levotiroxin* ($pK_a=10$).



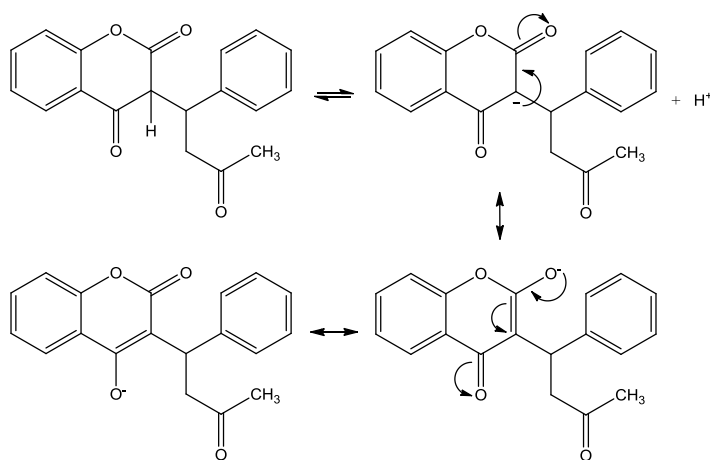
Az *enolos hidroxilcsoportok* szintén savas karakterűek, főleg elektronszívó szubsztituensek jelenlétében. Enolos hidroxilcsoportot tartalmaz pl. az *aszorbinsav* ($pK_a= 4,2$) vagy a *piroxikám* ($pK_a=2,3$).



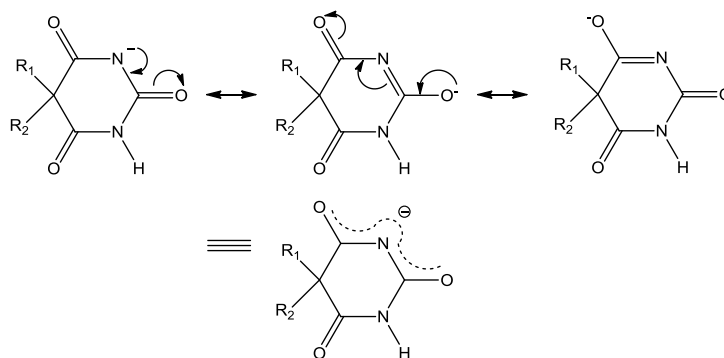
A *C-H savasság* jellegzetes példája a nem-szteroid gyulladáscsökkentők közé tartozó *fenilbutazon* ($pK_a=4,4$). Annak ellenére, hogy nitrogénatomokat tartalmaz, gyengén savas karakterű, a savas hidrogén a pirazolidindion gyűrű négyes C-atomjához kapcsolódik. Ionizálódás esetén a negatív töltés delokalizálódik.



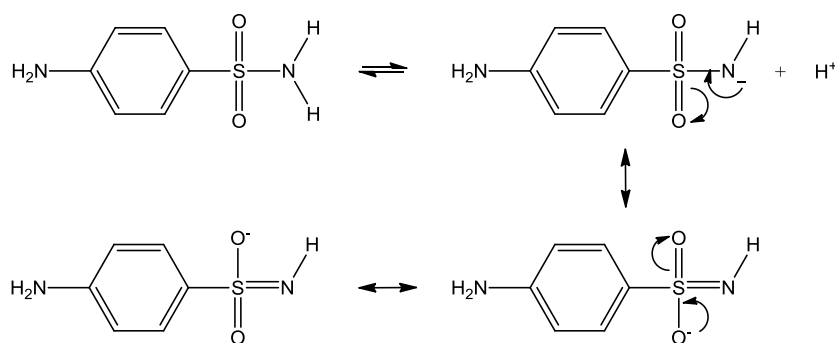
Az antikoaguláns gyógyszerként használt *warfarin* ($pK_a=5,0$) esetén a savas karakterű hidrogén a két elektronszívó hatású karbonilcsoport „között” helyezkedik el. Ionizáció következtében a keletkező anion stabilizálódik.



Az *N-H savak* közé tartoznak az *imidek*, amikor a karbonsavamid nitrogénjéhez egy másik acilcsoport kapcsolódik. A barbitursav-származékok gyűrűs imidek. Az első ionizációs lépés pK_a értéke 7-8 között van, a másodiké 11-12 között. Főként nátriumsó formájában kerülnek forgalomba.



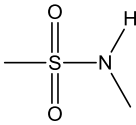
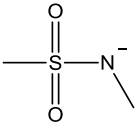
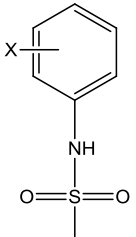
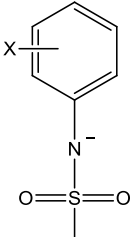
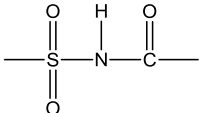
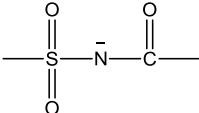
A szulfonsav-származékoknak tekinthető *szulfonsavamidok* szintén savas karakterűek. Az $-\text{SO}_2-$ csoport elektronszívó tulajdonsága miatt, valamint az ionizáció során, rezonancia révén stabilizálódó anion miatt pK_a értékük 5-8 között van.



A VIII-1. táblázat néhány, gyógyszervegyületekben is gyakran előforduló funkciós csoport savi disszociációs állandóját tartalmazza.

VIII-1 táblázat: Gyógyszervegyületekben gyakran előforduló savas karakterű funkciós csoportok és disszociációs állandók

Sav	Konjugált bázis	pK_a	Példa
		2-7	acetilszalilsav (3,4)
		9-11	paracetamol (9,6)
		2-6	aszkorbinsav (4,2)
		8-11	kaptopril (9,8)
		9-10	fenitoin (8,3) teobromin (10,0)

Sav		Konjugált bázis		pK _a	Példa
	szulfonamid		szulfonamidát	9-10	hidroklorotiazid (9,7 és 8,7)
	N-aryl-szulfonamid		N-aryl-szulfonamidát	9-10	szulfadimidin (7,5)
	szulfonimid		szulfonimidát	5-6	szulfacetamid (5,4)

VIII.2.2 Bázikus funkciós csoportok

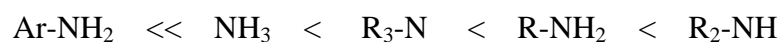
A bázikus funkciós csoportok igen gyakoriak a gyógyszervegyületek körében. A bázikus karakter a molekulákban levő nitrogénatomhoz köthető, amennyiben a nitrogén nemkötő elektronpárja "szabad", vagyis képes protont megkötni. Ha azonban a nemkötő elektronpár nem szabad, akkor a nitrogén nem bázikus karakterű, mint például az amidok esetében, ahol a nemkötő elektronpár konjugációban vesz.

Az *aminok Brönsted-féle bázisok*, hiszen a nemkötő elektronpár révén protont tudnak megkötni. Ugyanakkor, mint elektronpár-donorok, koordinatív kötést is tudnak létesíteni protonokkal, elektronakceptor ionokkal vagy vegyületekkel. Ezért a Lewis-elmélet szerint is bázisoknak tekinthetők.

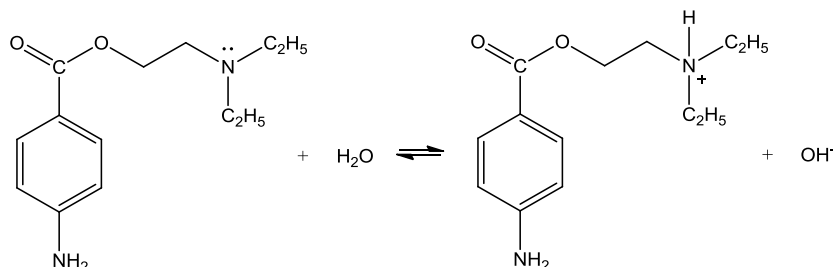
Gázfázisban az aminok bázicitását csak a szubsztituensek határozzák meg. Elektronküldő csoportok növelik a bázicitást, hiszen növelik a nitrogénatom elektronsűrűségét. Gázfázisban a bázicitás növekvő sorrendje: ammónia < primer amin < szekunder amin < terciér amin.

Vizes oldatban a bázisok erősségét a dipól-dipól kölcsönhatás és a hidrogénkötés is befolyásolja, ugyanakkor vizes közegben az alkilcsoportnak kettős hatása van a képződő ammóniumionra. Az alkilcsoportok megnehezítik az oldószermolekula hozzáférését, vagyis a solvatációt. A solvatáció hiánya destabilizáló hatású. Ennek alapján a primer amin lehetne a legerősebb bázis. Az alkilcsoport elektronküldő sajátsága révén ugyanakkor elősegíti a töltés delokalizációját, ezáltal az iont stabilizálja. Ez alapján a terciér amin lenne a legerősebb bázis. A két egymás ellen ható tényező lerontja a primer és terciér aminok báziserősségét, és a legerősebb bázisok a szekunder aminok lesznek.

Az aromás aminok sokkal gyengébb bázisok, mint alifás analógjaik. Ennek az a magyarázata, hogy a nitrogénatom nemkötő elektronpárja az aromás gyűrű π -elektronrendszerével konjugálódik, ami miatt a nitrogénatom nehezebben protonálódik. A bázicitás sorrendje tehát vizes közegben:

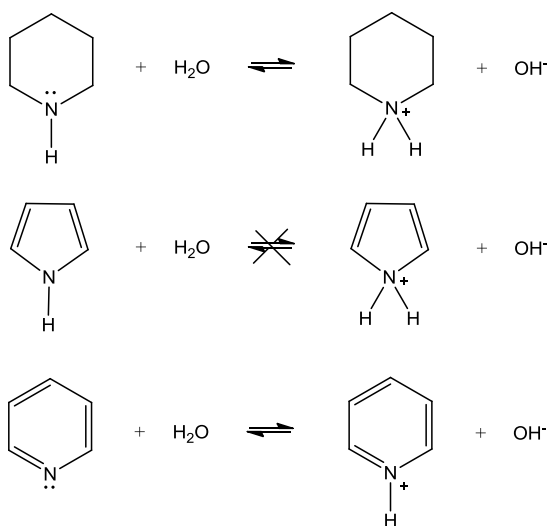


Példaként, a *prokain* molekulában egyszerre fordul elő aromás primer aminocsoport, illetve alifás tercier aminocsoport. A tercier aminocsoport viszonylag erős bázis ($pK_a=9,0$), hiszen szabad nemkötő elektronpárja révén képes proton megkötésére. Az aromás primer aminocsoport azonban csak gyengén bázikus karakterű ($pK_a=2,5$), mert a nitrogén nemkötő elektronpárja részt vesz a benzolgyűrű elektronjainak delokalizációjában.




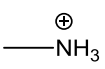

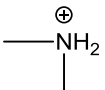
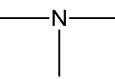
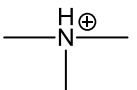
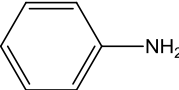
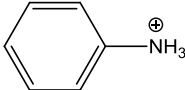
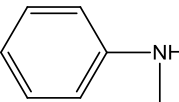
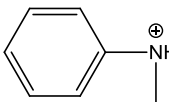
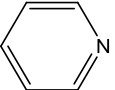
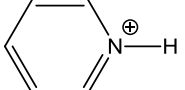
Az alifás heterociklusos vegyületekben (pl. *piperidin*) a nitrogénatom a telített heterociklusos gyűrű tagja, gyakorlatilag szekunder aminnak tekinthető, nemkötő elektronpárja révén proton megkötésére képes. Az ilyen típusú vegyületek báziserőssége összemérhető a nyíltláncú alifás aminok báziserősségével, pK_a értékük 8-9 körül mozog.

A nitrogént tartalmazó aromás heterociklusos vegyületek bázicitása szintén attól függ, hogy a nitrogénen található-e nemkötő elektronpár. Így például az öttagú gyűrűs aromás *pirrol* gyakorlatilag nem tekinthető bázisnak ($pK_a=-0,27$), mert a π -elektron szextett kialakításában részt vesz a nemkötő elektronpár is, tehát nem tud protont megkötni. Viszont a hattagú gyűrűs *piridin*ben levő nitrogén gyengén bázikus karakterrel rendelkezik ($pK=5,2$), képes proton megkötésére.



A VIII-2. táblázat a gyógyszervegyületekben is gyakran előforduló bázikus karakterű funkciós csoport konjugált sav formájának savi disszociációs állandóját tartalmazza.

VIII-2 táblázat: Gyógyszervegyületekben gyakran előforduló bázikus karakterű funkciós csoportok és konjugált sav formáiknak disszociációs állandói

Bázis		Konjugált sav		pK _a	Példa
	alifás primer amin		-ammónium	8-10	amfetamin (9,8)
	alifás szekunder amin		-ammónium	8-10	efedrin (9,6)
	alifás tercier amin		-ammónium	8-10	lidokain (7,9) prokain (9,0)
	aromás primer amin		-ammónium	2-5	prokain (2,5)
	alkil-aril szekunder amin		-ammónium	2-5	tetrakain (2,4)
	piridin		piridinium	3-6	omeprazol (4,1)

VIII.3 A pK_a érték jelentősége

Ionizálódó molekulák esetén a savi disszociációs állandó ismerete nélkülözhetetlen a biológiai hatás kialakulásának megértéséhez, de számos analitikai feladat megoldásához, például log*P* érték meghatározáshoz, vagy oldhatóság méréséhez is. Ugyanakkor bizonyos technológiai kérdések megoldásához, például egy injekciós oldat készítésekor is ismerni kell a vegyület pK_a értékét.

A molekula protonált sági állapota döntően befolyásolja szerkezetbeli sorsának minden fázisát, vagyis a gyógyszer testnedvekben való oldódását, a membránokon való áthaladását, a plazmafehérjékhez, valamint a receptorokhoz való kötődését és a metabolizmusát is.

Általánosságban elmondható, hogy a töltéssel nem rendelkező, vagyis nemionizált forma (az AH, illetve B forma) az ún. "transzport-forma", amely képes átjutni a lipid membránokon. A célmolekulákhoz (receptorokhoz) és transzportfehérjékhez pedig inkább a töltéssel rendelkező, ionos forma (az A⁻, illetve BH⁺ forma), vagyis „receptor-forma” kötődik.

Egy gyógyszervegyület ionizáltsági állapotát döntően befolyásolja - a savi disszociációs értéke mellett - a szerkezet egyes kompartmentjeinek a kémhatása is (VIII-3. táblázat).

VIII-3 táblázat: Átlagos pH értékek a szervezet egyes tereiben egészséges felnőtt szervezetben

Kompartment a szervezetben	Átlagos pH érték
Gyomor	1,4-2,1 (étkezés előtt) 3,7-7,0 (étkezés után)
Patkóbél (Duodenum)	4,4-6,6 (étkezés előtt) 5,2-6,2 (étkezés után)
Éhbél (Jejunum)	6,6
Csípóbél (Ileum)	7,4
Vastagbél	5,0-8,0
Vérplazma	7,4

Az ionizációra képes vegyületek esetén a pK_a érték ismeretében kiszámítható, hogy a molekula milyen ionizáltsági állapotban van különböző pH értékeknél. Egy gyógyszermolekula esetén a *Henderson-Hasselbach egyenlet* segítségével, a savi disszociációs állandó ismeretében meghatározható, hogy a szervezet egy adott kompartmentjének kémhatásán milyen arányban találhatók meg a vegyület ionizált, illetve nemionizált formái.

Savak esetén:
$$pK_a = \text{pH} + \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]}$$

Bázisok esetén:
$$pK_a = \text{pH} + \log \frac{[\text{BH}^+]}{[\text{B}]}$$

Amennyiben a gyógyszer pK_a értéke megegyezik a környezet pH értékével, akkor az ionizáció 50%-os, vagyis az ionizált és nemionizált molekulák száma egyenlő. Például, ha egy vegyület pK_a értéke 7,4, akkor szöveti pH-n (7,4) a molekulák 50%-ban ionos és 50%-ban nemionos formában vannak jelen.

Példa I.: Acetilszalicilsav (gyenge sav) ionizációja a gyomorban

$$\begin{aligned} pK_a &= 3,4 \\ \text{pH}_{\text{gyomor}} &= 1,4 \\ pK_a &= \text{pH} + \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \\ pK_a - \text{pH} &= \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} \\ 3,4 - 1,4 &= 2 = \log \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} = \log 100 \\ \frac{[\text{HA}]}{[\text{A}^-]} &= 100 \end{aligned}$$

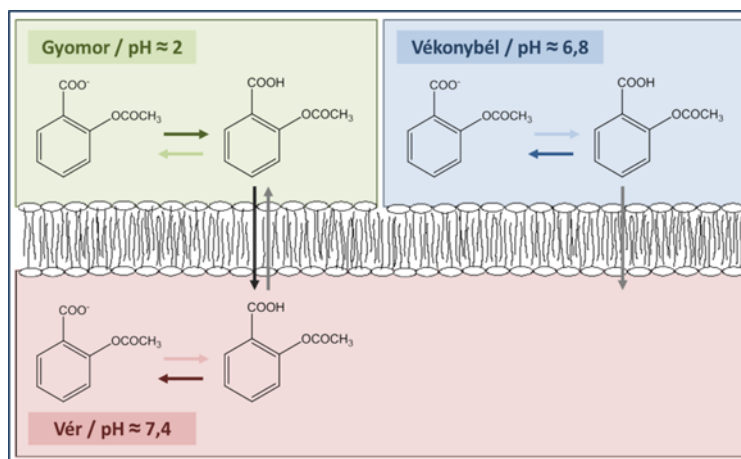
vagyis HA mennyisége 100-szorosa az A^- mennyiségének. Az acetilszalicilsav (HA) a gyomor pH értékén főként nemionos formában van jelen.

Példa II.: Acetilszalicilsav (gyenge sav) ionizációja a vérben

$$\begin{aligned}
 pK_a &= 3,4 \\
 pH_{\text{vér}} &= 7,4 \\
 pK_a &= pH + \log \frac{[HA]}{[A^-]} \\
 pK_a - pH &= \log \frac{[HA]}{[A^-]} \\
 3,4 - 7,4 &= -4 = \log \frac{[HA]}{[A^-]} = \log 0,0001 \\
 \frac{[HA]}{[A^-]} &= 0,0001
 \end{aligned}$$

vagyis A^- mennyisége a vérben 10.000-szerese HA mennyiségének. Az acetilszalicilsav a vér pH értékén gyakorlatilag teljesen ionizált formában van.

A fentiek alapján valószínűsíthető, hogy az acetilszalicilsav a gyomorból hatékonyabban felszívódik, mint a vékonybélből.



Példa III.: Lidokain (gyenge bázis) ionizációja a gyomorban

$$\begin{aligned}
 pK_a &= 7,9 \\
 pH_{\text{gyomor}} &= 1,4 \\
 pK_a &= pH + \log \frac{[BH^+]}{[B]} \\
 pK_a - pH &= \log \frac{[BH^+]}{[B]} \\
 7,9 - 1,9 &= 6 = \log \frac{[BH^+]}{[B]} = \log 1000000 \\
 \frac{[BH^+]}{[B]} &= 10^6
 \end{aligned}$$

vagyis BH^+ mennyisége 10^6 -szor nagyobb, mint B mennyisége, tehát a lidokain molekulák a gyomorban szinte teljesen ionizált állapotban vannak, nem szívódnak fel. A vékonybélben, magasabb pH értéken jobb a felszívódása.

A következő táblázatban néhány példa mutatja be a savas és bázikus karakterű vegyületek felszívódásának helyét a szervezetben:

VIII-4 táblázat: Savas és bázikus karakterű gyógyszermolekulák felszívódásának helye a szervezetben.

Gyógyszermolekulák	pK _a	Ionizáltsági állapot a szervezetben	Felszívódás helye
Nagyon gyenge savak pl. hexobarbitál	>8	nemionizált forma minden pH értéken	a GIT teljes hosszán
Gyenge savak pl. aszpirin, ibuprofén	2,5 - 7,5	nemionizált a gyomorban, ionizált a vékonybélben	főként a gyomorból
Savak pl. nátrium- kromogliát	<2,0	ionizált forma minden pH értéken	nagyon gyenge a GIT teljes hosszán
Nagyon gyenge bázisok pl. teofillin, koffein	<5	nemionizált forma minden pH értéken	a GIT teljes hosszán
Gyenge bázisok pl. kodein	5 - 11	ionizált a gyomorban, nemionizált a vékonybélben	főként a vékonybélből
Bázisok pl. guanetidín	>11	ionizált forma minden pH értéken	nagyon gyenge a GIT teljes hosszán

VIII.4 A pK_a érték meghatározásának lehetőségei

A pK_a érték meghatározására számos módszer alkalmas, amelyek alapjául az szolgál, hogy a mért analitikai jel pH-tól függő változása egyértelműen összefügg a vizsgált molekula protonleadásával, illetve protonfelvételével.

VIII-5 táblázat: pK_a meghatározására használt módszerek.

Módszer	Anyagigény (mg)	Szükséges oldhatóság (M)	Módszer típusa	Kapacitás (vegyület/nap)
Potenciometria	3-5	5 x 10 ⁻⁴	nem HT	30-40
UV/pH titrálás				
hagyományos	1-2	10 ⁻⁵	nem HT	1
automatizált	1-2	10 ⁻⁵	nem HT	30-40
SGA	1-2	10 ⁻² (DMSO)	HT	200
Kapilláris elektroforézis	0,01	10 ⁻⁵ -10 ⁻⁶	nem HT	20
normál mód	0,01	10 ⁻⁵ -10 ⁻⁶	HT	100
multiplex CE				

VIII.4.1 Potenciometriás titrálás

A legszélesebb körben alkalmazott, viszonylag egyszerű módszer a vegyületek savi disszociációs állandóinak meghatározására a vizes közegben végzett potenciometriás

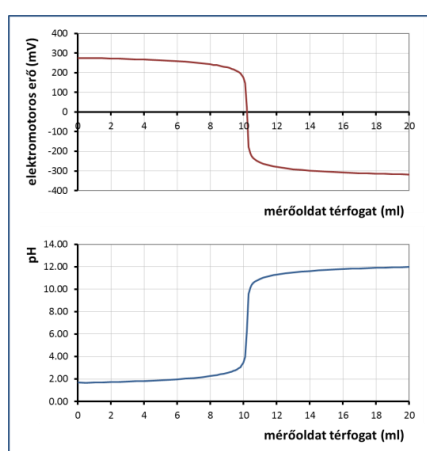
titrálás. A potenciometriás módszerrel történő pK_a meghatározás kétféleképpen történhet: *direkt potenciometriás titrálással*, vagy az ún. *különbségi titrálással*.

Direkt potenciometriás titrálás

Direkt titrálás során a vizsgálandó vegyület vizes oldatát, folytonos keverés mellett, közvetlenül titrálják a faktorozott mérőoldattal, ami vagy egy erős sav (általában sósav) vagy egy erős bázis (általában nátrium- vagy kálium-hidroxid) oldata.

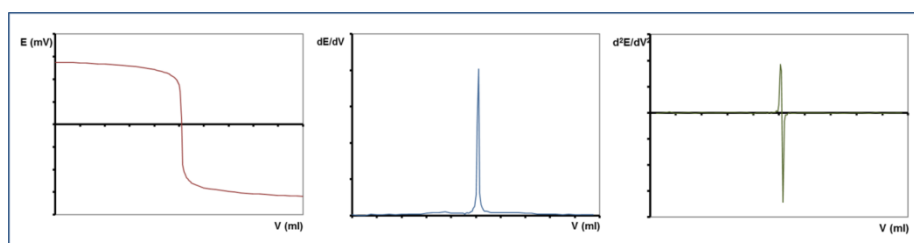
A mérőoldat-fogyás függvényében kombinált üvegelektóddal folyamatosan vizsgálják és regisztrálják az elektromos jelet (mV). Az elektródot előzetesen több pufferoldat segítségével kalibrálják, így a cella leolvasott elektromotoros erejéhez tartozó feszültségértékekhez pH értékek is rendelhetők. A mért elektromotoros jelet, vagy a hozzárendelt pH értékeket a mérőoldat fogyásának függvényében ábrázolva kapják meg a potenciometriás titrálási görbét (VIII-1. ábra).

VIII-1. ábra: Potenciometriás titrálási görbe



A 100%-os titráltsági értéket a görbe inflexiós pontjához tartozó fogyás jelzi. Az egyenértékpont környezetében a mérőoldatot viszonylag kis, egyenlő mennyiségekben adagolják, az eredményeket táblázatba foglalják, majd ennek alapján kiszámítjuk az első és másodfokú differencia-hányados görbe adatait. Ha a három görbét összehasonlítjuk, látható, hogy ahol az eredeti titrálási görbének inflexiós pontja volt, ott a differencia hányados görbének maximuma, a másodfokú differencia hányados görbének pedig zérushelye lesz (VIII-2. ábra).

VIII-2. ábra: A potenciometriás titrálási görbe, valamint első és második differencia-hányados görbéi



Az egyenértékpont a titrálási görbe pontjainak második differenciahányadosából matematikai módszerrel – pl. a differenciahányados módszerrel – kiszámítható. Az így kapott ml-érték tehát a 100%-os titráltsághoz tartozó fogyás érték (itt teljesen deprotonált vagy protonált állapotban van a vizsgált vegyület). Adott fogyásértékek

esetén számolható a titráltsági százalék értéke, ez alapján a deprotonált és protonált molekulák mennyisége, illetve aránya. A mV és pH közötti lineáris összefüggés miatt a mV értékek ismeretében pH számolható az adott fogyáértékekhez rendeltlen. Mindezek ismeretében a pK_a érték a fenti *Henderson-Hasselbach egyenlet* segítségével kiszámítható:

$$pK_a = \text{pH} + \log \frac{[\text{protonált forma}]}{[\text{deprotonált forma}]}$$

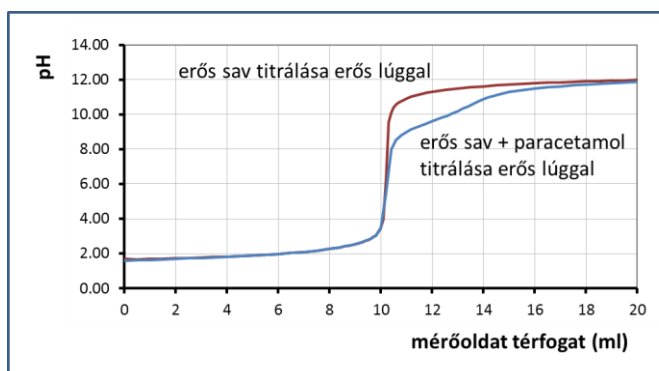
Az 50%-os titráltsági állapothoz tartozó pH érték az egyenlet alapján megadja a pK_a értékét, hiszen ekkor a molekula ionizált és nemionizált formája egyenlő koncentrációban van jelen. Általában a 30-70% közötti titráltsági pontokból számított pK_a értékeket átlagolva kapjuk a pontos értéket.

A módszer előnye a gyorsasága és egyszerűsége, hiszen csak egyetlen titrálást igényel. Amennyiben a vegyületnek több disszociációs állandója is van, de azok jól elkülönülnek egymástól (legalább 4 pK_a egység a különbség közöttük) használható a módszer. A pK_a értékeket azonban nem lehet ezzel a módszerrel meghatározni, ha egy molekulának több disszociációs állandója van, és azok közel esnek egymáshoz.

Különbégi titrálásos eljárás

A módszer alkalmazása során két, egymást követő titrálást kell végezni. Az első titrálás során ismert mennyiségű és koncentrációjú erős savat titrálunk ismert koncentrációjú erős lúg mérőoldattal. A második titráláskor az első titráláskor is használt, azzal azonos mennyiségű erős savhoz hozzáadják a meghatározandó anyagot, és ezt az oldatot titrálják ugyanazzal az erős bázis mérőoldattal. A két titrálási görbét egy ábrán ábrázolják (VIII-3. ábra).

VIII-3. ábra: Potenciometriás titrálási görbék – a paracetamol disszociációs állandójának meghatározása különbségi potenciometriás módszerrel



A két titrálási görbe különbsége a meghatározandó vegyületről ledisszociált protonok számával arányos, ezért a két görbe különbségéből kiszámítható a disszociációs állandó értéke az ún. "H átlag" (\bar{H}) meghatározásán keresztül. \bar{H} a molekuláról adott pH-n átlagosan ledisszociált protonok számát jelenti. A titrálás vége felé, bizonyos pH érték felett a két titrálási görbe lefutása párhuzamos, vagyis a különbség állandó lesz, ugyanis a vizsgált molekula ott már az összes protonját leadta. Ennek következtében ekkor egyértékű savak esetében a $\bar{H} = 1$, kétértékű savak esetében $\bar{H} = 2$, stb. Ha a konstans különbségi értéket elosztjuk a vegyületünk által leadható

protonok számával, akkor megkapjuk a vegyület egy protonjára eső lúgfogyást adott mérési körülmények (bemérés, mérőoldat koncentráció) között.

A két titrálási görbe különbségéből, adott pH értéken meghatározhatók a többlet mérőoldat móljainak a száma, amit elosztva a vizsgált vegyület móljainak a számával, megkapjuk \bar{H} értékét.

$$\bar{H} = \frac{n(\text{mérőoldat többlet})}{n(\text{vizsgált vegyület})}$$

$$n(\text{mérőoldat többlet}) = \frac{\Delta V(\text{mérőoldat, ml}) \times c(\text{mérőoldat, mol/dm}^3) \times f}{1000}$$

$$n(\text{vizsgált vegyület}) = \frac{m(\text{bemért, g})}{M}$$

Ugyanakkor \bar{H} értéke felírható a protonálódási állandó segítségével is:

Egy protonálható csoportot tartalmazó molekula esetén:

$$\bar{H} = \frac{[A^-]}{[A^-] + [HA]}$$

mivel:
$$K = \frac{[HA]}{[A^-][H^+]}$$

behelyettesítve:
$$\bar{H} = \frac{[A^-]}{[A^-] + K[H^+][A^-]} = \frac{1}{1 + K[H^+]}$$

átrendezve:
$$K = \frac{1 - \bar{H}}{\bar{H}[H^+]}$$

Az egyes hidrogénion koncentrációkhoz tartozó \bar{H} értékekből a K protonálódási állandó kiszámítható. Több pH értéken kiszámított K értékeket átlagoljuk.

Két protonálható csoportot tartalmazó molekula esetén:

$$\bar{H} = \frac{2[A^{2-}] + [HA^-]}{[A^{2-}] + [HA^-] + [H_2A]}$$

mivel:
$$K_1 = \frac{[HA^-]}{[A^{2-}][H^+]}$$
 és
$$K_2 = \frac{[H_2A]}{[HA^-][H^+]}$$

behelyettesítve:
$$\bar{H} = \frac{2 + K_1[H^+]}{1 + K_1[H^+] + K_1K_2[H^+]^2}$$

Két \bar{H} - $[H^+]$ értékpár ismeretében kétismeretlenes egyenletrendszerhez jutunk, melyet megoldva megkapjuk K_1 és K_2 értékét. A kiszámolt K_1 és K_2 érték függ attól, hogy mely \bar{H} - $[H^+]$ értékpárokat használtuk a számoláshoz. A tapasztalatok azt

mutatják, hogy a legpontosabb állandó értékeket akkor kapjuk, ha $\bar{H}_1 = 0,3 - 0,7$ és $\bar{H}_2 = 1,3 - 1,7$ értékek között van. Célszerű több $\bar{H} - [H^+]$ értékpárt is elemezni, így több K_1 és K_2 értéket is kiszámíthatunk, amelyeket átlagolva tovább pontosíthatjuk az eredményt. A módszer nagy előnye a direkt eljáráshoz képest, hogy több disszociálódó csoporttal rendelkező, átlapoló pK_a értékekkel bíró vegyületek meghatározására is használható.

A potenciometriás mérések nagy előnye, hogy nagymértékben automatizálhatók automata titrátorok alkalmazása révén, és igen nagy pontossággal meghatározhatók a pK_a értékek. A pontosság javítása érdekében vízben jól oldódó inert sókat (pl. 0,15 M NaCl) alkalmazhatunk az állandó ionerősség beállítására. Mivel a disszociációs állandó hőmérsékletfüggő, célszerű a méréseket termosztált körülmények között elvégezni.

A potenciometriás eljárások hátránya, hogy az esetleges szennyezések (bomlástermékek, más ionizálódó szennyezők) és az oldat szén-dioxid tartalma mérési hibát okozhatnak, hiszen nem különíthetők el a vizsgált anyagtól a titrálási görbék értékelése során. Ez utóbbi kiküszöbölhető frissen kiforralt desztillált víz használatával, illetve megoldás lehet inert gáz alkalmazása a mérőcella felett.

Hátrányt jelent, hogy a titrálásokhoz viszonylag nagy ligandum-koncentráció szükséges, tehát a mérendő anyag oldhatósága is gátat szabhat a potenciometria alkalmazásának. A mérés feltétele, hogy a vizsgálandó vegyület legalább 0,5 mM koncentrációban oldódjék vízben a titrálás teljes tartományában.

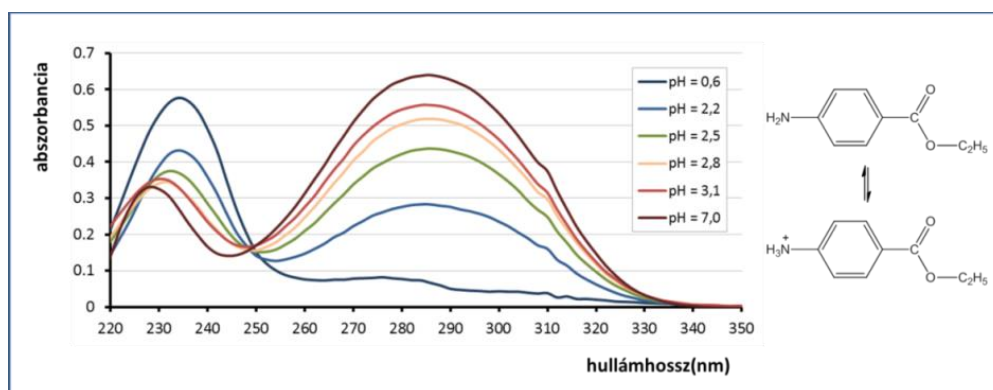
Ugyanakkor potenciometriás titrálással pH 2 - pH12 tartományban lehet pontos disszociációs állandót meghatározni, hiszen az üvegelektrod ebben a tartományban a legpontosabb, így az erősen savas ($pK_a < 2$) és az erősen bázikus ($pK_a > 12$) funkciós csoportok mérésekor jelentősen megnő a mérés hibája.

VIII.4.2 UV-Vis spektrofotometriás titrálás

A potenciometriánál érzékenyebb módszer az ún. *UV-pH titrálás* a disszociációs állandók meghatározására. Az ultraibolya-látható (UV-Vis) spektrofotometria olyan vegyületeknél alkalmazható, melyek jelentős UV aktivitással bírnak, és a vegyület ionizálható csoportja a kromofor csoport része, illetve annak közelében található (pl. fenolát-ion, aromás gyűrű melletti karboxilát-ion vagy aminocsoport, heteroaromás gyűrű nitrogénje, stb.). Ilyen esetekben az ionizálható csoportok pH változás hatására bekövetkező protonáltsági állapotának megváltozása a spektrumban is változást okoz, vagyis protonálódás/deprotonálódás hatására a spektrum hiper- vagy hipo-, bato- vagy hipszokróm eltolódást szenved, általában a konjugáció változásának függvényében.

Így például, a 4-aminobenzoesav alapú helyi érzéstelenítők egyik képviselőjének, a benzokainnak 290 nm-nél van intenzív, analitikai meghatározást is lehetővé tévő abszorpciós maximuma. Erősen savas közegben (pH 0,6) az aromás aminocsoport protonálódása következtében azonban a vegyület spektruma már csak a benzoészav-típusú vegyületekre emlékeztet (VIII-4. ábra).

VIII-4. ábra: Benzokain UV-Vis spektrumának pH-függése



Az UV-pH titrálás során a vizsgált vegyület oldatának fényelnyelését vizsgálják a pH függvényében adott hullámhosszon. Ez annyit jelent, hogy a mérés során azonos koncentrációjú és azonos ionerősségű, de különböző pH-jú oldatsorozatot kell készíteni, és minden egyes oldatnak regisztrálni kell a spektrumát. A kiértékelést legcélszerűbb azon a hullámhosszértéken megtenni, ahol a legnagyobb az y-tengely irányú (hiper- és hipokróm) eltolódás a pH változás hatására a spektrumban, tehát ahol a teljesen protonált és a teljesen deprotonált formában jelen levő komponenseket tartalmazó oldatok esetén a legnagyobb a két görbe közötti távolság.

A kiválasztott hullámhossz értéken megméri minden oldat fényelnyelését. Az egy ionizálódó csoportot tartalmazó molekula esetén a legalacsonyabb pH-jú oldatban a molekula teljesen protonált állapotban van, a legmagasabb pH-jú oldatban pedig teljesen deprotonált formában. Az A_{XH} a teljesen protonált részecske, az A_X a teljesen deprotonált részecske abszorbanciája, az A_{pH} pedig az adott pH értéken mért abszorbancia.

A köztes pH értékeken az oldatban jelen levő protonált részecskék mennyiségét az $A_X - A_{pH}$ különbség, a deprotonált részecskék mennyiségét az $A_{pH} - A_{XH}$ különbség fejezi ki. A *Henderson-Hasselbach egyenlet* felhasználásával a pK_a érték számolható:

$$pK_a = \text{pH} + \log \frac{[\text{protonált forma}]}{[\text{deprotonált forma}]} = \text{pH} + \log \frac{A_X - A_{pH}}{A_{pH} - A_{XH}}$$

Az UV-pH titrálást elsősorban olyan vegyületek disszociációs állandóinak meghatározására használják, melyek kis oldhatósága nem teszi lehetővé a potenciometriás meghatározást. Az UV-pH titráláshoz ugyanis, a vegyület fajlagos abszorpciós koefficiensétől függően, általában 50 μM koncentrációjú oldat elégséges a méréshez.

A módszer automatizálható, ilyenkor a titráló berendezéshez közvetlenül csatlakoztatnak egy diódasoros spektrofotométert, lehetővé téve azt, hogy minden egyes mérőoldat adagolást követően a pH méréssel egyidejűleg megtörténik a minta spektrumának a felvétele is. Így jelentősen lerövidül egy vegyület pK_a értékének meghatározása.

VIII.4.3 Egyéb módszerek

A spektrális grádiens analízis (SGA) módszer

Az ún. *spektrális grádiens analízis* („spectral gradient analysis”, SGA) nagy áteresztőképességű pK_a meghatározó eljárásnak tekinthető. A vizsgálat során savas és bázikus puffer oldatok elegyítésével időben lineáris pH-grádienszt állítanak elő. A mintát az áramló pufferbe injektálják, és diódasoros UV detektorral regisztrálják a pH változásra bekövetkező spektrumváltozást. Egyetlen pontból, 4 perc alatt kielégítő megbízhatósággal nyerhető pK_a adat.

Kapilláris elektroforézis

A kapilláris elektroforézis viszonylag új lehetőség a pK_a érték meghatározására. A meghatározás során a vizsgálandó vegyület látszólagos elektroforetikus mozgékonyosságát határozzák meg, amely kapcsolatban áll a kapilláris hosszával, a vándorlási idővel és az alkalmazott feszültséggel. Ugyanakkor egy ionizálható vegyület elektroforetikus mobilitása függ az adott pH értéken jellemző ionizáltsági állapotától. A látszólagos mobilitási értékeket a pH függvényében ábrázolva egy szigmoid görbét kapunk, amelynek inflexiós pontja megfelel a vegyület pK_a értékének.

A módszer igen nagy előnye a kis anyagigénye és a szelektivitása. Nem igényel nagy tisztaságú mintát, hiszen főként elválasztástechnikai módszerként használják.

Egyéb lehetőségek

További lehetőséget nyújt a disszociációs állandó meghatározására az NMR - pH titrálás, valamint a CD-pH titrálás. Ezek a módszerek egyelőre nem rutin technikák, speciális problémák - főként más módszerrel nem mérhető vegyületek esetén - megoldására használatosak.

Az NMR-pH titrálás során a protonálódásban részt vevő csoport(ok) közelében levő NMR aktív magok kémiai eltolódását vizsgálják a pH függvényében. A módszer előnye, hogy nem igényli a mérendő anyag pontos koncentrációjának ismeretét, és esetleges szennyezők sem zavarják a meghatározást.

Vízben nem oldódó vegyületek pK_a értékének meghatározása

A vízben rosszul oldódó vegyületek pK_a meghatározása az eddig felsorolt módszerekkel nehézkes. A potenciometriás módszer feltétele, hogy a vegyület a titrálás teljes pH-tartományában oldott formában legyen jelen. Ha ez nem valósul meg, de a vegyület spektrális tulajdonságai azt lehetővé teszik, akkor a spektrofotometriás módszer alkalmazható, hiszen kisebb vízdoldhatóság is elegendő.

Amennyiben a vegyület vízben nem oldódik, úgy a pK_a meghatározására a leginkább elterjedt megoldás az oldószerkeletben („co-solvent method”) való mérés, mind a potenciometriás, mind a spektrofotometriás eljárás során. A szerves oldószer - víz elegyekben, amelyek közül a leggyakrabban a metanol/víz-rendszer használatos, meghatározzák az ott érvényes ún. *látszólagos ionizációs állandót* (p_sK_a), majd extrapolálnak a nulla szerves oldószer tartalomra, vagyis vizes közegre.

VIII.5 Irodalom

- Avdeef A.: Physicochemical Profiling (Solubility, Permeability and Charge State). *Current Topics in Medicinal Chemistry* 1, 277-351. (2001)
- Cairns D.: Essentials of Pharmaceutical Chemistry. 4th Ed. Physicochemical properties of drugs. Chapter 3. 57-79.
- Gergely P., Erdődi F., Vereb Gy.: Általános és bioszervetlen kémia. Szerk.: Gergely P. Semmelweis Kiadó, Budapest (2003)
- Ebbing, Darrell D.: General chemistry. 2. ed. Boson [etc.]: Houghton Mifflin, cop. (1987)
- Kerns E.H., Di L.: Pharmaceutical profiling in drug discovery. *Drug Discovery Today* 8, 316-323. (2003)
- Manallack D.T.: The pK_a distribution of drugs: Application to drug discovery. *Perspectives in Medicinal Chemistry* 1, 25-38. (2007)
- Póta Gy.: Fizikai-kémia gyógyszerészhallgatók számára. 4. jav. kiad., Kossuth Egyetemi K., Debrecen (2005)
- Takácsné Novák K., Völgyi G.: A fizikai-kémiai jellemzés helye és módszerei a gyógyszerkutatásban. *Magyar Kémiai Folyóirat* 111, 169-176. (2005)
- Takácsné Novák K., Józán M., Mazák K.: Gyógyszerészi kémia gyakorlatok, Gyógyszervegyületek vizsgálata. Semmelweis kiadó, Budapest (2005)
- Völgyi G.: Módszerek fejlesztése vízben rosszul oldódó vegyületek fizikai-kémiai paramétereinek (pK_a , $\log P$) meghatározására a gyógyszerkutatás korai fázisában. Doktori értekezés. Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet (2007)
- Zhou L., Wang J.: Physico-chemical characterization in drug discovery. *Trends in Bio/Pharmaceutical Industry*, 99, 12-18 (2009)

IX A gyógyszervegyületek fizikai-kémiai jellemzői.

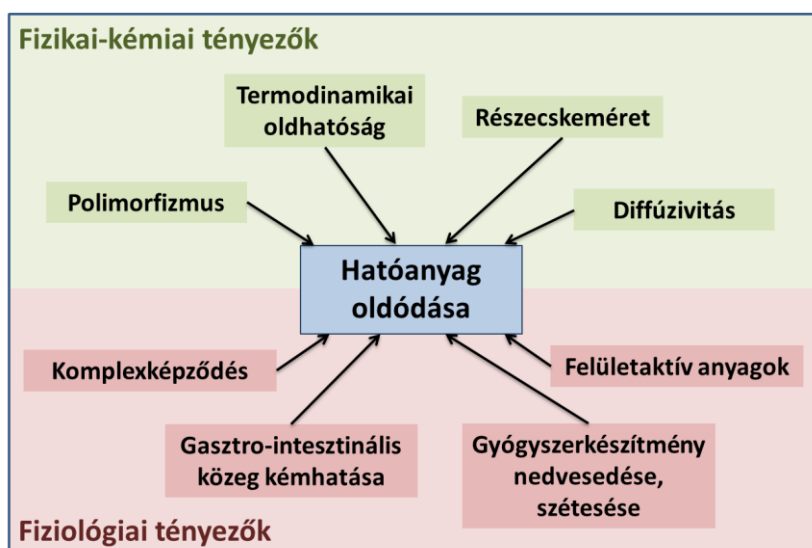
Oldhatóság

Biohasznosíthatóság szempontjából egy gyógyszerhatóanyag egyik legfontosabb tulajdonsága az oldhatóság. Kiemelt szerephez jut a hatóanyag oldhatósági sajátossága az orálisan adagolt gyógyszerkészítmények (tabletta, draszté, kapszula stb.) esetén. A szájon át történő alkalmazhatóság feltétele a hatóanyag felszabadulása, kioldódása a szilárd gyógyszerformából és felszívódása a gasztrointesztinális traktusból.

A gyógyszerhatóanyagok hatásának feltétele a megfelelő vízoldhatóság, hiszen a szervezetben lejátszódó biológiai, biokémiai folyamatok vizes közegben mennek végbe. A szervezet vizeit a poláris hatóanyagok jó oldószerei, vagyis a felszívódáshoz és a kiürüléshez is hidrofil sajátosságok szükségesek. Ugyanakkor a membránokon való átjutáshoz lipofil jellegre van szükség. Egy optimális gyógyszermolekula egyszerre rendelkezik lipofil és hidrofil tulajdonságokkal, vagyis amfifil.

Mindazok a tényezők - mind fizikai-kémiai tulajdonságok, mind fiziológiai paraméterek -, amelyek befolyásolják a gyógyszerhatóanyag oldódását, nagymértékben meghatározzák a felszívódást és ezáltal a biohasznosíthatóságot is (IX-1. ábra).

IX-1. ábra: A gyógyszerhatóanyag oldódását befolyásoló tényezők.



A vegyületek vízben való oldhatósága a farmakokinetikai szempontok mellett, a gyógyszerkészítmény stabilitása, valamint a formulálási eljárások optimalizálása szempontjából is meghatározó.

Az oldhatóság, mint minőségi kritérium a gyógyszerkönyvekben is megjelenik. A VIII. Magyar Gyógyszerkönyv szinte minden kémiai alapanyagnál előírja az oldódás vizsgálatát.

IX.1 Az oldatok definíciója

Az oldatok többkomponensű, homogén rendszerek. Az oldás során szilárd, folyadék vagy gáz halmazállapotú anyagot (oldott anyag) egy másik anyagban (oldószer) molekuláris szinten diszpergálunk. Az oldatok tehát a három halmazállapot bármilyen kombinációjából létrejöhetnek, de mindig csak egyetlen, homogén fázisból állnak.

Gyógyszerészeti szempontból a folyadék halmazállapotú oldatok a legjelentősebbek, amikor az oldott anyag elsősorban szilárd halmazállapotú.

IX.2 Az oldódás folyamata

Az oldódás különböző típusú folyamatok szerint mehet végbe.

A *kémiai oldódás* során az anyagban mélyreható változás történik, új vegyületek keletkeznek a lejátszódó kémiai reakció következtében és a kiindulási anyagok eredeti formájukban fizikai módszerekkel nem nyerhetők vissza.

Általában azonban az oldódás az oldószer és az oldott anyag(ok) részecskéi között kialakuló (főként nem kovalens) kölcsönhatások eredménye. Az oldódás során az oldószer és oldott anyag saját részecskéi közötti kölcsönhatások megszűnnek és helyettük új kölcsönhatások alakulnak ki az oldószer és oldott anyag részecskéi között. Ez utóbbi folyamatot nevezzük *szolvatációnak*. Ha az oldószer víz, akkor a folyamatot *hidratációnak* nevezzük.

A szolvatáció során különböző intermolekuláris kölcsönhatások alakulnak ki, mint: hidrogénkötés, ion-dipól kölcsönhatás, dipól-dipól (orientációs) kölcsönhatás, dipól-apoláris (indukciós) kölcsönhatás, vagy diszperziós (London-féle) kölcsönhatás.

Valamely oldott anyagnak adott oldószerben való oldhatósága állandó hőmérsékleten és nyomáson a vizsgált rendszer oldási szabadentalpiájától (*Gibbs-féle egyenlet*) függ:

$$\Delta G = \Delta H - T \times \Delta S$$

A fizikai és kémiai folyamatok önmaguktól mindig meghatározott irányba mennek végbe. A folyamatok irányára vonatkozó tapasztalatokon alapszik a termodinamika második főtétele. Zárt rendszerekben a fizikai és kémiai átalakulások végbemenetelének lehetőségét jellemző mennyiség az entrópia. A folyamatok önként a munkavégzés irányába mennek végbe, vagyis: $\Delta G < 0$. A ΔG nagyságát és előjelét értelemszerűen a ΔH és $T \times \Delta S$ tagok nagysága és előjele határozza meg.

A $\Delta G < 0$ feltétel egyrészt akkor valósulhat meg, ha a $\Delta H < 0$ és $\Delta S > 0$ vagy $\Delta S < 0$, de ebben az esetben $|\Delta G| > T \times \Delta S$, másrészt akkor, ha $\Delta H > 0$ és $\Delta S > 0$ és $T \times \Delta S > \Delta H$.

Alacsony hőmérsékleten általában azok a folyamatok mennek végbe önként, amelyeknél $\Delta H < 0$, a $T \times \Delta S$ tag pedig kicsi. Ez esetben a szabadentalpia-változást (ΔG) gyakorlatilag a reakció entalpiaváltozása (ΔH) szabja meg. Magas hőmérsékleten a ΔG értékét főleg az entrópiaváltozás (ΔS) értéke határozza meg. Míg köztes hőmérsékleten mind a ΔH , mind a ΔS szerepe jelentős.

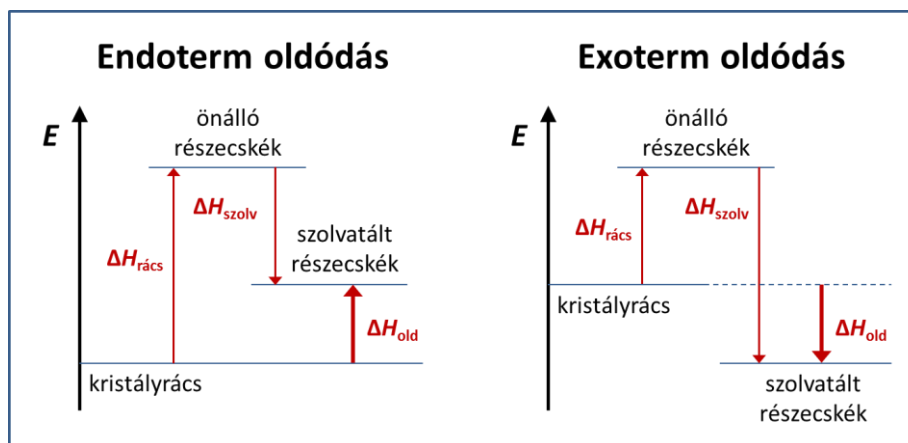
Egy kristályos szilárd anyag esetében a kristály csúcsain és szélein elhelyezkedő ionok hidratálódnak először. Ennek következtében csökken a hidratálódott ion és a szomszédos kristálybeli ionok közötti vonzóerő mértéke. A hidratáció legyőzi az ún. rácsenergiát ($\Delta H_{\text{rács}}$), amely a kristályrácsban összetartja az ionokat, és a hidratálódott ion a rácsból kiszakad. Az ion hidratációja energiaváltozással járó folyamat, ezt hidratációs/szolvatációs entalpiának nevezzük ($\Delta H_{\text{hidr}}/\Delta H_{\text{szolv}}$).

Az anyagok oldását tehát minden esetben hőváltozás kíséri, amit oldáshőnek nevezünk. Az *oldáshő* az a hőmennyiség (ΔH_{old}), ami (állandó hőmérsékleten és nyomáson) egy mól anyag nagy feleslegben vett oldószerben történő oldásakor a környezetnek átadódik (*exoterm*) vagy a környezetből a rendszer által elnyelődik

(*endoterm*) (IX-2. ábra). Az oldás tehát exoterm, ha a folyamat hőfelszabadulással jár, vagyis az oldat felmelegszik, illetve exoterm, ha a folyamatot hőfelvétel kíséri, vagyis az oldat lehül. Az oldáshő az oldódási folyamatban elnyelődő rácsenergia ($\Delta H_{\text{rács}}$) és a felszabaduló solvatációs energia (ΔH_{szolv}) összegéből számítható ki.

$$\Delta H_{\text{old}} = \Delta H_{\text{rács}} + \Delta H_{\text{szolv}}$$

IX-2. ábra: Az oldódást kísérő hőváltozások.



Hogy az oldódási folyamat önként végbe megy-e, az a a folyamatot kísérő entrópiaváltozástól is függ. Általában az entrópia nő az oldódás során, mivel csökken a rendszer rendezettsége, ugyanis a rendezett kristályos állapotból kevésbé rendezett oldat jön létre. Ha az oldódás folyamán a rendszer entrópiája nagymértékben megnő, akkor annak eredményeképpen az endoterm folyamat is önként végbemeget. Bizonyos esetekben, amikor az oldódás során nagy rendezettségi fokú hidrátburok alakul ki, akkor az oldódás entrópiacsökkenéssel is járhat.

Az oldódás folyamata legalább három lépésre osztható. Első lépésben az oldandó anyagnak (gyógyszer esetén a hatóanyagnak) az oldószerhez (ami jellemzően a gyomornedv) kell jutnia, majd ezután következik az oldódás, végül pedig a feloldott hatóanyag az oldat belseje felé távozik. Oldódás közben a szilárd anyag és az oldószer határfelületén diffúziós határreteg alakul ki, melyben a hatóanyag koncentrációja nagyobb, mint az oldat más részeiben levő koncentráció. Amikor a diffúziós határretegben mérhető koncentráció megegyezik az oldat bármely pontján levő koncentrációértékkel, termodinamikai értelemben telített oldatot kapunk. Ebben az esetben az oldatban mérhető koncentráció megegyezik az adott hatóanyag, adott körülmények között mért oldhatóságával. Értelemszerűen, ilyenkor a diffúziós határreteg megszűnik létezni, egészen addig, míg nem következik be hőmérsékletváltozás vagy hígulás, illetve ionizálódó vegyület esetén nem változik meg a közeg kémhatása. Általában a második lépés a leggyorsabb. A sebesség meghatározó lépés az oldódási folyamatban a harmadik, a diffúziós lépés, ennek a legkisebb a sebessége. Az oldódás sebességét az is befolyásolja, hogy az oldandó anyag mekkora felületen érintkezik az oldószerrel.

IX.3 Az oldhatóság definíciója, fajtái

Az oldatok többségében az alkotórészek mennyisége – az előzőkben felsorolt kölcsönhatások eredményeképpen – csak meghatározott arányok között változhat. A feloldandó anyagot növekvő mennyiségben adva az oldószerhez, egy adott mennyiség feloldása után további mennyiséget az adott tömegű oldószer már nem tud feloldani, vagyis a kapott oldat az adott anyagra nézve telítetté válik. Az oldatot *telített oldat*nak nevezzük.

Egy anyag oldhatóságát telített oldatának koncentrációjával jellemezzük adott hőmérsékleten és nyomáson, az adott oldószerben. Egy anyag oldhatóságának leírására kétféle megközelítés létezik, az ún. *termodinamikai oldhatóság*, valamint az ún. *kinetikai oldhatóság*.

Termodinamikai (egyensúlyi) oldhatóság, S

A *termodinamikai oldhatóság* megadja a termodinamikai egyensúlyban levő heterogén, kétkomponensű rendszer (oldat és oldandó anyag), telített oldatfázisában levő anyag koncentrációját. Értéke adott hőmérsékleten és nyomáson állandó, anyagi minőségre jellemző. Nagyban függ az oldandó anyag kristályszerkezetétől is. Ionizálható molekulák esetében az oldhatóság pH-függést mutat. A neutrális forma (szabad sav vagy bázis) egyensúlyi oldhatósága az ún. *belső (intrinsic) oldhatóság* (S_0) arra a pH-értékre vonatkozik, ahol a vegyület nemionos formában van jelen.

Kinetikai oldhatóság, S^{APP}

A *kinetikai oldhatóság* a vizsgált heterogén rendszerekben a mintavételkor érvényes, pillanatnyi oldhatóságot jelenti, mivel a mérési eljárás során nem hagynak elég időt az egyensúly kialakulására. A kinetikai oldhatóság meghatározásakor az adott vegyületből szerves oldószerrel, tipikusan dimetil-szulfoxiddal (DMSO) tömény oldatot készítenek, majd ennek az oldatnak adott térfogatát adják a vizes közeghez, növekvő mennyiségben, amíg csapadékképződés nem tapasztalható. A kinetikai oldhatóság a telített oldat koncentrációja a csapadékképződés pillanatában. Mivel az anyag a szerves oldószerben már oldott állapotba jutott, a vízzel hígított oldat koncentrációja nagyobb lehet, mint a termodinamikai oldhatóság által megszabott érték.

A termodinamikai és a kinetikai oldatóság közötti különbség abból adódik, hogy az utóbbi esetben már nincs szükség a kristályrácsot összetartó, valamint a formulálás különbségeiből adódó különböző erők legyőzésére. A szilárd struktúrának ugyanis gátló hatása lehet az oldhatóságra.

A kinetikai oldatóság meghatározásakor lehetőség van a nagy áteresztőképesség biztosítására, ami nagyon előnyös a gyógyszerkutatás korai felfedező fázisában. Ekkor még nincs is szükség pontos oldatósági eredményekre, elegendő azok körülbelüli ismerete, hiszen előrejelzi a vegyület orális alkalmazhatóságát. A termodinamikai oldatóság megállapítása a kutatás későbbi fázisának feladata.

Az oldhatóság különböző koncentrációegységekben adható meg. Kifejezhető egységnyi oldószerben oldott anyagmennyiséggel, pl. g/100ml, g/ml, g/dm³, mol/dm³ (moláris oldhatóság) stb. Jelölése: S . Az egységnyi oldószerben oldott anyagmennyiségek számszerű értékei logaritmizálva is megadhatók. Jelölése: $\log S$. A logaritmizált oldhatóság megadható pS formájában is. ($pS = -\log S$) Mindig pontosan meg kell adni, hogy milyen mértékegységben fejezzük ki az oldatóságot.

Oldékonyság

Az oldékonyság a *Gyógyszerkönyv tájékoztató adata*, amely jól definiált kifejezésekkel adja meg 1 gramm anyag feloldásához szükséges oldószer intervallumot (ml-ben) (IX-1. táblázat).

IX-1 táblázat: A gyógyszervegyületek oldékonysága alapján történő besorolás a gyógyszerkönyvben (Ph. Hg. VIII). (A használt kifejezések 15-25°C közötti hőmérsékletre vonatkoznak.)

Kifejezések	1 g anyag oldására vonatkoztatott oldószertérfogat (ml)
Nagyon bőségesen oldódik	< 1
Bőségesen oldódik	1 - 10
Oldódik	10 - 30
Mérsékelten oldódik	30 - 100
Kevésbé oldódik	100 - 1000
Alig oldódik	1000 - 10000
Gyakorlatilag nem oldódik	> 10000

Oldhatósági szorzat, L

Az oldhatósági szorzat a rosszul oldódó elektrolitok oldhatóságának megadására szolgál. Az oldhatóság és az oldhatósági szorzat bár összefüggő, de nem azonos kémiai fogalmak. Egy elektrolit oldhatóságát a telített oldatban az ionok egyensúlyi koncentrációja határozza meg adott hőmérsékleten. (lásd. Termodinamikai oldhatóság) Adott anyag oldhatósága függ attól, hogy az oldatban milyen egyéb anyagok vannak jelen. Az oldhatóság jelentősen csökkenthető saját ion (közös ion) hozzáadásával. Az oldhatósági szorzat (L) viszont egy *egyensúlyi állandó*, értéke csak a hőmérséklettől és anyagi minőségtől függ.

Például:

Az AgCl moláris oldhatósága S . A szíárd ezüst-klorid oldódásának egyensúlyi folyamata:



Az oldódási folyamat egyensúlyából látható, hogy $[\text{Ag}^+] = [\text{Cl}^-] = S$, vagyis az ionkoncentrációk azonosak a moláris oldhatósággal. Értékükből számítható az AgCl oldhatósági szorzata (L):

$$L = [\text{Ag}^+] \cdot [\text{Cl}^-] = S \cdot S = S^2$$

Az Al(OH)₃ moláris oldhatósága S .



Az oldás egyensúlyi állapotában a sztöchiometriai aránynak megfelelően háromszor több lesz a [OH⁻], mint az [Al³⁺]. Ezek alapján az Al(OH)₃ oldhatósági szorzata:

$$L = [\text{Al}^{3+}] \cdot [\text{OH}^-]^3 = S \cdot (3S)^3 = 27S^4$$

IX.4 Az oldhatóságot befolyásoló tényezők

Az oldhatóságot elsősorban maga az oldott anyag minősége és az oldószer határozza meg, de számos tényező befolyásolhatja. Befolyásoló tényezők a hőmérséklet, nyomás, az anyag tulajdonságai (kristályforma, részecskeméret, polimorfizmus), idegen anyagok jelenléte, segédanyagok, felületaktív anyagok jelenléte, aggregáció, micellaképződés, stb.

IX.4.1 Molekulaszerkezet és oldószer

Az oldódás folyamán kölcsönhatások alakulnak ki az oldott anyag és az oldószer részecskéi között, amely kölcsönhatások erősségét főként az összetevők molekulaszerkezete határozza meg.

Tapasztalati szabályként alkalmazható, hogy „*hasonló a hasonlóban oldódik*”, vagyis a polárosabb oldószerek a poláros, az apoláris oldószerek az apoláris anyagokat (részecskéket) oldják jobban. Az oldott anyag akkor oldódik (elegyedik) korlátlanul az oldószerben, ha az oldott anyag molekulái és az oldószer molekulái között hasonló kölcsönhatások alakulnak ki, mint amilyen kölcsönhatások az oldott anyag, illetve az oldószer molekuláit is összetartják.

A víz poláris jellegű oldószer. A vízben az apoláris gázok, folyadékok és szilárd anyagok csak kismértékben oldódnak. Az apoláris szerkezeti rész mellett poláris funkciót is tartalmazó molekulák nagyobb mértékben oldódnak vízben (általában poláros és apoláros oldószerekben is oldódnak). Kifejezetten jól oldódnak vízben az oldatban töltéssel rendelkező erősen poláros ionkristályos vegyületek, hiszen a víznek magas a dipólusmomentuma és a dielektromos állandója.

Az oldószerek polaritását dielektromos állandóikkal (vagy relatív permittivitásukkal), illetve dipólusmomentumukkal lehet jellemezni.

IX.4.2 Hőmérséklet

Miután az anyagok oldását mindig kíséri hőváltozás, vagyis a korábban leírtak szerint az oldás lehet exoterm, ha a folyamat hőfelszabadulással jár (ilyenkor az oldat felmelegszik), illetve lehet exoterm, ha a folyamatot hőfelvétel kíséri (az oldat lehül).

Mindezekből következik, hogy az anyagok oldhatóságát a hőmérséklet befolyásolja. Ha az anyag oldódása exoterm folyamat, akkor az oldhatóság a hőmérséklet emelésével csökken. Ha azonban egy vegyület oldódása endoterm folyamat, akkor az oldhatóság a hőmérséklet emelésével növekszik. Amennyiben az oldáshő értéke nem túl nagy pozitív vagy negatív érték, úgy az oldhatóság a hőmérséklet emelésével, illetve csökkenésével nem változik számottevően.

IX.4.3 Az ionizálható vegyületek oldhatósága

Egy ionizálható vegyület oldhatósága függ a közeg pH-értékétől. Ahhoz, hogy a Henderson-Hasselbach egyenlet felhasználásával számolható legyen egy vegyület pH-függő oldhatósága (S_{pH}) szükséges ismerni a vegyület belső oldhatóságát (S_0) és a molekula $\text{p}K_a$ értékét.

Egyértékű *gyenge sav* esetén a disszociáció, valamint az oldhatóság az alábbi egyenletek alapján történik:



Az oldhatóság adott pH-értéken megadható a vizes oldatban jelenlevő részecskék koncentrációjával a tömeghatás törvénye alapján.

$$S_{pH} = [\text{A}^-] + [\text{HA}]$$

Az összefüggést érdemes átalakítani olyan formába, hogy a hidrogénion koncentráció legyen az egyetlen ismeretlen paraméter.

$$S_{pH} = \frac{K_a[\text{HA}]}{[\text{H}^+]} + [\text{HA}]$$

$$S_{pH} = [\text{HA}] \left(\frac{K_a}{[\text{H}^+]} + 1 \right)$$

$$S_{pH} = S_0 (10^{-pK_a + \text{pH}} + 1)$$

$$\log S_{pH} = \log S_0 + \log (10^{-pK_a + \text{pH}} + 1)$$

Egyértékű *gyenge bázisok* esetén az előzőekhez hasonlóan vezethető le az összefüggés:



$$S_{pH} = [\text{B}] + [\text{BH}^+]$$

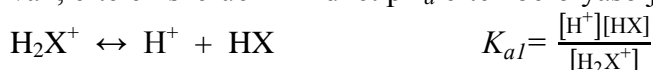
$$S_{pH} = [\text{B}] + \frac{[\text{H}^+][\text{B}]}{K_a}$$

$$S_{pH} = [\text{B}] \left(\frac{[\text{H}^+]}{K_a} + 1 \right)$$

$$S_{pH} = S_0 (10^{+pK_a - \text{pH}} + 1)$$

$$\log S_{pH} = \log S_0 + \log (10^{+pK_a - \text{pH}} + 1)$$

A legegyszerűbb, kéts csoportos *amfoter* molekulák esetén két ionizációs lépés van, értelemszerűen mindkét pK_a érték befolyásolja az oldhatóságot.



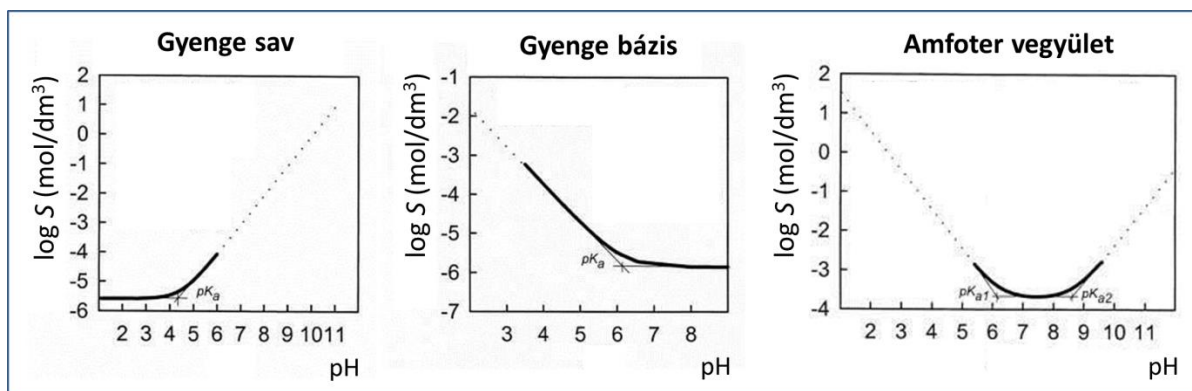
$$S_{pH} = [\text{X}^-] + [\text{HX}] + [\text{H}_2\text{X}^+]$$

$$S_{pH} = S_0 \left(1 + 10^{-pK_{a2} + pH} + 10^{+pK_{a1} - pH} \right)$$

$$\log S_{pH} = \log S_0 + \log \left(1 + 10^{-pK_{a2} + pH} + 10^{+pK_{a1} - pH} \right)$$

Az alábbi ábrákon egyértékű gyenge sav, egyértékű gyenge bázis, valamint amfoter vegyület oldhatóság-pH profiljai láthatók.

IX-3. ábra: Egyértékű gyenge sav, egyértékű gyenge bázis és amfoter vegyület oldhatóság-pH profiljai.



Gyenge savak esetén egyértelműen leolvasható a görbéről, hogy ha a $\text{pH} \ll pK_a$, akkor $\log S \approx \log S_0$. Amennyiben a $\text{pH} \gg pK_a$, a $\log S$ függvény egy egyenes vonal, melynek meredeksége +1. Gyenge savak esetén tehát a pK_a értéknél kisebb pH értéken a vegyület oldhatósága minimális, hiszen a vegyület nemionos (ionvisszatartott) formában van jelen. A pK_a értéknél nagyobb pH értéken a molekulák egyre nagyobb hányada kerül ionos formába, amivel párhuzamosan nő az oldhatóság, amíg el nem ér egy maximális értéket.

A gyenge bázisok értelemszerűen pont ellentétesen viselkednek, a kép éppen ellentétes, ha a $\text{pH} \gg pK_a$, akkor $\log S \approx \log S_0$. Ha a $\text{pH} \ll pK_a$, akkor egyenes a $\log S$ függvény, melynek meredeksége -1. A bázisok oldódás tehát a pK_a értéknél kisebb pH értékeken jelentős.

Amfoter vegyületek esetén az oldhatóság-pH profil pontjai egy parabolára illeszkednek. Ha a $\text{pH} \ll pK_{a1}$, akkor a görbe hasonló lefutású, mint bázisok esetén. Amennyiben a $\text{pH} \gg pK_{a2}$, a görbe a savakéhoz hasonló lefutású. A görbe

minimumpontja az izoelektromos pont, ezen a pH értéken a legkisebb az amfoter vegyület oldhatósága.

Az ábrákon látható, hogy a folyamatos vonal szaggatottá válik, utalva arra, hogy azon a pH értéken megindul a só kiválása a telített oldatból.

A fenti összefüggések jól alkalmazhatók egy vegyület adott pH-n levő oldhatóságának becslésére abban az esetben, ha ismert a vegyület belső oldhatósága és a pK_a értéke.

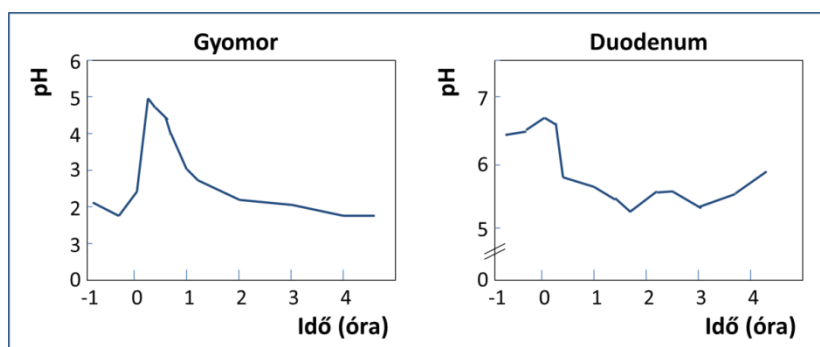
Egy ionizálható gyógyszerhatóanyag esetén tehát a gasztrointesztinális közeg kémhatása nagymértékben befolyásolja a vegyület oldhatóságát. A gasztrointesztinális folyadék pH-ja nagymértékben függ az adott szakasztól, de különbség van az étkezés előtti illetve utáni állapotokban is (IX-2. táblázat).

IX-2 táblázat: Átlagos pH értékek a gasztrointesztinális traktus egyes szakaszain egészséges felnőtt szervezetben.

Gasztrointesztinális szakasz	Átlagos pH érték	
	étkezés előtt	étkezés után
Gyomor	1,7	4,9 (0,1 óra)
Patkóbél (Duodenum)	6,5	5,4 (1 óra)
Éhbél (Jejunum)	6,6	5,2 – 6,0
Csípóbél (Ileum)	7,4	7,5

A gyomor kémhatása étkezést követően hirtelen megnövekszik, az ételben levő részecskék pufferhatásának következtében. Az étkezés után 3-4 órával a kémhatás nagyjából visszaáll az éhgyomri állapotra, hiszen újra megnő a gyomor sósav szekréció (IX-4. ábra). A fenti összefüggések alapján látható, hogy gyenge bázisok, mint például a *ketokonazol* ($pK_{a1} = 6,5$; $pK_{a2} = 2,9$) rosszabbul oldódik a gyomornedvben, ha közvetlenül étkezés után alkalmazzák, hiszen ilyenkor a kémhatás kevésbé savas. Ugyanakkor egyéb faktorok, mint az életkor, bizonyos betegségek (aklórhidria, AIDS), vagy egy időben alkalmazott gyógyszerek (pl. H_2 -receptor antagonisták, protonpumpagátlók) is befolyásolják a gyomor kémhatását. Például az említett ketokonazol oldhatósága és ennek következtében felszívódása is csökken AIDS-betegeknél, esetükben ugyanis az átlagosnál magasabb a gyomor pH értéke.

IX-4. ábra: A gyomor és a patkóbél (duodenum) kémhatásának változása étkezés előtt, valamint étkezést követően.



Rosszul oldódó gyenge savak, amelyek pK_a értéke kisebb, mint 6, mint például furoszemid ($pK_a = 3,9$) és indometacin ($pK_a = 4,5$), gyakorlatilag oldhatatlanok az

éhgyomri gyomornedvben, csak a vékonybélben oldódnak. Magasabb pK_a -val rendelkező gyenge savak, például paracetamol ($pK_a = 9,5$), hidroklorotiazid ($pK_a = 8,8$) esetén az oldhatóság gyakorlatilag független a gasztrointesztinális traktus kémhatásától, ugyanis szabad sav formájában maradnak minden szakaszban (a fiziológiás pH értékeken).

IX.4.4 Idegen anyagok jelenléte, az anyag és az oldószer tisztasága

Előfordulhat, hogy egy anyag oldhatóságát az oldószer szennyezettsége, vagy magában az oldott anyagban található szennyezések befolyásolják. A szennyeződések, melyek oldékonyabbak a vizsgált anyagnál, nagy mérési hibákat okozhatnak, főleg a nem specifikus analitikai eljárás alkalmazása során.

A szennyeződések elsősorban a folyadékelegyek oldataiban okoznak súlyos mérési hibákat.

IX.5 Az oldhatóság meghatározásának kísérletes módszerei

Az oldhatóság meghatározására számos módszer ismert. Különbséget kell tenni abból a szempontból is, hogy kinetikai vagy termodinamikai oldhatóságot meghatározó módszerről van szó.

A gyógyszerkutatás kémiai felfedező („discovery”) szakaszában a gyors szűrésre, a vegyületek rangsorolására van szükség, ilyenkor az oldatosság meghatározására csak tájékoztató jellegű oldhatósági értékeket szolgáltató módszereket alkalmaznak. Ebben a fázisban több tízezer vegyület gyors mérése a cél, vagyis az alkalmazott eljárásokkal szemben a fő követelmény a gyorsaság, a nagy áteresztőképesség („high throughput”, HT). Általában az 50 vegyület/nap teljesítménynél nagyobb kapacitású módszereket tekintik HT eljárásoknak. A felfedező kutatások során a vegyületek kinetikai oldhatóságát határozzák meg, ilyenkor a mintákat előbb DMSO-ban oldják (20-30 mM), majd ennek kis térfogatait adják a vizes tompító oldathoz. Az anyagkiválás első pillanataiban az oldatlan részt eltávolítják, és az így képződött oldat koncentrációját mérik.

A gyógyszerkutatás fejlesztési fázisában („development”) szükség van a termodinamikai (egyensúlyi) oldhatóság meghatározására. A módszerek lényege, hogy a szilárd anyagot közvetlenül a vizes közegben, anyagfelesleg biztosítása mellett, adott hőmérsékleten hosszabb ideig kevertetik, majd ülepítik és a telített oldat koncentrációját alkalmas módon mérik. Lényeges elvárás a módszerekkel szemben, hogy pontosak, reprodukálhatóak legyenek.

Az oldhatóság meghatározására leggyakrabban alkalmazott analitikai módszereket a IX-3. táblázat foglalja össze.

IX-3 táblázat: Oldhatóság meghatározására használt analitikai módszerek.

Módszer	Oldhatóság típusa	Módszer típusa	Alkalmazott detektor	Méréshatár
Turbidimetriás	kinetikai	HT	UV	5 µg/ml
Nefelometriás	kinetikai	HT	lézer nefelométer	5 µg/ml

Módszer	Oldhatóság típusa	Módszer típusa	Alkalmazott detektor	Méréshatár	
Direkt (μSOL)	UV	kinetikai/ termodinamikai	HT	UV	0,1 μg/ml
Fázisoldhatóság		termodinamikai	nem HT	gravimetria	mg/ml
Hagyományos rázótolcséres		termodinamikai	nem HT	UV	1 μg/ml
Miniatürizált rázótolcséres		termodinamikai	HT	HPLC-UV vagy LC/MS	1 μg/ml
Generator column		termodinamikai	nem HT	HPLC	0,1 μg/ml
DTT		termodinamikai	nem HT	potenciometria	5 ng/ml
CheqSol		termodinamikai	HT	potenciometria	0,1 μg/ml

IX.5.1 A kinetikai oldhatóság meghatározási módszerei

A turbidimetriás módszer bevezetése C.A. Lipinski és mtsai nevéhez fűződik. Lényege, hogy a mérés során a mintát DMSO-ban oldják. A törzsoldatból vizes tompítóoldattal hígítási sort készítenek. A méréseket általában rögzített pH-n végzik. Amely koncentrációértéken eléri az oldhatóság értékét, anyagkiválás történik, amit a nem oldódott részecskék miatti zavarosságból eredő fényszóródás jelez, ami abszorbancia emelkedést okoz az UV-detektorban. A mérések automatizált rendszerben mennek végbe, nagyszámú minta rövid időn belül mérhető. Az eljárás hibája, hogy kis vízdékonyságú minták esetén a módszer nehezen reprodukálható, túl nagy mennyiségben lehet jelen a DMSO (>1% v/v) és hibát jelent a standardizálás hiánya.

Az ún. nefelometriás eljárás során a fényszóródást az oldat és a szilárd részecskék elválasztása után lézer nefelométerrel mérik, majd ebből számítják ki az oldat koncentrációját.

A direkt UV-módszer során a szilárd fázis eltávolítását követően felveszik a visszamaradt tiszta oldat spektrumát. A hígítási módszerrel referencia oldat is készül. Ebben az esetben is adott mennyiségű mintát kell feloldani az adott kémhatású és térfogatú oldószerben, de a minta mennyisége kevesebb, annak érdekében, hogy a csapadékkiválás ne következzen be. A referencia oldat is esetén is felveszik a spektrumot, majd mindkét spektrum esetében a görbe alatti területek aránya képezi a kiértékelés alapját.

A klasszikus rázótolcséres módszer 96-reakcióhelyes mikrolemezes (96-well plate) technológiára való átdolgozása és robotizálása szintén a teljesítmény növeléséhez vezetett. A minták mérése gyors gradienselúciós fordított fázisú HPLC-vel történik. A módszerek kapacitása nagy, alkalmazásukkal a kinetikai oldhatóság határozható meg. Pontosságuk azonban korlátozott, mivel igen kis térfogatok mérése történik, és általában egy pH-n egy mérés történik. További hátrány, hogy a DMSO-ban való oldás következtében a különböző kristályformák és polimorfok oldhatósága közötti különbségek elvesznek.

IX.5.2 A termodinamikai oldhatóság meghatározási módszerei

A termodinamikai (egyensúlyi) oldhatóság meghatározására szolgáló klasszikus eljárás a *telítéssel rázótolcséres módszer*. A vizsgálat során a mintát, mely általában kristályos formában van, anyagfelesleg mellett oldják pufferoldatban vagy a biológiai közeget reprezentáló oldatban a telítés bekövetkezéséig. A rázótolcsérben vagy üvegedényben levő mintákat termosztált körülmények között hosszabb ideig (min. 24 vagy 48 óra) kevertetik vagy rázatják, amíg létre nem jön az egyensúly a két fázis (szilárd és oldat fázis) között. Az egyensúly beállása után a fázisokat centrifugálással, szűréssel vagy üleptetéssel szétválasztják, majd egy arra alkalmas analitikai módszerrel (pl. spektrofotometria, HPLC) meghatározzák a tiszta, telített oldat koncentrációját. A módszer hátránya nagy munka- illetve időigénye, valamint nagy anyagigénye. További hátránya, hogy egyelőre nem automatizálható, sok hibalehetőséget hordoz (pl. termosztálás, mintavétel pontossága, átkristályosodás lehetősége, aggregátumok, micellák, illetve kolloid oldat képződése) és hogy a mérés általában egy pH-értéken történik. A módszer előnye az egyszerűsége, sok új módszer validálásakor referencia eljárásként használják.

Ma már több olyan módszer is létezik, az ún. *módosított plate módszerek* („modified-equilibrium microtitre plate methods”), amelyek a klasszikus telítéssel rázótolcséres módszert helyezik át automatizált, 96-lyukú lemez technológiára. Cél elsősorban a teljesítmény fokozása és a szükséges anyagmennyiség (minta, oldószer) csökkentése.

Az ún. *fázis-oldhatóság* elve, hogy növekvő anyagfelesleg függvényében méri az oldhatóságot. A vizsgálat során egy mérési sorozatot készítenek: azonos térfogatú oldószerrészletekbe mérnek be növekvő mennyiségű vizsgált anyagot. Az oldatokat több napig zárt rendszerben kevertetik, majd az oldatokból mintát vesznek és gravimetriásan határozzák meg azok koncentrációját. A kapott koncentrációértékeket a bemért mintamennyiségek függvényében ábrázolják, a grafikonon a nulla feleslegre extrapolált adat adja meg az egyensúlyi oldhatóságot. A módszer hátránya szintén nagy munka-, idő- és anyagigénye, viszont nagyon pontos adatokat szolgál.

A „*generator column*” módszer lényege, hogy a vizsgálandó mintát kolonnába töltött üvegyöngyök felületére viszik fel, majd az oszlopon vizet pumpálnak keresztül. A telítési egyensúly gyorsan beáll, a minta és víz közötti nagy érintkezési felület miatt. Az eluálódott folyadék koncentrációját HPLC módszerrel határozzák meg.

A *potenciometriás titráláson alapuló módszerek* nagy előnye, hogy ionizálható molekulák oldhatóságának meghatározására használhatók. A *DTT-módszeren* („dissolution template titration”) alapszik az ún. pSOL oldhatóság-meghatározó készülék. A vizsgálat indulásakor meg kell adni a minta pK_a és $\log P_{ov}$ értékeit, amelyekből a műszer egy elméleti pH - mérőoldat fogyás titrálási görbét hoz létre, amely mintaként szolgál a méréshez. A mérés kezdetén a szilárd anyagot feloldják erős bázisban, illetve savban, majd 10-60 percig kevertetik. Az ionizált formát biztosító pH irányából megindul a titrálás. Detektorként pH-mérő elektród használatos. A mérőoldat adagolás sebessége a titrálás elején gyorsabb, majd a végponthoz közeledve lassul, majd a végpont után újra gyorsul. Azon a pH értéken, ahol a molekula deprotonálódik (bázisok) vagy protonálódik (savak), vagyis nemionizált formába kerül, kicsapódik. A csapadékkiválást torzulást okoz a titrálási görbén, melyből az egyensúlyi koncentráció alkalmas szoftver segítségével kiszámítható. A módszer előnye, hogy egy titrálással meghatározható egy adott vegyület teljes oldhatóság-pH profilja. Széles mérési tartományban használható, nagy pontosságú. A módszer hátránya, hogy egy-egy titrálás az oldhatósági egyensúly beállása érdekében 3-10 órát igényel.

Szintén potenciometriás titrálás elvén működik az ún. „*chasing equilibrium method*” (CheqSol). A normál titrálást követően, olyan anyagkoncentrációnál is el kell végezni a titrálást, ahol a minta nemionizált formája kiválik. A kiválást az oldatba merülő optikai kábel segítségével UV detektor érzékeli, mely a titrálás leállítását vonja maga után. A méréshez tehát olyan anyagmennyiség biztosítása szükséges, melynél a vegyület az ionizált formájának megfelelő pH-n még teljesen feloldódik, de a semleges formájának pH-ján csapadékként kiválik. A kiválást követően sav illetve bázis kis mennyiségű adagolásával, igen kis pH változásokat előidézve a minta hol oldatba megy, hol újra kiválik (túltelített és telített állapot között változik). Igazolt, hogy nyolc ilyen pont meghatározása elegendő az egyensúly beállításához. Az egyensúly kikényszerítése után az oldhatóság számolható. Egy mérés ideje 60-90 percre rövidül. A módszer egyensúlyi és kinetikai oldhatóság meghatározására egyaránt alkalmas, kis anyagigényű, automatizált és jól reprodukálható. A módszer hátránya, hogy csak ionizálható vegyületek oldhatóságának meghatározására alkalmas.

IX.6 Irodalom

- Avdeef A.: Physicochemical Profiling (Solubility, Permeability and Charge State). *Current Topics in Medicinal Chemistry* 1, 277-351. (2001)
- Baka E.: Gyógyszerek oldhatóságának meghatározására alkalmas módszerek vizsgálata és fejlesztése. Doktori értekezés. Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet (2010)
- Gergely P., Erdődi F., Vereb Gy.: Általános és bioszervetlen kémia. Szerk.: Gergely P. Semmelweis Kiadó, Budapest (2003)
- Hörter D., Dressman J.B.: Influence of physicochemical properties on dissolution of drugs in the gastrointestinal tract. *Advanced Drug Delivery Reviews* 46, 75-87. (2001)
- Jambhekar S.S., Breen P.J.: Drug dissolution: significance of physicochemical properties and physiological conditions. *Drug Discovery Today* 18, 1173-1184. (2013)
- Kerns E.H., Di L.: Pharmaceutical profiling in drug discovery. *Drug Discovery Today* 8, 316-323. (2003)
- Takácsné Novák K., Völgyi G.: A fizikai-kémiai jellemzés helye és módszerei a gyógyszerkutatásban. *Magyar Kémiai Folyóirat* 111, 169-176. (2005)

X A gyógyszervegyületek fizikai-kémiai jellemzői.

Lipofilitás és megoszlási hányados.

A *lipofilitás* a biológiailag aktív molekulák egyik legfontosabb és igen régóta használatos fizikai-kémiai paramétere, amely mint anyagi tulajdonság a vegyületek apoláris (lipofil) környezethez való affinitását jellemzi, vagyis a zsírszerű anyagokban való oldódási hajlamot.

A lipofilitás szintén olyan fizikai-kémiai tulajdonság, amely nagyban befolyásolja a vegyület felszívódását, eloszlását, fehérjekötődését, kiürülését, másrészt a receptorral való kölcsönhatását is, tehát jelentős mértékben meghatározza egy molekula sorsát a szervezetben. Mindezek alapján a gyógyszertervezés kiemelt paramétere is, hiszen változtatásával befolyásolhatók az ADME tulajdonságok.

Egy molekula lipofilitását számszerű adatokkal jellemezhetjük, aminek kialakításában azok a kölcsönhatások játszanak szerepet, amelyek a szervezetben is létrejönnek a molekula és környezete között.

X.1A megoszlási hányados fogalma

Egy megoszlási folyamat során a vegyület megoszlik két egymással nem elegyedő, de nagy felületen érintkező oldószer között. Az anyag megoszlási hányadosán a két egymással nem elegyedő oldószerben mért aktivitásának az arányát értjük, mely adott hőmérsékleten és nyomáson, az egyensúlyi állapot elérése után állandó érték. Híg oldatok esetében, amikor a koncentráció kisebb, mint 10^{-2} M, a megoszlási hányadost az aktivitások helyett az egyensúlyi koncentrációkkal fejezhetjük ki. A lipofilitás általános jellemzésére választott *oktanol/víz oldószer-rendszerre* vonatkozó megoszlási hányadost P betűvel jelöljük. Az "o" alsó index az organikus, a "v" a vizes fázist jelöli. A lipofilitás jellemzésére általánosságban a megoszlási hányados logaritmusát alkalmazzuk ($\log P$).

A *nernsti definíció* szerint:

$$P = \frac{\gamma_o c_o}{\gamma_v c_v}$$

Híg oldatok esetén:

$$P = \frac{c_o}{c_v}$$

Megegyezés szerint a számlálóban a szerves fázisban mérhető egyensúlyi koncentráció szerepel, ennek következtében a megoszlási hányados minél nagyobb számérték, annál nagyobb a vegyület affinitása az apoláris környezethez, vagyis annál nagyobb a lipofilitása.

Megoszlás szempontjából a gyógyszermolekulák két fő csoportra oszthatók: a *neutrális* (nemionos) és az *ionizációra képes* (savak, bázisok) vegyületekre.

Kétféle megoszlási hányadost különböztetünk meg. A *nernsti definíció* szerinti ún. *valódi megoszlási hányados* (P) az azonos molekuláris állapotban lévő részecskére, azaz a nemionos, semleges forma megoszlására vonatkozik, amely megoszlása - adott hőmérsékleten és nyomáson - a két fázis között a pH-tól független. Az ún. *látszólagos megoszlási hányados*, vagy *disztribúciós koefficiens* (D vagy P_{app}) valamennyi részecskét figyelembe veszi az adott pH-jú vizes fázisban.

Neutrális molekuláknál, ha asszociáció nem lép fel, a kísérletileg mérhető és a valódi megoszlási hányados azonos. Ionizálódó molekuláknál azonban, ahol a vizes közegben a vegyület pK_a értékétől és a közeg pH-jától függően ionizáció következhet be, a valódi megoszlási hányados különbözik az adott mérési körülmények között meghatározható látszólagos megoszlási hányadostól.

A kísérletileg meghatározott látszólagos megoszlási hányadosból a valódi megoszlási hányados, a pK_a érték ismeretében kiszámítható az alábbi összefüggések felhasználásával:

Savak (vagyis semleges savvá protonálódó anion) esetében:



$$P = \frac{[HA]_o}{[HA]_v}$$

$$P_{app} = \frac{[HA]_o}{[HA]_v + [A^-]_v} = \frac{[HA]_o}{[HA]_v + \frac{[HA]_o}{[H^+]K_a}} = \frac{P}{1 + \frac{1}{[H^+]K_a}}$$

$$\log P = \log P_{app} + \log(1 + 10^{pH - pK_a})$$

Bázisok (vagyis kationná protonálódó semleges bázis) esetében:



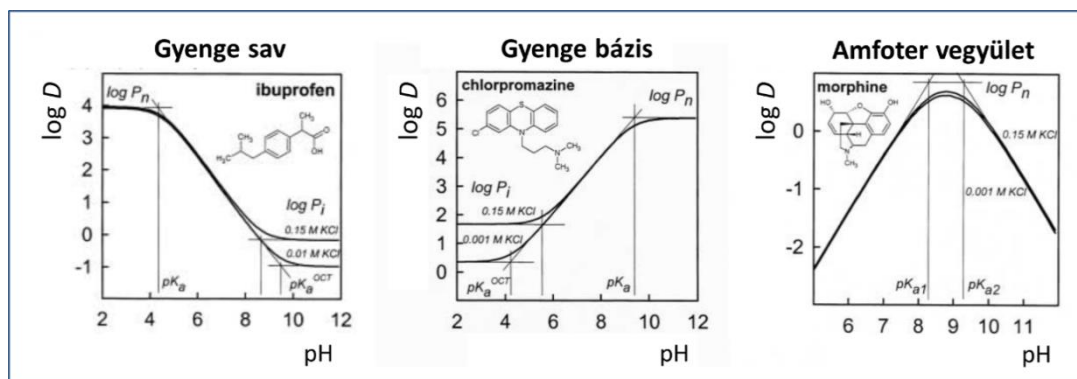
$$P = \frac{[B]_o}{[B]_v}$$

$$P_{app} = \frac{[B]_o}{[B]_v + [BH^+]_v} = \frac{[B]_o}{[B]_v + K_b[B]_v[H^+]} = \frac{P}{1 + K_b[H^+]} = \frac{P}{1 + \frac{[H^+]}{K_a}}$$

$$\log P = \log P_{app} + \log(1 + 10^{pK_a - pH})$$

Az összefüggésekből látszik, hogy a gyenge savak a pK_a értéknél kisebb pH-kon egyre inkább neutrális állapotba kerülnek, lipofilitásuk eléri maximumát. A pK_a -nál nagyobb értékeken egyre nagyobb mértékű lesz az ionizáció, végül az összes molekula ionos állapotba jutásával a lipofilitás minimálisra csökken. A bázikus karakterű hatóanyagok látszólagos megoszlási hányadosának pH-függő görbéje éppen ellentétes lefutást mutat. Szabályos és ikerionos amfoter molekulák jellemzője, hogy a lipofilitás a savas és a bázikus pK_a értékek között maximális (X-1. ábra).

X-1. ábra: Egyértékű gyenge sav, egyértékű gyenge bázis és amfoter vegyület lipofilitás-pH profiljai.



X.2A megoszlási hányados szerepe

A gyógyszermolekulák lipofilitását jellemző $\log P$ értékek könnyen átlátható, kezelhető számadatok, amelyek segítségével a molekulák lipofilitása könnyen összehasonlítható. A gyógyszerek kb. 90%-ának $\log P$ értéke 0 és 5 közötti érték. Az ezen kívül eső lipofilitású anyagokra vagy speciális transzport ($\log P < 0$), vagy extrém farmakokinetika jellemző.

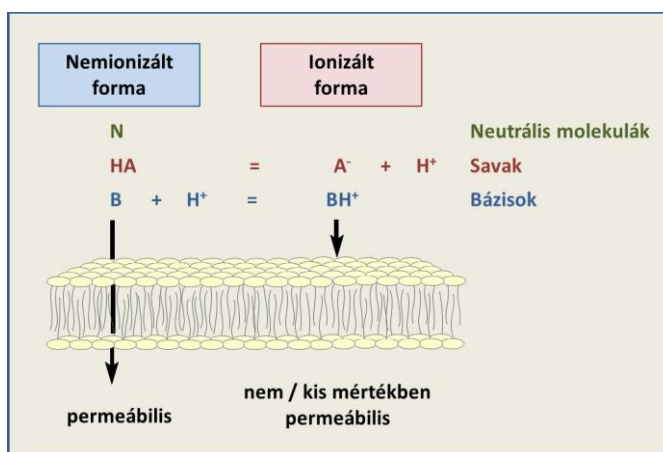
A X-1. táblázat néhány példán keresztül demonstrálja a gyógyszermolekulák abszorpcióját a szervezetben, ami nagymértékben függ a $\log P$ értéktől.

X-1 táblázat: Néhány gyógyszermolekula $\log P$ értéke és annak hatása a felszívódásra.

Gyógyszermolekula	$\log P$	Felszívódás
aszorbinsav	-1,85	passzív diffúzióval nem, aktív transzport révén abszorbeálódik
metilhomatropin-bromid	-1,65	nem szívódik fel, nem jut a központi idegrendszerbe
diazepám	2,82	jól felszívódik passzív diffúzió révén
amiodaron	7,57	felhalmozódik a szervezetben (felezési idő: 25 nap)

Gyógyszerkémiai szempontból, azaz a várható transzport tulajdonságok megítélése szempontjából, a valódi $\log P$ a lényeges, mivel a "*pH-megoszlás hipotézis*" szerint, a gyógyszerek abszorpciója passzív diffúzióval a lipofil membránokon csak a nemionizált, lipofil molekulák számára akadálytalan (X-2. ábra).

X-2. ábra: A „pH-megoszlás hipotézis”.



Ugyanakkor ionizálódó molekulák esetén a látszólagos megoszlási hányados pH-tól való függésének ismerete elengedhetetlen ezen vegyületek szervezetbeli sorsának megértéséhez. Az ionizálódó molekulák a szervezet különböző kompartmentjeinek pH-értékén eltérő megoszlási hányadossal rendelkeznek, amelynek ismeretében megjósolható, hogy hol és milyen mértékű felszívódás várható.

A $\log P$ érték alapján azonban csak a transzport általános megítélése lehetséges, pontos becslés nem, hiszen az orális biohasznosíthatóságot a membránokon való átjutáson kívül számos egyéb szervezetbeli folyamat is befolyásolja.

A lipofilitás-pH összefüggés ismerete nagy segítséget nyújt analitikai problémák megoldásában is, például összetett gyógyszerkészítmények vizsgálatakor a vegyületek ionizáltsági állapotuknak megfelelően különböző pH értékeken extrahálhatók ki szerves oldószerekkel.

X.3A lipofilitás és a foszfolipofilitás

X.3.1 Az oktanol/víz rendszer

A lipofilitás számszerű jellemzésére tehát a gyógyszerkémiaiában az oktanol/víz rendszerre vonatkozó megoszlási hányados logaritmus (log P) használatos. Ez az oldószerrendszer a biológiai megoszlás (extracelluláris tér / membrán / citoplazma) jól használható mintájának bizonyult, mert a szerves fázisként jelen levő oktanol (C₈H₁₇OH) amfifil jellegéből (apoláris szénhidrogén-lánc + poláris hidroxilcsoport) adódóan modellezni képes a gyógyszer és a membrán lipid kettős rétegével és fehérjével létrejövő kölcsönhatásokat. Az oktanol nem elegyedik vízzel, de jelentős mennyiségű (2,36 M) vizet képes megkötni. A vízmolekulák csoportjait az oktanol molekuláinak poláros hidroxilcsoportjai veszik körül, ezáltal micellákat alkotnak.

A membránok sokfélesége miatt azonban egyetlen oldószerrendszer nem igazán alkalmas a biológiai megoszlás modellezésére, ezért a gyógyszerkutatásban manapság egyéb oldószerrendszereket, például a „kritikus kvartett” oldószerrendszereket (oktanol/víz, alkán/víz, kloroform/víz és propilénglikol-dipelargonát (PGDP)/víz) is használják (X-2. táblázat).

X-2 táblázat: A „kritikus kvartett” oldószerrendszer.

Oldószerek	Membrán típusa
oktanol	amfiprotikus
alkán (ciklohexán)	inert
kloroform	főként proton donor
propilén-glikol-dipelargonát	főként proton akceptor

X.3.2 A foszfolipofilitás

Egyre nagyobb a liposzóma/víz vagy liposzóma/puffer megoszlásnak, mint anizotróp rendszernek a jelentősége. A liposzómák foszfolipidekből (foszfatidil-kolin, foszfatidil-szerin, foszfatidil-inozitol) és más molekulákból (zsírsavak, koleszterin, epesavak stb.) állnak; ebben a környezetben az ionos forma megoszlása is jelentős.

A foszfolipofilitás az ADME paraméterek közül szintén a molekulák abszorpciójának, főként a bélen keresztül történő felszívódásának jellemzésére szolgáló paraméter. A lipofilitáshoz képest más fajta információkhoz juthatunk általa, hiszen a hidrofób kölcsönhatásokon kívül a hidrogénhidas és ion-pár kölcsönhatásokat is figyelembe veszi.

X.4A megoszlási hányados meghatározásának módszerei

A megoszlási hányados meghatározására alkalmas módszerek két nagy csoportját alkotják az (a) *direkt* meghatározási módszerek, valamint a (b) *indirekt*, kromatográfiai módszerek (X-3 táblázat). E mellett léteznek predikciós módszerek, melyek segítségével a vegyületek megoszlási hányadosa számítással becsülhető.

X-3 táblázat: $\log P$ meghatározására használt módszerek.

Módszer	Anyagigény (mg)	Mérési tartomány ($\log P$)	Módszer típusa	Kapacitás (vegyület/nap)
Direkt				
rázótölcséres	10-50	-2 - +3	nem HT	2
96 lyukú mikrolemez	1-5	-2 - +4	HT	100
potenciometriás	5-10	-2 - +6	nem HT	20
Indirekt				
RP-TLC	1-3	0 - +5	nem HT	50
RP-HPLC – normál	1	-1 - +6	nem HT	120
RP-HPLC – HT módon	0,01	-1 - +6	HT	100
mikroemulziós				
elektrokinetikus krom.	1	-1 - +6	HT	120

X.4.1 Direkt meghatározási módszerek

Hagyományos rázótolcséres technika

A megoszlási hányados meghatározásának hagyományos módszere az ún. *rázótolcséres eljárás*. A módszer lényege, hogy két egymással nem elegyedő oldószer között a vizsgálandó anyagot megosztjuk.

A mérés során a vizes és a vele nem elegyedő szerves fázist (leggyakrabban oktanol) a meghatározást megelőzően egymással telítik, annak érdekében, hogy az egymásban való oldódás ne okozzon hibát a meghatározás során. A vizsgálandó anyagot a vizes fázisban oldják, meghatározzák a koncentrációját, majd hozzáadják a megosztó, szerves fázist. A két fázist a megoszlási egyensúly eléréséig érintkeztetik. A fázisok érintkeztetésére különféle technikai megoldások léteznek. A *"shake-flask" módszer* során a mintát tartalmazó megfelelő térfogatú, csiszolt dugóval záródó üvegedényt változtatható rázási amplitúdójú és sebességű, termosztálható rázógépbe helyezik; a *"stir-flask" módszer* egy keverőedényes eljárás, ahol a fázisérítkeztetést megfelelő sebességű felső keverő biztosítja.

A megoszlási egyensúly beállta után a fázisokat centrifugálással szétválasztják és azokban a megoszlott anyag koncentrációját arra alkalmas kvantitatív analitikai módszerrel meghatározzák. A koncentráció meghatározása, amennyiben a vizsgálandó anyag spektrális tulajdonságai azt lehetővé teszik, leggyakrabban UV/VIS spektrofotometriás módszerrel történik.

A reprodukálható eredmények eléréséhez az alábbi kísérleti feltételek rögzítése szükséges: (a) a megosztó fázisok egymással történő előzetes érintkeztetésének ideje, (b) az érintkeztetés hőmérséklete, (c) az egyensúly beállításának ellenőrzése, és (d) az állandó ionerősség biztosítása.

Validált körülmények között végezve a meghatározást, az átlagos hiba -2 és $+3$ $\log P$ tartományban $\pm 0,05-0,10$ \log egység között mozog. Azoknak a vegyületeknek a megoszlási hányadosát, amelyek $\log P$ értéke nagyobb, mint $+4$, vagy kisebb, mint -2 , rázótolcséres módszerrel nem lehet kielégítő pontossággal meghatározni. Ennek oka, hogy a túl lipofil vagy hidrofil molekulák az egyik megosztó fázisban való nagyon kicsi oldhatósága miatt extrém fázisarányt kell alkalmazni, amely megnöveli a mérési hibát.

A direkt eljárások közül a rázótolcséres módszert tekintették sokáig referencia eljárásnak, de ismert korlátai miatt (nagy munka- és időigény, a termosztálás nehezen oldható meg, viszonylag szűk $\log P$ tartományban alkalmazható, lipofil molekulák nem mérhetők, nagymennyiségű és nagy tisztaságú oldószert igényel stb.) számos más meghatározási módszert dolgoztak ki.

Kétfázisú potenciometriás titrálás

A módszer elve, hogy azonos körülmények között két potenciometriás titrálást végeznek. Az elsőt vizes közegben, a megosztó fázis nélkül, a másodikat pedig a megosztó szerves fázis (pl. oktanol) jelenlétében. Amennyiben a vizsgált vegyület valamely részecskéje megoszlik a két fázis között, úgy a két potenciometriás titrálási görbe nem esik egybe, és a két görbe eltéréséből a $\log P$ számítható.

A két potenciometriás titrálás két disszociációs állandó értéket eredményez, a pK_a értéket és p_oK_a értéket, amely a szerves fázis jelenlétében végzett titrálásból származó látszólagos disszociációs állandó. A két érték különbségéből a megoszlási hányados számítható:

Savak esetében:

$$P = (10^{p_0 K_a - p K_a} - 1) R$$

Bázisok esetében:

$$P = (10^{p K_a - p_0 K_a} - 1) R$$

ahol R a vizes és a szerves fázis térfogatának hányadosa, vagyis a fázisarány.

Az eljárás megbízható, pontos, elsőszámú validáló módszernek tekinthető ionizálható molekulák esetén és általában olyan vegyületek $\log P$ értékének meghatározására alkalmas, melyek $\log P$ értéke -1 és $+6$ közé esik. A módszer hátránya, hogy problematikus az igen lipofil és még inkább a nagyon hidrofil vegyületek $\log P$ értékének meghatározása esetén, és teljesítményében egyelőre elmarad az indirekt, kromatográfiás technikák kapacitásától.

X.4.2 Indirekt meghatározási módszerek

Az indirekt, más néven alternatív meghatározási módszerek jelenleg a leggyakrabban alkalmazott eljárások a lipofilitás meghatározására. A kromatográfiás módszerek elsősorban akkor használatosak, ha a direkt $\log P$ meghatározási módszerek valamilyen okból kifolyólag nem alkalmazhatók. Az indirekt eljárások előnye, hogy az igen nagy és nagyon kis lipofilitású vegyületek is mérhetők, a módszerek gyorsak és egyszerűek, ami nagyon fontos szempont a gyógyszerkutatók korai fázisában.

A kromatográfiás vizsgálatoknál alapvető olyan kromatográfiás rendszer felállítása, ahol a vegyületek retenciója nagy pontossággal megállapítható, ugyanakkor az adott kromatográfiás állófázissal minél hitelesebben lehessen karakterizálni a membrán kettősréteget.

A kromatográfiás módszerek közül a vékonyréteg-kromatográfiás, valamint a nagyhatékonyságú folyadékkromatográfiás eljárások a leginkább elterjedtek.

Vékonyréteg-kromatográfiás módszer

A fordított fázisú vékonyréteg kromatográfiás (RP-TLC) módszerek manapság is kiterjedten alkalmazott eljárások a gyógyszer-molekulák lipofilitásának jellemzésére, ennek hátterében az áll, hogy a módszer egyszerű, gyors, kis idő alatt egyszerre több vegyület is vizsgálható. A módszer lényege, hogy az eljárás során a lipofilitástól függő kromatográfiás paramétert határozzuk meg, majd kalibrációs egyenes felhasználásával $\log P$ értéket számolunk.

A $\log P$ meghatározás elvi alapját a folyadék/folyadék megoszláson alapuló kromatográfiás retenció és a megoszlási hányados között fennálló összefüggés adja meg. A retenció faktorral közvetlenül összefüggésben áll az ún. R_M érték:

$$R_M = \log \left(\frac{1}{R_f} - 1 \right) = \log \left(K_{VRK} \frac{V_S}{V_M} \right)$$

ahol, mivel R_f 0 és 1 közötti érték, R_M (az ebből származtatott függvénykapcsolat) $+\infty$ -tól $-\infty$ -ig változik; V_S az állófázis, V_M a mozgófázis térfogata ($V_S/V_M =$ fázisarány, az adott kromatográfiás rendszerre jellemző állandó), K_{VRK} a kromatográfiás megoszlási hányados.

Az R_f értékek alapján számított R_M értékek pedig lineáris összefüggésben állnak a $\log P$ értékekkel:

$$\log P = aR_M + b$$

A kromatográfiás $\log P$ meghatározás lényege tehát, hogy egy kiválasztott standard anyagsorozat esetén, melynek oktanol/víz $\log P$ értéke ismert, meg kell határozni az aktuális kromatográfiás rendszerben érvényes R_M értékeket, amely értékeket felhasználva a fenti egyenlet állandói megismerhetők. Ennek alapján egyéb vegyületek $\log P$ értéke számítható.

A vékonyréteg-kromatográfiás módszer lehetőséget nyújt lipofil, UV inaktív és ionizációs csoportot nem tartalmazó vegyületek $\log P$ értékének meghatározására. Ugyanakkor a minta esetleges szennyezettsége sem zavarja a meghatározást, mivel a szennyezők rendszerint elválnak a meghatározás során a vizsgált komponenstől, és így nem befolyásolják a meghatározást. A kromatográfiás rendszer optimalizálása alapvető követelmény, és igen fontos, hogy a kalibrációhoz használt standard vegyületek szerkezete és tulajdonságai közel álljanak a vizsgált vegyületekéhez. A kísérleti körülmények pontos betartásával a vegyületek $\log P$ értéke $\pm 0,05$ pontossággal határozható meg.

Nagyhatékonyságú-folyadékkromatográfiás eljárás

A fordított fázisú, megoszláson alapuló folyadékkromatográfiás eljárás (RP-HPLC) elviekben az előzőekben bemutatott fordított fázisú VRK-módszerhez hasonlítható. A HPLC-s eljárás során a lipofilitással arányos ún. *kapacitás állandót* ($\log k'$) határozunk meg:

$$\log k' = \log \left(K_{HPLC} \frac{V_S}{V_M} \right)$$

ahol $\log k'$ a HPLC-s kapacitási tényező logaritmus, V_S az állófázis, V_M a mozgófázis térfogata ($V_S/V_M =$ fázisarány, az adott kromatográfiás rendszerre jellemző állandó), K_{HPLC} a kromatográfiás megoszlási hányados.

A $\log k'$ értékek meghatározását követően, a vékonyréteg-kromatográfiához hasonlóan kalibrációs egyenes felhasználásával számoljuk ki a $\log P$ értékeket:

$$\log P = a \log k' + b$$

Ezekkel az eljárásokkal lehetőség nyílik a különböző geometriai izomerek elválasztására is, és ezáltal a lipofilitásuk szerinti megkülönböztetésre is.

A molekulák lipofilitásának meghatározásakor szilika felülethez kapcsolt alkil-láncokat tartalmazó fordított fázisú oszlopot használnak, amely a molekula és a felület között kialakuló hidrofób kölcsönhatásokat veszi figyelembe. Specifikus kolonnák alkalmazásával, mint az ún. IAM („Immobilized Artificial Membrane”) oszlop használatával a foszfolipofilitás határozható meg. Az IAM oszlop specifitását a szilika felülethez aminopropil-csoportokon keresztül kapcsolódó egyláncú foszfatidil-kolin alkotja. Az IAM oszlopnál hidrofób, hidrogénhidás és ion-pár kölcsönhatás is létrejön.

X.4.3 Predikciós módszerek

A megoszlási hányados kísérletes módon történő meghatározására alkalmas eljárások mellett különböző, számítógépes becslésen alapuló predikciós módszerek is léteznek. A kapott lipofilitás érték az ún. *kalkulált partíciós koefficiens*.

Számítására számos eljárás létezik, a legelterjedtebb, legtöbb számítógépes program által használt módszer a fragmens alapú számítás, ahol az alpmolekula és a hozzá kapcsolódó fragmensek, szubsztituensek száma, pozíciója határozza meg a kalkulált $\log P$ értéket.

A módszerek jelentősége elsősorban a gyógyszerkutatás korai fázisában, a még nem szintetizált molekulák várható paramétereinek előrejelzésében áll. A predikciós módszerek pontossága messze elmarad a kísérletes eljárások pontosságától. A számítógépes módszerek alapvető hátránya, hogy általuk az ionos vegyületek, illetve a geometriai izomerek lipofilitása nem határozható meg, hiszen a töltésből, illetve térbeli elhelyezkedésből adódó lipofilitásbeli különbségek nem befolyásolják a számítást. A módszerek megbízhatóságát és alkalmazhatóságát is a mért értékekkel való összehasonlítás adhatja meg.

X.5 Irodalom

- Avdeef A.: pH-metric $\log P$. II: Refinement of partition coefficients and ionization constants of multiprotic substances. *J. Pharm. Sci.* 82, 183-190. (1993)
- Avdeef A.: Physicochemical Profiling (Solubility, Permeability and Charge State). *Current Topics in Medicinal Chemistry* 1, 277-351. (2001)
- Lambert W.J.: Modeling oil-water partitioning and membrane permeation using reversed-phase chromatography. *J. Chrom. A* 656, 469-484. (1993)
- Leo A, Hansch C., Elkins D.: Partition coefficients and their uses. *Chemical Reviews* 71, 525-616. (1971)
- Takácsné Novák K.: A megoszlási hányados GLP szerinti meghatározásának praktikus szempontjai. *Acta Pharm. Hung.* 67, 179-191. (1997)
- Takácsné Novák K., Völgyi G.: A fizikai-kémiai jellemzés helye és módszerei a gyógyszerkutatásban. *Magyar Kémiai Folyóirat* 111, 169-176. (2005)
- Takács-Novák K., Avdeef A.: Interlaboratory study of $\log P$ determination by shake-flask and potentiometric methods. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 14, 1405-1413. (1996)
- Testa B., Crivori P., Reist M., Carrupt P.A.: The influence of lipophilicity on the pharmacokinetic behavior of drugs: concepts and examples. *Perspectives in Drug Discovery and Design.* 19, 179-211. (2000)
- Völgyi G.: Módszerek fejlesztése vízben rosszul oldódó vegyületek fizikai-kémiai paramétereinek (pK_a , $\log P$) meghatározására a gyógyszerkutatás korai fázisában. Doktori értekezés. Semmelweis Egyetem, Gyógyszerészi Kémiai Intézet (2007)
- Zhou L., Wang J.: Physico-chemical characterization in drug discovery. *Trends in Bio/Pharmaceutical Industry*, 99, 12-18 (2009).

XI A gyógyszervegyületek fizikai-kémiai jellemzői.

Permeabilitás.

A hatóanyagok terápiás hatásukat csak akkor képesek kifejteni, ha beadás után a gyógyszerkészítményből szabadabbá válva és oldott állapotba kerülve felszívódnak. A felszívódás mértékét és sebességét két fő tényező befolyásolja: a hatóanyag oldódási sebessége és a biológiai membránokon való áthaladásának sebessége. Egy molekula membránon keresztül való áthatolóképességét a *permeabilitás* fejezi ki.

Az ADME tulajdonságokat jellemző paraméterek közül a permeabilitás egyre nagyobb hangsúlyt kap, hiszen jelenleg a legjobb prediktora a gyomor-bél traktusból való felszívódásnak és ezáltal az orális biohasznosíthatóságnak. Már a kutatások korai fázisában el kell dönteni az adott gyógyszerjelölt komponensről, hogy orálisan adagolható-e, azaz képes-e felszívódni a bélen keresztül?

XI.1 A permeabilitás fogalma

A hatóanyag molekulák sejtmembránon való áthatolóképességének mérőszáma a permeabilitás. Kinetikai paraméter, jelölésére P_0 (intrinsic, vagyis a semleges részecskére vonatkozó), illetve P_e (effektív, vagyis az ionizált részecskére vonatkozó) használatos. Mértékegysége cm/sec.

XI.2 A biológiai membránok és transzportfolyamatok

XI.2.1 A biológiai membránok felépítése

A biológiai membránok építőkövei a foszfolipidek, azaz a foszfogliceridek és a szfingomielin. A foszfogliceridek közül a foszfatidil-kolin, a foszfatidil-etanolamin, a foszfatidil-szerin és a foszfatidil-inozitol a legjelentősebbek (lásd I. fejezet). Közös jellemzőjük, hogy bennük a glicerin első és második szénatomját hosszú szénláncú zsírsavak észterésítik, a harmadik szénatomhoz foszforsavon keresztül valamilyen alkohol kapcsolódik. Az egyes szénatomon általában telített, a második szénatomon telítetlen zsírsav található.

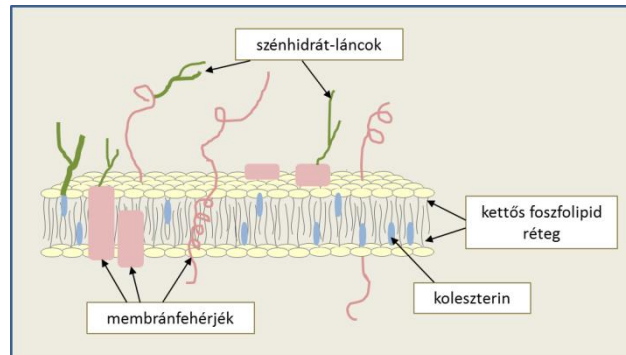
A foszfolipidek töltéssel rendelkező poláris fejrészük és apoláris zsírsavláncaik orientálódásával a vizes közegben lipid kettősréteget alkotnak. A poláros csoportok a vizes közeg, vagyis az extracelluláris és az intracelluláris tér felé, míg a hidrofób oldalláncok egymás felé fordulnak. A töltéssel rendelkező részek a vízzel poláros, az oldalláncok pedig egymással hidrofób kölcsönhatásba lépnek, aminek következtében a szerkezet nagyon stabil. Így alakul ki a lipid kettősréteg, amely jellemzően 6-10 nm vastagságú (I-9. ábra).

A lipid-kettősréteg felépítésében fontos szerepet játszó alkotóelem a koleszterin is, ami másodlagos kötésekkel kapcsolódik a lipidekhez és hozzájárul a membrán mechanikai stabilitásának kialakításához. A membránban jelen levő fehérjék egyrészt a szerkezet stabilizálásában, ugyanakkor a membránon keresztül történő transzportfolyamatokban is részt vesznek, továbbá receptor szerepet is betölthetnek. A perifériás fehérjék a membrán külső vagy belső felszínéhez kapcsolódnak, és jellemzően a sejten belüli jelátvitelben töltenek be szerepet.

A foszfolipidek zsírsav oldalláncai egymáshoz képest elmozdulhatnak, a foszfolipid molekulák a saját tengelyük mentén rotálhatnak és a membrán síkjában

elmozdulhatnak. Ezek a mozgások a membránnak nagyfokú dinamizmust adnak, megteremtik a membránfehérjék mozgásához is a lehetőséget és ez együttesen a membránok alapvető tulajdonságát, a *fluiditást* biztosítja (XI-1. ábra).

XI-1. ábra: A biológiai membránok felépítése.



XI.2.2 Penetrációs mechanizmusok

A sejtmembránon keresztüli penetráció többféle mechanizmus szerint mehet végbe. Az ún. *paracelluláris* diffúziós út elsősorban kisméretű és hidrofil karakterű molekulák előtt áll nyitva, a szoros sejtkapcsolatokon („tight-junction”) keresztül valósul meg. A maximális molekulaméret, ahol még a paracelluláris diffúziós folyamattal számolni lehet, az közelítőleg 250 Da.

A *transzcelluláris* transzportfolyamatok membránon keresztül, vagy membránpórusokon át játszódnak le, melyek két fő csoportba sorolhatók.

1. Passzív transzport folyamatok

Passzív transzport folyamatokról beszélhetünk olyan esetekben, amikor sejtes pumpa mechanizmus nem játszik szerepet, a hajtóerő pedig a koncentrációgrádiens. A folyamat gyakorlatilag plusz energiabefektetést nem igényel.

A *passzív diffúzió* során az anyag a koncentrációgrádiens irányában szabadon diffundál a membránon keresztül, a nem disszociált molekulák koncentráció kiegyenlítődéiséig tart. Mértékét jelentősen befolyásolja az anyag lipid-víz megoszlási hányadosa. A diffúziót befolyásoló további faktorok a sejtmembrán környezetében lévő koncentrációgrádiens, a membrán vastagsága és területének nagysága. A diffúzió sebességéről *Fick I. törvénye* ad kvantitatív felvilágosítást:

$$\frac{dc}{dt} = \Delta c \frac{AD}{l}$$

ahol Δc a koncentráció különbség (mol/m^3), D a diffúziós állandó (m^2/s), A a membrán felülete (m^2) és l a membrán vastagsága (m). Diffúzió révén csak a nem ionizált molekulák jutnak át a membránon.

A *facilitált diffúzió* hordozó molekulát igényel, vagyis karrier-mediált folyamat, specifikus és telíthető, energiát azonban nem igényel, hiszen hajtóereje a koncentrációgrádiens. A transzporterek megkötik a transzportálandó anyagot, amely felismerés sztereokémiailag is specifikus, a transzport kompetitív és nem kompetitív módon egyaránt gátolható. A transzport legfeljebb addig tart, amíg egyensúly nem alakul ki a

membrán két oldalán. A transzporterek integráns membránfehérjék, általában több transzmembrán régióval, amelyben hidrophil aminosav-oldalláncok hozzák létre azt a csatornát, amelyen az anyagok áthaladhatnak.

A *filtráció* (intracelluláris) során a molekulák transzportja a membránpórusokon és az intracelluláris réseken keresztül folyik. Főleg kis molekulatömegű anyagok – organikus, inorganikus elektrolitok az oldószerral együtt – képesek átjutni, de néha nagyobb molekulatömegű vegyületek (bizonyos fehérjék) is filtrálódhatnak. Energiaforrása az ozmotikus gradiens. Mértékét a koncentrációgradiens határozza meg.

Potenciálfüggő ioncsatornán keresztül is történik áramlás, amely során két membránfehérje biztosítja a membránon történő átjutást. Hajtóereje a sejt belseje, illetve külső része közötti potenciálkülönbség.

2. Aktív transzport folyamatok

Az *aktív transzport* olyan karrier-mechanizmus, amely során hordozó, többnyire enzim jellegű fehérje molekulák végzik az adott molekula membrán egyik oldaláról másikra történő szállítását. Az anyagok a koncentráció- vagy az elektrokémiai gradienssel ellentétes irányban mozognak. Az aktív transzport egyirányú, specifikus, telíthető és energiát igénylő folyamat. A legtöbb ilyen transzport közvetlenül kapcsolt az ATP terminális foszfátjának hidrolíziséhez, ami a transzport energiaigényét fedezi. Ilyenkor beszélünk ún. *elsődleges aktív transzport*ról. Vannak olyan transzporterek, amelyekben az ATP hidrolízise nem közvetlenül része a folyamatnak, hanem az aktív transzport energiaigényét az fedezi, hogy egyidejűleg egy másik anyag elektrokémiai gradiensnek megfelelő irányban transzportálódik. A legtöbb ilyen transzporter a sejtek plazmamembránjában a nátriumion-gradienst használja fel és Na^+ egyidejű transzportja történik a sejtbe. Mivel a Na^+ -gradiens fenntartása ATP energiájának a terhére történik, az ilyen transzportokat *másodlagos aktív transzport*nak nevezzük. A szervezetben megtalálható cukrok, aminosavak, nukleozidok, valamint számos neurotranszmitter, és azok szerkezetéhez hasonló vegyületek transzportjában van szerepe.

Nagyobb molekulaméretű vegyületek egy lehetséges transzportfolyamata az *endocitózis*, melynek során a lipid kettősrétegből vezikulák fűződnek le, melyek belsejében a vegyület átjuthat az ellentétes oldalra. A molekulák vezikuláris felszabadulása, vagyis sejtből való kiürülése *exocitózis* során következik be.

XI.3 A permeabilitás jelentősége

A sejtmembránon keresztül végbemenő transzport több tulajdonság együttes hatásának következménye. Ezek közül egyik igen fontos a sejtmembrán lipid-fehérje és lipid-koleszterin aránya, mely arány változtatásával a különböző szövetek modellezhetők.

Passzív transzport szempontjából a vegyületek egyik legfontosabb fizikai-kémiai paramétere a lipofilitás, hiszen a transzportfolyamatok során a zsírsavlánccal kialakuló lipofil-lipofil kölcsönhatás nagyon jelentős. Ugyanakkor figyelembe kell venni a molekulák sav-bázis tulajdonságait is, mely az ionos kölcsönhatás kialakulása miatt is lényeges. Ezeken kívül a vegyületek mérete, alakja, térszerkezete szintén befolyásolja a permeabilitást.

A permeabilitás meghatározása tehát ma már alapvető jelentőségű, hiszen a legjobb prediktora a gyomor-bél traktusból való felszívódásnak, ezáltal az orális biohasznosíthatóságnak.

Az oldhatóságon, valamint a permeabilitáson alapszik az ún. BCS („Biopharmaceutics Classification System”) szerinti osztályozási rendszer. A gyógyszerjelölt vegyületek jó/rossz oldhatóságán és jó/rossz permeabilitásán alapuló besorolás szerint négy csoportot lehet elkülöníteni, amely tehát a felszívódás mértékének megítélésére alkalmas (XI-2. ábra).

XI-2. ábra: A BCS osztályozási rendszer.

		OLDHATÓSÁG	
		nagy oldhatóság	kis oldhatóság
PERMEABILITÁS	nagy permeabilitás	I. OSZTÁLY Pl.: metoprolol, propranolol, diltiazem, verapamil stb. - amfifil molekulák - a kioldódás sebessége határozza meg a felszívódást	II. OSZTÁLY Pl.: nifedipin, naproxen, diklofenak, karbamazepin, ketokonazol stb. - lipofil molekulák - oldatóság határozza meg a felszívódást
	kis permeabilitás	III. OSZTÁLY Pl.: famotidin, cimetidin, aciklovir, vankomicin stb. - hidrofil molekulák - permeabilitás határozza meg a felszívódás mértékét	IV. OSZTÁLY Pl.: furosemid, tobramicin, cefuroxim, terfenadin, ciklosporin stb.

XI.4 A permeabilitás meghatározásának kísérletes módszerei

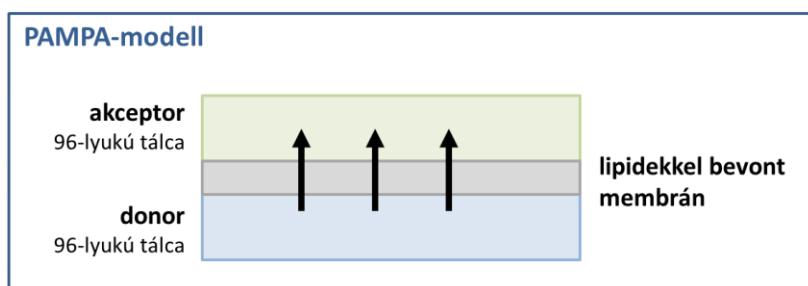
A permeabilitás mérésére az *in vivo* vizsgálat lenne a legcélravezetőbb, de a kutatás korai fázisában erre nincs lehetőség. Az *in vitro* körülmények közötti meghatározásra kétféle kísérletes rendszer ismert, a *sejtes* és *nem-sejtes* elrendezésű modellek.

XI.4.1 A PAMPA-modell

A PAMPA („Paralell Artificial Membrane Permeability Assay”) technika mesterséges membránokat (foszfolipideket) használ a penetráció vizsgálatára.

Egy ún. „szendvics” kamra alsó (donor) és felső (akceptor) fázisát 96 lyukú mérőtálcák képezik, amelyeket egy mesterséges membrán (125 µm vastagságú) választ el egymástól (XI-3. ábra).

XI-3. ábra: A PAMPA-modell sematikus vázlatja.



Az alkalmazott membránok típusa különböző lehet, például dioleil-(foszfatidil-kolin) (DOPC) vagy foszfatidil-etanolamin (PE) stb. valamilyen inert szerves oldószerben (pl. n-dodekánban) felvett oldata, amelyet a mikrofilter lemezen rögzítenek. A modellezni kívánt apikális és bazolaterális oldalnak megfelelő pH-jú pufferolt közeget helyeznek a donor és akceptor oldalakra. Például a vékonybélben

keresztüli felszívódás modellezéséhez pH 6,5 donor – pH 7,4 akceptor összeállítás alkalmazható. A mérendő vegyületet DMSO-törzsoldat segítségével adják a rendszerhez. A két lemezt egymásba illesztik és a rendszert inkubálják. Az inkubálás során a vizsgált vegyület a koncentrációgradiens hatására passzív diffúzióval átjut a donor mérőtálcából a fogadó oldalra. A donor és akceptor oldalon kialakult koncentrációkat megfelelő analitikai módszerekkel (UV „plate-reader” vagy LC/MS) mérik. Az eredmények alapján jellemezni lehet a vizsgált vegyület penetrációs képességét és a penetráció sebességét. Az alkalmazáskor megválasztható – a cél érdekében - az inkubálás hőmérséklete és ideje, a donor és akceptor közegek kémhatása és a membrán összetétele is.

A mérések alapján az egyes vegyületeket az effektív permeabilitás (P_e) értékkel jellemzik:

$$P_e = \frac{-2,303}{A(t-t_s)} \times \left(\frac{V_A V_D}{V_A + V_D} \right) \times \log \left(1 - \left(\frac{V_A + V_D}{(1-R)V_D} \right) \times \left(\frac{c_D^t}{c_D^0} \right) \right)$$

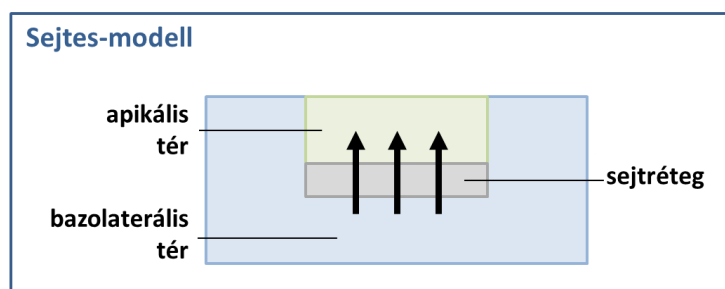
ahol, A a szűrő felülete (cm^2), t az inkubációs idő (s), t_s a membrán szempontjából kvázi stacionárius állapot eléréséhez szükséges idő (s), V_A az akceptor lyukban levő oldat térfogata (cm^3), V_D a donor lyukban levő oldat térfogata (cm^3), R a lipid-membránban adszorbeálódott hatóanyag hányad (retenciós faktor), C_D^t a donor oldalon mérhető koncentráció t idő elteltével (mol/cm^3) és C_D^0 a donor oldalon mérhető koncentráció a $t=0$ időpillanatban (mol/cm^3).

A PAMPA-rendszereken végzett mérések jól reprodukálhatók, megbízhatóak, viszonylag alacsony költségűek és nagy kapacitásúak, azaz robusztusak. Automatizálhatók, HT módon is kivitelezhetők. A többféle kísérleti paraméter (lipid összetétel, inkubációs idő, pH, koszolvens stb.) széles tartományban való változtathatósága nagy előnyt jelent. A nyert permeabilitási adatok azonban csak a passzív diffúzió alapuló transzportra adnak információt.

XI.4.2 Sejtes modellek

A sejtes modellek általános jellemzői közé tartozik, hogy lehetőséget biztosítanak a passzív diffúzió mellett az aktív transzport, az efflux és a metabolikus folyamatok tanulmányozására egyaránt. A forgalomban lévő készülékek segítségével a vizsgált vegyületek permeabilitását mérhetjük általunk kiválasztott poliészter membránon tenyésztett sejtrétegen akár bazolaterális-apikális, akár apikális-bazolaterális irányban (XI-4. ábra).

XI-4. ábra: A sejtes-modell sematikus vázlata.



A *Caco-2* heterogén humán epiteliális kolorektális adenokarcinóma sejtek alkalmazásával mért permeabilitási adat, a passzív diffúzió mellett, az aktív transzportmechanizmusokat is figyelembe veszi.

Az MDCK („Madin-Darby Canine Kidney”, *Madin-Darby kutya-vese epitélium*) sejtvonalt is gyakran alkalmazott modell. Kevesebb transzportert tartalmaz, így főként passzív diffúziót modellez. Az MDR1-MDKC (P-gp-t kódoló génnel transzfektált MDKC) sejtvonalt érdekessége, hogy az MDR1 génnel történő transzfekció következtében a sejtvonaltban fokozott mértékben van jelen az efflux folyamatokban kitüntetett szerephez jutó P-glikoprotein. Ezáltal lehetőség nyílik az efflux mechanizmusok tanulmányozására is.

Sejtes modellek segítségével az ún. látszólagos permeabilitási állandó (P_{app}) meghatározása lehetséges:

$$P_{app} = \frac{dC_r}{dt} \times \frac{V_r}{AC_0}$$

ahol, dC_r/dt a hatóanyag koncentrációjának időbeli változása a bazolaterális oldalon ($\text{mol}/\text{dm}^3\text{s}$), V_r a bazolaterális oldat térfogata (cm^3), A a sejt kultúra felülete (cm^2) és C_0 az apikális oldalon mérhető kiindulási farmakon koncentráció (mol/cm^3).

A sejtes modellek alkalmazása igen időigényes és sok előkészületet igényel. A sejtek folyamatos figyelmet igényelnek. A kísérletek költségvonzata is nagy, továbbá a kísérleti paraméterek vizsgálati tartománya (pl. a rendszer pH-ja csak szűk tartományban változtatható) korlátozott. Mindemellett nagy előnyt jelent, hogy a passzív és aktív transzport folyamatokról együttesen ad információt, valamint a transz- és paracelluláris transzport egyaránt mérhető vele. A sejtes modelleknél is kidolgoztak már nagykapacitású mérési lehetőségeket.

XI.5 Irodalom

Camenisch G. et al.: Shapes of membrane permeability-lipophilicity curves: Extension of theoretical models with an aqueous pore pathway. *Eur J Pharm Sci* 6, 321-329. (1998)

Avdeef A.: Physicochemical Profiling (Solubility, Permeability and Charge State). *Current Topics in Medicinal Chemistry* 1, 277-351. (2001)

Ádám V., Dux L., Faragó A., Fésüs L., Machovich R., Mandl J., Sümegi B.: Orvosi biokémia. Medicina Kiadó, Budapest (2001)

Takácsné Novák K., Völgyi G.: A fizikai-kémiai jellemzés helye és módszerei a gyógyszerkutatásban. *Magyar Kémiai Folyóirat* 111, 169-176. (2005)

Carrara S. et al.: Evaluation of *in vitro* brain penetration: Optimized PAMPA and MDCKII-MDR1 assay comparison, *Int. J. Pharm.* 10, 345(1-2):125-33 (2007)

Huszár M.: Az optimális lipo- és foszfolipofilitási tartomány meghatározása különböző potenciális antitumor és NOX inhibitor sajátságokkal bíró molekulacsaldak esetén. Doktori értekezés. Semmelweis Egyetem (2010)

A gyógyszerkutatás kémiája. Szerk. Keserű Gy. M. Akadémiai Kiadó, Budapest (2011)

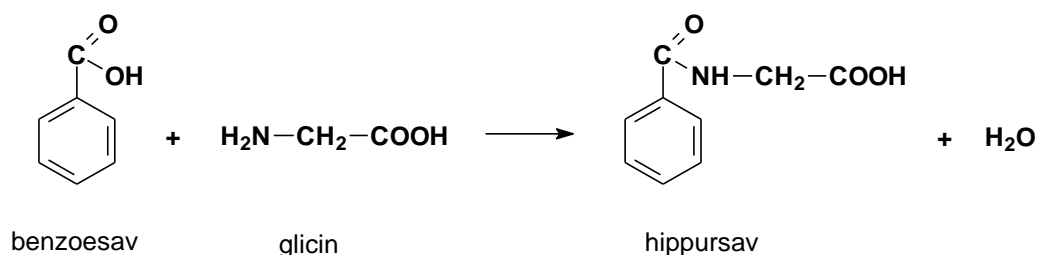
Dávid B.: Új szövetspecifikus *in vitro* permeabilitási modell kidolgozása gyógyszerhatóanyagok eloszlásának előrejelzésére. Tudományos diákköri dolgozat. Budapesti Műszaki és Gazdaságtudományi Egyetem. Szerves Kémia és Technológia Tanszék (2014)

XII Metabolizmus

A szervezetbe kerülő gyógyszerek és egyéb testidegen anyagok (ún. xenobiotikumok) nagy része a szervezetben kémiai átalakul. Az átalakult vegyületek fizikai-kémiai tulajdonságai és biológiai hatásai különböznek az anyavegyületétől. Ezért a vegyületeke metabolikus átalakulásainak ismerete elengedhetetlen része gyógyszerek (testidegen anyagok) biológiai hatása molekuláris szintű ismeretének.

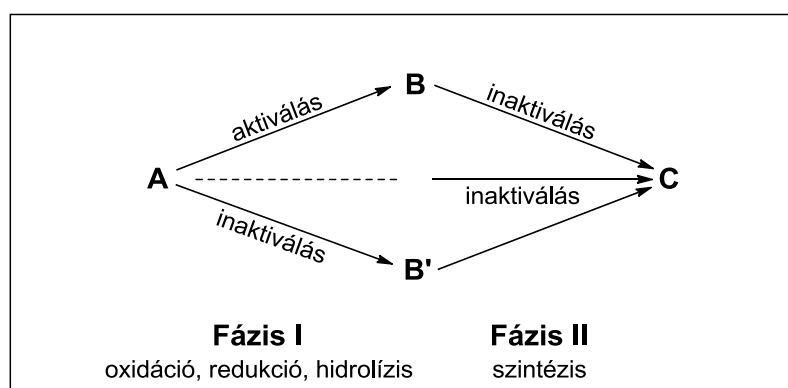
A gyógyszervegyületek metabolizmusának vizsgálata a 19. század első feléig nyúlik vissza. Történetileg a benzoésav glicinnel képzett konjugátuma, a *hippursav* volt az elsőként izolált metabolitok egyike, melynek szerkezetét *V. Dessaignes* 1845-ben írta le (XII-1. ábra).

XII-1. ábra: A benzoésav hippursavvá történő átalakulásának reakciója.



A területen folytatott munkák első összefoglalójának megírása *R.T. Williams* nevéhez fűződik, aki 1947-ben megjelent „Detoxification Mechanisms” című könyvében természetes vegyületek és szintetikus rokon származékainak detoxikációjában szerepet játszó folyamatokat foglalta össze. A szerző a könyv 1957-ben megjelent második kiadásában a testidegen anyagok metabolikus transzformációinak egy általános sémáját írta le, melyben a testidegen anyagok metabolikus átalakulásait „Fázis I” (oxidáció, redukció, hidrolízis) és „Fázis II” (szintézis) csoportokra osztotta (XII-2. ábra).

XII-2. ábra: A xenobiotikumok átalakulásának két lehetséges útja



A gyógyszerek biotranszformációjának vizsgálata az 1950-es évektől a farmakológiai, a gyógyszerészi-kémiai, valamint a toxikológiai kutatások középpontjában áll. A gyógyszerek és más testidegen anyagok Fázis I és Fázis II átalakulásainak vizsgálata nagyban hozzájárult ahhoz, hogy napjainkban a korábbi vegyületekhez viszonyítva jóval kevesebb mellékhatással bíró származékokat sikerül a

gyógyászatba bevezetni. Az egyes biotranszformációs utak molekuláris szintű vizsgálata alapján ugyanis megállapítható volt, hogy az eredendően detoxikáló (a testidegen anyagoknak a szervezetből történő kiürülését elősegítő) folyamatok során reaktív származékok is keletkezhetnek, melyek toxikus hatások kialakulását eredményezhetik.

A testidegen anyagok metabolikus átalakulásait kémiai/biokémiai szempontból a következőképpen csoportosíthatjuk:

- a.) Nem enzim-katalizált reakciók
- b.) Enzim-katalizált reakciók
 - 2.1. Mikroszómális enzimek által katalizált reakciók
 - 2.2. Nem-mikroszómális enzimek által katalizált reakciók

A metabolikus transzformációkat katalizáló enzimek mikroszómális és nem-mikroszómális csoportokba történő besorolása az elroncsolt sejtek (sejthomogenizátumok) ultracentrifugálás során keletkező frakcióinak megnevezése alapján történik. A mikroszóma frakcióban megtalálható enzimek membránhoz kötve, még a mikroszóma frakció felülúszójában lévő enzimek a citoszolban és egyéb sejtfoliadékokban találhatóak az intakt sejtekben.

XII.1 Fázis I – vagy funkcionalizációs reakciók

A Fázis I metabolikus átalakulások három nagy csoportja - *oxidációs*, *redukciós* és *hidrolitikus* reakciók - közül kétségtelenül az oxidációs folyamatok bírnak a legnagyobb jelentőséggel. A folyamatok természetéből adódóan azonban mind a redukciós, mind a hidrolitikus reakciók fontos szerepet játszhatnak a gyógyszer hatóanyagok aktiválásában és a szervezetből történő kiürülésüket elősegítő metabolitok képződésében. A Fázis I reakciókat katalizáló enzimeket az intakt sejten belüli lokalizációjuk szempontjából membránhoz kötött és nem membránhoz kötött csoportokba sorolhatjuk, melyek a sejthomogenizátumok centrifugálásával nyerhető ún. mikroszómális, illetve nem-mikroszómális frakciójában találhatóak (XII.1. táblázat).

XII-1 táblázat: A Fázis I. metabolikus átalakulások legfontosabb reakcióútjai és az azokat katalizáló enzimek fő szubcelluláris lokalizációi.

Reakcióút	Enzim vagy reakció	Lokalizáció ^a
Oxidáció	Citokróm P450	mikroszóma, mitokondrium
	Flavin-monooxigenáz	mikroszóma
	Prostaglandin-H szintetáz	mikroszóma
	Monoamin-oxidáz	mitokondrium
	Aldehyd-dehidrogenáz	mitokondrium, citoszol
	Alkohol-dehidrogenáz	citoszol
	Xantin-oxidáz	citoszol
Redukció	Azo-reduktáz	bélflóra, mikroszóma, citoszol
	Nitro-reduktáz	bélflóra, mikroszóma, citoszol
	Karbonil-reduktáz	citoszol

Reakcióút	Enzim vagy reakció	Lokalizáció ^a
	Kinon-reduktáz	citoszol
Hidrolízis	Észteráz	mikroszóma, citoszol, lizoszóma
	Peptidáz	lizoszóma
	Epoxid-hidroláz	mikroszóma, citoszol

^aMagyarázat: a) A mikroszóma membránhoz kötött enzimaktivitást jelent, ahol a membrán jelentheti a sejtmembránt, vagy sejten belüli membránt; b) A citoszol a sejt citoszolban oldott enzimek aktivitását jelenti.

A következő két szakasz az oxidációs folyamatok szempontjából két legfontosabb enzimes család legfontosabb tulajdonságait mutatja be.

XII.1.1 Oxidációs reakciók

XII.1.1.1 A citokróm P450 enzimek

Mind a mikroszómális, mind a nem-mikroszómális frakcióban található oxidációs folyamatokat katalizáló enzimek közül a legnagyobb jelentőségűek az ún. „kevert funkciójú oxidázok” közé tartozó citokróm P450 (CYP450) enzimek. Egy részük csak meghatározott endogén anyagok (pl. szteroidok, zsírsavak, epesavak) transzformációjában vesz részt és fontos szerepet tölt be pl. a szteroidok bioszintézisében. Másik részük funkcióját tekintve jóval kevésbé szubsztrátspecifikus és a szervezetbe kerülő testidegen anyagok (xenobiotikumok) kémiai átalakulását katalizálja.

A CYP450 enzimek vastartalmú fehérjék, melyekben a vasion a hemoglobinban is megtalálható vas-protoporfirin IX (hem) komplexként kapcsolódik az enzim fehérjéhez. Minden citokróm P450 enzim egyetlen polipeptid láncból áll, amely egy hidrofób, elektrosztatikus és kovalens (koordinatív) kötással kapcsolódó vas-protoporfirin IX (hem) gyűrűt tartalmaz. Az enzim aktív helyén lévő protoporfirin-IX gyűrűben a vas hatos koordinációs számú. Az izoenzimek tömege 45000-60000 D között van.

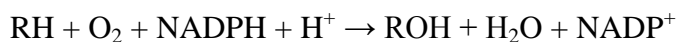
A CYP450 enzimek nevüket arról a kísérleti tapasztalatról kapták, hogy az enzimek központi vasionjának redukált (vas(II)) formája a dioxigén (O₂) kötődéssel analóg módon szénmonoxidot képes megkötni, és az így keletkező komplexek 450 nm körül erős fényelnyelő képességgel rendelkeznek.

A CYP450 enzimek több gén által kódolt enzimes család, melynek egyes képviselőit a fehérjerész hasonlósága alapján csoportosíthatjuk, illetve azonosíthatjuk. A nemzetközileg elfogadott megállapodás alapján a 40%-nál nagyobb homológiát mutató CYP enzimeket egy családba tartozónak tekintjük, és ezt a CYP rövidítés után egy arab számmal (pl. CYP1, CYP2, stb.) jelöljük. Az 55%-nál nagyobb homológiát mutató enzimek egy családon belül alcsaládokat képeznek, melyeket az egyes enzimek azonosítására használt jelölésben az arab számot követő latin betű (pl. CYP1A, CYP2C, CYP3A, stb.) jelez. Az egyes enzimek (individuális citokróm P450 gének) a latin betűt követő újabb arab szám feltüntetésével különböztethetők meg egymástól (pl. CYP1A2, CYP2A6, CYP2E1, stb.).

A citokróm P450 enzimek expressziója a legnagyobb a májban, de megtalálhatók többek között a tüdőben, a vékonybélben, a vesében, a bőrben, a placentában és az agyban is. A CYP 3A4 és 3A5 izoenzimek mennyisége az emberi máj

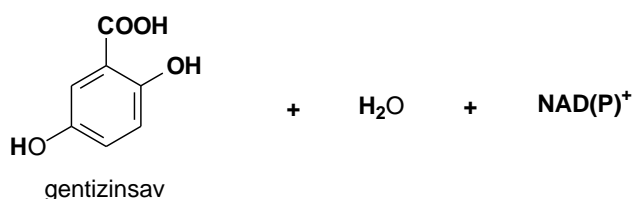
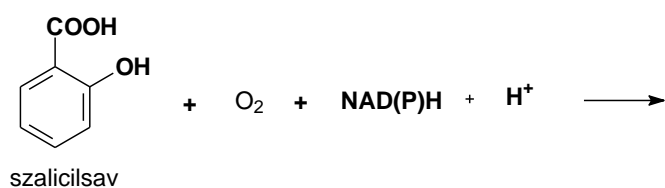
össz CYP450 tartalmának egyharmadát, míg a vékonybélben expresszáldó CYP450 enzimek mintegy kétharmadát teszik ki. A klinikailag jelentős gyógyszerek több mint egyharmadának biotranszformációjáért ez a két CYP450 izoforma felelős.

Az *endoplazmás retikulum* membránjában lévő P450 enzimek működéséhez szükséges elektront a NADPH, vagy a NADH szolgáltatja. A citokróm P450 enzim az elektrontranszportot létrehozó redukáló enzimekkel (NADPH-citokróm P450 reduktáz, NADH-citokromb₅-reduktáz) együtt *multienzim komplexet* alkot és a következő reakciót katalizálja:

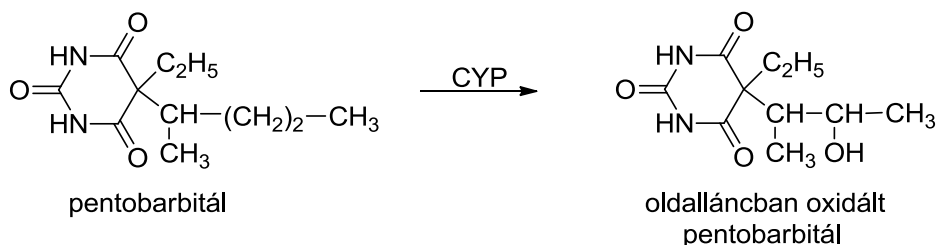


A CYP450 enzimek által katalizált reakciók legfontosabb *típusai* a következők:

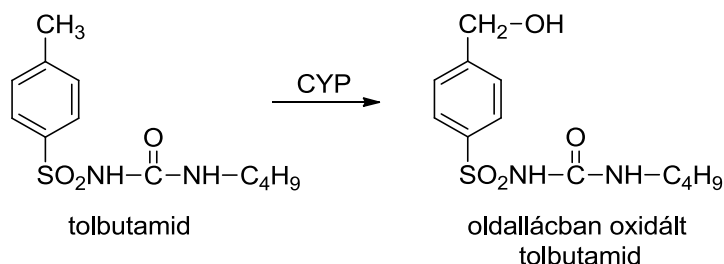
1. Aromás szénatomon történő hidroxiláció.



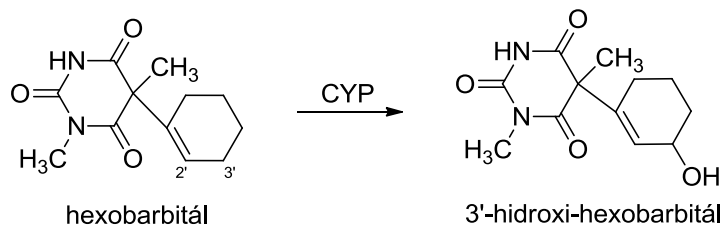
2. Alifás szénatomon történő hidroxiláció.



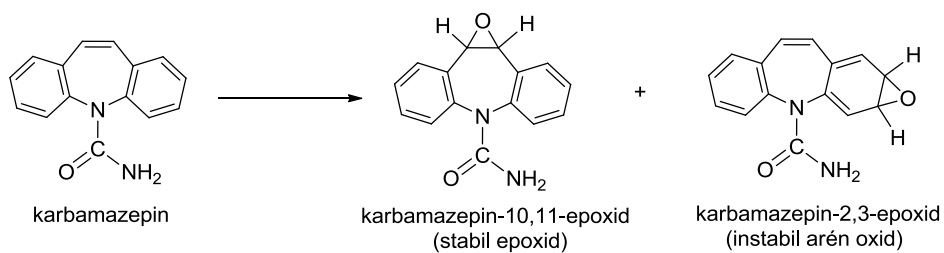
3. Benzil-szénatom oxidációja



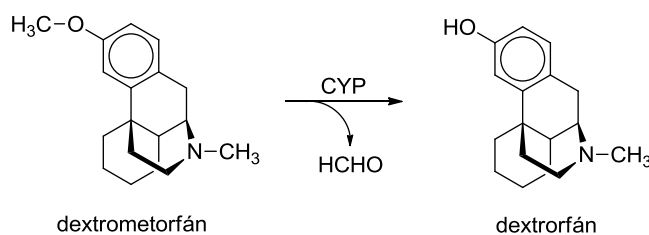
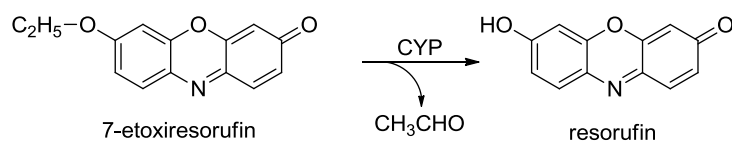
4. Allil szénatom oxidációja



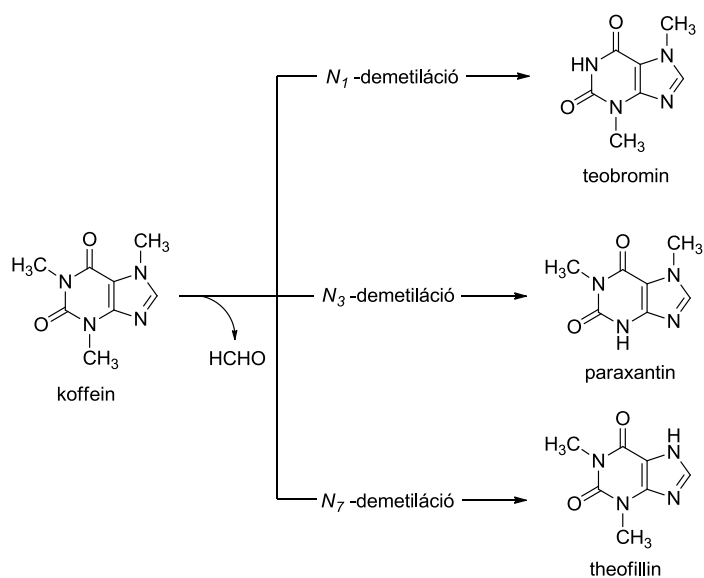
5. Szén-szén kettős kötésen történő epoxidáció.



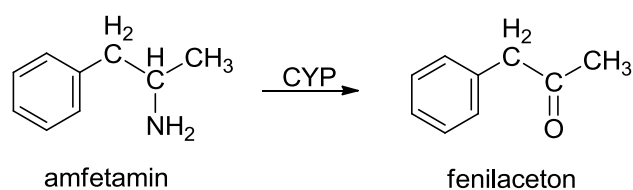
6. O-Dealkiláció



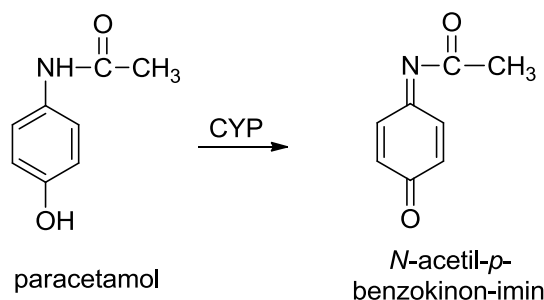
7. N-Dealkiláció



8. Oxidatív deamináció



9. Dehidrogénezés



XII.1.1.2 Flavin Monooxygenáz (FMO) enzimek

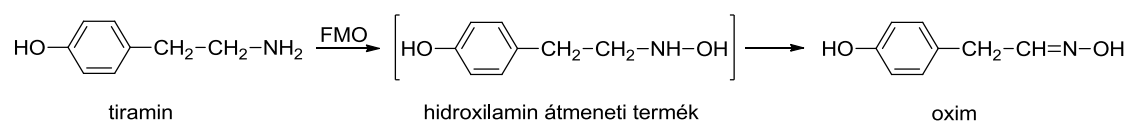
A fázis I oxidatív reakciók katalízisében fontosabb szerepet játszó további enzimek a *nem hem-tartalmú*, ugyancsak *mikroszómális* lokalizációjú, flavin-adenin-dinukleotid (FAD) tartalmú monooxygenáz (FMO) enzimek. A flavin-tartalmú monooxygenázok flavin-adenin-dinukleotid (FAD), dioxidigén (O_2) és NADPH kocszubsztrátok jelenlétében képesek katalizálni a testidegen vegyületek oxidatív metabolizmusát. Az FMO enzimek szerkezete, a katalizált reakciók mechanizmusa alapvetően különbözik a CYP450 enzimek által katalizált reakciókétól. Ennek eredményeképpen az FMO enzimek szubsztrátspecificitása jóval szélesebb, mint a CYP450 enzimeké. Ellentétben a CYP450 enzimekkel, melyek elsősorban szénatomon lejátszódó oxidációs folyamatokat katalizálnak, az FMO enzimek preferáltan a *nitrogén*-, *kén*-, a *foszfor*- és a *szelén*atomok oxidációs reakcióit katalizálják.

Az FMO enzimek által katalizált reakciók mechanizmusával kapcsolatosan megemlítendő, hogy – ellentétben a CYP enzimeknél tapasztaltakkal – a dioxidigén molekula aktiválása a flavin molekularész (FAD) részvételével *hidroperoxid* formában történik, a szubsztrát molekulának az aktív helyhez történő kötődését megelőzően.

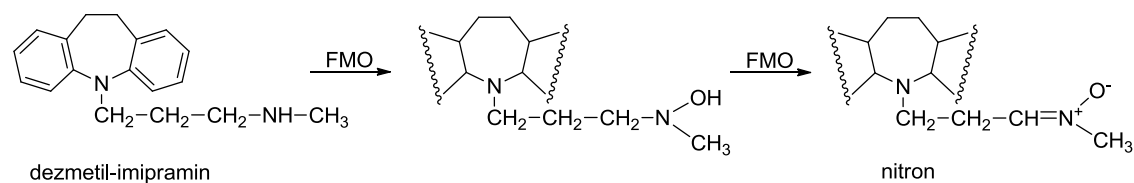
A nagyszámú CYP450 izoenzimekkel ellentétben, az FMO enzimek csupán öt funkcionális formáját írták le emlősökben. A felnőtt emberi májban az FMO3 forma a legnagyobb mennyiségben expresszálandó izoenzim. Az FMO3 forma mellett további két minor forma (FMO4 és FMO5) található, melyek csak nagyon kis mennyiségben voltak kimutathatók. A további, extrahepatikusan expresszálandó formák közül az FMO1 forma érdemel említést, melynek expressziója elsősorban a vesében és a vékonybél mukoza sejtjeiben kifejezett.

Az FMO enzimek által katalizált reakciók legfontosabb típusai a következők:

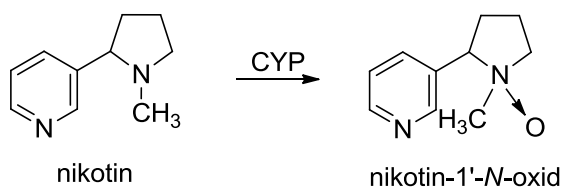
1. Alifás primer aminok oxidációja hidroxilamin-származékká



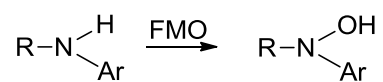
2. Alifás szekunder aminok oxidációja hidroxilaminokká, illetve nitronokká



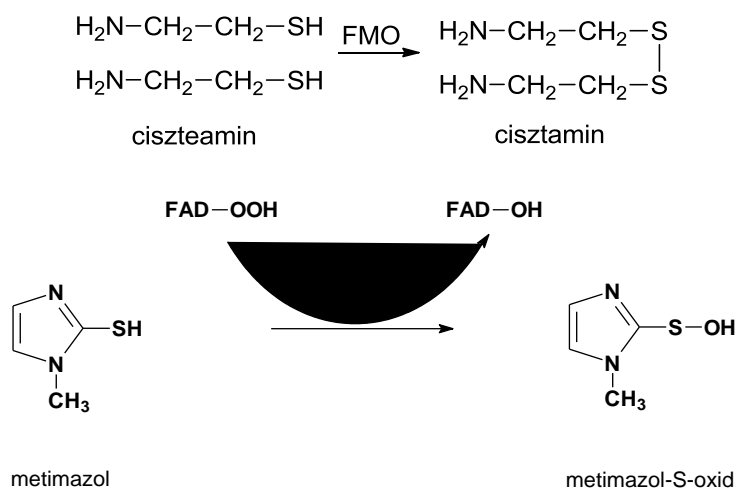
3. Alifás tercier aminok oxidációja N-oxid-származékokká



4. N-alkil-arilaminok oxidációja hidroxilaminokká



5. Kénvegyületek oxidációja



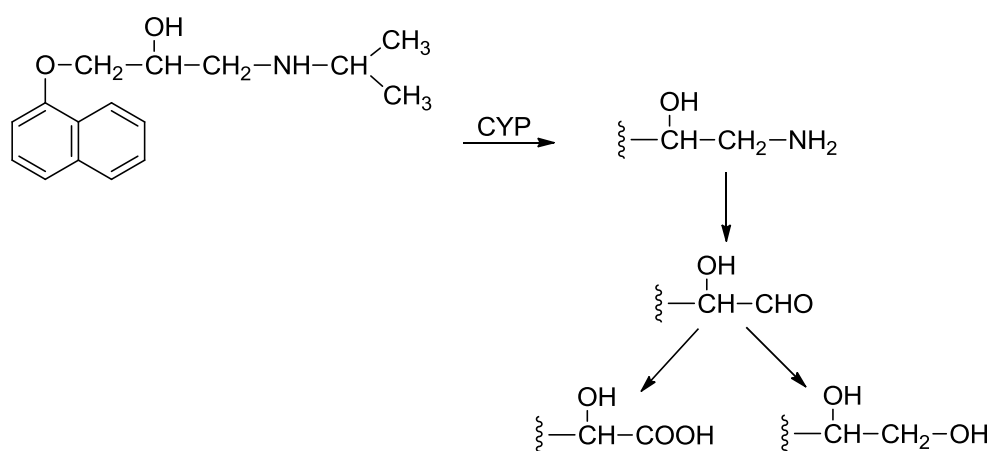
XII.1.1.3 Nem-mikroszómális oxidációk (válogatás)

XII.1.1.3.1. Monoamin-oxidáz (MAO) enzimek

A monoamin-oxidáz (MAO) enzimek – együtt a diamin-oxidáz (DAO) és poliamin-oxidáz (PAO) enzimekkel – a primer, szekunder és tercier aminok oxidatív deaminációját katalizálják. A testidegen aminovegyületek elsősorban a MAO enzimek szubsztrátjai.

A MAO enzimek megtalálhatók a májban, a vesében, a vékonybélben, az agyban és a vérlemezékben, a sejtekben a mitokondriumok külső membránjába beágyazódva. Emberben a MAO enzimek két formája (MAO-A és MAO-B) ismert. A MAO-A izoforma preferált szubsztrátja a *szerootonin*, a *norepinefrin*, valamint a *propranolol* dealkilált formája. Utóbbi metabolikus utat a XII-3. ábra mutatja be.

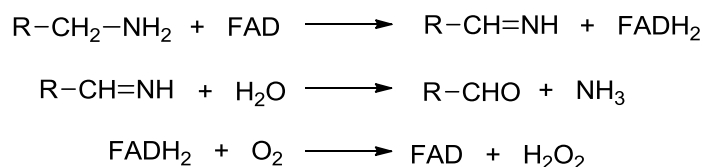
XII-3. ábra: A propranolol metabolizmusa.



A MAO-B izoforma preferált szubsztrátjait képviseli a nem fenolos béta-fenilalkilaminok és a benzilamin.

A MAO enzimek flavin (FAD) tartalmú enzimek, melyek katalitikus ciklusát a XII-4. ábra mutatja be.

XII-4. ábra: A monoamin-oxidáz enzimek működésének mechanizmusa.



A katalitikus ciklus első lépésében a szubsztrát imin-származékká oxidálódik, miközben a FAD FADH₂ származékká redukálódik. A következő lépésben – az imin hidrolízisének eredményeképpen – egy vízmolekula oxigénatomja épül be a szubsztrátba, miközben a szubsztrát aldehiddé oxidálódik és ammónia válik szabaddá. A katalitikus ciklus befejező lépése a FAD dioxigén (O₂) által történő regenerálása, miközben az hidrogén-peroxiddá redukálódik.

XII.2 Fázis II – vagy konjugációs reakciók

A Fázis II reakciók jellegzetessége, hogy az eredeti, vagy már korábbi metabolikus transzformáció(k) során módosult szerkezetű vegyületek (metabolitok) a szerkezet néhány kismolekulájával reagálva, a reagáló molekuláknál általában kevésbé lipofil (jobb vízoldékonyságú) és kevésbé toxikus konjugációs, addíciós vagy szubsztitúciós terméké alakulnak. A Fázis II átalakulások legfontosabb típusait, az átalakulásokat katalizáló enzimeket és az enzimek celluláris lokalizációját a XII-2. táblázat foglalja össze.

XII-2 táblázat: A Fázis II. metabolikus átalakulások legfontosabb reakcióútjai és az azokat katalizáló enzimek fő szubcelluláris lokalizációi.

Reakcióút	Enzim	Lokalizáció ^a
Glükuronid konjugáció	UDP-glükuronil-transzferáz	mikroszóma
Szulfát-konjugáció	Szulfotranszferáz	citoszol
Glutation-konjugáció	GSH S-transzferáz	citoszol, mikroszóma
Aminosav konjugáció	Acil-CoA: aminosav N-aciltranszferáz	citoszol, mitokondrium
Acetilezés	N-acetil-transzferáz	citoszol
Metiláció	Metiltranszferáz	citoszol, mikroszóma

^aMagyarázat: a) A mikroszóma membránhoz kötött enzimaktivitást jelent, ahol a membrán jelentheti a sejtmembránt, vagy sejten belüli membránt; b) A citoszol a sejt citoszolban oldott enzimek aktivitását jelenti.

A konjugációs reakciók a gyógyszerhatóanyagok metabolikus transzformációinak egyik legfontosabb csoportját képezik. A legtöbb gyógyszervegyület lipofil tulajdonságú, ezért jól felszívódik, de lassan ürül ki a szervezetből. A konjugációs reakciók lejátszódásának eredményeképpen általában ionos, hidrophil tulajdonságú molekulák kapcsolódnak a hatóanyag molekuláihoz (vagy Fázis I reakcióban módosított szerkezetű metabolitjaihoz), növelve azok vízoldékonyságát. A gyógyszervegyületek legnagyobb hányada konjugátumként, az epével és/vagy a vizelettel ürül ki a szervezetből.

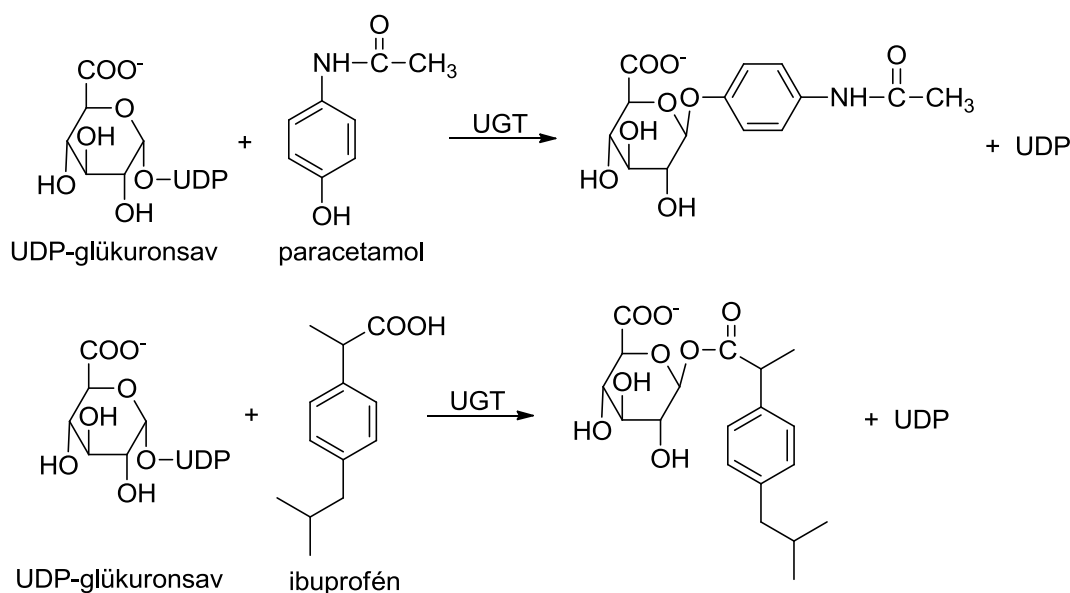
Hosszú időn át a két fő konjugációs reakció (a glükuronid-konjugáció és a szulfát-konjugáció) eredményeképpen képződő származékokat farmakológiailag inaktív/csökkent aktivitású metabolitoknak tartották. Ez az általánosított kép azonban idővel megváltozott. Így többek között felismerték, hogy emberben a morfin-6-glükuronid a morfinnál erősebb fájdalomcsillapító hatással rendelkezik, illetve, hogy a vérnyomáscsökkentő minoxidil aktív formája a gyógyszervegyület szulfátkonjugátuma. A legtöbb konjugátum a nem-konjugált formánál kevésbé toxikus származék. Ismeretesek azonban reaktív konjugált metabolitok is (pl. a diklofenák glükuronid-származéka), melyek toxikus hatások kialakulásában játszhatnak szerepet.

XII.2.1 Konjugáció glükuronsavval

A glükuronid-konjugáció a legfontosabb Fázis II reakciónak tekinthető. Jelentősége elsősorban a máj magas glükuronsav kínálatának, valamint a konjugáció szempontjából számításba vehető funkciós csoportokkal (pl. karboxil-, hidroxil-, merkpto- és aminocsoport) rendelkező gyógyszervegyületek/metabolitok nagy számának tulajdonítható.

A glükuronid-konjugáció molekuláris mechanizmusának megismerésében alapvető jelentőséggel bír *G. J. Dutton* és *I. D. E. Storey* munkássága, akik leírták az *uridin-difoszoglükuronsav* (UDP-glükuronsav) kofaktor és az *UDP-glükuronil-transzferáz* (UGT) enzimek szerepét a glükuronidálási folyamatokban. A glükuronid-konjugáció UDP-glükuronil-transzferáz (UGT) enzimek által katalizált reakciójának mechanizmusát, a paracetamol és az ibuprofén glükuronid-konjugátuma képződésének példáján, a XII-5. ábra mutatja be.

XII-5. ábra: A paracetamol és az ibuprofén glükuronsav-konjugátummá történő átalakulásának UDP-glükuronil-transzferáz (UGT) enzimek által katalizált reakciója.



A glükuronid-konjugátumok poláris, vízben jól oldódó metabolitok, melyek az epével, vagy a vizelettel ürülnek ki a szervezetből. Azt hogy a konjugátumok az epével, vagy a vizelettel ürülnek, alapvetően a glükuronsav molekularészhez kapcsolódó vegyület molekulatömege határozza meg.

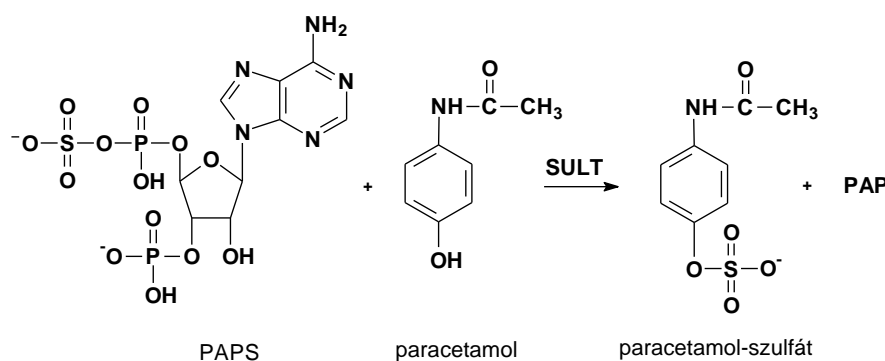
Ugyanakkor a bélfal epithel sejtek rendelkeznek a glükuronid-konjugátumokat bontó *béta-glükuronidáz* aktivitással is. A hidrolízis következtében a májban szintetizálódó, az epével a vékonybélbe kiválasztódó gyógyszer-konjugátumból szabaddá válik az eredeti gyógyszermolekula, így ismét lipoidoldékonyvá válik, és ismételen felszívódhat a bélhuzamból. A gyógyszereknek a máj és a bélhuzam között így kialakuló körforgalmát *enterohepatikus körforgásnak* nevezzük.

XII.2.2 Konjugáció szulfáttal

A szulfát-konjugáció (szulfonát-konjugáció) a második leggyakoribb átalakulás a Fázis II reakciók között. A szulfát-konjugáció igen fontos metabolikus átalakulási reakciója többek között a szteroid hormonoknak, az epesavaknak, a

pajzsmirigyhormonoknak, a catecholamin neurotranszmittereknek, valamint a fenol funkciós csoporttal rendelkező gyógyszervegyületeknek és egyéb testidegen anyagoknak. A szulfát-konjugátumok fiziológiai szempontból legfontosabb tulajdonsága azok megnövekedett vízdékonysága és kiválasztódása. Bár a metabolikus átalakulás meglehetősen régóta ismert, a reakció mechanizmusát, illetve abban a *szulfotranszferáz (SULT)* enzimek és a *3'-foszfoadenozin-5'-foszfoszulfát (PAPS)* kofaktor szerepét csak az 1950-es évektől kezdődően írták le. A szulfát-konjugáció általános mechanizmusát - a paracetamol szulfát-konjugátuma képződésének példáján - a XII-6. ábra mutatja be.

XII-6. ábra: A paracetamol szulfát-konjugátummá történő átalakulásának szulfotranszferáz (SULT) enzimek által katalizált reakciója.



A szulfátkonjugáció elsődlegesen a fenolos vegyületek metabolikus transzformációs reakciója. A PAPS illetve a szerves szulfát kínálat a reakciók sebességét meghatározó tényezők. A szulfát kínálat általában alacsony, ezért az könnyen kimeríthető. A gyógyszervegyület növekvő dóziséval a szulfát-konjugáció dominanciája csökken.

A bélfal epithel sejtek szulfotranszferáz aktivitása a *per os* alkalmazott fenolos gyógyszervegyületek ún. „first pass” metabolizmusát, míg az epithel sejtek *szulfatáz* enzimaktivitása az epével a vékonybélbe kiválasztódó szulfátkonjugátumok *enterohepatikus körforgását* okozza.

XII.2.3 Konjugáció aminosavakkal

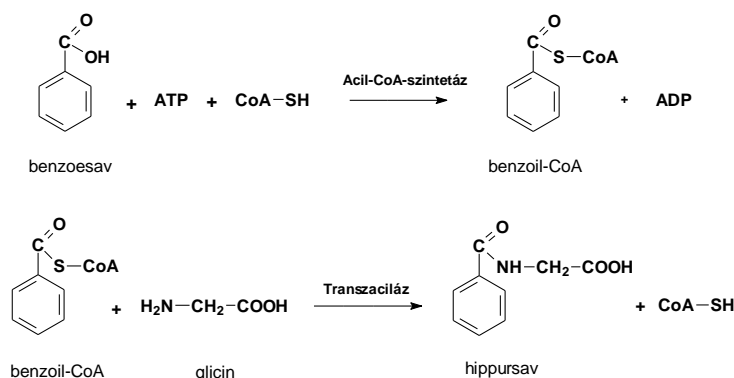
A szervezetbe kerülő testidegen anyagok metabolizmusának első humán kísérleti bizonyítéka a benzoésav glicinnel történő konjugációja volt. Az első kísérleti tapasztalat óta eltelt időben számos további aromás, elágazó láncú alifás, aromás-alifás és heterociklusos karbonsav aminosav-konjugátuma került azonosításra, igazolva ezzel a testidegen anyagok aminosavakkal lejátszódó konjugációjának jelentőségét azok metabolizmusában. A leggyakoribb a glicinnel, a glutaminnal és taurinnal lejátszódó konjugáció, de képződnek többek között arginin-, hisztidin- és szerin-konjugátumok is.

Az aminosav-konjugáció gyakoribb mechanizmusát, a benzoésav glicin-konjugátumának képződése példáján, a XII-7. ábra mutatja be.

Az aminosav-konjugáció bemutatott mechanizmus szerinti lejátszódásának előfeltétele a testidegen anyag karboxilcsoportjának aktiválódása, ami a megfelelő koenzim-A (CoA-SH) tioészter-származék (acil-S-CoA) formájában történik. Az acil-S-CoA származék képződése energiaigényes folyamat. Az aktivált karboxilcsoport és az aminosav (példánkban a glicin) aminocsoportja között lejátszódó reakciót a citoszolban

vagy a mitokondriumban lokalizálódó *transzaciláz* (acil-CoA: aminosav N-aciltranszferáz) enzimek katalizálják.

XII-7. ábra: A benzoészav glicin-konjugátuma (hippursav) képződésének reakciója.

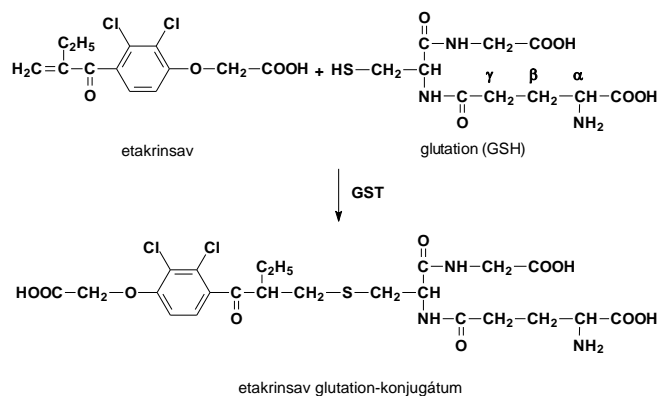


XII.2.4 Konjugáció glutationnal

A glutation (GSH) a citoszolban relatíve magas koncentrációban (1-10 mM) megtalálható tripeptid: gamma-glutamil-ciszteinil-glicin (XII-8. ábra). Tiofunkciójának következtében fiziológiai körülmények között *erős nukleofil*, egyidejűleg, két GSH molekula tiolsz csoportjának diszulfid-származékká (GSSG) történő könnyű oxidációja eredményeképpen, redukáló (*antioxidáns*) tulajdonságú vegyület. Az oxidáció reverzibilis, az oxidált glutation (GSSG) NAD(P)H-dependens enzimek segítségével redukált glutationná (GSH) alakulhat. A GSH nukleofil tulajdonsága következtében fontos szerepet játszik a reaktív elektrofil metabolitok biopolimerek (pl. fehérjék, DNS) nukleofil centrumaival (O-, S-, N-atomok) lejátszódó reakciójának megakadályozásában (citoprotektív hatás), míg redox tulajdonsága kapcsán fontos szerepet tölt be a sejtek redox-egyensúlyának fenntartásában (antioxidáns hatás).

A redukált glutation (GSH) kémiai természetéből adódóan reakcióba lép olyan testidegen anyagokkal, melyekben elektronhiányos (*elektrofil*) centrum található, vagy az eredeti gyógyszervegyület metabolizmusának eredményeképpen elektrofil centrum alakul ki. A glutation-konjugáció egyik példáját, az etakrinsav glutation-konjugátumának képződését a XII-8. ábra mutatja. A reakció spontán is lejátszódik, a *glutation-S-transzferáz* (GST) enzimek azonban meggyorsítják a spontán lejárló reakció sebességét.

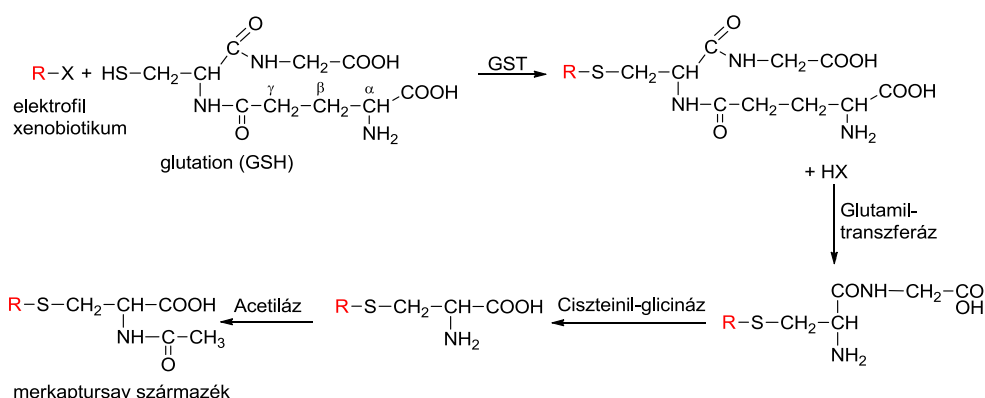
XII-8. ábra: Az etakrinsav és a redukált glutation (GSH) glutation-S-transzferáz (GST) enzimek által katalizált reakciója



A GST enzimek a legtöbb szövetben expresszálódnak, legnagyobb koncentrációban a májban, a bélben, a vesében, és a tüdőben, ahol a citoplazmában (>95%) és az endoplazmatikus retikulumban (<5%) lokalizálódnak.

A májban képződő GSH-konjugátumok kiürülnek az epével, vagy a vesében *merkaptursav-származékokká* alakulva a vizelettel ürülnek ki a szervezetből. A merkaptursav-származékok képződése során a konjugátumok - a glutation molekularész glutaminsav és glicin építőelemeinek hidrolízise eredményeképpen – cisztein-konjugátumokká alakulnak, melyek a NAT enzimek által katalizált reakcióban a megfelelő N-acetilszármazékokká (ún. merkaptursav-származékokká) konvertálódnak (XII-9. ábra).

XII-9. ábra: A glutation-konjugátumok merkaptursav-származékká történő metabolizmusának reakcióútja

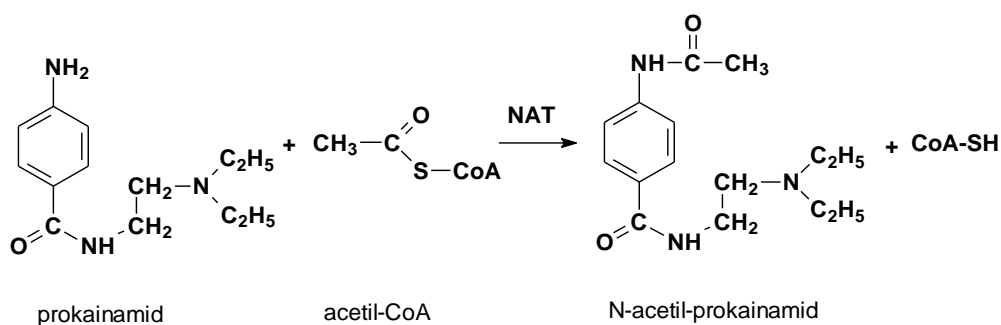


XII.2.5 Acetilezés

Az acetilezés elsődlegesen az aromás primer aminok (Ar-NH₂), hidrazinok (Ar-NH-NH₂), valamint az aminosavak aminocsoportjának és az acetyl-S-CoA acetylcsoportja között lejátszódó acilezési reakció. Az első N-acetilezett metabolit felfedezése R. Cohn nevéhez fűződik, aki nyulakkal végzett kísérletei során a *m*-nitrobenzaldehyd N-acetyl-*m*-aminobenzoészavvá történő átalakulását, illetve utóbbi vegyületnek a vizelettel történő kiürülését igazolta.

Elsősorban F.A. Lipmann munkája alapján sikerült tisztázni az acetilezés, illetve a testidegen karbonsavakkal lejátszódó acilezési (aminosav-konjugációs) folyamatok molekuláris szintű részleteit. A prokainamid és az acetyl-S-CoA között lejátszódó, N-acetyltransferáz (NAT) enzimek által katalizált reakciót a XII-10. ábra mutatja be.

XII-10. ábra: A prokainamid acetilszármazékká történő átalakulásának N-acetyltransferáz (NAT) enzimek által katalizált reakciója



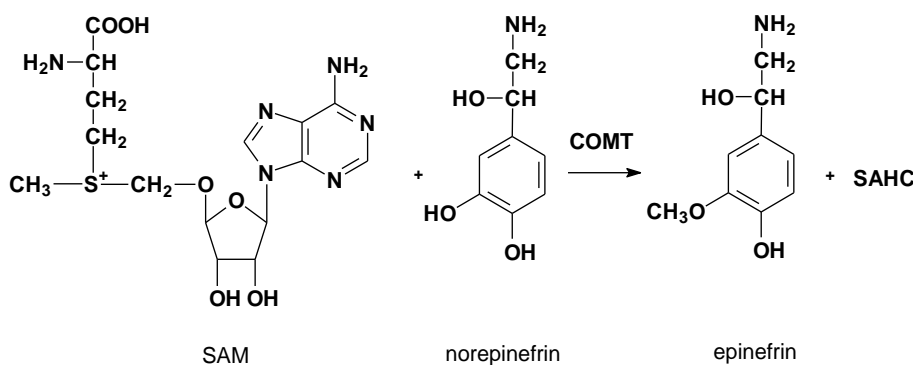
Az *N*-acetiltranszferáz enzimek jól ismert genetikai polimorfizmusa jelentős befolyással bír a fenti gyógyszervegyületek *N*-acetilezésének sebességére. A vegyületek acetilezésének sebessége szempontjából a *lassú* és *gyors acetilező* fenotípusra osztott populáció humán egyedei között az *N*-acetilszármazékok képződési sebességében jelentős különbségek figyelhetők meg. E különbségek egyrészt befolyásolják a NAT enzimek által metabolizálódó gyógyszervegyületek farmakokinetikáját, másrészt a genotoxikus arilaminok *N*-acetilszármazékai további metabolikus transzformációja eredményeképpen keletkező DNS-reaktív elektrofil metabolitok mennyiségét.

XII.2.6 Metilezés

A metilezés jól ismert biokémiai transzformáció, de sokkal jelentősebb metabolikus útnak tekinthető az endogén vegyületek, mint a testidegen vegyületek (xenobiotikumok) átalakulásai szempontjából. A metilezési reakciók molekuláris mechanizmusának megismerése szempontjából alapvető fontossággal bír *G. L. Cantoni* munkássága, aki tisztázta az *S*-adenozil-metionin (SAM), mint kofaktor szerepét ezekben a reakciókban.

A SAM szerkezetéből (lásd XII-11. ábra) látható, hogy az egy karbóniumion karakterű vegyület, és így a metiltranszfer az akceptor molekulák nukleofil (elektronban gazdag) centrumaival (pl. O-, S-, N-atomok) kialakuló kölcsönhatás eredményeképpen játszódik le. Következésképpen, a metilezésben résztvevő legfontosabb szerves vegyületek a fenolok, catecholamin-származékok, alifás és aromás aminok, nitrogéntartalmú heterociklusok, valamint a tioalkoholok. A norepinefrin *catechol-O-metiltranszferáz* (COMT) enzim által katalizált O-metilezési reakciójának egyszerűsített folyamatát a XII-11. ábra mutatja be.

XII-11. ábra: A norepinefrin catechol-O-metiltranszferáz (COMT) enzimek által katalizált O-metilezési reakciója.



SAM= *S*-adenozil-metionin

SAHC= *S*-adenozil-homocisztein

A metilezés – az acetilezéshez hasonlóan – általában csökkenti az anyavegyület vízdékonyságát és megszünteti olyan nukleofil csoportok reaktivitását, melyek más Fázis II enzimek által katalizált reakciókban az anyavegyületnél polárosabb származékokat képezhetnek. Kivételt képez a piridingyűrűt tartalmazó testidegen anyagok *N*-metilezési reakciója, aminek eredményeképpen pozitív töltésű piridínium-kationt hordozó metabolitok képződnek.

XII.3 Irodalom

- Smith and Williams' Introduction to the Principles of Drug Design and Action. (Editor: Smith H.J.) Harwood Academic Publishers, Amsterdam (1998)
- Ádám V., Dux L., Faragó A., Fésüs L., Machovich R., Mandl J., Sümegi B.: Orvosi biokémia. Medicina Kiadó, Budapest (2001)
- Humán farmakológia. Szerk.: Vizi E. Sz. Medicina Könyvkiadó, Budapest (2002)
- Gyógyszerészi kémia. Szerk.: Fülöp F., Noszál B., Szász Gy., Takácsné Novák K. Semmelweis Kiadó, Budapest (2010)
- A gyógyszerkutatás kémiája. Szerk. Keserű Gy. M. Akadémiai Kiadó, Budapest (2011)
- A farmakológia alapjai. Szerk.: Gyires K., Fürst Zs. Medicina Kiadó, Budapest (2001).
- Gyógyszerek. Szerk. Faigl F. Elektronikus tankönyv. BME, Budapest (2011)
- Lemke T.L., Williams D.A., Roche V.F., Zito S.W.: Foye's Principles of Medicinal Chemistry, 7th Edition. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia (2013)
- Perjési P. Gyógyszermetabolizmus és gyógyszertoxicitás. Elektronikus tananyag. PTE, Pécs (2014)