

Глава 5. МОДЕЛЮВАННЯ КІНЕТИКИ І МЕХАНІЗМІВ РЕЦЕПТОРНО-ЛІГАНДНОЇ ВЗАЄМОДІЇ *in vivo*

При формуванні швидкооборотних ефектів часове зміщення (див. рівняння (3.20) – (3.24)) вмісту рецепторно-лігандних комплексів у біофазах дії організму наближається до нуля і ці рівняння спрощуються. Це робить можливим структурно-функціональне моделювання кінетики і механізмів рецепторно-лігандної взаємодії у біофазах дії цілісних організмів.

5.1. Фармакокінетичні особливості внутрішньосудинної інфузії ліків

При введенні ліків у внутрішнє середовище організму, якщо їхня кінетична схема розподілу лінійна, для всіх її компартментів існує лінійне співвідношення між вмістом препарату в будь-який момент часу незалежно від способу та дози (рівняння (3.3)).

При внутрішньосудинній інфузії ліків [1,2] можливе лінійне співвідношення між часом інфузії, введеною дозою, концентрацією в центральній камері (крові) кінетичної схеми його розподілу і в біофазі дії. Це дозволяє використовувати інфузію деяких фізіологічно активних речовин та їхніх сумішей для визначення механізмів їхньої взаємодії з рецепторно-ефекторними системами організму [1–10]. У деяких випадках можлива також оцінка механізмів дії ліків, що доволіно вводять у внутрішнє середовище організму (розподіл яких відповідає рівнянню (3.14)), та на підставі визначення їхньої модулюючої дії на фармакологічні ефекти фізіологічно активних речовин, введених внутрішньосудинно. Визначимо умови, за яких реалізується лінійне співвідношення між часом інфузії та концентраціями введених речовин в тест-об'єктах (крові, біофазі).

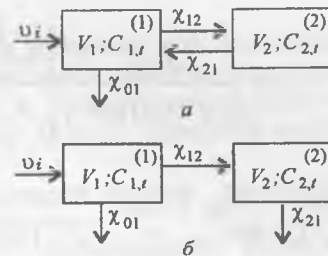
Одночастинна модель. При внутрішньосудинній інфузії ліків у концентрації C_i зі сталою швидкістю (v_i — одиниці об'єму за одиницю часу) об'єм введеного розчину складає $V_{в,і} = v_i t$, а введена доза $D_i = V_{в,і} C_i = v_i C_i t$, де t — час інфузії. Припустимо, що введення здійснюється в кінетичну камеру об'ємом розподілу ліків V_p , з якої воно елімінує в навколишнє середовище зі сталою швидкістю процесу екскреції χ_{10} [11]. Якщо максимальні об'єми розчинів введених ліків V_T за час інфузії $T > t$ нехтовно малі порівняно з об'ємом їхнього розподілу в організмі ($V_T T \ll V_p$, $V_p + V_T T \approx V_p$), то їх введення не змінює об'єм їхнього розподілу, не впливає на величину χ і його вміст складає

$$C_i = \frac{C_i v_i}{V_p \chi_{10}} (1 - e^{-\chi_{10} t}). \quad (5.1)$$

Якщо $\chi_{10} t \rightarrow 0$, тобто час інфузії t значно менший за характерис-

тичний час елімінації ліків ($\tau_{10} = 1/\chi_{10} \gg t$), то величину $e^{-\chi_{10} t} \rightarrow 1$ можна подати як член ряду Тейлора: $e^{-\chi_{10} t} \approx 1 - \chi_{10} t$. Тоді рівняння (5.1) буде мати вигляд

$$C_i \approx \frac{C_i v_i t}{V_p} \approx \frac{D_i}{V_p}. \quad (5.1a)$$



тобто при зазначених вище умовах концентрація ліків у об'ємі розподілу зростає відносно введеної дози, часу її інфузії, та інваріантна характеристичному часу процесу елімінації.

Вміст ліків у біофазі дії при їхній внутрішньосудинній інфузії. Якщо рецепторно-ефекторна система в біофазі (з об'ємом V_2) дії ліків, яка зворотно взаємозв'язана із центральною камерою об'ємом V_1 (константи масопереносу χ_{12} , χ_{21}) кінетичної схеми розподілу ліків у організмі (рис. 5.1, а), то при $V_1 \gg V_2$ можна знехтувати впливом процесу зворотного масопереносу ліків (з V_2 у V_1) на кінетику його вмісту та припустити, що за умов інфузії при дотриманні обмежень, що оговорено в попередньому параграфі, вміст ліків у центральній камері $C_{1,t}$ та біофазі дії $C_{2,t}$ змінюється

$$\begin{cases} \frac{dC_{1,t} V_1}{dt} \approx -v_i - (\chi_{12} + \chi_{10}) C_{1,t} V_1, \\ \frac{dC_{2,t} V_2}{dt} \approx \chi_{12} C_{1,t} V_1 - \chi_{21} C_{2,t} V_2. \end{cases} \quad (5.2)$$

Тоді

$$C_{1,t} \approx \frac{v_i C_i}{(\chi_{12} + \chi_{10}) V_1} [1 - e^{-(\chi_{12} + \chi_{10}) t}], \quad (5.3)$$

а при $t \ll (\chi_{12} + \chi_{10})^{-1}$, тобто $t(\chi_{12} + \chi_{10}) \ll 1$

$$C_{1,t} \approx \frac{v_i C_i}{V_1} t. \quad (5.3a)$$

Відповідно

$$C_{2,t} \approx \frac{v_i C_i \chi_{12}}{(\chi_{12} + \chi_{10}) \chi_{21} V_2} \left[\frac{\chi_{21} [1 - e^{-(\chi_{12} + \chi_{10})t}] - (\chi_{12} + \chi_{10})(1 - e^{-\chi_{21}t})}{\chi_{21} - (\chi_{12} + \chi_{10})} \right] \quad (5.4)$$

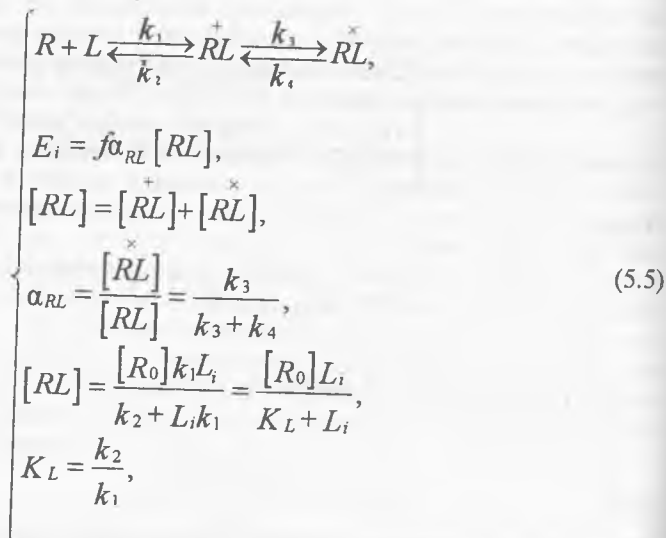
При $(\chi_{12} + \chi_{10})^{-1} \gg t \gg \chi_{21}^{-1}$, тобто $t(\chi_{12} + \chi_{10}) \ll 1 \ll \chi_{12} \times \chi e^{-(\chi_{12} + \chi_{10})t} \approx (\chi_{12} + \chi_{10})t \approx 1$ вираз спрощується до

$$C_{2,t} \approx \frac{v_i C_i \chi_{12}}{\chi_{21} V_2} \left(\frac{\chi_{21} t - (\chi_{12} + \chi_{10})}{\chi_{21} - (\chi_{12} + \chi_{10})} \right), \quad C_{2,t} \approx \frac{v_i C_i \chi_{12}}{\chi_{21} V_2} \left(t - \frac{(\chi_{12} + \chi_{10})}{\chi_{21}} \right) \quad (5.4a)$$

Якщо $(\chi_{12} + \chi_{10})/\chi_{21} \ll t$, то

$$C_{2,t} \approx \frac{v_i C_i \chi_{12}}{\chi_{21} V_2} t \quad (5.4b)$$

Співвідношення між пороговими показниками фармакологічних ефектів і концентраціями лігандів у біофазах організму. Припустивши, що фармакологічний ефект E_i є (функцією невідомого вигляду f) добутком вмісту в біофазі дії рецепторно-лігандних комплексів $[RL]_i$ на їхню внутрішню активність α_{RL}



де $[RL^*]$, $[RL^+]$ — рецепторно-лігандний комплекс відповідно в активній і неактивній формах; k_3, k_4 — константи швидкості процесів конформаційної конверсії цих форм; k_1, k_2 — константи швидкості асоціації $[R]$, $[L]$ та дисоціації $[RL]$; $[R_0]$, $[L]_i$ — вихідний вміст в біофазі дії R, L , припускається, що $L_i \gg R_0$.

Якщо умови розвитку фармакологічного ефекту дозволяють реєструвати порогові (альтернативні) показники ($E_{пор} < E_{max}$), можна припустити, що вони спостерігаються при утворенні порогової частки ($\alpha_{пор} < 1$) рецепторно-лігандних комплексів ($[RL]_{пор}$):

$$\left\{ \begin{array}{l} E_{max} = f \alpha_{RL} [R_0], \\ E_{пор} = f \alpha_{RL} a_{пор} [R_0] = f \alpha_{RL} [RL]_{пор}, \\ [RL]_{пор} = a_{пор} [R_0]. \end{array} \right. \quad (5.6)$$

Тоді з рівнянь (5.5), (5.6) концентрація ліганду в біофазі його дії, що забезпечує розвиток порогового ефекту $L_{пор}$, складає

$$\left\{ \begin{array}{l} L_i = L_{пор}, \\ L_{пор} = \frac{\alpha_{RL} k_2}{k_1 (\alpha_{RL} - a_{пор})}, \end{array} \right. \quad (5.7)$$

яке справедливе лише за умови швидкооборотного ефекту (3.25) [8, 9].

Рівняння (5.1) – (5.7) дозволяють концептуально й кількісно зіставити кілька порогових показників фармакологічної дії ліків (наприклад, терапевтичної, токсичної) один з одним та з концентраціями лігандів у біофазах дії, що викликають ці ефекти, а також визначити особливості взаємозв'язку деяких фундаментальних характеристик системи «організм – ліки» [12,13].

Дози ліків (лігандів) введені в організм можуть бути різним чином (залежно від умов проведення ЛВ) взаємозв'язані із часом початку t_1 і кінцем t_2 реєстрації порогових ефектів. Якщо порогові ефекти, що реєструються, швидкооборотні, ці підходи можуть слугувати для дослідження механізмів взаємодії рецепторно-ефекторних систем і лігандів у цілісному організмі.

Нами розроблено такі основні дослідні моделі.

1. Визначення мінімальних ефективних доз (МЕД) при внутрішньовенній інфузії ліганду, що викликає розвиток порогових показників швидкооборотного ефекту. За умов лінійності кінетичної схеми розподілу ліганду в організмі цей підхід дозволяє алгоритмізувати ізодинамічний (ізобальний) [1–13].

2. Визначення часу дії (t_2 за різними показниками) ліків, що вводяться в різних дозах, може бути співвіднесено з їхніми терапев-

тичними індексами (ТІ) та кінетичною схемою розподілу в організмі.

3. Визначення початку t_1 і кінця t_2 реєстрації порогового показника дії ліків з відомою структурою кінетичної схеми їхнього розподілу в біофазі дії може слугувати основою визначення її кількісних параметрів та показників залежності концентрація – ефект.

5.2. Особливості взаємозв'язку деяких фундаментальних характеристик системи «організм – ліки»

У даній роботі вперше розглянуто деякі особливості взаємозв'язку величин K_L , α_{RL} і критерію безпеки використання ліків — ТІ залежно від механізму формування фармакологічних і токсичних ефектів.

При аналізі процесів взаємодії «організм – ліки» величина рівноважної константи розпаду рецепторно-лігандних комплексів K_L є їх фундаментальною характеристикою. Вона безпосередньо не може бути визначена з результатів дослідів *in vivo* (організм, перфузовані органи і тканини) та *in vitro* (якщо R є складовою частиною субклітинних структур). Звичайно, визначають пропорційні їй дози чи концентрації, що призводять до розвитку напівмаксимальних ефектів: D_{50} , (C_{50}) , $E_i/E_{\max L} = L_i(D_{50} + L_i)^{-1}$. При аналізі дослідних даних, отриманих *in vitro*, визначають (при концентраційній рівновазі L) уявні величини K_L ($K_{L, \text{поз}}$). Величини K_L тотожні $K_{L, \text{поз}}$ для випадків, коли R розчинні, але не солубілізовані (через вплив на фізико-хімічні властивості макромолекул у середовищі визначення RL і вимірювання L). Коректне визначення K_L для рецепторів мембранних білків чи складових частин клітинних і субклітинних структур неможливо через вплив безпосереднього оточення R (ліпідних мембран і т.п.). Константа розподілу L між середовищем взаємодії R і L (безпосереднім оточенням R), яку позначимо як κ , визначенню *in vivo* та *in vitro* не підлягає. Використання величин D_{50} і $K_{L, \text{поз}}$ у фармакологічному моделюванні базується на припущенні про їх лінійне співвідношення з величиною K_L . Через неможливість дослідного визначення коефіцієнтів співвідношень (зокрема κ), коректним є лише безрозмірне моделювання результатів досліджень [14]. Тому фундаментальними характеристиками процесів взаємодії ліків і організму, а також лігандів і рецепторів *in vitro*, з нашої точки зору, є не величини ${}^1D_{50}$, ${}^2D_{50}$ (${}^1K_{L, \text{рад}}$, ${}^2K_{L, \text{рад}}$), визначені для різних речовин (1L , 2L), чи їх різних ефектів (${}^1E_{L1}$, ${}^2E_{L1}$ або ${}^1E_{L1}$, ${}^1E_{L2}$) в однакових умовах, а їх співвідношення: ${}^1D_{50}/{}^2D_{50}$; ${}^1E_{L1}/{}^2E_{L1}$; ${}^1E_{L1}/{}^1E_{L2}$ і т.д.

Іншою фундаментальною характеристикою взаємодії ліків і організму, а саме — ліганду й рецептора є величина внутрішньої активності комплексу RL (α_{RL}).

Можлива максимальна біологічна дія, яка обумовлена свідомо високою ($L \rightarrow \infty$) дозою або концентрацією $E_{\max} \alpha_{RL}$, тобто добутку

внутрішньої активності на величину максимально можливого фармакологічного ефекту. Дослідне визначення E_{\max} є проблематичним. Звичайно, обмежуються припущенням про повний антагонізм ($\alpha_{RL} = 1$) ліганду з максимальною величиною $E_{\max L}$, що спостерігається у порівняльному дослідженні, припустивши, що $E_{\max L} = E_{\max}$ [15].

Для інтерпретації результатів порівняльних досліджень використовуються ТІ. Останні, будучи безрозмірною величиною, являють собою відношення доз або концентрацій ліків, які викликають токсичну дію на організм, до доз концентрацій, що спричиняють розвиток фармакологічних ефектів.

Звідси

$$\begin{cases} {}^1E_i = \frac{{}^1E_{\max} L_i^m}{{}^1K_L^m + L_i^m}, \\ {}^1E_i = 0,5 \cdot {}^1E_{\max L}, \end{cases} \quad (5.8)$$

$$\begin{cases} {}^2E_j = \frac{{}^2E_{\max} L_j^n}{{}^2K_L^n + L_j^n}, \\ {}^2E_j = 0,5 \cdot {}^2E_{\max L}, \end{cases} \quad (5.8a)$$

а, отже, $L_i = {}^1K_L$; $L_j = {}^2K_L$; $L_j/L_i = {}^2K_L/{}^1K_L = \text{ТІ}_L$.

У загальному випадку при визначенні в експериментальних дослідженнях ефектів мінімальних чи порогових величин спостерігається

$$L_i = {}^1K_L \left(\frac{{}^1E_{\max L}}{{}^1E_{\max L} - E_i} \right)^{\frac{1}{m}}, \quad L_j = {}^2K_L \left(\frac{{}^2E_{\max L}}{{}^2E_{\max L} - E_j} \right)^{\frac{1}{n}}.$$

Це, в свою чергу, потребує додаткового визначення величин для інтерпретації кривих залежності доза – ефект при $m \neq n$.

Відношення ТІ до основних величин K_L , α_{RL} альтернативно визначається механізмами фармакологічної й токсичної дії лігандів.

Якщо ліганд L взаємодіє з одним типом рецепторів чи з різними субодинамиами рецепторно-ефекторного супрамолекулярного комплексу R , що має один тип ефектора, то фармакологічні, токсичні ефекти є результатами одного і того ж процесу, в основі якого лежить

утворення комплексу $[RL]$. Такі взаємодії визначаються як якісні (порогові) зміни режиму функціонування біооб'єкта [14] або порогові фармакологічні ефекти. В досліді й в клініці реєструються порогові ефективні або МЕД (концентрації), що викликають їхній розвиток.

Якщо величини ${}^1E_i, {}^2E_i$ вимірюються миттєво (час досліду в обох випадках дорівнює t), то всі фармакологічні параметри у випадку лінійної кінетичної схеми розподілу ліків [12] і величини розподілу між безпосереднім оточенням R (біофазою дії L), тест-об'єктом (плазмою крові) не впливають на Π . $\Pi = L_{i,t}/L_{j,t}$, де t — час визначення L_{ij}, E_{ij} .

Дослідження цього типу взаємодії в системі «організм – ліки» [10] ґрунтуються на постульованому нами раніше припущенні [11] щодо якісних змін в організмі, викликаних введенням ліків, які реалізуються за умови утворення відповідних часток ($a_\phi, a_\tau < 1$) рецепторних комплексів у активній формі $[RL]^\times$:

$$\begin{cases} a_\phi = [RL_\phi]^\times / R_0, \\ a_\tau = [RL_\tau]^\times / R_0, \end{cases} \quad (5.9)$$

$$\begin{cases} [RL_\phi]^\times = \frac{\alpha_{RL} R_0 L_\phi}{K_L + L_\phi}, \\ [RL_\tau]^\times = \frac{\alpha_{RL} R_0 L_\tau}{K_L + L_\tau}, \end{cases} \quad (5.9a)$$

$$\begin{cases} L = \frac{K_L a_\phi}{\alpha_{RL} - a_\phi}, \\ L_\tau = \frac{K_L a_\tau}{\alpha_{RL} - a_\tau}. \end{cases} \quad (5.96)$$

При цьому типі взаємодії ліганду з рецепторно-ефекторною системою організму

$$\Pi = L_\tau / L_\phi = \frac{a_\tau(\alpha_{RL} - a_\phi)}{a_\phi(\alpha_{RL} - a_\tau)} > 0 \quad \text{при } a_\tau > a_\phi. \quad (5.10)$$

Слід відзначити істотну особливість: Π на відміну від порогових доз не залежить від K_L . Безумовно, у фармакології пошук нових ліків ведеться в напрямку синтезу високоактивних речовин, які мають максимальну спорідненість з рецепторами. Проте зазначене вище показує, що для лігандів з розглянутим типом взаємодії з рецепторно-іонофорними комплексами, наприклад, серед похідних 1,4-бенздіазепіну, одночасно із збільшенням ефективності зростають і величини побічних ефектів, що не дозволяє оптимізувати (забез-

печити безпеку) фармакологічні властивості нових ліків [11]. Більш того, порівняння Π_1 і Π_2 двох лігандів L_1, L_2 з різною внутрішньою активністю (${}^1\alpha_{RL} > {}^2\alpha_{RL} > a_\tau > a_\phi$) виявляє, що

$$\Pi_2 - \Pi_1 = \frac{a_\tau}{a_\phi} \left[\frac{({}^1\alpha_{RL} - {}^2\alpha_{RL})(a_\tau - a_\phi)}{({}^1\alpha_{RL} - a_\tau)({}^2\alpha_{RL} - a_\tau)} \right] > 0, \quad (5.11)$$

бо всі множники дробу більші за нуль. Отже, $\Pi_2 > \Pi_1$. Можна дійти висновку, що в ряді (L_1, L_2, \dots) чим більша внутрішня активність (${}^1\alpha_{RL} > {}^2\alpha_{RL} > \dots$), тим нижчі Π ($\Pi_1 < \Pi_2, \dots$) лігандів, що взаємодіють з однією рецепторно-ефекторною системою організму.

Якщо ж ліганд L взаємодіє з двома і більше типами рецепторів (рецепторно-іонофорних комплексів) (${}^1R, {}^2R, \dots$), а фармакологічний і токсичний ефекти E_ϕ, E_τ є результатом різних процесів, в основі яких лежить утворення комплексів ${}^1[RL]^\times, {}^2[RL]^\times$, то при ${}^2E_\tau / {}^2E_{\max L} = {}^1E_\phi / {}^1E_{\max L}$ маємо

$$\begin{cases} {}^1E_\phi = \frac{{}^1E_{\max L} L_\phi}{{}^1K_L + L_\phi}, \\ {}^2E_\phi = \frac{{}^2E_{\max L} L_\tau}{{}^2K_L + L_\tau}, \end{cases} \quad (5.12)$$

$$\frac{L_\phi}{{}^1K_L + L_\phi} = \frac{L_\tau}{{}^2K_L + L_\tau}, \quad \frac{{}^2K_L}{{}^1K_L} = \frac{L_\tau}{L_\phi} = \Pi_L. \quad (5.13)$$

Треба зауважити, що ${}^1E_{\max L} = {}^1\alpha_{RL} {}^1E_{\max}$, ${}^2E_{\max L} = {}^2\alpha_{RL} {}^2E_{\max}$, де ${}^1E_{\max}, {}^2E_{\max}, {}^1\alpha_{RL}, {}^2\alpha_{RL}$ — не обов'язково рівні одне одному. Завдяки тому, що біофазі дії L (безпосереднє оточення ${}^1R, {}^2R$) різні (${}^1\kappa \neq {}^2\kappa$), у виразах (5.12), (5.13) L_τ та L_ϕ відповідають концентрації L в безпосередньому оточенні 1R та 2R . Якщо здійснюється миттєве (тривалість досліду — t) визначення вмісту L в тест-об'єкті чи (поза цим обмеженням) в середовищі, де L знаходиться при концентраційній рівновазі (перфузовані органи, тканини, *in vitro*), вираз (5.13) набуває такого вигляду:

$$\Pi_L = L_\tau (\text{тест-об'єкта}) / L_\phi (\text{тест-об'єкта}) = {}^1\kappa {}^2K_A / {}^2\kappa {}^1K_A, \quad (5.14)$$

оскільки $L_\tau = {}^2\kappa L_\tau$ (тест-об'єкта), $L_\phi = {}^1\kappa L_\phi$ (тест-об'єкта).

У загальному випадку

$${}^1E_i = \frac{{}^1E_{\max L} L_{\Phi}^n}{{}^1K_L^n + L_{\Phi}^n}, \quad {}^2E_i = \frac{{}^2E_{\max L} L_{\tau}^m}{{}^2K_L^m + L_{\tau}^m}$$

тоді

$$\frac{L_{\tau}^m}{L_{\Phi}^n} = \frac{{}^2K_L^m}{{}^1K_L^n}$$

При $n = m$ чи $n = m = 1$ ТІ не залежить від обраних для визначення 1E_i , 2E_i та внутрішніх активностей комплексів 1RL , 2RL (${}^1\alpha_{RL}$, ${}^2\alpha_{RL}$).

Якщо при визначенні ТІ використано величини ${}^1E_{\max}$, ${}^2E_{\max}$ (а не ${}^1E_{\max L}$ та ${}^2E_{\max L}$), то при ${}^1E_{\Phi}/{}^1E_{\max} = {}^2E_{\tau}/{}^2E_{\max}$:

$${}^2\alpha_{RL} {}^1K_L A_{\tau} - {}^1\alpha_{RL} {}^2K_L A_{\Phi} = L_{\tau} L_{\Phi} ({}^1\alpha_{RL} - {}^2\alpha_{RL}),$$

при ${}^1\alpha_{RL} = {}^2\alpha_{RL}$

$$TI_L = \frac{L_{\tau}}{L_{\Phi}} = \frac{{}^2K_L}{{}^1K_L},$$

при ${}^1\alpha_{RL} \neq {}^2\alpha_{RL}$

$$TI_L = \frac{L_{\tau}}{L_{\Phi}} = \frac{{}^1\alpha_{RL} {}^2K_L}{{}^2\alpha_{RL} {}^1K_L} + \frac{L_{\tau}}{{}^1K_L} \left(\frac{{}^1\alpha_{RL} - {}^1\alpha_{RL}}{{}^1\alpha_{RL}} \right)$$

У всіх випадках L_{τ} , L_{Φ} не порівняні з L_{τ} (тест-об'єкта) та L_{Φ} (тест-об'єкта), завдяки можливій різниці величин 1K та 2K (що не визначаються в досліді), аналогічно рівнянням (5.12), (5.13).

Отже, ТІ ліків, фармакологічні, токсичні ефекти яких є результатом їхньої взаємодії з різними рецепторними системами організму, не залежать від внутрішніх активностей утворюваних рецепторно-лігандних комплексів, а визначаються відношенням їхніх рівноважних констант дисоціації, коефіцієнтами розподілу лігандів між біосубстратом (тест-об'єктом), в якому визначаються його концентрації й біофази дії. ТІ лікарських речовин цього типу, хоча й є величинами безрозмірними, однак вони комплексні, для структурно-функціонального моделювання їхнє використання неприпустиме. Застосування ТІ ліків цього типу дещо обмежене і може включати лише функціональне моделювання, на основі якого описуються межі їхнього безпечного використання в фармакотерапевтичних цілях без аналізу визначення механізмів, кількісних особливостей процесу тощо.

Як приклад наведено ТІ конвульсантів (бікукуліну — Бк, пікротоксину — Пк, пентилентетразолу — Пт, бемегриду — Бм) у мишей

на тлі модулюючого впливу зростаючих доз феназепаму — повного агоніста бенздіазепінового рецептора. Кількісними показниками для оцінки фармакологічного E_{Φ} і токсичного E_{τ} ефектів були МЕД судомних сполук — Бк, Пк, Пт, Бм, що викликають у піддослідних тварин клоніко-тонічні судоми (КТС — E_{Φ}), тонічну екстензію (ТЕ — E_{τ}) при їхній внутрішньовенній інфузії [11]. Феназепам вводили в зростаючих дозах (0,7–2,8 мг/кг) внутрішньочеревинно за 30 хв до інфузії конвульсантів. Результати досліджень наведено в табл. 5.1.

Для того щоб віднести лікарську речовину до одного з двох типів треба визначити його ТІ (*in vivo*) у вихідних дослідах і вплив зрос-

Таблиця 5.1. ТІ та зміна МЕД конвульсантів, що викликають ДКС та ДТЕ при введінні мишам феназепаму в зростаючих дозах

Доза феназепаму, мг/кг	ДКС	ДТЕ	ТІ (ДТЕ/ДКС)
Пк			
Контроль	59,25 ± 3,73	85,83 ± 4,84	1,44 ± 0,122
0,7	67,73 ± 4,4	114,02 ± 8,87	1,68 ± 0,171*
1,4	82,18 ± 19,04	99,28 ± 17,48	1,21 ± 0,351*
2,8	104,71 ± 4,87	152,19 ± 14,62	1,45 ± 0,155*
Бк			
Контроль	0,7 ± 0,06	1,1 ± 0,08	1,57 ± 0,176
0,35	1,29 ± 0,09	1,86 ± 0,19	1,44 ± 0,178*
0,7	1,35 ± 0,16	2,16 ± 0,12	1,6 ± 0,209*
1,4	1,48 ± 0,23	2,24 ± 0,24	1,51 ± 0,285*
2,8	1,52 ± 0,14	2,47 ± 0,18	1,62 ± 0,191
Пт			
Контроль	46,9 ± 2,65	80,16 ± 3,82	1,71 ± 0,126
0,35	90,95 ± 5,64	139,4 ± 9,83	1,53 ± 0,144*
0,7	93,1 ± 6,69	138,9 ± 7,86	1,49 ± 0,136*
1,4	93,6 ± 7,15	138,2 ± 9,08	1,47 ± 0,149*
2,8	123,4 ± 10,86	207,5 ± 15,27	1,68 ± 0,193*
4,2	159,3 ± 14,3	211,5 ± 8,3	1,85 ± 0,226*
Бм			
Контроль	24,56 ± 1,14	38,73 ± 2,29	1,57 ± 0,118
0,175	29,07 ± 1,58	51,47 ± 4,6	1,77 ± 0,185*
0,35	30,8 ± 3,58	48,11 ± 3,66	1,56 ± 0,216*
0,7	40,11 ± 4,68	65,09 ± 4,56	1,62 ± 0,220*
1,4	52,29 ± 3,17	98,71 ± 13,16	1,88 ± 0,276*
2,8	60,66 ± 7,07	100,05 ± 6,35	1,64 ± 0,219*
5,6	69,46 ± 5,56	128,05 ± 22,95	1,84 ± 0,36*

*P — достовірність відсутності різниці ТІ феназепаму і контрольних значень ($P \leq 0,001$).

$${}^1E_i = \frac{{}^1E_{\max L} L_{\Phi}^n}{{}^1K_L^n + L_{\Phi}^n}, \quad {}^2E_i = \frac{{}^2E_{\max L} L_{\tau}^m}{{}^1K_L^m + L_{\tau}^m},$$

тоді

$$\frac{L_{\tau}^m}{L_{\Phi}^n} = \frac{{}^2K_L^m}{{}^1K_L^n}.$$

При $n = m$ чи $n = m = 1$ ТІ не залежить від обраних для визначення 1E_i , 2E_i та внутрішніх активностей комплексів 1RL , 2RL (${}^1\alpha_{RL}$, ${}^2\alpha_{RL}$).

Якщо при визначенні ТІ використано величини ${}^1E_{\max}$, ${}^2E_{\max}$ (а не ${}^1E_{\max L}$ та ${}^2E_{\max L}$), то при ${}^1E_{\Phi}/{}^1E_{\max} = {}^2E_{\tau}/{}^2E_{\max}$:

$${}^2\alpha_{RL} {}^1K_L A_{\tau} - {}^1\alpha_{RL} {}^2K_L A_{\Phi} = L_{\tau} L_{\Phi} ({}^1\alpha_{RL} - {}^2\alpha_{RL}),$$

при ${}^1\alpha_{RL} = {}^2\alpha_{RL}$

$$TI_L = \frac{L_{\tau}}{L_{\Phi}} = \frac{{}^2K_L}{{}^1K_L},$$

при ${}^1\alpha_{RL} \neq {}^2\alpha_{RL}$

$$TI_L = \frac{L_{\tau}}{L_{\Phi}} = \frac{{}^1\alpha_{RL} {}^2K_L}{{}^2\alpha_{RL} {}^1K_L} + \frac{L_{\tau}}{{}^1K_L} \left(\frac{{}^1\alpha_{RL} - {}^2\alpha_{RL}}{{}^1\alpha_{RL}} \right).$$

У всіх випадках L_{τ} , L_{Φ} не порівняні з L_{τ} (тест-об'єкта) та L_{Φ} (тест-об'єкта), завдяки можливій різниці величин ${}^1\kappa$ та ${}^2\kappa$ (що не визначаються в досліді), аналогічно рівнянням (5.12), (5.13).

Отже, ТІ ліків, фармакологічні, токсичні ефекти яких є результатом їхньої взаємодії з різними рецепторними системами організму, не залежать від внутрішніх активностей утворюваних рецепторно-лігандних комплексів, а визначаються відношенням їхніх рівноважних констант дисоціації, коефіцієнтами розподілу лігандів між біосубстратом (тест-об'єктом), в якому визначаються його концентрації й біофазі дії. ТІ лікарських речовин цього типу, хоча й є величинами безрозмірними, однак вони комплексні, для структурно-функціонального моделювання їхнє використання неприпустиме. Застосування ТІ ліків цього типу дещо обмежене і може включати лише функціональне моделювання, на основі якого описуються межі їхнього безпечного використання в фармакотерапевтичних цілях без аналізу визначення механізмів, кількісних особливостей процесу тощо.

Як приклад наведено ТІ конвульсантів (бікукуліну — Бк, пікротоксину — Пк, пентилентетразолу — Пт, бемегриду — Бм) у мишей

на тлі модулюючого впливу зростаючих доз феназепаму — повного агоніста бенздіазепінового рецептора. Кількісними показниками для оцінки фармакологічного E_{Φ} і токсичного E_{τ} ефектів були МЕД судомних сполук — Бк, Пк, Пт, Бм, що викликають у піддослідних тварин клоніко-тонічні судоми (КТС — E_{Φ}), тонічну екстензію (ТЕ — E_{τ}) при їхній внутрішньовенній інфузії [11]. Феназепам вводили в зростаючих дозах (0,7–2,8 мг/кг) внутрішньочеревинно за 30 хв до інфузії конвульсантів. Результати досліджень наведено в табл. 5.1.

Для того щоб віднести лікарську речовину до одного з двох типів треба визначити його ТІ (*in vivo*) у вихідних дослідах і вплив зрос-

Таблиця 5.1. ТІ та зміна МЕД конвульсантів, що викликають ДКС та ДТЕ при введенні мишам феназепаму в зростаючих дозах

Доза феназепаму, мг/кг	ДКС	ДТЕ	ТІ (ДТЕ/ДКС)
Пк			
Контроль	59,25 ± 3,73	85,83 ± 4,84	1,44 ± 0,122
0,7	67,73 ± 4,4	114,02 ± 8,87	1,68 ± 0,171*
1,4	82,18 ± 19,04	99,28 ± 17,48	1,21 ± 0,351*
2,8	104,71 ± 4,87	152,19 ± 14,62	1,45 ± 0,155*
Бк			
Контроль	0,7 ± 0,06	1,1 ± 0,08	1,57 ± 0,176
0,35	1,29 ± 0,09	1,86 ± 0,19	1,44 ± 0,178*
0,7	1,35 ± 0,16	2,16 ± 0,12	1,6 ± 0,209*
1,4	1,48 ± 0,23	2,24 ± 0,24	1,51 ± 0,285*
2,8	1,52 ± 0,14	2,47 ± 0,18	1,62 ± 0,191
Пт			
Контроль	46,9 ± 2,65	80,16 ± 3,82	1,71 ± 0,126
0,35	90,95 ± 5,64	139,4 ± 9,83	1,53 ± 0,144*
0,7	93,1 ± 6,69	138,9 ± 7,86	1,49 ± 0,136*
1,4	93,6 ± 7,15	138,2 ± 9,08	1,47 ± 0,149*
2,8	123,4 ± 10,86	207,5 ± 15,27	1,68 ± 0,193*
4,2	159,3 ± 14,3	211,5 ± 8,3	1,85 ± 0,226*
Бм			
Контроль	24,56 ± 1,14	38,73 ± 2,29	1,57 ± 0,118
0,175	29,07 ± 1,58	51,47 ± 4,6	1,77 ± 0,185*
0,35	30,8 ± 3,58	48,11 ± 3,66	1,56 ± 0,216*
0,7	40,11 ± 4,68	65,09 ± 4,56	1,62 ± 0,220*
1,4	52,29 ± 3,17	98,71 ± 13,16	1,88 ± 0,276*
2,8	60,66 ± 7,07	100,05 ± 6,35	1,64 ± 0,219*
5,6	69,46 ± 5,56	128,05 ± 22,95	1,84 ± 0,36*

*P — достовірність відсутності різниці ТІ феназепаму і контрольних значень ($P \leq 0,001$).

таких доз антагоністів (сполук, що здійснюють алостеричну модуляцію рецепторних комплексів R , але не викликають E_T , E_F за відсутності досліджуваного ліганду L). Ті сполук, у яких механізм фармакологічних і токсичних ефектів полягає у взаємодії лігандів з однією рецепторною системою (перший тип), залежать від величини і не залежать від K_L . Ці показники стабільні при впливі на рецепторну систему модуляторів. У речовин другого типу ТІ повинні монотонно змінюватися (збільшуватися чи зменшуватися) на тлі дії зростаючих доз модуляторів, які взаємодіють з однією чи двома рецепторними системами, але за іншими механізмами чи відмінними кількісними показниками, що призводять до непропорційних змін величин ${}^2E_T/{}^2E_{maxL}$, ${}^1E_F/{}^1E_{maxL}$.

Наведені результати є експериментальною моделлю дослідження фармакологічної активності низки лігандів (Бк, Пк, Пт, Бм), що взаємодіють з різними субодинамиціями постсинаптичного ГАМК_A-рецепторного комплексу, єдиним ефектором якого є аніонний (Cl⁻) іонофор [16]. Зауважимо, що визначення фармакологічного або токсичного ефектів завжди дещо умовне, бо багато видів токсичної дії ліків є прямим продовженням фармакологічної дії. Як видно з отриманих даних табл.5.1, введення феназепаму приводило до лінійного ((псевдоконкурентного) Пк, Бк) та гіперболічного (Пт, Бм) збільшення досліджуваних показників (ДКС та ДТЕ) залежно від введених доз. ТІ, що визначаються як: $TI = DTE/DKS$, були стабільні та не мали достовірної різниці незалежно від структури конвульсантів, що вводилися.

Отже, обидва порогові показники, що реєструвалися, є результатом одного процесу, який включає взаємодію досліджуваних судомних агентів з одним типом ГАМК_A-рецепторно-іонофорних комплексів.

5.3. Ізодинамічний аналіз МЕД екзогенних лігандів як метод оцінки механізмів їхнього функціонування в біофазах дії цілісного організму

Одним з найважливіших завдань фармакології (фармакодинаміки) є кількісна оцінка результуючої дії на організм комбінацій лікарських речовин, що взаємодіють безпосередньо чи опосередковано [11,17].

В попередні роки найбільш розповсюдженим методом вивчення цих процесів був ізодинамічний аналіз (ІДА) [17,18]. Для оцінки типів взаємодії ефектів комбінацій (звичайно, двох) фармакологічно активних сполук в термінах ІДА здійснювали аналіз ізодинамічних діаграм (ізобол) [17,19]. Вони демонстрували співвідношення доз компонентів досліджуваних комбінацій, що спричиняють розвиток фіксованих якісних (вірогідних) або кількісних фармакологічних

ефектів. ІДА дозволяє емпірично, не проникаючи у механізми взаємодії ліків — лігандів з рецепторами — ефекторами і типів взаємодії цих ефектів, оцінити їх в термінах «сумація», «антагонізм», «потенціювання», «синергізм», «анергізм» досліджуваних компонентів. Однак це звужує сферу використання ІДА і його застосування в біофармацевтичних дослідженнях [17].

Сьогодні під сумацією дій розуміємо дії комбінації речовин, які дорівнюють сумі їхніх ефектів при роздільному введенні, під потенціюванням — дію комбінації речовин, яка перевищує суму їхніх роздільних ефектів, під антагонізмом — ефект суміші, який вищий за суму ефектів її компонентів [20].

Для графічного зображення дії комбінацій фармакологічно активних речовин застосовується метод ізобольних діаграм, який полягає в тому, що на осях відкладають в одному масштабі рівні частки речовин x і y від тих, що демонструють ефект, котрий реєструється, і який приймається в даному випадку за 100 %. Виходячи з вигляду кривої можна дійти висновків про характер взаємодії речовин. У деяких випадках при дослідженні комбінації не двох, а трьох речовин [20] вдаються до будови тривимірних діаграм.

На рис. 5.2 зображено три основні типи ізобол, які можна отримати при ІДА дії комбінацій речовин x та y .

У випадку дослідження рецепторів ІДА застосовується переважно для опису сенситизації або десенситизації рецептора для однієї речовини в присутності іншої [20].

Комбінована дія двох речовин з однаковим типом впливу часто описується парами доз, які забезпечують фіксований ефект (звичайно, 50 %), що також називаються ED_{50} ізоболами. Але на додаток до шкал доз у цих схемах у багатьох випадках [21] пропонуються також шкали ефектів, щоб по можливості показати ефект деяких доз, наприклад, ED_{30} .

При математичному описі результату взаємодії кількох фармакологічних агентів необхідно враховувати, що сумація ефектів може відбуватися відповідно до двох основних механізмів. По-перше, фармакологічні агенти можуть діяти паралельно в одному і тому ж місці, тоді в опис залежності доза — ефект суміші мають бути введені змінні, що описують взаємний вплив речовин. По-друге, фармакологічні агенти можуть чинити дію на різні ланки в ланцюга реакцій, що приводять до формування ефекту. В цьому випадку вплив другого агента включає результати дії першого як

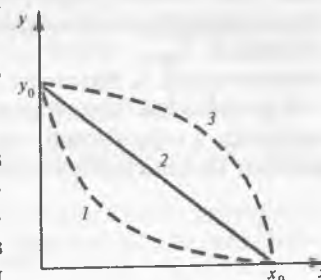


Рис. 5.2. Ізоболі дії комбінації речовин x , y : 1 — потенціювання дії у сполукою x ; 2 — сумація; 3 — антагонізм

фонових значень. Математичні залежності, які можна отримати при описі обох типів взаємодій, мають бути адаптовані до експериментальних даних шляхом нелінійного регресивного аналізу або аналізу методом максимальної правдоподібності [22]. Такий аналіз може проводитися тільки на основі форми і властивостей ізобольної кривої, при цьому давати результати, що є повними й добре інтерпретуються, незважаючи на наявність розкиду експериментальних даних, невідомих параметрів дії ліганду на систему та статистичної похибки [23].

Сьогодні ІДА застосовується для дослідження комбінованої дії фізіологічно активних речовин [24–29] або впливу речовини на організм при наявності різноманітних зовнішніх факторів (таких, наприклад, як радіоактивне випромінювання) [30, 31].

Прикладом комбінованого застосування ІДА та багаточленної комплексної моделі функціонування рецептора може слугувати математичний апарат, який використовують для опису сумісної дії ГАМК і загальних анестетиків [32–34].

Обґрунтування підходу. Відомо, що окупаційні фармакологічні моделі (ОФМ) ґрунтуються на таких припущеннях.

1. Всі рецептори R однорідні й рівно ефективно взаємодіють з біологічно активними сполуками L .

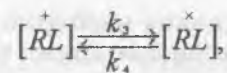
2. Взаємодії між речовинами (лігандами) і рецепторами, в результаті яких утворюються рецепторно-лігандні комплекси (RL), оборотні та підпорядковуються закону діючих мас (4.8).

3. Величини біологічних ефектів E_i функціонально f пов'язані з кількістю зайнятих біологічно активними сполуками рецепторів R_0 : $E_{\max} = \beta[R_0]$, $E_i/E_{\max} = \alpha[RL]_i/[R_0]$, де E_{\max} — максимальний можливий ефект; β , α — коефіцієнти, $\alpha \leq 1$.

Проста окупаційна модель (ПОМ), вперше запропонована Кларком [35], описує найпростіші випадки взаємодії рецепторів з повними агоністами, фармакологічна дія яких у високих концентраціях дорівнює E_{\max} , тобто $\alpha = 1$. Тоді їхня присутність у середовищі в концентрації L_i визначає розвиток біологічної дії: $E_i/E_{\max} = L_i/(K_L + L_i)$. Модель припускає конкурентні взаємовідношення наявних агоністів у середовищі, що містить рецептори, в процесі яких розвивається результуючий ефект $E_{\text{рез},i}$, котрий може бути описаний як

$$E_{\text{рез},i} = \left(\sum \frac{L_i}{K_L} \right) \left(1 + \sum \frac{L_i}{K_L} \right)^{-1}.$$

Складна окупаційна модель (СОМ) припускає існування рецепторно-лігандного комплексу в неактивній ($[RL]$) і активній ($[RL^*]$) формах. Процеси конформаційних переходів є зворотними:



де k_3 , k_4 — константи швидкості процесів. Біологічний ефект агоніста, пропорційний частці рецепторно-лігандного комплексу

$$\frac{E_i}{E_{\max}} = \frac{\alpha \left([RL^+] + [RL^*] \right)}{[R_0]} = \frac{\alpha L_i}{K_L + L_i}, \quad \alpha = \frac{k_3}{k_3 + k_4} = \frac{[RL^*]}{[RL^+] + [RL^*]},$$

величина α є характеристикою рецепторно-лігандного комплексу в активній формі — рівноважним ступенем переходу RL в активну конформацію $[RL^*]$.

Модель описує конкурентні типи взаємодії агоністів, в процесі яких отримуємо результуючий ефект

$$E_{\text{рез},i} = \left(\sum \alpha_i \frac{L_i}{K_L} \right) \left(1 + \sum \frac{L_i}{K_L} \right)^{-1}.$$

Регуляторно-алостерична модель (РАМ) відповідає схемі, запропонованій Монодом та співавт. [36], яка припускає, на відміну від перших двох моделей, наявність, наприклад для агоністів L_1 , L_2 конкурентних процесів утворення комплексів $[RL_1]$, $[RL_2]$, а також неконкурентного процесу утворення комплексу $[RL_1L_2]$. СОМ є окремим випадком РАМ за умови, що рівноважні константи розпаду комплексу $[RL_1L_2]$ нескінченно великі й реально відбуваються лише тільки конкурентні процеси утворення $[RL_1]$, $[RL_2]$.

Конформаційно-алостерична модель (КАМ) [37], на відміну від РАМ і СОМ, припускає:

а) вихідне перебування рецептора в активному $[RL^*]$ і неактивному $[RL]$ станах, що визначає вихідний (фоновий) стан тест-об'єкта;

б) різні швидкості й рівноважні константи утворення та дисоціації рецепторно-лігандних комплексів у різних (активному та неактивному) конформаційних станах.

Розглянута низка ОФМ являє собою ієрархічний математичний опис кількісних особливостей розвитку фармакологічних ефектів при взаємодії лігандів і рецепторів у біологічних об'єктах, причому кожна попередня модель є окремим випадком наступної. При

аналізі результатів дослідження необхідно формалізувати дослідні дані відповідно до найпростішої можливої та достатньої для їхнього опису моделі.

Нами запропонований аналіз в термінах ОФМ динаміки МЕД екзогенних лігандів та їхніх сумішей з різним співвідношенням компонентів. Він може ґрунтуватися на припущеннях про те, що:

а) однакові (мінімальні, порогові) ефекти, що рееструються в досліджуваних біологічних об'єктах (в цій роботі — в цілісній біосистемі, організмі), зумовлені утворенням однакової кількості (частки від вихідної кількості) рецепторно-лігандних комплексів (ПОМ), рецепторно-лігандних комплексів в активному стані (РАМ, СОМ) або рецепторів і рецепторно-лігандних комплексів в активному стані (КАМ);

б) співвідношення між дозами, що вводяться (МЕД — включно), екзогенних лігандів та їхніми концентраціями в компартментах біологічних об'єктів (включаючи біофазу дії ліків [11]) лінійні. Ці припущення не дають можливості для прямого, чисельного визначення параметрів моделей (константи швидкості й рівноваги), але дозволяють здійснити якісні (визначення типів взаємодії) і відносні кількісні (визначення безрозмірних величин — співвідношень констант) оцінки механізмів взаємодії екзогенних лігандів з рецепторними системами при їхньому сумісному введенні в організм, що викликають розвиток результативних фармакологічних ефектів.

МЕД і ПОМ. Пороговий ефект спостерігається при утворенні мінімальної ефективної частки a рецепторно-лігандних комплексів ($[RL]_{\text{пор}}$)

$$[RL]_{\text{пор}} = a [R_0] = \frac{[R_0] L_{\text{пор}}}{K_L + L_{\text{пор}}}, \quad L_{\text{пор}} = \frac{K_L a}{1 - a}.$$

Ізодинамічний аналіз МЕД в термінах ПОМ. При дослідженні за двома $E_{\text{пор}1}$, $E_{\text{пор}2}$ або кількома пороговими показниками дії двох L_1 , L_2 чи більше речовин визначають дози (концентрації), що викликають при роздільному чи сумісному введенні фіксовані показники ефекту. Позначимо їх при роздільному введенні як $L_1(E_1)_0$, $L_1(E_2)_0$, $L_2(E_1)_0$, $L_2(E_2)_0$, при введенні i -ї суміші як: $L_1(E_1)_i$, $L_1(E_2)_i$, $L_2(E_1)_i$, $L_2(E_2)_i$.

Звідки випливає, що

$$L_1(E_1)_0 = \frac{K_{L1} a_1}{1 - a_1}, \quad L_1(E_2)_0 = \frac{K_{L1} a_2}{1 - a_2}, \quad L_1(E_1)_0 / L_1(E_2)_0 = \frac{a_1 - a_1 a_2}{a_2 - a_1 a_2}.$$

Аналогічно

$$L_2(E_1)_0 = \frac{K_{L2} a_1}{1 - a_1}, \quad L_2(E_2)_0 = \frac{K_{L2} a_2}{1 - a_2},$$

$$L_2(E_1)_0 / L_2(E_2)_0 = \frac{a_1 - a_1 a_2}{a_2 - a_1 a_2} = L_1(E_1)_0 / L_1(E_2)_0,$$

тобто співвідношення МЕД по різних ($E_{\text{пор}1}$, $E_{\text{пор}2}$ тощо) показниках для різних речовин — повних агоністів не залежать від їхньої спорідненості з рецептором (значень рівноважних констант утворення рецепторно-лігандних комплексів).

При сумісному введенні L_1 , L_2 одночасно і конкурентно утворюються комплекси $[RL_1]$, $[RL_2]$. Порогові ефекти $E_{\text{пор}1}$, $E_{\text{пор}2}$ спостерігаються за умови

$$[RL_1] + [RL_2] = a_1 [R_0], \quad [RL_1] + [RL_2] = a_2 [R_0],$$

$$[RL_1] = \frac{R_0 L_2(E)_i}{K_{L1} \left(1 + \frac{L_2(E)_i}{K_{L2}} \right) + L_1(E)_i}, \quad [RL_2] = \frac{R_0 L_1(E)_i}{K_{L2} \left(1 + \frac{L_1(E)_i}{K_{L1}} \right) + L_2(E)_i},$$

$$L_1(E_1)_i = \frac{K_{L1} a_1}{1 - a_1} - \frac{K_{L1}}{K_{L2}} L_2(E_1)_i, \quad L_1(E_2)_i = \frac{K_{L1} a_2}{1 - a_2} - \frac{K_{L1}}{K_{L2}} L_2(E_2)_i.$$

Підставивши раніше отримані порогові величини L_1 , L_2 у наведену рівняння при їхньому роздільному введенні, одержимо

$$L_1(E_2)_i = L_1(E_2)_0 - \frac{L_1(E_2)_0}{L_2(E_2)_0} L_2(E_2)_i, \quad L_1(E_2)_i = L_1(E_2)_0 - \frac{L_1(E_2)_0}{L_2(E_2)_0} L_2(E_2)_i.$$

Таким чином, ізоболі повних агоністів (їхні внутрішні активності α дорівнюють одиниці), що конкурентно утворюють рецепторно-лігандні комплекси, є лінійними. Якщо досліджується кілька показників біологічної дії — їхні ізоболі паралельні. В термінах ІДА лінійні ізоболі свідчать про сумачію ефектів компонентів лікарської суміші [17].

МЕД і СОМ. Порогові ефекти спостерігаються при утворенні мінімальної ефективної частки a рецепторно-лігандних комплексів в активній формі ($[RL]_{\text{пор}}$):

$$[RL]_{\text{пор}}^{\times} = a [R_0] = \frac{\alpha R_0 L_{\text{пор}}}{K_L + L_{\text{пор}}}, \quad L_{\text{пор}} = \frac{a K_L}{\alpha - a}.$$

З рівняння випливає, що розвиток порогових ефектів можливий при роботі із частковими агоністами ($\alpha < 1$) при $\alpha > a$.

Ізодинамічний аналіз МЕД в термінах СОМ. Якщо досліджують два ліганди L_1, L_2 з внутрішніми активностями α_1, α_2 , то

$$L_1(E_1)_0 = \frac{K_{L1} a_1}{\alpha_1 - a_1}, \quad L_1(E_2)_0 = \frac{K_{L1} a_2}{\alpha_1 - a_2},$$

$$L_1(E_1)_0 / L_1(E_2)_0 = \frac{a_1 \alpha_1 - a_1 a_2}{a_2 \alpha_1 - a_1 a_2}.$$

Аналогічно для L_2

$$L_2(E_1)_0 / L_2(E_2)_0 = \frac{a_1 \alpha_2 - a_1 a_2}{a_2 \alpha_2 - a_1 a_2}.$$

Ці величини також не залежать від спорідненості лігандів з рецептором, однак на відміну від попередньої моделі, де $\alpha_1 = \alpha_2 = 1$, для різних лігандів (L_1, L_2, \dots) рівні тільки при $\alpha_1 = \alpha_2$ і т. д. При сумісному введенні L_1, L_2 одночасно утворюються комплекси $[RL_1], [RL_2]$ в активних та неактивних формах. Порогові ефекти E_1, E_2 спостерігаються у випадках:

$$[RL_1] + [RL_2] = a_1 [R_0], \quad [RL_1] + [RL_2] = a_2 [R_0],$$

$$[RL_1] = \alpha_1 [RL_1], \quad [RL_2] = \alpha_2 [RL_2],$$

$$[RL_1] = \frac{\alpha_1 R_0 L_1(E)_i}{K_{L1} \left(1 + \frac{L_2(E)_i}{K_{L2}} \right) + L_1(E)_i},$$

$$[RL_2] = \frac{\alpha_2 R_0 L_2(E)_i}{K_{L2} \left(1 + \frac{L_1(E)_i}{K_{L1}} \right) + L_2(E)_i},$$

$$L_1(E_1)_i = \frac{K_{L1} a_1}{\alpha_1 - a_1} - \frac{K_{L1}}{K_{L2}} \frac{a_2 - a_1}{\alpha_1 - a_1} L_2(E_1)_i,$$

$$L_1(E_2)_i = \frac{K_{L1} a_2}{\alpha_1 - a_2} - \frac{K_{L1}}{K_{L2}} \frac{a_2 - a_2}{\alpha_1 - a_2} L_2(E_2)_i,$$

тобто

$$L_1(E_1)_i = L_1(E_1)_0 - \frac{L_1(E_1)_0}{L_2(E_1)_0} L_2(E_1)_i,$$

$$L_1(E_2)_i = L_1(E_2)_0 - \frac{L_1(E_2)_0}{L_2(E_2)_0} L_2(E_2)_i.$$

Таким чином, ізоболі агоністів (повних — $\alpha = 1$ та часткових — $0 < \alpha < 1$), що конкурентно утворюють рецепторно-лігандні комплекси, лінійні, але при реєстрації кількох порогових показників — паралельні тільки за умови однакових внутрішніх активностей компонентів досліджуваних лікарських сумішей.

Ізодинамічний аналіз МЕД в термінах РАМ, КАМ. Аналіз результатів дослідів, представлених в цій роботі, які виконано відповідно до наведених вище більш простих моделей (ПОМ, СОМ), не потребує обґрунтування формального апарата, який інтерпретує ІДА в термінах РАМ, КАМ. Відзначимо, що ізодинамічні діаграми лігандів, які взаємодіють з рецепторами відповідно до механізмів РАМ, КАМ, мають нелінійну (гіперболічну) форму. В термінах ІДА вони позначаються як ізоболі, що свідчить про антагонізм і потенціювання ефектів компонентів лікарських сумішей. Важливо підкреслити, що терміни «сумація», «антагонізм», «потенціювання», які використовуються в ІДА, не відповідають дійсним механізмам взаємодії лігандів і рецепторів.

Прикладом використання даних підходів може бути вивчення динаміки значень МЕД (ДКС, ДТЕ) Бк, Пк, Пт в інтактних тварин (табл. 5.2).

Таблиця 5.2. Значення МЕД (мг/кг) судомних сполук, що викликають розвиток ДКС і ДТЕ при внутрішньовенній інфузії мишам ($M \pm m, n$ — кількість тварин в групі)

Сполука	ДКС	n	ДТЕ	n
Бікукулін	0,652 ± 0,058	16	1,01 ± 0,072	16
Пікротоксин	47,71 ± 3,01	8	66,37 ± 3,96	8
Пентилентетразол	48,42 ± 4,11	14	89,98 ± 6,27	10

Зміна МЕД за показниками ДКС і ДТЕ залежно від співвідношення компонентів (Бк, Пк, Пт), що вводилися тваринам у суміші, наведено на ізодинамічних діаграмах (рис. 5.3). Виявлені залежності інтерпретовані як лінійні, параметри їхнього регресивного аналізу представлено в табл. 5.3.

Таблиця 5.3. Параметри зміни МЕД судомних сполук за показниками ДКС, ДТЕ у мишей при введенні їм сумішей

Параметр	Пт (y) + Пк (x)		Пт (y) + Бк (x)		Пк (y) + Бк (x)	
	ДКС	ДТЕ	ДКС	ДТЕ	ДКС	ДТЕ
$y_0 \pm m_y$	50,29 ± 3,05	92,98 ± 5,7	40,35 ± 2,45	70,35 ± 4,78	32,29 ± 2,97	53,99 ± 32,65
$b \pm m_b$	-0,86 ± 0,099	-1,24 ± 0,13	-57,03 ± 5,34	-63,63 ± 6,42	-55,05 ± 5,88	-51,98 ± 4,89
t_b	2,33		0,79		0,4	
$t_{таб}$	{1,99; 2,64; 3,42}		{1,98; 2,63; 3,39}		{2,00; 2,66; 3,46}	
$x_0 \pm m_x$	58,49 ± 7,6	74,98 ± 9,13	0,71 ± 0,078	1,11 ± 0,13	0,71 ± 0,09	1,04 ± 0,12
B	0,985 ± 0,379	0,738 ± 0,265	0,013 ± 0,0016	0,011 ± 0,001	0,014 ± 0,0015	0,015 ± 0,0013
t	0,53		1,05		0,5	

Примітки. b — коефіцієнт лінійної регресії; $t_b, t_{таб}$ — значення коефіцієнта Ст'юдента; $B_1 = \text{МЕД КС}_y / \text{МЕД КС}_x; B_2 = \text{МЕД ТЕ}_y / \text{МЕД ТЕ}_x$.

Виявлені лінійні зміни МЕД (табл. 5.3) при сумісній інфузії лігандів різних субодиниць ГАМК-рк — судомних агентів (агоністів (рис. 5.3)), а також при їхній інфузії на тлі попереднього введення ліганду хлорного іонофору ГАМК-рк з протисудомною дією барбіталу натрію (ББ) (рис. 5.4)) переконливо свідчать про конкурентні (псевдоконкурентні) механізми їхньої взаємодії з постсинаптичним рецепторно-іонофорним комплексом нейронів у цілісній біосистемі, що відповідають ПОМ та СОМ, представленим в теоретичній частині.

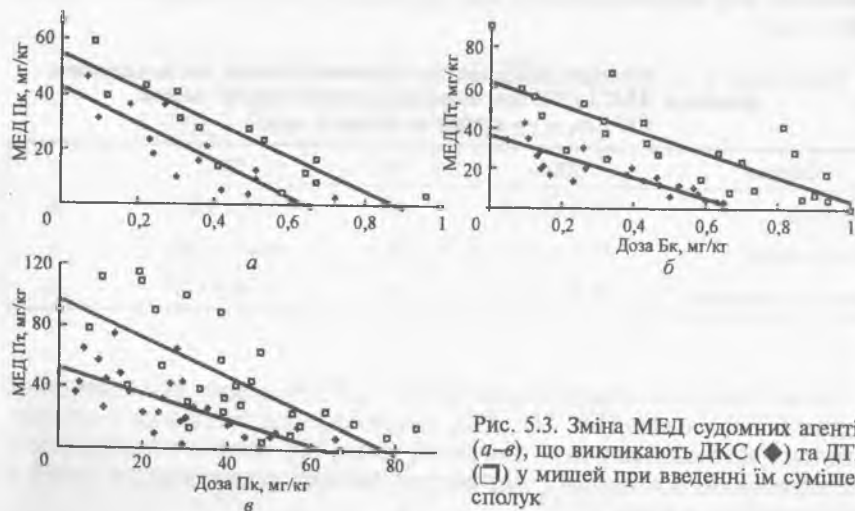


Рис. 5.3. Зміна МЕД судомних агентів (а-б), що викликають ДКС (◆) та ДТЕ (□) у мишей при введенні їм сумішей сполук

З аналізу особливостей динаміки МЕД у термінах ОФМ випливає, що для визначення відповідності дослідних даних ПОМ чи СОМ необхідно співставити як мінімум дві ізоболі, порогові ефекти яких (ДКС, ДТЕ) є результатом утворення різних мінімальних ефективних частин ($a_{ДКС}, a_{ДТЕ}$) рецепторно-лігандних комплексів (в нашому випадку — ДКС, ДТЕ), якщо вони лінійні, визначити достовірність різниці їхніх коефіцієнтів (табл. 5.3). Як видно з дослідних даних (рис. 5.3, а) і результатів їхнього аналізу (табл. 5.3), при сумісному введенні мишам Пк, Бк ізодинамічні діаграми за показниками ДКС, ДТЕ лінійні й строго паралельні, тобто обидва ліганди ГАМК-рк є повними агоністами ($\alpha_{Бк} = \alpha_{Пк} = 1$), у них рівні внутрішні активності ($\alpha_{Бк} = \alpha_{Пк}$).

Оскільки Пк — блокатор хлорного іонофору ГАМК-рк, а Бк — конкурентний антагоніст ГАМК, перше припущення здається більш переконливим. Механізми дії та місця рецепції Бк, Пк на субодиницях ГАМК-рк різні [39, 40]. Отже, лінійні зміни (рис. 5.3, а) МЕД сумішей Пк, Бк з різними співвідношеннями компонентів є наслідком їхньої «псевдоконкурентної» взаємодії, механізм якої відповідає в загальному випадку РАМ, але в організмі здійснюються взаємовиключні процеси утворення рецепторно-лігандних комплексів (рецептор Пк або рецептор Бк). Тому дослідні дані формально можуть бути інтерпретовані СОМ (для випадку $\alpha_{Бк} = \alpha_{Пк}$) чи ПОМ (при $\alpha_{Бк} = \alpha_{Пк} = 1$). Вагомим підтвердженням функціонування ГАМК-рк в цілісній біосистемі (*in vivo*) відповідно до «псевдоконкурентного» механізму, котрий формально може бути представлений СОМ (як окремим випадком РАМ), є лінійні ізоболі, що реєструються при сумісному введенні Пт, Бк (рис. 5.3, б), Пт, Пк (рис. 5.3, в). В останньому випадку (Пт + Пк) достовірно розрізняються коефіцієнти регресії їхніх ізобол за показниками ДКС, ДТЕ (табл. 5.3), що припускає меншу внутрішню активність Пт порівняно з Пк. Це дозволяє визначити дію Пт як частковий агонізм, на відміну від Пк, Бк — повних агоністів. Виявлені нами раніше [4,11] гіперболічні (гіперболи першого порядку) зміни МЕД (ДКС, ДТЕ) Пт, Бк на тлі попередніх введень зростаючих доз ліганду (модулятора) ГАМК-рк феназепаму та інших похідних 1,4-бенздіазепіну, у співставленні з результатами цього дослідження можуть бути несуперечливо інтерпретовані РАМ або окремим випадком РАМ для взаємовиключних процесів утворення рецепторно-лігандних комплексів.

В наступних дослідних серіях (рис. 5.4, табл. 5.4) виявлене лінійне зростання МЕД (ДКС, ДТЕ) Бк, Пк, відносно попередньо введених зростаючих доз конкурентного чи псевдоконкурентного агоніста Пк — ББ.

Внутрішньочеревне введення тваринам за 1 год перед інфузією лігандів ГАМК-рк зростаючих доз ББ призводить до збільшення

Таблиця 5.4. Параметри зміни МЕД судомних сполук за показниками ДКС, ДТЕ у мишей при введенні їм ББ

Параметр	Бк		Пг		Пк	
	ДКС	ДТЕ	ДКС	ДТЕ	ДКС	ДТЕ
$y_0 \pm m_y$	$0,819 \pm 0,062$	$1,25 \pm 0,026$	$56,236 \pm 1,29$	$84,929 \pm 5,046$	$52,72 \pm 0,37$	$63,65 \pm 7,121$
$b \pm m_b$	$0,0037 \pm 0,0008$	$0,0095 \pm 0,0004$	$0,834 \pm 0,023$	$2,035 \pm 0,09$	$0,32 \pm 0,015$	$0,613 \pm 0,197$
$y_n \pm m_{y0}$	$0,54 \pm 0,14$		$36,32 \pm 1,31$		$40,747 \pm 0,699$	
$x_n \pm m_x$	$-74,5 \pm 9,55$		$-23,88 \pm 6,26$		$-37,35 \pm 21,99$	
$x_0 \pm m_{x0}$	$-221,22 \pm 50,71$	$-131,67 \pm 6,21$	$-67,45 \pm 2,4$	$-41,73 \pm 3,09$	$164,44 \pm 7,63$	$103,78 \pm 35,32$
t_{y_n}	3,88		27,94		38,21	
t_{x_n}	7,8		3,81		1,698	

МЕД за обома реєстрованими показниками відносно контрольних значень (рис. 5.4). Зміни значень ДКС, ДТЕ відносно введених доз ББ лінійні. Параметри регресивного аналізу ізобол, наведених на рис. 5.4, представлено в табл. 5.4.

З результатів дослідів випливає, що внутрішня активність ББ (іББ) нижча за мінімальні ефективні частини ($a_{ДКС}$, $a_{ДТЕ}$) судомних показників, що реєструються (ДКС, ДТЕ). Дію ББ потрібно визна-

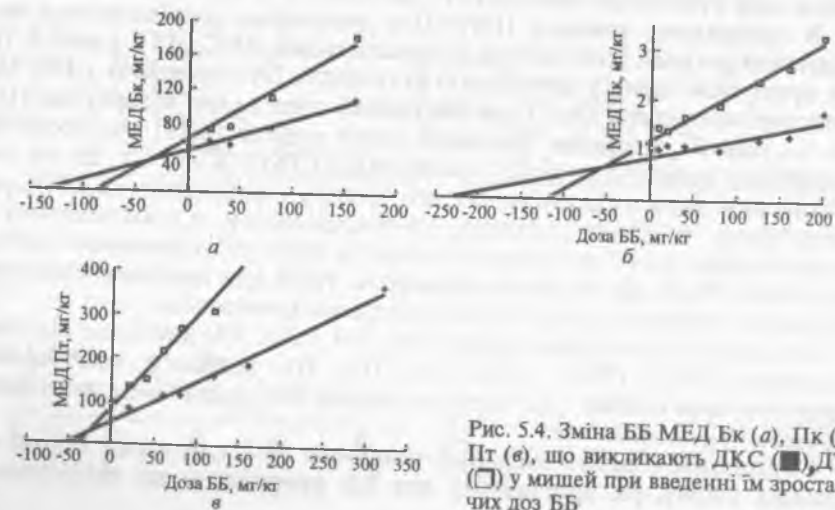
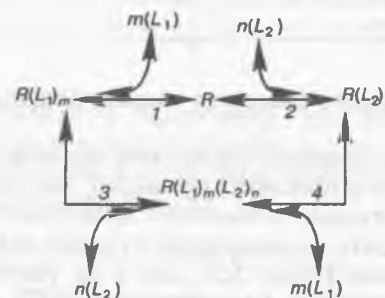


Рис. 5.4. Зміна ББ МЕД Бк (а), Пк (б), Пг (в), що викликають ДКС (■), ДТЕ (□) у мишей при введенні їм зростаючих доз ББ

чити як протисудомну, антагоністичну (конкурентний чи псевдоконкурентний антагонізм) ефектам Бк, Пк, Пг, що формально відповідає СОМ як окремому випадку РАМ. Тоді, якщо припустити, що ББ є повним псевдоконкурентним антагоністом досліджуваних судомних агентів ($a_{ББ} = 0$), ізобол (y_n , див. табл. 5.4) за показниками ДКС, ДТЕ повинні перетинатися на осі абсцис.

Якщо ж $0 < a_{ББ} < a_{ДКС} < a_{ДТЕ}$, то y_n достовірно більше нуля, що виявлено у всіх дослідних серіях. Це дозволяє охарактеризувати дію ББ на цілісний організм як частковий псевдоконкурентний антагонізм фармакологічним (судомним) ефектам Пк, Пг, Бк. Особливо підкреслимо можливість і зручність використання аналітичного апарата ОФМ при ізодинамічному аналізі МЕД для визначення порядку (кооперативності) процесів рецепторно-лігандних взаємодій. Якщо припустити процеси (схема 5.1, 1-4) взаємодії (m , n молекул) лігандів L_1 , L_2 з рецептором, при якому відповідно до РАМ утворюються рецепторно-лігандні комплекси ($R(L_1)_m$, $R(L_2)_n$, $R(L_1)_m(L_2)_n$):

Схема 5.1



то за умови перебігу тільки процесів 1, 2 (псевдоконкурентний тип взаємодії, відзначений у всіх дослідних серіях даного дослідження) зміна МЕД при сумісному введенні L_1 , L_2 складе

$$\left(\frac{L_1(E_{\text{пор}})_i}{L_1(E_{\text{пор}})_0} \right)^m = 1 - \left(\frac{L_2(E_{\text{пор}})_i}{L_2(E_{\text{пор}})_0} \right)^n$$

При $n = m = 1$ залежність лінійна (табл. 5.5), а при n та (чи) $m > 1$ описує нелінеаризовану опуклу криву, що позначається в термінах ІДА як антагоністична взаємодія ліків [14]. Якщо в системі здійснюються всі процеси 1-4 — залежність при $n = m = 1$ має форму гіперболи першого порядку. Гіперболічне (першого порядку) зростання МЕД (ДКС, ДТЕ) Бк, Пк, Пг було відзначене нами раніше

Таблиця 5.5. Форми залежностей і порядок процесів взаємодії екзогенних лігандів різних субодиниць ГАМК-рк, результуючий ефект яких визначений *in vivo* як МЕД (ДКС, ДТЕ)

Субодина ниці ГАМК-рк	Кількість субодиниць в структурі ГАМК-рк	Екзогенні ліганди субодина ниць ГАМК-рк	Форма і порядок процесу взаємодії з іншими лігандами ГАМК-рк				
			Бк	Бд	Пк	Пг	ББ
ГАМК-рецептор	8	Бк	—	Гіпер- болічна	Лінійна	Лінійна	Лінійна
Бд-рецептор	4	Бд	1	—	Гіпер- болічна	Гіпер- болічна	Потенці- ювання (форма невідомо)
СГ-іонофор	1	Пк	1	1	—	Лінійна	Лінійна
		Пг	1	1	1	—	»
		ББ	1	*	1	1	—

* Потенціювання протисудомної дії при сумісному введенні ББ, Бд [2]. Форма потенціювання не визначена.

[4, 11] на тлі попереднього введення мишам похідних 1,4-бенздіазепіну (табл. 5.5).

Це дослідження підтверджує попередній висновок [11] щодо функціонування ГАМК-рк в цілісному організмі, яке здійснюється шляхом утворення рецепторно-лігандного комплексу однією з його субодиниць і призводить до модуляції функцій всього рецепторно-іонофорного комплексу (табл. 5.5), що (як результуючий ефект) детерміновано позначається на значеннях МЕД за показниками ДКС, ДТЕ.

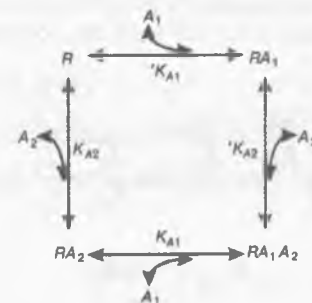
5.4. Алостерична і поліконформаційна моделі ГАМК-рк та алгоритм ізодинамічного аналізу МЕД екзогенних лігандів

У попередньому параграфі нами були визначені параметри формально- і псевдоконкурентних взаємодій екзогенних лігандів постсинаптичного Бк — чутливого ГАМК_A-рецепторно-іонофорного комплексу (ГАМК-рк) у термінах простої (ПОМ) і складної ОФМ (СОМ).

Нижче наведено алгоритм аналізу МЕД у термінах РАМ. Розглядаються особливості виявлення *in vivo* функціонування ГАМК-рк як поліконформаційної рецепторно-ефекторної системи ЦНС у співставленні з літературними даними про механізми взаємодії даних лігандів *in vitro* і динаміка МЕД лігандів ГАМК-рк, аналізуються дослідні дані відповідно до формального апарату регуляторної (алостеричної) ОФМ (РАМ).

Обґрунтування підходу. РАМ, окремим випадком якої є СОМ, описує рівноважні процеси взаємодії лігандів L_1, L_2 і рецепторів R , результатом яких є фармакологічний ефект [10,41]. На відміну від СОМ, у якій припускаються конкурентні взаємодії L_1, L_2 при утворенні рецепторно-лігандних комплексів (RL_1, RL_2) з рівноважними константами їхнього розпаду (K_{L1}, K_{L2}), у РАМ представлено також процеси утворення рецепторно-лігандного комплексу RL_1L_2 з рівноважними константами його розпаду до RL_2 (K_{L2}) та до RL_1 (K_{L1}):

Схема 5.2



Сумісна присутність у середовищі, що вміщує R (у вихідній кількості (R_0)) ліганду в концентраціях L_{1j} та L_{2j} , у результаті зворотного процесу утворення — розпаду комплексів RL_1, RL_2, RL_1L_2 , визначає їхній рівноважний вміст

$$\begin{cases}
 [R_0] = [RL_1]_{i,j} + [RL_2]_{i,j} + [RL_1L_2]_{i,j} + [R]_{i,j}, \\
 [RL_1]_{i,j} = [R_0] \left(\frac{\frac{L_{1,j}}{K_{L1}}}{\left(1 + \frac{L_{2,j}}{K_{L2}}\right) + \frac{L_{1,j}}{K_{L1}} \left(1 + \frac{L_{2,j}}{K_{L2}}\right)} \right), \\
 [RL_2]_{i,j} = [R_0] \left(\frac{\frac{L_{2,j}}{K_{L2}}}{\left(1 + \frac{L_{2,j}}{K_{L2}}\right) + \frac{L_{1,j}}{K_{L1}} \left(1 + \frac{L_{2,j}}{K_{L2}}\right)} \right), \\
 [RL_1L_2]_{i,j} = [R_0] \left(\frac{\frac{L_{1,j}}{K_{L1}} \frac{L_{2,j}}{K_{L2}}}{\left(1 + \frac{L_{2,j}}{K_{L2}}\right) + \frac{L_{1,j}}{K_{L1}} \left(1 + \frac{L_{2,j}}{K_{L2}}\right)} \right).
 \end{cases} \quad (5.15)$$

Припускається, що внутрішня активність притаманна не тільки (як у СОМ) комплексам RL_1 , RL_2 (${}^1\alpha$, ${}^2\alpha$), а й RL_1L_2 (${}^{1,2}\alpha$). Необхідно підкреслити, що внутрішня активність — характеристика рецепторно-лігандних комплексів (наприклад, RL_1L_2), а не лігандів, як часто трактується у фармакологічній літературі. Фармакологічний ефект E_{ij} , обумовлений сумісною дією на рецептори лігандів у концентраціях L_{1i} , L_{2j} , припускається рівним:

$$E_{i,j} = {}^1\alpha [RL_1]_{i,j} + {}^2\alpha [RL_2]_{i,j} + {}^{1,2}\alpha [RL_1L_2]. \quad (5.16)$$

Підставивши залежність вмісту рецепторно-лігандних комплексів від концентрації лігандів з (5.15) у (5.16), отримаємо

$$E_{i,j} = [R_0] \left[\frac{{}^1\alpha L_{1i} + \frac{{}^2\alpha L_{2j}}{K_{L2}} + \frac{{}^{1,2}\alpha L_{1i} L_{2j}}{K_{L1} K_{L2}}}{1 + \frac{L_{1i}}{K_{L1}} + \frac{L_{2j}}{K_{L2}} \left(1 + \frac{L_{1i}}{K_{L1}}\right)} \right], \quad (5.17)$$

$$E_{\infty, \infty} = {}^{1,2}\alpha [R_0], \quad (5.17a)$$

$$E_{\infty, j} = \frac{[R_0] \left({}^1\alpha + \frac{{}^{1,2}\alpha L_{2j}}{K_{L2}} \right)}{1 + \frac{L_{2j}}{K_{L2}}}, \quad (5.17б)$$

$$E_{i, \infty} = \frac{[R_0] \left({}^2\alpha + \frac{{}^{1,2}\alpha L_{1i}}{K_{L1}} \right)}{1 + \frac{L_{1i}}{K_{L1}}}. \quad (5.17в)$$

МЕД і РАМ. В попередніх роботах [10,11] припускали, що МЕД екогенних і ендогенних лігандів викликають утворення мінімальних ефективних (порогових) частин $a_{\text{еф}}$ (або концентрацій) рецепторно-лігандних комплексів (RL_1 , RL_2 , RL_2L_1) у активній формі, достатній для реєстрації порогового ефекту

$$a_{\text{еф}} R = {}^1\alpha [RL_1] + {}^2\alpha [RL_2] + {}^{1,2}\alpha [RL_1L_2]. \quad (5.18)$$

Підставивши рівняння (5.17) у (5.18), отримаємо варіант (5.17) для МЕД, відповідно здійснивши перестановки, отримаємо вираз для порогової дози $L_1(L_{1,\text{пор},i})$ при наявності у середовищі $L_2(L_{2,\text{пор},j})$ та, навпаки

$$\begin{cases} L_{1,\text{пор},j} = \frac{\frac{K_{L1} a_{\text{еф}} \left(1 - \frac{{}^2\alpha - a_{\text{еф}}}{a_{\text{еф}}} \frac{L_{2,\text{пор},j}}{K_{L2}} \right)}{{}^1\alpha - a_{\text{еф}}}}{1 + \frac{L_{2,\text{пор},j}}{K_{L2}} \left(\frac{{}^{1,2}\alpha - a_{\text{еф}}}{{}^1\alpha - a_{\text{еф}}} \right)}, \\ L_{2,\text{пор},j} = \frac{\frac{K_{L2} a_{\text{еф}} \left(1 - \frac{{}^1\alpha - a_{\text{еф}}}{a_{\text{еф}}} \frac{L_{1,\text{пор},j}}{K_{L1}} \right)}{{}^2\alpha - a_{\text{еф}}}}{1 + \frac{L_{1,\text{пор},j}}{K_{L1}} \left(\frac{{}^{1,2}\alpha - a_{\text{еф}}}{{}^1\alpha - a_{\text{еф}}} \right)}. \end{cases} \quad (5.19)$$

За відсутності L_2 ($L_2 = 0$), $L_{1,\text{пор},i,0} = K_{L1} a_{\text{еф}} / ({}^1\alpha - a_{\text{еф}})$, а при $L_1 = 0$, $L_{2,\text{пор},i,0} = K_{L2} a_{\text{еф}} / ({}^2\alpha - a_{\text{еф}})$. Якщо прийняти $\frac{{}^{1,2}\alpha - a_{\text{еф}}}{{}^1\alpha - a_{\text{еф}}} = -b$, знаючи з ефекту зворотності молекулярних процесів, що $\alpha K_{L2} K_{L1} = \alpha K_{L1} K_{L2}$, маємо

$$\begin{cases} L_{1,\text{пор},i} = \frac{L_{1,\text{пор},0} \left(1 + \frac{L_{2,\text{пор},i}}{L_{2,\text{пор},0}} \right)}{1 - \frac{L_{2,\text{пор},i}}{b}}, \\ L_{2,\text{пор},i} = \frac{L_{2,\text{пор},0} \left(1 + \frac{L_{1,\text{пор},i}}{L_{1,\text{пор},0}} \right)}{1 - \frac{L_{1,\text{пор},i}}{b} \frac{L_{2,\text{пор},i}}{L_{2,\text{пор},0}}}, \end{cases} \quad (5.20)$$

тобто при $b = \pm\infty$ (якщо $K_{L2} \rightarrow \infty$ або ${}^{1,2}\alpha = a_{\text{еф}}$) ми повинні у досліді отримати лінійні залежності зростання (чи зниження МЕД: $L_{1,\text{пор},i}$ (або $L_{2,\text{пор},i}$) на тлі введення зростаючих доз L_2 (або L_1), описаних нами раніше [11] у термінах СОМ. Якщо b — реальна величина, то взаємодія лігандів з утворенням рецепторно-лігандних комплексів, викликаючих розвиток МЕД, за формою гіперболічна (див. рівняння (5.19), (5.20)) і може бути інтерпретована у термінах РАМ.

Алгоритм математичної обробки дослідних даних при ізодинамічному аналізі МЕД лігандів, механізм взаємодії яких з рецепторами відповідає формальному апарату РАМ. Наведені у попередньому параграфі рівняння (5.19), (5.20) є гіперболами першого порядку. Для лаконічності запису прийемо $L_{1,\text{пор},i} = y$, $L_{1,\text{пор},0} = y_0$;

$L_{2,пор,i} = x$; $L_{2,пор,i} = x_0$, тоді рівняння (5.19), (5.20) будуть мати вигляд

$$(y - a)(x - b) = c, \quad (5.21)$$

$$y = \frac{c - ba + xa}{x - b}, \quad (5.21a)$$

$$x = \frac{c - ba + yb}{y - a}, \quad (5.21б)$$

де a, b — асимптотичне значення відповідно y при $x \rightarrow \pm\infty$ та x при $y \rightarrow \pm\infty$.

При аналізі дослідних даних оперуємо значеннями x_0, y_0 , якщо обидва ліганди-агоністи та y_0 , якщо ліганд xL_2 антагоніст або зворотний агоніст ($^2\alpha \leq 0$) і параметри гіпербол виразимо через ці величини. З рівняння (5.21) можна отримати: $y_0 = a - cb^{-1}$, $x_0 = b - ca^{-1}$, $x_0 y_0^{-1} = ba^{-1}$, а рівняння (5.21 а), (5.21 б) записати як

$$\begin{cases} y = \frac{y_0 \left(1 - \frac{x}{x_0}\right)}{1 - \frac{x}{b}}, \\ x = \frac{x_0 \left(1 - \frac{y}{y_0}\right)}{1 - \frac{y}{a}} = \frac{x_0 \left(1 - \frac{y}{y_0}\right)}{1 - \frac{y x_0}{b y_0}}, \end{cases} \quad (5.22)$$

що відповідає рівнянню (5.20). Якщо $b \rightarrow \pm\infty$, обидва рівняння (5.22) вироджуються в лінійні.

Послідовність процедур (алгоритм) при математичній обробці дослідних даних (відповідно з рівняння (5.22)) така.

1. Якщо обидві сполуки у досліді викликають реєстрований ефект при їхньому роздільному введенні (x_0, y_0 — дійсні додатні величини, що визначаються дослідним шляхом), тобто x, y — агоністи, то аналіз зводиться до визначення лінійності (нелінійності) ізобол (залежностей x від y). З рівняння (5.22) випливає, що якщо $b \rightarrow \pm\infty$, залежність лінійна. Визначимо величину b_i^{-1}

$$b_i^{-1} = \frac{1}{x_i} \left(1 - \frac{y_0}{y_i} + \frac{y_0}{x_0}\right) \quad (5.23)$$

для всіх дослідних значень x_i, y_i ; потім середню величину $b_{ср}^{-1}$, параметри її варіації [41], обґрунтуємо достовірність відмінностей $b_{ср}^{-1} \pm m_b$ від нуля [41].

2. Якщо ліганд y — агоніст (y_0 — додатна величина, що визначається дослідно), а x — зворотний агоніст або антагоніст (x_0 має від'ємне значення), то x_0 слід визначати з дослідних даних

$$x_{0,i} = x_i \left(\frac{y_i}{y_0} - 1\right)^{-1}, \quad (5.24)$$

потім визначаємо її середні значення і параметри варіації [20]. Наступні обчислення — відповідно до п.1.

3. Якщо $b_{ср}^{-1} \pm m$ достовірно відрізняється від нуля, залежність між дослідними значеннями (x_i, y_i) потрібно вважати криволінійною (гіперболічною). Тоді аналіз ґрунтується на такій процедурі: від величин y_i з рівняння (5.22) віднімаємо y_0

$$y_i - y_0 = \frac{x_i y_0 \left(\frac{1}{b} - \frac{1}{x_0}\right)}{1 - \frac{x_i}{b}}, \quad (5.25)$$

далі використовуємо обернені величини

$$\frac{1}{y_i - y_0} = \frac{1}{x} \left[\frac{1}{\frac{y_0}{b} - \frac{y_0}{x_0}} \right] - \left[\frac{1/b}{b - \frac{y_0}{x_0}} \right] \quad (5.26)$$

Лінійна залежність в координатах $(1/(y_i - y_0); 1/x_i)$ характерна для всіх ізобол лігандів, механізми взаємодії, яких з рецепторами відповідають РАМ.

Коефіцієнт $1/(y_0/b - y_0/x_0)$ визначається при підстановці $y_0/x_0 = a/b$ з рівняння (5.22), тоді його можна записати як $b/(y_0 - a)$, а вільний член як $b^{-1}/(y_0/b - y_0/x_0)$ чи як $-1/(y_0 - a) = 1/(a - y_0)$. Перетин розрахункових значень лінеаризованої кривої $(1/(y_i - y_0) = 0)$ з абсцисою $(1/x)$ відбувається при $1/x_i = b^{-1}$.

Якщо криві переходять скрізь початок координат, вони лінійні у прямих координатах (y_i, x_i) , $(a, b \rightarrow \pm\infty)$, $ab^{-1}/(a - y_0) \approx b/a = x_0/y_0$. Параметри регресії $(1/(y_i - y_0); 1/x_i)$ визначаються відповідно до алгоритму МНК для подвійних зворотних величин [41]. Лінійні залежності відповідно до алгоритму МНК лінійної регресії [41].

«Дослідною» моделлю, яка відповідає опису взаємодії лігандів і

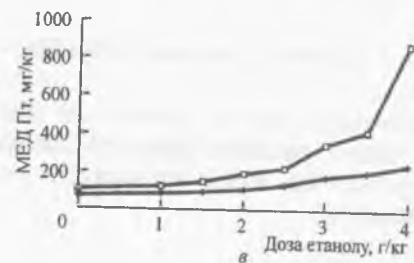
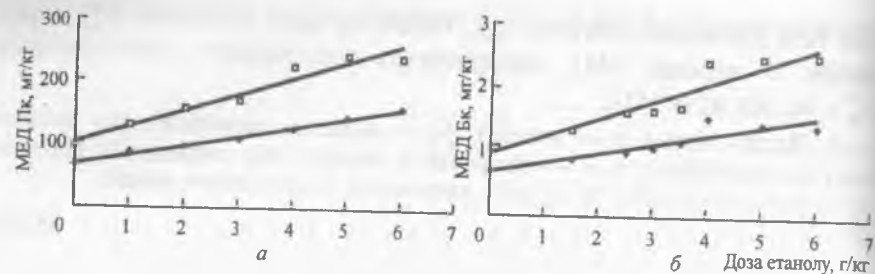


Рис. 5.5. Зміна МЕД Пк (а), Бк (б), Пт (с), що викликають ДКС (■) і ДТЕ (□) через 0,5 год після інтрагастрального введення мишам етанолу в зростаючих дозах

рецепторного комплексу тій чи іншій ОФМ, у нашій роботі є динаміка МЕД конвульсантів (Бк, Пт, Пк) при введенні позитивних модуляторів (феназепаму, етанолу).

Як видно з рис. 5.5, 5.7 для етанолу і феназепаму характерне збільшення їхнього протисудомного ефекту при введенні дослідним тваринам зростаючих доз цих сполук. Разом із тим форма залежності доза – ефект для етанолу і феназепаму при інфузії конвульсантів є

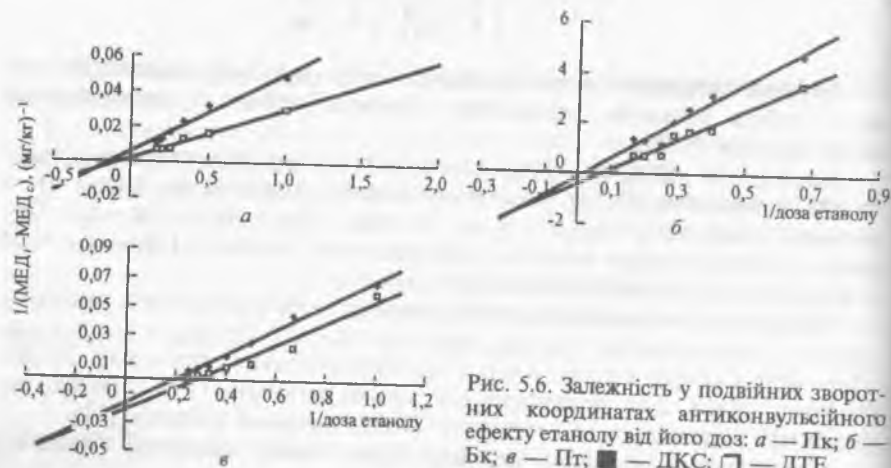


Рис. 5.6. Залежність у подвійних зворотних координатах антиконвульсійного ефекту етанолу від його доз: а — Пк; б — Бк; в — Пт; ■ — ДКС; □ — ДТЕ

різною (рис. 5.5–5.8). Так, для етанолу при інфузії Пт характерна нелінійна залежність (необмежене зростання МЕД) (рис. 5.5, с), а при введенні Пк, Бк — лінійна (рис. 5.5, а, б).

Для протисудомної дії феназепаму характерна гіперболічна залежність (обмежене зростання) МЕД Пт, Бк та лінійне зростання МЕД Пк. Апроксимація залежності доза агоніста–МЕД конвульсанта у подвійних зворотних координатах (рис. 5.6–5.8) виявила лінійну залежність для всіх вивчених конвульсантів. Але початок координат перетинають ізоболі етанолу і Пк, етанолу і Бк, феназепаму і Пк. Це згідно з алгоритмом, викладеним вище, може бути свідченням лінійної залежності. Розрахунок параметрів лінійної регресії показав, що величини $1/b$ для всіх інших вивчених лігандів достовірно відмінні від нуля ($P \leq \pm 0,001$), що підтверджує нелінійність залежності (гіперболічна). Лінійні ізоболі даних лігандів вказують на те, що механізми взаємодії їх з рецепторами відповідають РАМ.

З аналізу дослідних даних (рис. 5.5–5.8) і результатів попередніх досліджень [11,42] випливає, що модуляція функцій ГАМК-рк у цілісній біосистемі екзогенними лігандами здійснюється лінійно (конкурентний або псевдоконкурентний тип взаємодії або гіперболічно (гіперболи першого порядку, рис.1–4 [11, 42]). Обидва типи взаємодії першого порядку, тобто спостерігається відсутність проявів кооперативності ефектів. Ця особливість функціонування ГАМК_A-рк *in vivo*, яка відмічена раніше [42], лягла в основу гіпотези про функціональний блок ГАМК-рк, модуляція функцій якого викликає розвиток реєстрованих ефектів *in vivo*. На підставі дослідних даних припускаємо, що він включає одне місце зв'язування Бк, Пк, Пт, бенздіазепіну та два місця зв'язування ГАМК.

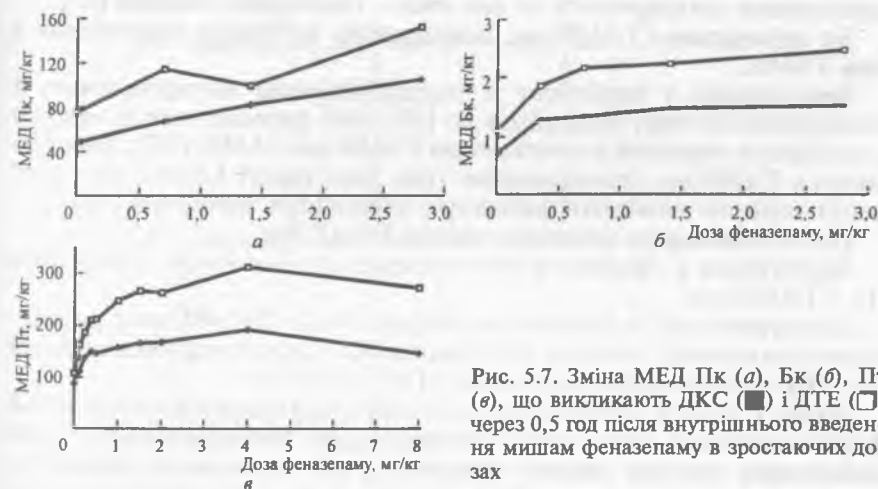
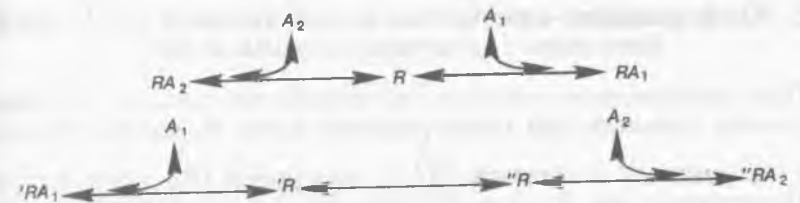


Рис. 5.7. Зміна МЕД Пк (а), Бк (б), Пт (с), що викликають ДКС (■) і ДТЕ (□) через 0,5 год після внутрішнього введення мишам феназепаму в зростаючих дозах

взаємодіють з однією й тією ж формою (конформаційним станом рецептора), але не утворюють комплексу RL_1L_2 (конкурентне відношення, наприклад, ГАМК, бікукулін); б) L_1, L_2 взаємодіють з різними конформерами ($'R, ''R$), утворюючи комплекси $'RL_1, ''RL_2$, але не утворюючи $'RL_2, ''RL_1, ''RL_1L_2, ''RL_1L_2$, що відповідає виявленому *in vitro* типу взаємодії ББ та Пк:

Схема 5.3



Тоді для опису конкурентної форми взаємодії Пк, ББ, Пт — при сумісному введенні, конкурентного їх відношення та ББ, виходячи з того, що ББ взаємодіє з R , а не з RL , необхідно приписати ГАМК-рк (*in vivo*) як мінімум чотири конформації $'R, ''R, ''''R, ''''''R$, що виявляються функціонально.

Гіперболічна залежність МЕД Пт при введенні зростаючих доз етанолу (Ет) припускає взаємодію лише з $''''R$.

Схема 5.4

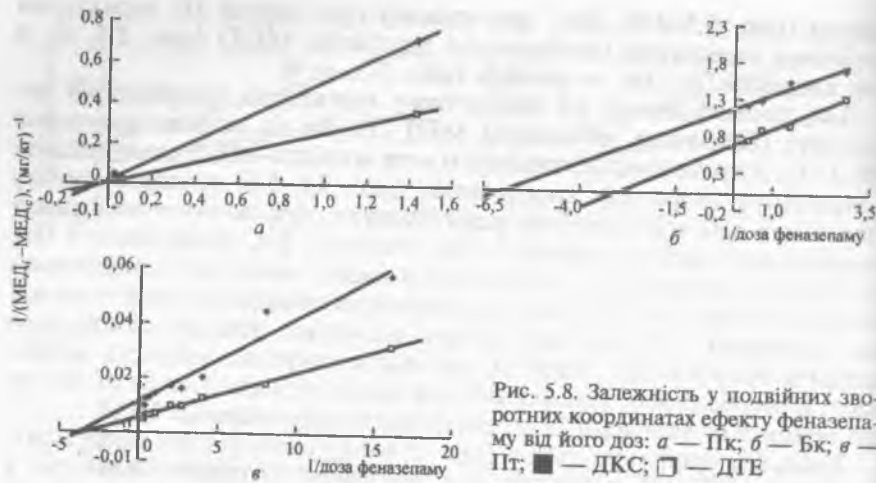
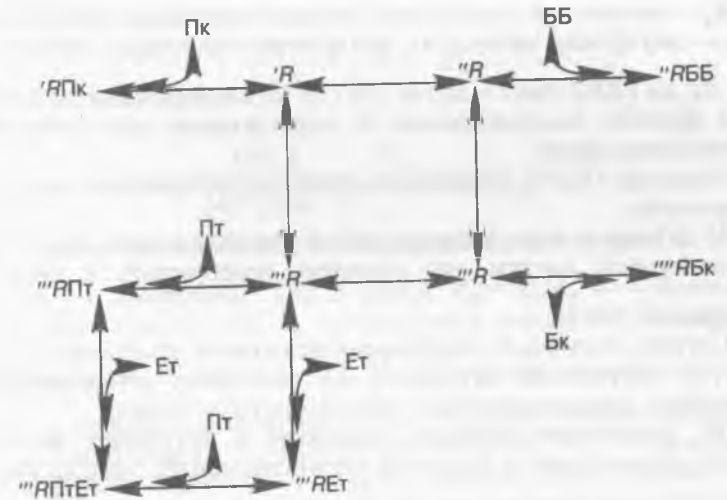


Рис. 5.8. Залежність у подвійних зворотних координатах ефекту феназепаму від його доз: а — Пк; б — Бк; в — Пт; ■ — ДКС; □ — ДТЕ

Вихідним пунктом обґрунтування механізмів функціонування ГАМК-рк *in vivo* є такі факти.

Постсинаптичний ГАМК_A-рк (R) взаємодіє *in vivo* та *in vitro* з ГАМК (Γ), його ендogenousним лігандом, медіатором гальмування у ЦНС, утворюючи рецепторно-лігандні комплекси (RL) [14]. Структура ГАМК-рк представлена п'ятьма субодиницями, дві з яких мають по одному місцю зв'язування Γ (ГАМК-рецептори) [42].

У дослідях *in vitro* показано, що ГАМК-рк може знаходитися у трьох конформаційних станах, які розрізняються провідністю іонофору та константами спорідненості до них ендо-, екзогенних лігандів [43].

Бк зв'язується з ГАМК-рк, конкурентно інгібуючи зв'язування з ним ГАМК.

Бенздіазепін і барбітурат є модифікаторами метафіноїдного і конкурентного типу відповідно до [43]. Їхні фармакологічні ефекти є наслідком взаємодії з комплексом ГАМК-рк-ГАМК ($R\Gamma$). Взаємодіючи з ГАМК-рк безпосередньо (при відсутності ГАМК у середовищі) вони не змінюють параметри провідності іонофорів [14].

Пк є блокатором хлорного каналу ГАМК-рк.

Барбітурати у дослідях *in vitro* конкурентно інгібують зв'язування Пк з ГАМК-рк.

Конкурентний за формою механізм зв'язку Пк і ББ не є результатом конкуренції за місце зв'язування. Конкурентним антагоністом ББ є бутилбіциклофосфоротіонат (ТВПС) [14,35].

Якщо у досліді спостерігається лінійна (відповідна конкурентній формі взаємодії) зміна МЕД агоніста L_1 на тлі паралельної дії рецепторну систему іншого агоніста L_2 або антагоніста (конвульсанта $\alpha < a_{ef}$), то це може бути наслідком двох процесів: а) L_1, L_2

Це можливо за умови, що α комплексу $'''R$ ПтЕт $< a_{e\phi}$.

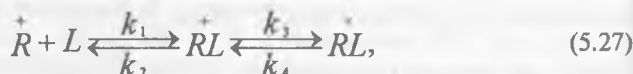
Неконкурентний тип взаємодії феназепаму (Бд) і Бк, Пт, але не Пк припускає утворення ним комплексів із RL з низькою внутрішньою активністю ($\alpha < a_{e\phi}$) з $''R$, $'''R$, $''''R$, але не $'R$ — конформаційних станів ГАМК-рк.

Проведене дослідження припускає щонайменше чотири функціонально-активні конформаційні стани ГАМК-рк *in vivo*.

5.5. Конформаційно-алостерична модель взаємодії ГАМК-рк та його ендо- і екзогенних лігандів *in vivo*

При обґрунтуванні терміну «внутрішня активність», звичайно, залучають уявлення про конформаційні зміни R , що відбуваються при утворенні RL в активній $[RL]$, неактивній $[RL]$ формах [35].

Припустимо, що R спочатку знаходиться в неактивному стані $[RL]$:



звідки

$$\alpha = \frac{k_3}{k_3 + k_4}, \quad (5.27a)$$

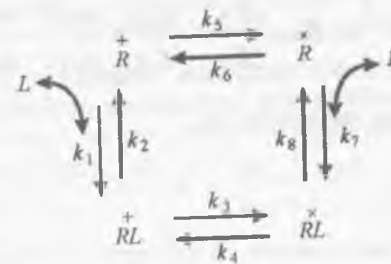
де k_3, k_4 — константи швидкостей процесу конформаційної конверсії RL ; α — внутрішня активність, що фізично відповідає ступеню конверсії RL до $[RL]$. Дана модель (5.27) у загальноприйнятій інтерпретації є фізично неспроможною та недостатньою для опису експериментальних даних.

1. Рівняння (5.27a) суперечить принципу оборотності молекулярних процесів.

2. У зв'язку з цим виникає хибне уявлення про рецептори як нефункціонуючі частки, що спочатку перебувають в неактивній конформації $[RL]$.

3. Ступінь конверсії рецепторно-лігандного комплексу в активний стан (внутрішня активність α), звичайно, інтерпретують як фізіологічну (фармакологічну) характеристику ліганду.

КАМ рецепторно-лігандної взаємодії і внутрішня активність. Фізично спроможною є зворотна «конформаційна» модель взаємодії $R - L$



Слід зауважити, що в цьому випадку

$$\alpha_R = \frac{k_5}{k_5 + k_6}, \quad (5.28)$$

$$\alpha_{RL} = \frac{k_3}{k_3 + k_4}. \quad (5.29)$$

З принципу оборотності молекулярних процесів випливає, що

$$k_5 k_7 k_4 k_2 = k_1 k_3 k_6 k_8, \quad K_R = \frac{k_6}{k_5} = \frac{k_2 k_4 k_7}{k_1 k_3 k_8},$$

$$\alpha_R = \frac{[R]}{[R] + [R]} = \frac{1}{1 + K_R} = \frac{k_5}{k_5 + k_6}, \quad K_{RL} = \frac{k_4}{k_3} = \frac{[RL]}{[RL]},$$

$$\alpha_{RL} = \frac{[RL]}{[RL] + [RL]} = \frac{k_3}{k_3 + k_4} = \frac{1}{1 + K_{RL}},$$

де k_5, k_6 — константи швидкості конформаційної конверсії R до активної $[R]$ і неактивної $[R]$ форм; $K_R = k_6/k_5$ — константа рівноваги цього процесу; k_7, k_8 — константи швидкості утворення і розпаду комплексу RL в формі $[RL]$ з $[R]$ в конформаційному стані $[R]$; K_{RL} — рівноважна константа цього процесу; інші позначення аналогічні рівнянням (5.27)–(5.29). При цьому k_1, k_7 — константи швидкості другого порядку, k_2-k_6, k_8 — першого. Якщо відомі параметри вихідного стану α_R та можна визначити параметри системи α_{RL}

при $L_i \rightarrow \infty$, тобто значення рівноважних констант дисоціації $[RL]_i$,

$$K_R \cdot K_L = K_L K_{RL}, \quad \frac{K_L}{K_L} = \frac{K_R}{\alpha_R (1 - \alpha_{RL})}$$

$[RL]_i$, (K_L, K_R) можна визначити як:

$$K_L = K_L \frac{\alpha_{RL} (1 - \alpha_R)}{\alpha_R (1 - \alpha_{RL})}, \quad K_R = K_L \frac{\alpha_R (1 - \alpha_{RL})}{\alpha_{RL} (1 - \alpha_R)}$$

Якщо в досліді визначають параметри зв'язування R та L , і останній наявний у концентрації L_i , то реестрованою величиною є кількість рецепторно-лігандного комплексу $[RL]_i = [RL]_i + [RL]_i$

$$\begin{aligned} [RL]_i &= \frac{[R]_i L_i}{K_L} = \frac{R_0 \frac{L_i}{K_L}}{1 + \frac{1}{K_R} + \frac{L_i}{K_L} + \frac{L_i}{K_L K_{RL}}} \\ [RL]_i &= \frac{[R]_i L_i}{K_L} = \frac{R_0 \frac{L_i}{K_L K_{RL}}}{1 + \frac{1}{K_R} + \frac{L_i}{K_L} + \frac{L_i}{K_L K_{RL}}} \\ [R]_i &= \frac{R_0}{1 + \frac{1}{K_R} + \frac{L_i}{K_L} + \frac{L_i}{K_L K_{RL}}} \\ [R]_i &= \frac{R_0 / K_R}{1 + \frac{1}{K_R} + \frac{L_i}{K_L} + \frac{L_i}{K_L K_{RL}}} \\ [RL]_i &= \frac{R_0 \frac{L_i}{K_L} \left(1 + \frac{1}{K_{RL}}\right)}{1 + \frac{1}{K_R} + \frac{L_i}{K_L} + \frac{L_i}{K_L K_{RL}}} \\ [RL]_i &= \frac{R_0 L_i}{K_L \left(\frac{1 - \alpha_{RL}}{1 - \alpha_R}\right) + L_i} = \frac{R_0 L_i}{K_L \frac{\alpha_{RL}}{\alpha_R} + L_i} \end{aligned} \quad (5.30)$$

Отже,

$$[RL]_i = \frac{R_0 L_i}{K_L \left(\frac{1 - \alpha_{RL}}{1 - \alpha_R}\right) + L_i} = \frac{R_0 L_i}{K_L \frac{\alpha_{RL}}{\alpha_R} + L_i} \quad (5.30a)$$

і в досліді як константа спорідненості L та R визначається величина $K_{\text{еф}}$

$$K_{\text{еф}} = K_L \left(\frac{1 - \alpha_{RL}}{1 - \alpha_R}\right) = K_L \frac{\alpha_{RL}}{\alpha_R}, \quad RL = \frac{R_0 L_i}{K_{\text{еф}} + L_i} \quad (5.30б)$$

Якщо в досліді визначають величини «результуючого параметра» (наприклад, провідність мембрани, ферментативну активність тощо), позначаючи його як дію, ефект (первинний фармакологічний ефект [20]) ліганду E_i , то при $L_i = 0$

$$E_0 = [R_0] = [R_0], \quad \alpha_R = \frac{[R_0]}{1 + K_R} = \frac{[R_0] k_5}{k_5 + k_6}$$

Наслідки наявності L_i (для спрощення формули припускаємо, що коефіцієнти розподілу між середовищем, біооб'єктом і «безпосереднім оточенням» рецептора дорівнюють одиниці) визначають як

$$\begin{aligned} E_i = [R]_i + [RL]_i &= \frac{R_0 \left[\frac{1}{K_R} + \frac{L_i}{K_L K_{RL}}\right]}{1 + \frac{1}{K_R} + \frac{L_i}{K_L} + \frac{L_i}{K_L K_{RL}}} = \frac{R_0 \left[K_L \left(\frac{1 - \alpha_{RL}}{1 - \alpha_R}\right) \alpha_R + L_i \alpha_{RL}\right]}{K_L \left(\frac{1 - \alpha_{RL}}{1 - \alpha_R}\right) + L_i} = \\ &= \frac{R_0 [K_L + L_i] \alpha_{RL}}{K_{\text{еф}} + L_i} = \frac{R_0 [K_L + L_i] \alpha_{RL}}{K_{\text{еф}} + L_i} \end{aligned} \quad (5.31)$$

Для визначення величини $E_i - E_0$ використовуємо вираз

$$E_i - E_0 = R_0 \left[\frac{K_L \left(\frac{1 - \alpha_{RL}}{1 - \alpha_R}\right) \alpha_R + L_i \alpha_{RL}}{K_L \left(\frac{1 - \alpha_{RL}}{1 - \alpha_R}\right) + L_i} - \alpha_R \right] = \frac{R_0 L_i (\alpha_{RL} - \alpha_R)}{K_{\text{еф}} + L_i} \quad (5.32)$$

При $L_i \rightarrow \infty$, $E_{L, \text{max}} - E_0 = R_0 (\alpha_{RL} - \alpha_R)$ формально досяжний, максимальний ефект E_{max} дорівнює: $E_{\text{max}} = R_0$, $E_{\text{max}} - E_0 = R_0 (1 - \alpha_R)$ (рис. 5.9).

МЕД і первинний фармакологічний ефект. Дослідження динаміки МЕД ґрунтується на припущенні, що пороговий (мінімальний) ефект $E_{\text{пор}}$ є результатом утворення в біооб'єктах мінімальної ефективної частки $a_{\text{еф}}$ рецепторів і рецепторно-лігандних комплексів в

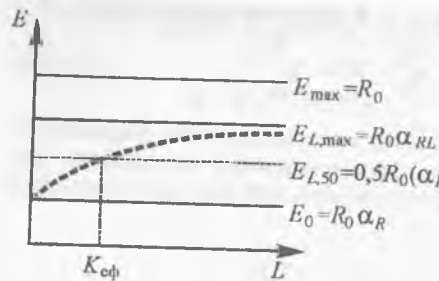


Рис. 5.9. Співвідношення внутрішньої активності рецептора R вихідної $[RL](\alpha_R)$ та спричиненої утворенням рецепторно-лігандного комплексу $[R](\alpha_{RL})$

активному стані:

$$\frac{[R]_i + [RL]_i}{[R_0]} = a_{эф} \quad (5.33)$$

З рівняння (5.31) випливає, що (5.33) тотожне виразу

$$E_i = [R]_i + [RL]_i = a_{эф} [R_0]. \quad (5.33a)$$

Отже,

$$a_{эф} = \frac{(K_L + L_{эф})\alpha_{RL}}{K_L \frac{\alpha_{RL}}{\alpha_R} + L_{эф}}$$

де $L_{эф}$ — МЕД ліганду, що дорівнює

$$L_{эф} = \frac{K_L \frac{\alpha_{RL}}{\alpha_R} (\alpha_R - a_{эф})}{a_{эф} - \alpha_{RL}} = \left(K_L \frac{\alpha_{RL}}{\alpha_R} \right) \left(\frac{\alpha_R - a_{эф}}{a_{эф} - \alpha_R} \right) = K_{эф} \left(\frac{a_{эф} - \alpha_R}{\alpha_{RL} - a_{эф}} \right)$$

Використання динаміки МЕД екзогенних лігандів дозволяє уникнути деякої форми неоднозначної залежності між величинами $E_i = [R]_i + [RL]_i$, фармакологічним ефектом цілісної біосистеми, та є єдиним кількісним методом в сучасній експериментальній фармакології однозначного визначення механізмів та їхніх кількісних особливостей, безрозмірних (відносних) характеристик взаємодії різних лігандів і рецепторів *in vivo*. В зв'язку з цим в подальшому паралельно з динамікою формування E_i розглядається динаміка $L_{эф}$ різних лігандів.

КАМ і функціонування ГАМК-рк *in vivo*. Зазначимо, що фармакологічний ефект, що реєструється, обумовлений модифікацією функцій ГАМК-рецепторно-іонофорного ансамблю ЦНС (ГАМК-

рк), в експериментальних фармакологічних дослідженнях *in vivo* використовується [16, 42, 44] здатність конкурентного антагоніста ГАМК-Бк і блокаторів хлорного каналу — Пк, Пт, Бм та інших викликати розвиток судомних станів, знижуючи трансмембранну хлорну провідність. Остання є функцією стану постсинаптичних ГАМК-рк. Тому в цьому дослідженні $[R^+]$ і $[RL^+]$ позначають ГАМК-рк з низькою, а $[R^-]$ та $[RL^-]$ — з високою провідністю іонофорів. Судомний стан реєструється за умови:

$$[R^-]_i + [RL^-]_i \geq a_{эф} [R_0],$$

тобто при зниженні сумарної провідності хлорних іонофорів до певного (порогового) значення. Введення тваринам тіосемікарбазиду (ТСК) та інших антагоністів ГДК ЦНС [11] викликає зниження вмісту ГАМК в нейронах, що призводить до розвитку судомних станів (КТС, ТЕ). Введення ГОМК — попередника синтезу ГАМК — бурштинового напівальдегіду [45] викликає розвиток снодійного, міорелаксаційного ефекту, має протисудомну дію (антагонізм КТС, ТЕ викликаних введенням судомних агентів). Отже, в процесі взаємодії ГАМК (L), ГАМК-рк (R), залежно від концентрації (рівня) ГАМК в нейронах (синаптичному просторі) змінюється R з низькою провідністю іонофорів $[R^+]$.

Схема функціонування ГАМК-рк *in vivo* при введенні в організм ГОМК і ТСК наведена нижче (L та RL — ГАМК та її комплекс з ГАМК-рк):

Схема 5.6



Тоді $K_{RL} = [RL^+]/[R^+] > K_R = [R^-]/[R^+]$, $\alpha_R > \alpha_{RL}$, переважним

станом $R \in \overset{+}{R}$, а $R\Gamma — R\overset{x}{\Gamma}$. При зниженні рівня ГАМК (викликаному введенням ТСК) до порогових значень, при якому $[\overset{x}{R}]_i + [R\overset{x}{\Gamma}] \geq a_{KC}[R_0]$ спостерігається розвиток КС, ще більше зниження рівня ГАМК викликає розвиток ТЕ ($a_{TE} > a_{KC}$):

$$\alpha_R > a_{TE} > a_{KC} > \alpha_{R\Gamma}$$

У фізіологічних умовах $[\overset{x}{R}]_i + [R\overset{x}{\Gamma}] < a_{KC}$ введення ГОМК ще більше знижує частку ГАМК-рк з низькою провідністю іонофорів, викликаючи зростання рівня ГАМК, та тим самим кількості $R\overset{x}{\Gamma}$, переважна форма якого — з високою провідністю іонофорів $[R\overset{x}{\Gamma}]$.

Взаємодія екзогенних лігандів і ГАМК-рк *in vivo*. Введення в організм блокаторів постсинаптичного хлорного іонофору ГАМК-рк пентилентетразолу або пікротоксину викликає розвиток КТС, ДТЕ, аналогічно дії ТСК. У зв'язку з цим необхідно розглянути механізм одночасної взаємодії ГАМК (Γ , $\Pi\Gamma$) з ГАМК-рк.

Якщо досліджується результативний фармакологічний ефект двох лігандів (в нашому прикладі Γ , $\Pi\Gamma$), що взаємодіють з R (ГАМК-рк — в даному випадку), із зворотним утворенням комплексів ($R\overset{x}{\Gamma}$, $R\Pi\Gamma$, $R\Pi\Gamma\Gamma$), то система має чотири типи часток в активному (\times) і неактивному станах ($+$), ступінь їхньої конверсії з неактивної в активну форму визначається їхніми внутрішніми активностями:

$$1) \alpha_R = \frac{[\overset{x}{R}]}{[\overset{x}{R}] + [\overset{+}{R}]} = \frac{1}{1 + K_R}, K_R = \frac{[\overset{+}{R}]}{[\overset{x}{R}]} — \text{константа конверсії } [R],$$

$$2) \alpha_{R\Gamma} = \frac{[R\overset{x}{\Gamma}]}{[R\overset{x}{\Gamma}] + [R\overset{+}{\Gamma}]} = \frac{1}{1 + K_{R\Gamma}}, K_{R\Gamma} = \frac{[R\overset{+}{\Gamma}]}{[R\overset{x}{\Gamma}]} — \text{константа кон-}$$

версії $[R\Gamma]$,

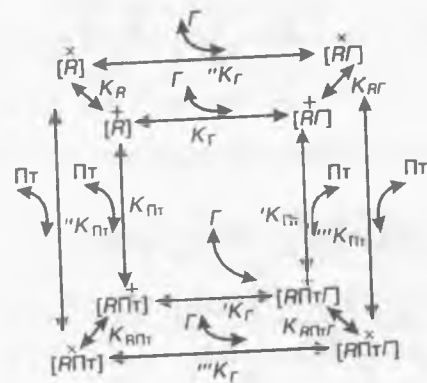
$$3) \alpha_{R\Pi\Gamma} = \frac{[R\Pi\overset{x}{\Gamma}]}{[R\Pi\overset{x}{\Gamma}] + [R\Pi\overset{+}{\Gamma}]} = \frac{1}{1 + K_{R\Pi\Gamma}}, K_{R\Pi\Gamma} = \frac{[R\Pi\overset{+}{\Gamma}]}{[R\Pi\overset{x}{\Gamma}]} — \text{константа}$$

$$4) \alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma} = \frac{[R\Pi\overset{x}{\Gamma}\Gamma]}{[R\Pi\overset{x}{\Gamma}\Gamma] + [R\Pi\overset{+}{\Gamma}\Gamma]} = \frac{1}{1 + K_{R\Pi\Gamma\Gamma}}, K_{R\Pi\Gamma\Gamma} = \frac{[R\Pi\overset{+}{\Gamma}\Gamma]}{[R\Pi\overset{x}{\Gamma}\Gamma]} —$$

константа конверсії $[R\Pi\Gamma]$.

Молекулярна модель взаємодії ГАМК (Γ), пентилентетразолу ($\Pi\Gamma$) з ГАМК-рк наведена нижче:

Схема 5.7



де $K_R, K_{R\Gamma}, K_{R\Pi\Gamma}, K_{R\Pi\Gamma\Gamma}$ — рівноважні константи дисоціації Γ відповідно з комплексів $R\overset{+}{\Gamma}, R\Pi\overset{+}{\Gamma}, R\overset{x}{\Gamma}, R\Pi\overset{x}{\Gamma}$; $K_{R\Pi\Gamma}, K_{R\Pi\Gamma\Gamma}, K_{R\Pi\Gamma}$ — рівноважні константи дисоціації $\Pi\Gamma$ відповідно з комплексів $R\overset{+}{\Gamma}, R\Pi\overset{+}{\Gamma}, R\overset{x}{\Gamma}, R\Pi\overset{x}{\Gamma}$.

За умови наявності в середовищі (в досліді) ліганду Γ в концентрації Γ_i , а ліганду $\Pi\Gamma$ — в концентрації $\Pi\Gamma_j$, вміст рецепторів і рецепторно-лігандних комплексів в «активному стані» складає:

$$[R\overset{x}{\Gamma}]_{i,j} = [R]_0 - ([R\overset{+}{\Gamma}]_{i,j} + [R\Pi\overset{x}{\Gamma}]_{i,j} + [R\Pi\overset{+}{\Gamma}\Gamma]_{i,j}) - ([R\overset{+}{\Gamma}]_{i,j} + [R\Pi\overset{+}{\Gamma}]_{i,j} + [R\Pi\overset{+}{\Gamma}\Gamma]_{i,j}),$$

$$[R\overset{x}{\Gamma}]_{i,j} = [R_0] \left(1 + K_R + \frac{\Gamma_i}{K_R} + \frac{\Gamma_i K_{R\Gamma}}{K_R} + \frac{\Pi\Gamma_j}{K_{R\Pi\Gamma}} + \frac{\Pi\Gamma_j K_{R\Pi\Gamma}}{K_{R\Pi\Gamma}} + \frac{\Pi\Gamma_j \Gamma_i}{K_R K_{R\Pi\Gamma}} + \frac{\Pi\Gamma_j \Gamma_i K_{R\Pi\Gamma\Gamma}}{K_R K_{R\Pi\Gamma}} \right)^{-1}$$

$$= [R_0] \left(\frac{1}{\alpha_R} + \frac{\Gamma_i}{K_R \alpha_{R\Gamma}} + \frac{\Pi\Gamma_j}{K_{R\Pi\Gamma} \alpha_{R\Pi\Gamma}} + \frac{\Pi\Gamma_j \Gamma_i}{K_R K_{R\Pi\Gamma} \alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}} \right)^{-1},$$

$$[R\overset{x}{\Gamma}]_{i,j} = \frac{[R]_{i,j} \Gamma_i}{K_R}, [R\Pi\overset{x}{\Gamma}]_{i,j} = \frac{[R]_{i,j} \Pi\Gamma_j}{K_{R\Pi\Gamma}}, [R\overset{x}{\Gamma}\Gamma]_{i,j} = \frac{[R]_{i,j} \Pi\Gamma_j \Gamma_i}{K_R K_{R\Pi\Gamma}}$$

Сумарний вміст комплексів в активному стані складає

$$\begin{aligned} & \left([R]_{i,j} + [R\Gamma]_{i,j} + [R\Pi\Gamma]_{i,j} + [R\Pi\Gamma\Gamma]_{i,j} \right) = \\ & = R_0 \left[\frac{1 + \frac{\Gamma_i}{K_\Gamma} + \frac{\Pi\Gamma_j}{K_{\Pi\Gamma}} + \frac{\Gamma_i \Pi\Gamma_j}{K_\Gamma K_{\Pi\Gamma}}}{\frac{1}{\alpha_R} + \frac{\Gamma_i}{K_\Gamma \alpha_{R\Gamma}} + \frac{\Pi\Gamma_j}{K_{\Pi\Gamma} \alpha_{R\Pi\Gamma}} + \frac{\Gamma_i \Pi\Gamma_j}{K_\Gamma K_{\Pi\Gamma} \alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}}} \right], \end{aligned} \quad (5.34)$$

а сума комплексів в неактивному стані —

$$\begin{aligned} & \left([R]_{i,j}^* + [R\Gamma]_{i,j}^* + [R\Pi\Gamma]_{i,j}^* + [R\Pi\Gamma\Gamma]_{i,j}^* \right) = \\ & = R_0 \left[\frac{K_R + \frac{K_{R\Gamma}\Gamma_i}{K_\Gamma} + \frac{K_{R\Pi\Gamma}\Pi\Gamma_j}{K_{\Pi\Gamma}} + \frac{K_{R\Pi\Gamma\Gamma}\Gamma_i \Pi\Gamma_j}{K_\Gamma K_{\Pi\Gamma}}}{\frac{1}{\alpha_R} + \frac{\Gamma_i}{K_\Gamma \alpha_{R\Gamma}} + \frac{\Pi\Gamma_j}{K_{\Pi\Gamma} \alpha_{R\Pi\Gamma}} + \frac{\Gamma_i \Pi\Gamma_j}{K_\Gamma K_{\Pi\Gamma} \alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}}} \right] = \\ & = R_0 \left[\frac{\frac{1 - \alpha_R}{\alpha_R} + \frac{1 - \alpha_{R\Gamma}}{\alpha_{R\Gamma}} \frac{\Gamma_i}{K_\Gamma} + \frac{1 - \alpha_{R\Pi\Gamma}}{\alpha_{R\Pi\Gamma}} \frac{\Pi\Gamma_j}{K_{\Pi\Gamma}} + \frac{1 - \alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}}{\alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}} \frac{\Gamma_i \Pi\Gamma_j}{K_\Gamma K_{\Pi\Gamma}}}{\frac{1}{\alpha_R} + \frac{\Gamma_i}{K_\Gamma \alpha_{R\Gamma}} + \frac{\Pi\Gamma_j}{K_{\Pi\Gamma} \alpha_{R\Pi\Gamma}} + \frac{\Gamma_i \Pi\Gamma_j}{K_\Gamma K_{\Pi\Gamma} \alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}}} \right]. \end{aligned} \quad (5.34a)$$

Парціальна і сумарна внутрішні активності рецепторів, рецепторно-лігандних комплексів і МЕД. Розглянемо спочатку конкретний приклад. Якщо в результаті дії Γ_i , $\Pi\Gamma_j$ ми спостерігаємо МЕД (тобто сумарний вміст рецепторів, рецепторно-лігандних комплексів у активному стані складає $[R]_0 a_{e\phi}$)

$$[R]_{i,j}^* + [R\Gamma]_{i,j}^* + [R\Pi\Gamma]_{i,j}^* + [R\Pi\Gamma\Gamma]_{i,j}^* = a_{e\phi} R_0,$$

тоді з (5.33), (5.33a):

$$\frac{\alpha_R - a_{e\phi}}{\alpha_R} + \frac{\alpha_{R\Gamma} - a_{e\phi}}{\alpha_{R\Gamma}} \frac{\Gamma_i}{K_\Gamma} + \frac{\alpha_{R\Pi\Gamma} - a_{e\phi}}{\alpha_{R\Pi\Gamma}} \frac{\Pi\Gamma_j}{K_{\Pi\Gamma}} + \frac{\alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma} - a_{e\phi}}{\alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}} \frac{\Gamma_i \Pi\Gamma_j}{K_\Gamma K_{\Pi\Gamma}} = 0.$$

При $\Pi\Gamma_j = 0$ $\Gamma_i = \Gamma_{\text{пор},0} = \frac{\alpha_{R\Gamma}}{\alpha_R} \left(\frac{a_{e\phi} - \alpha_{R\Gamma}}{\alpha_R - a_{e\phi}} \right) K_\Gamma$. З рівняння (5.306)

впливає, що

$$K_\Gamma = \frac{\alpha_{R\Gamma}}{\alpha_R} = K_{e\phi}, \quad (5.35)$$

тоді

$$\Gamma_{\text{пор},0} = \left(\frac{a_{e\phi} - \alpha_R}{\alpha_{R\Gamma} - a_{e\phi}} \right) K_{e\phi\Gamma} \quad (5.35a)$$

При $\Gamma_i = 0$

$$\Pi\Gamma_{\text{пор},0} = \left(\frac{a_{e\phi} - \alpha_R}{\alpha_{R\Pi\Gamma} - a_{e\phi}} \right) K_{e\phi\Pi\Gamma}$$

При одночасній наявності в середовищі Γ_i та $\Pi\Gamma_j$:

$$\Pi\Gamma_{\text{пор},i} = \frac{- \left[\left(\frac{\alpha_R - a_{e\phi}}{\alpha_R} \right) + \left(\frac{\alpha_{R\Gamma} - a_{e\phi}}{\alpha_{R\Gamma}} \right) \frac{\Gamma_i}{K_\Gamma} \right]}{\left(\frac{\alpha_{R\Pi\Gamma} - a_{e\phi}}{\alpha_{R\Pi\Gamma}} \right) \frac{1}{K_{\Pi\Gamma}} + \left(\frac{\alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma} - a_{e\phi}}{\alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}} \right) \frac{\Gamma_i}{K_\Gamma} \frac{1}{K_{\Pi\Gamma}}}$$

Поділимо чисельник і знаменник рівняння на $\left(\frac{a_{e\phi} - \alpha_R}{\alpha_R} \right)$

$$\begin{aligned} \Pi\Gamma_{\text{пор},i} &= \frac{\left[1 - \left(\frac{a_{e\phi} - \alpha_R}{\alpha_R - a_{e\phi}} K_{e\phi,\Gamma} \right)^{-1} \Gamma_i \right]}{\left[\left(\frac{a_{e\phi} - \alpha_R}{\alpha_{R\Pi\Gamma} - a_{e\phi}} \right) K_{e\phi,\Pi\Gamma} \right]^{-1} - \left(\frac{\alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma} - a_{e\phi}}{\alpha_R - a_{e\phi}} \right) \frac{\alpha_R}{\alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}} \frac{\Gamma_i}{K_\Gamma K_{\Pi\Gamma}}} = \\ &= \frac{1 - \frac{\Gamma_i}{\Gamma_{\text{пор},0}}}{\frac{1}{\Pi\Gamma_{\text{пор},0}} - \left(\frac{\alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma} - a_{e\phi}}{\alpha_R - a_{e\phi}} \right)} \end{aligned} \quad (5.36)$$

Якщо процес взаємодії Γ , $\Pi\Gamma$, R конкурентний ($K_\Gamma, K_{\Pi\Gamma} \rightarrow \infty$), то рівняння (5.36) має вигляд лінійної залежності

$$\Pi\Gamma_{\text{пор},i} = \Pi\Gamma_{\text{пор},0} \left(1 - \frac{\Gamma_i}{\Gamma_{\text{пор},0}} \right) \quad (5.36a)$$

Аналогічно для Γ_i

$$\Gamma_{\text{пор},i} = \Gamma_{\text{пор},0} \left(1 - \frac{\Pi\Gamma_j}{\Pi\Gamma_{\text{пор},0}} \right) \quad (5.36b)$$

Залежність між МЕД Γ_i , Π_j типу (5.35) – (5.366) є наслідком того, що:

1) оборотна конформаційна модель припускає, що внутрішня активність рецепторів і рецепторно-лігандних комплексів є ступенем їхньої конверсії за активної форми;

2) припускається, що в разі існування в системі кількох типів часток, наприклад, $\overset{\times}{R}$, $\overset{+}{R}$, $\overset{\times}{R}\overset{+}{\Gamma}$, $\overset{+}{R}\overset{+}{\Gamma}$, властивості системи лінійно (адитивно) визначаються властивостями її складових. Тоді всій системі притаманна сумарна внутрішня активність, що є ступенем конверсії її складових до активної форми. В розглянутому випадку її можна отримати, поділивши рівняння (5.34) на суму (5.34) та (5.34a); або (5.34) на R_0 , що є тотожним. Але в першому випадку наочно видно, що результат дорівнює ступеню конверсії системи до активної форми:

$$\frac{[R]_{i,j}^{\times} + [R]_{i,j}^{+} + [R\Pi\Gamma]_{i,j}^{\times} + [R\Pi\Gamma]_{i,j}^{+}}{\left([R]_{i,j}^{\times} + [R\Gamma]_{i,j}^{\times} + [R\Pi\Gamma]_{i,j}^{\times} + [R\Pi\Gamma\Gamma]_{i,j}^{\times} \right) + \left([R]_{i,j}^{+} + [R\Gamma]_{i,j}^{+} + [R\Pi\Gamma]_{i,j}^{+} + [R\Pi\Gamma\Gamma]_{i,j}^{+} \right)} = \frac{1 + \frac{\Gamma_i}{K_{\Gamma}} + \frac{\Pi_j}{K_{\Pi}} + \frac{\Pi_j\Gamma_i}{K_{\Pi}K_{\Gamma}}}{\frac{1}{\alpha_R} + \frac{\Gamma_i}{K_{\Gamma}\alpha_{R\Gamma}} + \frac{\Pi_j}{K_{\Pi}\alpha_{R\Pi\Gamma}} + \frac{\Pi_j\Gamma_i}{K_{\Pi}K_{\Gamma}\alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}}} = \alpha_{\text{рез.сист.}i,j}$$

Отже,

- 1) якщо в системі відсутні Γ та Π , то $\alpha_{\text{рез.сист.}i,j} = \alpha_R$;
- 2) якщо $\Gamma \rightarrow \infty$, $\Pi = 0$, то $\alpha_{\text{рез.сист.}i,j} = \alpha_{R\Gamma}$;
- 3) якщо $\Gamma = 0$, $\Gamma \rightarrow \infty$, то $\alpha_{\text{рез.сист.}i,j} = \alpha_{R\Pi\Gamma}$;
- 4) якщо в результаті зміни вмісту в середовищі (системі) Γ та (або) Π величина $\alpha_{\text{рез.сист.}i,j}$ змінюється до $a_{\text{еф}}$, то спостерігається пороговий ефект. Його характеристикою є $\alpha_{\text{рез.сист.}i,j} = \alpha_{\text{еф}}$ та

$$\alpha_{\text{рез.сист.}} = a_{\text{еф}} = \frac{1 + \frac{\Gamma_i}{K_{\Gamma}} + \frac{\Pi_j}{K_{\Pi}} + \frac{\Pi_j\Gamma_i}{K_{\Pi}K_{\Gamma}}}{\frac{1}{\alpha_R} + \frac{\Gamma_i}{K_{\Gamma}\alpha_{R\Gamma}} + \frac{\Pi_j}{K_{\Pi}\alpha_{R\Pi\Gamma}} + \frac{\Pi_j\Gamma_i}{K_{\Pi}K_{\Gamma}\alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}}}$$

Тоді

$$\frac{a_{\text{еф}} - \alpha_R}{\alpha_R} + \frac{(a_{\text{еф}} - \alpha_{R\Gamma})}{\alpha_{R\Gamma}} \frac{\Gamma_i}{K_{\Gamma}} + \frac{(a_{\text{еф}} - \alpha_{R\Pi\Gamma})}{\alpha_{R\Pi\Gamma}} \frac{\Pi_j}{K_{\Pi}} + \frac{(a_{\text{еф}} - \alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma})}{\alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}} \frac{\Gamma_i\Pi_j}{K_{\Gamma}K_{\Pi}} = 0.$$

Якщо поділити попереднє рівняння на $\left(\frac{a_{\text{еф}} - \alpha_R}{\alpha_R} \right)$ і перегрупувати члени, то

$$\Pi_j = \frac{1 - \frac{\Gamma_i}{K_{\Gamma}}}{\frac{1}{\Pi\Gamma_{\text{пор}}} + \frac{\Gamma_i\alpha_{R\Gamma}}{\Gamma_{\text{пор}}\alpha_{R\Pi\Gamma}} \left(\frac{a_{\text{еф}} - \alpha_{R\Pi\Gamma\Gamma}}{a_{\text{еф}} - \alpha_{R\Gamma}} \right) \frac{1}{K_{\Pi}}}$$

Цей підхід має такі переваги:

а) дозволяє описати поточний ступінь конверсії рецепторів та їхніх комплексів з лігандами до активної форми $\alpha_{\text{рез.сист}}$ залежно від того, які ліганди і в яких співвідношеннях (концентраціях) діють на рецептори;

б) він ясно вказує на суть терміну внутрішньої активності (за Аріенсом) в загальній системі функціонування рецепторів та рецепторно-лігандних комплексів, як на парціальний (частковий) ступінь конверсії одного з наявних в системі типів часток до активної форми;

в) даний тип запису показує вміст активних форм рецепторно-лігандних комплексів через величини їхніх $K_{\text{еф}}$ і порогові концентрації (дозы).

Фіксовані показники для визначення МЕД (наприклад, КТС, ТЕ) є ізодинамічними величинами, тому доцільно їх використовувати для аналізу проявів *in vivo* дії екзогенних лігандів ГАМК-рк з різними механізмами модуляції цієї рецепторно-іонофорної системи ЦНС.

Дослідження залежності доза — протисудомний ефект для агоністів бенздіазепінового рецептора — феназепаму (I) та його фізіологічно активного метаболіту 3-оксипохідного (II) показало (рис.5.10), що для феназепаму і триоксифеназепаму характерне гіперболічне збільшення ефекту залежно від доз. Лінеаризація даних у подвійних зворотних координатах (d^{-1} ; $(\text{МЕД}_{\text{екс}} - \text{МЕД}_{\text{к}})^{-1}$) дозволяє визначити параметри процесу (рис.5.11). Лінійну регресію визначимо так:

$$\Delta \text{МЕД}^{-1} = 1/(\text{МЕД}_{\text{max}} - \text{МЕД}_{\text{к}}) + d_{50}/(\text{МЕД}_{\text{max}} - \text{МЕД}_{\text{к}})d_i^{-1}.$$

У даних координатах тангенс кута нахилу прямої дорівнює $d_{50}/(\text{МЕД}_{\text{max}} - \text{МЕД}_{\text{к}})$, точка перетину з віссю ординат дорівнює $1/(\text{МЕД}_{\text{max}} - \text{МЕД}_{\text{к}})$, точка перетину з віссю абсцис дорівнює d_{50}^{-1} .

Результати аналізу показали, що $MEД_{max}$ для феназепаму за показниками КТС та ТЕ складають відповідно 155,9 та 306,06, для 3-оксифеназепаму — 198,7 та 405,8 мг/кг, d_{50} для феназепаму складає $d_{50КТС} = 0,11$, $d_{50ТЕ} = 0,106$ мг/кг, для 3-оксифеназепаму ці значення дорівнюють $d_{50КТС} = 0,814$, $d_{50ТЕ} = 0,9$ мг/кг.

Як видно з наведених даних на рис. 5.11, максимальне значення МЕД для 3-оксифеназепаму вище, ніж для феназепаму, але доза, що викликає протисудомний ефект у 50 % піддослідних тварин, для феназепаму значно нижча.

Нами була використана методика миттєвої реєстрації МЕД Пт та вмісту препарату в головному мозку тварин. Як видно з результатів дослідження (рис. 5.12), залежність вмісту ^{14}C -феназепаму в головному мозку мишей від введеної дози описується лінійною функцією $C_i = a + bd_i$, де C_i — концентрація загального радіоактивного матеріалу, d_i — доза препарату, a , b — коефіцієнти регресії. Дана лінійна залежність між кількістю введеної речовини і його концен-

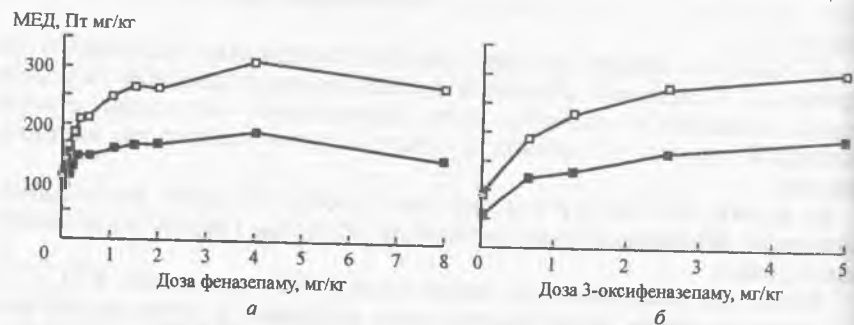


Рис. 5.10. Зміна МЕД Пт, що викликають КТС (■) і ТЕ (□) у мишей при внутрішньочеревному введенні їм феназепаму (а) та 3-оксифеназепаму (б)

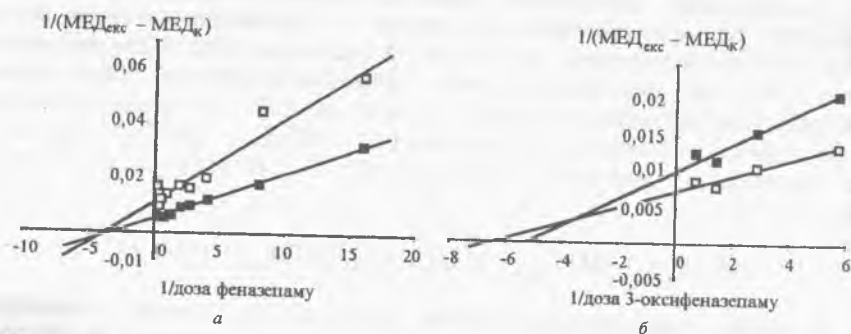


Рис. 5.11. Залежність протисудомного ефекту від дози феназепаму (а) та 3-оксифеназепаму (б) в подвійних зворотних координатах, які викликають КТС (■) і ТЕ (□)

трацією в досліджуваному тест-об'єкті дозволяє розглянути явища, що вивчаються, як процеси першого порядку, використовувати математичний апарат для опису залежності концентрація — ефект. Форма залежності зростання МЕД, що викликають КТС, ТЕ (МЕД_і) відносно концентрації C_i бенздіазепинів у головному мозку, виражається рівнянням:

$$(MEД_i - MEД_k)(MEД_{max} - MEД_k) = C_i^n [(C_i + C_{50})^n]^{-1}$$

Крива концентрація — протисудомний ефект є гіперболою першого порядку ($n = 1$), що свідчить про відсутність кооперативності процесів взаємодії похідних бенздіазепіну з бенздіазепіновим рецептором, в результаті яких розвивається реєстрований фармакологічний ефект. Даний висновок підтверджується результатами досліджень *in vitro* [14, 46] та дослідів, виконаних радіолігандними методами.

Дослідження динаміки протисудомного ефекту 3-оксифеназепаму в мишей. Як було показано вище, 3-оксифеназепам має виражену протисудомну дію, гіперболічно збільшуючи МЕД блокатора хлорних каналів ГАМК_{рк} — Пт. Цей ефект і форма функціональної залежності між МЕД (за показниками КТС, ТЕ) та дозах похідних 1,4-бенздіазепіну, що вводяться, був описаний раніше для фізіологічно активних 7-заміщених похідних 1,4-бенздіазепіну та пептидамінобензофенонів [47]. Раніше судомними агентами були Бк — конкурентний антагоніст ГАМК-рецептора, блокаторами хлорних іонофорів — Пк, Бм та Пт [48]. Перший порядок гіперболічної залежності доза — ефект 3-оксифеназепаму (див. попередній параграф) свідчить про відсутність кооперативності процесу модифікації функції ГАМК-рк в результаті його взаємодії з обома екзогенними лігандами (Бд, Пт, схема 5.8). Дана схема є спрощеною, що впливає з вище викладеного в даній роботі. Ефекти Бд, Пт є результатом взаємодії цих лігандів з комплексом: [ГАМК — ГАМК-рецепторно-іонофорний ансамбль] (R-ГАМК). Але з метою спрощення далі ця структура (R-ГАМК) буде позначатись як R, кінетичні характеристики процесів взаємодії R з лігандами будуть обговорюватися тільки якісно. Серед блокаторів ГАМК-рк — Бк, Пк, Бм, Пт останній є

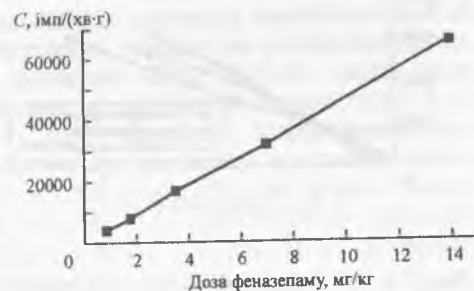


Рис. 5.12. Залежність вмісту загального радіоактивного матеріалу в головному мозку мишей при введенні їм зростаючих доз ^{14}C -феназепаму через 0,5 год

сполукою з найбільш «м'якою» дією. Його величина внутрішньої активності α_{RL} достовірно нижча, ніж у Бк, Пк, Бм. Це припускає його найбільшу чутливість до протисудомної дії екзогенних лігандів — позитивних модуляторів ГАМК-рк

Схема 5.8

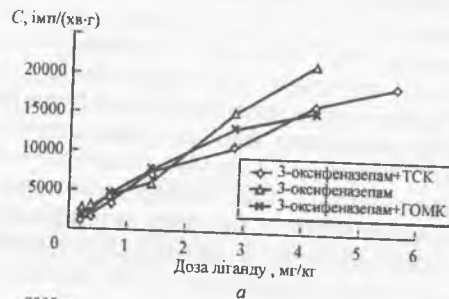
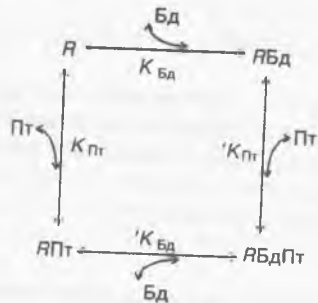


Рис. 5.13. Залежність вмісту загального радіоактивного матеріалу в головному мозку (а), плазмі крові (б) мишей при введенні їм доз ^{14}C -3-оксифеназепаму і при сумісному введенні ГОМК, ТСК

Величина MED_{max}/MED_k Пт при введенні високих доз бенздіазепіну перевищує контрольні показники в 4 рази, а Бк, Пк — лише в 2 рази. Тому Пт був обраний як найбільш зручний «інструмент» для аналізу особливостей протисудомної дії бенздіазепінів.

Формальний апарат, що описує механізми взаємодії екзогенних лігандів ГАМК-рк, ґрунтується на уявленні про концентраційну рівновагу компонентів системи (див. вище). Це визначило окремий напрямок в даній роботі — дослідження залежності доза — концентрація в плазмі крові мишей та головному мозку (біофазі дії екзогенних лігандів ГАМК-рк ЦНС) для 2- ^{14}C -3-оксифеназепаму, що вводився внутрішньочеревинно (рис. 5.13).

Як видно з дослідних даних,

через 30 хв після введення препарату його вміст в головному мозку зростає строго лінійно та не залежить від попереднього введення модифікаторів синтезу ГАМК — ТСК, ГОМК. Отримані дані свідчать про те, що кінетична схема «розподілу — екскреції» 3-оксифеназепаму в організмі мишей представлена сумою процесів першого порядку (швидкість яких лінійно визначається концентрацією сполуки). Головний мозок і плазма крові функціонують як єдиний (центральный) відсік кінетичної схеми розподілу препарату — зміни концентрації здійснюються пропорційно. Коефіцієнт розподілу 3-оксифеназепаму між плазмою крові та головним мозком тварин інваріантний дозам, що вводяться, і складає $0,21 \pm 0,037$. Лінійність виявлених в досліді (рис. 5.13) залежностей доза — концентрація в біофазі дії лігандів ГАМК-рк 3-оксифеназепаму дозволяє використовувати залежність доза — ефект та доза антиконвульсанту — МЕД конвульсанту для безрозмірного моделювання механізмів досліджуваних процесів [48].

Виходячи з результатів, ми дослідили динаміку протисудомної дії (за показниками КТС, ТЕ) в інтервалі раніше не досліджених високих доз, що перевищують значення ED_{50} в 4–10 разів (див. рис. 5.10). Результати даного досліді представлено на рис. 5.14, 5.15.

Дослідження змін МЕД Пт при введенні 3-оксифеназепаму піддослідним тваринам продемонструвало нелінійне зростання даних величин (рис. 5.14) та нехарактерну для бенздіазепінів форму залежності доза — ефект. Як бачимо на рис. 5.14, особливістю динаміки протисудомного ефекту 3-оксифеназепаму є необмежене зростання МЕД Пт за обома реєстрованими показниками при введенні доз, що перевищують 4 мг/кг. Спроба лінеаризувати дослідні дані в подвійних зворотних координатах (найбільш розповсюджений метод інтерпретації гіперболічної функції) достатньо чітко показує (рис. 5.15) наявність

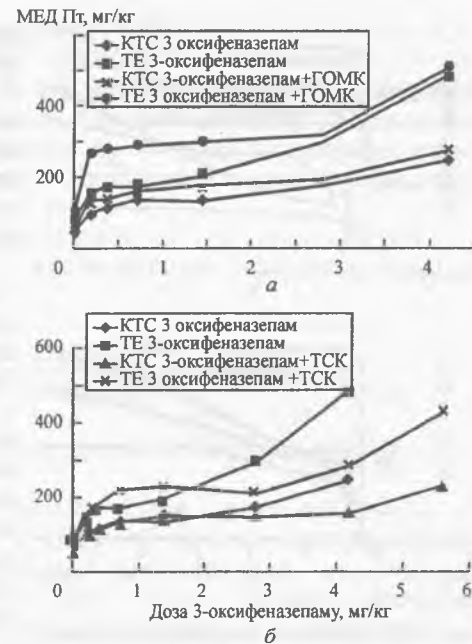


Рис. 5.14. Зміна МЕД Пт, що викликають КТС і ТЕ у мишей, при введенні їм 3-оксифеназепаму та на тлі введення ГОМК (а) в дозі 1 г/кг та ТСК (б) в дозі 5 мг/кг

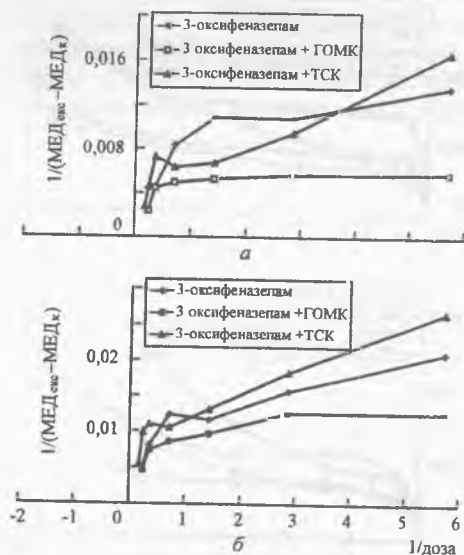


Рис. 5.15. Залежність протисудомного ефекту від дози 3-оксифеназепаму на тлі введення ГОМК, ТКС в подвійних зворотних координатах: а — ТКС; б — ТЕ

здатного у високих дозах необмежено блокувати судомну дію Пт, з урахуванням можливих їхніх схем 5.8, 5.9 нами було проведене дослідження впливу попереднього введення піддослідним тваринам інгібітора синтезу ГАМК — ТСК та попередника синтезу ГАМК — ГОМК. Була вивчена дія цих сполук на динаміку МЕД в інтервалі низьких доз (високоафінного процесу) та високих доз (низькоафінного процесу) 3-оксифеназепаму.

Для обґрунтування «пропорційності» зміни параметрів фармакодинамічних процесів (фаз фармакодинамічної кривої) необхідно мати достовірний формальний опис, включаючи лінеаризацію залежностей, визначення потрібних параметрів, їхнє співставлення.

Визначення параметрів фармакодинамічної кривої 3-оксифеназепаму та механізмів модуляції ним функцій ГАМК-рк ЦНС in vivo. Як видно з рис. 5.11, б в подвійних зворотних координатах при низьких значеннях введених доз 3-оксифеназепаму, кінетична крива залежності МЕД Пт від доз бенздіазепіну представлена гіперболою першого порядку:

двох гіпербол у протисудомній дії 3-оксифеназепаму.

Таким чином, виявлена форма фармакодинамічної кривої протисудомної дії 3-оксифеназепаму не може бути описана процесами, представленими в [41], а може бути наслідком:

взаємодії 3-оксифеназепаму з ГАМК-рк і паралельно з іншою рецепторно-іонофорною системою — ГАМК — залежною чи ГАМК — незалежною;

наслідком виявлення кооперативного ефекту зв'язування: високоафінного, з обмеженою модифікацією ГАМК-рк, і низькоафінного, що викликає значну модифікацію постсинаптичного ГАМК-рк, що блокує ефекти Пт.

Обґрунтування гіпотези механізму взаємодії 3-оксифеназепаму з ГАМК-рецепторним комплексом. Для обґрунтування механізмів дії 3-оксифеназепаму,

$$y_i = y_k + \frac{(y_{\max} - y_k)d_i}{d_{50} + d_i},$$

де y_0, y_i, y_{\max} — величини МЕД відповідно в контрольній, дослідній (i -й) групах на тлі введення d_i дози 3-оксифеназепаму, максимальне значення (розрахункова величина); d_{50} — доза 3-оксифеназепаму, введення якої викликає розвиток напівмаксимального фармакологічного ефекту.

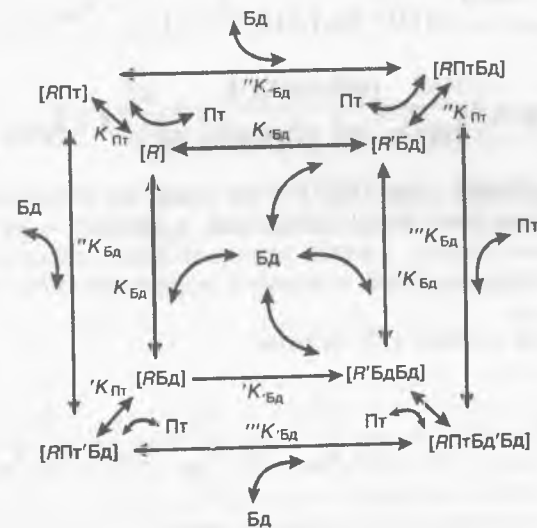
Введення високих доз 3-оксифеназепаму змінює тип ефекту — необмежене зростання МЕД, яке описується гіперболою першого порядку

$$y_i = y_k + \frac{(y_{50} - y_k)d_i}{d_{\max} - d_i},$$

де d_{\max} — доза 3-оксифеназепаму, при якій МЕД Пт наближається до нескінченності.

Сполучення обох рівнянь можливе тільки при постулюванні механізму процесу, який полягає у взаємодії двох молекул Бд з ГАМК-рк з різною афінністю і ступенем модифікації ($\alpha_{R'Бд}$, $\alpha_{RБд}$ і $\alpha_{RБд'Бд}$) рецепторно-іонофорної системи ЦНС. Цьому процесу відповідає схема 5.9 взаємодії Бд з місцями зв'язування на структурі R, з утворенням комплексів [RБд], [R'Бд], [RБд'Бд] та взаємодія R з його компонентами з Пт:

Схема 5.9



Система має вісім типів частин: R, RБд, R'Бд, RБд'Бд, RБд'Бд, RПт, RПтБд, RПт'Бд, RПт'БдБд у станах (X) та (+), що визначаються внутрішніми активностями:

$$\alpha_R = \frac{[R^X]}{[R^X] + [R^+]} = \frac{1}{1 + K_R}, \quad \alpha_{RБд} = \frac{[RБд^X]}{[RБд^X] + [RБд^+]} = \frac{1}{1 + K_{RБд}},$$

$$\alpha_{R'Бд} = \frac{[R'Бд^X]}{[R'Бд^X] + [R'Бд^+]} = \frac{1}{1 + K_{R'Бд}},$$

$$\alpha_{RБд'Бд} = \frac{[RБд'Бд^X]}{[RБд'Бд^X] + [RБд'Бд^+]} = \frac{1}{1 + K_{RБд'Бд}},$$

$$\alpha_{RПт} = \frac{[RПт^X]}{[RПт^X] + [RПт^+]} = \frac{1}{1 + K_{RПт}},$$

$$\alpha_{RПтБд} = \frac{[RПтБд^X]}{[RПтБд^X] + [RПтБд^+]} = \frac{1}{1 + K_{RПтБд}},$$

$$\alpha_{RПт'Бд} = \frac{[RПт'Бд^X]}{[RПт'Бд^X] + [RПт'Бд^+]} = \frac{1}{1 + K_{RПт'Бд}},$$

$$\alpha_{RПтБд'Бд} = \frac{[RПтБд'Бд^X]}{[RПтБд'Бд^X] + [RПтБд'Бд^+]} = \frac{1}{1 + K_{RПтБд'Бд}}.$$

Конформаційний стан (X), (+) на схемі не зображено, припускається, що один з них знаходиться над, а другий — під площиною із зображенням схеми, і вони взаємозв'язані процесом першого порядку, конформаційної конверсії з рівноважною константою K (позначення частки).

Вміст часток в стані (X) складає

$$[R^X]_{ij} = R_0 \left[\frac{1}{\alpha_R} + \frac{1}{\alpha_{RБд}} \frac{Бд_i}{K_{Бд}} + \frac{1}{\alpha_{R'Бд}} \frac{Бд_i}{K_{Бд}} + \frac{1}{\alpha_{RБд'Бд}} \frac{Бд_i^2}{K_{Бд}'K_{Бд}} \right]$$

$$+ \frac{1}{\alpha_{RПт}} \frac{Пт_j}{K_{Пт}} + \frac{1}{\alpha_{RПтБд}} \frac{Пт_j}{K_{Пт}} + \frac{1}{\alpha_R} \frac{Пт_j}{K_{Пт}} + \frac{1}{\alpha_{RПтБд'Бд}} \frac{Пт_j}{K_{Пт}} \Big]^{-1},$$

$$[RБд^X]_{ij} = \frac{[R^X]_{ij} Бд_i}{K_{Бд}}, \quad [R'Бд^X]_{ij} = \frac{[R^X]_{ij}' Бд_i}{K_{Бд}},$$

$$[RБд'Бд^X]_{ij} = \frac{[R^X]_{ij} Бд_i Бд_j}{K_{Бд}'K_{Бд}} = \frac{[R^X]_{ij} Бд_i^2}{K_{Бд}'K_{Бд}},$$

$$[RПт^X]_{ij} = \frac{[R^X]_{ij} Пт_j}{K_{Пт}}, \quad [RПтБд^X]_{ij} = \frac{[R^X]_{ij} Бд_i Пт_j}{K_{Бд}'K_{Пт}} = \frac{[RБд^X]_{ij} Пт_j}{K_{Пт}},$$

$$[RПт'Бд^X]_{ij} = \frac{[R^X]_{ij}' Пт_j Бд_i}{K_{Бд}'K_{Пт}} = \frac{[R'Бд^X]_{ij} Пт_j}{K_{Пт}},$$

$$[RПтБд'Бд^X]_{ij} = \frac{[R^X]_{ij} Бд_i^2 Пт_j}{K_{Бд}'K_{Бд}''K_{Пт}} = \frac{[RБд'Бд^X]_{ij} Пт_j}{K_{Пт}}.$$

Сума часток в стані (X) складає

$$\begin{aligned} & ([R^X]_{ij} + [R'Бд^X]_{ij} + [RБд^X]_{ij} + [RБд'Бд^X]_{ij} + \\ & + [RПт^X]_{ij} + [RПтБд^X]_{ij} + [RПт'Бд^X]_{ij} + [RПтБд'Бд^X]_{ij}) = \\ & = R_0 \left[1 + \frac{Бд_i}{K_{Бд}} + \frac{Бд_i}{K_{Бд}} + \frac{Бд_i^2}{K_{Бд}'K_{Бд}} + \frac{Пт_j}{K_{Пт}} + \frac{Бд_i Пт_j}{K_{Пт}'K_{Бд}} + \frac{Бд_i Пт_j}{K_{Пт}'K_{Бд}} + \frac{Бд_i^2 Пт_j}{K_{Бд}'K_{Бд}''K_{Пт}} \right] \times \\ & \times \left[\frac{1}{\alpha_R} + \frac{1}{\alpha_{RБд}} \frac{Бд_i}{K_{Бд}} + \frac{1}{\alpha_{R'Бд}} \frac{Бд_i}{K_{Бд}} + \frac{1}{\alpha_{RБд'Бд}} \frac{Бд_i^2}{K_{Бд}'K_{Бд}} + \frac{1}{\alpha_{RПт}} \frac{Пт_j}{K_{Пт}} + \frac{1}{\alpha_{RПтБд}} \frac{Пт_j Бд_i}{K_{Бд}'K_{Пт}} + \right. \\ & \left. + \frac{1}{\alpha_{RПтБд'Бд}} \frac{Пт_j Бд_i}{K_{Бд}''K_{Пт}} + \frac{1}{\alpha_{RБд'Бд}} \frac{Бд_i^2 Пт_j}{K_{Бд}'K_{Бд}'K_{Пт}} \right]^{-1}. \end{aligned}$$

Сумарна внутрішня активність системи складе наведену в рівнянні величину, поділену на $[R_0]$. Якщо сумарна внутрішня активність в результаті впливу Бд та Пт на ГАМК-рк досягає (знижується до) величини $a_{сф}$, спостерігається пороговий ефект, і можемо відмітити МЕД_{ij} (Пт_j) за реєстрованим показником та дозу бенздіазепіну (Бд_i), в умовах введення якої реєструється порогова

дія P_T :

$$\frac{\alpha_R - a_{\text{эф}}}{\alpha_R} + \left(\frac{\alpha_{R\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}}} \frac{1}{K_{\text{Бд}}} + \frac{\alpha_{R'\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R'\text{Бд}}} \right) \text{Бд}_i + \frac{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}}} \frac{\text{Бд}_i^2}{K_{\text{Бд}}'K_{\text{Бд}}} +$$

$$+ \frac{\alpha_{R\Pi_T} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\Pi_T}} \frac{\Pi_{T_j}}{K_{\Pi_T}} + \frac{\alpha_{R\Pi_T\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\Pi_T\text{Бд}}} \frac{\text{Бд}_i\Pi_{T_j}}{K_{\text{Бд}}'K_{\Pi_T}} + \frac{\alpha_{R'\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R'\text{Бд}}} \frac{\text{Бд}_i\Pi_{T_j}}{K_{\text{Бд}}''K_{\Pi_T}} +$$

$$+ \frac{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}}} \frac{\text{Бд}_i^2\Pi_{T_j}}{K_{\text{Бд}}'K_{\text{Бд}}''K_{\Pi_T}} = 0.$$

При $\text{Бд}_i = 0$ $P_{\text{пор}} = \frac{\alpha_{R\Pi_T} a_{\text{эф}} - \alpha_R}{\alpha_R \alpha_{R\Pi_T} - a_{\text{эф}}}$

При $\Pi_{T_j} = 0$ $\text{Бд}_{\text{пор}}$ (символічна від'ємна величина) визначається як корінь рівняння:

$$\text{Бд}_i^2 \left(\frac{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}}} \right) \frac{1}{K_{\text{Бд}}'K_{\text{Бд}}} + \text{Бд}_i \left[\frac{\alpha_{R\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}}} \frac{1}{K_{\text{Бд}}} + \frac{\alpha_{R'\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R'\text{Бд}}} \frac{1}{K_{\text{Бд}}} \right] +$$

$$+ \left(\frac{\alpha_R - a_{\text{эф}}}{\alpha_R} \right) = 0.$$

Якщо $\text{Бд} = \text{Бд}_i$, то $\Pi_{T_{\text{пор},i}}$

$$\Pi_{T_{\text{пор},i}} = - \left[\frac{\frac{\alpha_R - a_{\text{эф}}}{\alpha_R} + \left(\frac{\alpha_{R\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}}K_{\text{Бд}}} + \frac{\alpha_{R'\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R'\text{Бд}}K_{\text{Бд}}} \right) \text{Бд}_i + \left(\frac{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}}K_{\text{Бд}}'K_{\text{Бд}}} \right) \text{Бд}_i^2}{\frac{\alpha_{R\Pi_T} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\Pi_T}K_{\Pi_T}} + \left(\frac{\alpha_{R\Pi_T\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\Pi_T\text{Бд}}K_{\text{Бд}}'K_{\Pi_T}} + \frac{\alpha_{R'\text{Бд}\Pi_T} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R'\text{Бд}\Pi_T}K_{\text{Бд}}''K_{\Pi_T}} \right) \text{Бд}_i} \right] \times$$

$$\times \frac{1}{\left(\frac{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}\Pi_T} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}\Pi_T}K_{\text{Бд}}'K_{\text{Бд}}''K_{\Pi_T}} \right) \text{Бд}_i^2}$$

$$\left(\frac{\alpha_R - a_{\text{эф}}}{\alpha_R} \right) = A < 0, \left(\frac{\alpha_{R\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}}K_{\text{Бд}}} + \frac{\alpha_{R'\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R'\text{Бд}}K_{\text{Бд}}} \right) = B < 0, \frac{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}}K_{\text{Бд}}'K_{\text{Бд}}} = B < 0,$$

$$\frac{\alpha_{R\Pi_T} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\Pi_T}K_{\Pi_T}} = \Gamma < 0, \left(\frac{\alpha_{R\text{Бд}\Pi_T} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}\Pi_T}K_{\text{Бд}}'K_{\Pi_T}} + \frac{\alpha_{R'\text{Бд}\Pi_T} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R'\text{Бд}\Pi_T}K_{\text{Бд}}''K_{\Pi_T}} \right) = D < 0,$$

$$\frac{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}\Pi_T} - a_{\text{эф}}}{\alpha_{R\text{Бд}'\text{Бд}\Pi_T}K_{\text{Бд}}'K_{\text{Бд}}''K_{\Pi_T}} = E > 0.$$

Тоді $\Pi_{T_{\text{пор},i}} = - \frac{A + B\text{Бд}_i + B\text{Бд}_i^2}{\Gamma + D\text{Бд}_i + E\text{Бд}_i^2}$.

Якщо $B, E \ll B, D$, то при малих значеннях Бд_i квадратичними членами рівняння можна знехтувати, і вираз набуде вигляду

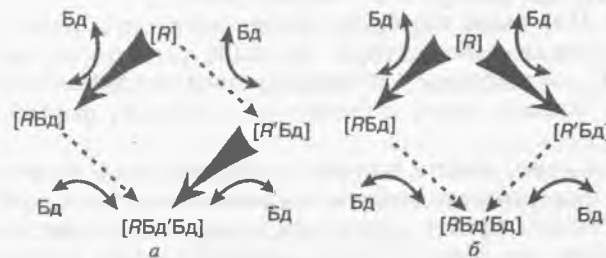
$$P_{\text{пор},i} \approx - \frac{A + B\text{Бд}_i}{D + D\text{Бд}_i} \text{ (перша фаза)}.$$

Якщо $\text{Бд}_i \gg A, \Gamma$, то, поділивши вираз на вищезазначений Бд_i та відкинувши маленькі величини $A/\text{Бд}_i, \Gamma/\text{Бд}_i$, отримаємо

$$P_{\text{пор},i} \approx - \frac{B + B\text{Бд}_i}{D\text{Бд}_i + E\text{Бд}_i} \text{ (друга фаза)}.$$

Оскільки $E > 0$, крива необмежено зростає при збільшенні Бд_i , дана форма залежності між Π_{T_j} та Бд_i відповідає виявленій в досліді. Звертає увагу той факт, що перша та друга фази фармакодинамічної кривої реалізуються при істотно відмінних концентраціях. Це може бути результатом двох механізмів: а) різної афінності в двох місцях зв'язування Бд на рецепторах ГАМК_{кр}; б) негативної кооперативності процесу:

Схема 5.10



Через те, що комплексні члени B , D не можна отримати в аналітичному вигляді для подальшого уточнення механізмів взаємодії B_d , ГАМК-рк ЦНС *in vivo*, необхідне детальне вивчення особливостей взаємодії бенздіазепінів та їхнього конкурентного антагоніста флюмазепіла (Ro15-1788).

5.6. Моделювання динаміки пароксизмальної активності та фармакокінетики лігандів ГАМК-рк при їхньому введенні в біофазу дії

Динамічні показники взаємодії ліків з РЕС цілісного організму (фармакодинаміка) визначаються: 1) механізмами взаємодії R і L ; 2) кінетичною схемою їхнього надходження, розподілу, біотрансформації, елімінації з організму; 3) параметрами ФТВ.

Для дослідження механізмів взаємодії ліків з РЕС цілісної біосистеми (організму) необхідно визначити підходи зі створення умов ФТВ, що виключають вплив параметрів їхньої фармакокінетики на вміст в біофазі дії, або такі, що призводять до однозначної, простої, такої, що дозволяє здійснювати детерміновану формалізацію фармакокінетичних даних, кінетичної схеми розподілу в біофазі дії.

Перша умова може бути досягнута тривалим внутрішньосудинним введенням (інфузією) ліків зі сталою постійною швидкістю. Друга, як це буде обґрунтовано далі, внутрішньотканинним введенням або аплікацією ліків (ліганду) на біофазу його дії, що вміщує РЕС. Уявна складність попередніх розрахунків параметрів кінетики масопереносу аплікованої дози ліганду через біофазу дії компенсується інформативністю динамічного експерименту.

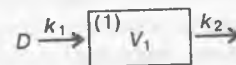
Аплікації (та мікроін'єкції) лікарських засобів на кору головного мозку дослідних тварин — це методи моделювання осередків пароксизмальної активності в ЦНС [49], що широко використовуються в електрофізіологічних дослідженнях. Вони полягають у зміні динаміки електричної активності, взаємозв'язаної з параметрами, режимом функціонування РЕС нейронів, за умов (на тлі) ФТВ досліджуванним лігандом (судомним агентом) безпосередньо на нервову тканину, що вміщує РЕС біофазу його дії.

В роботі [14] нами вивчений вплив параметрів розподілу в організмі екзогенних модуляторів функцій рецепторно-медіаторних систем ЦНС — похідних 1,4-бенздіазепіну та аліфатичних спиртів на кінетику їхнього вмісту в біофазі дії, динаміку фармакологічних ефектів.

Тому мета даної роботи полягає в обґрунтуванні зворотної задачі — підходу і формального апарата для визначення на основі динаміки фармакологічного ефекту, структури і параметрів кінетичної схеми розподілу ліків при їхній ін'єкції (аплікації) в (на) біофазу дії.

Кінетичні схеми розподілу ліків в організмі включають як мінімум два незворотні процеси першого порядку: надходження всмоктування (адсорбції) та виведення (екскреції), що здійснюються відповідно з константами швидкості k_a , k_e . Якщо при моделюванні внутрішнє середовище організму, в яке з константою швидкості k_a надходить доза D ліків, представлене єдиною 1 камерою (кінетичним відсіком) об'ємом V_1 , схема 5.11 відповідає [43] одночастинній моделі із всмоктуванням:

Схема 5.11



Така структура кінетичної схеми масопереносу базується на виключенні з аналізу процесів, що проходять в зворотному напрямку, бо припускається, що вони здійснюються з нехтовно малою швидкістю. В деяких випадках способів введення ліків (внутрішньотканинна, внутрішньоорганна ін'єкція, аплікація), умови проведення досліду дозволяють виключити з аналізу власне кінетичні параметри розподілу ліків в організмі, через те, що вони мінімально впливають на кінетику їхнього вмісту в біофазі дії — в органі (тканині), де відбуваються процеси їх взаємодії з рецепторами, що призводять до розвитку фармакологічного ефекту.

Особливості структури кінетичної схеми розподілу ліків в організмі та біофазі дії. Якщо орган (тканина), представлений в кінетичній схемі розподілу ліків (див. схему 5.12) камерою n об'ємом V_n , взаємозв'язаний зворотними процесами першого порядку масопередачі (їхні константи k_n , k_{-n}) ліків з центральною камерою m об'ємом V_m , що репрезентує внутрішнє середовище організму, то швидкість прямого та зворотного процесів $v_{(n \rightarrow m),t}$, $v_{(m \rightarrow n),t}$ в момент часу t складе

$$\begin{cases} v_{(n \rightarrow m),t} = C_{n,t} V_n k_n, \\ v_{(m \rightarrow n),t} = C_{m,t} V_m k_{-n} \end{cases} \quad (5.37)$$

де $C_{n,t}$, $C_{m,t}$ — концентрація ліків відповідно в камерах n , m в момент часу t .

Якщо лікарському засобу не притаманна специфічна тропність (дуже висока чи дуже низька) до однієї з камер (n або m), тобто величини його кліренсу з n в m та в зворотному напрямку приблизно однакові, то при $C_{n,t} \approx C_{m,t}$ $v_{(n \rightarrow m),t} \approx v_{(m \rightarrow n),t}$.

Тоді

$$K_n \approx k_{-n} \frac{V_m}{V_n},$$

і при $V_n \ll V_m$ $k_n \gg k_{-n}$. Якщо камера n є ін'екційною, процесом зворотного надходження ліків з m в n можна зневажити, бо в нього буде залучена незначна частина введеної дози d

$$d \approx \frac{k_{-n} D}{\sum k_m + k_{-n}} \approx \frac{V_n}{V_m} D, \quad (5.38)$$

де $(\sum k_m + k_{-n})$ — сума процесів масопереносу ліків з камери m , включаючи камеру n (k_{-n}). Модель розподілу ліків у внутрішньому середовищі організму m при його введенні в біофазу дії n представлено на наведеній нижче схемі

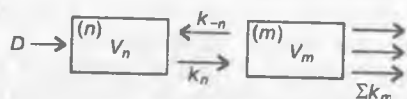


Схема 5.12

Таким чином, доцільно здійснювати аналіз кінетики вмісту ліків у біофазі їхньої дії при їхній аплікації (мікроін'екції) відповідно до структури одночастинної кінетичної схеми (при внутрішньоорганній чи внутрішньотканинній ін'екції) та одночастинній схемі із всмоктуванням при аплікації.

Особливості фармакодинамічного підходу. Раніше нами було висунуто, а потім експериментально обгрунтовано [14] припущення про те, що якщо первинний фармакологічний ефект є швидкооборотним (його величина однозначно (кількісно) визначається концентрацією ліків в біофазі дії), то якісні (тригерні) зміни режиму функціонування біооб'єкта здійснюються при досягненні ліками порогових мінімальних ефективних концентрацій $C_{пор}$, тобто також швидкооборотно.

Використання цього підходу є перспективним для обгрунтування можливості оптимізації фармакокінетичних, фармакодинамічних параметрів фармакотерапевтичної дії на організм на основі визначення взаємозв'язку МЕД концентрацій та кінетики вмісту ліків у біофазі дії та організмі в цілому.

Обгрунтування формального апарата математичного аналізу дослідних даних. На основі викладеного можна припустити, що: 1) при аплікації розчинів лігандів — судонних агентів (пікротоксину, стрихніну, пентилентетразолу) на кору головного мозку щурів, об'єм осередку пароксизмальної активності (біофазі дії зазначених

лігандів медіаторних систем ЦНС) нехтовно малий порівняно з їхніми об'ємами розподілу в організмі ($V_n \ll V_m$); 2) якісна зміна динаміки функціонування нервової тканини, а саме, виникнення і зникнення піків пароксизмальної активності, здійснюється та приймається по досягненні концентраціями судонних речовин порогових величин $C_{пор}$ в осередку судонної активності. Тоді видається доцільним: 1) здійснити аналіз кінетики їхнього розподілу в осередку пароксизмальної активності відповідно до одночастинної кінетичної моделі із всмоктуванням (див. схему 5.12); 2) визначити параметри кінетики їхнього розподілу, виходячи з часу виникнення t_1 та зникнення t_2 піків пароксизмальної активності на ЕЕГ після аплікації судонних агентів:

$$\begin{cases} C_{пор} = \frac{Dk_a}{V_n(k_a - k_e)} (e^{-k_e t_1} - e^{-k_a t_1}), \\ C_{пор} = \frac{Dk_a}{V_n(k_a - k_e)} (e^{-k_e t_2} - e^{-k_a t_2}). \end{cases} \quad (5.39)$$

Система рівнянь типу (5.39) аналітичного рішення не має. Для визначення інтервалу часу $t_2 - t_1$ терапевтичної дії введеної дози ліків, якщо відомі їхні мінімальні терапевтична і токсична концентрації, нами була запропонована низка ітераційних методів [12]. Але в системі рівнянь (5.39) константи надходження й елімінації речовини k_a , k_e , на відміну від величин t_1 , t_2 , що визначаються ітераційно, присутні не тільки як експоненційні, а й передекспоненційні множники. Це виключає можливість простого ітераційного рішення зворотної задачі, тобто системи (5.39).

Для досягнення мети необхідно визначити час початку та кінця порогових фармакологічних ефектів після аплікації як мінімум двох доз (D , $'D$) (системи рівнянь (5.39), (5.39a)) речовини, що аплікується

$$\begin{cases} C_{пор} = \frac{'Dk_a}{V_n(k_a - k_e)} (e^{-k_e t_1} - e^{-k_a t_1}), \\ C_{пор} = \frac{'Dk_a}{V_n(k_a - k_e)} (e^{-k_e t_2} - e^{-k_a t_2}). \end{cases} \quad (5.39a)$$

Тоді, припустивши, що при великих значеннях часу після введення (t_2 , $'t_2$) величина більш швидкої експоненти ($e^{-k_a t_2}$) стає малою, значно меншою за більш повільну ($e^{-k_e t_2} > e^{-k_a t_2} \approx 0$; при $t \rightarrow \infty$); можна виключити її з інших систем рівнянь (5.39), (5.39a), поділивши їх одне на одне і перегрупувавши, отримати наближене значення величини k_e ($k_{набл}$):

$$k_{e, \text{набл}} = \frac{\ln'D - \ln D - b \pm \sqrt{b^2 - 4ac}}{t_2 - t_1} \quad (5.40)$$

Наближені значення величини k_e ($k_{e, \text{набл}}$) для систем рівнянь (5.39), (5.39а) можна отримати, підставивши в них величини $e^{-k_e t_1}$, $e^{-k_e t_2}$, як нехтовно малі та поділивши перші рівняння систем на другі

$$\begin{cases} e^{-k_{e, \text{набл}}, t_2} = e^{-k_{e, \text{набл}}, t_1} - e^{-k_e t_1} \\ e^{-k_{e, \text{набл}}, t_2} = e^{-k_{e, \text{набл}}, t_1} - e^{-k_e t_1} \end{cases} \quad (5.41)$$

Тоді

$$\begin{cases} k_{a, \text{набл}} = -\frac{1}{t_1} \ln(e^{-k_{e, \text{набл}}, t_1} - e^{-k_e t_1}) \\ k_{a, \text{набл}} = -\frac{1}{t_2} \ln(e^{-k_{e, \text{набл}}, t_2} - e^{-k_e t_2}) \end{cases}$$

для результатів дослідів з аплікацією відповідно D і $'D$ судомних агентів.

Визначення $C_{\text{пор}}$ є проблематичним, але наближене визначення порогової дози $D_{\text{пор}} = C_{\text{пор}} V_n$ можливе при підстановці величин D , $k_{e, \text{набл}}$, $k_{a, \text{набл}}$ в систему рівнянь (5.39) та $'D$, $k_{e, \text{набл}}$, $k_{a, \text{набл}}$ — в (5.39а).

Подальше послідовне наближення (ітераційне рішення) досягається шляхом чергової підстановки наближених значень констант надходження, елімінації, аж до отримання їхніх сталих значень, в систему рівнянь (5.42) або (5.42а):

$$\begin{cases} k_a = -\frac{1}{t_1} \ln[(e^{-k_e t_1} + e^{-k_e t_2})] - e^{-k_e t_2} \\ k_e = -\frac{1}{t_1} \ln[(e^{-k_e t_2} + e^{-k_e t_1})] - e^{-k_e t_1} \end{cases} \quad (5.42)$$

$$\begin{cases} k_a = -\frac{1}{t_2} \ln[(e^{-k_e t_1} + e^{-k_e t_2})] - e^{-k_e t_1} \\ k_e = -\frac{1}{t_2} \ln[(e^{-k_e t_1} + e^{-k_e t_2})] - e^{-k_e t_1} \end{cases} \quad (5.42a)$$

Підставивши ітераційно обчислені величини k_a , k_e в рівняння (5.39), (5.39а), визначимо ітераційні значення $C_{\text{пор}}$.

Використання формального апарата, наведеного в рівняннях (5.39)–(5.42а), коректне за умови $k_a \neq k_e$. У тих випадках, коли зна-

чення констант швидкостей процесів надходження, елімінації співпадають ($k_a \equiv k_e \equiv k$), аналіз кінетики вмісту ліків у біофазі дії може бути здійснений таким чином:

$$C_t = \frac{D}{V_n} k t e^{-kt} \quad (5.43)$$

Відповідність кінетики вмісту ліків у камері n рівнянню (5.43) припускає, що його максимальне значення C_{max} досягається при ФТВ t_{max} :

$$t_{\text{max}} = k^{-1} \quad (5.44)$$

Рівняння (5.44) можна розв'язати аналітично відносно $C_{\text{пор}}$, після введення (аплікації) єдиної дози D і визначення часу t_1 і t_2 реєстрованого ефекту. Для обґрунтування (5.44) необхідно також визначити величину t_{max} :

$$\begin{cases} C_{\text{пор}} = \frac{D}{V_n} k t_1 e^{-k t_1} \\ C_{\text{пор}} = \frac{D}{V_n} k t_2 e^{-k t_2} \end{cases} \quad (5.45)$$

Тоді

$$k = \frac{\ln(t_2/t_1)}{t_2 - t_1} \quad (5.46)$$

Якщо визначений в досліді час досягнення максимального фармакологічного ефекту t_{max} порівняний з розрахунковим значенням, що визначається з t_1 , t_2 , як $t_{\text{max}} = \frac{t_2 - t_1}{\ln(t_2) - \ln(t_1)}$, то використання

рівняння (5.43) та припущення про рівність констант швидкості процесів надходження й елімінації коректне.

Якщо при визначенні величин k_a , k_e відповідно до ітераційного алгоритму (5.39)–(5.42а) призводять до $k_a \equiv k_e$, треба здійснити обчислення відповідно до рівнянь (5.43)–(5.46). Отримана з рівняння (5.40) величина наближеного значення k_e ($k_{e, \text{набл}}$) в дійсності відповідає при $k_e \equiv k_a \equiv k$:

$$k_{e, \text{набл}} \frac{\ln('D/D)}{t_2 - t_1} = k - \ln\left(\frac{t_2}{t_1}\right) \quad (5.47)$$

У всіх дослідях після миттєвої аплікації смужок фільтрувального

Моделювання фармакокінетичних схем досліджуваних речовин. Як видно з результатів аналізу дослідних даних (табл. 5.6) і динаміки судомної активності (рис. 5.16, 5.17), аплікація пентилентетразолу викликає швидкий розвиток судомного осередку, що характеризується високою інтенсивністю та коротким часом існування.

Математичний аналіз його динаміки виявляє найбільш високі значення (в дослідженій групі речовин) констант швидкості масо-переносу (надходження та елімінації) пентилентетразолу в кору головного мозку тварин. Визначення адекватності результатів моделювання процесів, що спостерігаються в експериментах, може бути здійснене шляхом співставлення розрахункових даних часу досягнення максимального значення концентрацій ліганду, що аплікується T_{\max} , та максимуму судомної активності кори головного мозку тварин, що спостерігається в досліді.

Величина T_{\max} визначається з прирівнених до нуля похідних інтегральних рівнянь (5.39), (5.39а) як

$$T_{\max} = \frac{\ln(k_1/k_2)}{k_1 - k_2}. \quad (5.48)$$

Розрахункові значення констант швидкостей процесу масо-переносу k_1 , k_2 та T_{\max} наведено в табл. 5.6. Як видно з дослідних даних (рис. 5.16), максимальна судомна активність спостерігається в інтервалі 1–2 хв після аплікації пентилентетразолу. Розрахункове значення T_{\max} концентраційної кривої пентилентетразолу визначене як 1,4 хв, що цілком адекватно описує процес.

Аналогічний аналіз цифрових масивів динаміки судомної активності пікротоксину та стрихніну виявив:

а) низькі значення (на порядок нижчі, аніж у пентилентетразолу) констант швидкостей масо-переносу пікротоксину в біофазі дії (табл. 5.6);

б) розрахункова величина T_{\max} концентраційної кривої пікротоксину склала 23 хв, що на порядок перевищує аналогічний параметр фармакокінетики пентилентетразолу та відповідає динаміці процесу, що спостерігається;

в) динаміка судомної активності стрихніну відповідала рівнянню (5.43) ($k_1 \approx k_2 = k$). Тоді $T_{\max} = 1/k$, тобто величина T_{\max} була визначена як 30,01 хв. Максимальна судомна активність в досліді була відзначена в інтервалі 30–35 хв після аплікації стрихніну.

Аналіз дослідних даних, здійснений відповідно до алгоритму розроблених моделей, продемонстрував можливість їхнього ефективного використання для визначення параметрів фармакокінетики фізіологічно активних речовин, аплікованих безпосередньо на біофазу їхньої дії.

Попереднє припущення (робоча гіпотеза) про біекспоненційний характер процесу масо-переносу екзогенних лігандів через біофазу їхньої дії підтверджується експериментальними результатами.

Аналіз деяких елементів фармакодинаміки досліджуваних речовин. На основі аналізу дослідних даних можна припустити, що вміст C_t в біофазах дії об'ємом V_n аплікованих доз речовин D у часі t здійснюється згідно з рівнянням

$$C_t = \frac{FDk_1}{V_n(k_1 - k_2)} (e^{-k_2 t} - e^{-k_1 t}), \quad (5.49)$$

де k_1 , k_2 — константи швидкостей процесів першого порядку масо-переносу речовин (табл. 5.6); апліковані дози D наведено в табл. 5.6; F — біологічна доступність досліджуваних речовин величини C_t невідома, як і об'єм їхнього розподілу V_n .

Тому, аналізуючи дослідні дані, можна оперувати умовними одиницями розрахункових концентрацій:

$$\check{C}_t = \frac{Dk_1}{k_1 - k_2} (e^{-k_2 t} - e^{-k_1 t}), \quad (5.49a)$$

що дає можливість зіставити динаміку фармакологічного ефекту досліджуваних речовин E_t з кінетикою їхнього вмісту (в умовних одиницях, $\check{C}_t = C_t \frac{F}{V_n}$).

Використовуючи рівняння (5.37а), (5.49), (5.49а), можна припустити, за умови, що ефект є швидкооборотним та однозначно визначається концентрацією ліганду, функціональну відповідність між концентрацією ліганду в часі та силою його біологічної дії

$$E_t = f \frac{\alpha_L R_0 \check{C}_t}{K_L \frac{a}{F} + \check{C}_t}, \quad (5.50)$$

якщо в більш загальному вигляді, як варіант рівняння Хілла [11]:

$$E_t = f \frac{\alpha_L R_0 (\check{C}_t)^m}{(K_L \frac{a}{F})^m + (\check{C}_t)^m}, \quad (5.50a)$$

де m — емпіричний коефіцієнт кооперативності взаємодії R , L .

Якщо фармакологічний ефект є «повільним», однозначна відповідність між E_t та \check{C}_t не спостерігається, а натомість виявляється «гістерезис» (петлеподібне співвідношення) досліджуваних величин [11].

Якщо умови досліду такі, що $(C_i)^m \ll \left(K_L \frac{V_n}{F}\right)^m$, тобто є інтервал досліджуваних величин E_T , значно менший E_{50} , то рівняння (5.50a) набуває вигляду

$$E_T \approx f \frac{\alpha_L R_0 (C_i)^m}{\left(K_L \frac{V_n}{F}\right)^m} \quad (5.50b)$$

Це припускає лінійне співвідношення між E_T та C_i при відсутності кооперативності і ступеневу залежність при кооперативному процесі взаємодії R та L .

Як видно з рис. 5.18–5.20, відповідності між ефектами і розрахунковими значеннями концентрацій однозначні. Для фармакодинаміки пікротоксину залежність відповідає некооперативному процесу (5.50), $m \approx 1$.

Фармакологічні ефекти пентилентетразолу, стрихніну виявляють позитивну кооперативність ($m > 1$). Ступінь кооперативності фармакологічної дії обох речовин визначений як $m \approx 3$ (рис. 5.21–5.22).

Як видно з дослідних даних та результатів їхнього аналізу, робоча гіпотеза даного дослідження підтверджується. При аплікації

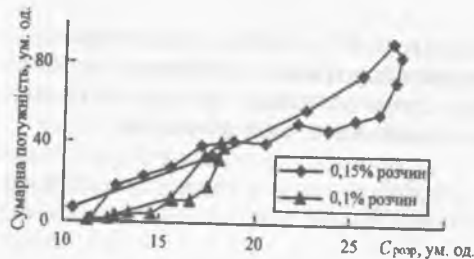


Рис. 5.18. Співвідношення сумарної потужності епілептичного осередку, створеного стрихніном та $C_{розр}$ ($C_{розр}$ — розрахункові значення порогових концентрацій лігандів)

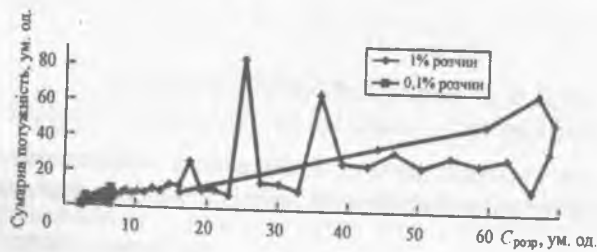


Рис. 5.19. Співвідношення сумарної потужності епілептичного осередку, створеного пікротоксином та $C_{розр}$

Рис. 5.20. Співвідношення сумарної потужності епілептичного осередку, створеного 25%-м пентилентетразолом та $C_{розр}$ пентилентетразолу

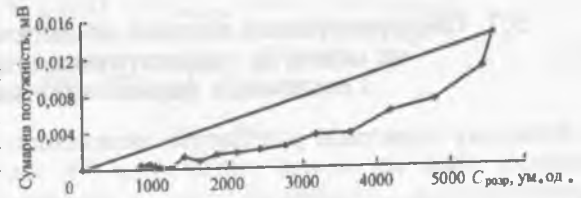


Рис. 5.21. Співвідношення сумарної потужності епілептичного осередку, створеного стрихніном та $(C_{розр})^3$ — розрахункові значення концентрації стрихніну в третьому ступені, що відповідають коефіцієнту кооперативності процесу (в умовних одиницях) в біофазі дії

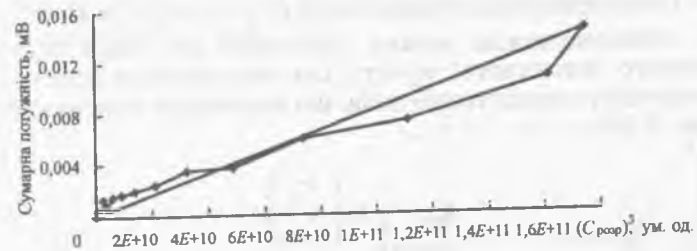
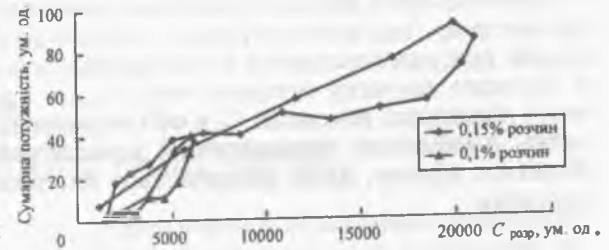


Рис. 5.22. Співвідношення сумарної потужності епілептичного осередку, створеного пентилентетразолом та $(C_{розр})^3$ пентилентетразолу

ментальної моделі в біофармацевтичних та електрофізіологічних дослідженнях.

Додаткова інформація, отримана в ході виконання дослідження, переконливо свідчить про те, що фармакологічні наслідки впливу різних доз досліджуваних речовин є швидкооборотними, а для деяких з них (пентилентетразол, стрихнін) кооперативними, що дозволяє більш однозначно інтерпретувати результати електрофізіологічних та психофармакологічних дослідів.

Таким чином, використана фармакологічна модель дослідження динаміки пароксизмальних станів і математичний апарат її інтерпретації можуть бути успішно застосовані в біофармацевтичних, психофармакологічних та електрофізіологічних роботах.

5.7. Обґрунтування підходів до оптимізації дії ліків на основі їх терапевтичних індексів і показників фармакокінетики

В даному параграфі розглянуто можливості оптимізації режимів введення ліків на основі визначення ТІ, настання та тривалості терапевтичної $t_{тер}$, токсичної дії $t_{токс}$ з урахуванням фармакокінетичних схем розподілу препарату.

Одночастинна модель з процесом елімінації першого порядку. Якщо миттєво (внутрішньосудинно) ввести дозу D_i в об'єм розподілу V_{sr} , то при одночастинній схемі розподілу з константою елімінації k першого порядку інтервал часу ($\Delta_{тер} = t_{тер} - 0$), всередині якого вміст лікарської речовини C_t в об'ємі розподілу перевищує терапевтичну (мінімальну терапевтичну) концентрацію $C_{тер}$, що викликає розвиток ефекту, який визначається як терапевтичний (рис. 5.23), дорівнює

$$t_{тер} = \frac{1}{k} \ln \left(\frac{C_0}{C_{тер}} \right), \quad (5.51)$$

де C_0 — початкова концентрація ліків ($C_0 = D/V_{sr}$, $C_t = C_0 e^{-kt}$). Аналогічне співвідношення можна отримати для часу токсичного (мінімального токсичного) ефекту, що визначається присутністю в об'ємі розподілу концентрації ліків, що перевищує токсичний рівень $C_{токс}$ (рис. 5.23):

$$t_{токс} = \frac{1}{k} \ln \left(\frac{C_0}{C_{токс}} \right). \quad (5.52)$$

Якщо в досліді змінюється низка інтервалів часу прояву терапевтичної дії ($t_{тер1}, t_{тер2}, \dots$) і токсичного ефекту ($t_{токс1}, t_{токс2}, \dots$) після введення доз (D_1, D_2, \dots) ліків з k сталою швидкості виведення з об'єму розподілу, то можна визначити

$$t_{тер,i} = \frac{1}{k} \ln \left(\frac{D_i}{V_{sr} C_{тер}} \right), \quad t_{токс} = \frac{1}{k} \ln \left(\frac{D_i}{V_{sr} C_{токс}} \right),$$

мінімальні токсичну та терапевтичну дози ($D_{тер,i} = C_{тер} V_{sr}$, $D_{токс} = C_{токс} V_{sr}$) та їхнє співвідношення ($D_{токс}/D_{тер} = \text{ТІ}$), а також величину k ($MRT = 1/k$) (рис.5.24). Граничними умовами є ефекти (терапевтичний, токсичний), що мають бути швидкооборотними. Тоді з (5.51), (5.52)

$$t_{тер,i} - t_{токс,i} = \frac{1}{k} [\ln D_i - \ln D_{тер,мин} - \ln D_i + \ln D_{токс,мин}], \quad (5.53)$$

$$t_{тер,i} - t_{токс,i} = MRT \ln \text{ТІ}, \quad (5.53a)$$

$$\text{ТІ} = \exp \left(\frac{t_{тер} - t_{токс}}{MRT} \right).$$

Максимальний інтервал терапевтичної дії $\Delta_{тер,макс}$, при якому $C_0 = C_{токс}$ і ТІ, найчастіше важко обчислити через різночитання в методах визначення мінімального терапевтичного та токсичного ефектів, а ефекти, що реєструються *in vivo* (в умовах концентрації лікарського засобу, який змінюється в об'ємі розподілу), важко доступні для реєстрації

$$\Delta_{тер,макс} = \frac{1}{k} [\ln D_{токс} - \ln D_{тер}] = MRT \ln \text{ТІ}, \quad (5.54)$$

тобто максимальний інтервал терапевтичної дії дорівнює різниці тривалості терапевтичної й токсичної дії довільної дози лікарського засобу ($D_i > D_{токс,мин}$) (рівняння (5.53)).

Визначення константи елімінації можливе при лінійному співвідношенні низки доз (в логарифмічному виразі) і часу терапевтичної (токсичної) дії (рис. 5.24).

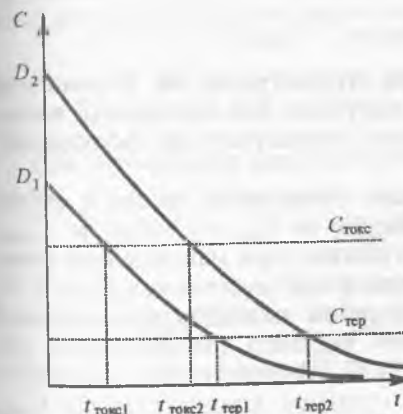


Рис. 5.23. Зміна вмісту (концентрації C) в часі ліків при внутрішньосудинному введенні в дозах D_1, D_2 (кінетична схема — одночастинна, лінійна). Інтервали часу, в яких концентрації перевищують величину терапевтичної $C_{тер}$ і токсичної $C_{токс}$ концентрації, позначено $t_{тер1,2}, t_{токс1,2}$

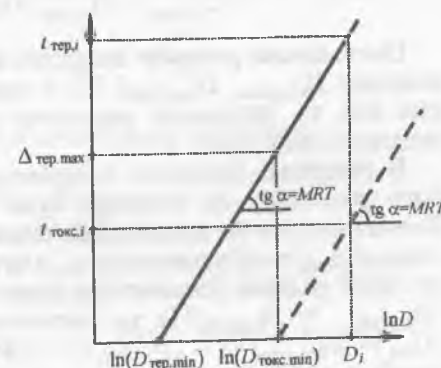


Рис. 5.24. Співвідношення між часом терапевтичної $t_{тер}$ (суцільна лінія) та токсичної $t_{токс}$ (штрихова) дії ліків (що елімінуються з об'єму розподілу з константою швидкості k) залежно від введених доз D

Якщо на основі фармакокінетичного дослідження встановлена кінетична схема (одночастинна) розподілу ліків, та її параметри (V_{sr} , k), то фармакодинамічне дослідження можна обмежити визначенням часової дії (токсичної, терапевтичної) двох доз, що перевищують $D_{\text{токс.мін}}$: D_1 , D_2 . Тоді

$$k_1 = \left(\frac{t_{\text{тер}2} - t_{\text{токс}1}}{\ln D_2 - \ln D_1} \right), \quad k_2 = \left(\frac{t_{\text{токс}2} - t_{\text{токс}1}}{\ln D_2 - \ln D_1} \right),$$

приймемо $k = (k_1 + k_2)/2$, звідки

$$TI_1 = k(t_{\text{тер}1} - t_{\text{токс}1}), \quad TI_2 = k(t_{\text{тер}2} - t_{\text{токс}2}).$$

Якщо $TI = \frac{TI_1 + TI_2}{2}$,

$$TI = \frac{(t_{\text{токс}1} - t_{\text{тер}2})^2 - (t_{\text{токс}2} - t_{\text{тер}1})^2}{4(\ln D_2 - \ln D_1)}.$$

Якщо величини k_1 , k_2 та k відповідають величині k , отриманій в фармакологічному досліді, а TI_1 , TI_2 близькі за значенням, можна визначити максимальну стерпну дозу як:

$$\Delta_{\text{тер.мах}} = \frac{1}{k} \ln TI,$$

$$D_{\text{тер.мах}} = D_{\text{тер.мін}} + k \Delta_{\text{тер.мах}} = D_{\text{тер.мін}} TI.$$

Оптимізація режимів введення при інтермітуючій дії. Визначення величин $D_{\text{тер.мін}}$, $D_{\text{токс.мін}}$, TI , k дає підґрунтя для оптимізації введених доз та інтервалів введення при інтермітуючому (курсовому) введенні ліків (рис. 5.25).

В інтервалі введення концентрація лікарського засобу в об'ємі його розподілу не повинна бути нижче за $C_{\text{тер}}$ та вище за $C_{\text{токс}}$. Визначимо умови досягнення такого режиму при максимально можливому $\Delta_{\text{мах}}$ та фіксованому $\Delta_{\text{ф}}$ в інтервалі між введеннями (рис. 5.25, а). Цей режим досягається при введенні навантажувальної дози ($D_{\text{нав.мах}} = D_{\text{тер.мін}} TI$) та наступному введенні підтримуючих доз ($D_{\text{під}} = D_{\text{тер.мін}}(TI - 1)$); $\Delta_{\text{мах}} = MRT \ln TI$. Концентрація лікарського засобу у внутрішньому середовищі організму коливається від $C_{\text{токс}}$ до $C_{\text{тер}}$ (рис. 5.25, а).

Режим при фіксованому інтервалі між введеннями (рис. 5.25, б) ($\Delta_{\text{ф}}$, $\Delta_{\text{ф}} < \Delta_{\text{мах}}$) досягається при введенні навантажувальної дози ($D_{\text{нав}} = D_{\text{тер.мін}} e^{k\Delta_{\text{ф.мах}}}$) та в подальшому підтримуючих доз ($D_{\text{під}} = D_{\text{тер.мін}}(e^{k\Delta_{\text{ф.мах}}} - 1)$). Концентрація в організмі коливається від $C_{\text{тер}} e^{+k\Delta_{\text{ф.мах}}} < C_{\text{токс}}$ до $C_{\text{тер}}$ (рис. 5.25). Цей режим без введення на-

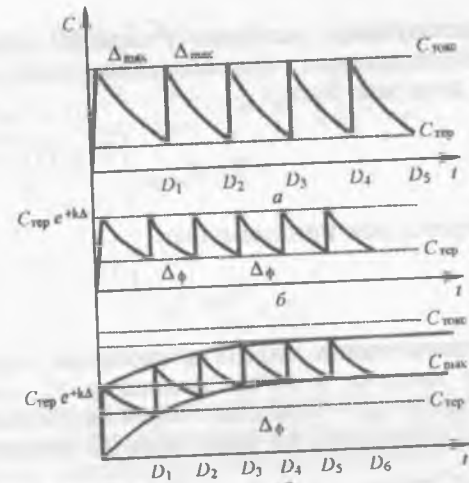


Рис. 5.25. Кінетика зміни вмісту ліків (елімуються з об'єму розподілу з константою швидкості) при різних схемах інтермітуючого введення: а — навантажувальна доза, підтримуючі дози — максимальні, інтервал між введеннями — максимальний; б — навантажувальна доза, підтримуючі дози, що забезпечують введення із фіксованим інтервалом; в — введення із фіксованим інтервалом без використання навантажувальної дози

вантажувальної дози (рис. 5.25, б) обмежений умовою: максимальний можливий інтервал ($\Delta_{\text{ф,мах}}$) між введеннями доз, що дорівнюють $D_{\text{мах}} = V_{sr} C_{\text{токс}} e^{k\Delta_{\text{ф,мах}}}$, тобто після введення першої дози досягається концентрація C_{Δ} при наближенні до кінця інтервалу $\Delta_{\text{ф,мах}}$, що дорівнює $C_{\Delta} = C_{\text{тер}}$. У той же час максимальна концентрація в інтервалі інтермітуючого введення не повинна перевищувати $C_{\text{токс}}$

$$C_{\text{мах}} = C_{\text{токс}} = \frac{D}{V_{sr}} \frac{1}{1 - e^{-k\Delta}} = \frac{C_{\text{тер}} e^{+k\Delta}}{1 - e^{-k\Delta}}.$$

Для визначення максимального можливого інтервалу

$$C_{\text{токс}} e^{-k\Delta} = \frac{C_{\text{тер}}}{1 - e^{-k\Delta}}$$

ділимо на $C_{\text{тер}}$: $TI e^{-k\Delta} = \frac{1}{1 - e^{-k\Delta}}$, множимо на $e^{+k\Delta}$ та $(1 - e^{-k\Delta})$: $TI(1 - e^{-k\Delta}) = e^{k\Delta}$, множимо на $e^{+k\Delta}$ та переносимо $(e^{+k\Delta})^2 - TI e^{+k\Delta} + TI = 0$,

$$e^{+k\Delta} = \frac{TI \pm \sqrt{TI^2 - 4TI}}{2}, \quad \Delta_{\text{ф,мах}} = \frac{1}{k} \ln \left[\frac{TI \pm \sqrt{TI^2 - 4TI}}{2} \right]$$

Концентрація коливається від $C_{\text{токс}}$ до $C_{\text{токс}} e^{k\Delta_{\text{ф,мах}}} = \frac{C_{\text{тер}}}{1 - e^{-k\Delta_{\text{ф,мах}}}}$.

При $\Delta_{\text{ф}} < \Delta_{\text{ф,мах}}$ $C_{\text{мах}} < C_{\text{токс}}$. Цей тип оптимізації раніше не ви-

користовувався, особливо у варіанті розрахунків на основі ТІ та k , що визначаються з фармакодинамічного дослід. При введенні ліків їхня доза має бути:

$$D \leq D_{\text{тер.мін}} \left[\frac{\text{ТІ} \pm \sqrt{\text{ТІ}^2 - 4\text{ТІ}}}{2} \right]$$

а інтервал між прийманнями

$$D_{\text{фікс}} \leq \frac{1}{k} \ln \left[\frac{\text{ТІ} \pm \sqrt{\text{ТІ}^2 - 4\text{ТІ}}}{2} \right]$$

Одночастинна модель з процесом елімінації нульового порядку. Якщо введена в об'єм розподілу V_{ss} доза D_i елімує зі сталою швидкістю v_m — швидкість зниження концентрації C_i ліків в одиниці об'єму розподілу, то вміст ліків C_i знижується у часі t лінійно:

$$C_{i,t} = C_{0,i} - v_{m,t} \quad (5.55)$$

де $C_{0,i} = D_i/V_{ss}$ — початкова концентрація (при $t=0$) ліків у об'ємі розподілу. Як і в попередніх параграфах, припускаємо існування максимальної припустимої та мінімальної терапевтичної концентрації $C_{\text{токс}}$ і $C_{\text{тер}}$. Швидкооборотні терапевтичний і побічний ефекти реєструються при $C_i \geq C_{\text{токс}}$ і $C_i \geq C_{\text{тер}}$. Тоді з рівняння (5.51) можна визначити час реєстрації цих ефектів (рис. 5.26)

$$t_{\text{тер}} = \frac{C_i - C_{\text{тер}}}{v_m} = \frac{D_i - D_{\text{тер}}}{v_m V_{ss}}, \quad t_{\text{токс}} = \frac{C_i - C_{\text{токс}}}{v_m} = \frac{D_i - D_{\text{токс}}}{v_m V_{ss}}$$

Звернемо увагу на те, що

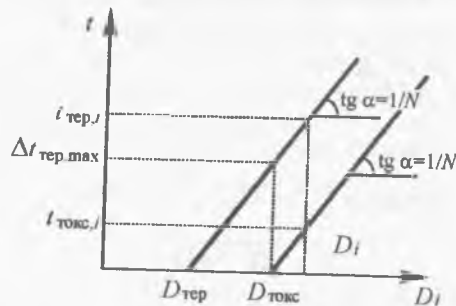


Рис. 5.26. Співвідношення між часом терапевтичної $t_{\text{тер}}$ і токсичної $t_{\text{токс}}$ дії ліків, що елімуються з об'єму розподілу зі сталою швидкістю залежно від його введених доз D

$$t_{\text{тер}} - t_{\text{токс}} = \frac{D_{\text{токс}} - D_{\text{тер}}}{v_m V_{ss}}$$

є сталою величиною. Якщо в досліді відзначається таке співвідношення між тривалістю терапевтичного і токсичного ефектів, то є підстави для припущення про нульовий порядок (зі сталою швидкістю) елімінації ліків з організму.

Визначення $v_m V_{ss}$ можливе при введенні двох високих ($C_0 > C_{\text{токс}}$) доз D_1, D_2 , реєстрації часу токсичної $t_{\text{токс}1}$ і $t_{\text{токс}2}$

та терапевтичної ($t_{\text{тер}1}, t_{\text{тер}2}$) дії (рис. 5.26)

$$v_m V_{ss} = \frac{v_{m1} V_{ss} + v_{m2} V_{ss}}{2}, \quad v_{m1} V_{ss} = \frac{D_2 - D_1}{t_{\text{токс}2} - t_{\text{токс}1}}, \quad v_{m2} V_{ss} = \frac{D_2 - D_1}{t_{\text{тер}2} - t_{\text{тер}1}}$$

ТІ визначається як

$$\text{ТІ} = \frac{\text{ТІ}_1 + \text{ТІ}_2}{2},$$

де

$$\text{ТІ}_1 = \frac{D_1 - t_{\text{тер}1} v_m V_{ss}}{D_1 - t_{\text{токс}1} v_m V_{ss}}, \quad \text{ТІ}_2 = \frac{D_2 - t_{\text{тер}2} v_m V_{ss}}{D_2 - t_{\text{токс}2} v_m V_{ss}}$$

Оптимізація режиму введення ліків при інтермітуючому впливі за умов їх елімінації зі сталою швидкістю. Якщо визначені ТІ, швидкості елімінації v_m, V_{ss} , то можлива оптимізація режимів введення ліків.

Якщо інтервал введення Δ_i менший за $D_i/v_m V_{ss}$, вміст ліків в об'ємі розподілу росте лінійно (рис. 5.27). Мінімальна концентрація складає $C_{\text{мін}\Delta i} = \frac{D - v_{\Delta i}}{V_{ss} \Delta i}$, максимальна — $C_{\text{макс}\Delta i} = C_{\text{мін}} + D_i/V_{ss}$.

Стабільний режим $C_i \leq C_{\text{тер}}$ досягається при введенні навантажувальної дози $D_{\text{нав}}$, що дорівнює $D_{\text{нав}} = C_{\text{тер}} V_{ss} + v_m V_{ss} \Delta$, і в подальшому підтримуючих доз $D_{\text{під}} = v_m V_{ss} \Delta$.

Максимальний інтервал між введеннями $\Delta_{\text{макс}}$ забезпечується при навантажувальній дозі $D_{\text{нав}} = D_{\text{токс}}$, а в подальшому — підтримуючих $D_{\text{под}} = D_{\text{токс}} - D_{\text{тер}}$ величина $\Delta_{\text{макс}}$ складає

$$\Delta_{\text{макс}} = \frac{D_{\text{токс}} - D_{\text{тер}}}{v_m V_{ss}}$$

Таким чином, досліджено можливості використання фармакокінетичного аналітичного апарата для аналізу фармакодинамічних дослідних даних, можливості оптимізації режимів введення на основі результатів дослідів з визначення часу дії (терапевтичної, токсичної) і ТІ ліків.

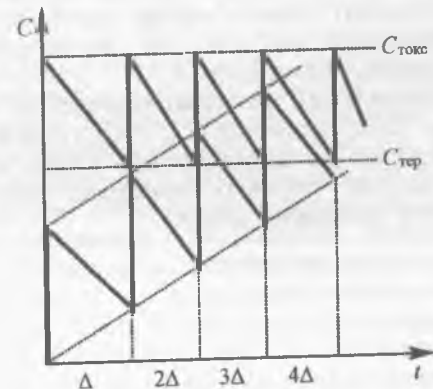


Рис. 5.27. Динаміка вмісту лікарського засобу C при інтермітуючому введенні (з інтервалами і між введеннями) при його елімінації з об'єму розподілу зі сталою швидкістю v_m

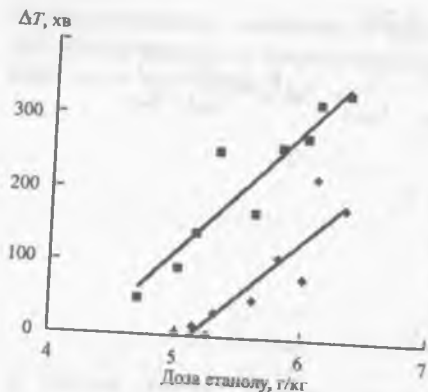


Рис. 5.28. Залежність тривалості ΔT міорелаксації терапевтичної дії (■) та бічного положення токсичної дії (◆) у мишей від дози етанолу

в організм дослідних тварин показало, що процес елімінації спирту можна описати одночастинною схемою з процесом елімінації нульового порядку.

Розглянуті ефекти є швидкооборотними, отже, для аналізу отриманих результатів можна використовувати формальний апарат викладеної вище моделі.

Результати дослідження довели (рис. 5.28), що настання і тривалість ефектів лінійно зростає від введеної дози, токсична дія (бічне положення) етанолу настає при більш високих дозах.

Наведено, що дози, які викликають $t_{\text{тер. min}}$, $t_{\text{токс. min}}$ для етанолу складають відповідно 4,33 і 5,10 г/кг. T_1 спирту дорівнює 1,18. Максимальний час терапевтичної дії дорівнює 133,67 хв. Як видно з рис. 5.28, величина $(t_{\text{тер}} - t_{\text{токс}})$ для етанолу є сталою. MRT ефектів достовірно не відрізняється. Таким чином, даний приклад наочно демонструє перевагу наведеної вище теоретичної розробки для аналізу дослідних даних.

Глава 6. СИНАПСИ ЯК СПЕЦИФІЧНА БІОФАЗА ДІЇ ЛІКІВ МОДУЛЯТОРІВ, ЩО ФУНКЦІОНУЄ ЗА УМОВ НЕРІВНОВАЖНОГО ВМІСТУ ЕНДОГЕННИХ МЕДІАТОРІВ

Рецепторно-лігандна концепція стала складовою таких галузей біологічної науки, як біохімія, молекулярна біологія, ендокринологія та ін. Вивчення закономірностей взаємодії біологічно активних речовин з рецепторами мало особливо великий вплив на розуміння функцій збудливих клітин м'язів і нервової системи.

6.1. Дослідження рецепторно-лігандної взаємодії при вимірюванні іонних струмів у мембранах збудливих тканин

У цій главі розглядаються методи, за допомогою яких отримують відомості про рецепторно-лігандну взаємодію при вимірюванні іонних струмів крізь канали рецепторних утворень. Особлива увага приділяється механізму активності ГАМК_A-рецепторів і їх модуляції біологічно активними речовинами.

Рецептори синаптичних утворень. Значну частку відомостей про принципи взаємодії рецепторів з лігандами було отримано при дослідженні реакцій нейротрансмітерів із синаптичними рецепторами.

Синапс є місцем функціонального контакту, тобто передачі інформації у вигляді електричного сигналу, між двома нейронами або між нейроном і клітиною-мішенню у випадках нейро-м'язового та нейроендокринного сполучень. Відрізняють електротонічні й хімічні синапси. В електротонічних синапсах електричний сигнал передається завдяки сполучним каналам, що створені симетричними структурами (конексонами) щільно контактуючих мембран двох сусідніх клітин. Натомість, відмінною особливістю хімічних синапсів є наявність хімічного посередника, трансмітера, що внаслідок потенціалу дії (ПД) виділяється із закінчення пресинаптичного нейрона до синаптичної щілини та зв'язується з рецептором на поверхні мембрани постсинаптичної клітини. Зв'язування рецепторами нейротрансмітерів призводить до відкриття (або, навпаки, закриття) іонних каналів, або модуляції внутрішньоклітинних процесів. У більшості випадків це відбувається у характерній електричній відповіді. Залежно від напрямку зміни мембранного потенціалу, тобто збільшення або зменшення порогу генерації ПД, такі відповіді є гальмівними (інгібіторними) або збуджуючими постсинаптичними потенціалами (ГПСП або ЗПСП). Характер постсинаптичного потенціалу залежить не тільки від природи активованого рецептора, а й хімічного градієнта проникаючих іонів та рівня потенціалу спокою клітини. Наприклад, рецептори γ -аміномасляної кислоти типу А