

TEORETICKÉ MODELY ANALÝZY SYNERGIE A ANTAGONIZMU LIEČIV

ELENA KURIN a MILAN NAGY

*Katedra farmakognózie a botaniky, Farmaceutická fakulta, Univerzita Komenského, Odbojárov 10, 832 32 Bratislava
elena.kurin@gmail.com*

Došlo 1.12.11, prijaté 24.4.12.

Rukopis byl zařazen k tisku v rámci placené služby urychleného publikování.

Kľúčové slová: interakcie liečiv, synergia, aditivita, antagonizmus

Obsah

1. Úvod
2. Teoretické modely hodnotiace interakcie liečiv
 - 2.1. Model Loeweho aditivity
 - 2.2. Model Blissovej nezávislosti
 - 2.3. Chouov model
 - 2.3.1. Rovnica stredového účinku
 - 2.3.2. Izobologram
 - 2.3.3. Kombinačný index – CI
3. Terapeutická synergia
4. Záver

1. Úvod

Od 19. storočia sa niektorí bádatelia západnej medicíny začali exaktne venovať problematike interakcií izolovaných látok. Thomas Richard Fraser skúmal interakcie medzi fyzostigmínom a atropínom, neskôr Loewe medzi známymi kombináciami liečiv. Príkladom komplexných terapeutických prípravkov je aj sérová terapia, za ktorú bol Emil Adolf von Behring ocenený Nobelovou cenou za fyziológiu a medicínu v 1901. O sedem rokov neskôr dostal Paul Ehrlich rovnaké ocenenie za priekopnícke štúdie vo výskume „čarovných guliek“, konceptu selektívneho cielenia na baktérie bez ovplyvnenia zvyšného organizmu, vďaka čomu došlo vo farmakoterapeutických stratégiách k zmene paradigmy od používania komplexných extraktov k definovaniu malých izolovaných molekúl¹.

Moderný farmaceutický priemysel tak dodnes stojí z majoritnej časti na používaní monokomponentných liečiv, no práve nárast multifaktorových ochorení, či rozvoj multiliekovej rezistencie na liečbu² znovu volá po terapii, ktorá by bola schopná riešiť problémy viacerých patologických procesov súbežne a efektívnejšie. Jednou

z možností je aj hľadanie kooperujúcich kombinácií a dosahovanie synergických účinkov liečiv.

Prírodné liečivá poukazujú na potenciál multikomponentných zmesí. Antioxidačné vlastnosti niektorých prírodných extraktov sú napríklad omnoho vyššie v porovnaní s ich izolovanými obsahovými látkami. Polyfenolové zlúčeniny sú schopné chrániť vitamín C aj β -karotén, ktoré zase zvyšujú účinnosť vitamínu E. Vitamín C môže pôsobiť ako lapač kyslíka, ale aj donor vodíka pre fenolové zlúčeniny. Vitamíny C a E môžu byť „recyklované“ kyselinou dihydrolipoovou, vďaka čomu dochádza na mnohých miestach k synergickým reakciám³. Účinok zmesi je tak v mnohých prípadoch efektívnejšou voľbou, ako by bolo použitie izolovaných látok.

Synergia laicky reflektuje starú múdrosť, že „celok je viac ako súčet jeho častí“. Synergetika na fyzikálnej úrovni popisuje v prírode kooperatívne javy, pri ktorých výsledok nemožno dostať prostým súčtom vlastností podsystémov, potvrdzujúc, že v zložitejších systémoch sa vždy môžu zjaviť vlastnosti, ktoré neboli predtým pozorované v jednotlivých podsystémoch. Takouto vlastnosťou sú napríklad chemické väzby. Vznikajú modifikáciou jednoduchých základných fyzikálnych interakcií podmienenou vzájomným pôsobením viacerých objektov súčasne. Keď sa napríklad dostanú do vzájomnej interakcie dva atómy vodíka, jednotlivé elektromagnetické interakcie prináležiacce jednotlivým elektrickým nábojom (elektrónom) generujú novú kvalitu – kovalentnú väzbu⁴. Synergia sa potom objavuje všade tam, kde sa kombináciou dvoch perturbácií (napr. účinkov liečiva v organizme) dosahuje účinok vyšší, akým by bol priemer samostatných perturbácií⁵. Teoretické vyjadrenie kvantifikácie interakcií liečiv je však komplexnejšie ako len prostá „sumácia“, nakoľko spojením účinkov liečiva účinkujúceho na 60 % s liečivom účinkujúcim na 70 % nemožno získať 130% účinok. Niekoľkým základným teoretickým modelom hodnotenia interakcií liečiv sa bude venovať aj tento referát.

2. Teoretické modely hodnotiace interakcie liečiv

Za ostatné desaťročia boli vyvinuté rozličné experimentálne modely a analytické prístupy pre experimentálnu analýzu interakcie liečiv, pričom pred ich použitím stojí vždy základná otázka, ktorá hľadá odpoveď po koncepte predpokladaného účinku⁶. Dve liečivá, ktoré zjavne účinkujú podobne, produkujú niekedy nadmerný alebo oslabený účinok, ak majú konkurenčné pôsobenie. Kvantitatívne vyhodnotenie je potom závislé na klasickej farmakologickej definícii aditivity, kde sa každá zložka spolupodieľa na účinku v súlade so svojou vlastnou aktivitou⁷.

Interakcie bývajú všeobecne popisované ako synergické či antagonistické. Synergiou sa všeobecne rozumie

„pracovanie spolu“ a antagonizmom „pracovanie proti každému“. Akokoľvek, toto všeobecné chápanie významov nie je jednoznačne definované⁸, čo dokumentuje aj tabuľka I.

2.1. Model Loeweho aditivity

Prvým teoretickým modelom kvantitatívnej analýzy látok je model Loeweho aditivity. Tento model je založený na predstave, že zo samej podstaty zložka nemôže interagovať sama so sebou⁹. Inými slovami, v simulovanom pokuse, v ktorom je zložka kombinovaná so sebou samou, bude výsledkom Loeweho aditivity, čo je možné popísať rovnicou (1) (cit.¹⁰).

$$1 = \frac{D_1}{ID_{x,1}} + \frac{D_2}{ID_{x,2}} \quad (1)$$

Pre inhibujúce liečivo, sa rovnica (1) vzťahuje na čiastočné x% (percento stupňa inhibície), napr. 58% inhibície. $ID_{x,1}$ a $ID_{x,2}$ sú koncentrácie liečiva, ktoré vedú k x% inhibícii pre každé z liečiv, resp. liečiva samotného a D_1 a D_2 sú koncentrácie liečiv v zmesi, ktorá vedie k x% inhibícii. Ak je pravá strana rovnice (1) (rovná interakčnému indexu – I (cit.¹¹) alebo kombinačnému indexu – CI (cit.¹²)) menšia ako hodnota 1, potom je naznačený Loeweho synergizmus a ak je pravá strana väčšia ako hodnota 1, je naznačený Loeweho antagonizmus¹³.

Príklad 1

Liečivo A pri fiktívnej (bezrozmernej) koncentrácii/dávke 2 inhibuje systém o 30 %. Liečivo B inhibuje systém o 30 % pri koncentrácii/dávke 3. Zmes liečiv A+B inhibuje systém o 30 % pri celkovej koncentrácii/dávke 2,5; pričom podiel látky A v takejto zmesi je 1 a látky B je

1,5. Použitím rovnice (1), vypočítame, že $(1/2) + (1,5/3) = 1$ a teda interakcia zmesi je podľa Loeweho teoretického modelu aditívna, nakoľko sa rovnica (1) rovná jednej. V prípade, že by rovnica (1) mala výsledok menší ako 1, interakcia zmesi by bola hodnotená ako Loeweho synergia. Pri riešení rovnice (1) s výsledkom väčším ako 1 by bol pozorovaný Loeweho antagonizmus.

2.2. Model Blissovej nezávislosti

Ďalším teoretickým modelom kvantitatívnej analýzy interakcie látok, je model Blissovej nezávislosti¹⁴, ktorý je založený na štatistickej pravdepodobnej nezávislosti⁶. Tento model popisuje prípad pre dve aktívne zložky, ktoré keď sú v kombinácii, priamo do seba nezasahujú, ale obe sú schopné sa podieľať na spoločnom účinku³. Všeobecnou formou Blissovej nezávislosti účinkov je rovnica (2).

$$f_{u12} = f_{u1} \times f_{u2} \quad (2)$$

V rovnici (2) f_{u1} , f_{u2} a f_{u12} sú časti potenciálnej odpovede pre liečivo₁, liečivo₂ a kombináciu (napr. % prežívania, % kontroly) neovplyvnené. Ak je rovnica (2) pretvorená v pojmoch častí potenciálneho účinku s indexmi odkazujúcimi na špecifické koncentrácie zložky₁, zložky₂ a korešpondujúcej kombinácii zložiek 1 a 2, potom vedie k rovnici (3).

$$f_{u12} = (f_{u1} + f_{u2}) - (f_{u1} \times f_{u2}) \quad (3)$$

Táto rovnica postavená na Webbovej metóde čiastočného produktu¹⁵ je analógiou k bežnej formulácii pre pravdepodobné kombinácie (napr.¹⁶). Praktickou výhodou

Tabuľka I

Konsenzuálna terminológia pre dvojzložkový koncept kombinovaného účinku liečiv⁹

	Obe zložky sú účinné jednotlivo; rovnica (1) je referenčný model	Obe zložky sú účinné jednotlivo; rovnica (2) a (3) je referenčný model	Len jedna zložka je účinná individuálne	Žiadna zo zložiek nie je účinná individuálne
Kombinovaný účinok je väčší ako predpokladaný	Loeweho synergizmus	Blissov synergizmus	synergizmus (potenciácia)	koalizmus
Kombinovaný účinok je rovný k predpokladanému referenčnému modelu	Loeweho aditivita	Blissova nezávislosť	inertnosť	inertnosť
Kombinovaný účinok je menší ako predpokladaný	Loeweho antagonizmus	Blissov antagonizmus	antagonizmus	–

oproti Loeweho modelu je, že Blissov model nevyžaduje určenie vzťahu dávka-účinok³. Nevýhodou je, že tento model je relevantný len pre páry látok, ktoré majú rozdielne mechanistické ciele a ich jediné prepojenie je len ich prepojenie s výsledkom¹⁴. Inými slovami, táto metóda je platná, len ak dve liečivá a ich kombinácie majú hyperbolickú krivku závislosti účinku od dávky (napr. prvého poriadku) a ak sú účinky týchto látok súběžne sa nevyklučujúce (napr. majú rozdielny spôsob pôsobenia). Treba však myslieť na to, že v biologických systémoch na bunkových a živočíšnych úrovniach sú krivky závislosti účinku od dávky najčastejšie sigmoidné a niekedy dokonca negatívne sigmoidné¹⁷.

Príklad 2

Liečivo A samostatne inhibuje systém o 30 %, liečivo B samostatne inhibuje systém o 40 %. Kombinovaný aditívny účinok metódu Blissovej nezávislosti potom môžeme teoreticky vypočítať pomocou rovnice (3); $(0,3+0,4) - (0,3 \times 0,4) = 0,58$. Ak teda zmes liečiv A+B bude experimentálne inhibovať systém o viac ako 58 %, môžeme hovoriť o pozorovaní Blissovej synergie, ak bude inhibovať systém o menej ako 58 %, hovoríme o Blissovom antagonizme.

2.3. Chouov model

Mnohopočetná analýza podľa Choua je založená na princípe stredového účinku, z ktorého odvodzuje izobologramovú techniku a kombinačný index (CI). Tie sa stávajú podkladom pre definíciu aditívneho účinku. Základné pravidlo pre Chouovu kombinačnú analýzu je použitie potencie (D_m) liečiva či kombinácie liečiv a tvaru (sigmoidicity) krivky vzťahu dávka-účinok liečiva resp. kombinácie liečiv. Všetky tieto údaje sú odvoditeľné z rovnice stredového účinku.

2.3.1. Rovnica stredového účinku

Rovnica stredového účinku (Median-effect equation) je postavená na princípe Guldberg-Waagovho zákona, teda je odvodená zo zákona o účinku hmotnosti v rovnovážnom stave¹⁸. Je aplikovateľná pre analýzu vzťahu dávka-účinok v enzýmových, bunkových ako aj na zvieracích modeloch. Je možné ju uplatniť pri riešení problému kvantifikácie mnohopočetných inhibítorov na systém, kde dokáže sprostredkovať definíciu súčtu účinkov a následne synergiu alebo antagonizmus¹³. Dôležité je, že určovanie synergie pomocou rovnice stredového účinku je nezávislé na poznání mechanizmu účinku liečiva¹⁹. V zásade ide o najjednoduchší možný spôsob, ako opísať vzťah „dávka“ a „účinok“ v neprítomnosti akýchkoľvek konštánt reakčných rýchlostí²⁰. Je vyjadrená rovnicou (4):

$$\frac{f_a}{f_u} = \left(\frac{D}{D_m} \right)^m \quad (4)$$

kde D je dávka (alebo koncentrácia) liečiva, f_a je časť systému, ktorá je ovplyvnená touto D (napríklad percentom

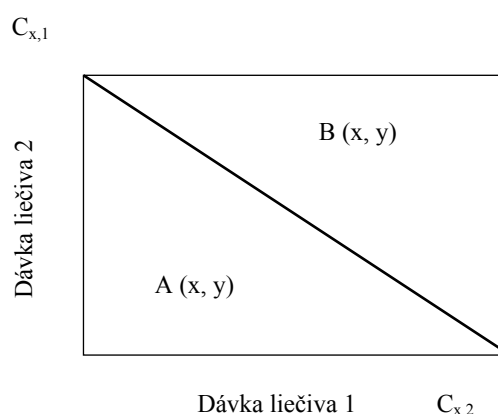
inhibície/100) a f_u je časť systému, ktorá s D nie je ovplyvnená (napr. $f_u = 1 - f_a$). D_m je dávka stredového účinku (napr. IC_{50} , ED_{50} či LD_{50}), ktorá inhibuje systém na 50 %. Koefficient m popisuje tvar vzťahu dávka-účinok, pričom ak je $m = 1$, > 1 a < 1 naznačuje hyperbolický (podobne ako Michealis-Mentenovej kinetika či rovnice popisujúce jednoduché receptorové viazanie), sigmoidový (podobne ako alosterické enzýmové kinetiky či kinetiky väzby kyslíku na hemoglobín) a negatívne sigmoidový (podobne ako pri negatívnej kooperativite v alosterických kinetických systémoch) tvar krivky dávka-účinok¹⁸.

Rovnica stredového účinku sa tiež považuje za „zjednotenú teóriu“, pretože jej úprava vedie k Michaelis-Mentenovej rovnici enzýmovej saturácie prvého poriadku, Hillovej rovnici obsadenosti ligandu vyšších poriadkov, Scatchardovej rovnici popisujúcej receptorovú väzbu a Henderson-Hasselbalchovej rovnici popisujúcej pH ionizáciu. Princíp stredového účinku dávky a účinku je tak všeobecne platný pre kinetiku/dynamiku prvého poriadku ako aj pre vyššie poriadky s mediánom ako spoločným bodom²⁰.

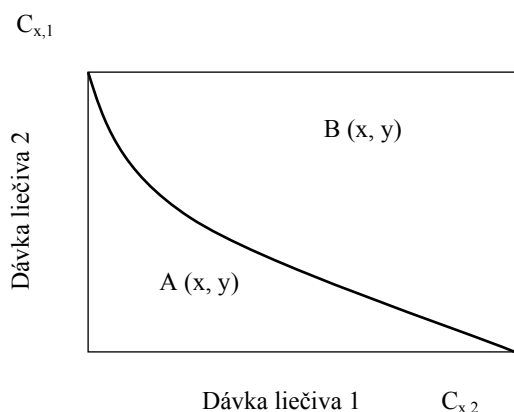
2.3.2. Izobologram

Izobologram, vychádzajúc z modelu Loeweho aditivity, predstavuje jednu z najbežnejších metód používaných na analýzu synergie²¹. Izobologram je vrstevnicou (zbierkou všetkých bodov) na povrchu čiastkových účinkov medzi dvoma liečivami. Izobologram je často používaný na označenie predpokladaného výkonu mnohopočetných liečiv bez prítomnosti interakcie (napr. hypotetickej aditivity). Ak sa experimentálne údaje porovnávajú s izobologramom, odchýlky sú interpretované ako dôkaz farmakodynamickéj interakcie (napr. synergie či antagonizmu)²².

Ako možno vidieť na obr. 1 (cit.²³), izobologram je možné vytvoriť len pre liečivá, ktorých účinky sa vzájomne



Obr. 1. Izobologram pre liečivá so vzájomne sa vylučujúcim mechanizmom účinku. $C_{x,1}$ je IC_{50} liečiva 1 a $C_{x,2}$ je IC_{50} liečiva 2. Línia spájajúca body $(C_{x,1}, 0)$ a $(0, C_{x,2})$ indikuje aditivitu a má rovnicu $x/C_{x,1} + y/C_{x,2} = 1$



Obr. 2. Krivka pre liečivá so vzájomne nevylučujúcim sa mechanizmom účinku. Línia spájajúca body $(C_{x,1}, 0)$ a $(0, C_{x,2})$ indikuje aditivitu a má rovnicu $x/C_{x,1} + y/C_{x,2} + xy/C_{x,1}C_{x,2} = 1$

ne vylučujú. Ak dve (či viac) liečiv majú podobný spôsob účinku, považujú sa za vzájomne vylučujúce. Podmienka vzájomnej výlučnosti patrí k základným predpokladom klasických izobologramov a ich rovnice sú akceptované za „zlatý štandard“ pre výpočet kombinačného indexu. Ako vidno na obr. 2 (cit.²³), pre liečivá, ktorých účinok je vzájomne sa nevylučujúci, ide teda o dve či viac liečiv s úplne nezávislým spôsobom účinku, sa izobola zahýba do krivky. V tomto prípade je možné použiť len metódu čiastkového produktu.

Izobologram je potom možné interpretovať podľa obr. 1 tak, že bod (x, y) označuje pár koncentrácií kombinácie liečiv, kde platí že $x \geq 0$ a $y \geq 0$. Spojnica medzi bodmi $(C_{x,1}, 0)$ a $(0, C_{x,2})$ indikuje množinu koncentračných párov, ktoré nie sú v interakcii, napr. aditivitu. $A(x, y)$ je pár dávok, ktorý vykazuje ten istý účinok s nižšou celkovou dávkou a má teda synergický účinok. $B(x, y)$ je pár dávok, ktorý vykazuje ten istý účinok s vyššou celkovou dávkou a má preto antagonistický účinok²³.

2.3.3. Kombinačný index – CI

Štúdie kombinácií liečiv sa v minulosti upriamili predovšetkým na otázku, či je kombinácia účinnejšia ako rovnako účinné dávky jej zložiek. Tento najširšie užívaný – Loeweho model stavia svoje centrálné tvrdenie na tom, že ak je zlúčenina kombinovaná sama sebou, musí byť z definície aditívna³. Použitím tohto modelu by potom malo napríklad platiť, že ak 50% inhibícia je dosiahnutá samostatne s 1 mM roztokom liečiva A a 2 mM roztokom liečiva B, kombinácia 0,5 mM roztoku A a 1 mM roztoku B by mala tiež inhibovať 50%. Formálne, odpoveďou kombinácií koncentrácií X, Y je inhibícia I_{LOEWE} , ktorá spĺňa $(X/X_I) + (Y/Y_I) = 1$, kde X_I a Y_I sú účinné koncentrácie samostatných zložiek, ktoré produkujú I_{LOEWE} . V zásade ide o najlepší univerzálny referenčný štandard pre definovanie synergie a antagonizmu⁹. Odchýlky od

Loeweho aditivity sú zvyčajne kvantifikované použitím Chouovho a Talalayovho kombinačného indexu $CI = (X/X_I) + (Y/Y_I)$, teda pomeru celkovej účinnej dávky (kombinácie vs. jednotlivéj zložky) potrebnej na dosiahnutie daného stupňa účinku²⁴.

Chou a Talalay predkladajú nasledovné rovnice pre výpočet kombinačného indexu:

$$CI = \frac{D_1}{D_{x1}} + \frac{D_2}{D_{x2}} \quad (5)$$

pre vzájomne sa vylučujúce liečivá,

$$CI = \frac{D_1}{D_{x1}} + \frac{D_2}{D_{x2}} + \frac{D_1 \times D_2}{D_{x1} \times D_{x2}} \quad (6)$$

pre vzájomne sa nevylučujúce liečivá¹³ a

$${}^n(CI)_x = \frac{\sum_{j=1}^n (D_j)}{(D_x)_j} \quad (7)$$

pre kvantifikáciu interakcie kombinácie n -liečiv pôsobiacich $x\%$ inhibíciou¹⁶.

V rovniach (5) až (7), D je koncentrácia liečiva v zmesi, ktorá vedie k $x\%$ inhibícii. Vychádzajú z rovnice stredového účinku (rovnica (4)), parameter D_x je dávka, ktorá je potrebná na dosiahnutie $x\%$ účinku a platí preň vzťah¹³:

$$D_x = D_m [f_a / (1 - f_a)]^{1/m} \quad (8)$$

Parameter m a D_m je možné určiť cez grafické odčítanie parametrov rovnice stredového účinku (Median effect plotting). Logaritmovaním rovnice stredového účinku (rovnica (4)) na:

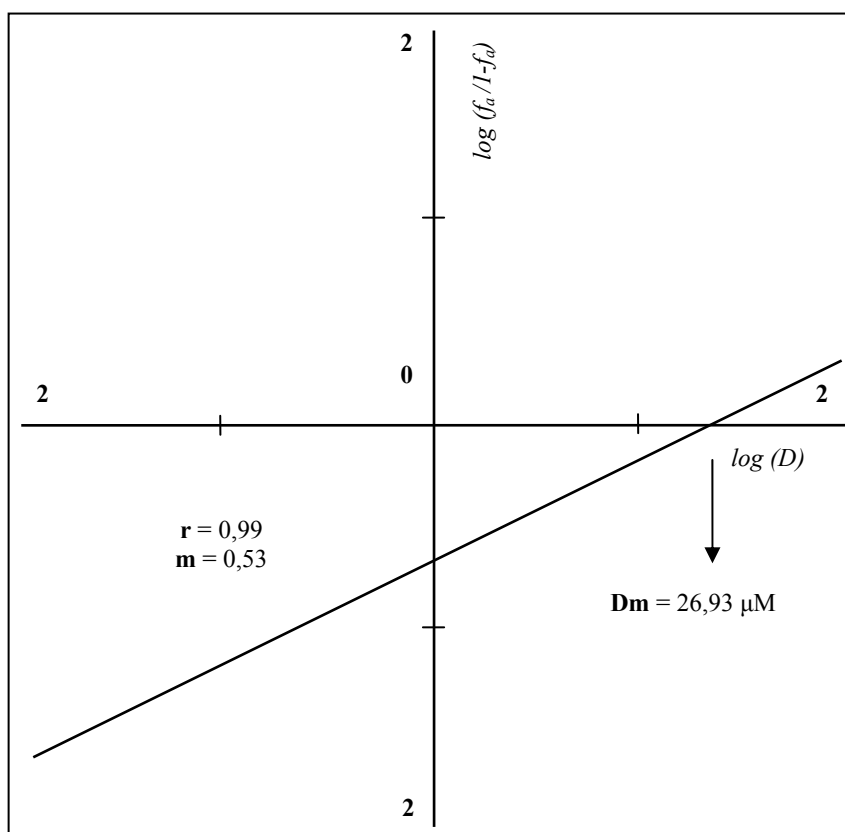
$$\log(f_a / (1 - f_a)) = m \log(D) - m \log(D_m) \quad (9)$$

môžeme z grafickej závislosti $\log(D)$ vs. $\log(f_a / (1 - f_a))$ (napr. obr. 3) odčítať parameter D_m ako bod, v ktorom krivka pretína os x (keďže $\log[f_a / (1 - f_a)]$ sa v bode 50% účinku rovná $0,5 / (1 - 0,5) = 1$ a potom $\log(1) = 0$). Zo sklonu krivky tohto grafu môžeme odčítať hodnotu m , nakoľko $\log(f_a / (1 - f_a)) = m \log(D) - m \log(D_m)$ je možné previesť na $y = mx + b$ a potom $m = (y - b) / x$. Veľkosť hodnoty m je mierou sigmoidity krivky a je analógom k Hillovmu koeficientu.

Analýza rovnic (5) až (7) napokon generuje kombinačný účinok, pričom kombinačný index $CI < =$ alebo > 1 indikuje synergizmus, súčet (aditivitu) alebo antagonizmus a jej kvantifikácia je uvedená v tab. II (cit.¹⁸).

Príklad 3

Riešenie príkladu tohto teoretického modelu bude obdobné Loewemu modelu (príklad 1), rozdiel je však daný definovaním dávky liečiva D_x dosahujúcej svoj účinok $x\%$ podľa rovnice (8). V praxi je možné využiť pre výpočet špecializovaný softvér.



Obr. 3. Grafická závislosť $\log(D)$ vs. $\log(f_a/1-f_a)$, pričom D v tomto prípade označuje koncentráciu liečiva [μM], f_a je časť systému, ktorá je ovplyvnená liečivom (%/100)

Tabuľka II
Kvantifikácie interakcií látok na podklade kombinačného indexu¹⁸

Rozsah kombinačného indexu (CI)	Interpretácia interakcie
< 0,1	veľmi silná synergia
0,1 – 0,3	silná synergia
0,3 – 0,7	synergia
0,7 – 0,85	mierna synergia
0,85 – 0,90	slabá synergia
0,90 – 1,10	približne aditívna
1,10 – 1,20	slabý antagonizmus
1,20 – 1,45	mierny antagonizmus
1,45 – 3,3	antagonizmus
3,3 – 10	silný antagonizmus
> 10	veľmi silný antagonizmus

3. Terapeutická synergia

Dôležitou výzvou, ktorej čelia prírodné vedy dnešnej doby je kvantitatívne popísanie ohromujúcej komplexnosti živých organizmov a to nielen, aby sme dokázali oceniť eleganciu prírody, ale hlavne aby sme boli schopní robiť medicínsky relevantné predpovede. Oblasť tejto komplexnosti je široká. Funkciu jednej bunky cicavca zahŕňajú koordinované aktivity medzi 20 000 génmi, 100 000 proteínmi a tisíckami malých molekúl lipidov, sacharidov a iných metabolitov, pričom každé z nich sú v čase exprimované na rozdielnych úrovniach. Tieto komponenty interagujú do fyzikálnych komplexov a funkčných modulov, ktoré pôsobia na mnohých stupňoch organizácie²⁵. Návrh účinku liekov proti jednotlivým molekulovým cieľom zvyčajne nedokáže čeliť multigenetickým ochoreniam, akými sú rakovina či ochoreniam, ktoré ovplyvňujú viaceré tkanivá či typy buniek, ako diabetes či imunozápalové ochorenia²⁶.

Klinické skúsenosti ukazujú, že kombinácia liečiv môže byť efektívnejšia ako samostatné zložky, špeciálne pri rezistentných baktériách a vírusoch²⁷. Je napríklad známe, že rozvoj kolorektálneho nádorového ochorenia je podmienený niekoľkými mutáciami, a teda aj náprava týchto poškodených ciest bude pravdepodobne vyžadovať

niekoľko rozličných intervencií. Vzhľadom na toto poznanie zahŕňajú onkologické chemoterapeutické schémy kombináciu terapiu (ako napríklad kombináciu doxorubicínu, cyklofosfamidu, vinkristínu a prednizónu), pričom úspech takejto kombinácie niektoré spoločnosti premenili na klinicky používané kombinácie liečiv v jednej tablete³. Bezpochyby teda kombinované liečivá vplyvajú na mnohopočetné ciele súbežne, vďaka čomu lepšie kontrolujú komplexné patologické systémy, sú menej náchylné na rozvoj rezistencie a sú štandardom starostlivosti v mnohých dôležitých terapeutických odvetviach²⁶.

Výskum synergických a potenciačných kombinácií liečiv vedie k dosiahnutiu viacerých výsledkov: zvýšenie efektívnosti liečiv, zníženie dávky na rovnaký alebo zvýšený stupeň účinnosti, zníženie alebo odstránenie rozvoja rezistencie liečiva a súbežné zvýšenie terapeutického účinku a redukovanie neželaných účinkov (synergia účinnosti a antagonizmus toxicity)²⁸. Multi-cieľové terapeutické prístupy sa môžu odlišovať v spôsobe vzájomnej kooperácie liečiv v kombinácii:

1. viaceré liečivá môžu účinkovať na samostatné ciele a tak viesť ku kombinovanému účinku. Napr. sulfametoxazol/trimetoprim v baktériách účinkuje na dva rozdielne ciele v biosyntéze folátu.
2. jedno liečivo môže meniť schopnosť druhého dosiahnuť svoj cieľ. Napr. amoxicilín/klavulanát draselný, kde klavulanát inaktívuje niektoré β -laktamázy, a tým zabraňuje inaktivácii amoxicilínu.
3. komponenty sa môžu viazať samostatne na rozdielne miesta toho istého cieľa, čím zvyšujú farmakologickú aktiváciu. Napr. dalfopristín/quinupristín sa viaže na dve rozdielne miesta prokaryotického ribozómu²⁶.

Rastlinné drogy (t.j. prevažne usušené časti liečivých rastlín) svojou podstatou tvoria tiež zaujímavú skupinu zmesi látok s farmakoterapeutickým potenciálom, pričom za ich účinkom môže byť práve synergia ich aktívnych zložiek²⁹. Jedným z príkladov môžu byť štúdie, ktoré potvrdzujú úlohu konopy (*Cannabis*), ktorá je často užívaná pacientmi so sklerózou multiplex proti svalovým kŕčom a bolesti. Experimentálne modely sklerózy multiplex preukázali, že malé množstvá kanabinoïdov zmierňujú tremor. Malé klinické štúdie potvrdili užitočnosť zmesi Δ^9 -tetrahydrokanabinolu (Δ^9 -THC) ako analgetika a kanabidiolu (CBD) ako analgetika s protizápalovými účinkami³⁰. Ďalšie štúdie poukazujú na vzájomné interakcie, kde sú hladiny Δ^9 -THC v mozgu zvyšované v prítomnosti CBD³¹. Je známe, že Δ^9 -THC samostatne navodzuje úzkosť, pričom tá vie byť zmiernená práve vďaka prítomnosti CBD a ako sa ukazuje, aj preto pacienti dávajú prednosť rastlinnému materiálu pred izolovanou látkou³⁰. Ďalším dôkazom, že účinok rastliny je kvalitatívne i kvantitatívne rozdielny od účinku izolovaného Δ^9 -THC je skutočnosť, že rastlinný extrakt má lepšie antispastické účinky ako samotný Δ^9 -THC, čo bolo preukázané na imunogenetickom modeli sklerózy multiplex²⁹. V mnohých štátoch EÚ, vrátane Slovenska, registrovaný liek z CO₂ extraktu listov a kvetov konopy (obsahuje v 1 ml 27 mg Δ^9 -THC a 25 mg CBD) na

tlmenie kŕčov spôsobených sklerózou multiplex je toho vhodným dôkazom.

Najlepšia definícia pre terapeutickú synergiu odráža skutočnosť, kedy použité liečivo v kombinácii prináša do terapie väčší úžitok, ktorý by nebolo možné dosiahnuť samotnými jeho zložkami. V niektorých prípadoch to môže znamenať, že ak pridaním tej istej zložky môže dôjsť k negatívnym následkom, ak je liečivo podávané tesne pod prahom toxicity, kombinácia takéhoto liečiva s liečivom s nepresahujúcou toxicitou môže sprostredkovať enormný benefit, a to aj vtedy, ak je účinnosť kombinovaného účinku len na úrovni Loeweho aditivity. V prípade zvýšenia účinku cytostatika z 50 % na 75 % bez následného zvýšenia vedľajších účinkov môže ísť o klinicky významný posun, hoci by sa matematicky nejednalo o posun synergický³.

4. Záver

Synergia sa v multikomponentnom systéme vyskytuje vtedy, ak dve či viac liečiv (zložiek) vzájomne zvyšujú účinok systému, pričom spoločný účinok zmesi je vyšší ako by sa dalo predpokladať len súčtom čiastočných účinkov jednotlivých liečiv (zložiek). Kvalitatívne posudzovanie interakcií je možné viacerými zaužívanými modelmi, ktorým sme sa venovali aj v tomto článku. Model Loeweho aditivity vychádza z teórie, že liečivo nemôže interagovať samo so sebou a preto v simulovanom pokuse, v ktorom je látka kombinovaná sama so sebou, výsledkom bude Loeweho aditivita. Pre vyhodnocovanie interakcií v tomto modeli je potrebná krivka závislosti dávka-účinnok a vzájomne sa vylučujúci mechanizmus účinku liečiv.

Model Blissovej nezávislosti je odvodený zo štatistickej pravdepodobnosti a predpokladu, že liečivo (inhibitor) dokáže nezávisle ovplyvňovať svoj cieľ simultánne a vzájomne sa nevylučujúco cez rozdielne mechanizmy účinku. Táto metóda využíva Webbovu metódu čiastkového účinku a pravidlo, že kombinovaný účinok dvoch liečiv (inhibítorov) by mal byť výsledkom individuálnych účinkov liečiv (inhibítorov), aké by dosiahli, ak by boli použité samostatne.

Chou vo svojej metóde prepracoval Loeweho model a vytvoril všeobecné pravidlo, v ktorom pri kombinačnej analýze liečiv je potrebné vziať do úvahy len potenciú (D_m) liečiv a ich kombinácií, tvar (sigmoidicitu) krivky vzťahu dávka-účinnok pre každé z liečiv a ich kombinácie. Chou spája vo svojom modeli rovnicu stredového účinku, izobologramovú techniku a kombinačný index, pomocou ktorých definuje aditivitu.

Napokon však pojem terapeutickú synergiu prináša do terapie také kombinácie liečiv, ktoré prinesú lepšie účinky, ktoré by neboli dosiahnuteľné v prípade užívania liekov samostatne. V praxi to nemusí nutne znamenať len zvýšenie účinnosti, ale aj zníženie dávkovania pri zachovanom či zvýšenom účinku; zníženie či odstránenie rozvoja liekovej rezistencie a zníženie neželaných vedľajších či toxických účinkov. V niektorých prípadoch aj malé zlepše-

nie účinku liekov bez zvýšenia vedľajších účinkov môže znamenať veľký klinický posun aj napriek neprítomnosti matematického posunu k synergii. Štúdium synergie tak nepochybne predstavuje perspektívnu oblasť základného aj aplikovaného farmaceutického a biomedicínskeho výskumu.

Práca vznikla za podpory grantom VEGA 2/0081/11 a projektu ITMS 26240120015.

Zoznam symbolov

CBD	kanabidiol
CI	kombinačný index
D	dávka (alebo koncentrácia) liečiva
D _m	dávka stredového účinku (napr. IC ₅₀ , ED ₅₀ či LD ₅₀)
ED ₅₀ , EC ₅₀	dávka, koncentrácia vyvolávajúca 50% účinok
f _a	časť systému ovplyvnená dávkou liečiva (napríklad percento inhibície/100)
f _u	časť systému, ktorá zostáva aj po vnesení liečiva do systému neovplyvnená (napr. $f_u = 1 - f_a$)
IC ₅₀	koncentrácia vyvolávajúca 50% inhibíciu
m	koefficient označujúci tvar krivky vzťahu dávka-účinok
Δ ⁹ -THC	Δ ⁹ -tetrahydrokanabinol

LITERATÚRA

- Keith C. T., Borisy A. A., Stockwell B. R.: *Nature Rev. Drug Disc.* 4, 71 (2005).
- Krátký M., Vinšová J.: *Chem. Listy* 104, 998 (2010).
- Lachman J., Hamouz K., Orsák M.: *Chem. Listy* 99, 474 (2005).
- Krempaský J.: *Synergetika v astrofyzike, chémii, biológii, ekológii, medicíne, ekonómii a v sociológii*. Veda, Bratislava 1988.
- Yeh P., Kishony R.: *Mol. Syst. Biol.* 3, 1 (2007).
- Shipman C.: *Antivir. Res.* 29, 41 (1995).
- Tallarida R. J.: *J. Pharmacol. Exp. Therap.* 298, 865 (2001).
- Berenbaum M. C.: *Pharmacol. Rev.* 41, 93 (1989).
- Zhao L.: *Dissertation*. The Ohio State University, Columbus 2003.
- Straetemans R., O'Brien T., Wouters L., Dun J., Janicot M., Bijmens L., Burzykowski T., Aerts M.: *Biom. J.* 47, 299 (2005).
- Berenbaum M. C.: *Clin. Exp. Immunol.* 28, 1 (1977).
- Chou T. C., Talalay P.: *Adv. Enzyme Regul.* 22, 27 (1984).
- Greco W. R., Bravo G., Parsons J. C.: *Pharmacol. Rev.* 47, 331 (1995).
- Bliss C. I.: *Ann. Appl. Biol.* 26, 585 (1939).
- Webb J. L.: *Enzyme and Metabolic Inhibitors, vol. 1*. Academic Press, New York 1963.
- Larson H. J.: *Introduction to Probability Theory and Statistical Inference*. J. Wiley, New York 1982.
- Chou T. C.: *J. Lab. Clin. Med.* 132, 6 (1998).
- Chou T. C.: *Pharmacol. Rev.* 58, 621 (2006).
- Chou T. C.: *Cancer Res.* 70, 440 (2010).
- Chou T. C.: *Leukemia Lymphoma* 49, 2059 (2008).
- Decker, S., Sausville E. A.: *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1059, 61 (2005).
- Boucher A. N., Tam V. H.: *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 55, 319 (2006).
- Asbagh L. A., Deniz A., Uzunoglu S., Uslu R.: *C.B.U. J. Sci.* 4, 127 (2008).
- Lehár J., Zimmermann G. R., Krueger A. S., Molnar R. A., Ledell J. T., Heilbut A. M., Short G. F., Giusti L. C., Nolan G. P., Magid O. A., Lee M. S., Borisy A. A., Stockwell B. R., Keith C. T.: *Mol. Syst. Biol.* 3, 1 (2007).
- Lehár J., Stockwell B. R., Giaever G., Nislow C.: *Nat. Chem. Biol.* 4, 674 (2008).
- Zimmermann G. R., Lehár J., Keith C. T.: *Drug Discovery Today* 12, 34 (2007).
- Lehár J., Krueger A. S., Zimmermann G. R., Borisy A.: *Mol. Syst. Biol.* 4, 1 (2008).
- Jia J., Zhu F., Ma X., Cao Z. W., Li Y. X., Chen Y. Z.: *Nat. Rev. Drug Discovery* 8, 111 (2009).
- Williamson E. M.: *Phytomedicine* 8, 401 (2001).
- Williamson E. M., Evans F. J.: *Drugs* 60, 1303 (2000).
- Zuardi A. W., Shirakawa I., Finkelfarb E., Karniol I. G.: *Psychopharmacology* 76, 245 (1982).

E. Kurin and M. Nagy (*Department of Pharmacognosy and Botany, Faculty of Pharmacy, Comenius University, Bratislava, Slovak Republic*): **Theoretical Models for Analysis of Synergy and Antagonism of Drugs**

The review presents the following methods of quantitative analysis of drug interactions: the Loewe additivity model, Bliss independence model, Webb's fractional products method and the Chou model.

Therapeutic synergy is achieved by combining drugs to obtain higher benefits which could not be reached with individual drugs. The synergy improves not only the drug effect, but also leads to a dosage decrease at equal or increased efficacy and finally to reduction or delay of drug resistance as well as reduction of toxic effects. In some cases also a small improvement of drug effects without increasing adverse actions means a great clinical shift even without synergy.