

Современные подходы к созданию новых лекарственных средств

Мокров Г.В.

ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова»



Путь создания лекарственного средства



Возникновение

- растительное и животное сырье
- экстракты с неустановленным действующим началом

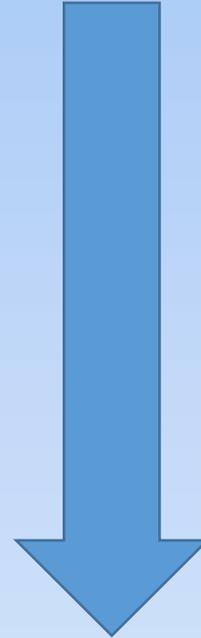


- Качественный скачок произошел во второй половине XIX в., когда в связи с бурным развитием химии были установлены активные компоненты многих лекарств и внедрены первые чисто синтетические препараты



Подходы к созданию лекарств

- Удача, случайные находки
- Химическая модификация
- Скрининг
- Рациональный драг-дизайн

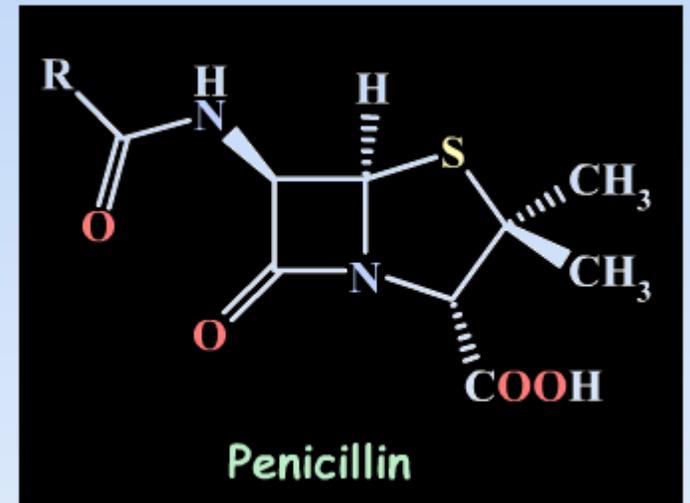
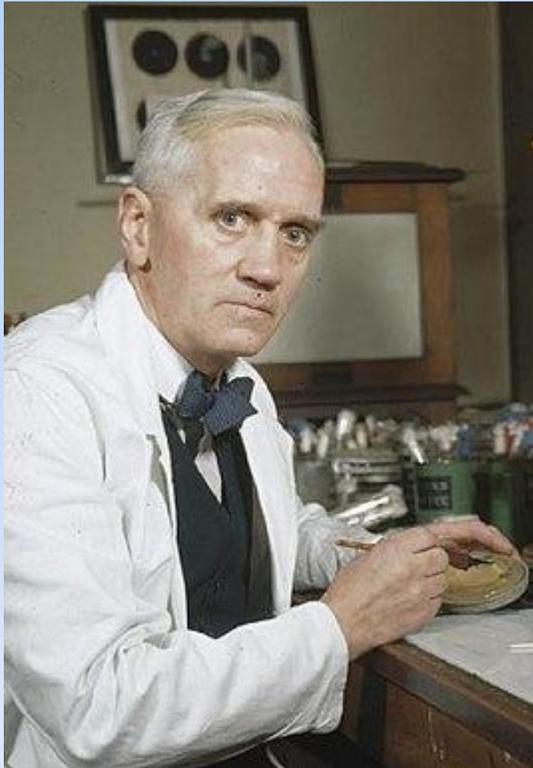


XX век

XXI век

Удача+интуиция «Шанс благоприятствует подготовленному разуму»

В 1928 году Флеминг обнаружил, что на агаре в одной из чашек Петри с бактериями *Staphylococcus aureus* выросла колония плесневых грибов. Колонии бактерий вокруг плесневых грибов стали прозрачными из-за разрушения клеток. Флемингу удалось выделить активное вещество, разрушающее бактериальные клетки, — пенициллин



Химическая модификация

- Гомологический подход



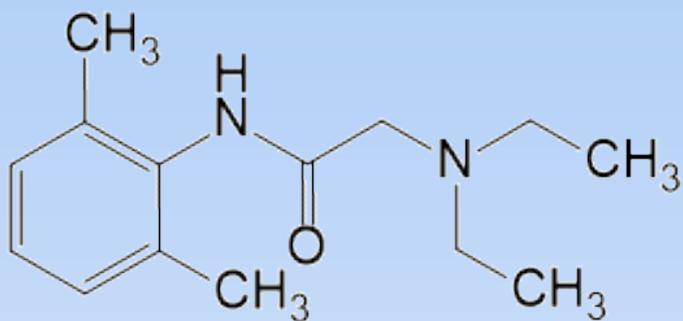
- Молекулярное разъединение / упрощение



- Молекулярное присоединение
- Изостерические замены



Химическая модификация



Лидокаин



Тримекаин
(1961)

Пиромекаин
(1982)



Получение **аналога** известного активного соединения с небольшой модификацией. **Цель:** улучшение биологической активности

Скрининг

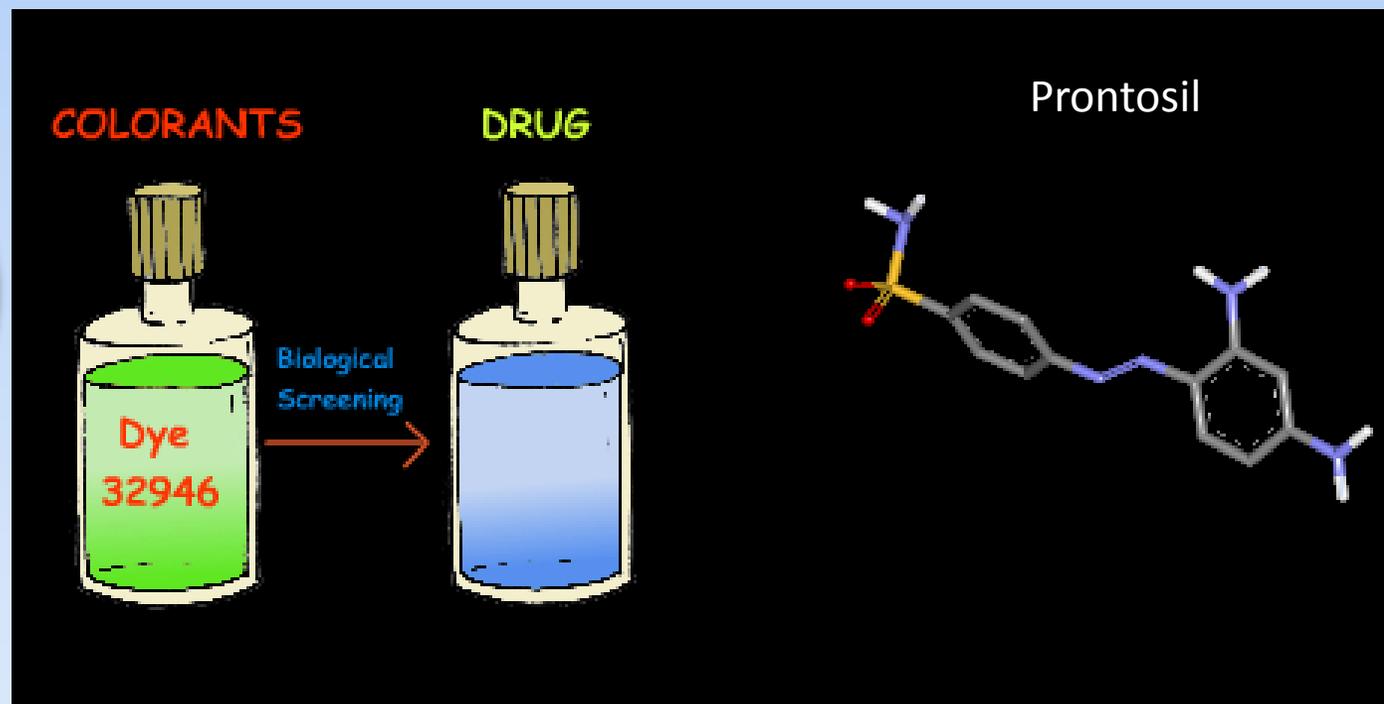
- Тестирование большого числа различных молекул на наличие биологической активности



Герхард Домагк



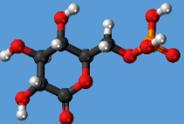
1939



Prontosil

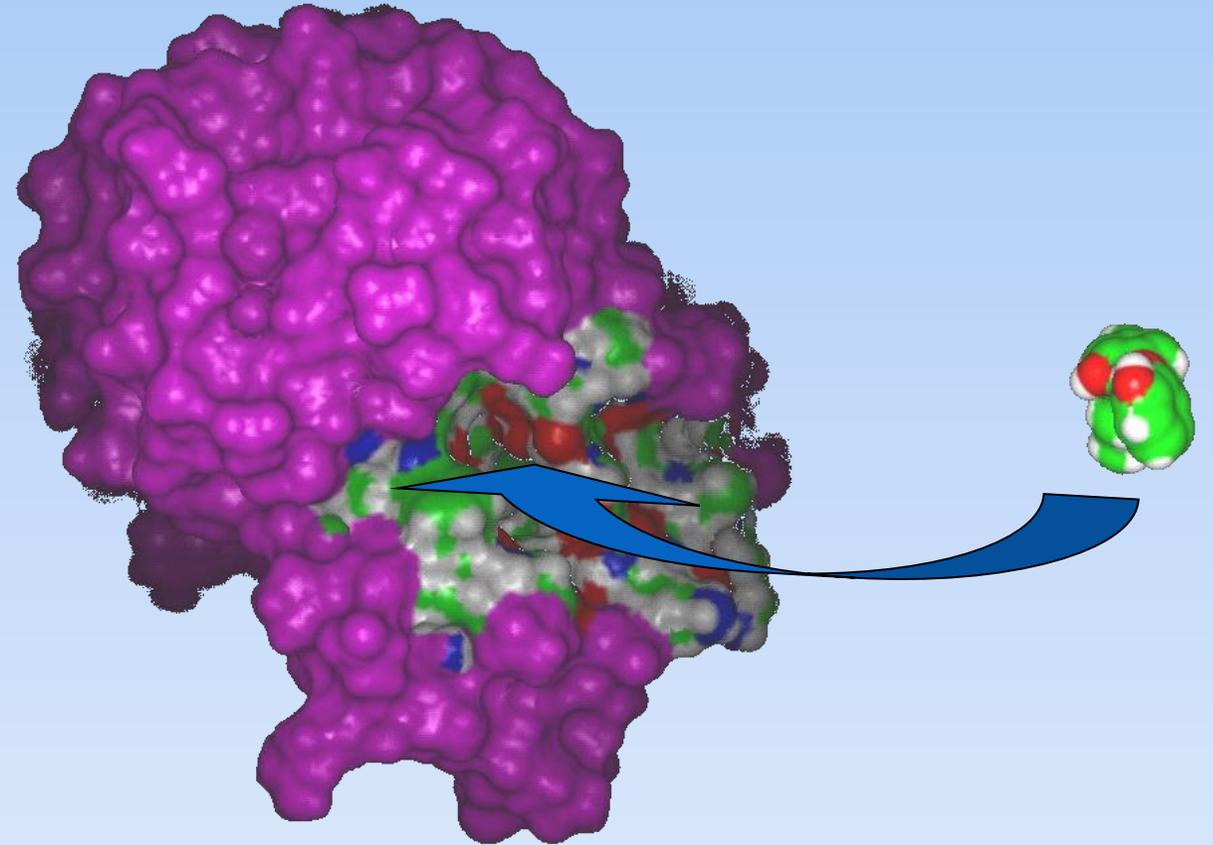
Prontosil

Современная стратегия поиска ЛС

Структура лиганда		известна 	неизвестна 
Структура биомишени			
известна 	<i>Structure-based design</i> <i>Rational Drug Design</i> <i>Molecular Docking</i> <i>Drug-Receptor Interaction</i>	<i>de-novo design</i> <i>Active Site Search</i> <i>Receptor based DD</i>	
неизвестна 	<i>QSAR(Qualitative Structure-Activity Relationship)</i> <i>Indirect DD</i> <i>Ligand-based DD</i> <i>Pharmacophore design</i>	<i>Комбинаторная химия и "high throughput screening"</i>	

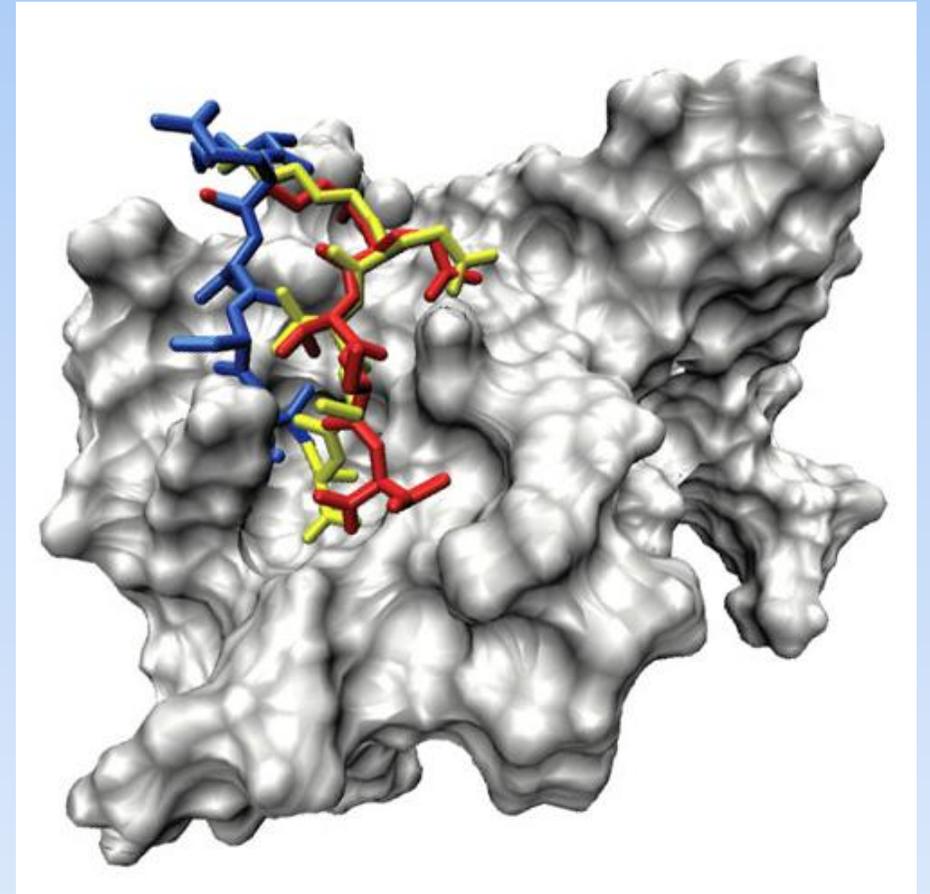
1. Структуры “биомишени” (рецептора, фермента) и лиганда известны: *Rational drug design*

- 3D-структура «биомишени» (X-ray/ЯМР)
- Со-кристаллизация комплекса «биомишень-лиганд»
- Анализ специфических групп, отвечающих за взаимодействие «биомишень-лиганд»
- Дизайн нового лиганда, максимально отвечающего установленным требованиям (Молекулярный докинг)



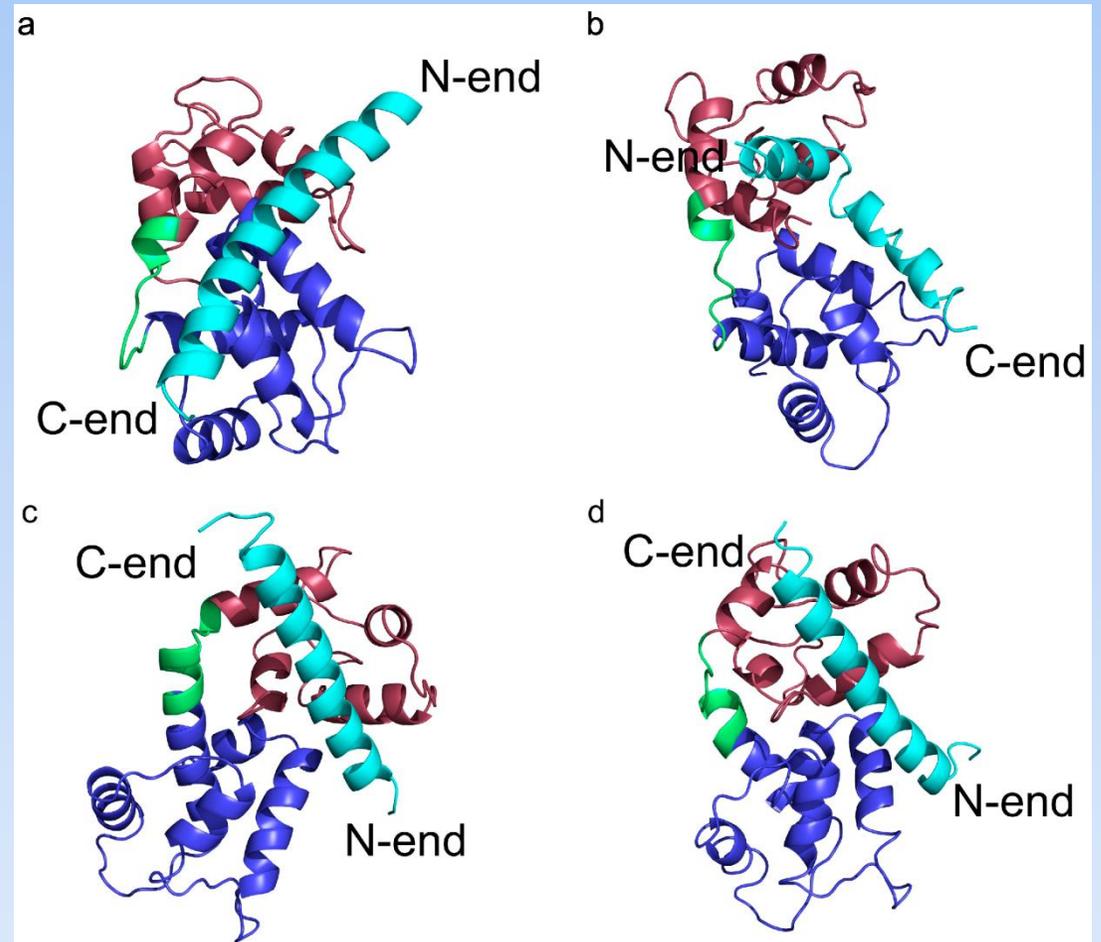
Метод молекулярного докинга прямой дизайн соединения-лидера

- Соединение помещают область, где происходит связывание
- Алгоритм докинга кодирует ориентацию соединения и конформаций
- Оптимизация связывания с белком:
 - Минимизация энергии
 - Водородные связи
 - Гидрофобные взаимодействия
- Вычисление (Scoring)



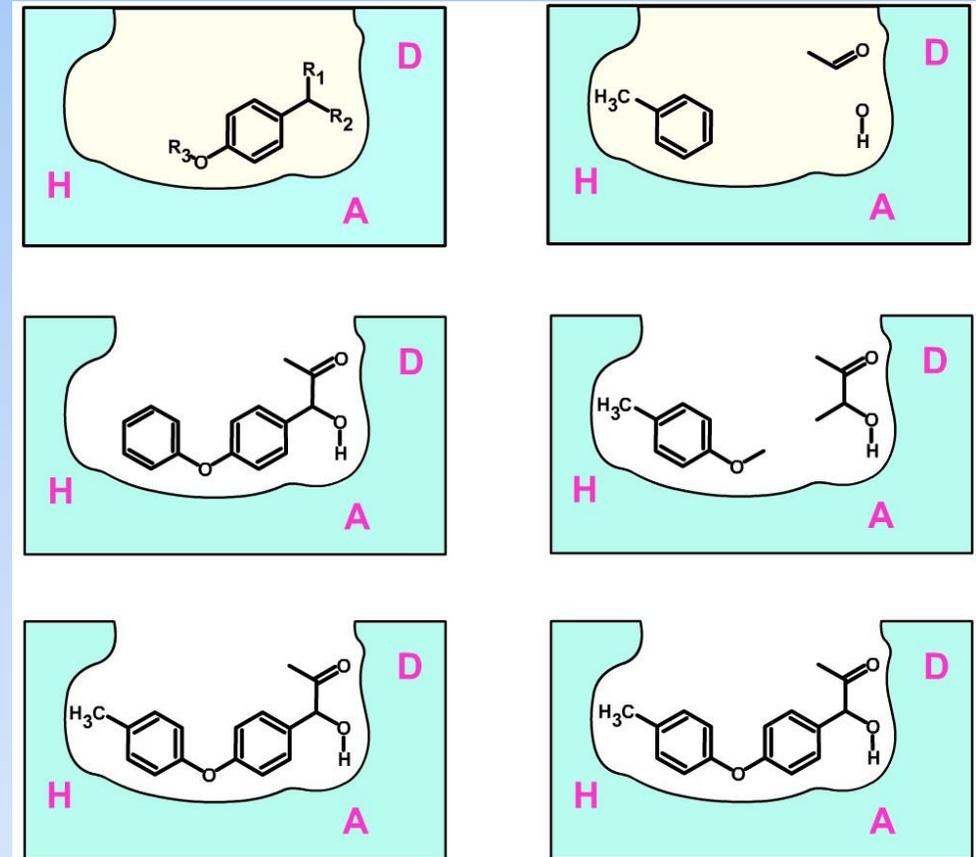
Методологические трудности докинга

- Учет конформаций лиганда
- Учет гибкости рецептора
- Метод построения оценочной функции



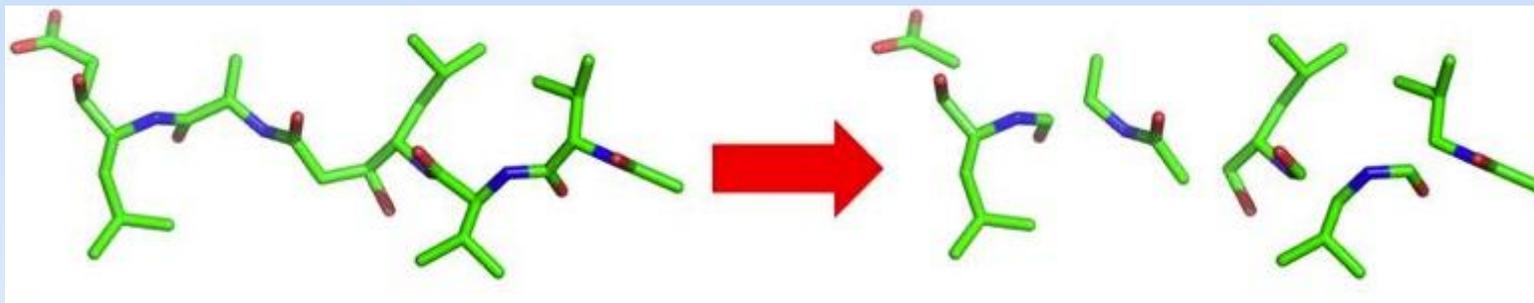
2. Структура биомишени известна, но структура лиганда не известна: *de-novo design*

- Активный сайт «биомишени»
- постепенное конструирование молекулы на основе небольших фрагментов
- Минимизация энергии отталкивания групп (стерический фактор)
- Максимизации энергии связывания



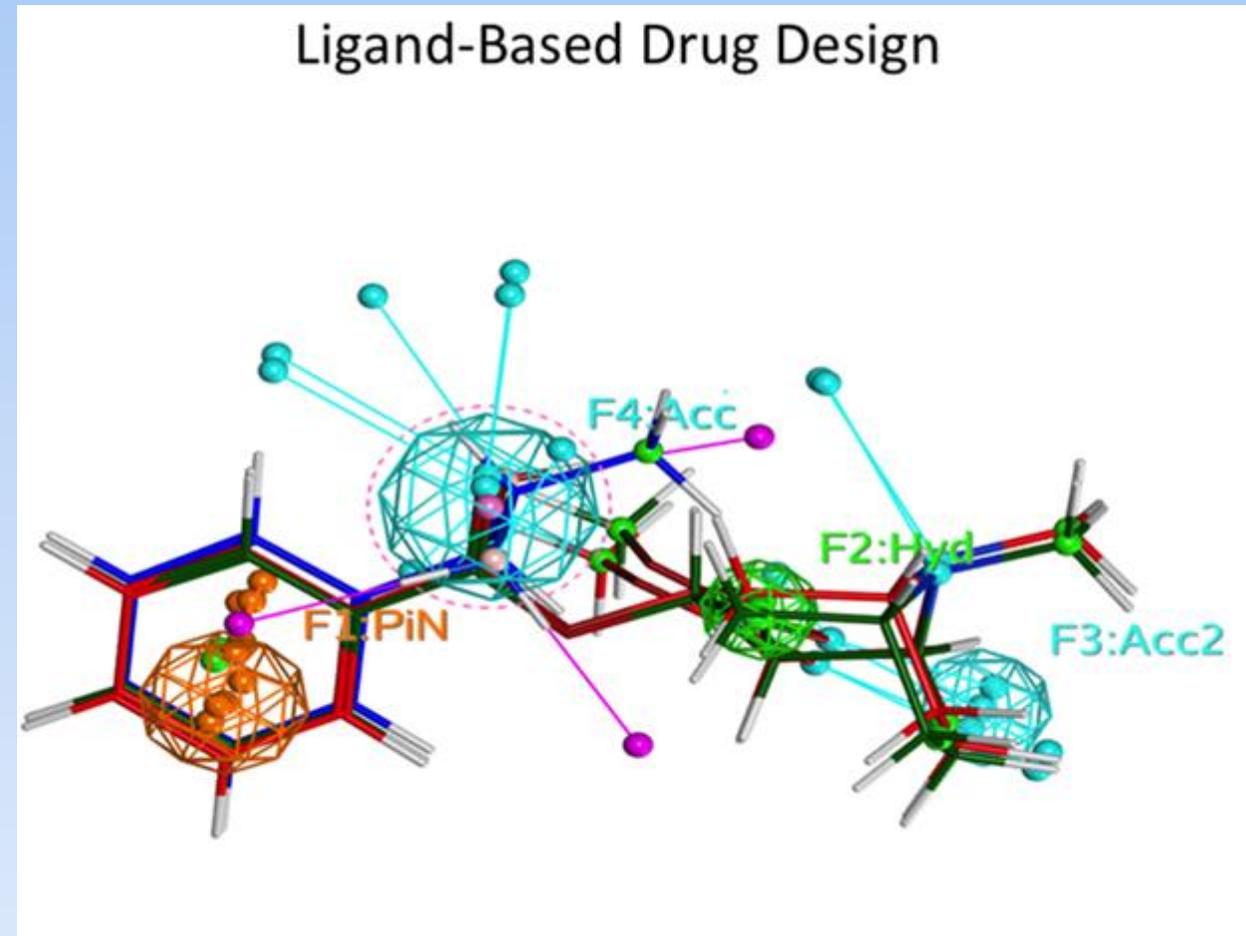
Методологические трудности de novo design

- Невысокая надежность оценки сродства лигандов к связыванию
- тенденция к предсказанию ложных активных молекул
- слишком общие правила построения молекул
- Сложность синтеза генерируемых структур



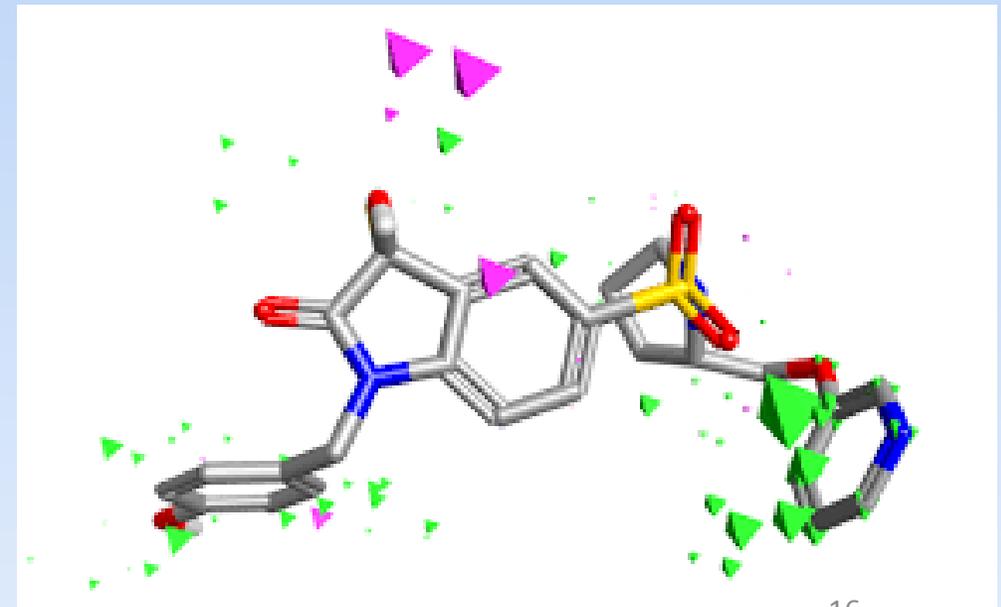
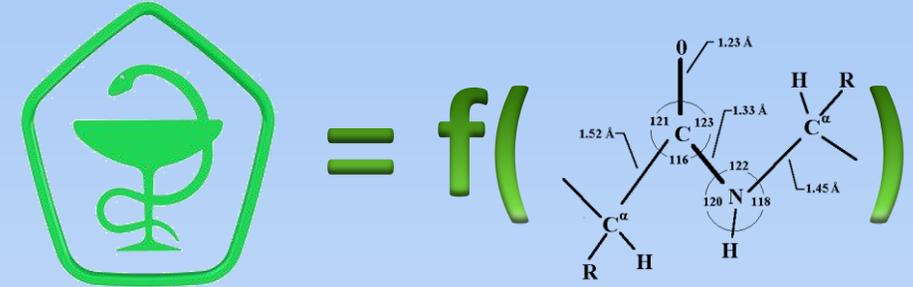
3. Структура лиганда известна, но структура биомишени неизвестна

- QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationship) расчет связи «структура-активность»
- Фармакофорное моделирование



QSAR расчет связи «структура-активность»

- QSAR представляют собой математические соотношения, связывающие химические структуры с биологической активностью с использованием физико-химических или любых других свойств
- Математические методы, используемые в QSAR, включают различные методы регрессии и распознавания образов
- Физико-химическое или любое другое свойство, используемое для генерирования QSAR, называется **дескриптором** и рассматривается как независимая переменная
- Биологическое свойство рассматривается как зависимая переменная



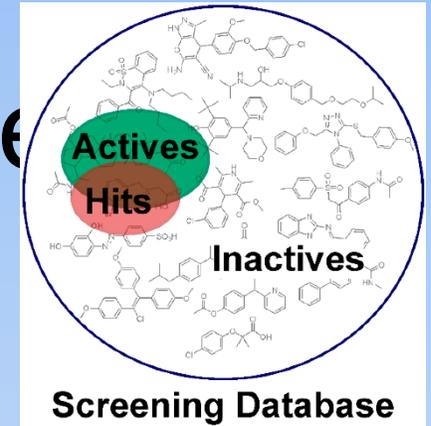
QSAR и Драг-дизайн

Соединения + Биологическая активность

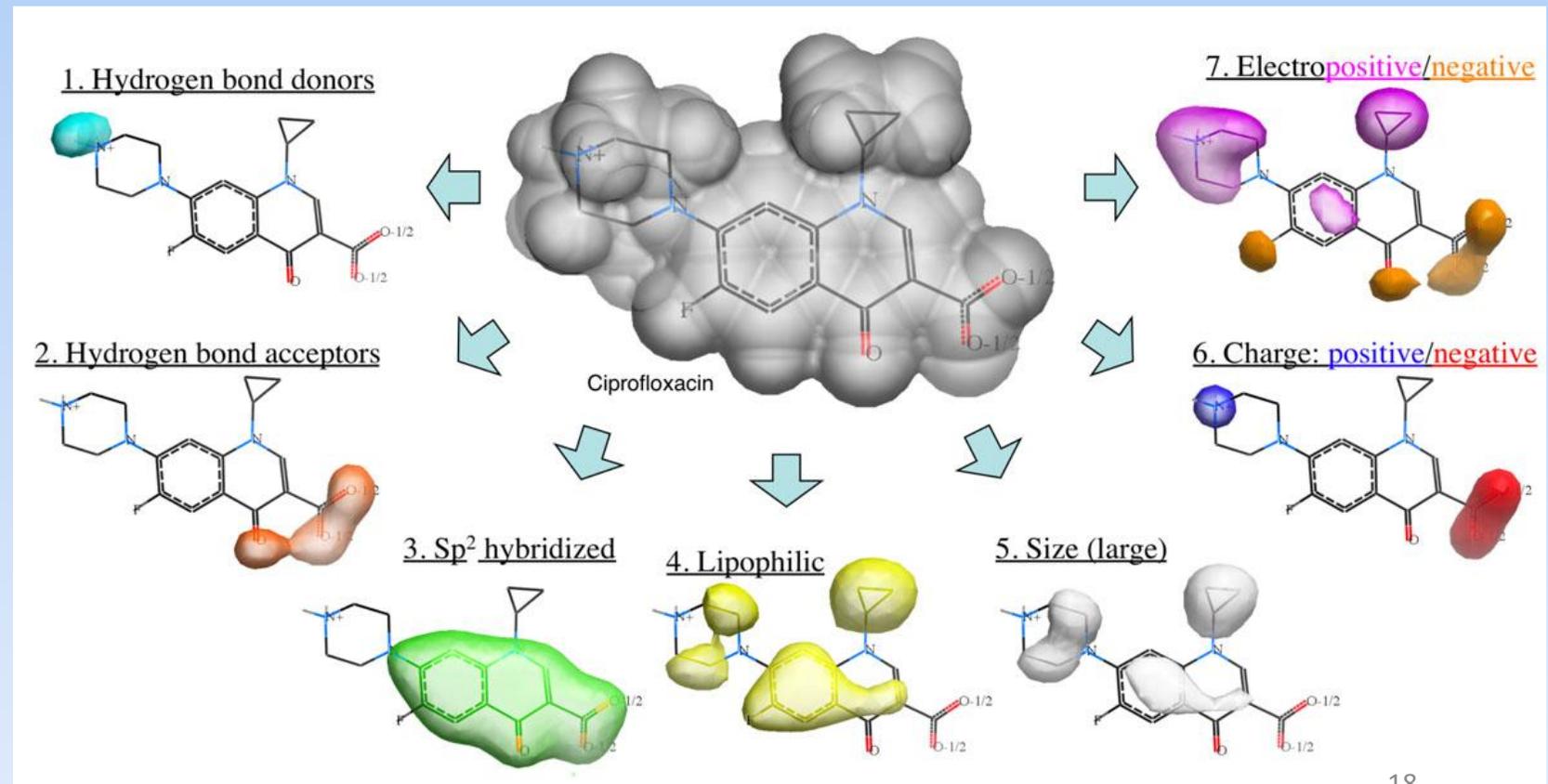


Новые соединения с улучшенной активностью

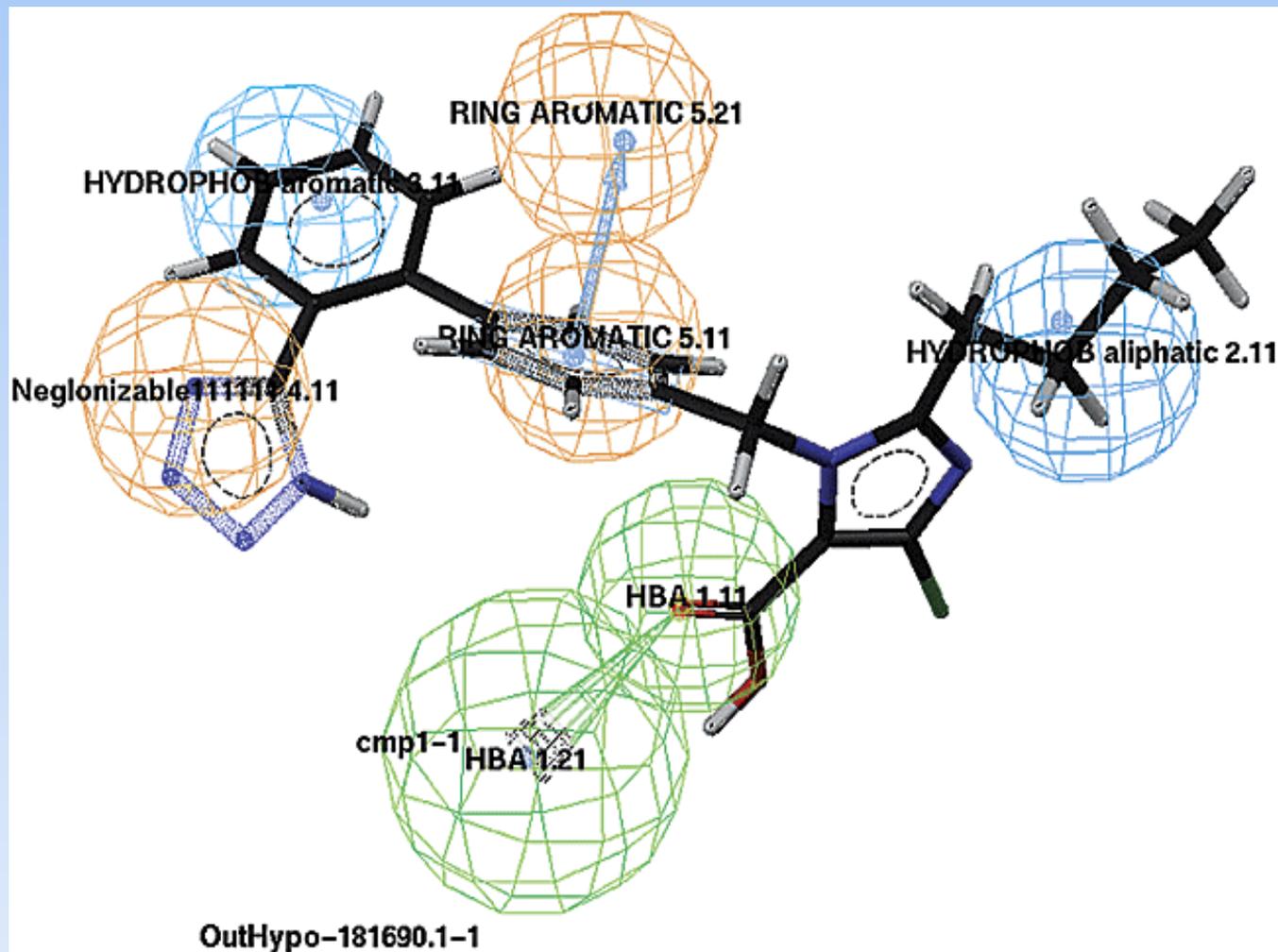
Фармакофорное моделирование



- Изучить особенности неактивных малых молекул (лигандов) и особенности активных малых молекул
- Построение гипотезы о том, какие химические группы молекулы необходимы для биологической активности; какие химические группы подавляют биологическую активность
- Создание новых молекул, которые имеют необходимые химические группы в соответствующей 3D-локализации

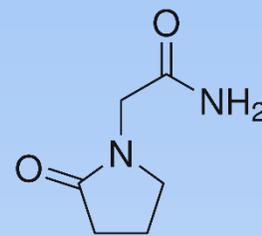


Пример фармакофорной модели

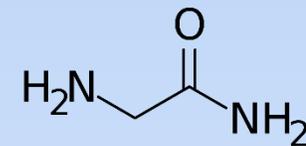
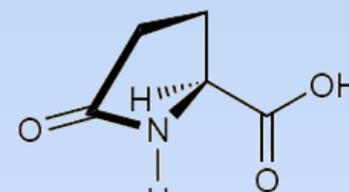
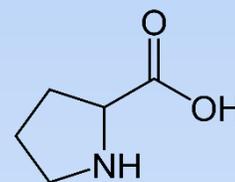


Топологический подход «от лекарства к пептиду» (Т.А. Гудашева)

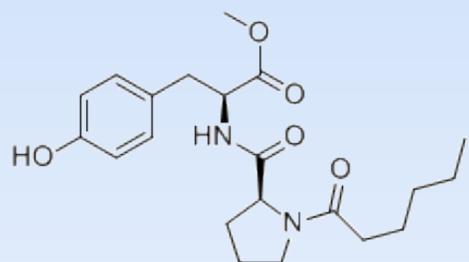
- 1) выбор базовой структуры непептидного лекарства на основе фармакологических признаков пептидергического механизма действия;
- 2) выявление «пептидных» элементов структуры этого лекарства;
- 3) конструирование простейшего пептидного аналога на основе выявленных элементов;
- 4) проверка пептидного аналога на наличие основной активности непептидного лекарства;
- 5) оптимизация структуры аналога на основе связи структуры и активности;
- 6) выявление эндогенного прототипа среди нейропептидов;
- 7) модификация аналога на основе структуры эндогенного нейропептида и отбор потенциального пептидного лекарства.



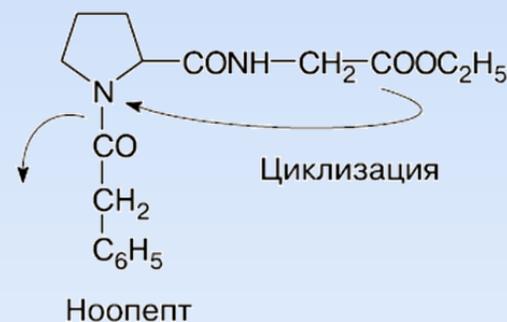
Пирацетам



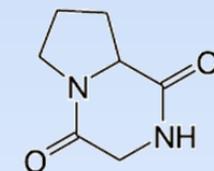
Аминокислоты



Дилепт



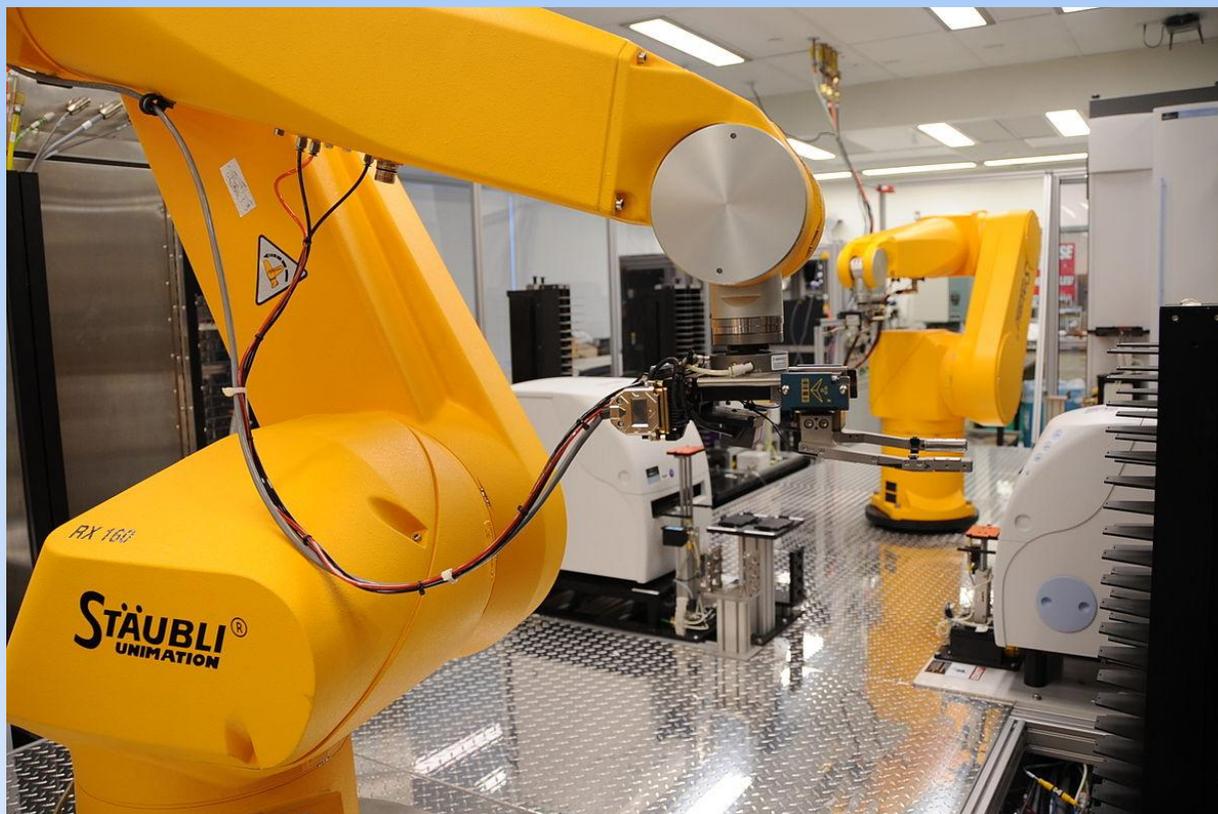
В организме



цикло-(Pro-Gly)

4. Структура лиганда и биомишени неизвестна

- Случайные находки
Исторический метод
- Комбинаторная химия
- “High throughput screening”



Комбинаторная химия

- Параллельный синтез: сотни сходных соединений в день

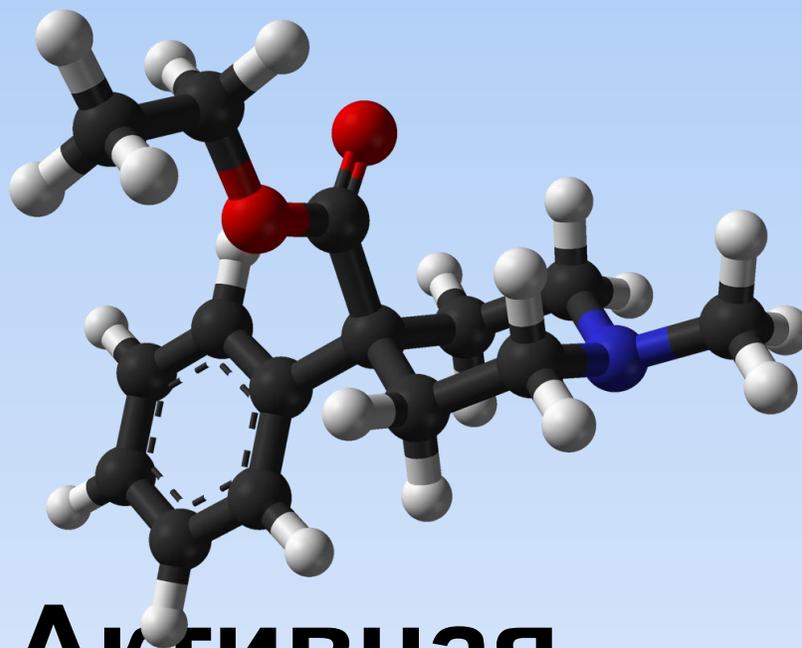
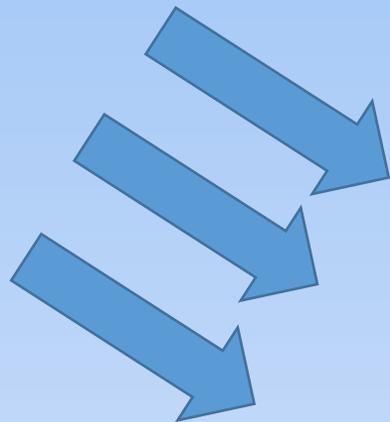


“High throughput screening”

- Метод позволяет тестировать десятки тысяч соединений в день на выбранные биомишени



Драг-дизайн

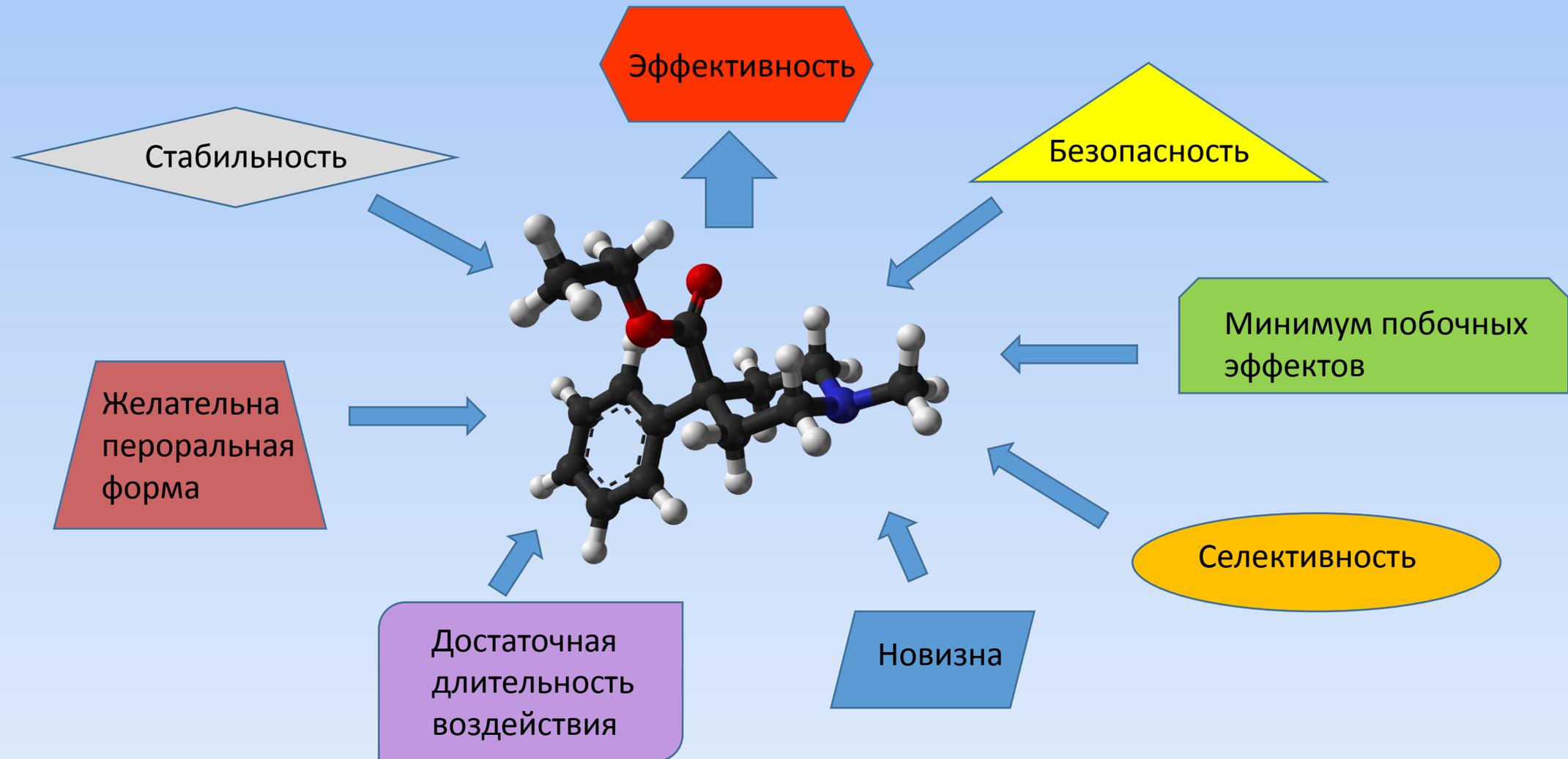


**Активная
молекула**

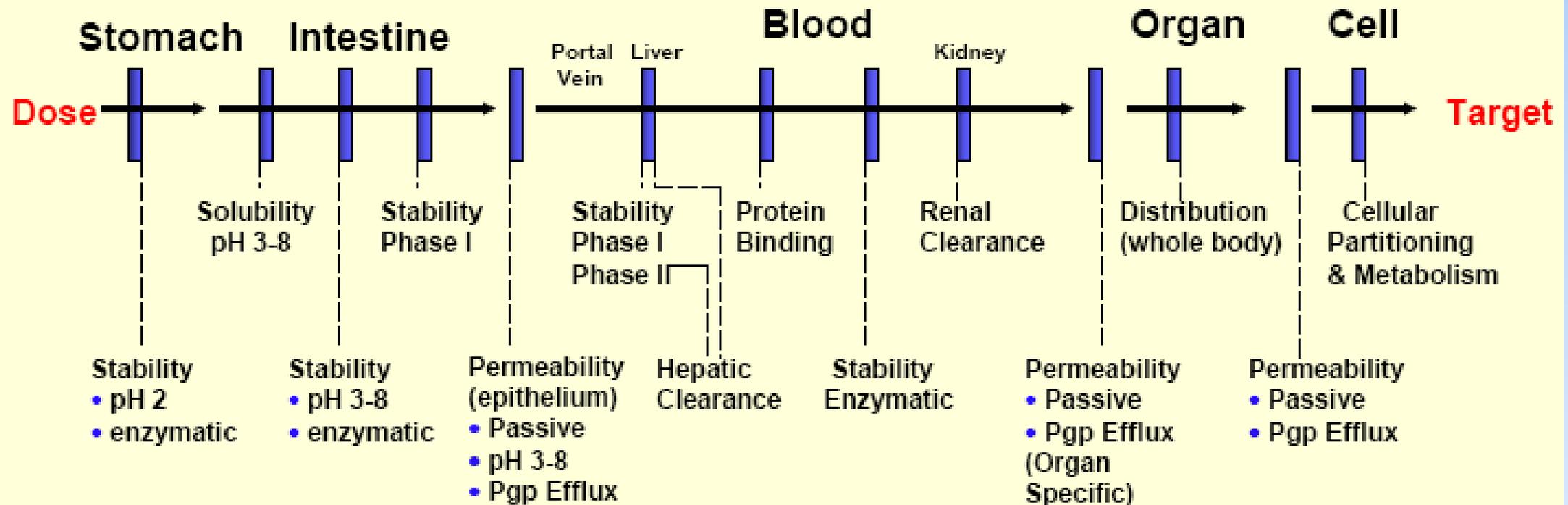
Что дальше?



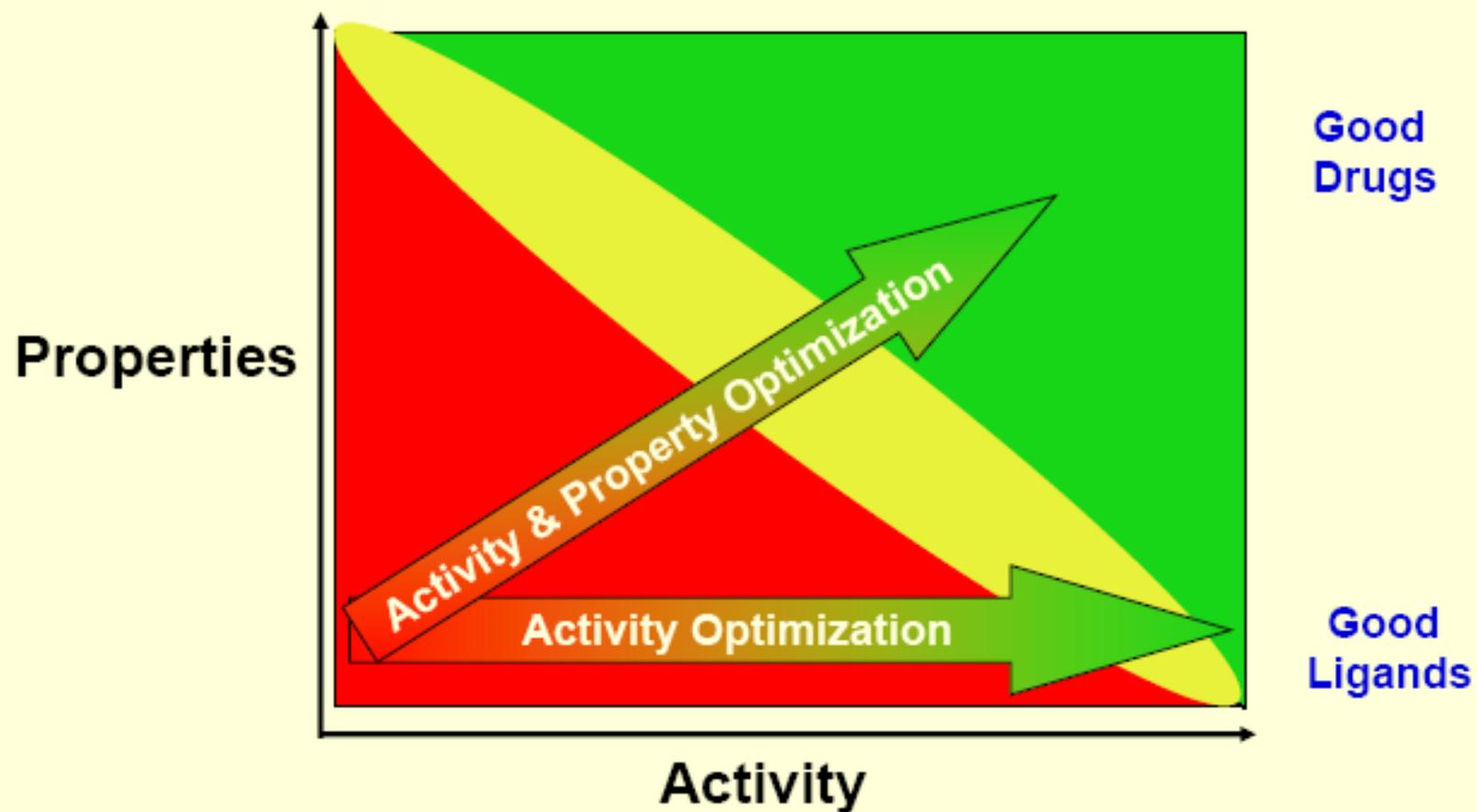
«Идеальное лекарство»



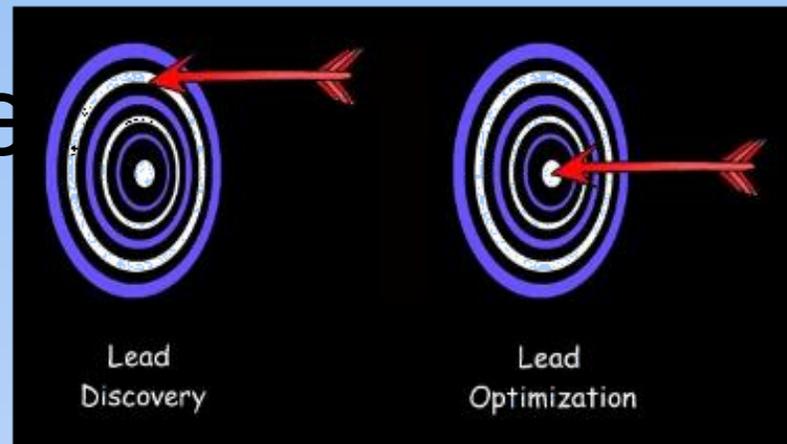
Drugs Must Survive *In Vivo* Barriers



Changing Criteria for Clinical Candidates



Оптимизация соединения-лиде



- *in silico* ADMET моделирование

(Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity)

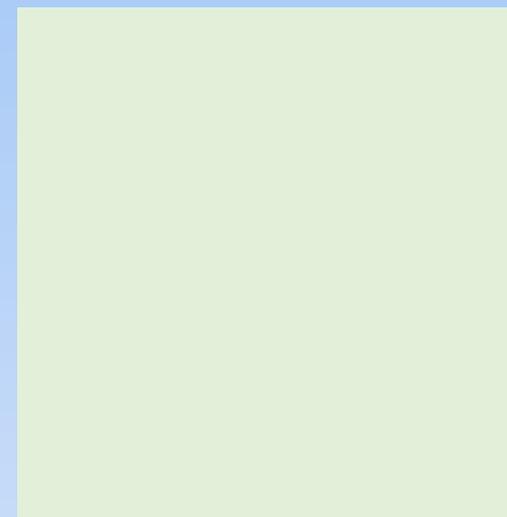
Позволяет провести «отсев» неподходящих молекул на ранней стадии

- Эмпирические правила: «правило Липинского», «правило Вебера», «Lead-Likeness», «Фильтр А.К.Ghose», «Критерий MQ Zhang»

Правило Липинского («правило пяти»)

Для наличия хорошей биодоступности молекулы (per os):

- молекулярная масса не более 500
- содержит в своей структуре суммарно не более 10 атомов азота и/или кислорода в качестве акцепторов Н-связи
- содержит не более 5 групп ОН и/или NH в качестве доноров Н-связи
- достаточно растворимо в воде (имеет липофильность $\log P$ не более 5)



ГМЛ-1

- Мол. масса 341 г/моль
- 2 атом N, 1 атом O (акц. Н-связи)
- Доноров Н-связи нет
- $\log P = 3,83$

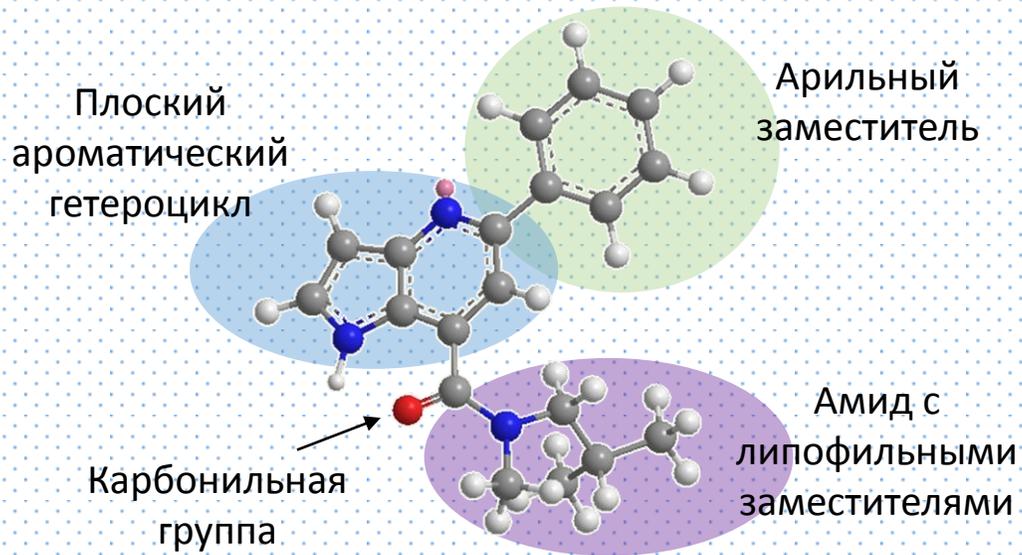
Примеры Драг-дизайна в НИИ фармакологии



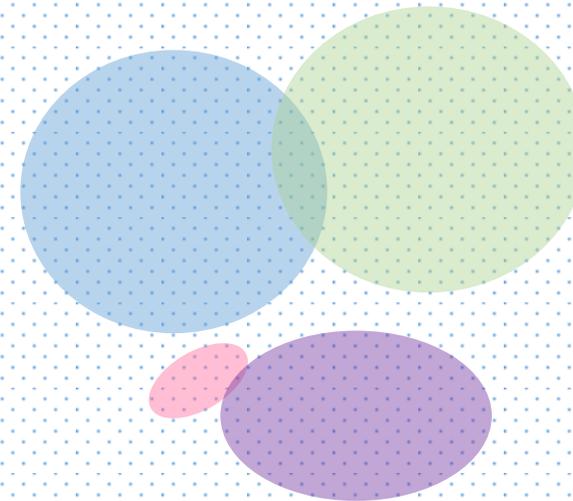
Фармакофорное моделирование

Дизайн новых лигандов TSPO

Фармакофорная модель
строения лигандов TSPO:

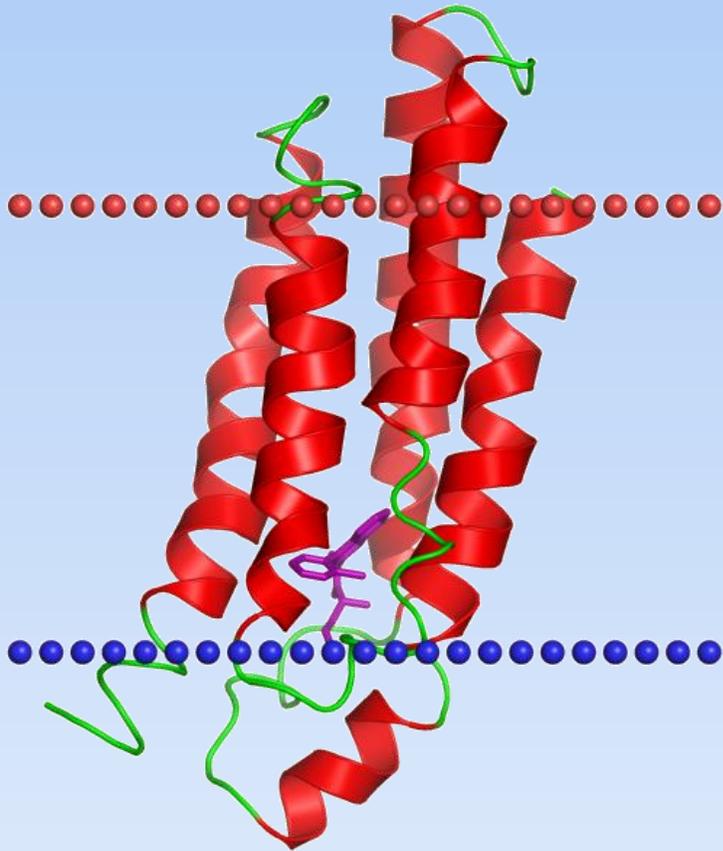


Предложенная группа
лигандов TSPO:

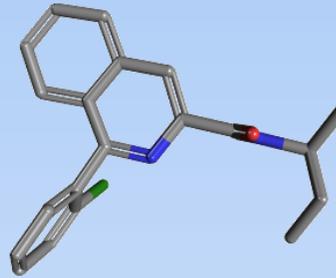


Структуры “биомишени” и лиганда ИЗВЕСТНЫ

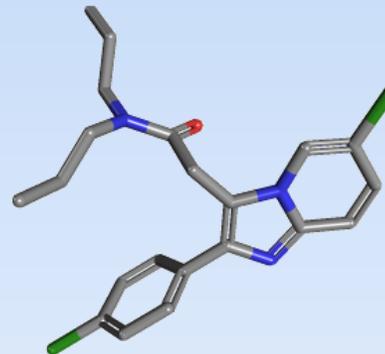
TSPO



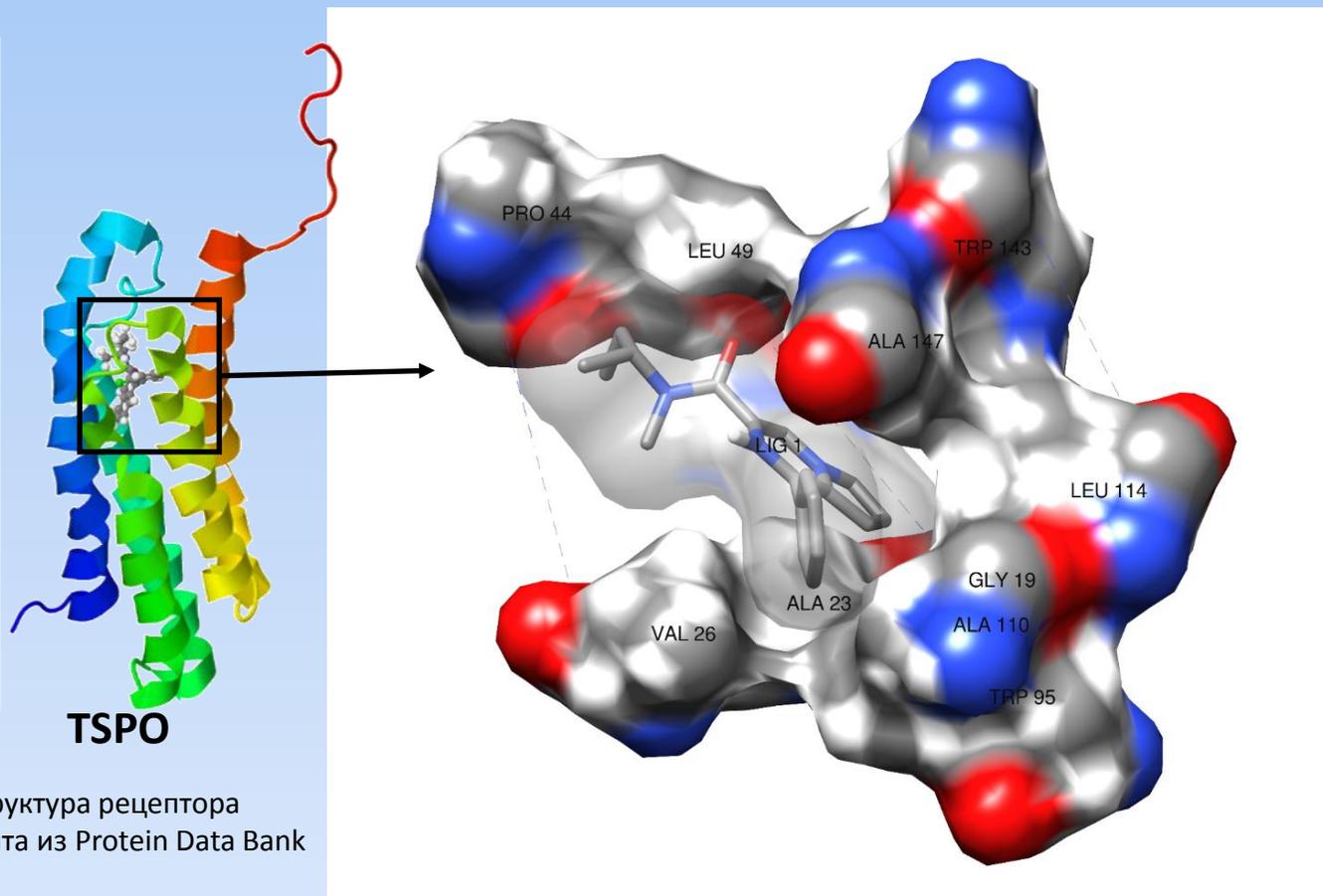
PK 11195



Alpidem



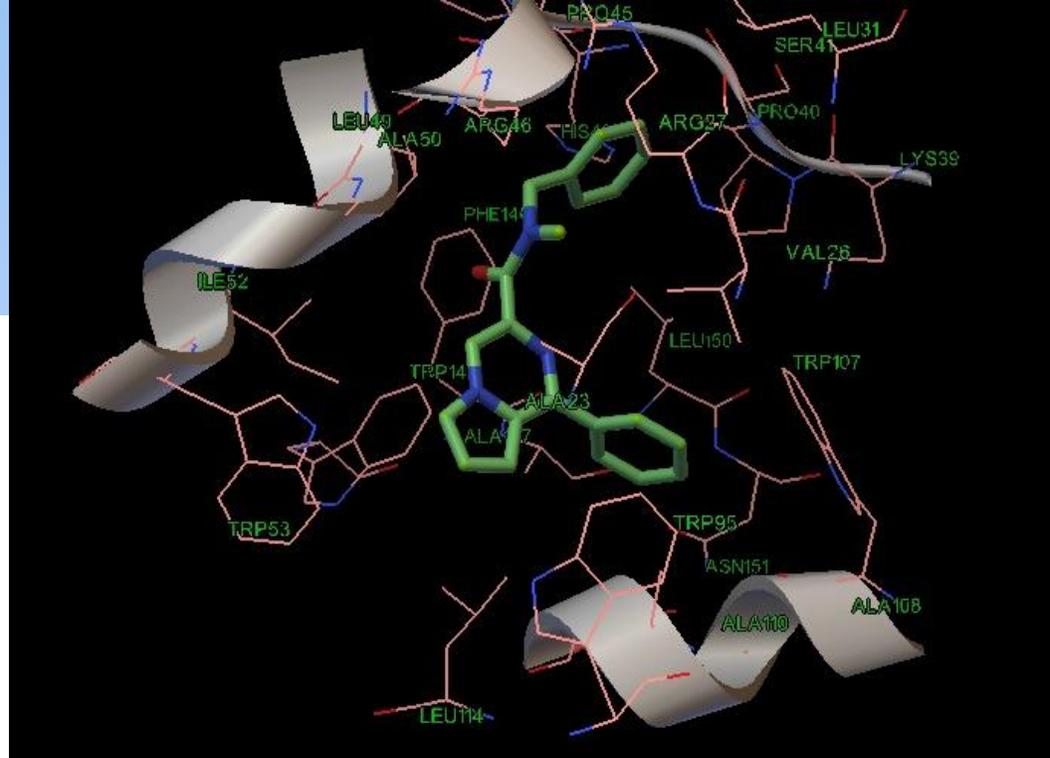
Докинг



Структура рецептора
взята из Protein Data Bank

Сайт связывания TSPO + лиганд

ГМЛ-1: K_i (RLM) $5 \cdot 10^{-8}$

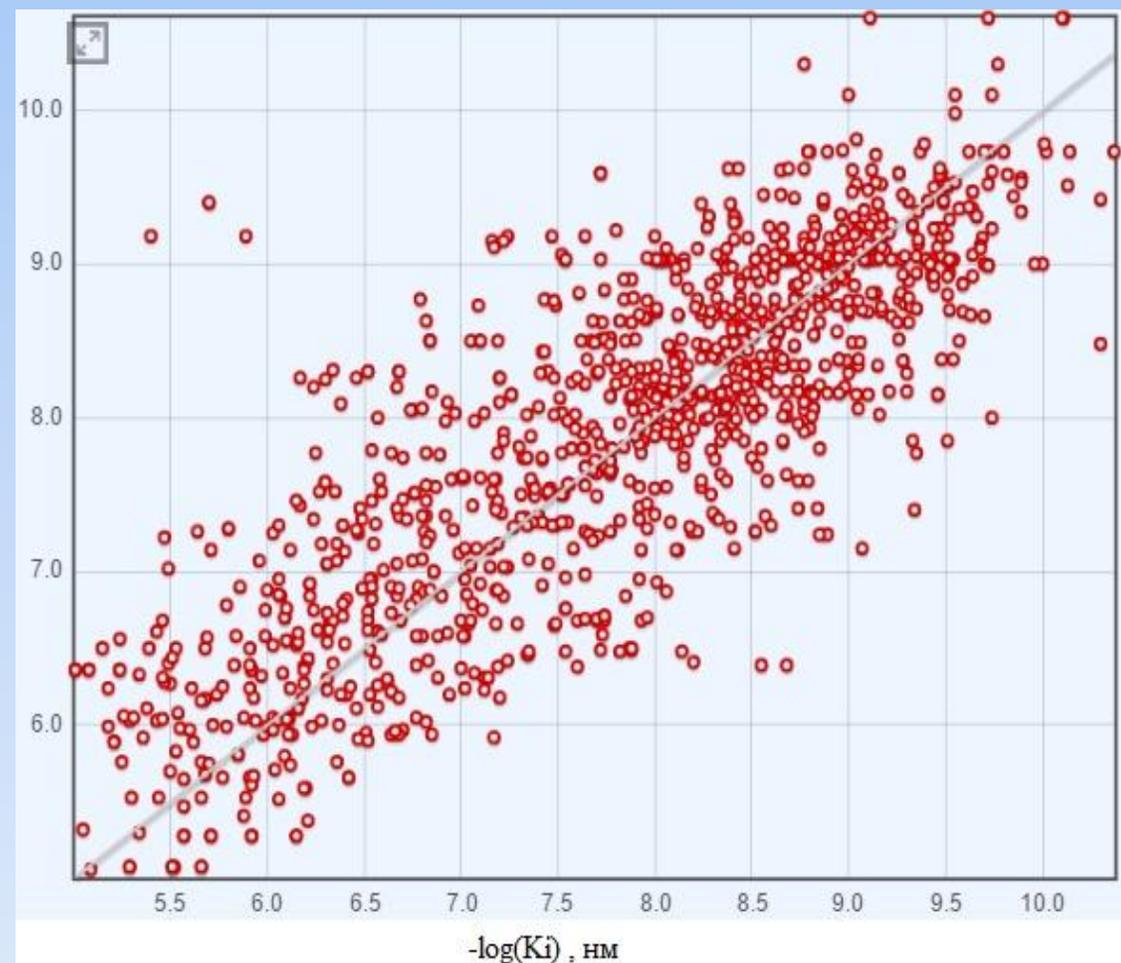


No	R ¹	R ²	R ³	K _i , nM
1	CH ₃	CH ₂ Ph	H	94
2	CH ₃	CH ₂ Ph	F	171
3	CH ₃	CH ₂ Ph	Cl	118
4	CH ₃	n-Bu	H	929
5	CH ₃	n-Bu	F	1470
6	CH ₃	n-Bu	Cl	527
7	CH ₃	n-Bu	Br	480
8	CH ₃	i-Bu	H	1080
9	CH ₃	sec-Bu	H	899
10	H	CH ₂ Ph	H	300
11	CH ₃	H	H	3880
12	Ph	CH ₂ Ph	H	26
PK11195				82

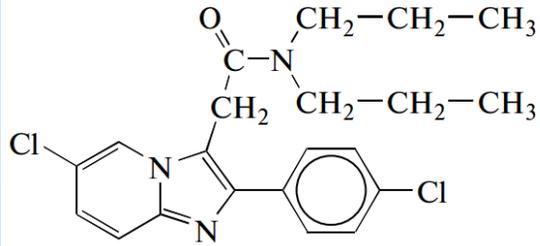
QSAR

- Обучающая выборка из 1297 лигандов TSPO с известной константой ингибирования
- Веб-сервис для QSAR моделирования – OCHEM
- 9 моделей из комбинации трех методов машинного обучения (ASNN, FSMLR, PLS) с различным набором 2D фрагментарных дескрипторов (OEState, ISIDA, GSFrag)
- Валидация модели : 5-кратный перекрёстный контроль

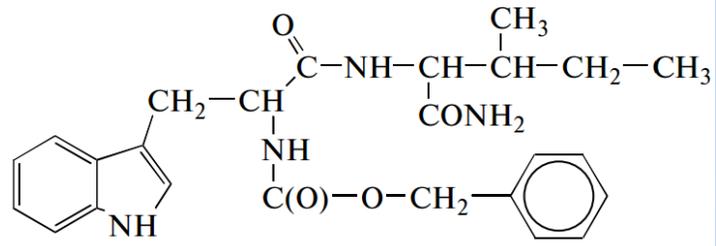
ГМЛ-1: K_i (QSAR) 10^{-7}



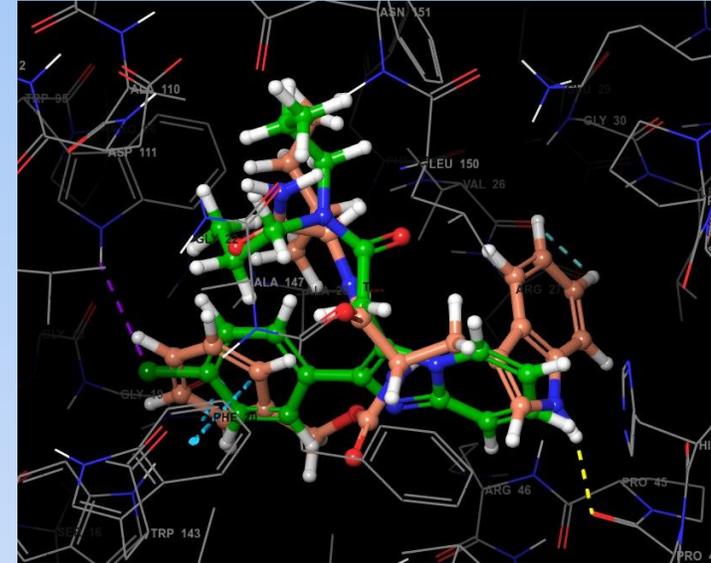
Топологический подход «от лекарства к пептиду» (Т.А. Гудашева)



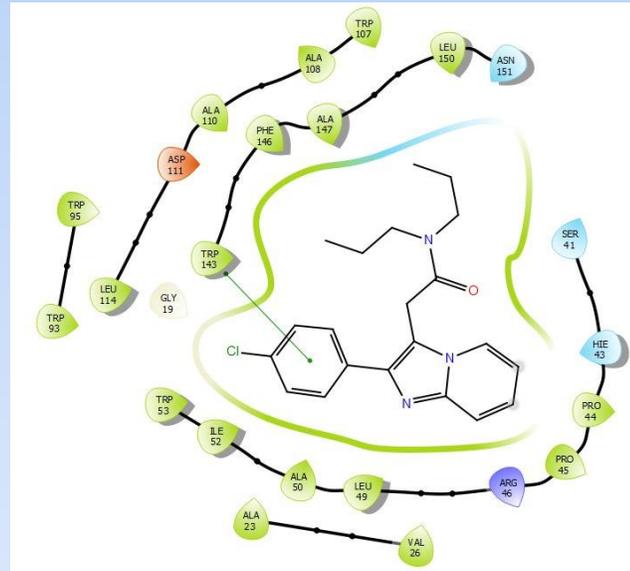
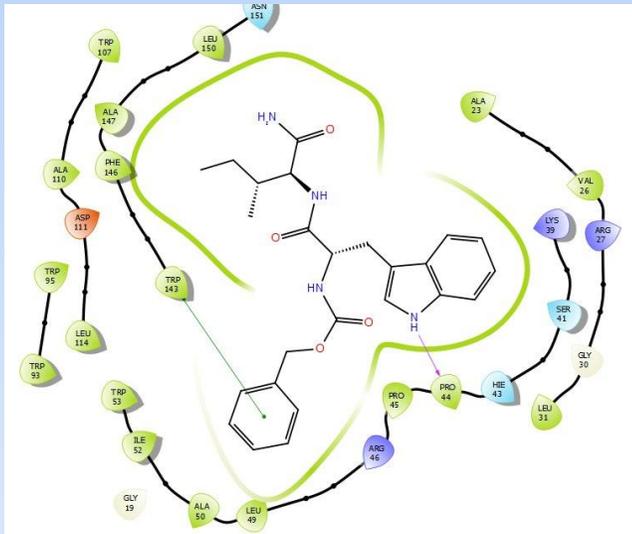
Alpidem



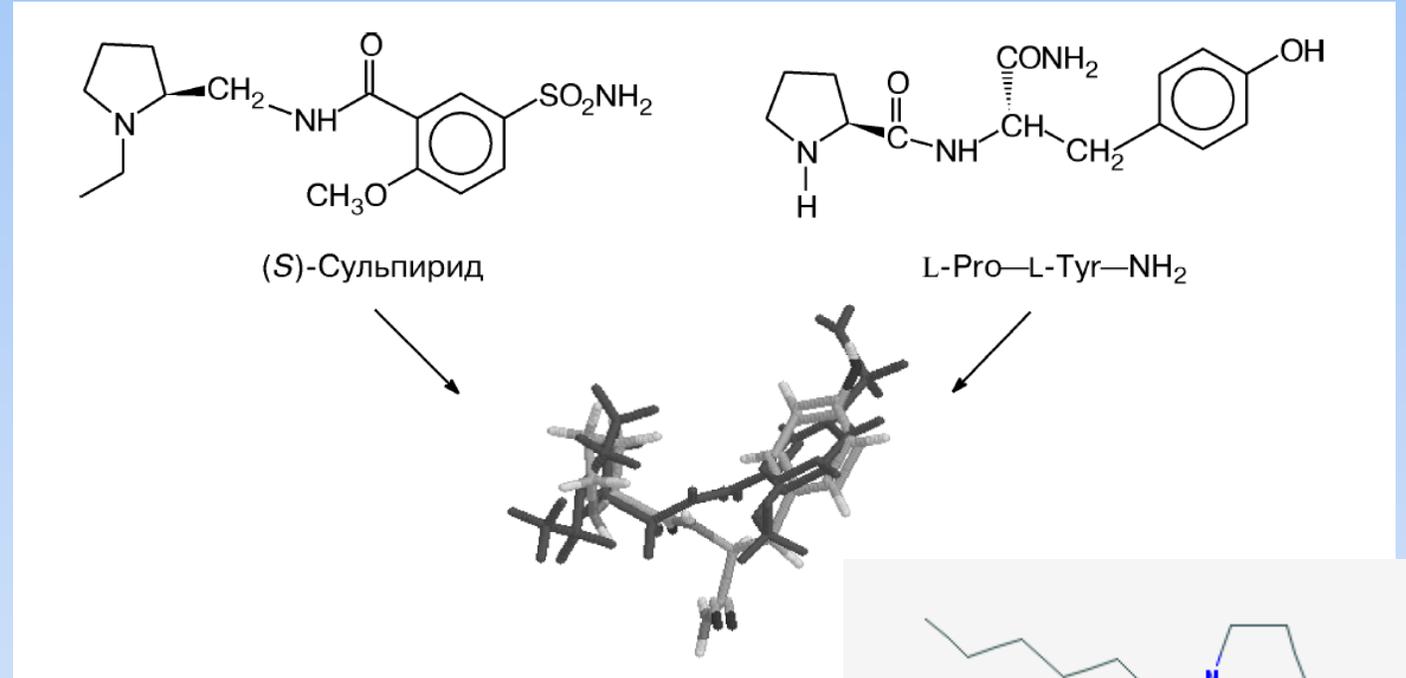
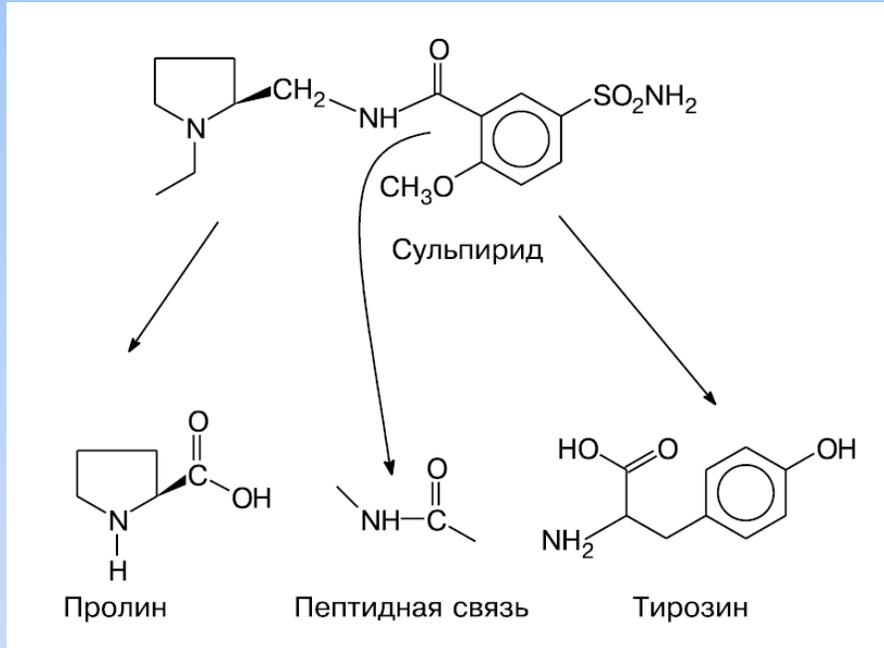
GD-23



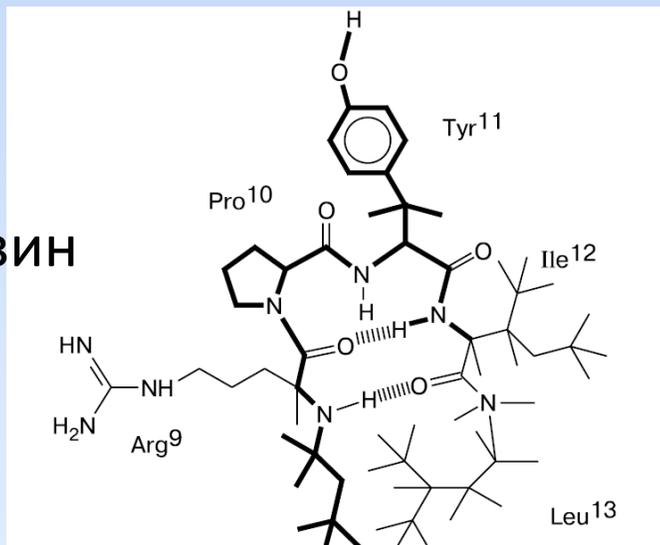
Лиганд TSPO – ГД-23



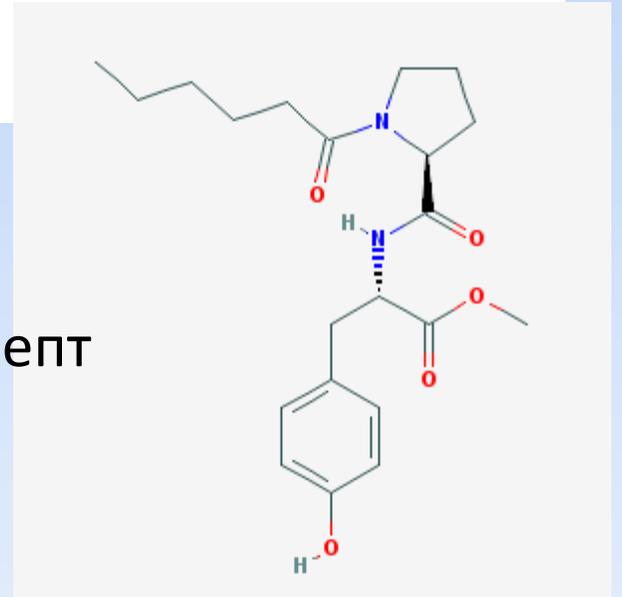
Топологический подход «от лекарства к пептиду» (Т.А. Гудашева)



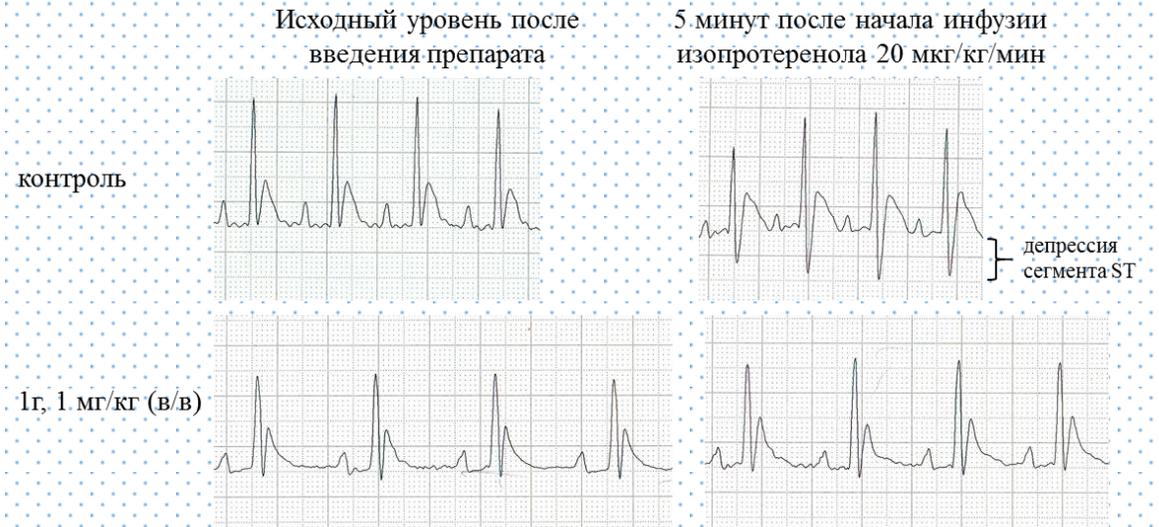
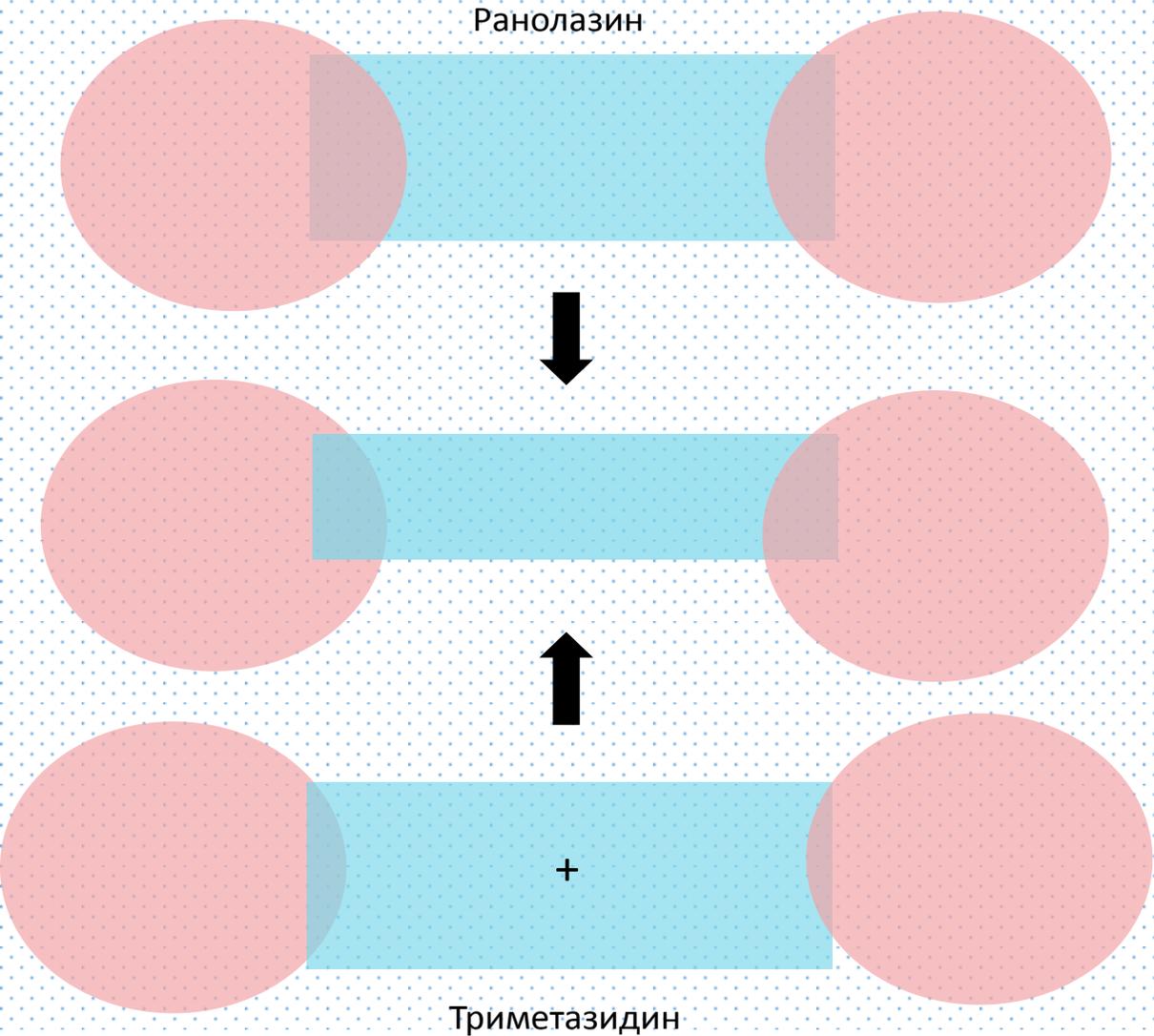
Нейротензин



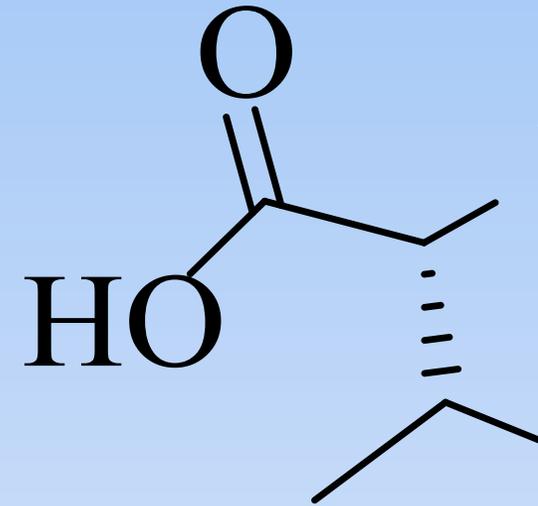
Дилепт



Фармокофорное моделирование



Фармокофорное моделирование: ингибиторы ММП-2 и ММП-9



Цинк - связывающий
участок



Биароматическая группа для
связывания с S1' сайтом

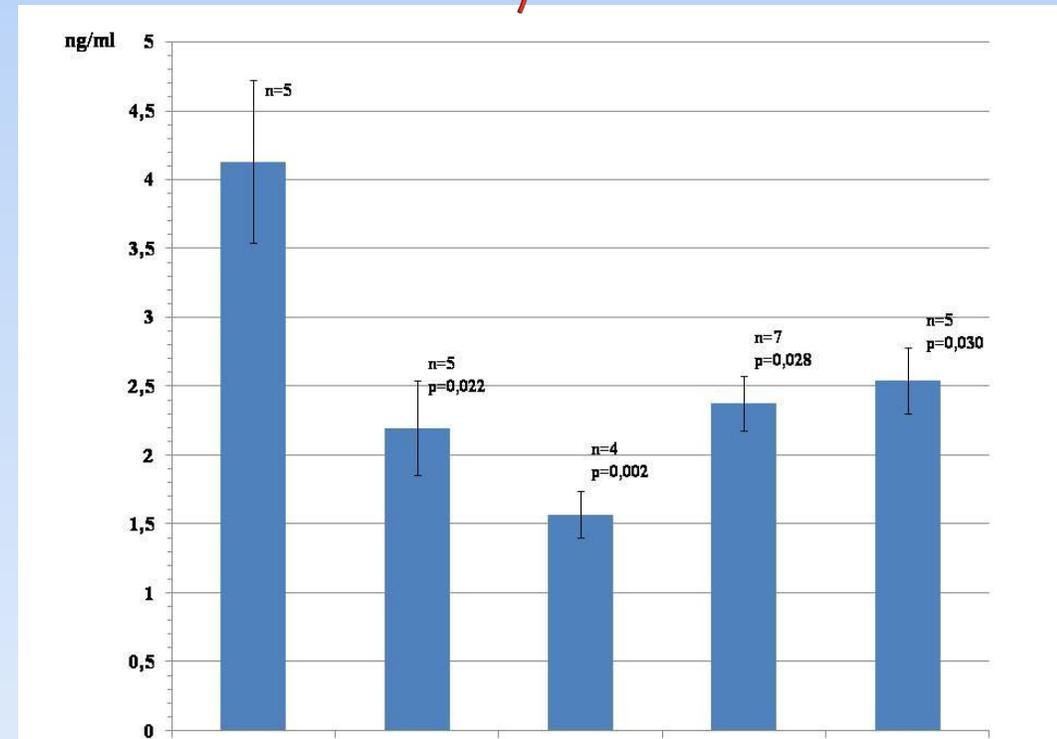
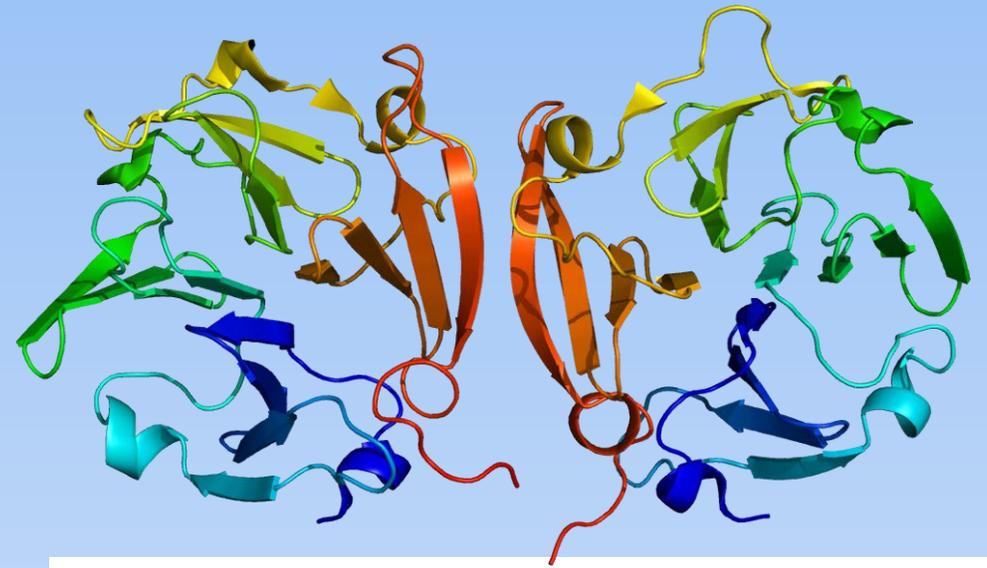
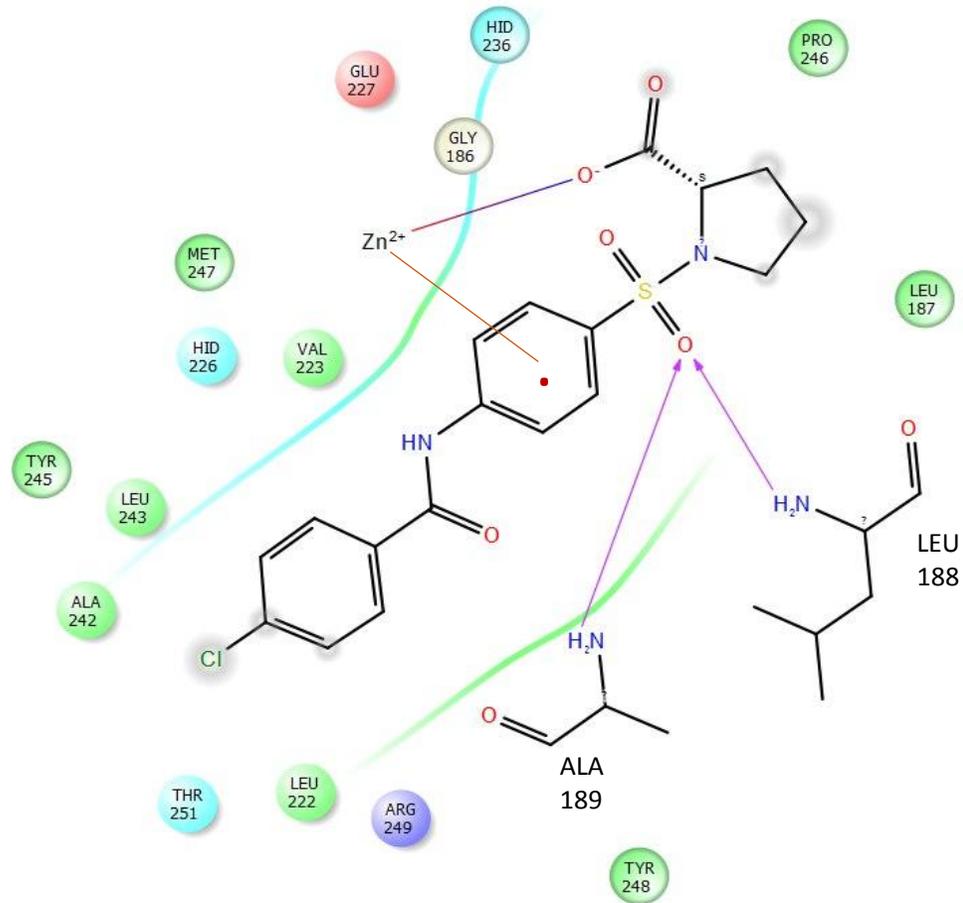


Участок связывания
с сайтом S1

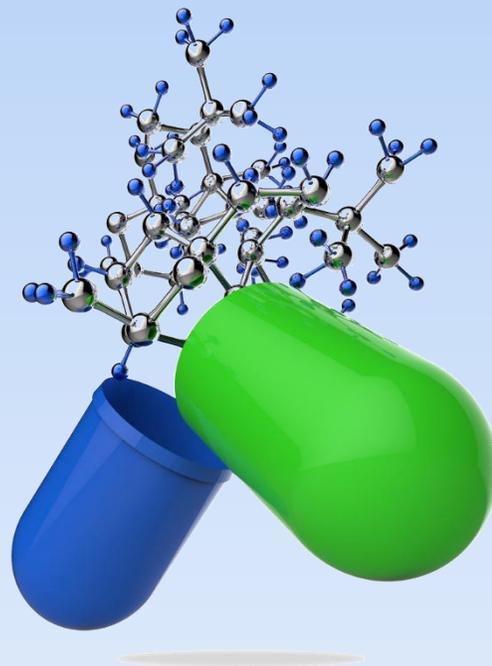
Усиливает связывание
водородными связями



Докинг

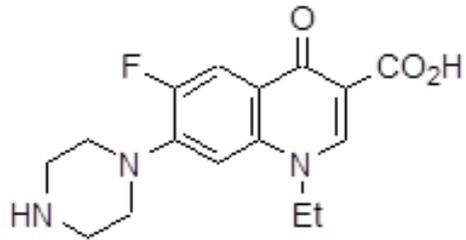


Спасибо за внимание!

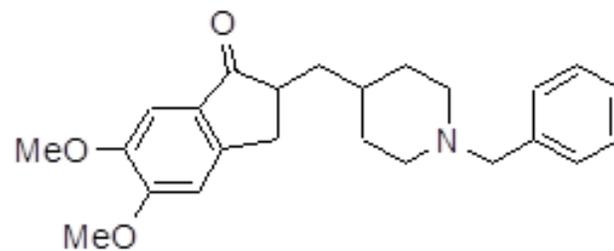


Drug Design Successes

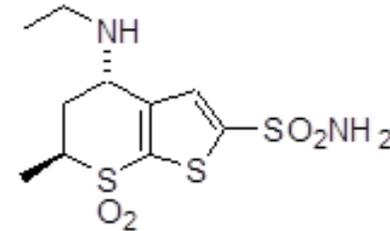
Многие препараты были разработаны с существенным вкладом вычислительных методов



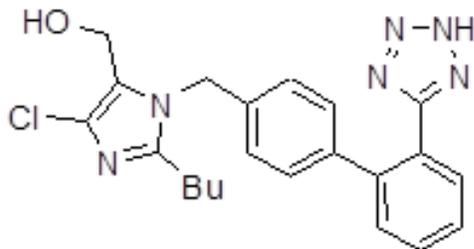
norfloxacin (1983)
antibiotic
first of the 6-fluoroquinolones
QSAR studies



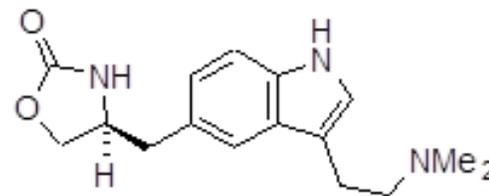
donepezil (1996)
Alzheimer's treatment
acetylcholinesterase inhibitor
shape analysis and docking studies



dorzolamide [Trusopt] (1994)
glaucoma treatment
carbonic anhydrase inhibitor
SBLD and *ab initio* calcs



losartan [Cozaar] (1995)
angiotensin II antagonist
anti-hypertensive
Modeling Angiotensin II octapeptide



zolmatriptan [Zomig] 1995
5-HT_{1D} agonist
migraine treatment
Molecular modeling