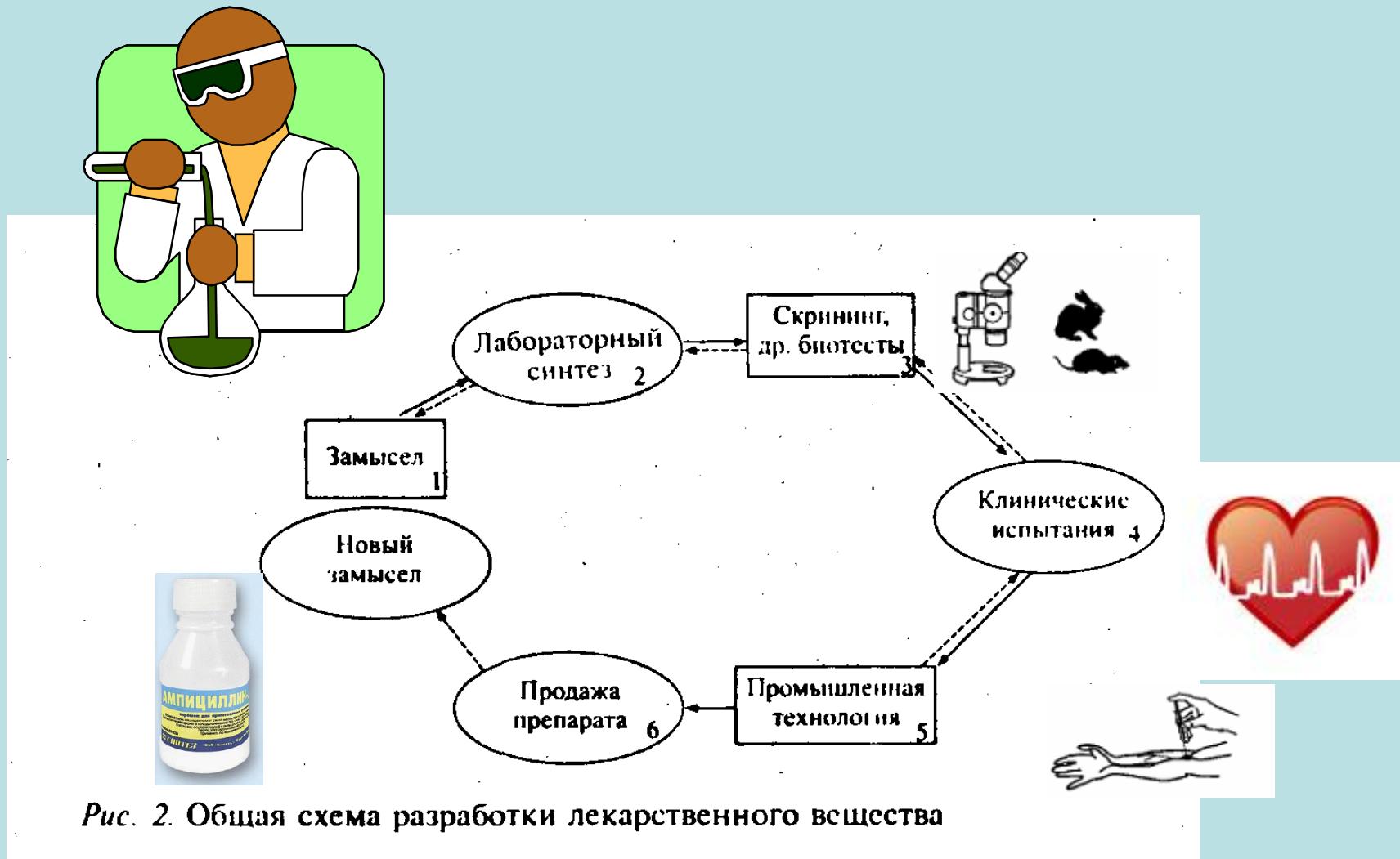


ОСНОВЫ СТРАТЕГИИ СОЗДАНИЯ НОВЫХ СИНТЕТИЧЕСКИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СОЕДИНЕНИЙ

Лекция 1

- Ежегодно химики синтезируют, выделяют и характеризуют от 100 до 200 тысяч новых веществ. Многие из этих веществ проходят первичные испытания на выявление той или иной биологической активности. Этот этап поиска лекарственного вещества называют скринингом (отсеиванием). На скрининг проводят в биологических лабораториях на живых клетках, микроорганизмах или кусочках живых тканей (*in vitro*), на здоровых или специально зараженных животных (*in vivo*): на мышах, крысах, морских свинках, собаках, обезьянах. При этом из сотен веществ отбираются несколько наиболее активных препаратов, которые затем передаются глубленные испытания. Если высокая активность вещества подтверждается, то его всесторонне изучают для определения токсичности и побочных эффектов, при отсутствии или незначительности которых проводятся клинические испытания на людях. После этого препарат начинают производить в промышленных масштабах и применять в лечебной практике.



Прогнозирование возможности создания ЛС с новыми или улучшенными фармакологическими свойствами.
Синтез химических соединений — «лекарств-претендентов»



Предварительный фармакологический скрининг «претендентов» в целях выбора наиболее перспективных. Доклинические испытания



Good Laboratory Practice (GLP) — надлежащая лабораторная практика (правила доклинических исследований безопасности и эффективности будущего ЛС)

Клиническая оценка наиболее перспективных химических соединений



Good Clinical Practice (GCP) — надлежащая клиническая практика

Решение технологических задач по созданию лекарственной формы
Внедрение препарата в производство



Good Manufacturing Practice (GMP) — надлежащая производственная практика (правила организации производства и контроля качества ЛС)

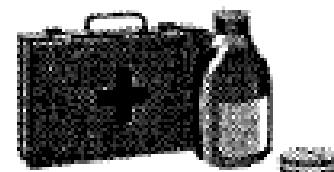
Good Manufacturing Practice (GMP) — надлежащая производственная практика (правила организации производства и контроля качества ЛС)

Распределение готовой фармацевтической продукции по аптечной сети



Good Distribution Practice (GDP) — надлежащая практика оптовой торговли (распределения) ЛС

Продажа готовых ЛС



Good Pharmacy Practice (GPP) — надлежащая фармацевтическая (аптечная) деятельность

Обучение будущих фармацевтов, провизоров, специалистов



Good Education Practice (GEP) — надлежащая образовательная практика

- Возможность испытать все новые соединения на все нужные (полезные) виды активности пока остается малореальной. На помощь химикам и биологам приходит компьютерная техника, которая позволяет сегодня вместо испытания в эксперименте синтезированных веществ провести определение потенциала их биоактивности путем машинного поиска.
- Такой подход может быть основан на кластерном анализе большого массива уже известных лекарственных веществ, сгруппированных по их структуре или по видам проявляемой ими биоактивности.

- Другим типом машинного анализа может служить моделирование на ЭВМ механизма взаимодействия лекарственного вещества с биорецептором или иных эмпирических связей лекарства с биомишениями. Биологу необязательно в этом случае иметь вещество в руках, а достаточно лишь ввести в компьютер сведения о его строении. Подобное машинное «сито» (скрининг) экономит время, материалы и силы при аналоговом поиске лекарственных веществ.

- Для получения потенциально биологически активных веществ химики задолго до появления машинного анализа старались руководствоваться принципами целенаправленного синтеза, которые могли быть выработаны лишь при тщательном и глубоком изучении зависимости лекарственной активности от химического и стереохимического строения органического соединения. Сегодня стратегия и тактика создания новейших лекарственных веществ опираются на следующие принципы.

Основой прогнозирования биологической активности лекарственного вещества является установление связи между фармакологическим действием (биологической активностью) и структурой с учетом физико-химических свойств лекарственного вещества и биологических сред. Химическое соединение для проявления биологической активности должно обладать целым рядом физико-химических параметров, соответствующих аналогичным характеристикам биологических сред. Только в случае оптимального сочетания таких свойств химическое соединение может рассматриваться как «претендент» на участие в фармакологическом скрининге.

- Химическое и пространственное строение вещества определяет наличие у него **биоактивности**. Однако ее уровень действия) может в значительной степени зависеть от разнообразных факторов. Большинство лекарственных веществ должно обладать хорошей **водорастворимостью**, так как они переносятся в организм главным образом кровяным током, что благоприятствует созданию концентрации, достаточной для проявления фармакологического действия. Многие лекарственные вещества должны иметь хорошую **липофильность** и обладать способностью проникать через клеточные полупроницаемые мембранны, чтобы влиять на биохимические процессы метаболизма.

- Препараты, действующие на центральную нервную систему, должны свободно переходить из крови в спинномозговую жидкость и мозг, т.е. преодолевать гематоэнцефалический барьер, который защищает мозг от проникновения в него чужеродных веществ, растворенных в крови. Другим барьером для проникновения лекарственных веществ из крови к тканям органа-мишени являются стенки капилляров. Для большинства лекарственных веществ не очень высокой молекулярной массы этот барьер преодолим.

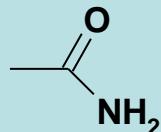
- В целом лекарственная молекула кроме основной фармакофорной группировки, должна содержать гидрофильные и/или липофильные фрагменты (быть сбалансирована по ним), чтобы осуществлялся ее нормальный перенос к соответствующей системе организма.
- При конструировании лекарственного препарата стараются учитывать приведенные выше факторы, вводя соответствующие химические группировки в потенциальное лекарственное вещество.

Фармакофорные группы

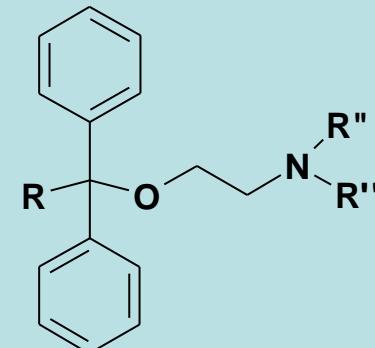
- К настоящему времени выявлен ряд фармакофорных групп, введение которых в молекулу потенциального лекарственного вещества «прививает» ему нужную биоактивность. Например, наличие фенольной группировки может сообщать веществу антисептические свойства. Введение карбоксамидного фрагмента способствует проявлению снотворного эффекта. Диарил(аминоалкил)метановая группировка ответственна за антигистаминное действие.



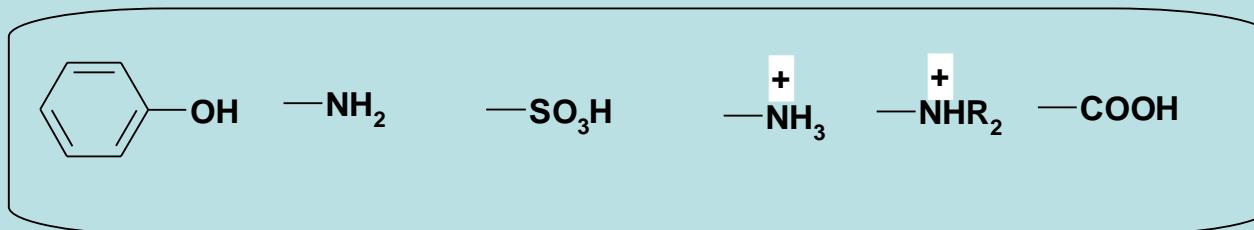
антисептические
свойства



снотворный эффект



антигистаминное действие

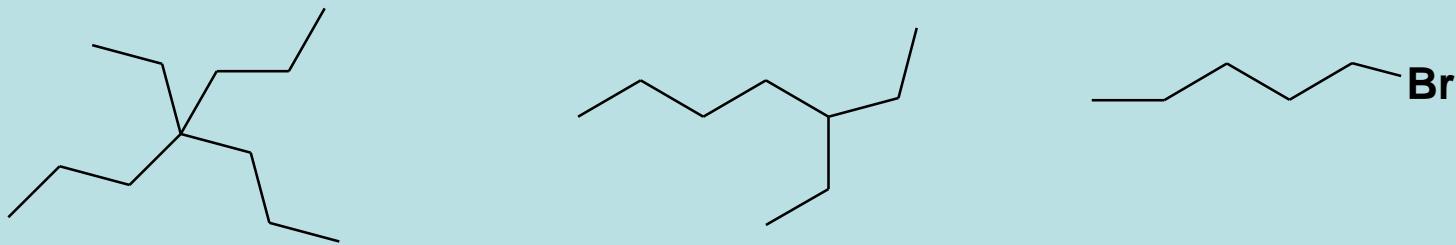


повышение водорастворимости, усиление биологического действия, изменение основности и кислотности ЛС

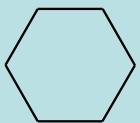
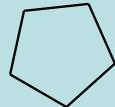


повышение липофильности ЛС

затруднение метаболизма ЛС



- Наличие *n*-алкильных цепей, их удлинение, а также введение галогенов, наоборот, повышает липофильность лекарственных веществ (растворимость в жировых тканях, которые могут служить лекарственным депо) и облегчает их прохождение через биомембранны.
- Разветвленные алкильные заместители и присутствие атомов галогенов затрудняет метаболизм (в частности, биоокисление) лекарственных веществ.



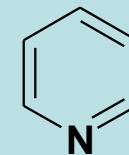
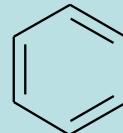
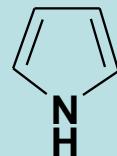
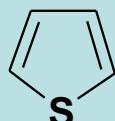
OR, O-(CO)R"

циклоалкильные группы

улучшают связываемость
с биорецептором за счет
ван-дер-ваальсовых сил

простые и сложные эфиры

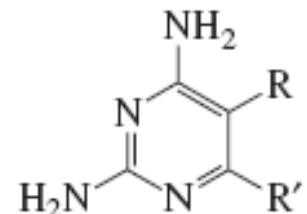
изменяют полярность молекул
улучшают фармакологическое
действие, замедляют биодекарбок-
силирование



плоские кольца имеют одинаковое фармакологическое
действие

Количественную оценку биологической активности органических соединений позволяет осуществить QSAR (ККСА)-метод.

Был исследован ряд замещенных 2,4-диаминопиримидинов, используемых в качестве ингибиторов дигидрофолатредуктазы. Способность к ингибированию описывается уравнением:



a 2,4-diaminopyrimidine

$$\text{potency} = 0.80\pi - 7.34\sigma - 8.14$$

где σ и π - параметры заместителей. σ -Параметр является мерой электроакцепторной или электронодорной способности заместителей R и R'. Отрицательное значение σ указывает, что способность увеличивается при подаче электронов. π -Параметр является мерой гидрофобности заместителей. Установлено, что наибольший эффект наблюдался лишь в том случае, когда один из заместителей был гидрофобным, т.к. receptor имеет только один гидрофобный карман, в котором может разместиться один заместитель.

Зависимость биологической активности ЛС от физико-химических свойств лекарственного вещества и биологической среды



Перечисленные физико-химические параметры лекарственного вещества являются функцией его структуры.

- В настоящее время в поиске и создании новых лекарственных препаратов преобладает направленный подход: химические вещества тестируются лишь на небольшое число требуемых видов биологической активности, а свойства выявленных «базовых структур» в последующем оптимизируются путем синтеза и исследования их аналогов. При этом многие виды биоактивности, присущие изучаемому веществу, но являющиеся «побочными» по отношению к избранному направлению исследований, остаются неизученными. В то же время наличие у вещества многих видов биоактивности является типичным. Некоторые из этих видов активности обнаруживаются впоследствии как побочные токсические эффекты, а другие становятся основанием для регистрации препарата по новому назначению. Так, например, **ацетазоламид** был предложен в качестве диуретика в 1954 г. и как противоэпилептическое средство в 1956 г., **левамизол** – как антигельминтное средство в 1968 г. и как иммуностимулятор в 1980 г. и т. д.

- Таким образом, имеется определенное противоречие между жесткой направленностью процесса исследования новых биологически активных соединений и множественностью биологических эффектов, потенциально проявляемых каждым веществом. Ни одно химическое соединение невозможно исследовать экспериментально на все известные виды активности, даже если принять во внимание возможности современного высокопроизводительного (high-throughput) скрининга, поскольку скрининг также осуществляется направленно, по отношению к одной или нескольким биологическим мишням действия будущих лекарств, рассматриваемых как перспективные в конкретный период времени. Единственная реальная возможность комплексного исследования биологической активности веществ – развитие новых технологий компьютерного прогнозирования и их применение к оценке вероятных видов активности химических соединений с последующим тестированием изучаемых веществ в соответствии с результатами прогноза.

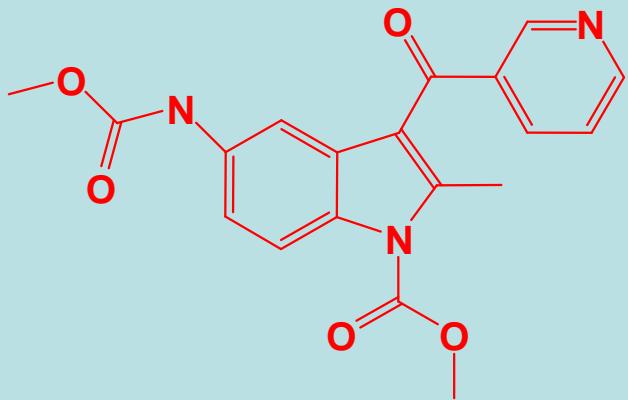
•Поройковым В.В. с сотр. (Институт биомедицинской химии им. В.Н.Ореховича РАМН, Москва) была предложена концепция спектра биологической активности, представляющего собой совокупность всех присущих веществу видов биологической активности.



- Биологическая активность рассматривается при этом как внутреннее свойство вещества, зависящее только от его структуры. Любой из «компонентов» спектра биологической активности конкретного вещества может быть обнаружен при вполне определенных условиях эксперимента, которые различаются для разных видов активности, а их количественная характеристика существенно зависит от конкретных условий эксперимента.

- На основе данной концепции разработана компьютерная система PASS (Prediction of Activity Spectra for Substances), которая прогнозирует по структурной формуле химического вещества 800 видов биологической активности, включающих основные и побочные фармакологические эффекты, механизмы действия, мутагенность, канцерогенность, тератогенность и эмбриотоксичность. **Работа системы PASS основана на анализе зависимостей «структура-активность» для веществ из обучающей выборки, содержащей более 45000 разнообразных биологически активных веществ (субстанции известных лекарственных препаратов и фармакологически активные соединения).** Обучающая выборка постоянно пополняется новыми данными о биологически активных веществах, которые отбираются как из публикаций в научно-технической литературе, так и из многочисленных баз данных, включая не опубликованную в научных журналах «серую» информацию.
- Биологическая активность описывается в системе PASS качественным образом (наличие/отсутствие), что объясняется в том числе и необходимостью использования информации для различных источников при формировании обучающей выборки.
- <http://www.pharmaexpert.ru/PASSOnline/index.php>

- Для представления химической структуры в PASS разработаны **оригинальные дескрипторы, называемые «многоуровневые окрестности атомов»**. Система PASS позволяет получить на обычном персональном компьютере IBM PC с процессором Pentium прогноз спектра биологической активности 1000 веществ менее чем за 1 минуту. Компьютерный прогноз применим как к веществам, полученным традиционными методами органического синтеза, так и с применением комбинаторной химии, и даже к небольшим пептидам и пептидомиметикам. Поскольку прогноз выполняется по структурной формуле вещества, он может быть получен уже на стадии планирования синтеза.
- Прогнозируемые с помощью системы PASS активности были подтверждены в эксперименте для веществ различных химических классов, проявляющих разнообразные эффекты: антиаритмический, противоопухолевый, противовоспалительный, противобактериальный, антиоксидантный и др.



46 Substructure descriptors; 1 new.

11 Possible activities at Pa > 50%

Pa Pi for Activity:

0,808 0,008 Analgesic, non-opioid

0,632 0,011 Antihelmintic (Nematodes)

0,584 0,027 Analgesic

0,539 0,034 Antithrombotic

0,534 0,042 Antiinflammatory

0,579 0,097 Neuroprotector

0,561 0,089 Coccolysin inhibitor

0,529 0,077 General pump inhibitor

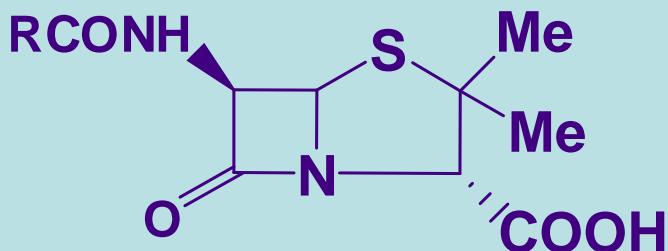
0,506 0,067 HDL-cholesterol increasing

0,528 0,092 Lysase inhibitor

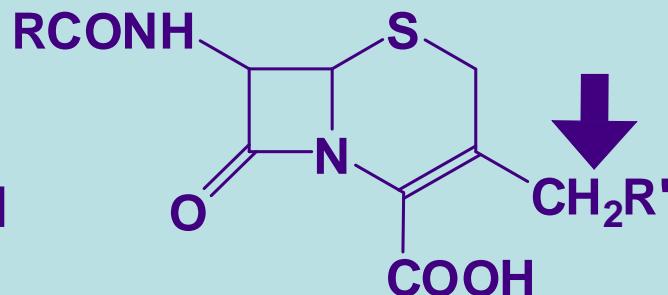
0,510 0,134 Ferredoxin hydrogenase inhibitor

1. Принцип химического модифицирования структуры

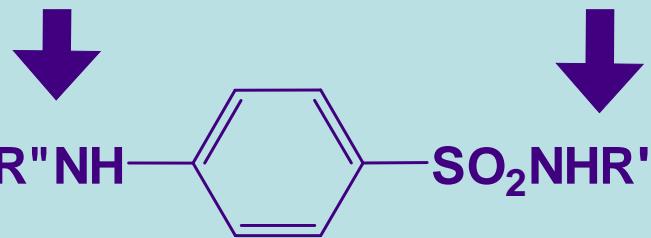
известных синтетических и природных лекарственных веществ. Этот прием является интуитивным, умозрительным. С его помощью, исходя из аналогии двух структур, биоактивность известного вещества как бы переносят на новое соединение. Ожидают при этом, что биоактивность последнего окажется большей. Типичным примером может служить модификация структуры пенициллинов и цефалоспоринов, что позволило получить многочисленные новые препараты с улучшенными антибиотическими свойствами. Другим ярким примером стала возможность химической модификации сульфаниламидов, которые кроме основного антибактериального действия имели побочный мочегонный эффект.



пенициллины



цефалоспорины

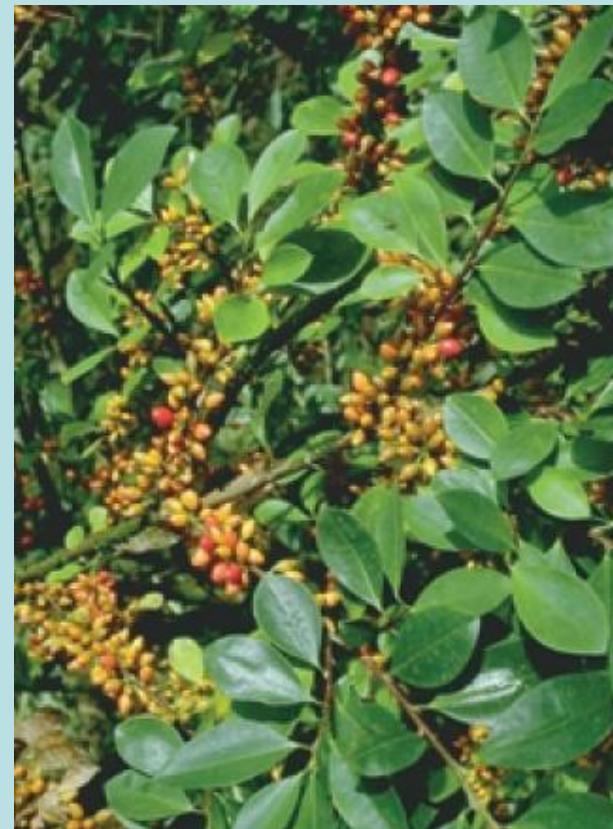
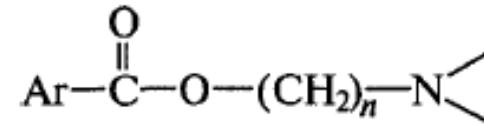
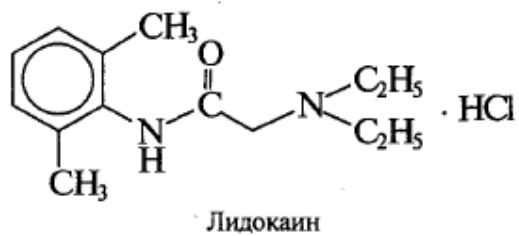
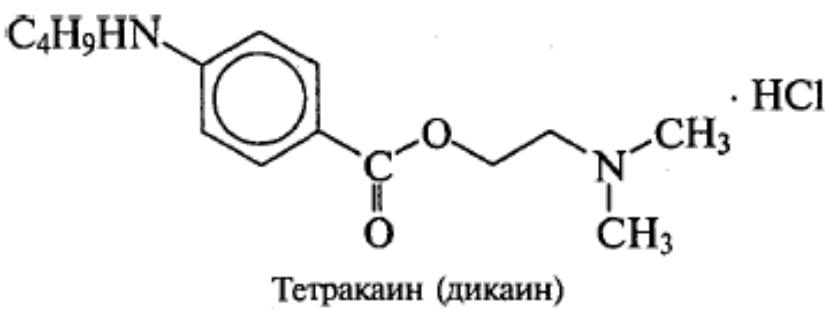
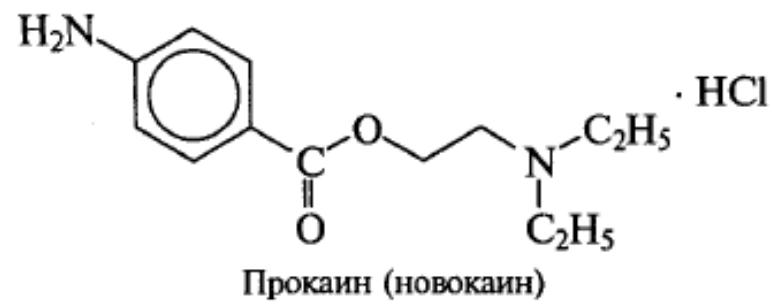
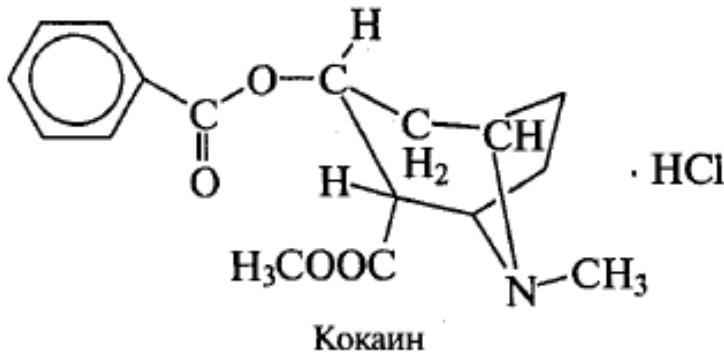


сульфониламиды

Указанный прием широко и с успехом используется и в настоящее время в синтезе многочисленных производных практически всех классов лекарственных веществ.

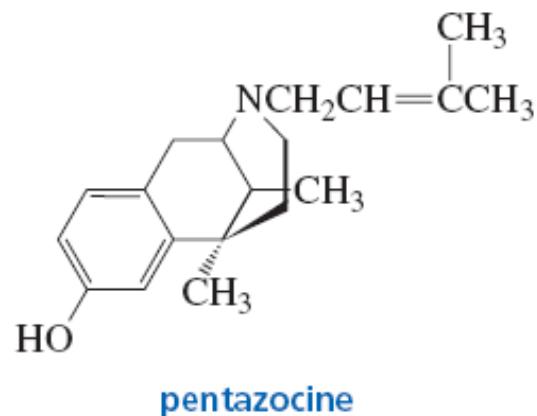
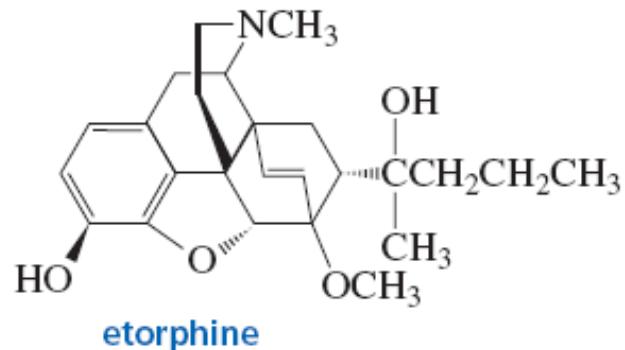
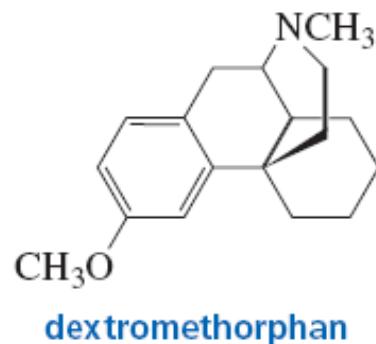


- Получение синтетических анестетиков — новокаина (прокаина), дикаина (тетракаина), являющихся структурными аналогами природного алкалоида кокаина. Все три вещества относятся к фармакологической группе местных анестетиков, обратимо блокирующих проведение нервного импульса. В формулах кокаина, новокаина и дикаина можно выделить аналогичные группы: ароматическое кольцо (липофильная группа), соединенное через эфирную группу с ионизируемой группой — третичным амином (гидрофильная группа).



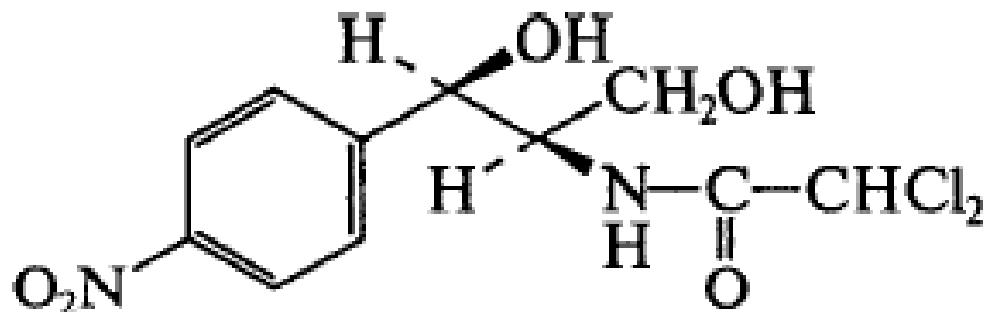
Кокаин — дициклическое соединение, в состав которого входят пирролидиновое и пиперидиновое кольца, выделен из листьев *Erythroxylon coca*.

Модификация молекул кодеина привела к получению дексетрометорфана, активному компоненту большинства лекарств против кашля. Эторфин синтезировали, когда ученые поняли что болеутоляющая способность была связана со способностью препарата гидрофобно связаться с наркотическим рецептором. Эторфин приблизительно в 2000 раз более мощен чем морфий, но он не безопасен для использования людьми. Его используют для успокоения слонов и других больших животных. Пентазоцин нашел применение в акушерстве потому что он не снижает дыхание младенца в отличие от морфия.



Копирование известных физиологически активных веществ

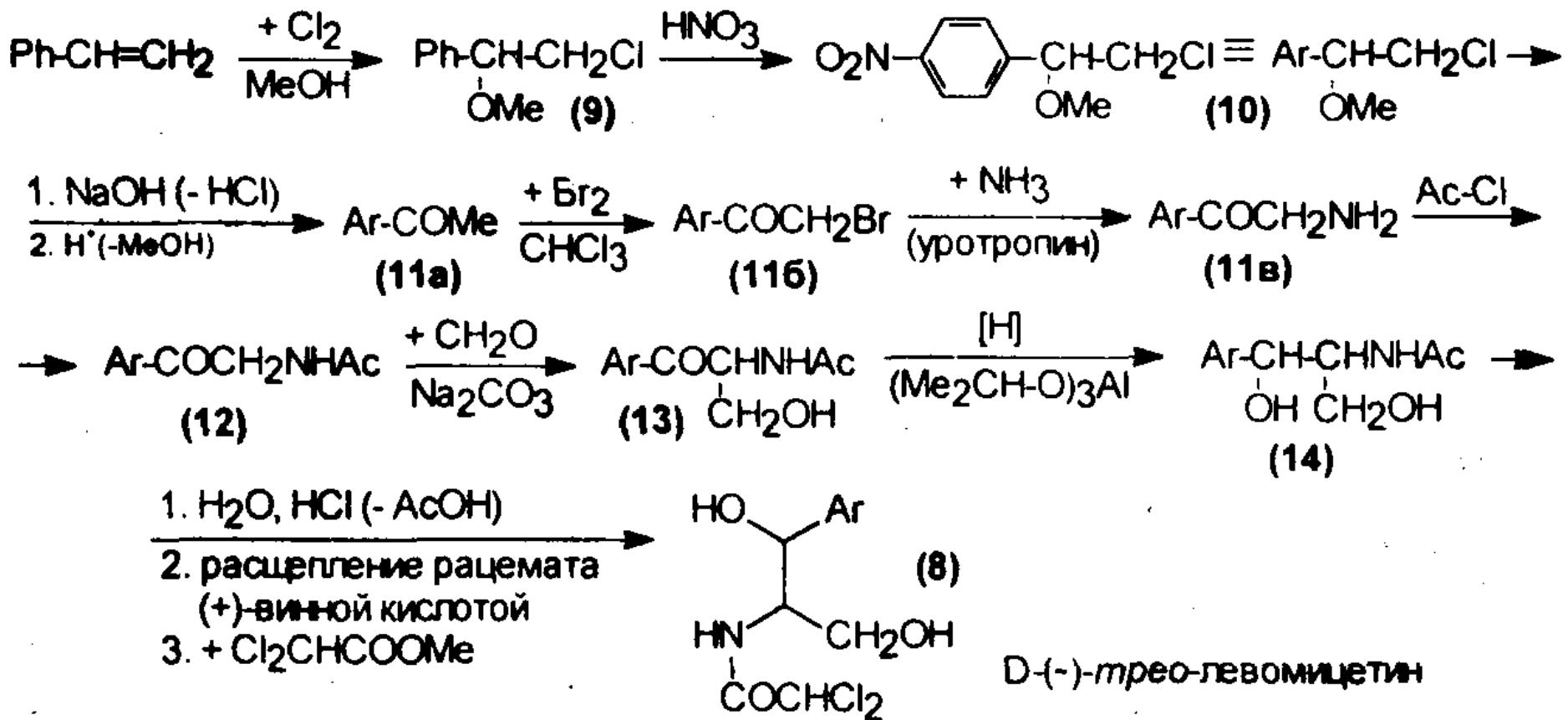
- Сначала левомицетин (хлорамфеникол) был выделен из культуральной жидкости *Streptomyces venezuelae*, а затем разработан полный химический синтез антибиотика левомицетина.



Левомицетин (хлорамфеникол)

Как следует из приведенных примеров, оба рассмотренных подхода близки по своей сути. Однако следует подчеркнуть, что в отличие от местных анестетиков при копировании природного левомицетина небольшие изменения в его структуре ведут к уменьшению или полной потере активности этого антибиотика.

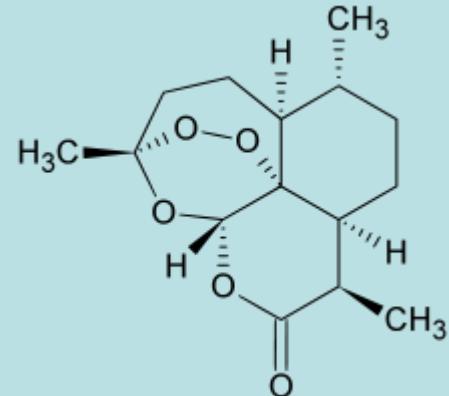
- В настоящее время в промышленности левомицетин получают 10-стадийным синтезом из стирола.





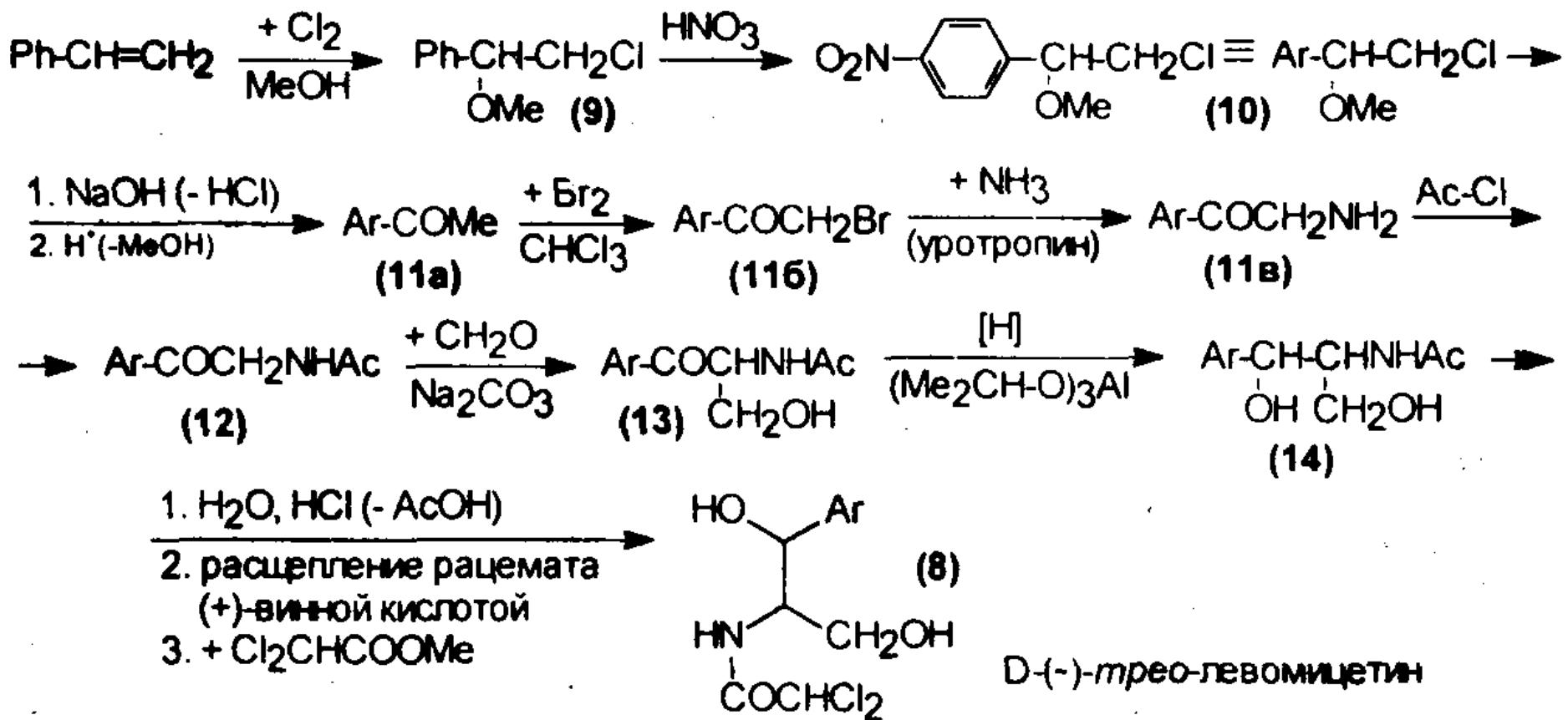
Artemisinin

Артемизинин является в настоящее время одним из наиболее эффективных и перспективных лекарств против малярии.

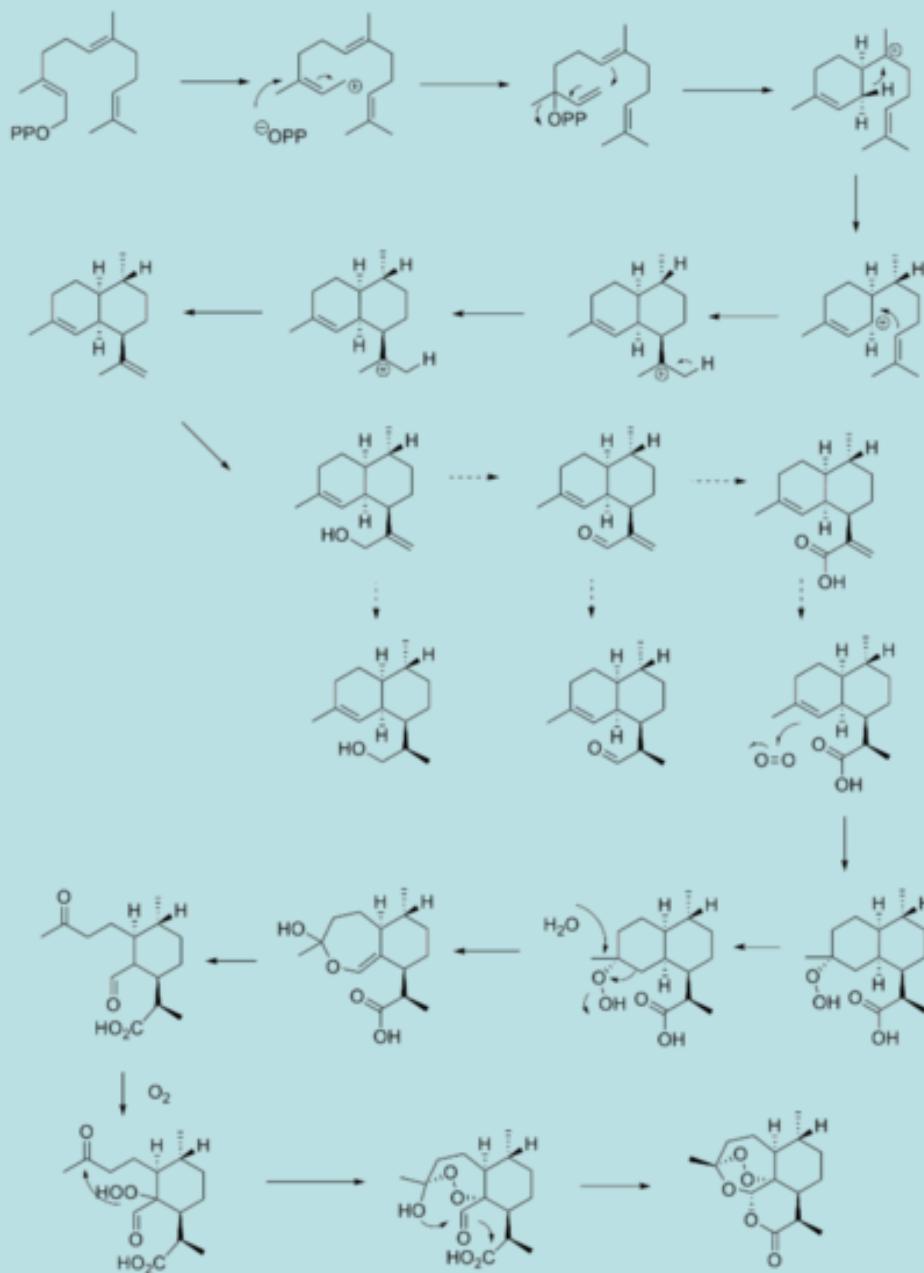


Артемизинин был выделен в 1971 году из растения *Qinghao*, разновидности полыни *Artemisia annua*. Его настои китайские знахари тысячелетиями использовали для лечения малярийной лихорадки. Химическая структура его была установлена в 1980-е годы. Артемизинин представляет собой трехциклический сесквитерпен с пероксидным мостиком ($-\text{C}=\text{O}-\text{O}-\text{C}-$ —который является уникальным среди антималярийных лекарств.

- В настоящее время в промышленности левомицетин получают 10-стадийным синтезом из стирола.

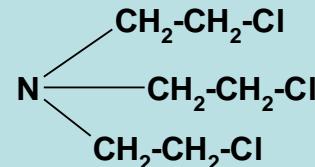


Биосинтез артемизинина

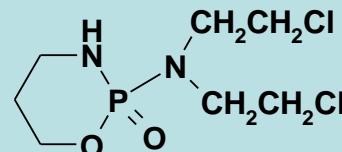


2. Принцип введения фармакофорной группы

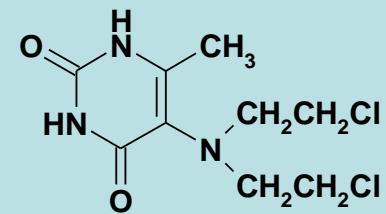
известного лекарственного вещества в молекулу нового вещества. Фармакофорным называют такой структурный элемент или фрагмент молекулы, который обеспечивает фармакологическую активность. Так, на основе азотистого иприта было получено семейство противораковых препаратов путем введения в различные вещества N,N-дихлордиэтиламинного или азиридинового фрагмента.



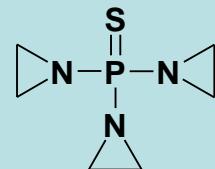
азотистый иприт



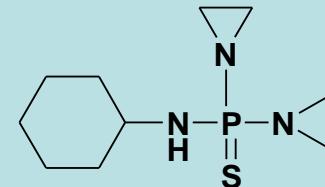
циклофосфан



допан



тиофосфамид

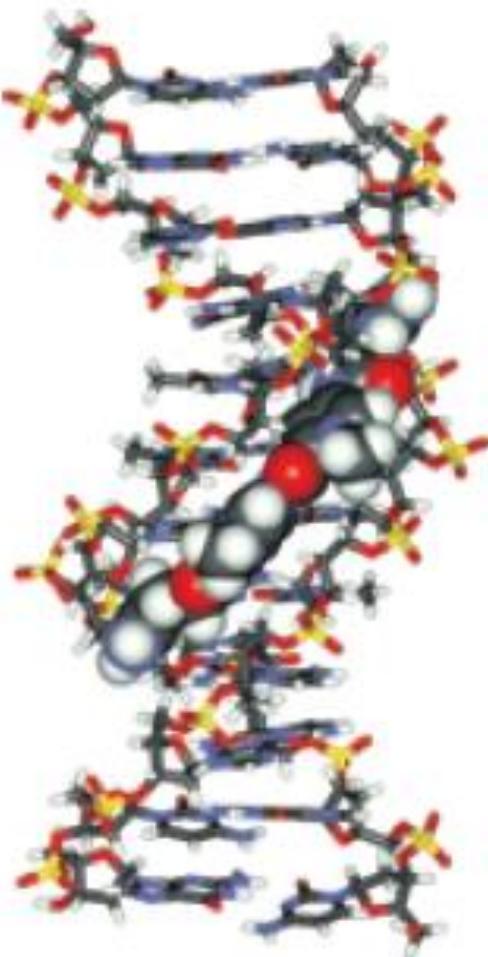


гексафосфамид

3. Принцип молекулярного моделирования

- Этот подход в сочетании с рентгеноструктурным анализом позволяет установить стереохимические особенности молекулы лекарственного вещества и биорецептора, конфигурацию их хиральных центров, измерить расстояния между отдельными атомами, группами атомов или между зарядами в случае цвиттер-ионных структур лекарства и биорецепторного участка его захвата. Получаемые таким образом данные позволяют более целенаправленно проводить синтезы биоактивных молекул с заданными на молекулярном уровне параметрами. Этот метод был успешно использован в синтезе высокоэффективных анальгетиков – аналогов морфина, а также для получения ряда лекарственных веществ, действующих на центральную нервную систему подобно природному нейромедиатору γ -аминомасляной кислоте (фенигма и др.).

Есть компьютерные программы, которые позволяют химикам просматривать существующие коллекции тысяч соединений, чтобы найти соответствующие структурным и конформационным свойствам.



Подгонка между соединением и рецептором может предложить модификации, которые могут быть осуществлены с соединением с целью более прочного их связывания. Этим способом, могут быть выбраны соединения для последующего синтеза и скрининга биологической активности. Данный путь является более рациональным и позволяет фармакологам более быстро выявить биологически активные соединения.

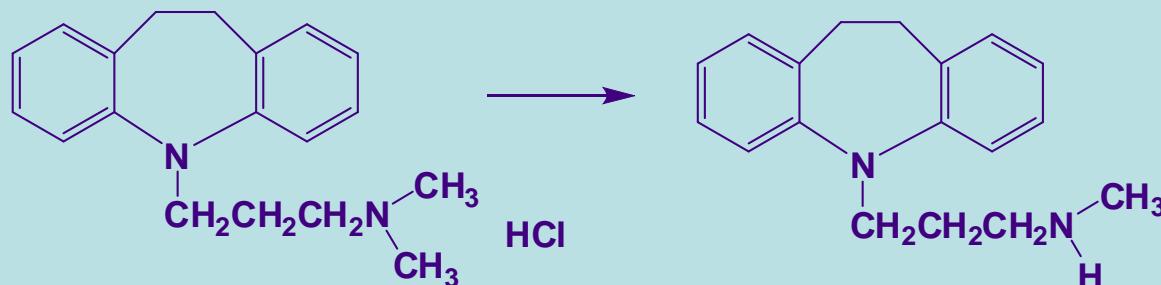
Связывание нетропсина - антибиотика с широким диапазоном антибактериальной активности с небольшими углублениями ДНК.

4. Стратегия пролекарств

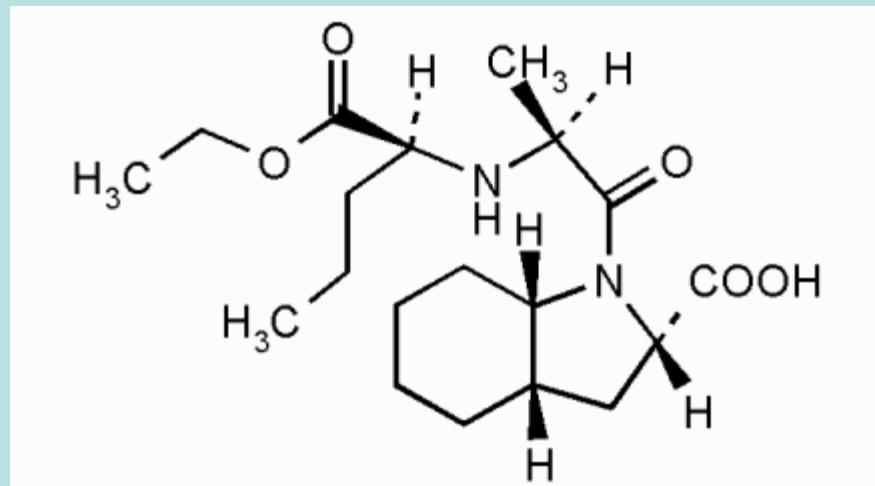
- Лекарственный препарат после введения в организм сразу же подвергается атаке ферментными системами, защищающими организм от чужеродных веществ (ксенобиотиков). Лекарственное вещество таким образом биодеградируется с образованием различных производных, называемых метаболитами. В ряде случаев установлено, что не само введенное лекарственное вещество (в этом случае его называют пролекарством), а его метаболит оказывает лечебный эффект. Поэтому тщательное изучение метаболизма лекарственных веществ, синтез и биотестирование его метаболитов могут привести к созданию новых лекарственных веществ. На этой основе возникла идея заведомого синтеза пролекарства, которое само по себе не обладает лечебным действием, но имеет такие структурные группировки, которые позволяют ему легко преодолевать в организме защитные барьеры и точно доставляться в больной орган.

Исследование метаболизма лекарств

- Антидепрессант имипрамин превращается в организме в более активный антидепрессант дезипрамин, также применяющийся как ЛС.



Ингибитор ангиотензинпревращающего фермента престариум (периндоприл) является предшественником лекарства. В организме он метаболизируется в более активный метаболит — периндоприлат.



Престариум

ФАЗЫ БИОТРАНСФОРМАЦИИ ПРЕСТАРИУМА

Всасывание ➤ Метаболизм ➤ Системный кровоток ➤ Распределение
в печени кровоток Экскреция

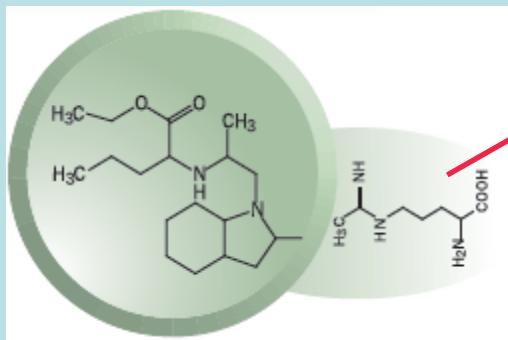
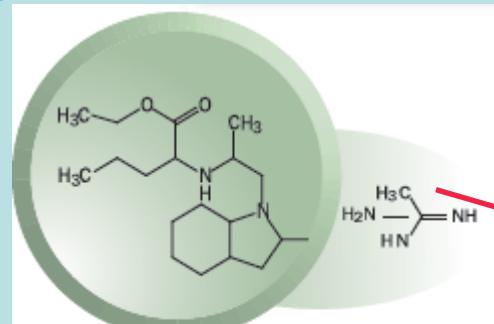
Пролекарство
(неактивно)

Периндоприл
терт-бутиламин

Периндоприл
аргинин

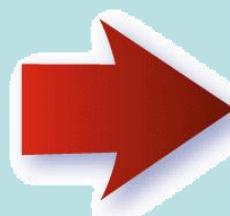
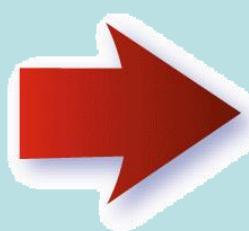
Лекарство
(активно)

Периндоприлат

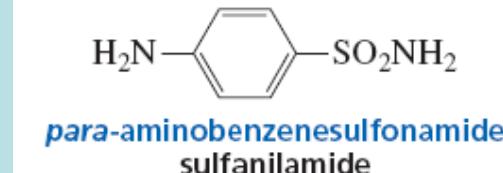
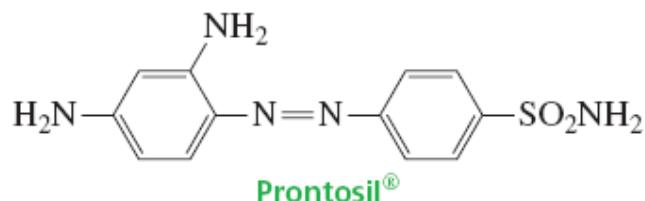
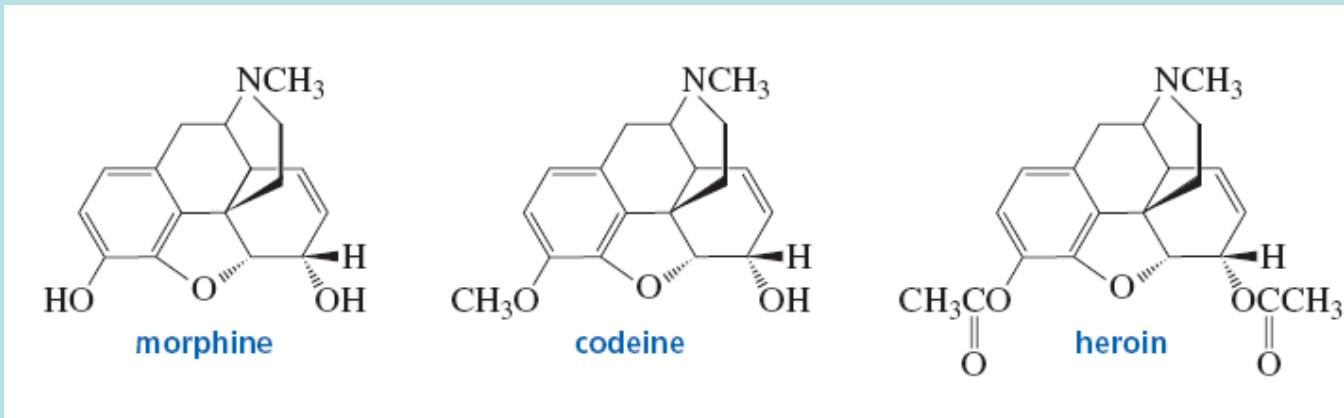


ФАРМАКОКИНЕТИКА

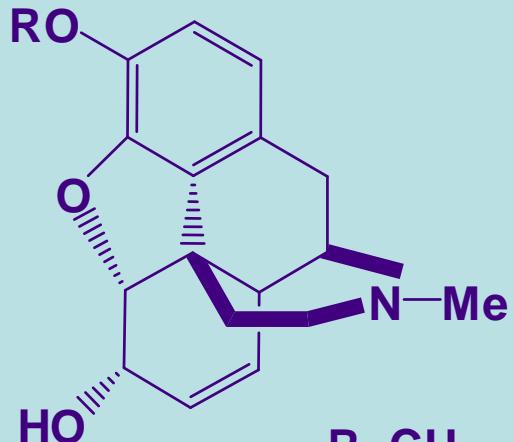
ФАРМАКОДИНАМИКА



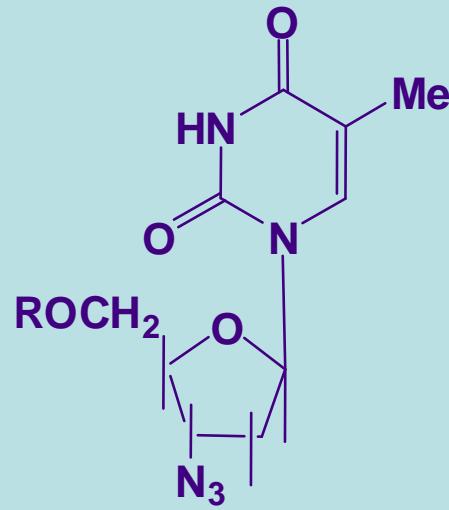
Наркотический анальгетик кодеин и полусинтетический наркотик героин метаболизируются в морфин, природный алкалоид опия



При попадании в биомишень это пролекарство метаболизируется и превращается в истинное лекарство. Считается, что почти четвертая часть всех новых лекарственных веществ вводится в настоящее время в виде пролекарств. Например, кодеин оказывает обезболивающее действие благодаря превращению в организме в морфин.



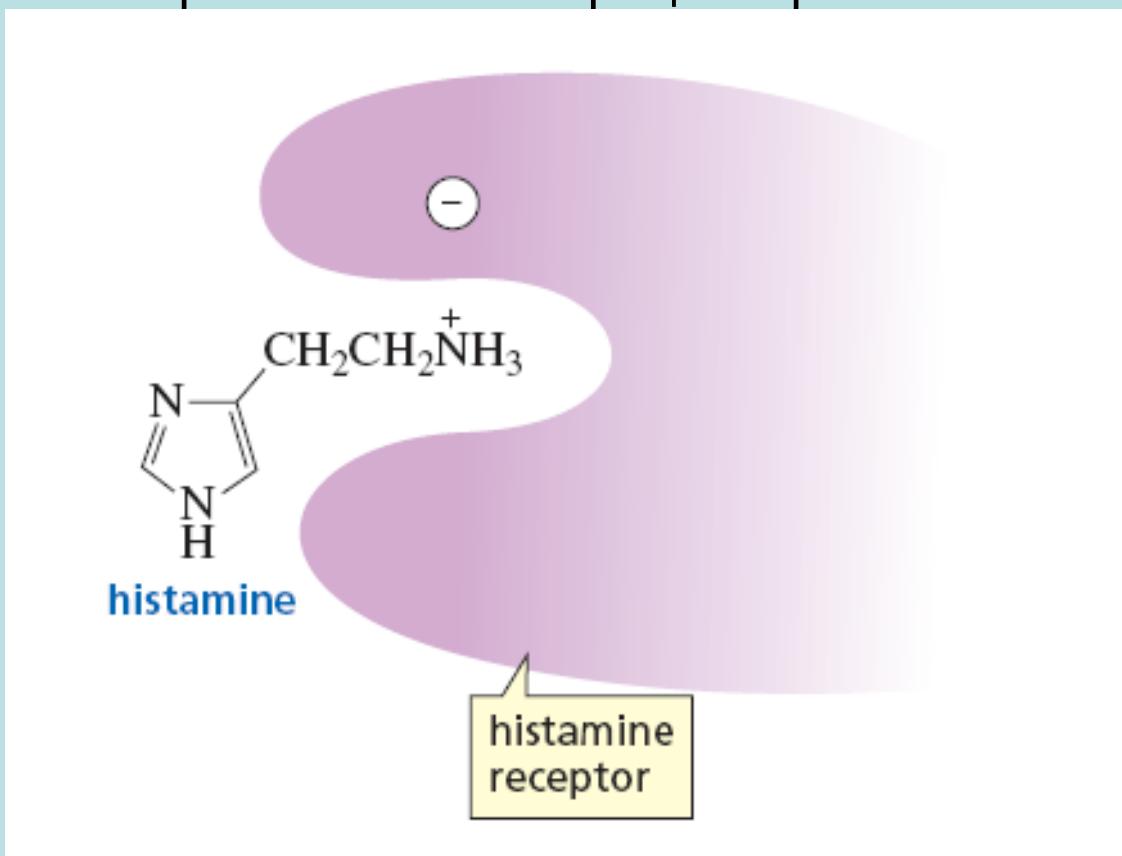
$R=CH_3$, кодеин
 $R=H$, морфин



$R=PO_3H$, фосфатидилAZT
 $R=H$, азидотимидин

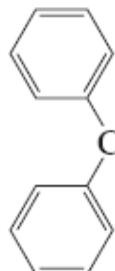
Азидотимидин – лекарство против СПИДа – вводится как пролекарство в виде фосфатидилпроизводного, фосфолипидная форма которого лучше проникает через липидные оболочки макрофагов и накапливается там же, где обычно концентрируются и вирусы иммунодефицита человека (ВИЧ). Это лекарство, гидролизуясь в макрофаге до довольно токсичного для организма человека азидотимицина, действует, таким образом, только на зараженные иммунные клетки.

- Знание о молекулярных основах действия препарата, т.е. как препарат взаимодействует с рецептором, позволяет ученым конструировать и синтезировать соединения, которые могут иметь желательную биологическую деятельность. Например, когда в организме производится избыток гистамина, это вызывает насморк и аллергические реакции. Этот эффект, как полагают, является результатом протонирования этиламиногруппы и закрепление молекулы гистамина к отрицательно заряженной части рецептора гистамина.

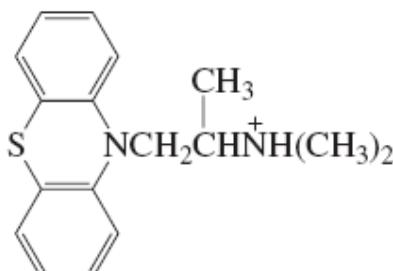


- Лекарства, которые препятствуют естественному действию гистамина называются антигистаминами, связывающими с гистаминовым рецептором, но не вызывающие ту же самую реакцию как гистамин.
- Подобно гистамину, эти лекарства имеют протонированную аминогруппу, которая связывается с рецептором. Такие препараты также имеют объемные группы, которые препятствуют гистаминовой молекуле приближаться к рецептору.

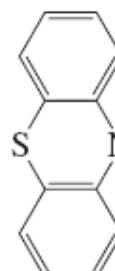
antihistamines



diphenhydramine
Benadryl®

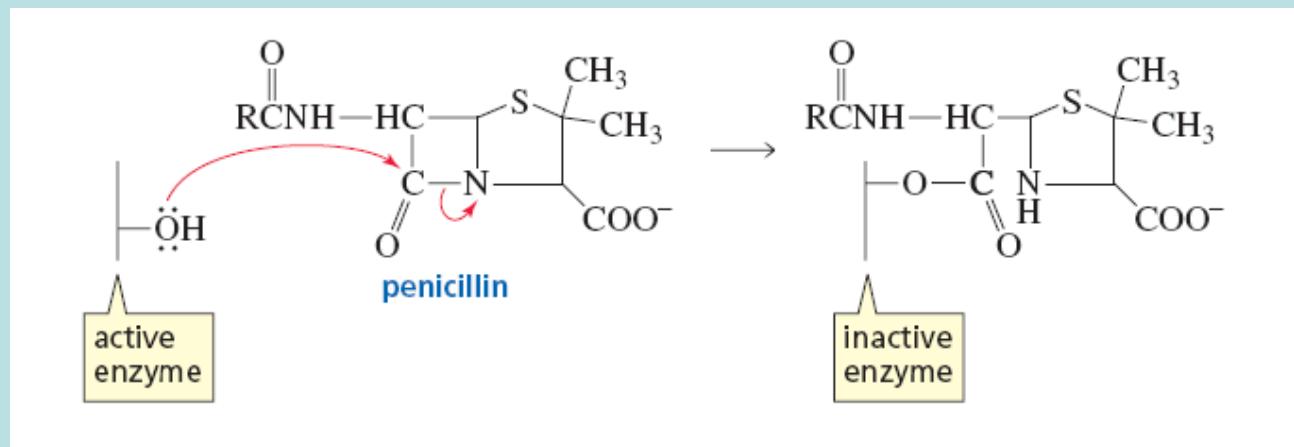


promethazine
Promine®

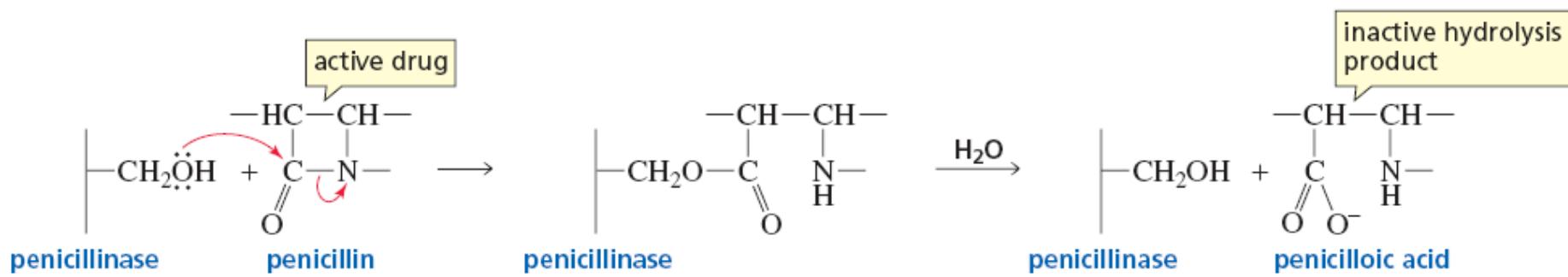


promazine
Talofen®

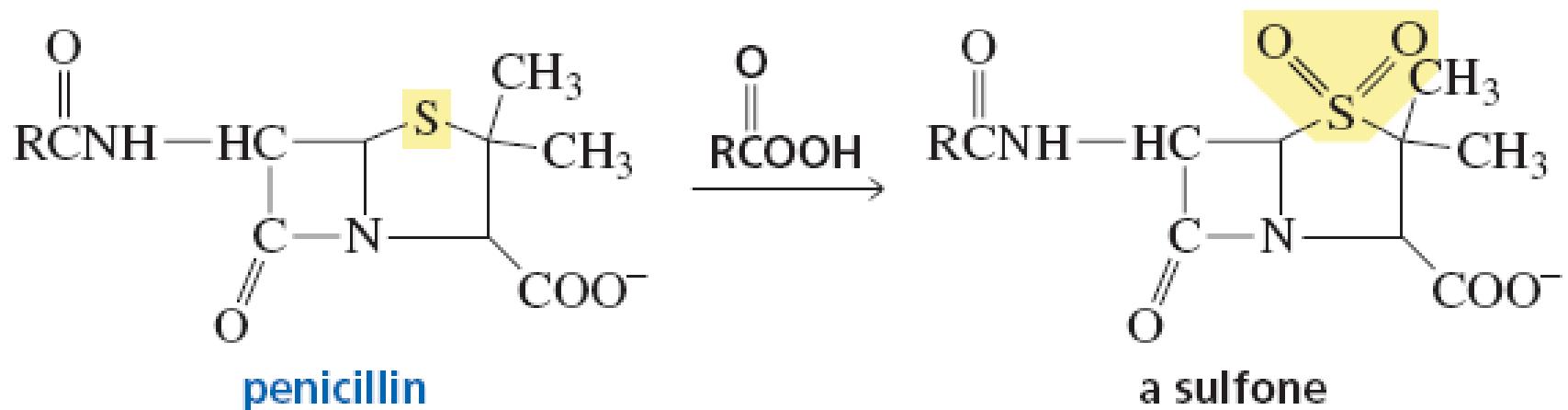
Пенициллин уничтожает бактерии, ингибируя фермент, который участвует в синтезе стенки бактериальной клетки.



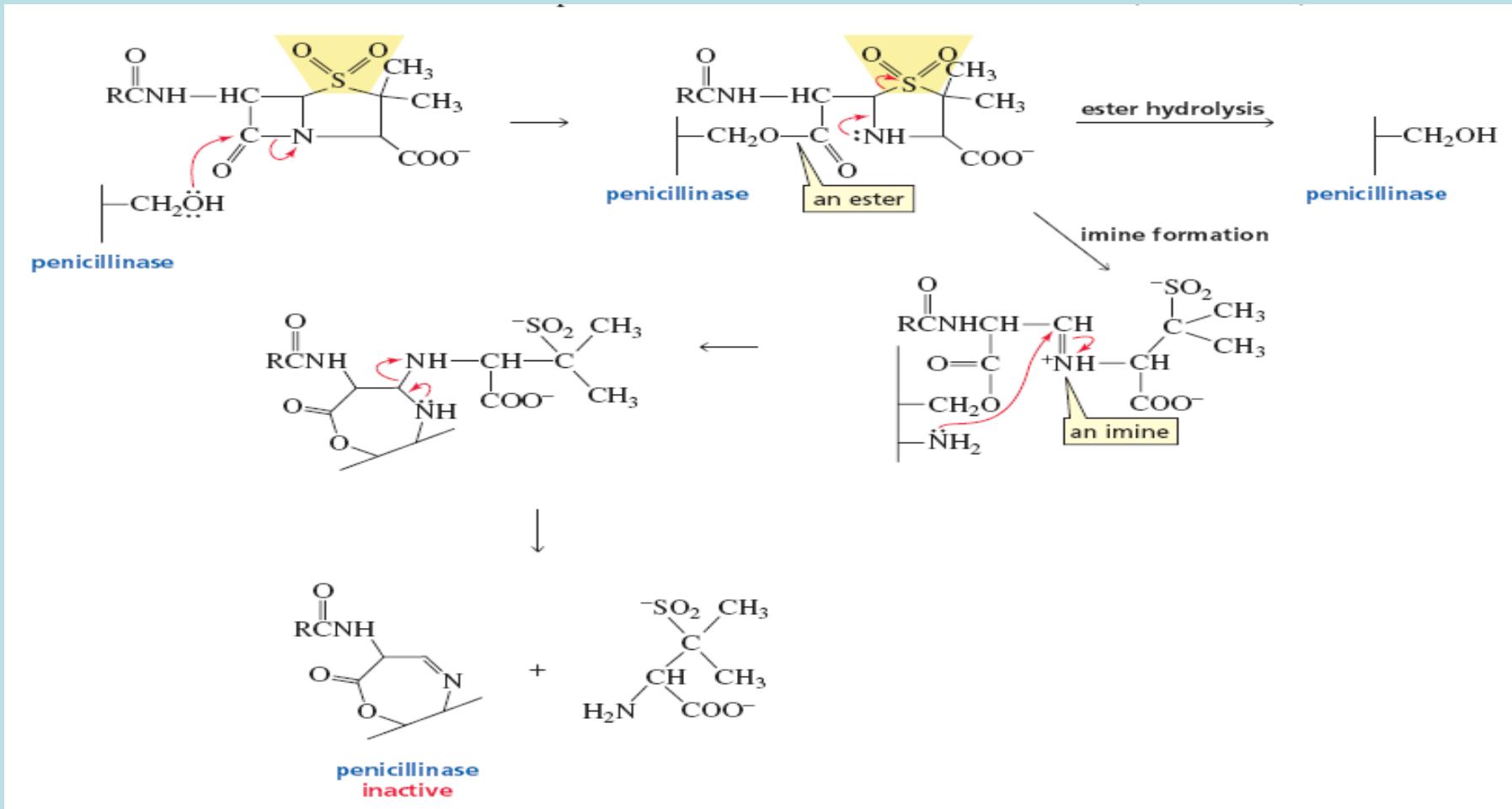
- Бактерии приобретают резистентность к пенициллину, выделяя пенициллиназу, фермент который разрушает пенициллин, гидролизуя его β-лактамное кольцо, до того как препарат может воспрепятствовать синтезу оболочки бактериальной клетки.



- Химики разработали лекарственные препараты, которые подавляют пенициллиназу. Ингибитором пенициллиназы является сульфон, который получают окислением пенициллина пероксикислотой.



Электроноакцепторный сульфон обеспечивает альтернативный путь гидролиза, приволяющий к устойчивому имину. Поскольку имины чувствительны к нуклеофильным атакам, аминогруппа на активном участке пенициллиназы реагирует с имином, образуя вторую ковалентную связь между ферментом и ингибитором. Ковалентно прикрепленная группа инактивирует пенициллазу, таким образом, устраняя резистентность к пенициллиновому сульфону.



5. Концепция антиметаболитов

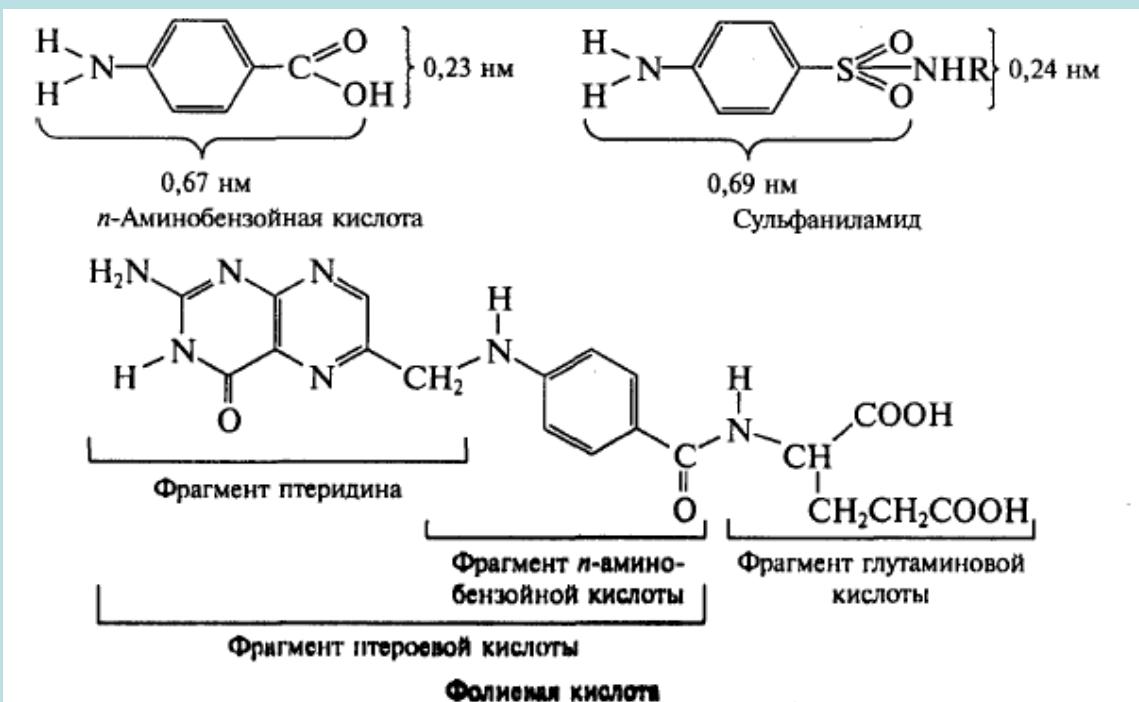
- Этот подход базируется на создании синтетического лекарственного вещества, структурно близкого к какому либо естественному (эндогенному) метаболиту организма человека. Задача такого синтетического вещества называемого антиметаболитом, состоит в подмене метаболита в естественных биореакциях.
- Антиметаболиты должны быть способны лишь частично выполнять в организме функции метаболитов. Являясь химическими имитаторами метаболитов, лекарственные вещества такого рода «обманывают» контролирующие ферментные системы, встраиваются в метаболическую схему и заменяют собой настоящий метаболит, например, в растущей цепочке ДНК или РНК. Подобный прием успешно был использован в синтезе противораковых веществ, а также для торможения роста и развития патогенных вирусов при создании **ацикловира** – высокоэффективного антигерпесного препарата.



ацикловир

- Важной характеристикой синтетических антиметаболитов является то, что они обладают малой токсичностью и не оказывают нежелательных побочных эффектов благодаря высокой степени их узнаваемости системами организма, для которых эти лекарственные вещества структурно «выглядят» почти нечужеродными, биогенными.

• Сульфаниламиды являются структурными геометрическими аналогами и *п*-аминобензойной кислоты и нарушают синтез фолиевой кислоты: фермент, ответственный за синтез последней, использует не саму аминобензойную кислоту, а ее имитатор — сульфаниламид. Фолиевая кислота необходима для синтеза пуриновых оснований и последующего синтеза нуклеиновых кислот. Появление в среде производных сульфаниловой кислоты приводит к прекращению роста бактериальных клеток. Сульфаниламиды являются антиметаболитами *п*-аминобензойной кислоты.



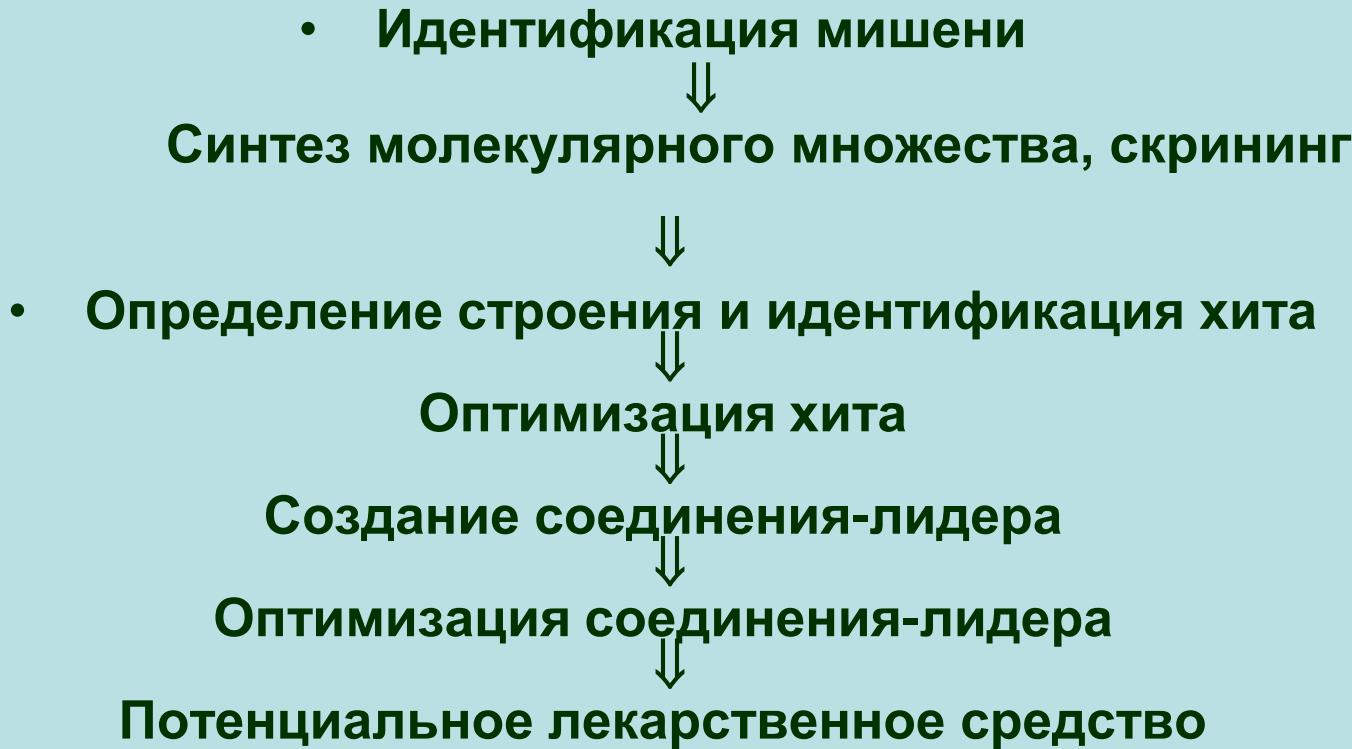
6. Методология комбинаторной химии

- Этот принцип совмещения химии и биологии возник и стал быстро развиваться в 1990-х годах как часть общей стратегии открытия новых лекарственных веществ. Стратегия комбинаторной химии основана на недавней разработке нескольких революционных химических и биологических методов параллельного синтеза и испытания большого числа соединений. Была создана техника миниатюризации синтезов и биоиспытаний, позволяющая синтезировать в растворе или на твердых подложках от сотен до нескольких тысяч новых соединений в день и быстро их тестировать в виде смесей или после выделения индивидуальных веществ.

- В недавнем прошлом открытие лекарственного средства начиналось с индивидуального синтеза сотен, а иногда и тысяч аналогов малоактивного препарата, в надежде повысить его активность и селективность, с одновременным снижением токсичности. В среднем, для достижения поставленной цели необходимо было синтезировать более 10 000 соединений, а чтобы получить это молекулярное множество, один человек должен был бы работать около 1000 лет. В настоящее время поиск новых лекарственных препаратов строится на принципиально новой основе.

- Теперь все начинается с расшифровки структуры генов, кодирующих белки, ответственные за проявление тех или иных биологических функций. Затем эти “*мишени*” (*targets*) получают в чистом виде и создают специальные тестовые системы, позволяющие уже не *in vivo*, а микрометодами, *in vitro*, определять биологическую активность как давно синтезированных так и вновь получаемых веществ.

Таким образом находят биологически активную структуру (***hit compounds***), которую модифицируя преобразуют в соединение-лидер (***lead compounds***), в результате оптимизации свойств которого получают лекарственное соединение (***clinical candidate***). Схематично этот процесс можно выразить следующим образом:



- Успехи геномики свидетельствуют о том, что в ближайшее десятилетие будет получено около 2000 новых мишеней и темп скрининга придется повышать, несмотря на то, что уже в настоящее время удается подвергнуть скринингу до 100 тысяч соединений в расчете на одну мишень. Поэтому если ранее скрининг отставал от синтеза, то теперь ситуация изменилась: вдобавок к образцам сотен тысяч уже известных органических веществ, составляющих так называемые исторические библиотеки, понадобилось быстро получать миллионы соединений.

- Подобную задачу способно решить только особое направление в органической химии, так называемый **комбинаторный синтез**, позволяющий специальными приемами быстро синтезировать обширные коллекции веществ с похожей структурой, так называемые библиотеки.
- Комбинаторный синтез – это одна из наиболее быстро развивающихся в последнее время областей фармацевтической индустрии. Он является наиболее важным инструментом для создания новых лекарственных препаратов. Что же такое комбинаторный синтез и почему он так важен?
- Говоря попросту, комбинаторный синтез является способом получения большого числа соединений за короткое время. При этом используются обычные реакционные пути и традиционный набор исходных материалов и реагентов.

- Комбинаторный синтез используется в основном в двух направлениях:
- **1. Комбинаторный синтез для оптимизации лекарственного препарата**
- Если необходимо получать большое число производных, аналогичных по строению соединению-лидеру и (или) улучшать активность соединения-лидера, то комбинаторный синтез позволяет быстро получать аналоги, которые только слегка отличаются по строению с лидером.
- **2. Комбинаторный синтез для нахождения лекарственного препарата**
- Поиск нового соединения-лидера является движущей силой развития комбинаторного синтеза. Столкнувшись лицом к лицу с множеством новых мишней, фармацевтические компании испытывают проблему с идентификацией функций каждой мишени, нахождения соединения-лидера для каждой мишени и оптимизации строения лидера по возможности быстрее. Здесь появляется реальная необходимость в комбинаторном синтезе. Он обеспечивает получение огромного количества соединений, но кроме этого при таких объемах синтеза повышается шанс нахождения новых соединений-хитов. Успех достигается применением новых технологий органического синтеза.

Существует два возможных пути реализации синтеза библиотек соединений – жидкофазный синтез и синтез на твердых подложках (твердофазный синтез). Последний имеет значительно большее распространение из-за его достаточной простоты и возможности автоматизации.

•Жидкофазный синтез

•Преимущества:

•Жидкофазный синтез возможен при использовании всех известных синтетических методов без каких либо ограничений

•Реакция проходит в гомогенных условиях

•Можно легко использовать нагревание

•Реакцию можно контролировать

•Возможна очистка и анализ продуктов реакции на каждой стадии

•Недостатки:

После окончания реакции все целевые соединения и побочные продукты находятся в смеси и требуется их разделение

При использовании избытка реагентов, для достижения хороших выходов продуктов, эти реагенты необходимо тщательно очищать

В том случае, если реагенты, продукты и побочные соединения невозможно перегнать или они не выпадают в осадок, их можно разделить или очистить только экстракцией или хроматографически, что обычно требует большого времени

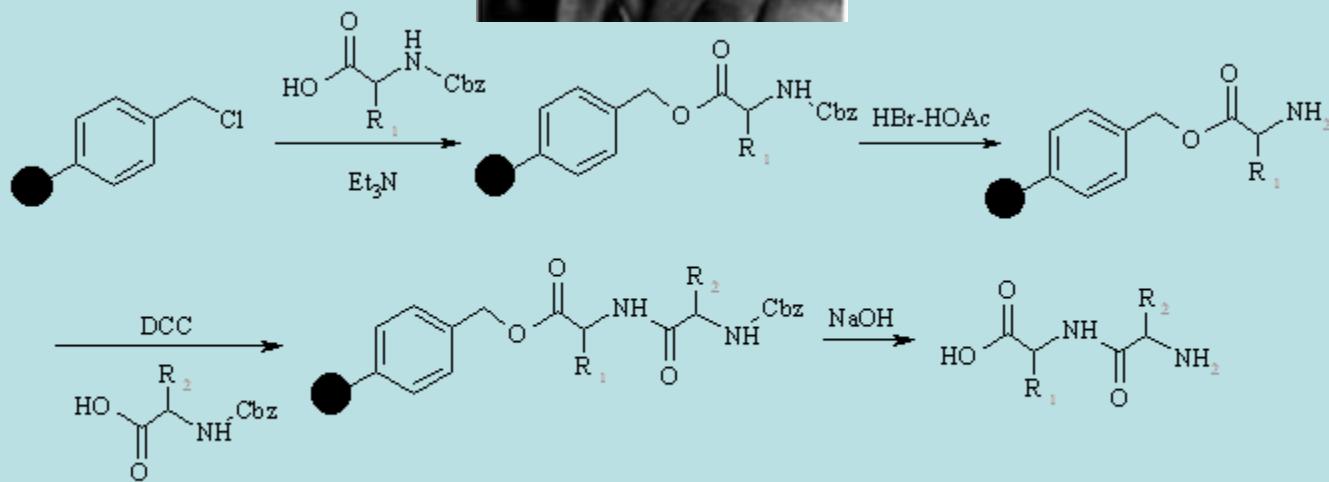
Автоматизация процессов очистки соединений в растворе весьма затруднительна

Все это приводит к тому, что жидкофазный способ создания библиотек относительно мало распространен.

•Твердофазный синтез

• В начале 60-х годов был предложен новый подход к решению проблем выделения и очистки, возникающих в пептидном синтезе. Автор открытия этого подхода, Роберт Брюс Меррифилд предложил собирать пептидную цепь постадийно, причем во время синтеза цепь должна быть одним концом привязана к твердому носителю. В результате выделение и очистка промежуточных и целевых производных пептидов сводились просто к фильтрованию и тщательной промывке твердого полимера для удаления всех избыточных реагентов и побочных продуктов, остающихся в растворе. Такая механическая операция может быть выполнена количественно, легко стандартизируется и может быть даже автоматизирована.

- Полимерный носитель в методе Меррифилда – это гранулированный сшитый полистирол, содержащий хлорметильные группы в бензольных ядрах. Эти группы превращают полимер в функциональный аналог бензилхлорида и сообщают ему способность легко образовывать сложноэфирные связи при реакции с карбоксилат-анионами. Конденсация такой смолы с N-защищенным аминокислотами ведет к образованию соответствующих бензиловых эфиров. Удаление N-защиты из дает C-защищенное производное первой аминокислоты, ковалентно связанное с полимером. Аминоацилирование освобожденной аминогруппы N-защищенным производным второй аминокислоты с последующим удалением N-защиты приводит к аналогичному производному дипептида также привязанному к полимеру:



где Cbz - бензилоксикарбонильная защита, DCC - дициклогексилкарбодиимид

- Возможность очистки продукта после каждой реакции путем простого фильтрования и промывки, реакции можно проводить в одном реакционном сосуде составляют идеальные предпосылки для механизации и автоматизации процесса. Действительно, всего три года потребовалось для разработки автоматической процедуры и аппаратуры, позволяющих выполнять программируемый синтез полипептидов с заданной последовательностью аминокислотных остатков.

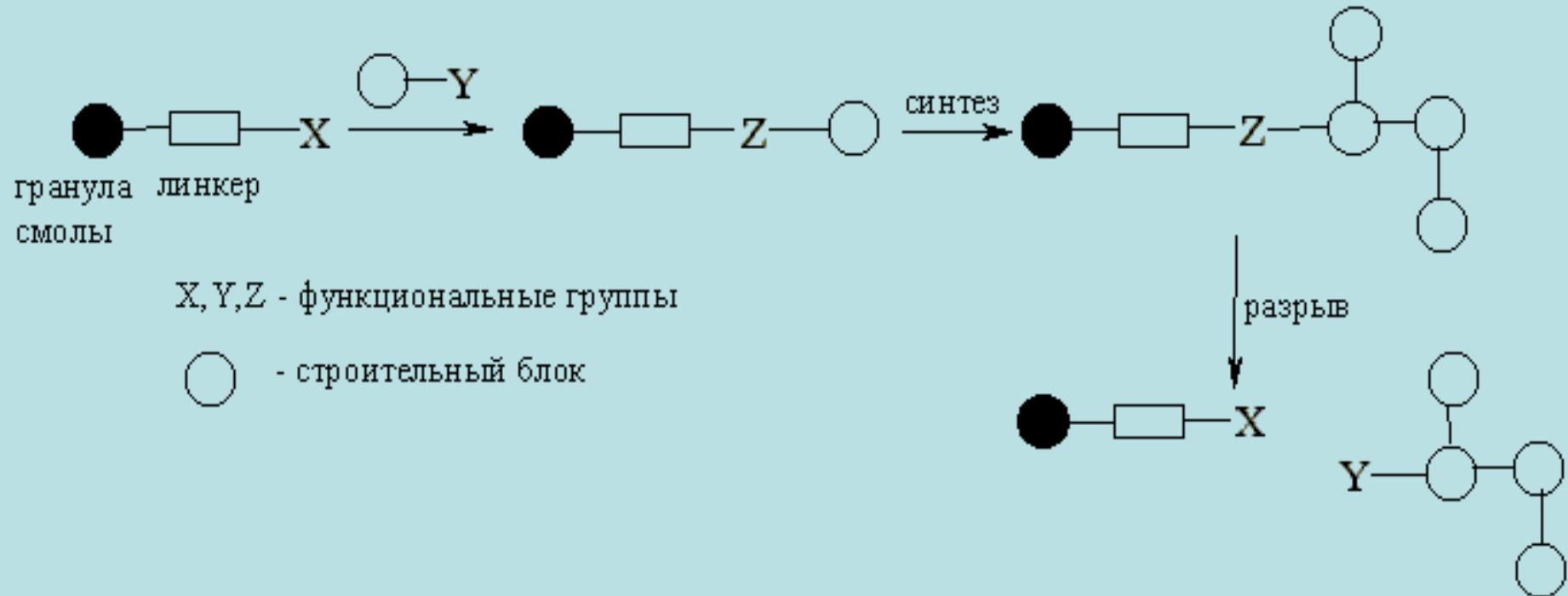
- Твердофазная техника приводила к существенной экономии труда и времени, необходимых для пептидного синтеза. Так, например, ценой значительных усилий Хиршмен с 22 сотрудниками завершили выдающийся синтез фермента рибонуклеазы (124 аминокислотных остатка) с помощью традиционных жидкофазных методов. Почти одновременно тот же белок был получен путем автоматизированного твердофазного синтеза. Во втором случае синтез, включающий 369 химических реакций и 11 931 операцию, был выполнен двумя участниками (Гатте и Меррифилд) всего за несколько месяцев (в среднем до шести аминокислотных остатков в день присоединялись к растущей полипептидной цепи). Последующие усовершенствования позволили построить полностью автоматический синтезатор.
- **Метод Меррифильда и послужил основой для нового направления органического синтеза – комбинаторной химии.**

- Необходимыми условиями проведения твердофазного синтеза, кроме наличия нерастворимой полимерной подложки, инертной в реакционных условиях, являются:
- Присутствие якоря или линкера – химической функции, обеспечивающей связь подложки с наносимым соединением. Он должен ковалентно связан со смолой. Якорь также должен являться реакционно-способной функциональной группой для того, чтобы субстраты могли взаимодействовать с ним.
- Связь, образующаяся между субстратом и линкером должна быть стабильна в условиях реакции.
- Должны существовать способы разрыва связи продукта или интермедиата с линкером.

Основные типы полимерных смол для комбинаторного синтеза используемые в настоящее время:

- Полистирол, сшитый с 0,5-2% дивинилбензола (StratoSpheres)
- Полиэтиленгликоль, привитый на сшитом сополимере полистирол- 1% дивинилбензол (TentaGel, AgroGel, NovaGel)
- Полиэтиленгликоль, привитый на 1% сшитый полистирол (PEG-PS)
- Полистирольная макропористая смола с высокой степенью сшивки (AgroPore, TentaPore)
- Сополимер бис-2-акриламидполиэтиленгликоль-моноакриламидо-полиэтиленгликоль (PEGA)
- Диметилакриламид нанесенный на макропористую матрицу кизельгур (Pepsyn K)
- Диметилакриламид нанесенный на макропористую матрицу – сшитый 50% полистирол-дивинилбензол (Polyhipe)

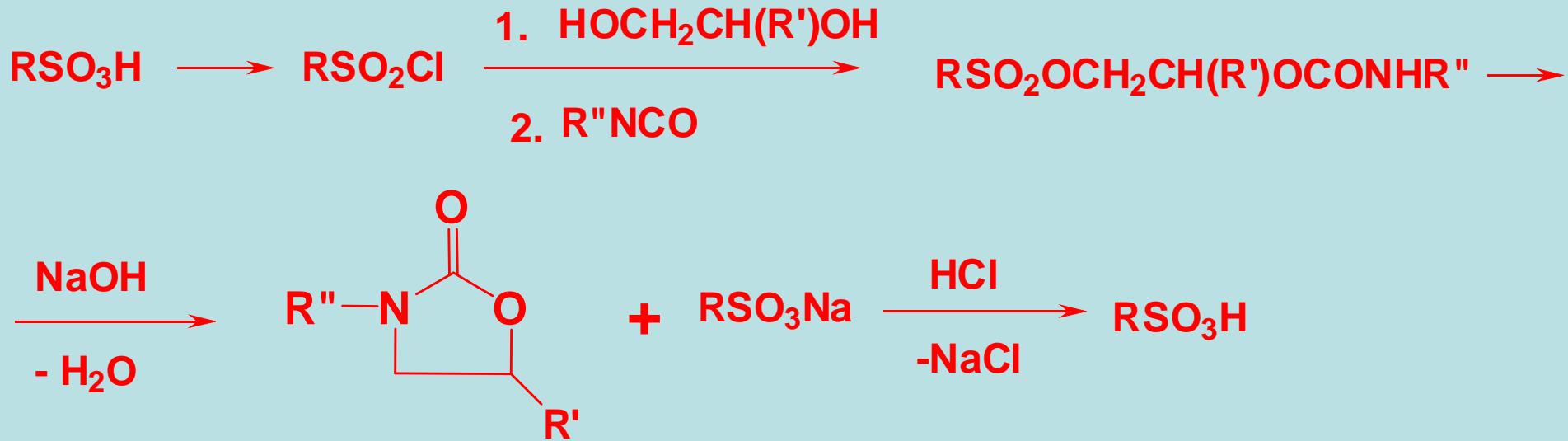
- **Линкеры**
- Линкер – это молекулярный фрагмент, ковалентно связанный с твердой подложкой. Он содержит реакционноспособные функциональные группы, с которыми взаимодействует первый реагент и который в результате становится связанным со смолой. Образующаяся связь должна быть стабильной в реакционных условиях, но легко разрываться на конечной стадии синтеза.
- Различные линкеры используются в зависимости от того, какая функциональная группа присутствует в субстрате и от того, какая функциональная группа должна быть сформирована в конце процедуры.



В практике комбинаторного синтеза чаще всего используются следующие линкеры:

Хлорметильный ($-\text{CH}_2\text{Cl}$),
 Гидроксильный ($-\text{OH}$),
 Аминный ($-\text{NH}_2$),
 Альдегидный ($-\text{CHO}$),
 Силильный ($-\text{OSiR}_3$).

• В совокупности с автоматизацией синтез целых семейств (или «библиотек») веществ требует значительно меньших затрат реагентов при огромном росте производительности. Типичным примером может служить синтез библиотеки антибактериальных 1,3-оксазолидин-2-онов, основанный на принципе защитных групп. Твердофазный синтез осуществляют одновременно в многочисленных миниатюрных реакционных ячейках, в которые помещают бусы или порошки из ионообменной полистирольной смолы, имеющей активную группу, с которой могут взаимодействовать диолы-1,2:



- В каждую из таких реакционных ячеек добавляется свой изомерный диол и затем изомерный изоцианат. По окончании образования карбаматов реакционную смесь в каждой ячейке обрабатывают основанием, регенерируя активную группу полимерной подложки и смывая растворителем образовавшиеся при этом целевые оксазолидины. В результате параллельного выполнения многочисленных синтезов получают многие сотни производных 1,3-оксазолидинона, которые затем испытывают параллельно на подложке, содержащей соответствующее количество ячеек для тестов с бактериальным штаммом.

ОБОРУДОВАНИЕ ДЛЯ КОМБИНАТОРНОГО СИНТЕЗА

- Микроволновые реакторы INITIATOR предназначены для автоматизации проведения химических превращений в интервале температур 40-250°C (2-5 °C/сек) и давлении до 20 атм. Реакции осуществляются в сосудах с магнитными мешалками четырех размеров от 0,2 до 20 мл. В приборах с автосамплером (8 или 60 позиций) сосуды подаются в реактор автоматически любых размеров, в любой последовательности.





- Флеш-хроматография - это усовершенствованный процесс традиционной жидкостной колоночной хроматографии среднего и низкого давления.
- Использование готовых упакованных пластиковых картриджей и техники аксиального/радиального сжатия взамен традиционных стеклянных колонн значительно увеличило производительность, эффективность и воспроизводимость процессов разделения.

Параллельный синтез

Установки параллельного синтеза представляют собой рабочие станции для одновременного проведения нескольких экспериментов в небольших объемах при нагревании и охлаждении с возможностью работы под вакуумом или в атмосфере инертного газа.



7. Принцип функциональной геномики и протеомики

Начало 21 века ознаменовалось блестящим открытием. Это – успешное завершение расшифровки генома человека. Геном человека имеет 23 хромосомы, которые содержат несколько десятков тысяч генов, насчитывающих несколько миллиардов нуклеотидных пар.

Работы по расшифровке человеческого генома начались в 1989 г. и практически завершились в начале 2001 г. установлением следующих фактов:

- 1) он содержит 32 тыс. генов;
- 2) наследственные гены, по которым воспроизводится в целом человеческий организм, составляет всего 5% от его генома;
- 3) остальная часть генома состоит в основном из транспонсонов (перемещающихся участков ДНК, которые формируют и изменяют структуру генома) и «молчящих» генов (многократно повторяющихся последовательностей нуклеотидов).

Полагают, что эти последние два вида участков генома достались человеку эволюционно от бактерий и вирусов.

В связи с этим открытием возникает реальная возможность утверждения нового подхода в стратегии создания новейших лекарственных веществ – **принципа функциональной геномики и протеомики**.

Он основан на знании как структуры генома, так и функций тех его участков, которые кодируют и передают информацию по синтезу нативных нуклеиновых кислот, белков и полипептидов.

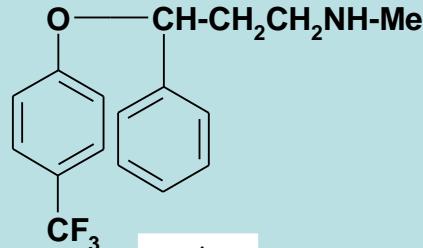
Раскрытие структуры (карты) генома и изучение функций генов человека в перспективе позволяют медицине становиться все более превентивной благодаря появления у нее способности выявлять возможность возникновения какой-либо генетической болезни у каждого человека заранее и целенаправленно создавать соответствующие лекарства.

**В настоящее время основной задачей становится
нахождение генов, контролирующих биосинтез белковых
молекул (включая биорецепторы), которые являются
биомишенями уже известных веществ.**

Примером исследований по принципу функциональной геномики и протеомики может служить **определение гена, кодирующего белок мозга, который является структурным аналогом биорецептора нейромедиаторного вещества – серотонина**. Оказалось, что один из самых популярных в н.в. антидепрессантов – прозак (флуксетин), так же как и медиатор ЦНС серотонин, взаимодействует как с мозговым, так и с рецепторным белками.



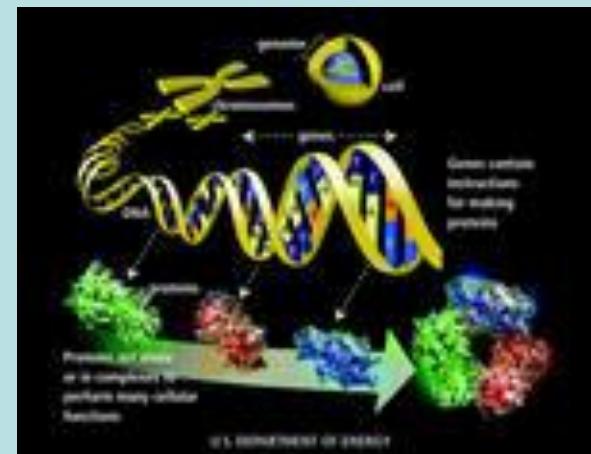
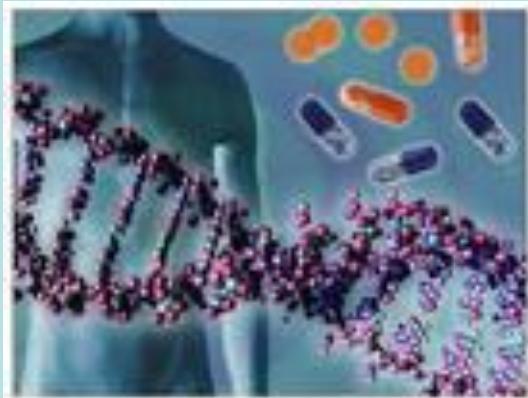
серотонин



прозак

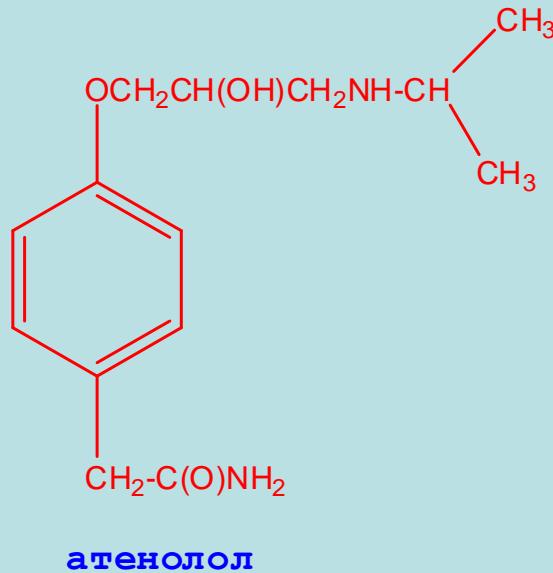
Подобное открытие позволит получить методом генной инженерии часть мозгового белка и использовать его для тестирования на антидепрессантную активность синтетические соединения нового поколения, которые имеют стереохимические особенности, отвечающие топографии биорецептора.

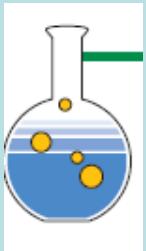
На 2002 г. стало известно строение геномов нескольких десятков патогенных бактерий, что также открывает новую перспективу для синтеза антибактериальных препаратов мощного узконаправленного действия.



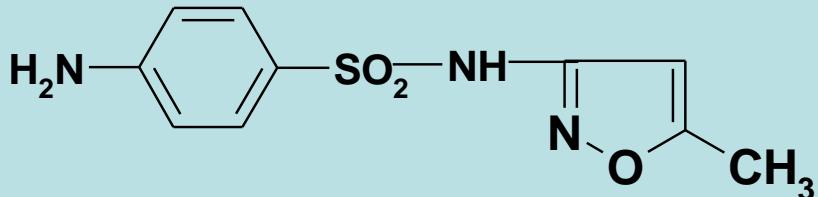
Использование в терапии новых свойств уже известных лекарственных препаратов

- Было обнаружено, что β -адреноблокаторы, адреномиметические вещества, обладают гипотензивным свойством (атенолол, метопролол).
- Широко применяемый аспирин (ацетилсалicyловая кислота) может оказывать не только противовоспалительное, анальгезирующее, жаропонижающее, но и антиагрегационное действие и назначается при ишемической болезни сердца и наличии ряда факторов ИБС.

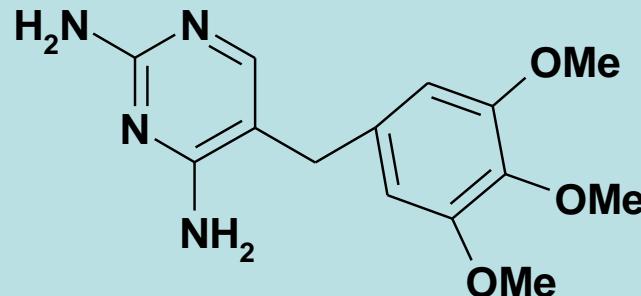




Создание комбинированных препаратов



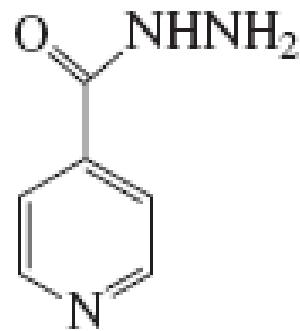
Сульфаметоксазол



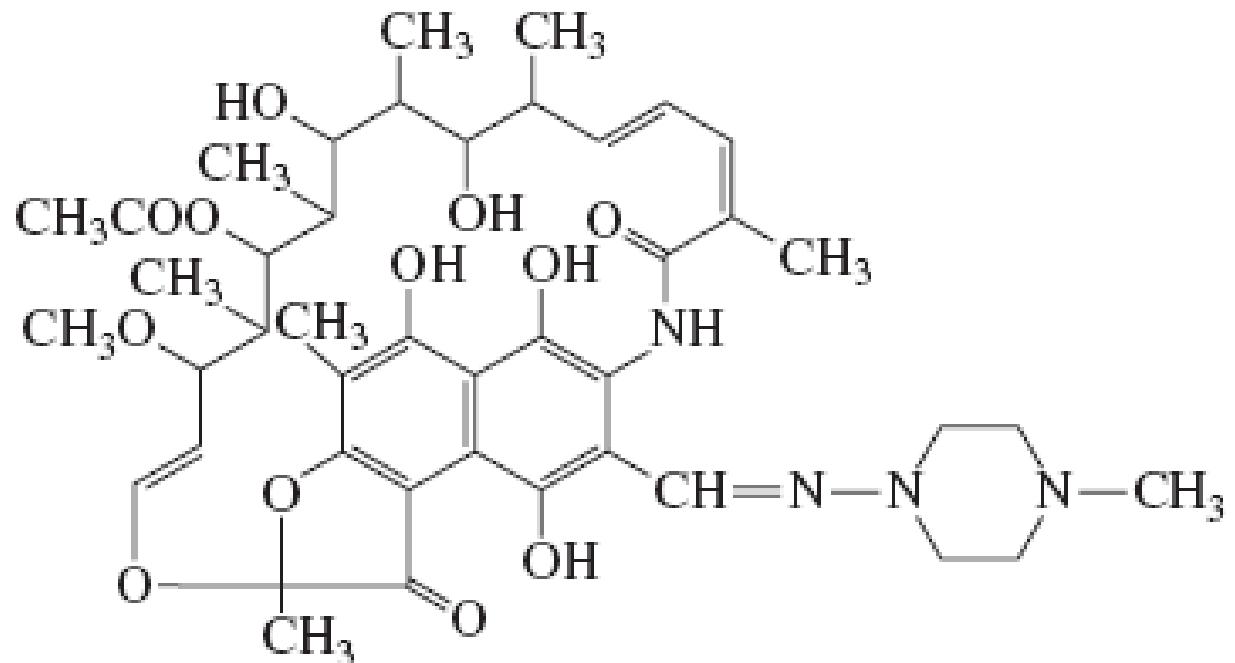
Триметоприм

- Одновременное действие компонентов бисептола (бактрома) — триметоприна и сульфаметоксазола характеризуется синергизмом, т. е. усилением действия при их комбинированении. Это позволяет использовать лекарственные вещества в более низких дозах и тем самым снизить их токсичность. Сочетание указанных ЛВ обеспечивает высокую бактерицидную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов, в том числе бактерий, устойчивых к сульфаниламидным препаратам.

Если некоторые бактерии стойки к одному из лекарственных средств, то лучше использовать их комбинацию, т.к. второй препарат минимизирует шанс бактерий оказаться резистентными к антибактериальному средству. Например, два антибактериальных средства, изониазид иrifampin, применяются в комбинации для лечения туберкулеза.



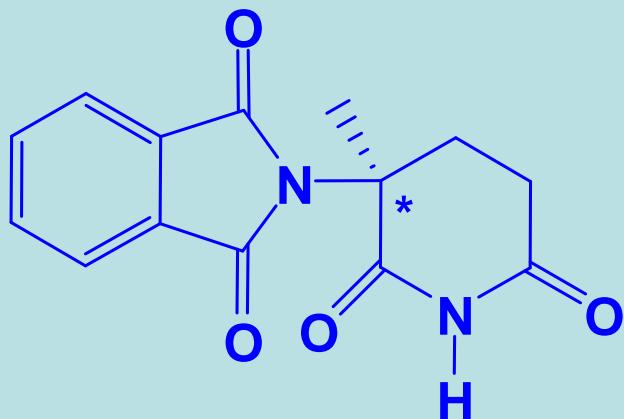
isoniazid
Nydrazid®



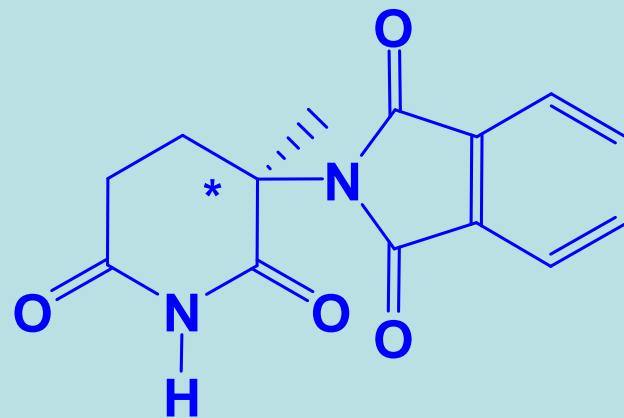
rifampin
Rifadin®

- Следует подчеркнуть, что рассмотренные приемы генерирования и модификации физиологической активности потенциального лекарственного вещества не являются абсолютными и часто не могут обеспечить ожидаемого эффекта.
- При создании новых лекарственных веществ, имеющих хиральные центры, следует иметь ввиду, что различные энантиомеры могут обладать различным, и даже противоположным, биодействием. Левовращающий энантиомер кокаина почти в два раза более активен в качестве местного анестетика и в четыре раза менее токсичен, чем его правовращающий оптический антипод.

В США в 60-х гг. применяли талидомид. Позже выяснилось, что его использовали в виде рацемата, т.е. смеси двух оптически активных энантиомеров, из которых (+)-R-энантиomer обладает снотворным действием и нетоксичен, а его (-)-S-форма вызывает тератогенность (врожденные уродства). Это лекарственное вещество сразу попало под запрет.



(-)-S-



(+)-R

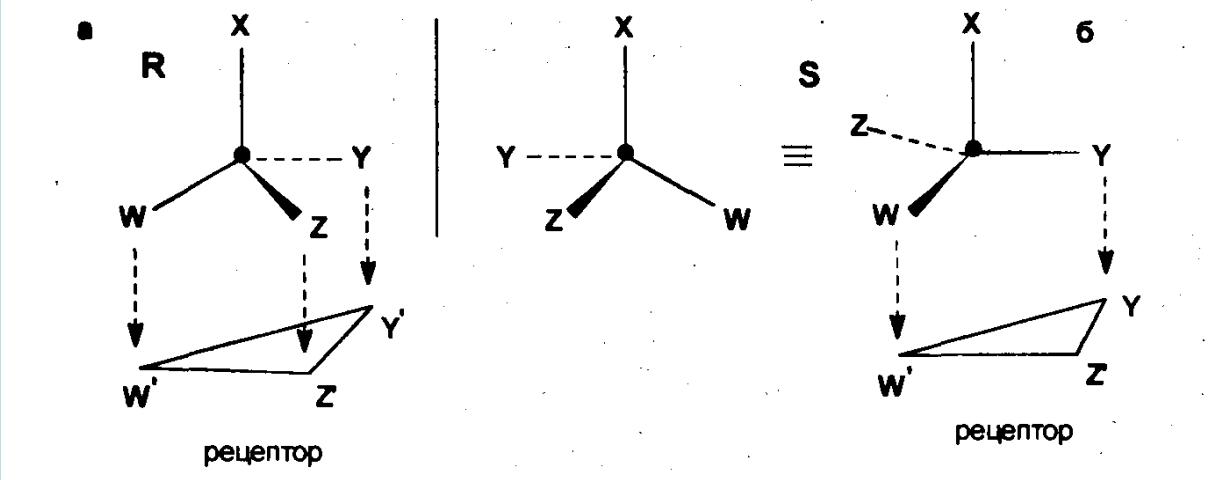


Рис. 1. Трехконтактное взаимодействие энантиомеров с биорецептором:
а – комплементарное; б – аномальное

- В случаях хиральной зависимости биоактивности асимметрический центр в молекулах лекарственного вещества должен ориентироваться тремя точками на хиральном участке биорецептора, чувствительном к асимметрии препарата. При их «нормальном взаимодействии», т.е. комплементарном трехточечном контакте ($W...W'$, $Y...Y'$, $Z...Z'$, рис.), проявляется полезный лечебный эффект.

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ

