

Návrh léčiva

Fáze návrhu léčiva

Kvantitativní vztahy mezi strukturou a účinností

Farmakofor

Stereochemické aspekty

Optimalizace farmakologických i fyzikálně-chemických parametrů léčiva

Profarmaka

Polymorfie

Ani ty nejlepší „hity“ zjištěné při screeningu (*in vitro*)
nemusí být vhodné pro použití za reálných podmínek
(*in vivo*)!

Fáze návrhu:

Vodítková látka (lead compound)

- vybraná ze souboru hitů nalezených při screeningu

hity → vodítko

↓ optimalizace struktury, aby produkt
měl vlastnosti požadované u léčiva

léčivo

Cíle fáze návrhu

Přiblížení se optimálním vlastnostem léčiva (druggability, drug-like character) obměnami molekuly vodítkové látky

Klíčové požadavky:

- **vysoká účinnost za reálných podmínek** (účinná koncentrace nejlépe $< 1 \mu\text{mol/l}$)
- **selektivita** (absence nežádoucích interakcí)
- **minimální toxicita** (nulová mutagenita, teratogenita, kancerogenita a další nežádoucí účinky)
- **chemická i fyzikální stálost** (nepřítomnost reaktivních skupin)
- **jednoduchá a bezpečná syntéza zaručující vysokou kvalitu**
- **přiměřená rozpustnost ve vodě** (násobky účinné koncentrace, dávka pevných přípravků by se při pH v rozmezí 1,0 - 7,5 měla rozpustit v 250 ml, tj. v objemu kapaliny v trávicím traktu)
- **biologická dostupnost – schopnost difuze přes buněčné membrány** (přiměřená lipofilita; polární povrch $< 140 \text{ \AA}^2$, má-li léčivo pronikat hemoencefalickou bariérou $< 60 \text{ \AA}^2$)
- **minimální adsorpce na plasmatické bílkoviny** (HSA, kyselý α_1 glykoprotein,...)
- **přiměřená metabolická degradace** (umožňující udržování účinné koncentrace v požadovaném intervalu)
- **minimální ovlivnění cytochromů a dalších jaterních enzymů** (absence lékových interakcí způsobených aktivací nebo inhibicí enzymů metabolizujících léčivo)
- **absence patentových bariér a možnost získání patentové ochrany**

Příprava analog vodítkové látky

optimalizace farmakodynamických a farmakokinetických parametrů

Empirický přístup

Metoda pokus – omyl (časová náročnost, mnoho zbytečné práce)

Racionální přístup

Využití poznatků o kvantitativních vztazích mezi strukturou a účinností (QSAR - Quantitative Structure – Activity Relationship)

Farmakofofor – strukturní rysy nezbytné pro aktivitu

Modifikace molekuly léčiva založená na QSAR

**Optimalizace farmakologických parametrů (ADME-Tox)
pravidlo pěti**

Klasická syntéza, kombinatoriální syntéza

Počítačový návrh léčiva (CADD - Computer-Aided Drug Design)

vytvoření počítačového modelu, experimentální prověření, doladování modelu

Lipinského pravidlo pěti

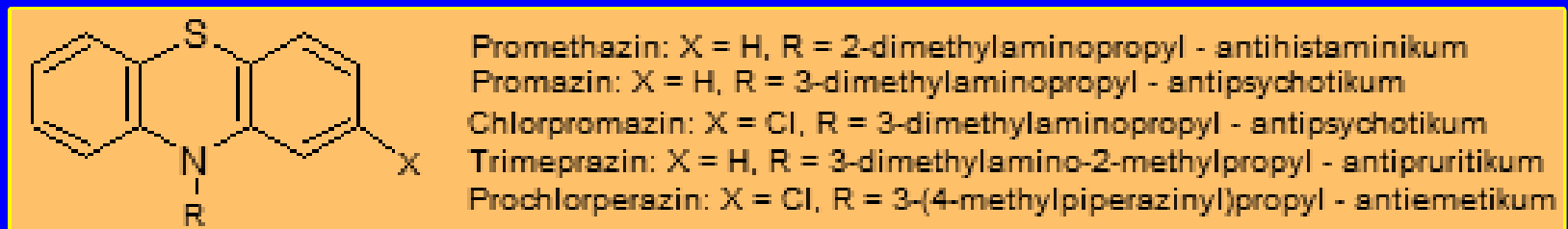
(pro léčiva pronikající k cílové struktuře buněčnou membránou)

- **molekulová hmotnost do 500**
(80% nízkomolekulárních léčiv má molekulovou hmotnost <460)
- **ne více než 5 protondonorových skupin**
- **ne více než 10 protonakceptorových skupin**
- **logaritmus rozdělovacího koeficientu mezi n-oktanolem a vodou v rozmezí 1 – 5**
(80% nízkomolekulárních léčiv má $\log P$ v rozmezí 0,4-5,6; průměr ~ 2,5)

Pravidlo pěti je užitečná, ale nedostačující pomůcka

Chemické modifikace vodítkové látky

Malé změny struktury mohou mít velké dopady na účinnost



Nelze měnit skupiny, které jsou nezbytné pro účinnost (jsou součástí farmakoforu)

Zkoušení vlivu substituentů na účinnost

dříve: syntéza velké řady analog + testování

dnes: počítačový model, návrh + syntéza několika počítačem navržených látek, otestování + doladění počítačového modelu a návrh dalších látek, syntéza, testování, další doladování modelu...

→ méně syntetizovaných a testovaných látek

→ zkrácení VaV, nižší náklady

Alternativa: možnost obměn molekuly při vytváření knihovny sloučenin kombinatoriální syntézou

QSAR – hydrofobita látky

Hydrofobita látky – ovlivňuje biologickou dostupnost a tím i účinnost

$$\log\left(\frac{1}{C}\right) = -k_1 \cdot (\log P)^2 + k_2 \cdot \log P + k_3$$

P - **rozdělovací** koeficient mezi n - oktanolem a vodou

C – koncentrace potřebná k dosažení určitého účinku

Příspěvky substituentů – možnost výpočtu $\log P$ navržené látky

$$\log P = \log P_H + \sum \pi_x$$

P_H - rozdělovací koeficient nesubstituované látky

π – konstanta udávající hydrofobitu substituentu

Příklad: Hodnoty π pro aromatické sloučeniny:

F	Cl	Br	OH	OCH ₃	CONH ₂	CH ₃	C(CH ₃) ₃
+0,14	+0,71	+0,86	-0,67	-0,02	-1,49	0,52	1,68

$\log P_H$ pro benzen: 2,13

p-bromanisol: $\log P = 2,13 + 0,86 - 0,02 = 2,97$

m-chlorbenzamid: $\log P = 2,13 + 0,71 - 1,49 = 1,35$

Biologická dostupnost – funkce rozpustnosti, absorpce a eliminace

Absorpce (průnik buněčnou membránou): $\log P > 1,7$ pro látky s mol. hm. 350-400

$\log P > 3,4$ pro látky s mol. hm. 450-500

Rozpustnost ve vodě: $\log P > 3$ – jen ~1% a méně; $\log P < 3$ – jednotky až desítky %

Změny hydrofobity při ionizaci kyselin a bází

Ionizované látky – stupeň ionizace ovlivňuje hydrofobitu

P – rozdělovací koeficient neionizované látky

D – distribuční koeficient látky ionizované v daném prostředí

Distribuční koeficient ionizovaných látek závisí na pH a pK_a

„fyziologické“ pH: 7,4 (pH krevní plasmy), v jiných tělesných tekutinách může být odlišné (pH žaludeční šťávy: 1-2, tenké střevo horní úsek: 6,6, dolní: 7,5)

$$\log D_{kys} = \log P + \frac{1}{1 + 10^{pH - pK_a}}$$

$$\log D_{báze} = \log P + \frac{1}{1 + 10^{pK_a - pH}}$$

Přibližná závislost - převážně disociované kyseliny a báze

$$\log D_{kys.} \approx \log P + pK_a - pH$$

$$\log D_{báze} \approx \log P + pH - pK_a$$

- převážně neionizované

$$\log D_{neioniz} \approx \log P$$

Vztahy mezi chemickou strukturou a účinností

Elektronické vlivy

Hammetovy konstanty σ (σ_m , σ_p) – elektronické efekty substituentů

- vliv na ionizaci kyselých a bázičkových skupin léčiva \Rightarrow ovlivnění iontových interakcí molekuly léčiva s cílovou strukturou
- vliv na protondonorový nebo protonakceptorový charakter substituentů \Rightarrow ovlivnění síly vodíkových vazeb i dalších interakcí

Sterické faktory

Taftovy sterické parametry E_s , molekulová refraktivita, Verloopovy sterické parametry STERIMOL – počítačový program pro 3D QSAR

Hanschova rovnice – základní rovnice QSAR

spojení jednotlivých dílčích závislostí do jednoho vztahu

$$\log(1/C) = -k_1(\log P)^2 + k_2 \log P + k_3 \Sigma \pi + k_4 \sigma + k_5 E_s + k_6$$

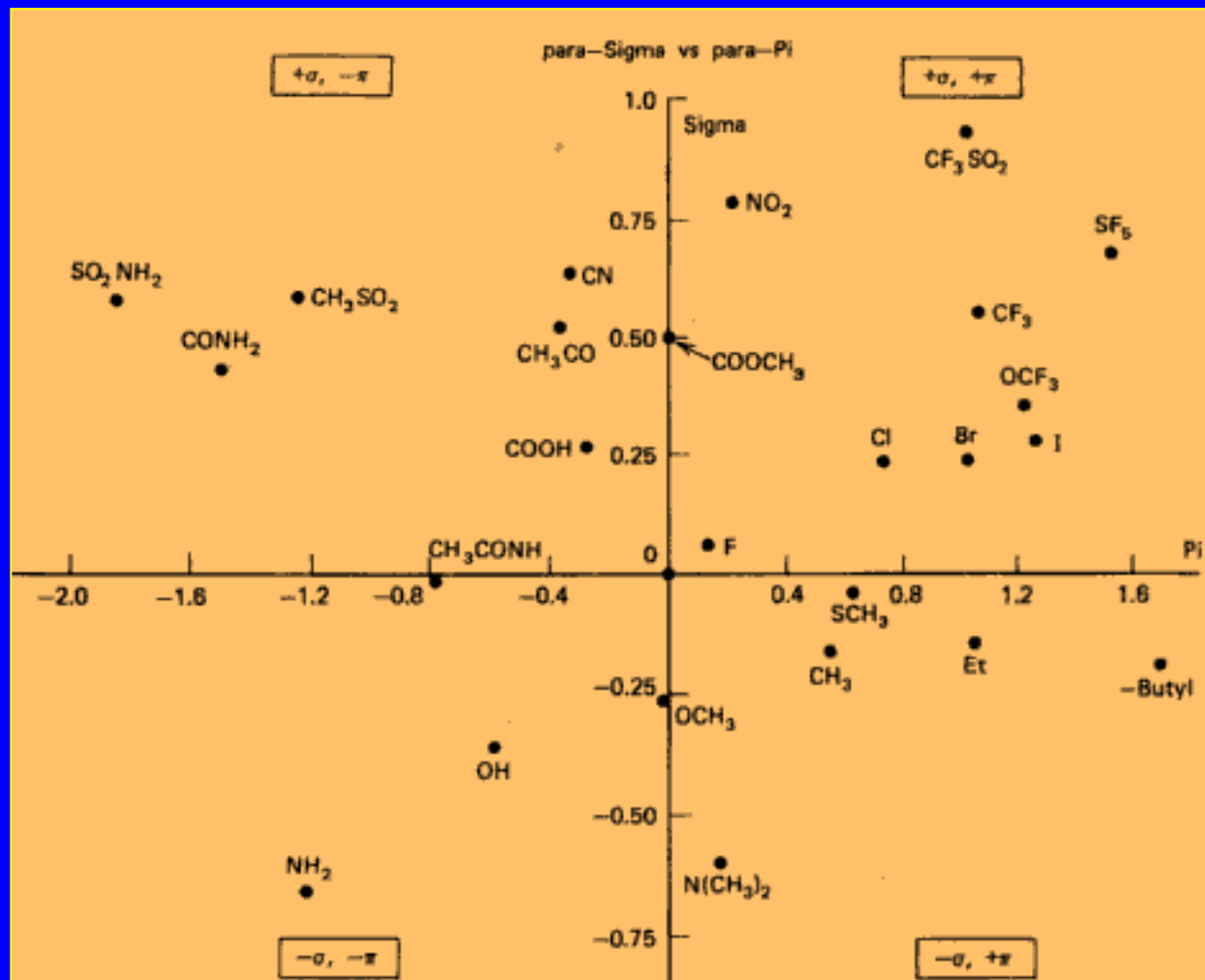
Hanschova rovnice umožňuje předpověď vlastností derivátů získaných určitými modifikacemi vodítkové látky

Základ CADD – počítači podporovaného návrhu léčiva:

- Hanschova rovnice nebo její modifikace (rozšíření o další parametry)
- Problém: volba správných deskriptorů (různě určeným $\log P$ 4-nitrofenolu: 0,76-2,08)
- Zlepšování počítačových modelů: zpřesnění výchozích údajů, rostoucí znalosti o prostorové stavbě cílových struktur, 3D-QSAR
- Nové metody modelování QSAR: CoMFA, CoMSIA, EVA, MOOP...

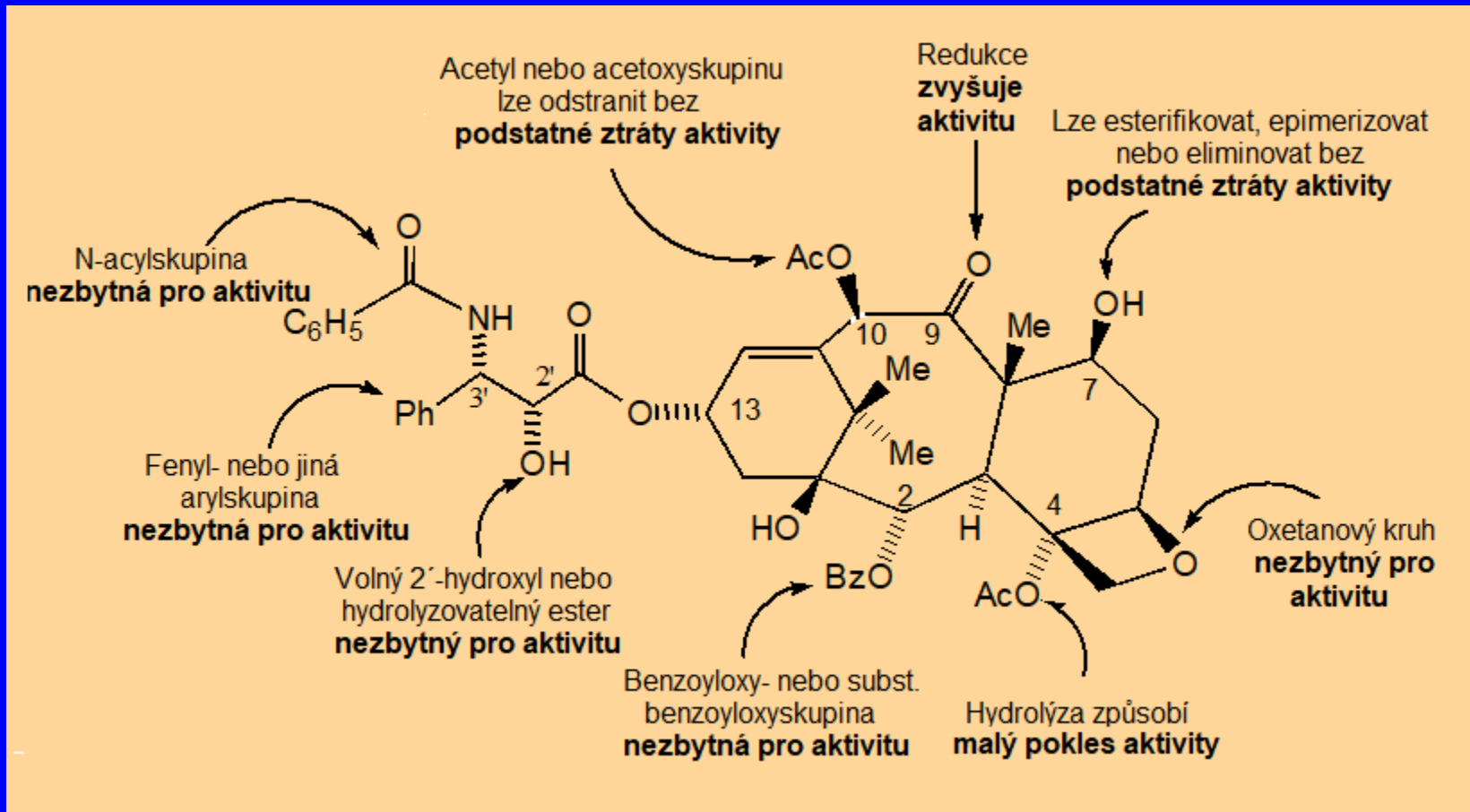
Určení konstant $k_1 - k_6$ podle známých látek

pomůcka - rozdělení substituentů podle Craiga
(pokud možná výběr látek ze všech kvadrantů)



Záměny funkčních skupin

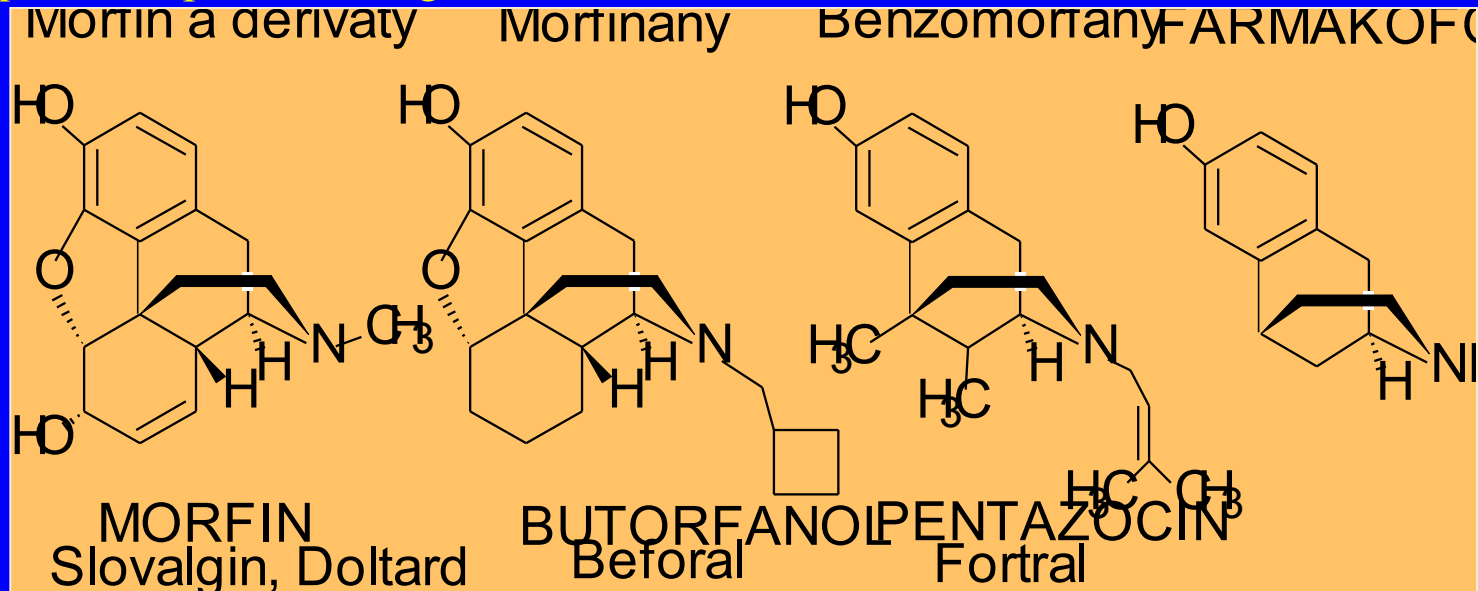
Skupiny nutné pro aktivitu – paklitaxel



Farmakofor

Společné strukturní rysy látek nezbytné pro biologickou aktivitu

příklad: opiátová analgetika



Funkční skupiny nutné pro aktivitu – součást farmakoforu

× zaměnitelné skupiny (auxofor)

Prostorové rozmístění funkčních skupin – 3 D struktura farmakoforu

Vliv konformace

Renesance konceptu farmakoforu a jeho využití: CADD

na ligandech závislý návrh léčiva (známé účinné látky → farmakofor)

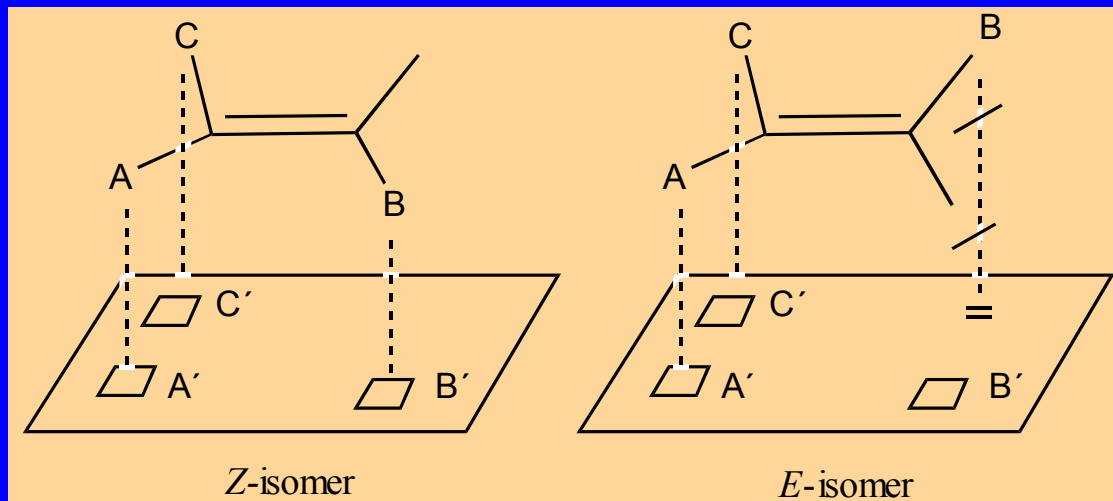
na struktuře závislý návrh léčiva (známá stavba cílové struktury → farmakofor)

Farmakofor navržený na základě znalosti prostorového uspořádání cílové struktury (počítačové modelování)



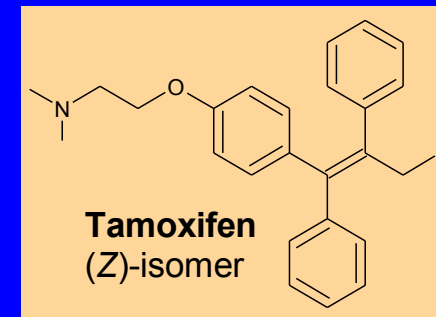
Stereochemie a biologická účinnost

Konfigurace molekuly - geometrické isomery



vyšší účinnost

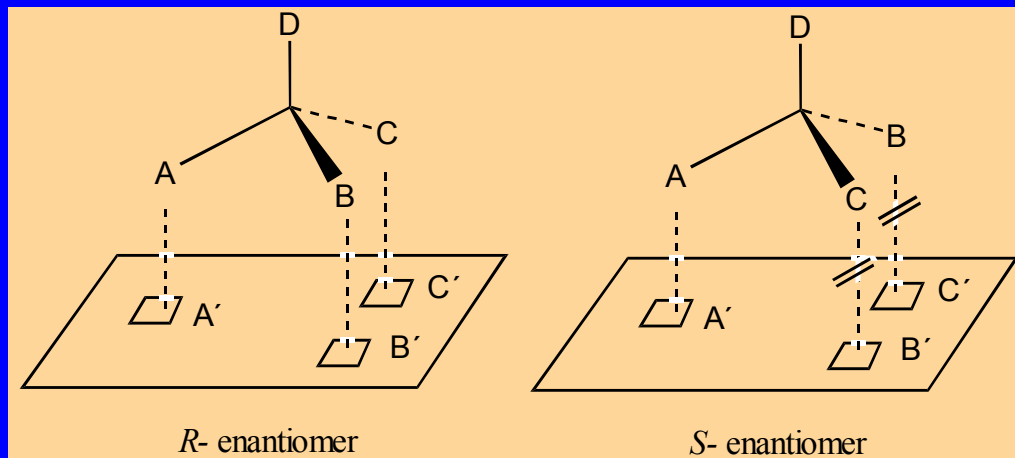
nižší účinnost



Stereochemie a biologická účinnost

B. Chiralita – enantiomery/optické isomery

Chirální léčiva - asi 25% všech léčiv je chirálních



Enantiomery: mohou mít stejnou nebo různou účinnost (i nežádoucí)

Eutomer (účinnější enantiomer), distomer (méně účinný)

Isodesmický poměr (mezi účinností eutomeru a distomeru)

Chirální záměna (chiral switch):

racemát → enantiomer (eutomer)

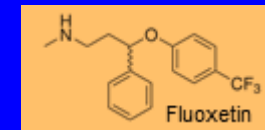
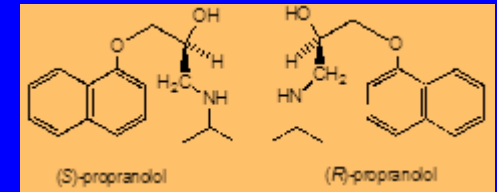
Enantiomery – biologická účinnost

1. Jeden enantiomer je účinný, druhý není nebo je méně účinný
racemát = 50% účinné látky

příklad: propranolol: účinný je (*S*)-isomer

Přechod od racemátu k enantiomeru? Není vždy výhodný!

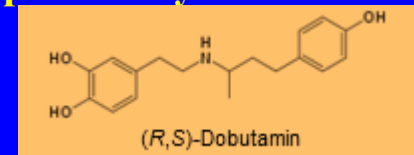
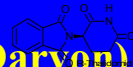
(*S*) –fluoxetin účinnější než (*R*), ale je rychleji eliminován



2. Oba enantiomery jsou stejně účinné – obvykle jsou v organismu převáděny na achirální účinnou látku (např. alkohol je oxidován na keton)

3. Každý enantiomer působí na jinou cílovou strukturu účinky se doplňují: dobutamin

různé indikace: dextropropoxyfen (Darvon) – analgetikum,
levopropoxyfen (Novrad) – přípravek proti kašli



4. Jeden enantiomer má nežádoucí účinky

(*S*)-penicillamin léčí Wilsonovu nemoc (neschopnost organismu metabolizovat měď),

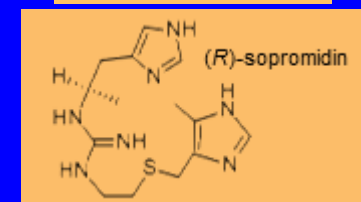
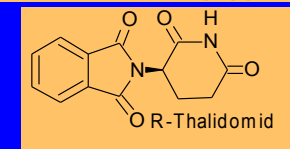
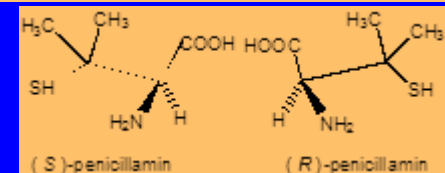
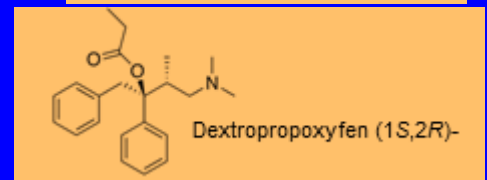
(*R*)-penicillamin je toxický (možnost oslepnutí)

thalidomid – (*R*)-enantiomer sedativum, (*S*)- teratogenní (?)

5. Opačné účinky

(*R*)-sopromidin agonista histaminového H₂ receptoru, léčba srdečního selhání,

(*S*)-sopromidin antagonist receptoru



Příprava chirálních látek

Rezoluce racemátů

- **Spontánní rezoluce racemátů – spíše výjimka**
z roztoku vykrystalují enantiomery (Pasteur – vinan sodno-amonný, methadon)
- **Převedení racemátu na diastereomerní soli nebo deriváty - využití odlišných vlastností diastomerů k rozdělení (krystalizace, destilace...)**
soli s **chirálními kyselinami** (dibenzoylvinná, kafrsulfonová, mandlová, vinná ...) **nebo s chirálními bázemi** (strychnin, brucin – nevhodné pro léčiva, vhodné báze: fenylethylamin ...) **esterifikace, tvorba amidů** (alkohol/amin + chirální kyselina), **vznik Schiffových bází** (racemát s karbonylovou skupinou + chirální amin) **atd.**
- **Enzymatická rezoluce**
hydrolyza/syntéza esterů nebo amidů acylasami (fenylglycinamid – ampicilin)
- **Dělení chromatografií na chirálních fázích** (především analytické separace)
- **Tvorba inkluzních komplexů** (komplexy s cyklodextriny apod tvoří jen jeden enantiomer)

Nevýhoda rezoluce: získá se nejvýše 50% výtěžek enantiomeru

zvýšení výtěžku: racemizace a opakovaná rezoluce, kinetická rezoluce, Waldenův zvrát

Jiné možnosti přípravy enantiomerů:

- **Stereospecifická (asymetrická, enantioselektivní) syntéza**
- **Modifikace chirálních výchozích látek**

Syntéza chirálních látek

Chirální element(y) v molekule výchozí látky

- parciální syntézy (modifikace přírodních produktů)
alkaloidy, steroidy, terpeny, antibiotika apod.
- syntézy vycházející z běžně dostupných chirálních surovin
cukry, aminokyseliny atd.

Předpoklad úspěchu: vyloučení faktorů spojených s možností racemizace

Asymerická (enantioselektivní) syntéza

Výchozí látka je achirální nebo racemická

- použití chirálních reagentů
- použití chirálních katalyzátorů

specifický případ: enzymatická katalýza

Optická/enantiomerní čistota produktu

kontrola měřením optické otáčivosti, optické rotační disperze nebo cirkulárního dichroizmu

Chemický i optický/enantiomerní výtěžek (přebytek, ee)

poměr optické otáčivosti produktu k otáčivosti čistého enantiomeru

Cíle modifikace struktury vodítkové látky

Zvýšení aktivity a/nebo potlačení vedlejších účinků

Změna charakteru funkčních skupin – zesílení/zeslabení interakcí

Pozor! Může docházet k výrazným (i nežádoucím) změnám aktivity
(příklad: aminoalkylfenothiaziny)

Změna polohy funkčních skupin

Zlepšení biologické dostupnosti

Zmenšení polárního charakteru molekuly / zvýšení lipofility

snížení plochy polárního povrchu $< 140 \text{ \AA}^2$, léky CNS $< 60 \text{ \AA}^2$

zvětšení objemu hydrofobních skupin

Příprava profarmak

Zlepšení rozpustnosti

Zavedení polárních skupin, zvětšení polárního povrchu

Změna stupně ionizace – zavedení skupin ovlivňujících ionizaci

Bioisosterie

Zlepšení chemické a metabolické stability

Vyloučení reaktivních skupin

Metabolická blokáda

Sterická blokáda

Využití elektronických efektů substituentů

Konjugace s (bio)polymery

Překonání patentoprávních bariér (léky kategorie „me too“)

Důležité parametry

zvažované při modifikaci vodítkové látky

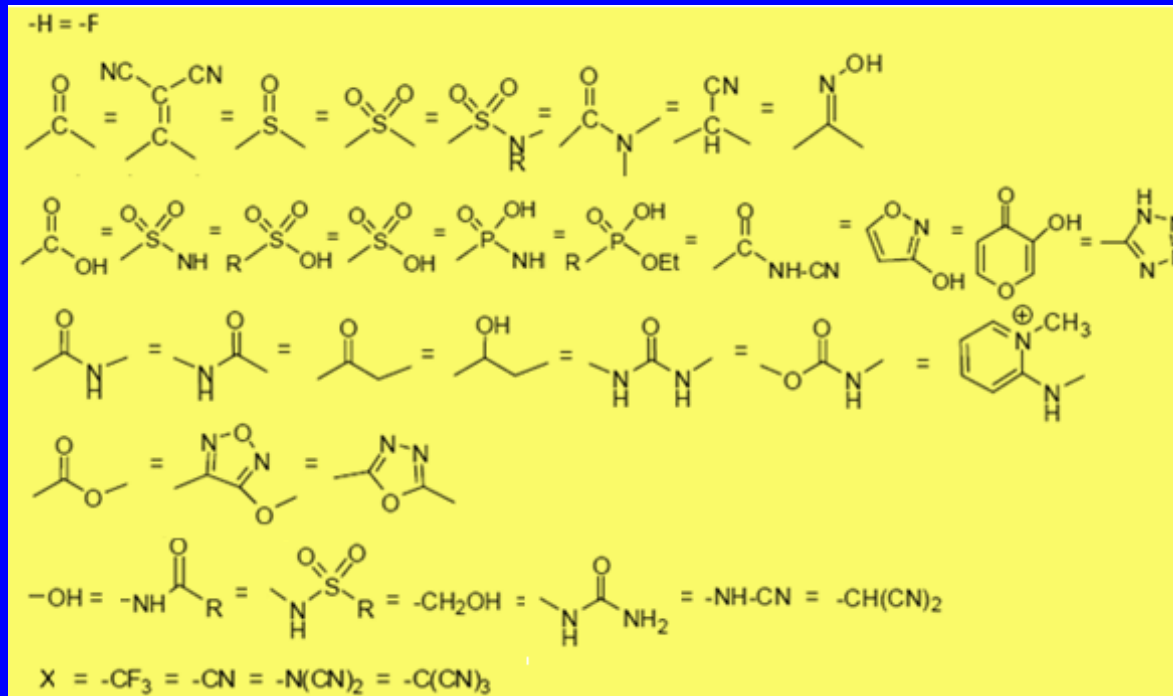
- **Místo v molekule**
farmakofor, auxofor
- **Poloha funkčních skupin**
přímé x nepřímé ovlivnění interakce
- **Typ zaváděné skupiny**
bioisosterie
- **Způsob modifikace**
zamezení vzniku rizikových nečistot (např. kancerogenních nitrosaminů)
- **Chemická stabilita**
reaktivita funkčních skupin, chránění funkčních skupin
- **Metabolická stabilita**
působení hydrolytických enzymů, účinek cytochromů
- **Patentoprávní situace**

Možnosti záměny funkčních skupin

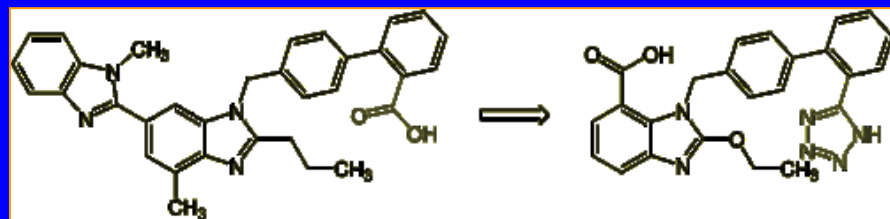
Bioisosterie

Isosterie – Langmuir: stejný počet atomů i elektronů ve vnější slupce: $\text{CO} - \text{N}_2 - \text{CN}^-$
rozšířený koncept: stejný počet elektronů, ne atomů: $-\text{Cl} - -\text{OH} - -\text{NH}_2 - -\text{CH}_3$
 isostery mívají odlišné biologické účinky!

Bioisosterie: odlišný počet atomů i elektronová struktura, ale podobné biologické účinky



Příklad: telmisartan \rightarrow kandesartan



Zlepšení fyzikálně-chemických a farmakokinetických parametrů

• Rozpustnost ve vodném prostředí

- zavedení polárních skupin do molekuly

chemické modifikace, příprava polárnějších profarmak; polární povrch 140/60 Å²

- převedení na soli „farmaceuticky akceptovatelných“ kyselin a bází

kys. citronová, mléčná, maleinová, fumarová, methansulfonová, sírová, fosforečná, HCl, HBr
trishydroxymethylaminomethan, N-methyl-gluka-min, diethanolamin, aminoethanol, Na, K, Ca, Mg,

Zn

ionizaci ovlivňuje pH prostředí - fyziologické pH obvykle 7,4, v některých tkáních jiné

- forma léčivého přípravku

• Chemická a metabolická stabilita

- potlačení hydrolýzy (chemické i enzymatické)

- potlačení oxidačních reakcí (cytochromy)

elektronické efekty, sterická zábrana, využití bioisosterie

- pegylace biopolymerů

- forma léčivého přípravku

• Zlepšení biologické dostupnosti

- zvýšení lipofilního charakteru látky

polární povrch do 140/60 Å²

chemické modifikace, lipofilní profarmaka

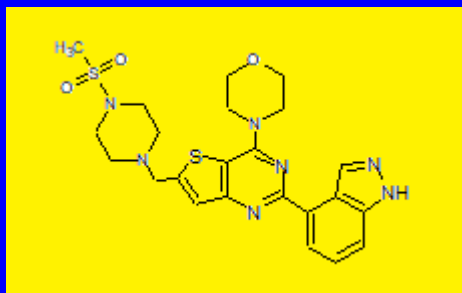
Příklad optimalizace

Inhibitor receptoru
fosfatidylinosid-3-kinasy
delta (PI3K δ)

Výsledek:

Připraveno 48 sloučenin

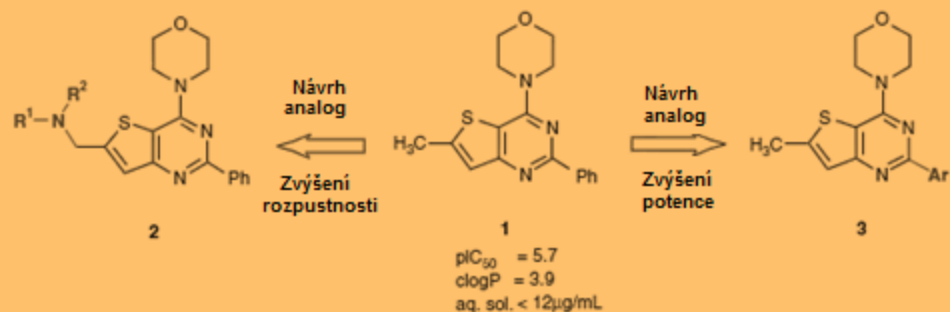
Optimalizovaný produkt:



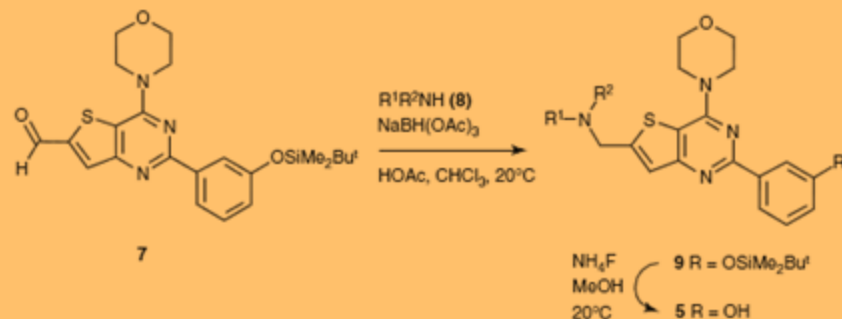
1000 x vyšší potence než 1
10 x lépe rozpustný ve vodě

M.J.Fray et al., *Drug Discovery Today*
2013, 18 (23-24): 1158-1172

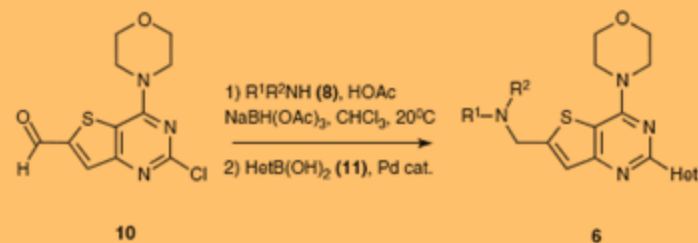
První kolo optimalizace - dva směry modifikace vodítka



Druhé kolo optimalizace - fenol + různé aminy

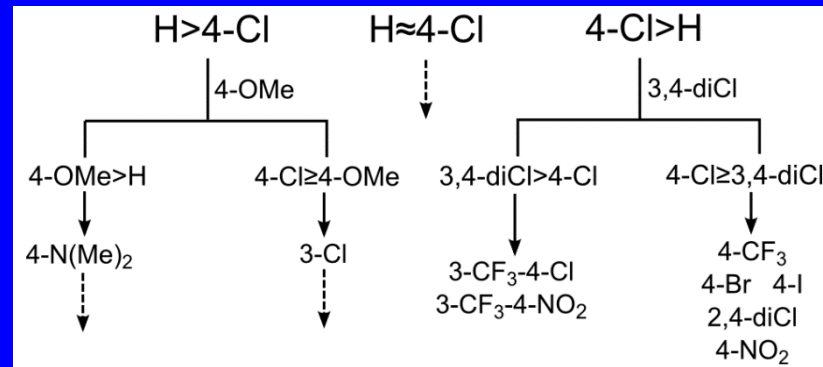


Třetí kolo optimalizace - náhrada fenolu heterocyklickými bioisostery



Racionalizace optimalizačních kroků

Toplissův rozhodovací strom



Připraví se fenylní a 4-chlorfenylderivát. Porovná se účinnost

Modifikace elektrostatických a hydrofobních interakcí: silně elektronegativní chlor odčerpává elektrony ⇒ snižuje elektronovou hustotu v poloze 1 benzenového jádra; chlorfenyl derivát je i hydrofobnější než nesubstituovaný fenylderivát.

Je-li fenylderivát účinnější, připraví se 4-methoxyfenylderivát. Porovná se účinnost

Methoxyfenylderivát je přibližně stejně hydrofobní jako chlorfenylderivát, methoxykupina je ale méně elektronegativní jako chlor.

Je-li 4-methoxyfenylderivát účinnější než fenylderivát, připraví se 4-dimethylaminofenylderivát. Když není, připraví se 3-chlorfenylderivát.

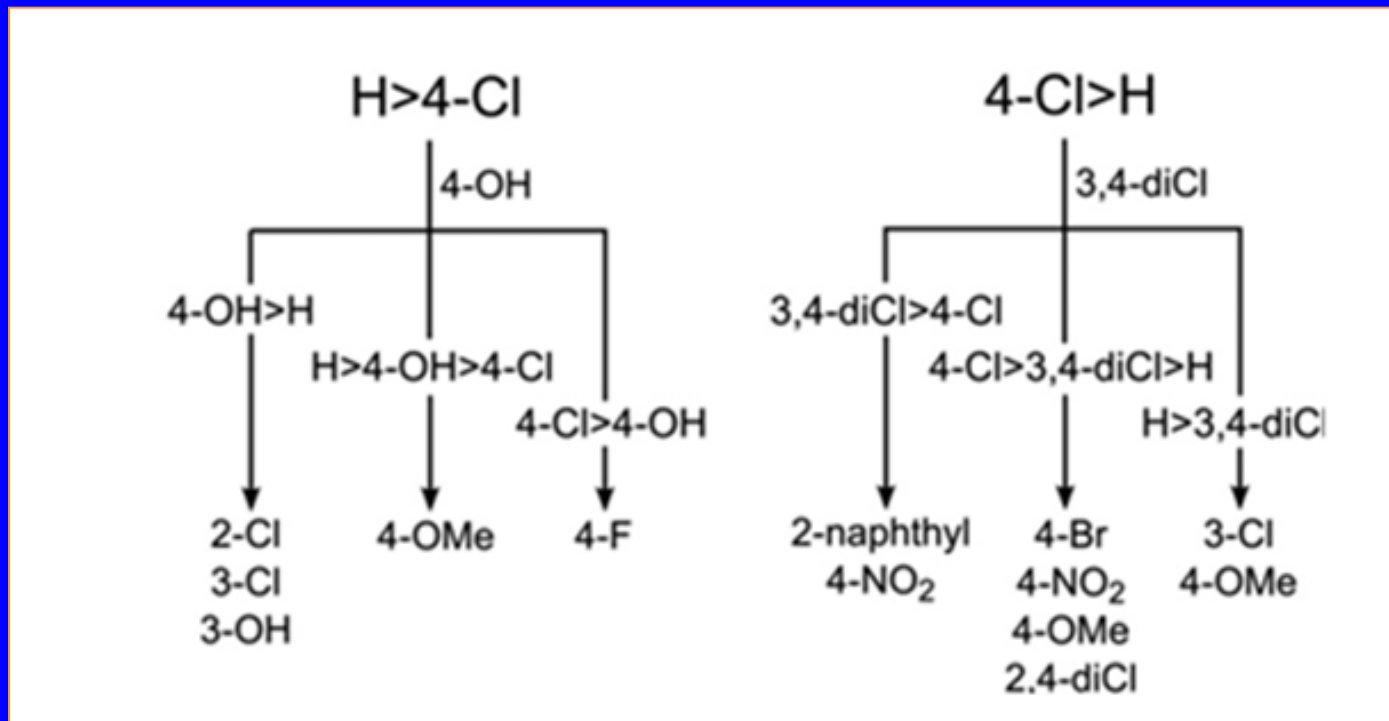
Je-li naopak 4-chlorfenylderivát účinnější než fenylderivát, připraví se 3,4-dichlorfenylderivát. Porovná se účinnost.

Je-li 3,4-dichlorfenylderivát účinnější než 4-chlorfenylderivát, připraví se 3-trifluormethyl-4-chlorfenylderivát...

Dále se zvyšuje hydrofobita a snižuje elektronová hustota v poloze 1 benzenového jádra

Korektura rozhodovacího stromu podle údajů z databáze léčiv ChEMBL

Úprava rozhodovacího stromu podle údajů z databáze léčiv ChEMBL



Profarmaka – deriváty účinných látek

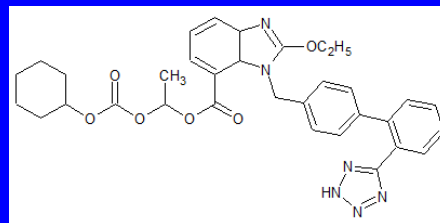
Požadavky

- vyšší biologická dostupnost nebo rozpustnost ve vodě než má účinná látka
- požadovaná stabilita během distribuce k cílové tkáni
- účinná látka se uvolňuje požadovanou rychlostí
- odštěpující se látky jsou netoxické a neaktivní

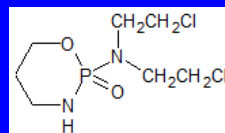
Výhodou je specifická účinnost vůči cílovým tkáním nebo buňkám a omezení účinku na ostatní tkáně a buňky

Příklady – kandesartan cilexetil

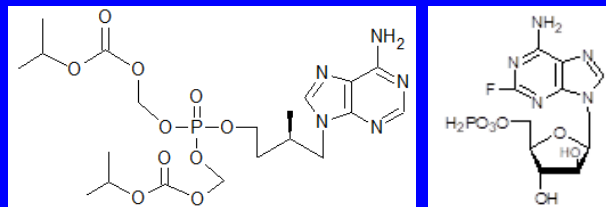
(ester kandesartanu s 1-hydroxyethyl-cyklohexyl-karbonátem)



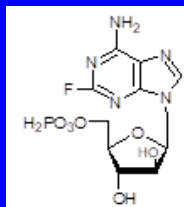
– **cyklofosfamid**



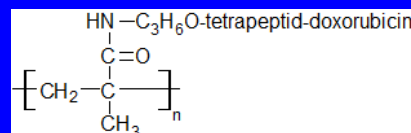
– **tenofovir disoproxil**



– **fludarabin fosfát**



– „**polymerní**“ léčiva



Modifikace funkčních skupin při přípravě profarmak

Příklady

Výchozí skupina	Modifikovaná skupina	Účinek	Výchozí skupina	Modifikovaná skupina	Účinek
-OH	-OCOAlkyl	acetylace, pivaloylace atd., zvýšení lipofility a stability vůči enzymům	-NH ₂	-NHCOAlkyl	zvýšení lipofility a stability vůči enzymům
	-OCOCH ₂ NR ₂ , estery lysinu	zvýšení rozpustnosti ve vodě, pK _a ~ 8		-NHCONH ₂ , -NHCOOR	lze snadno rozštěpit enzymy plasmy
	-OCH ₂ CH ₂ COO ⁻	zvýšení rozpustnosti ve vodě, pK _a ~ 5		Schiffovy báze	lipofilní, překonávají hematoencefalickou bariéru
	-OPO ₃ ²⁻	zvýšení rozpustnosti ve vodě, pK _a ~ 2 a 6	-SO ₂ NH ₂	-SO ₂ NH-acyl	zvýšení rozpustnosti ve vodě tvorbou sodných solí
	-OCOCH ₂ SO ₃ ⁻	zvýšení rozpustnosti ve vodě, pK _a ~ 1	-COOH	-COOR	methyl-, ethylester zvýšení lipofility
diol	diester, acetal, ketal	zvýšení lipofility	-CO-	imin, oxim, acetal (ketal), enolester, oxa- a thiazolidin	

Typy profarmak

Bioprekurzorová - cyklofosfamid

Transportní – tenofovir disopropoxil, adefovir dipivoxil

– **dvoudílná (bipartate)**

účinná látka - transportní skupina

– **trojdílná (tripartate)**

účinná látka - spojka - transportní skupina

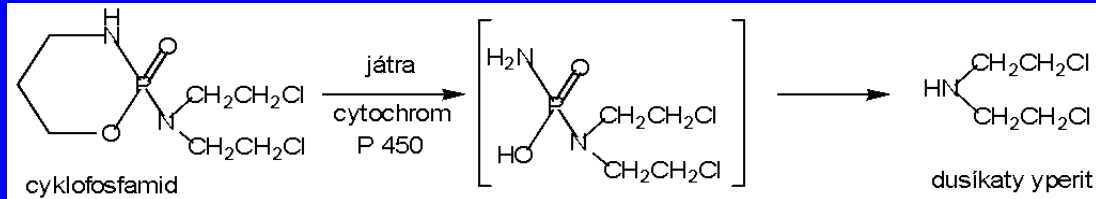
Vzájemná - konjugáty léčiv

„Polymerní“ léčiva

**Směřovaná léčiva – imunotoxiny a jiné konjugáty
léčiv s protilátkami**

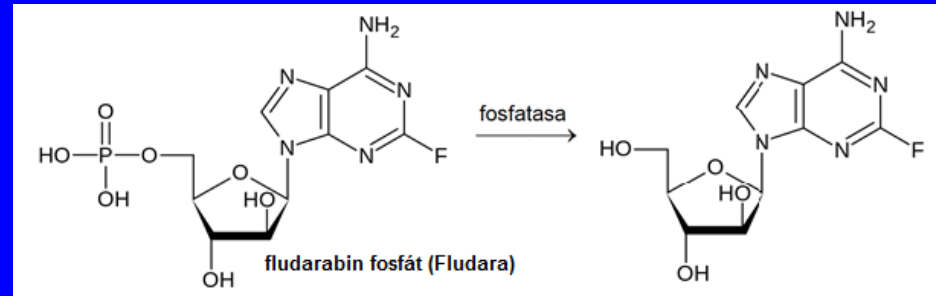
Profarmaka – typy – příklady

Bioprekurzorová – cyklofosfamid

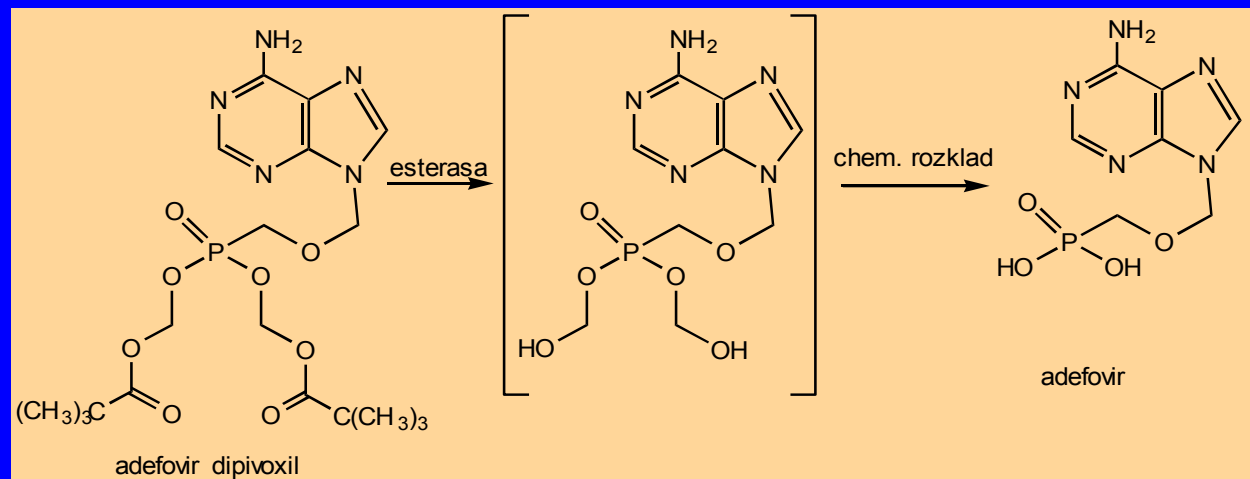


Transportní – řeší transport k cílové struktuře

dvoudílná (bipartátní)

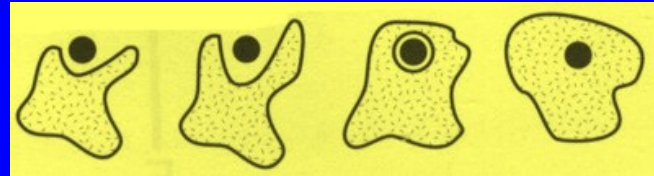


trojdílná (tripartátní)



Polymerní profarmaka (polymerní léčiva)

Vstup do buňky – endocytóza (pinocytóza)



- Příklady: PEGylované bílkoviny a polypeptidy - zvýšená stabilita, snížená imunogenita**
Léčiva navázaná na biopolymer: lidský serumalbumin (Abraxane – HSA-paklitaxel), dextran, kyselina hyaluronová, kys. polyglutamová ...
Cílená radioterapeutika = protilátka + radioizotop, imunotoxiny = protilátka + léčivo (příklady: Bexxar – tositumomab ¹³¹I, Kadcyla – trastuzumab emtansin)
Konjugáty léčiv s vodorozpustnými biokompatibilními syntetickými polymery
konjugáty poly(N-hydroxypropylmethakrylamidu) – ÚMCh, MBÚ AV ČR

Schéma klasického polymerního léčiva
(konkretizovaná struktura navržena J. Kopečkem)

