

# 3. Metody vývoje nových léčiv (1)

## Objevy prvních chemických léčiv

většinou dílem náhody – často „vedlejší produkt“ bádání v rozličných oblastech chemie.

## Medicinální chemie

vznikla s rozvojem farmaceutického průmyslu v průběhu 20. století.

Jejím cílem je vyhledávání nových biologicky aktivních látek.

Jedná se o interdisciplinární obor integrující organickou chemii, biochemii a farmakologii.

## Co dnes představuje vývoj nového léčiva?

- 10 až 15 let intenzivní práce organických chemiků, biochemiků a farmakologů
- syntézu a otestování biologické aktivity až 10 tisíc nových sloučenin
- náklady převyšující 500 milionů USD

## Důsledky:

- soustředění základního farmaceutického výzkumu zaměřeného na vývoj nových typů léčiv pouze do několika ekonomicky nejsilnějších farmaceutických firem
- snaha o maximální racionalizaci všech aktivit spojených s vývoje nového léčiva s cílem zkrátit dobu potřebnou k uvedení na trh a snížit náklady na vývoj.

### 3. Metody vývoje nových léčiv (2)

#### Metoda strukturních variací

Nejstarší racionální přístup k vyhledávání nových léčiv, spočívající v modifikaci struktury látky o známém biologickém účinku.

Předpokládá se, že za biologickou aktivitu sloučeniny bývá odpovědná pouze určitá část její struktury.

#### Postup:

Strukturní vzorec látky rozdělí na fragmenty, které se pak systematicky obměňují za jiné fragmenty nebo strukturní prvky. Cílem je zjistit, který z fragmentů původní molekuly je:

- nepostradatelný pro zachování biologické aktivity a současně je i nezaměnitelný za jiný strukturní element,
- nepostradatelný, je však zaměnitelný za strukturně obdobný prvek nebo fragment bez ztráty účinnosti,
- je postradatelný, tj. takový, který nemá podstatný vliv na biologickou aktivitu sledované substance.

Soubor nepostradatených fragmentů (nosných, esenciálních): **farmakofor**

#### ***Leading structure (lead).***

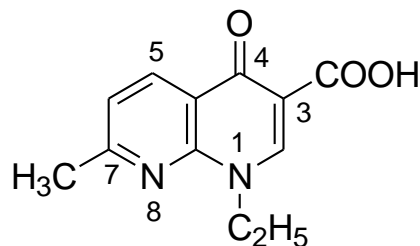
Nejvýznamnější a typický představitel určité skupiny strukturně příbuzných léčiv se stejnou indikací (obvykle první připravená nebo nejpoužívanější látka z dané skupiny léčiv).

#### ***me-too, me-better***

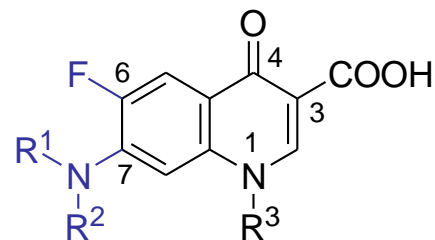
Nová léčiva se stejným farmakoforem jako ***lead***.

### 3. Metody vývoje nových léčiv (3)

Příklad farmakoforu:



kyselina nalidixová



antibakteriální chemoterapeutika 3. generace

#### Kyselina nalidixová

antibakteriální chemoterapeutikum používané zejména při léčení infekcí močových cest; objevena v 60. letech minulého století.

Nepostradatelný (esenciální) fragment:

1,4-dihydro-1,8-naftyridinový nebo 1,4-dihydrochinolinový skelet s oxoskupinou v poloze 4 a karboxylovou skupinou v poloze 3. Změny tohoto fragmentu vedou ke ztrátě antibakteriální aktivity.

Zaměnitelné fragmenty:

- Ethylová skupina v poloze 1 je sice důležitá z hlediska antibakteriální aktivity, může však být nahrazena **isosterní skupinou**.
- Atom dusíku v poloze 8 lze zaměnit za skupinu  $\text{—CH=}$  bez ztráty aktivity.

Atom fluoru vázaný v poloze 6 zvyšuje účinnost tohoto typu sloučenin, stejně tak jako přítomnost terciární aminoskupiny v poloze 7. Tyto fragmenty jsou součástí farmakoforu 3. generace antibakteriálních chinolonů.

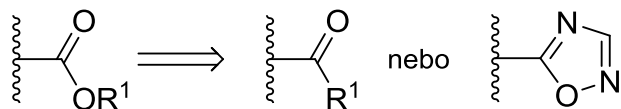
### 3. Metody vývoje nových léčiv (4)

#### Isosterní skupiny

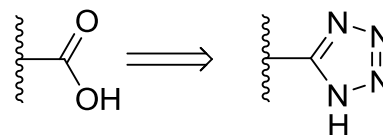
**Bioisosterie** je jednou z pracovních hypotéz využívaných v metodě strukturních variací. Vychází z předpokladu, že u strukturně podobných fragmentů s podobným rozložením hustoty elektronů lze očekávat podobný vliv na biologickou aktivitu látky.

Příklady:

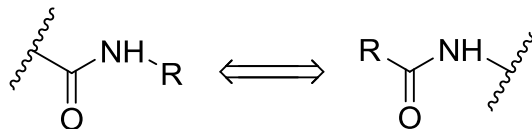
#### Bioisostery esterové funkce



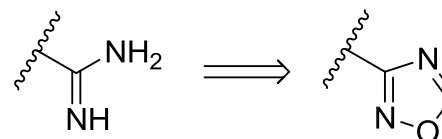
#### Bioisostery karboxylové funkce



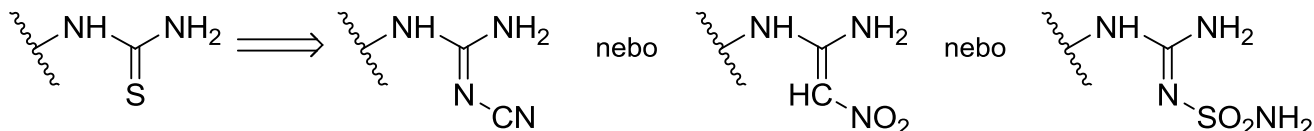
#### Bioisostery amidů



#### Bioisostery amidinů



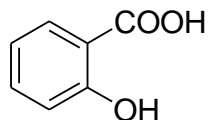
#### Bioisostery thiomocoviny



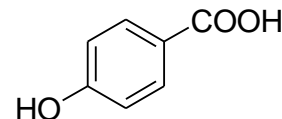
### 3. Metody vývoje nových léčiv (5)

**Vliv prostorového uspořádání funkčních skupin v molekule na biologickou aktivitu (příklady)**

#### 1. Vliv konstituce

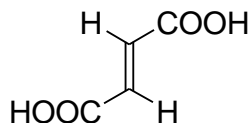


**kyselina salicylová**  
antipyretikum (jako Ac - derivát)  
protizánětlivé účinky (jako Ac -derivát)  
antiagregační účinky (jako Ac derivát)  
keratolytikum

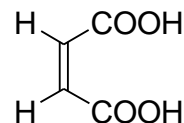


**kyselina 4-hydroxybenzoová**  
dezinficiens (estery)

#### 2. Vliv konfigurace

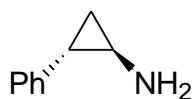


**kyselina (E)-butendiova (fumarová)**  
dezinficiens  
vehiculum pro  $\text{Fe}^{2+}$

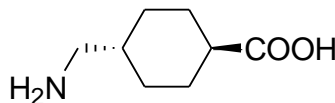


**kyselina (Z)-butendiova (maleinová)**  
iritant

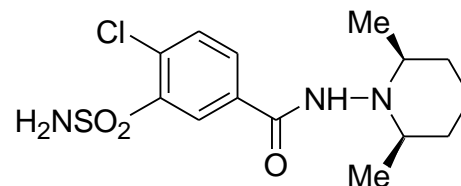
**Příklady látek, jejichž aktivita je vázána na určitou relativní konfiguraci na cyklu:**



**tranalcypromin**  
antidepresivum



**tranexamová kyselina**  
antifibrinolytikum



**klopamid**  
diuretikum

### 3. Metody vývoje nových léčiv (6)

**Vliv prostorového uspořádání funkčních skupin v molekule na biologickou aktivitu (příklady)**

#### 3. Vliv konfigurace – chiralita

Enantiomery se obvykle liší biologickou aktivitou (proč asi???)

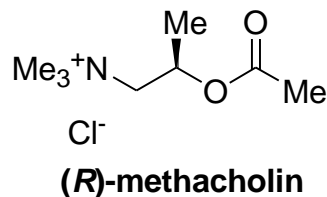
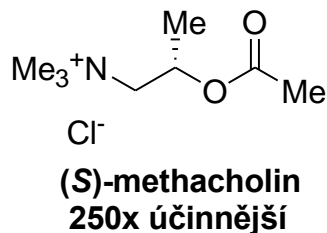
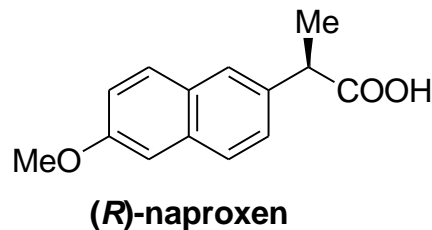
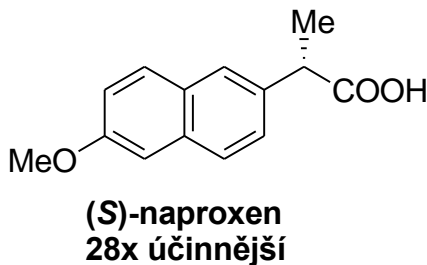
**Eutomer** - stereoisomer s vyšší biologickou aktivitou

**Distomer („isomerní balast“)** - stereoisomer s nižší biologickou aktivitou

**Eudismický poměr** – poměr biologické aktivity eutomeru a distomeru

**Příklady:**

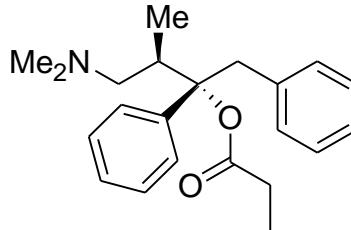
**a) rozdílná míra účinku**



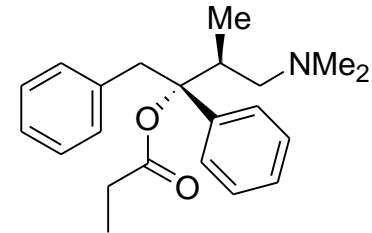
### 3. Metody vývoje nových léčiv (7)

Vliv prostorového uspořádání funkčních skupin v molekule na biologickou aktivitu (příklady)

#### 3. Vliv konfigurace – chiralita b) rozdílná kvalita účinku



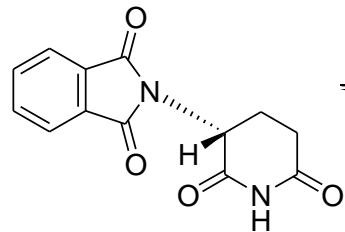
**dextropropoxyfen** (analgetikum)



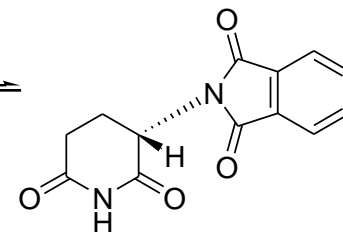
**levopropoxyfen** (antitusikum)

!!!!

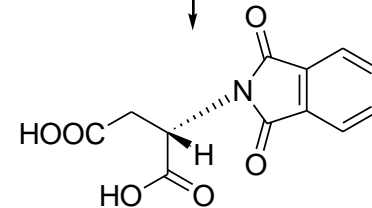
**Možnost změny konfigurace  
v důsledku enolizace**



**(R)-thalidomid** (hypnotikum)



**(S)-thalidomid**



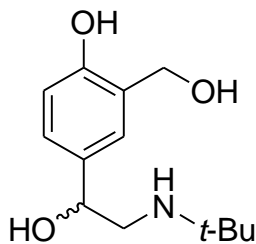
**(S)-N-ftalylasparagová kyselina** (teratogen)

### 3. Metody vývoje nových léčiv (8)

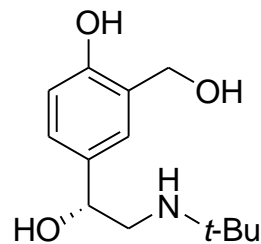
Současné trendy ve vývoji chirálních léčiv:

1. Je-li nové léčivo uváděné na trh chirální, registrační autority budou požadovat, aby byl registrován stereoisomer s lepším terapeutickým efektem.
2. U již dříve zaregistrovaných racemátů chirálních léčiv budou postupně uváděny na trh enantiomery s lepším terapeutickým efektem (tzv. *chiral switch* nebo *racemate-to-single-enantiomer-switch*).

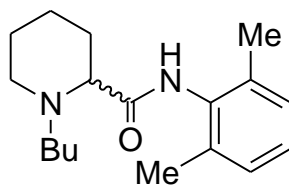
Příklady:



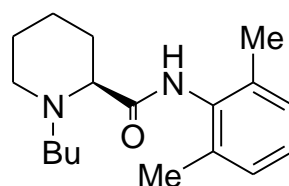
salbutamol



(R)-salbutamol  
levarbuterol



bupivakain



(S)-bupivakain



### 3. Metody vývoje nových léčiv (9)

#### Lipinského pravidlo pěti:

Podle C. A. Lipinského lze při perorálním podání očekávat přiměřenou biodostupnost pouze u látek, které splňují současně následující kritéria:

- **$\log P$  musí mít hodnotu nižší než 5,**
- **molární hmotnost musí být nižší než 500 g mol<sup>-1</sup>,**
- **látko musí mít méně než 5 donorů vodíkové vazby (např. skupiny NH, NH<sub>2</sub>, OH),**
- **látko musí mít méně než 10 akceptorů vodíkové vazby (např. atomy N, O).**

Pravidlo je pouze orientační; znamená, že látka, která nesplňuje uvedená kritéria, nebude s vysokou pravděpodobností vykazovat biologickou aktivitu. Naopak, i když nějaká látka uvedená kritéria splňuje, neznamená to automaticky, že bude biologicky aktivní.

Lipinského pravidlo tak pomáhá „vymezit mantinely“ při optimalizaci struktury nalezeného farmakoforu.

### 3. Metody vývoje nových léčiv (10)

#### Kvantitativní vztahy mezi strukturou a biologickou aktivitou (Quantitative Structure-Activity Relationships – QSAR)

##### Historie:

##### Obečná formulace vztahu mezi strukturou a biologickou aktivitou látky

$$\Phi = f(X)$$

$\Phi$	biologická aktivita
$X$	parametry struktury účinné látky

Crum Brown, Frazer T.: *Trans. Roy. Soc. Edinburgh* 25, 151 (1868-9).

##### Účinnost inhalačních anestetik

$$\log (1 / C) = 0,94 \log P_{ol} + 0,87$$

$C$	koncentrace potřebná k vyvolání požadované míry anestet. účinku
$P_{ol}$	rozdělovací koeficient anestetika v soustavě olej – voda

Overton E.: *Z. Phys. Chem.* 22, 189 (1897)

### 3. Metody vývoje nových léčiv (11)

#### Kvantitativní vztahy mezi strukturou a biologickou aktivitou (QSAR)

První použitelné QSAR zhruba od poloviny 60. let 20. stol.

##### C. Hansch

Odvodil celou řadu modelů popisujících vztah struktury a biologické aktivity platné pro **série strukturně podobných látek**.

##### Výchozí předpoklady (zjednodušeně):

- biologická aktivita látky závisí na jejím transportu k místu účinku (*site of action*) a na schopnosti látky vázat se k tomuto místu
- transport látky k místu účinku závisí na její lipofilitě (→ vlivy farmakokinetické)
- schopnost látky vázat se k místu účinku ovlivňují především elektronové a sterické vlastnosti

##### Typický příklad:

$$\log (1 / C) = k_1 \pi + k_2 \pi^2 + k_3 \sigma + k_4 E_S + k_5$$

$\sigma$  Hammettova substituentová konstanta (v případě studia vlivu substituce jádra u aromatických sloučenin)

$\pi$  substituentový parametr lipofility;  $\pi_X = \frac{\log (P_X / P_H)}{P_X}$  rozdělovací koeficient látky se subst. X v soust. 1-oktanol - voda  
 $P_H$  rozdělovací koeficient nesubst. látky v soust. 1-oktanol – voda

$E_S$  sterická konstanta

### 3. Metody vývoje nových léčiv (12)

#### Kvantitativní vztahy mezi strukturou a biologickou aktivitou (QSAR)

##### Jak to funguje?

1. V sérii strukturně příbuzných látek se pro všechny z nich stanoví biologická aktivita.
2. Do matematického modelu se dosadí příslušné známé hodnoty charakteristik jednotlivých členů série ( $\sigma$ ,  $\pi$ ,  $E_s$ ).
3. Proveďte se regresní analýza; jejím výsledkem jsou konstanty  $k_1$  až  $k_5$  modelu.
4. U takto získané regresní rovnice (matematického modelu vztahu mezi strukturou a biologickou aktivitou) lze hledat extrémy, tj. optimální hodnoty proměnných ( $\sigma$ ,  $\pi$ ,  $E_s$ ) pro nové (účinnější) biologicky aktivní látky.  
Pravděpodobnost, že u nově navržených látek bude jejich skutečná biologická aktivita odpovídat predikované, závisí na kvalitě modelu.

Modely lze různě modifikovat, např.

- použitím Taftových konstant pro popis strukturních obměn v alifatické části molekuly
- použití tzv. indikátorové proměnné  $I$  (logická proměnná vyznačující přítomnost či absenci) nějakého strukturního fenoménu v molekule ( $I = 1$ , fenomén existuje,  $I = 0$ , fenomén neexistuje)

### 3. Metody vývoje nových léčiv (13)

#### Kvantitativní vztahy mezi strukturou a biologickou aktivitou (QSAR)

**S. M. Free a J. W. Wilson**

Předpokládali, že biologickou aktivitu jakékoliv látky odvozené substitucí od základní matečné struktury lze vypočítat zahrnutím příspěvků biologické aktivity jednotlivých substituentů. Tyto substituentové příspěvky považovali za konstantní a aditivní.

$$\log (1 / C) = \sum a_j X_{ij} + \mu$$

$a_j$       příspěvek strukturního fragmentu  $X$  vázaného v poloze  $j$  v molekule  $i$

$\mu$       konstanta charakterizující základní strukturu; bývá to průměrná biologická aktivita ve studovaném souboru látek.

$X_{ij}$       indikátorová proměnná; její hodnota (1 resp. 0) značí přítomnost resp. absenci tohoto strukturního fragmentu.

**!!!!**

Ani jednou z uvedených metod (Hansch, Free a Wilson) **NELZE** navrhnout **nový farmakofor**. Uvedené metody slouží pouze k nalezení vztahů mezi strukturou a biologickou aktivitou v sérii příbuzných látek.

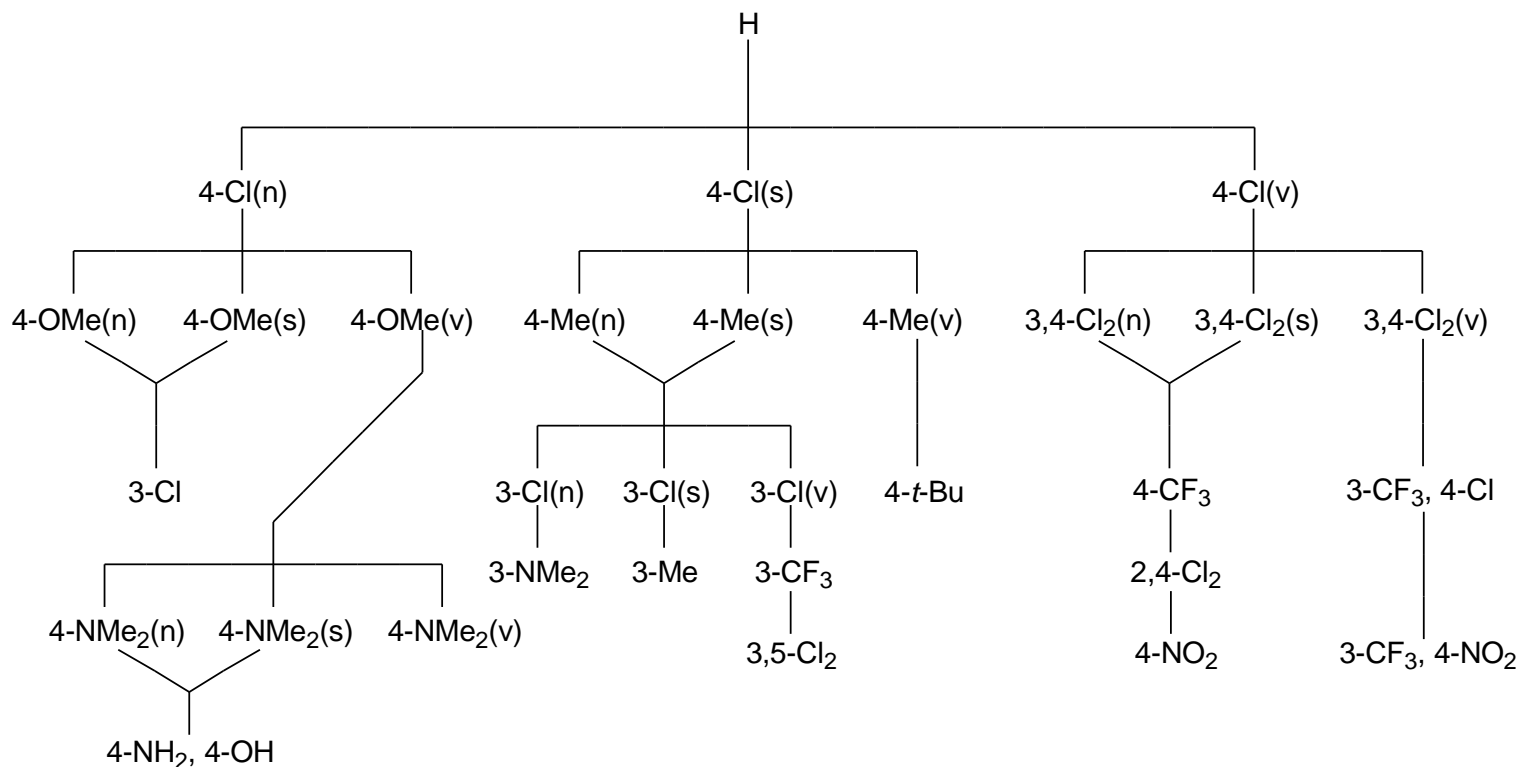
I to je však cenné – lze racionalizovat vyhledávání nejúčinnějších látek daného strukturního typu.

# 3. Metody vývoje nových léčiv (14)

## Toplissovo operační schéma (Toplissův strom)

- Algoritmizovaná rozhodovací pravidla odvozená na základě Hanschových předpokladů.
- Nevyžadují vytvoření matematického modelu vztahu mezi strukturou a biologickou aktivitou.
- Při jejich aplikaci lze rychle nalézt nejúčinnější derivát v sérii strukturně podobných látek.

### Příklad (pro derivatizaci aromatického jádra):



(v) znamená vyšší, (s) stejnou a (n) nižší biologickou účinnost ve srovnání s původní látkou

### 3. Metody vývoje nových léčiv (15)

#### „Klasické“ QSAR metody (Hansch, Free a Wilson)

Vliv sterických, hydrofobních a elektrostatických interakcí mezi látkou a receptorem na biologickou odezvu formou „černé skříňky“.

Nemohou tedy postihnout vliv vzájemného prostorového uspořádání těch fragmentů látky, které jsou odpovědné za uvedené typy interakcí.

**CADD**      **Computer-Assisted Drug Design**

**CAMD**      **Computer-Assisted Molecular Design** (synonymum)

- Počátky těchto metod zhruba v 80. letech 20. století (rozvoj výpočetní techniky).
- Metody CADD (CAMD) dovolují studovat interakce (prostorové) mezi receptorem a potenciálním léčivem

Princip: **komplementarita struktur receptoru a aktivní látky**

# 3. Metody vývoje nových léčiv (16)

## CADD - CAMD

### Molecular docking

Je-li známá struktura receptoru (nebývá pravidlem), lze pomocí vhodných výpočetních programů zjistit, zda a jak je navržená látka schopná vázat se k danému receptoru (docking).

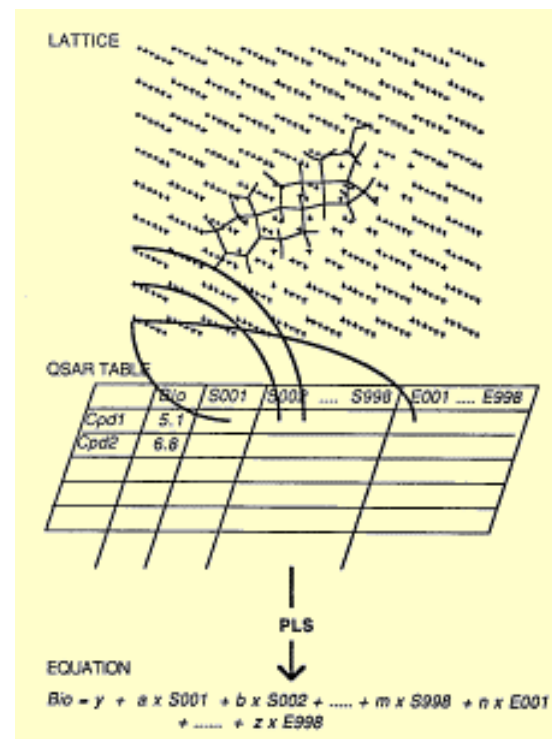
### Vícedimenzionální QSAR

Není-li známá struktura receptoru (ve většině případů), hledá se korelace mezi biologickou aktivitou látek a jejich prostorovými charakteristikami - **vícedimenzionální QSAR metody**.

### 3D QSAR

#### Comparative molecular field analysis (CoMFA)

- Charakterizaci 3D vlastností sloučenin:
  - silová pole** (*force fields*) popisující silové interakce molekuly s okolím:
  - prostorová pole (*structure fields*)
  - elektrostatická pole (*electrostatic fields*)
  - pole popisující hydrofobní interakce (*hydrophobic fields*).
- Molekula se umístí do 3D sítě (3D-grid).
- Pomocí referenčního atomu (probe) se studují hodnoty polí interakce v jednotlivých bodech sítě.
- Proveďte se korelační analýza.





# 3. Metody vývoje nových léčiv (17)

## 3D QSAR

### Comparative Molecular Similarity Index Analysis (CoMSIA)

Na rozdíl od **CoMFA** používá k modelování interakcí molekuly s okolím gaussianovské aproximace.

Umožňuje zahrnout do modelu H – vazby.

Stejně jako **CoMFA** pracuje s „rigidní molekulou v rigidním receptoru“.

## 4D QSAR

Umožňuje zahrnout do výpočtu jak konformační flexibilitu molekuly, tak její volnou orientaci v 3D systému („čtvrtý rozměr“).

## 5D QSAR a 6D-QSAR

**5D QSAR** uvažuje navíc flexibilitu receptoru a **6D QSAR** přidává solvataci.

!!!!

- K reálnému prostoru se pochopitelně vztahují pouze tři rozměry (3D). Každý další „rozměr“ znamená jen další sérii stupňů volnosti při řešení vzájemných interakcí ligandu (potenciální biologicky aktivní látky) s receptorem.
- I ve vícerozměrných QSAR metodách se pracuje se soubory strukturně příbuzných sloučenin. Nelze tedy s jejich pomocí navrhnout nový farmakofoor.

### 3. Metody vývoje nových léčiv (18)

**!!!!!! Pozor !!!!!**

**Uvedené metody předpokládají mnohá zjednodušení, např.:**

- za biologickou aktivitu je odpovědné podávané léčivo, nikoliv jeho metabolit,
- bioaktivní je optimalizovaná konformace,
- biologická aktivita závisí především na enthalpii interakce; entropický člen v  $\Delta G$  je stejný pro všechny sloučeniny zahrnuté do analýzy,
- kinetické (farmakokinetické) aspekty nejsou uvažovány.

### 3. Metody vývoje nových léčiv (19)

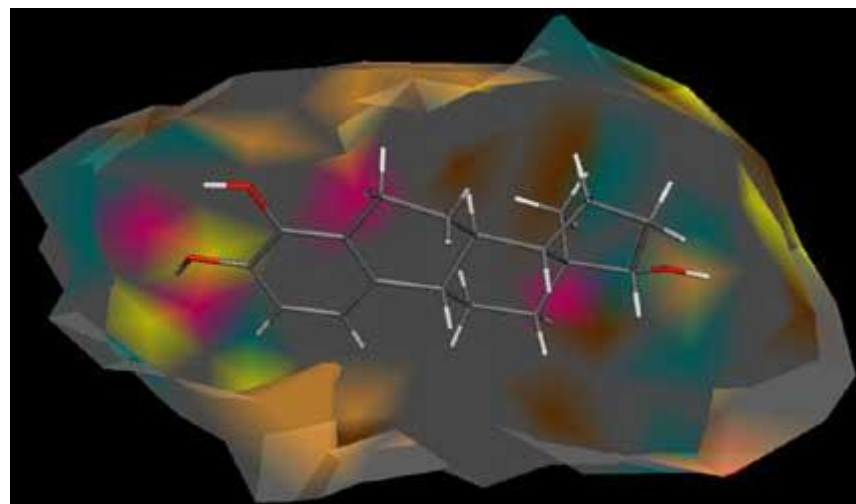
#### Postup při vytváření vícedimenzionálního QSAR modelu:

- vybere se série látek interagujících požadovaným způsobem se studovaným receptorem, (*training set*),
- metodami MM se pro každý ligand z této série zjistí jeho „prostorové nároky“ (*conformational space*),
- zpracování metodami statistické analýzy dat; výsledek:  
**kvaziatomický model receptoru** (*quasi-atomic receptor surrogate*) popisující vazebná místa (*receptor binding pocket*),  
**matematický model** popisující vztah mezi strukturou a biologickou aktivitou v dané sérii látek
- validace modelu pomocí testovacího souboru sloučenin (*test set*); v tomto souboru jsou pochopitelně látky, které nebyly použity pro vytvoření modelu.

#### Příklad výsledku:

Model receptoru pro 4-hydroxyestradiol  
vytvořený pomocí 6D QSAR

(Biopharmaceutical Laboratory 3R, Basel,  
Switzerland)



### 3. Metody vývoje nových léčiv (20)

#### Chemické knihovny

Velké soubory nových sloučenin, mezi nimiž lze hledat nové potenciální biologicky aktivní látky.

#### Jak urychlit syntézy?

a) Metoda „čajového sáčku“ (*tea-bag method*)

b) Kombinatoriální chemie

Využívají se techniky umožňující jednou syntetickou operací syntetizovat najednou větší množství sloučenin; obvykle se přitom pracuje s látkami zakotvenými na vhodném pevném nosiči.

Biologická aktivita připravených sloučenin (směsí) zakotvených na nosiči (chemické knihovny) se testuje hromadně (*high-throughput screening*).

#### Příklad:

Metoda **mix and split** aplikovaná na syntézu knihovny 400 dipeptidů z 20 přírodních aminokyselin.

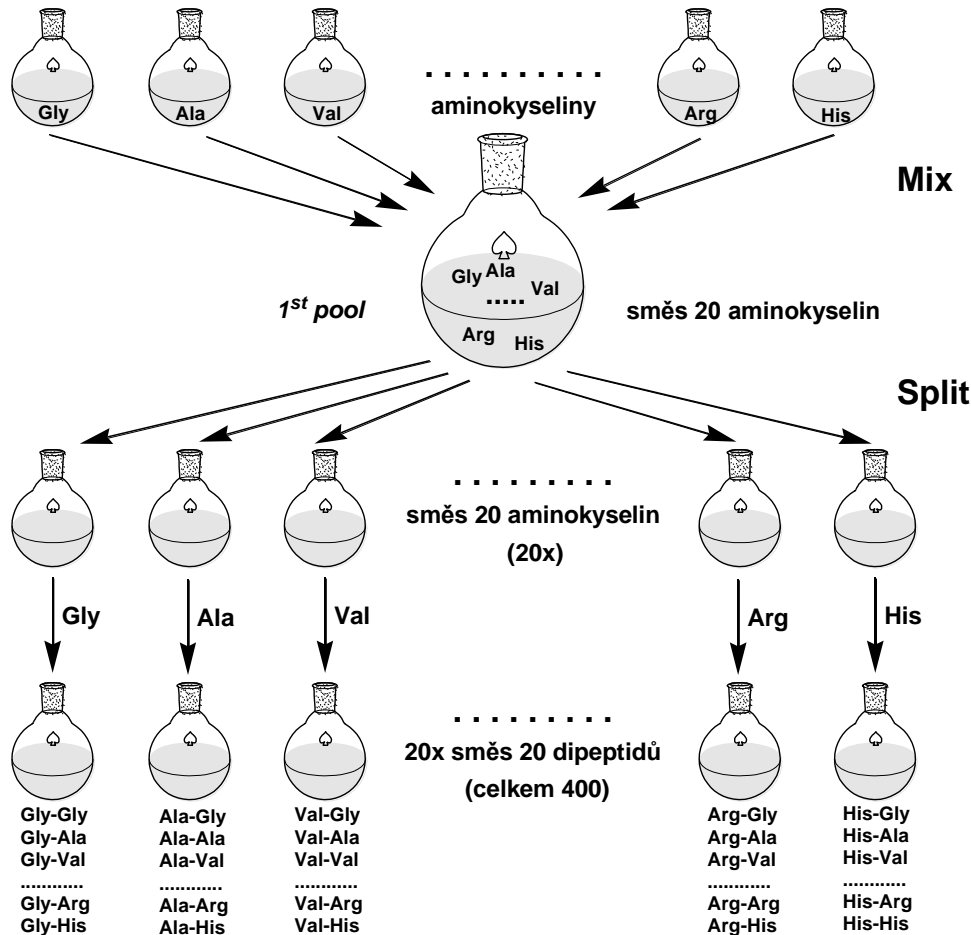
Provedení:

Merrifieldovou technikou syntézy na pevné fázi.

# 3. Metody vývoje nových léčiv (21)

## Kombinatoriální chemie

syntéza knihovny 400 dipeptidů metodou **mix and split**



20 *N*-chráněných AK zakotvených na nosiči

Smíchání v ekvimolárním poměru (**mix**) vznikne tzv. **1st pool**

Rozdělení do 20 baněk (**split**); každá obsahuje ekvimolární směs 20 AK na pevném nosiči

Obsah každé baňky se zkondenzuje obvyklým způsobem s **jednou** AK (deproteckce, kondenzace, deproteckce).

Každá baňka nyní obsahuje 20 dipeptidů.

**20-násobným provedením syntézy bylo získáno celkem 400 sloučenin.**

Tyto látky lze podrobit hromadnému screeningu.

### 3. Metody vývoje nových léčiv (22)

Jak dnes může vzniknout zcela nové léčivo?

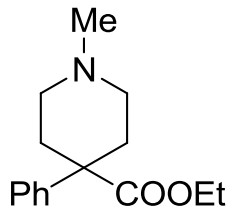
#### 1. Identifikace cíle (*target identification*)

- Formuluje se cíl výzkumu - např. látka bránící transportu cholesterolu přes střevní stěnu inhibicí příslušného transportního proteinu (CEPT-inhibitor).
- Syntéza chemických knihoven + *high throughput screening* → **hity**

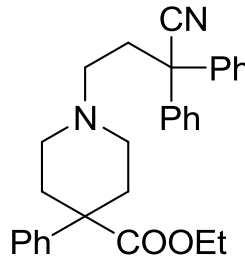
#### 2. *Hit-to-lead chemistry*

S využitím QSAR (klasické i vícedimenzionální) a metody strukturních variací se „opracovává“ struktura hitů tak, aby se získaly látky nejen s požadovanými farmakodynamickými vlastnostmi (např. CEPT –inhibitor), ale i s vhodnými farmakokinetickými vlastnostmi. Takto se získají potenciální léčiva (***drug candidates***).

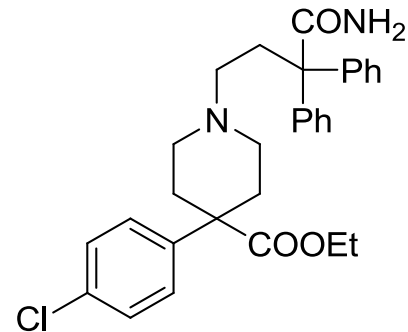
Kromě uvedeného sofistikovaného přístupu se však uplatňují i přístupy mnohem jednodušší, např. **SOSA** (Selective Optimization of Side Effects)



**pethidin**  
opioidní analgetikum



**difenoxylat**  
antidiarrhoikum



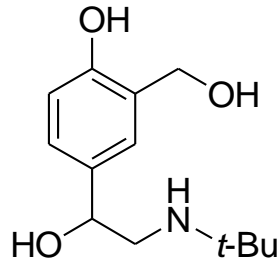
**loperamid (IMMODIUM)**  
antidiarrhoikum

### 3. Metody vývoje nových léčiv (23)

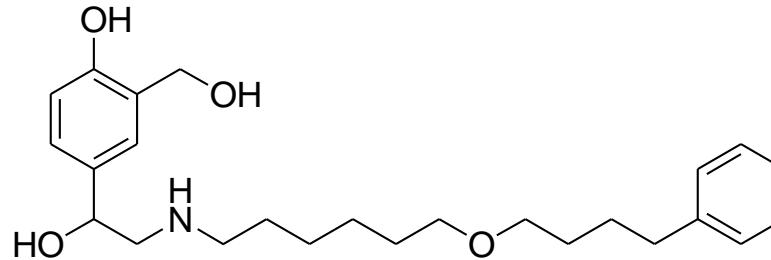
#### Modifikace farmakokinetických vlastností léčiv

##### a) Modifikace lipofility léčiv

např.:



**salbutamol**



**salmeterol**

Obě látky ( $\beta_2$ -adrenergika) mají stejný farmakofoor a uvolňují hladké svalstvo ovládající dýchací cesty.

**Salbutamol** účinkuje okamžitě po podání (např. při akutních astmatických záchvatech)

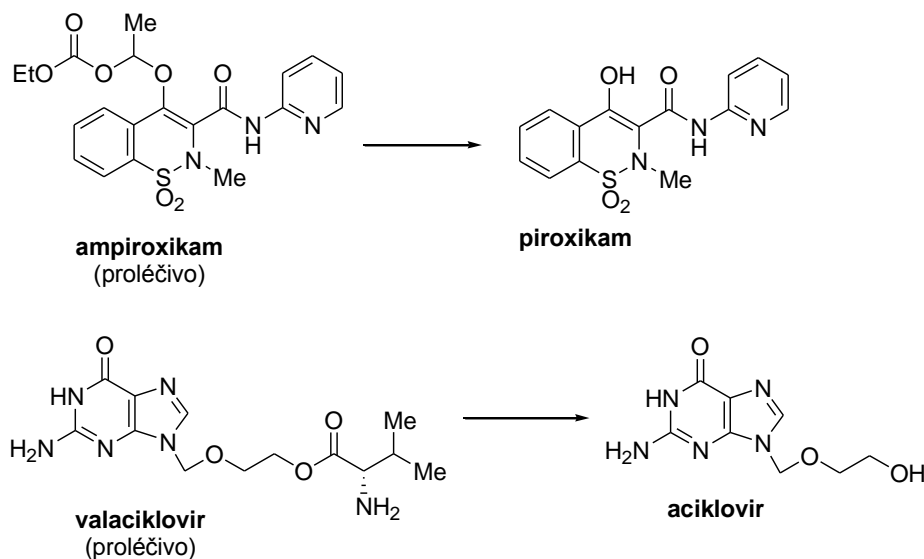
**Salmeterol** (depot v lipofilních tkáních) se používá jako prevence proti tzv. perzistentnímu nočnímu astmatu.

### 3. Metody vývoje nových léčiv (24)

#### Modifikace farmakokinetických vlastností léčiv

##### b) Proléčiva

Proléčivo vzniká nejčastěji navázáním původní účinné látky na vhodný transportní nosič, např.:





### 3. Metody vývoje nových léčiv (25)

#### Modifikace farmakokinetických vlastností léčiv

**c) Kovalentní navázání léčiv na polymery rozpustné ve vodě**

výhodné např. u cytostatik; využití efektu **EPR** (Enhanced Permeation and Retention) v nádorové tkáni.

**d) Cílený transport léčiv**

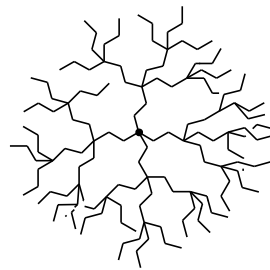
Využití interakcí antigen – protilátka.

Výhody: potlačení možnosti systémové intoxikace (významné zejména u cytostatik).  
Zatím pouze ve stádiu výzkumu.

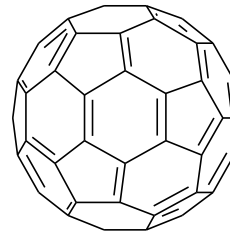
**e) Supramolekulární systémy a nanosystémy**

Transport léčiv pomocí **liposomů** a **vesiklů**.

Využití **dendrimerů** a **fullerenů** Využití **dendrimerů** a **fullerenů** (zatím pouze ve stadiu výzkumu).



dendrimer



fulleren