

УДК 616 – 003. 725: 004. 43

## МЕТОДОЛОГИЯ ПОИСКА НОВЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКИХ ВЕЩЕСТВ С РЕЦЕПТОРНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Казанчева О.Д., Герасименко А.С.

*Пятигорский медико-фармацевтический институт – филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Пятигорск, e-mail: v.l.adzhienko@pmedpharm.ru*

В данной статье были рассмотрены современные методики поиска новых биологически активных веществ с рецепторной активностью. В настоящее время с развитием прогрессивных технологий все чаще предпочтение отдается компьютерному моделированию лекарственных средств. При помощи прямого и непрямого моделирования можно выявить структуру химических соединений, обладающих сродством к рецепторам определенного типа. В процессе создания лекарственных средств выделяют две основные стадии – доклинические и клинические исследования. Для оптимизации этого процесса ученые пользуются достижениями в области геномики, протеомики, хемоинформатики, фармакологии и других наук. Стадия доклинических испытаний включает в себя следующие этапы: выбор мишени, поиск соединения-лидера, оптимизацию соединения-лидера и доклиническую оценку фармакологических свойств. В статье описаны методики, применяемые для решения необходимых задач, стоящих перед исследователями на каждом этапе.

**Ключевые слова:** компьютерное моделирование, мишень, соединение-лидер

## SEARCH METHODOLOGY OF THE NEW BIOLOGICALLY ACTIVE PHARMACEUTICAL SUBSTANCES WITH RECEPTOR ACTIVITY

Kazancheva O.D., Gerasimenko A.S.

*Pyatigorsk Medical and Pharmaceutical Institute of Volgograd Medical State University of Ministry of Health Care of Russia, Pyatigorsk, e-mail: v.l.adzhienko@pmedpharm.ru*

In this article were considered modern search methods of the new biologically active substances with receptor activity. Nowadays the preferred method is a computer modeling of the medicinal preparations. Using direct and indirect modeling we can identify the structure of the chemical compounds, which may interact with different types of receptors. Drug discovery process includes two important stages – preclinical and clinical research. Scientists use the achievements of genomics, proteomics, chemoinformatics, pharmacology to optimize this process. Preclinical research consists of four stages: target selection, leader-substance search, leader-substance optimization and the assessment of the pharmacological properties. Methods, which may be used in solving of the necessary problems, were described in this article.

**Keywords:** computer modeling, target, leader-substance

Методология поиска новых биологически активных фармакологических веществ с рецепторной активностью

Проблема изыскания новых высокоэффективных фармакологических веществ по сей день не теряет своей актуальности. Причиной этому служит низкая эффективность или отсутствие таковой у широко известных лекарственных препаратов, применяемых для профилактики и терапии ряда патологических состояний, а также наличие побочных реакций, вызывающих дискомфортные ощущения у пациентов в период лечения.

Процесс создания лекарств требует колоссальных затрат времени и средств, не говоря о его трудоемкости. Крупные фармацевтические предприятия вкладывают миллионы, а иногда и миллиарды, долларов в исследование по разработке инновационного лекарственного препарата. В среднем, от идеи создания до внедрения препарата

на рынок проходит от 5 до 15 лет. Конечный продукт является результатом объединения знаний в области медицины, химии, биологии и других наук, а также организации и создания всех условий для проведения необходимых экспериментальных исследований [1].

Согласно данным Всемирной организации здравоохранения, за последние пятьдесят лет средняя продолжительность жизни людей возросла. Не последнюю роль в этом сыграли достижения в области медицины и фармакологии. Причиной столь стремительного прогресса явилась интеграция новых технологий, в частности компьютерных, в научные исследования и разработку лекарственных препаратов, отвечающих современным фармакотерапевтическим стандартам и высоким требованиям к эффективности и безопасности [2, 5].

История фармакологии очень продолжительна и обширна. Древние люди, впер-

вые столкнувшись с различными недугами, были вынуждены искать в окружающей среде вещества, способные в той или иной степени облегчить их состояние. Наиболее доступными оказались растительные объекты. Вещества природного происхождения не утратили свою необходимость и в настоящее время. На смену эмпирической терапии пришли синтетические препараты, что связано, в первую очередь, с бурным скачком в развитии химии во второй половине XIX в. Дальнейшее движение по пути развития привело ученых к открытию рецепторов и установлению их структуры. Данный факт является ключевым для рационального построения лекарственных средств, мощным способствующим фактором к которому послужило открытие учеными трехмерных структур белков-рецепторов и их комплексов с некоторыми лигандами.

Компьютерные технологии играют ведущую роль в конструировании лекарств, так как с их помощью можно ускорить процесс исследования, минимизировать ошибки и повысить результативность. Также активно используются достижения в области геномики и молекулярной биологии [4].

Целью настоящей статьи является обобщение и систематизация современных подходов к созданию новых лекарственных средств.

#### **Компьютерное моделирование как метод конструирования лекарственных средств**

Выбор типа моделирования зависит от имеющихся у исследователей сведений о пространственной структуре лиганда и рецептора-мишени.

Существует два основных типа моделирования: прямое и непрямое.

Прямое моделирование позволяет оценить степень сродства рецептора и лиганда. Комплементарность определенных структур активному центру рецептора можно оценить при помощи процедуры докинга. В этом случае на помощь ученым приходят специализированные базы данных, содержащие сведения об известных соединениях [3, 6].

Возможно также создание при помощи компьютерных программ гипотетической структуры молекул, которые в теории могут обладать высоким сродством к рецепторам того или иного типа. Это так называемые методы *de novo*. Их сущность заключается в подборе небольших фрагментов молекул с повышенной энергией связывания и минимальной энергией отталкивания в отношении активного центра рецептора. Путем постепенного присоединения фрагментов

конструируется цельная молекула. Данный метод, несомненно, дает положительные результаты, однако, надежность оценки сродства не всегда высока.

Непрямое моделирование заключается в построении зависимостей «структура-активность» (QSAR) и фармакофорном моделировании. Фармакофорный анализ оценивает лиганд-рецепторное взаимодействие с позиции влияния на него функциональных групп молекул. Именно они отвечают за взаимосвязь структуры и активности.

Метод QSAR (Quantitative Structure – Activity Relationship) довольно успешно применяется уже на протяжении нескольких десятилетий. Он позволяет предсказать различные свойства соединений, исходя из их химической структуры. Для построения моделей в данном методе широко применяется математическая статистика [7].

#### **Оптимизация процесса создания лекарственных средств**

В процессе разработки лекарственных средств выделяют две основные стадии – доклинические и клинические исследования. Как важнейшая составляющая, стадия доклинических испытаний включает в себя следующие этапы:

- выявление мишени для лекарственного средства;
- поиск соединения-лидера;
- оптимизацию соединения лидера;
- доклиническую оценку фармакологических свойств.

**Выбор мишени** осуществляется на основании имеющихся данных о конкретном заболевании. В настоящее время преимущество отдается геномике и протеомике, позволяющим точно выявить мишени в организме, отвечающие за патологический процесс. Множество фармацевтических компаний уже пользуются достижениями геномики. Помимо секвенирования генома, ведущего к открытию новых мишеней, используется позиционное клонирование и другие современные методики. Следует отметить, что при наличии достаточного количества процедур по выявлению мишеней, выбор действительно верных из них, становится все сложнее. Для этого производят процедуру валидации (target validation) [8, 9].

Нельзя также не отметить перспективы применения хемоинформатики. Эта область науки, находящаяся на пересечении химии и информатики, позволяет прогнозировать физико-химические свойства соединений, токсическую и биологическую активность и разрабатывать новые лекарственные препараты [10].

**Соединением-лидером** считается вещество, обладающее родством к определенному рецептору и проявляющее фармакологическую активность. Для поиска таких соединений используются обширные базы данных, содержащие информацию о зависимости фармакологического эффекта от особенностей химической и пространственной структуры исследуемых субстанций. Наиболее часто используемыми и эффективными считаются электронные библиотеки на основе *de novo* дизайна.

Все базовые соединения подвергаются тестированию на наличие определенного типа активности. Данный процесс достаточно длительный и трудоемкий. Эффективность тотального скрининга невелика, несмотря на его возможность анализировать большое количество соединений с высокой надежностью. В настоящее время ученые все чаще обращаются к инновационным методикам, среди которых следует особо выделить скрининг на основе ЯМР, фармакофорный анализ и виртуальный скрининг [11].

Магниторезонансные методики, являясь высокочувствительными, дают возможность анализировать сложные смеси веществ и получать данные о связи лигандов с рецепторами даже при отсутствии начальной информации [12].

Развитие компьютерных технологий позволяет более эффективно вести поиск соединений-лидеров в специализированных базах данных. Это во многом связано с сочетанием фармакофорного анализа и методов QSAR, позволяющих выявить требования, которым должны соответствовать искомые соединения [13].

Виртуальный скрининг как метод поиска соединений-лидеров объединяет в себе различные компьютерные технологии. Он особенно информативен в тех случаях, когда имеются сведения о химической структуре веществ в различных вариациях [14].

Таким образом, в арсенале ученых-исследователей имеется достаточное количество методов, охватывающих широкий круг проблем – от создания и совершенствования баз данных до анализа молекулярного подобия и построения моделей QSAR. Для анализа молекулярного подобия используются трехмерные дескрипторы молекулярной структуры. Актуальной на сегодняшний день является проблема поиска дескрипторов и обозначение границ их применимости.

После нахождения соединения-лидера проводится его **оптимизация** с целью усиления активности и избирательности действия, а также минимизации нежелатель-

ных побочных эффектов. Компьютерное моделирование помогает исключить заведомо бесперспективные соединения, что существенно ускоряет процесс оптимизации.

Важную роль в выборе метода оптимизации играет наличие сведений о пространственной структуре рецептора. Наличие такого типа информации дает возможность использования дизайна *de novo*. Дизайн лигандов, корректировка структуры комплекса вещество-рецептор приводят в дальнейшем к получению новых соединений-лидеров с заданными свойствами. Такие методики широко используются для создания лекарственных средств различных фармакологических групп, в том числе и препаратов терапии ВИЧ-инфекции [15].

При отсутствии сведений о пространственной структуре рецептора применяют метод QSAR, позволяющий установить зависимость между дескрипторами ряда близких по строению биологически активных соединений и их фармакологической активностью. Построение такого рода зависимостей помогает выявить и проанализировать факторы, обуславливающие возникновение того или иного эффекта в организме и дает возможность прогнозирования свойств новых соединений на основе общности химической структуры [16].

Помимо QSAR исследователи активно используют метод CoMFA (Comparative Molecular Field Analysis), позволяющий подобрать лиганд с определенным расположением радикалов, а также доноров или акцепторов водородной связи. Позже возникли такие методы как: CoMMA (Comparative Molecular Moment Analysis); WHIM (Weighted Holistic Invariant Molecular descriptors) [17].

Развитие компьютерных технологий, несомненно, внесло колоссальный вклад в создание инновационных лекарственных препаратов, однако, компьютерное моделирование не всегда гарантирует создание лекарственного средства.

Необходимо проведение **доклинической оценки фармакологических свойств**.

Наличие у вещества рецепторной активности далеко не во всех случаях приводит к его дальнейшему использованию в качестве лекарственного средства. Многие из веществ-кандидатов, успешно прошедших доклинические исследования, отсеиваются на этапе дорогостоящих клинических испытаний. Для минимизации затрат и сокращения сроков исследования необходимо научиться моделировать различные фармакокинетические и токсикологические свойства соединений. Моделирование свойств ADMET (Absorption,

Distribution, Metabolism, Excretion, Toxicity) позволяет из всего многообразия выделить только те вещества, которые обладают необходимыми фармакологическими характеристиками [18].

Серьезным этапом является перенос результатов исследований на человека. Существует ряд *in silico* методов оценки таких важнейших ADMET-свойств как биодоступность, степень связывания с белками плазмы крови, способность прохождения через барьеры и др. [19].

Сложность моделирования ADMET-свойств заключается в наличии множества взаимосвязанных физиологических процессов, протекающих в организме человека, и небольшом запасе экспериментальных данных. Однако, путем расширения научных знаний и перехода к построению моделей для предсказания тех или иных параметров возможно ускорение и улучшение процесса разработки лекарственных средств [20].

Подводя итог, следует отметить, что в настоящее время традиционный эмпирический синтез лекарственных средств отходит на второй план, уступая место инновационным технологиям. Широкое применение компьютерного моделирования, а также достижений в области геномики, протеомики, молекулярной биологии, фармакологии и медицины обуславливают переход науки на качественно новый уровень, что проявляется в возможности направленного синтеза лекарственных средств с заданными фармакокинетическими и фармакодинамическими показателями. Дальнейшее движение науки по пути прогресса позволит минимизировать *in vivo* исследования и клинические испытания, сделав разработку лекарств более рациональной и эффективной.

#### Список литературы

1. Баренбойм Г.М., Маленков А.Г. Биологически активные вещества. Новые принципы поиска. – М.: Наука, 1986. – 363 с.
2. Васильев П.М., Спасов А.А. Применение компьютерной информационной технологии для прогноза фармакологической активности структурно разнородных химических соединений // Вестник ВолгГМУ. – 2005. – № 1 (13). – С. 23–30.
3. Головки Ю.С., Ивашкевич О.А., Головки А.С. Современные методы поиска новых лекарственных средств // Вестник БГУ. Серия 2. – Белгород, 2012. – С. 7–15.
4. Соловьев М.Е., Соловьев М.М. Компьютерная химия. – М.: СОЛОН-Пресс, 2005. – 536 с.
5. Хелтзе Х., Зиппл В., Роньян Д., Фолькерс Г. Молекулярное моделирование: теория и практика. – М., 2010.
6. Anderson S. Structural genomics: shaping the future of drug design // Drug Discov. Today. – 2002. – Vol. 7, № 2. – P. 105.
7. Barnard R., Gurevich K.G. In vitro bioassay as a predictor of in vivo response // Theor. Biol. Med. Model. 2005. Vol. 2. Art. 3.
8. Beavers M.P., Chen X. Structure-based combinatorial library design: methodologies and applications // J. Mol. Graph. Model. – 2002. – Vol. 20, № 6. – P. 463.
9. Debnath A.K. Quantitative Structure-Activity Relationship – Hansch Era to New Millennium // Mini Rev. Med. Chem. – 2001. – Vol. 1, № 2. – P. 187.
10. Dixon S.L., Smondyrev A.M., Rao S.N. A novel approach to Pharmacophore Modeling and 3D Database searching // Chem. Biol. Drug Des. – 2006. – Vol. 67, № 5. – P. 370.
11. Eckert H., Bajorath J. Molecular similar analysis in virtual screening: foundations, limitations and novel approaches // Drug Discov. Today. – 2007. – Vol. 12, № 5-6. – P. 225.
12. Hicks R.P. Recent Advances in NMR Expanding its Role in Rational Drug Design // Curr. Med. Chem. – 2001. – Vol. 8, № 6. – P. 627.
13. Isaacson R.E. Genomics and the Prospects for the Discovery of New Targets for Antibacterial and Antifungal Agents // Curr. Pharm. Des. – 2002. – Vol. 8, № 13. – P. 1091.
14. Klebe G. Recent developments in structure-based drug design // J. Mol. Med. – 2000. – Vol. 78, № 5. – P. 269.
15. Kley N. Chemical Dimerizers and Three-Hybrid Systems: Scanning the Proteome for Targets of Organic Small Molecules // Chem. Biol. – 2004. – Vol. 11, № 5. – P. 599.
16. Langer T., Hoffmann R.D. Virtual Screening An Effective Tool for Lead Structure Discovery // Curr. Pharm. Des. – 2001. – Vol. 7, № 7. – P. 509.
17. Lessiagiarska I., Nankov A., Bocheva A. 3D QSAR and preliminary evaluation of anti-inflammatory activity of series of N-pyrrolyl-carboxylic acids // Il Farmaco. – 2005. – Vol. 60, № 3. – P. 209.
18. Lipinski C.A. Drug – like properties and the causes of poor solubility and poor permeability // J. Pharmacol. Toxicol. Methods. – 2000. – Vol. 44, № 1. – P. 235.
19. Maas J., Kamm W., Hauck G. An integrated early formulation strategy – From hit evaluation to preclinical candidate profiling // Eur. J. Pharm. Biopharm. – 2007. – Vol. 66, № 1. – P. 1.
20. Martin Y.C. 3D QSAR: current state, scope and limitations // Perspectives Drug Discov. Des. – 1998. – Vol. 12-14. – P. 3.