



Univerzita Palackého
v Olomouci



KATEDRA FYZIKÁLNÍ CHEMIE
UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI

Drug-design racionální návrh léčiv KFC/DD

01 – úvod, léčivo a jeho cíl

Karel Berka



Univerzita Palackého
v Olomouci

Motto



KATEDRA FYZIKÁLNÍ CHEMIE
UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI

A pharmaceutical company utilizing computational drug design is like an organic chemist utilizing an NMR. It won't solve all of your problems, but you are much better off with it than without it.

DAVID C. YOUNG

Upozornění:

Autor tohoto kurzu zatím ještě nikdy žádné léčivo nenavrhl.



Osnova kurzu



- Proč používat drug design
- Co dělá léčivo léčivem?
- Znalost biologického cíle
- Structure-based drug design
 - Analýza známých krystalových struktur, dokování
- Ligand-based drug design
 - (Q)SAR, farmakofory
- Metabolismus léčiv a jeho vliv na design
 - ADMET
- A další...
 - Predikce syntetických cest, cheminformatika, bioinformatika, návrhy knihoven, používání léčiv pro jiné než původní cíle, atd.
- A ještě víc
 - =>– mezinárodní workshop KFC/ADD **advanced in silico drug design**



Požadavky



- Projekt
 - a) Návrh látek pro vlastní systém – projekt
(max. 3 strany, jasné a krátké definování otázky, krátká metodika, výsledky, závěr)
 - b) Doplnění české/anglické Wikipedie tématy návrhu léčiv
- Zkouška

3 otázky týkající se probraného učiva



Doporučená literatura



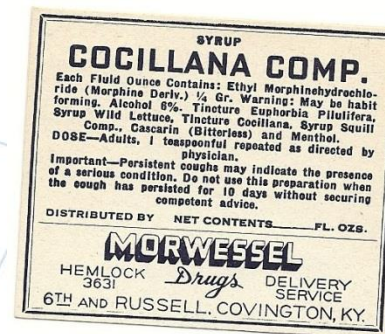
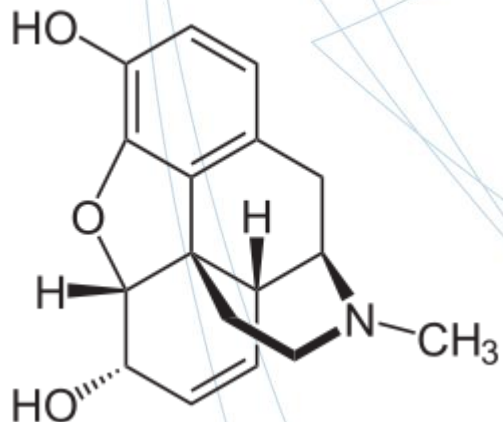
- **Young, D.C. Computational Drug Design. Wiley, 2009.**
- Doporučená: Young D.C. Computational Chemistry, a Practical Guide for Applying Techniques to Real World Problems. Wiley, 2001.
- Doporučená: Leach AR. Molecular Modelling - Principles and Applications (2 edition). Pearson Education, 2001.
- Doporučená: Alvarez, J. & Shoichet B. (Eds.). Virtual Screening in Drug Discovery. Taylor&Francis, 2005.



Historie

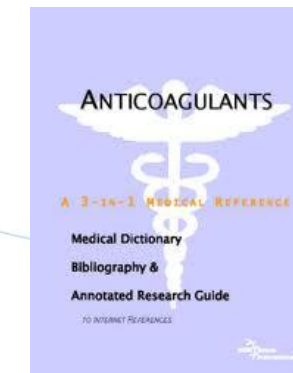
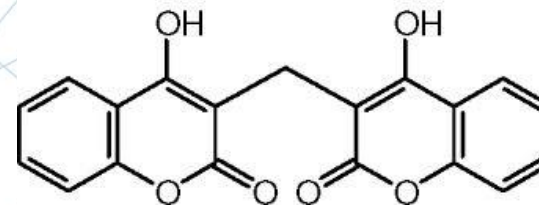
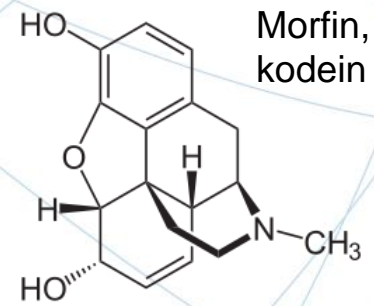


1806





Historie II



Léčiva – kdy začala být používána

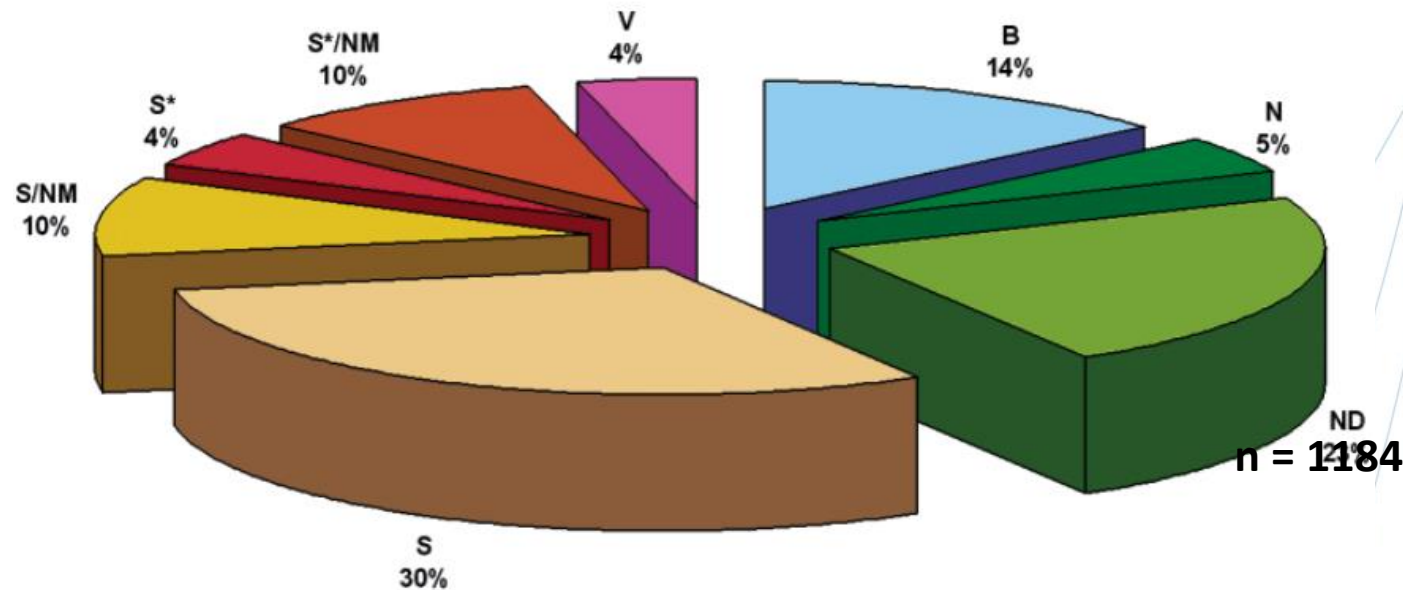
1806	Morphine	Hypnotic agent
1875	Salicylic acid	Antiinflammatory agent
1884	Cocaine	Stimulant, local anesthetic agent
1888	Phenacetin	Analgesic and antipyretic agent
1899	Acetylsalicylic acid	Analgesic and antipyretic agent
1903	Barbiturates	Sedatives
1909	Arsphenamine	Antisymphilitic agent
1921	Procaine	Local anesthetic agent
1922	Insulin	Antidiabetic agent
1928	Estrone	Female sex hormone
1928	Penicillin	Antibiotic agent
1935	Sulphachrysoidine	Bacteriostatic agent
1944	Streptomycin	Antibiotic agent
1945	Chloroquine	Antimalarial agent
1952	Chlorpromazine	Neuroleptic agent
1956	Tolbutamide	Oral antidiabetic agent
1960	Chlordiazepoxide	Tranquillizer
1962	Verapamil	Calcium channel blocker
1963	Propranolol	Antihypertensive agent (beta-blocker)
1964	Furosemide	Diuretic agent
1971	L-Dopa	Anti-Parkinson agent
1975	Nifedipine	Calcium channel blocker
1976	Cimetidine	Anti-ulcus agent (H2 blocker)
1981	Captopril	Antihypertensive agent (ACE inhibitor)
1981	Ranitidine	Anti-ulcus agent (H2 blocker)



Zdroje léčiv



Všechny nově registrované léčiva od 01/1981 - 06/2006 dle FDA, podle zdroje



B – biologické léčiva (biologicals),
N - přírodní látky,
ND – upravené přírodní látky,
S – syntetické látky,

S/NM – syntetické látky mimikující
přírodní látky,
S* - syntetické, ale s farmakoforem
odvozeným z přírodních látek
V - vakcíny



<i>Přibližný čas</i>	<i>Materiály</i>	<i>Testování</i>
- starověk	rostliny, jedy (Paracelsus) minerály ...	lidé
- 1806	morfin	lidé
- 1850	chemikálie	lidé
- 1890	synthetické látky, barviva	zvířata
- 1920		zvířata, izolované orgány
- 1970		enzymy, membrány
- 1990	HTS knihovny	rekombinantní proteiny
- 2000	zaměřené knihovny	čipy, virtuální screening



Proč používat drug design?



Návrh léčiva je

- obtížný problém
 - odhalení cíle, na který léčivo působí
 - nutnost pracovat s metabolismem
 - vedlejší účinky
 - drahý problém
 - náklady na vývoj a testování - až 1 300 000 000 USD¹
 - náklady na výrobu, patentování, distribuci...
- ⇒ Nové léky jsou drahé – i více než 20 000 Kč za dávku léčiva²

1 - Tufts Center for the Study of Drug Development

2 – SÚKL, 3. čtvrtletí 2011, průměrná cena léku v nejdražší kategorii léčiv (nad 10 000 Kč)



Návrh léčiv je **obtížný problém**



- Lidský genom obsahuje 25 000 ORF
Z nich známe cca u 10 000 i strukturu
- Projekty mohou zabrat 2 – 10 let od nalezení
lead molekuly k dosažení klinických testů
- Většinou vyjde 1 projekt z 10

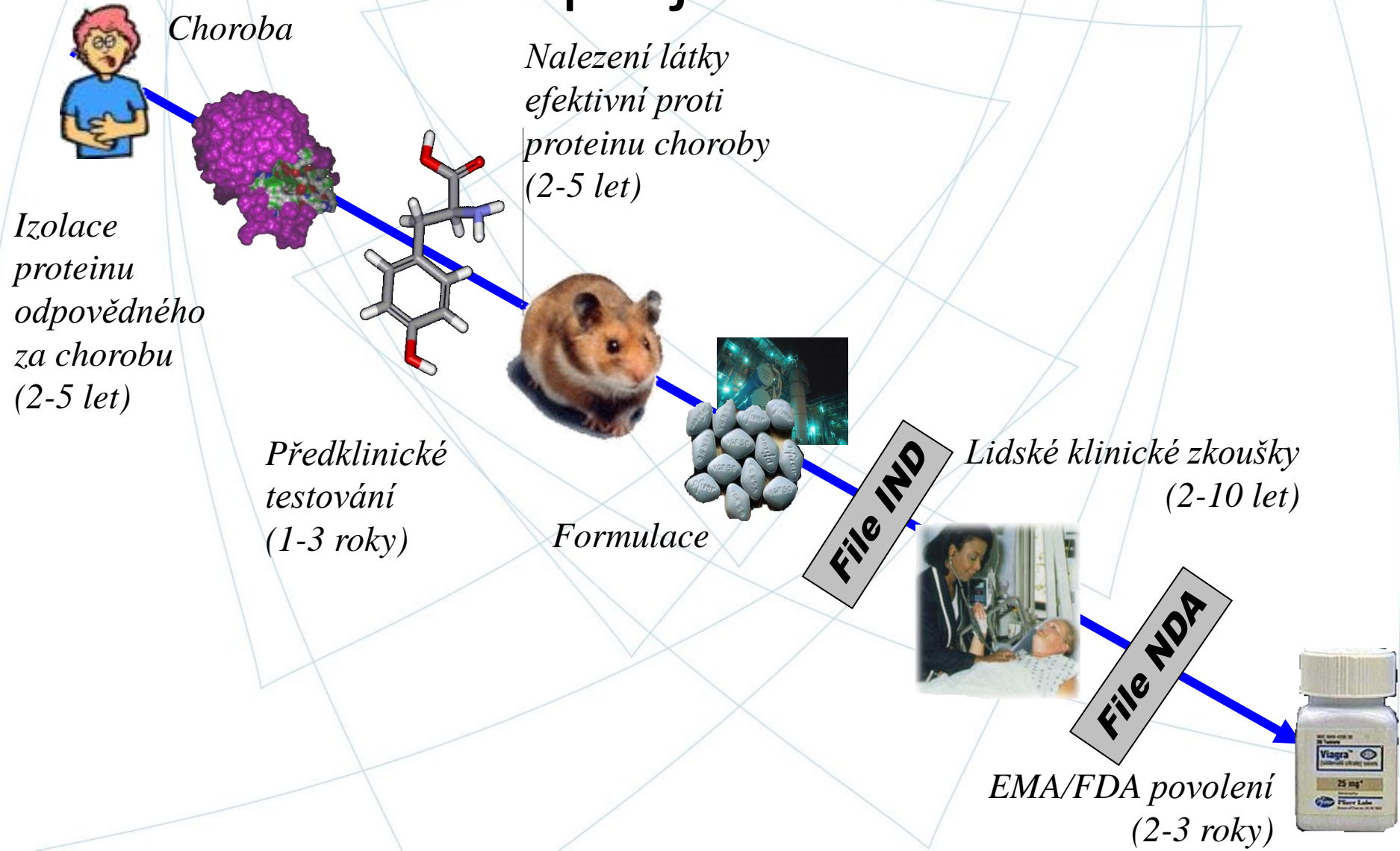


Univerzita Palackého
v Olomouci

Typický průběh projektu



KATEDRA FYZIKÁLNÍ CHEMIE
UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI





Možné důvody selhání projektu



- Neexistence testovacího modelu
 - nelze testovat přímo na lidech
- Vzácná choroba
 - Budoucí zisky by nezaplatily vývoj
- Nalezené látky jen s nedostatečnou aktivitou
 - Příliš toxické, špatná biodostupnost
- Aktivní látky má již patentovaný někdo jiný
 - *Produkt nemusí být lepší, než produkt konkurence. Musí být alespoň tak dobrý, jako jejich a současně patentovatelný pod naším jménem*



Návrh léčiv je drahý problém



Experiment	Typická cena pro 1 látku
Počítačové modelování	100 Kč
Biochemická analýza	7 000 Kč
Otestování na buněčné kultuře	75 000 Kč
Akutní toxicita na myších	250 000 Kč
Stanovení struktury proteinu krystalizací	2 000 000 Kč
Ověření účinnosti na zvířatech	5 500 000 Kč
Stanovení chronické toxicity na potkanech	14 000 000 Kč
Klinické zkoušky na lidech	10 000 000 000 Kč



Použití výpočetních metod



Různé techniky se používají v různých stádiích vývoje

1. Cheminformatika

- výběr z dostupných molekul

2. Hledání podobných motivů

- k již aspoň částečně účinným molekulám

3. Dohledávání účinnějších molekul detailnějšími metodami

- QSAR, farmakofory, dokování

4. Práce s katalogy látek, analýza dat

5. Predikce vlastností molekul

- Toxicita, průchodnost přes membrány, atp.



Slovníček pojmů



- Cíl
 - Biomolekula, s kterou má léčivo interagovat
 - (nejčastěji protein, méně DNA, RNA, membrány, nově také protein-protein interakce)
- Lead
 - Molekulární strukturní motiv vybraný jako základ
- Hit
 - Molekula, která uspěla v iniciálním screeningu (nad nastavenou hranicí)
- Kandidátní molekuly
 - Vybrané molekuly, které se vyberou pro následující proces (např. testování na zvířatech)



- Účinnost („Efficacy“)
 - Kvalitativní vlastnost, zda má sloučenina požadovaný efekt na biomolekulární systém (drug efficacy – léčí)
- Aktivita
 - Kvantitativní veličina, kolik sloučeniny je zapotřebí, aby došlo k potřebnému účinku
- Biodostupnost (bioavailability)
 - charakterizuje, že se látka dostane ke svému cíli dotyčnou cestou (např. orálně)



Univerzita Palackého
v Olomouci

Nejčastější mechanismus účinku



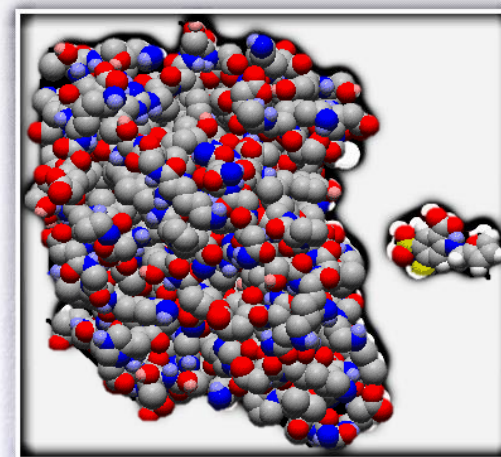
KATEDRA FYZIKÁLNÍ CHEMIE
UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI

- Princip zámku a klíče



**The
Lock
&
Key
Analogon**

1894



"Um ein Bild zu gebrauchen, will ich sagen, dass Enzym und Glykosid zueinander passen müssen, wie Schloss und Schlüssel, um eine chemische Wirkung aufeinander ausüben zu können."

Emil Fischer, Nobel Laureate 1902



- Vazebná konstanta

$$K_b = [P...L] / [P][L]$$

odpovídá volné energii:

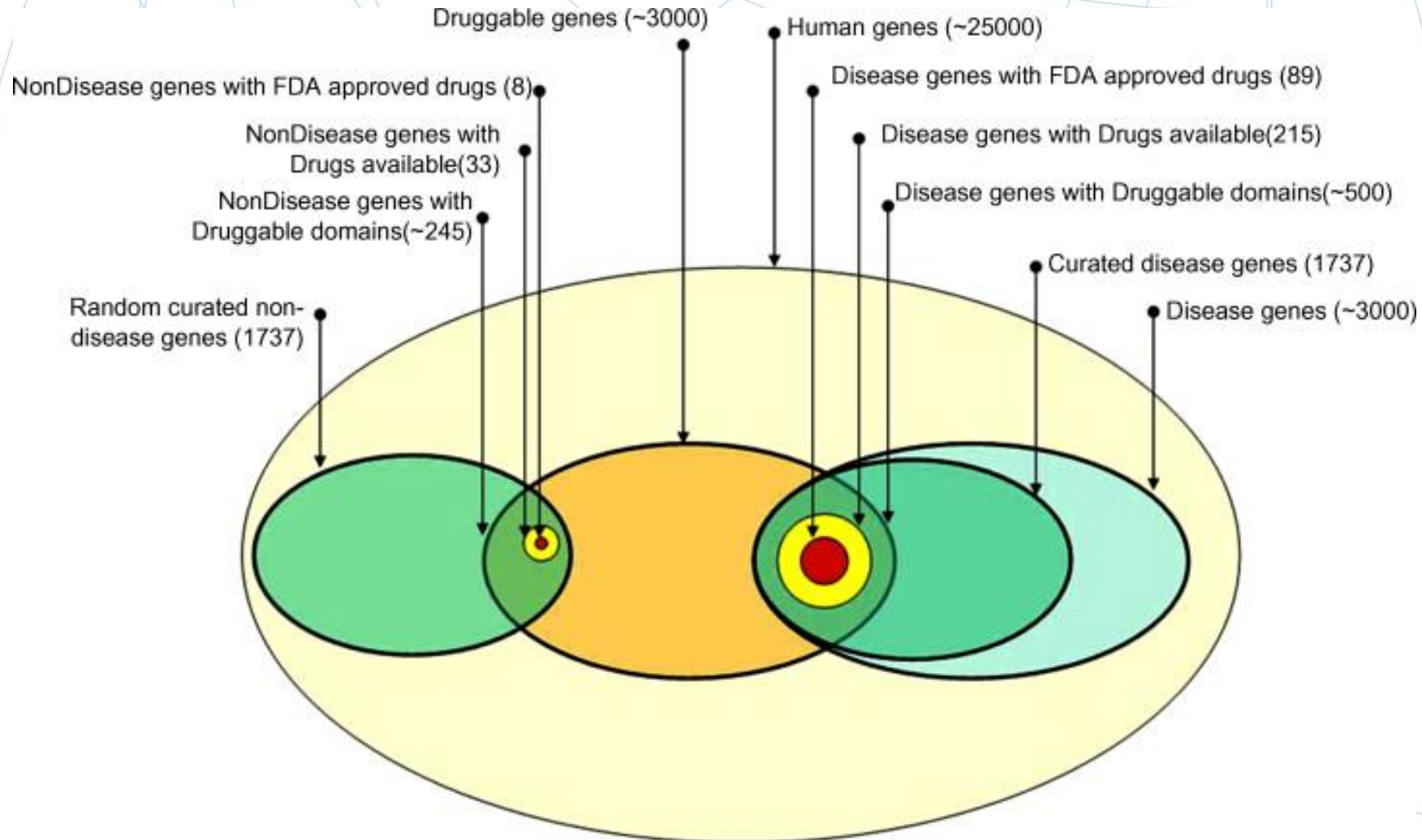
$$\Delta G_b = -RT \ln K_b \approx -RT \ln 1/IC_{50}$$

Volná energie je kombinace enthalpie a entropie

$$\Delta G_b = \Delta H_b - T\Delta S_b$$

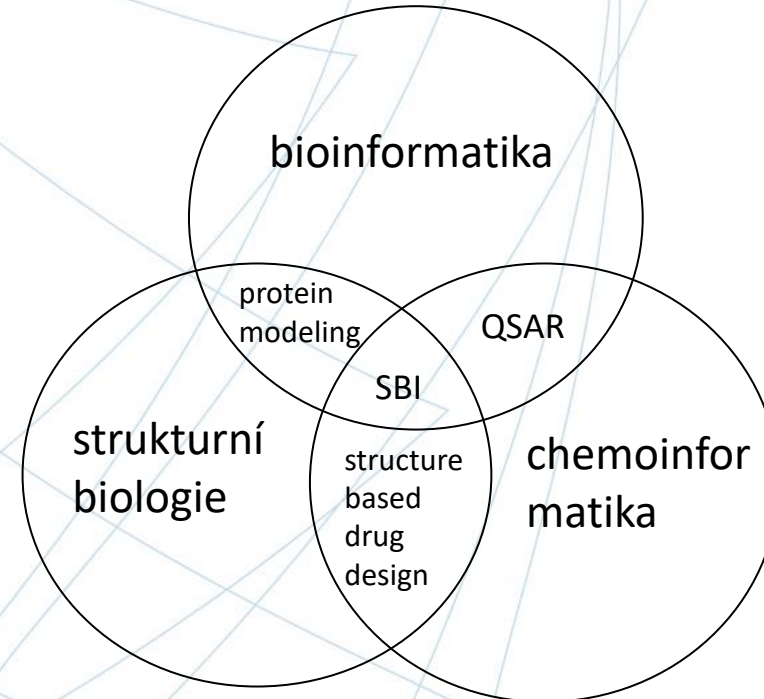


Počty léčiv a cílových genů



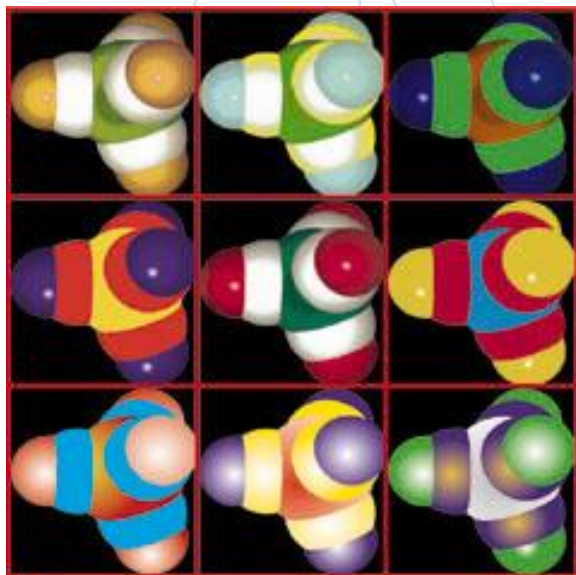
Cíle II

- 70 % drug targets – 10 protein families (CATH, SCOP)
- 50 % - 4 rodiny: GPCR, nuclear receptors, ligand, and voltage-gated ion channels
- CATH: 130 druggable domains
- tvorba homologních modelů ze sekvence, pokud není známa struktura





Dostupné „klíče“



> 5,000,000,000 molekulárních
struktur dostupných v
elektronických sbírkách

- ZINC database
- EDULISS
- PubChem
- Drugbank
- GDB-11, GDB-13, GDB-17
- ChemSpider
- ChEMBL

- Dictionary of Natural Products
- Bioactive Natural Products
- BioScreenNP files
- Marine Natural Product Database
- BioSPECS natural products database
- ChemDiv natural products database
- InterBioScreen database
- Herbal medicine index
- Merck index
- Chapman & Hall Dictionary of Drugs
- ComGenex collection
- ChemDiv International Diversity Collection
- SPECS screening database



Co dělá molekulu léčivem?



Druggability



Netoxická



Efektivní (potent)



Stabilní (chemicky a metabolicky)



Rozumná rozpustnost



Syntetizovatelná



Nová (patentovatelná)



Vhodná formulace (tablety, čípky,...)



Univerzita Palackého
v Olomouci

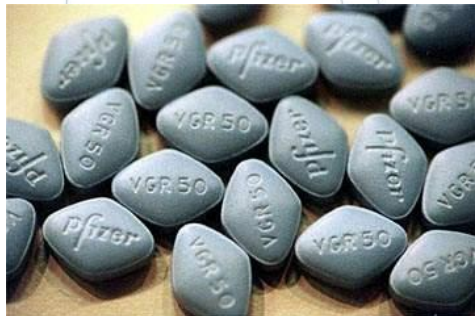
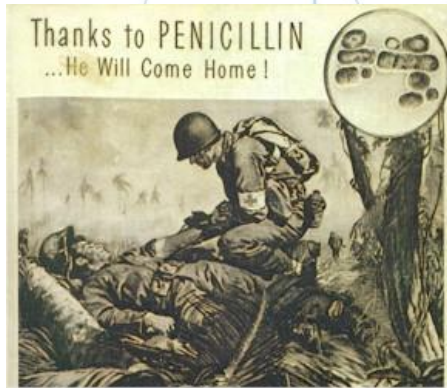


KATEDRA FYZIKÁLNÍ CHEMIE
UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI

Kde hledat nové léčivo?

Nutno testovat látky

Příroda (např. penicilin)



Existující léčiva mohou mít další účinky
(Viagra byla původně lék na hypertenzi)



High throughput screening (HTS)



Univerzita Palackého
v Olomouci



KATEDRA FYZIKÁLNÍ CHEMIE
UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI

High throughput screening (HTS)



- Nejčastější experimentální metoda hledání léčiv
- Testování tisícovek látek najednou unifikovaným testem
- Pořád dost drahé, těžké na vyhodnocení
- Množství otestovatelných látek je pořád relativně malé oproti celému dostupnému chemickému prostoru.



Jaké jsou typy testů?



- *In silico*
- Biochemické (*in vitro*)
 - ideální pro HTS (zvláště, pokud je kolorimetricky)
 - Ano/ne ev. různé koncentrace (IC50)
 - Falešné positiva (svítí to i tak)
 - Falešné negativa (např. špatná rozpustnost)
 - Korelují s *in silico*, ukazují zda se látky váží, či nikoliv
- Buněčné (*in vitro*)
- Živočišné (*in vivo*)
- Lidské



Testy II



- Buněčné (*in vitro*)
 - Dražší, než biochemické
 - Navíc dávají informaci o biodostupnosti léčiv (tedy kromě blood-barrier, či ústní biodostupnosti)
 - Caco-2 (colon wall carcinoma cells) - Na studium průchodnosti léčiv přes biologické membrány
- Zvířecí modely
 - Mnohem dražší, než *in vitro* metody
 - Testy toxicity
 - Nutno vybrat model, který trpí zvolenou chorobou
 - Prase, potkan, myš (levnější), Knockout myš, transgenické myš



Testy III



- Lidské klinické zkoušky (FDA, u nás SÚKL)
- Fáze I - testování bezpečnosti
 - zdravý člověk (student), vedlejší efekty
 - 1,5 roku, 70% látek dál
- Fáze II – působí proti chorobě?
 - + dávka a vedlejší efekty
 - cca stovka pacientů, 2 roky, 30% látek dál;
- Fáze III – určení dávky a lékových interakcí
 - Tisíce pacientů různých etnik
 - Cca 25 % látek dál (tj. jen cca 5 % látek z fáze II!)
- Fáze IV – farmakovigilance – sledování nežádoucích účinků již prodávaných léků.



Univerzita Palackého
v Olomouci

Ale jak vybrat látky na testování? Na příště:



KATEDRA FYZIKÁLNÍ CHEMIE
UNIVERZITY PALACKÉHO V OLOMOUCI

- Druggability
- Chemical space