

## Gyógyszertervezés: helyzetkép és kihívások

### Drug Design: current status and challenges

**ÖSSZEFOGLALÁS** A számítógépes hatóanyag-tervezés egyre bővülő és teljesítményében hatékonyabb eszköztárával a mai gyógyszer-innováció esszenciális elemévé vált. A molekuladinamikai számítások új lehetőségeinek implementálásával a jövő új típusú gyógyszereinek racionális tervezésére is lehetőség nyílik.

**KULCSSZAVAK** gyógyszer-innováció, racionális hatóanyag-tervezés, dokkolás, farmakofor, QSAR

**SUMMARY** Computational drug design with its increasing performance and efficient methods has become an essential tool for current pharmaceutical innovation. Implementation of conceptually novel molecular dynamics may lead to a rational basis for designing of new types of pharmaceuticals.

**KEY WORDS** pharmaceutical innovation, rational drug design, docking, pharmacophore, QSAR

#### Mátyus Péter

Semmelweis Egyetem,  
Szerves Vegytani Intézet

**LEVELEZÉSI CÍM:**

Dr. Mátyus Péter  
egyetemi tanár  
Semmelweis Egyetem, Gyógyszer-  
résztudományi Kar  
Szerves Vegytani Intézet  
1092 Budapest, Hőgyes Endre u. 7.

*E-mail:*

matyus.peter@  
pharma.semmelweis-univ.hu

A gyógyszer-innováció komplex, tipikusan multidiszciplináris, költséges és hosszan tartó folyamat. Az elmúlt két évtizedben a kutatás-fejlesztés (K+F) teljes időtartama szinte alig változott, jóllehet a költségek meredeken emelkedtek, a produktivitás (az eredeti kismolekulás gyógyszerkészítmények száma) viszont csökkent, s az utóbbi években szerény szinten változatlan. Az amerikai gyógyszer-engedélyezési hatóság (FDA) által jóváhagyott új kismolekulák száma 20 körül, a biológiai készítményeké 4 körül van évek óta, messze alulmúlva azt a várakozást, amit például a humán genom projekttől reméltek. Napjainkban egy új készítmény piacra juttatása kb. 1,5 milliárd USD-ba kerül, és az innováció 10-14 évig tart. A gyógyszeripari K+F hatalmas költségei ma (is) abból (is) erednek, hogy a preklinikai szakasz végén (4-6 év) kiválasztott gyógyszerjelöltek nem csekély számú hányada hullik ki a 6-8 évig tartó, költséges klinikai és törzskönyvezési szakasz második felében. Meglepő módon, a magas sikertelenségi ráta döntő okai a jelöltek nem kellő hatásossága és/vagy toxicitása (ideértve a kedvezőtlen mellékhatásokat is). Miből eredhetnek ezek az okok? Vajon a biológiai, gyógyszerkémiai és/vagy klinikai ismereteink hiányosságai vagy a választott K+F módszerek (inherens) korlátai a felelősök a helyzetért? Nem ismert még a pontos válasz és a megoldás sem, bár a gyógyszeripar jelentős erőfeszítéseket tesz: új kutatási stratégiák kidolgozásától, új kutatási és fejlesztési módszerek alkalmazásán át, új üzleti modell kialakításáig, remélve az eredményesség hosszú távú javítását.

A szűk korlátok között nem vállalkozhatunk részletes elemzésre az okokat illetően, csupán utalásszerűen említhetünk néhány fontosnak tartott szempontot. Egyik kulcsfeladatnak tekinthető a biológiai célpont körültekintőbb mérlegelése és a gyógyszerjelölt kívánt tulajdonságainak definiálása. Ezekbe, de a preklinikai szakasz egészébe a klinikus bevonását nélkülözhetetlen, különösen ami a gyógyszer molekuláris támadáspontjának betegségelevanciáját, klinikai szemléletű analízisét és releváns biomarkerek megválasztását, akár újjak azonosítását illeti. Másrészt, ugyanígy fontos a gyógyszerkémikus és farmakológus részvétele a klinikai szakaszban, a megfigyelések mechanizmusalapú, molekuláris értelmezéséhez.

Mindez biológus – gyógyszerkémikus – farmakológus – farmakokinetikai szakértő – gyógyszertechnológus – klinikus szoros együttműködését, az egymás területeire vonatkozó alapismeretek birtokában a „beszélő viszonyt”, a problémák komplex megközelítését, egymás számára kérdések feltevését és a specifikus válaszok általánosabb értelmezését teszi szükségessé, illetve lehetővé. Nem kétséges az sem, hogy a PhD-képzésnek e szempontokat szintén figyelembe kell vennie a jövő tudósainak multi- és interdiszciplináris szemléletű képzésével.

Mindezek alapján reméljük, hogy a tárgyalásra kerülő hatóanyag-tervezési szempontok és módszerek a gyógyszerkutatás iránt érdeklődést mutató többféle szakterület szakembereinek figyelmére is számíthat.

#### Köszönetnyilvánítás

E területtel kapcsolatos saját munkáink egy részének pénzügyi hátterét a TÁMOP -4.2.1/B-09/1/KMR-2010-0001 projekt biztosítja, melyért ezúton mondunk köszönetet.

A gyógyszerjelölt molekula egy sereg optimális tulajdonsággal kell, hogy rendelkezék: többek között a farmakológiai célhatással (szelektíven), ADMET (abszorpció, disztribúció, metabolizmus, exkréció, toxicitás) szempontjából megfelelő fizikokémiai tulajdonságokkal.

A célhatás tehát csak egy követelmény; a gyógyszerjelölt-válás útja a vezérvegyülettől („lead”) multidimenziós optimalizálási folyamatot jelent. Nem kétséges azonban, hogy a gyógyszernek a kiszemelt biológiai makromolekulával (receptor/enzim) való produktív kölcsönhatása, amely a kívánt farmakológiai hatást eredményezheti, nélkülözhetetlen tulajdonságot jelent. Ennek tervezhetősége tehát kétségtelenül nagyon fontos. A klasszikus experimentális alapú, a mért biológiai hatás alapján történő „trial-and-error” megközelítés, nemritkán váratlan felismerések révén, a gyógyszerkémikus intuitív-kreatív érzékével folytatott molekulamódosítások sorozatával vezetett a gyógyszerjelölthöz. Ezt az utat bizonytalanságai és hatékonyságának korlátai miatt kétségkívül érheti kritika. De van-e biztosabb, gyorsabb, gazdaságosabb alternatíva? A feladat nehézségét illusztrálандó, elegendő két kihívást említeni. Az első a molekulák körének hatalmas gazdagsága és változatossága, a kémiailag lehetséges molekulák száma ( $10^{60}$ – $10^{100}$ ) elképesztő, messze meghaladja a csillagok számát (1, 2), és nem túlzás azt állítani, hogy a tűt a szénakazalban talán könnyebb megtalálni, mint e körből a gyógyszerjelöltet. Csoda-e, hogy az akár sokszázézer, a lehetséges molekulakörnek azonban még mindig csak elenyésző töredékét reprezentáló molekula tesztelése „high-throughput-screening” (HTS) módszerekkel nem forradalmasította a gyógyszerkutatást? Jogos kérdés, hogy miért nem fókuszálunk e helyett a receptor–ligandum kölcsönhatás leírására, kiválasztva a legtökéletesebben illeszkedő (energetikailag optimális kölcsönhatásra képes) molekulát, ezzel feleslegessé téve vegyület-százazrek szintézisét és experimentális szűrését. Ennek a módszernek azonban szintén van inherens problémája. Nevezetesen, a fehérje–ligandum tipikusan nemkovalens kölcsönhatását kísérő szabadentalpia-változás mindössze 10–12 kcal/mol nagyságú értéke; kb. 1 kcal/mol abszolút pontossággal kellene számítani a kölcsönhatási energiát, mely elvi és gyakorlati nehézséget jelent.

A racionális molekulatervezés mai eszköztárszere, legalábbis részben, választ tud adni e kihívásokra: képes *de novo* tervezni és a szerkezet optimalizálásához érdemi mértékben hozzájárulni. A szintetikus szerves kémia ma hatékony fegyvertárával a tervek létező molekulákká konvertálhatók.

A racionális molekulatervezés a számítógépes hatóanyag-tervezés (szakirodalmi megfelelői: computational drug design; computer-aided drug design, rövidítése: CADD; computer-based design of drug (like) molecules) különféle módszereire épít.

Az utóbbi egy-másfél évtizedben [korábbi magyar nyelvű áttekintés (3)] jelentős fejlődés figyelhető meg a területen (4-6), sőt, ma már több gyógyszer-molekuláról, pl. ilyen az imatinib, is meggyőzően állítják, hogy bevezetésükben e molekulatervezési módszerek döntő szerepet kaptak.

A CADD módszer-együttesnek két típusa van:

- a) receptor-alapú (szerkezeti-alapú; „structure-based”),
- b) ligandum-alapú

változat, melyek nemcsak egymással, hanem kémiai informatikai (szakirodalomban: chemical informatics, cheminformatics elnevezéssel az 1990-es végén alakult ki, kémiai adatbázisok informatikai eszközökkel való vizsgálatát jelentő) módszerekkel is összefonódhatnak.

Az első módszer a receptorfehérje szerkezetéből indul ki. Számos fehérje experimentális úton (röntgen-kristallográfiai vagy nmr-spektroszkópiai módszerekkel) meghatározott szerkezete (pontosabban nem molekulaszervezetként, hanem elektronsűrűségi adatok alapján felépíthető szerkezetként) rendelkezésre áll a Protein Data Bank (PDB) gyűjteményben, amelyből, bár nem mindig triviális lépésekkel (vízmolekulák eltávolítása, hidrogénatomok hozzáadása) lehet azt a molekulaszervezetet megkapni, amit a ligandummal való kölcsönhatásának vizsgálatára használunk. Amennyiben a fehérje ligandum-kötőzsebe nem lenne ismert, annak azonosítására is van módszer. Ha kísérleti úton meghatározott szerkezetünk nincs, akkor ún. homológia modellezéssel állíthatjuk elő a háromdimenziós szerkezetet, megfelelő (rokonság és aminosav-szekvencia átfedés alapján választott) templát szerkezettel, majd energiainimalizálással, molekulamechanikai erőteret alkalmazó szoftverrel, pl. az elterjedt Macromodel szoftverrel. Arra is van módszer, kétségkívül sokkal több bizonytalansággal, hogy a primer aminosav-szekvencia alapján építsük fel a szerkezetet. A fehérje szerkezetének „minőség-ellenőrzése” elméleti kémiai megfontolásokkal és megfelelő, pl. PROCHECK, szoftverrel végzett számításokkal lehetséges. A következő lépés kétféle lehet:

- a) *de novo* ligandum tervezéssel a kötőzseb szerkezetében, komplementer szerkezeti elemek egybeépítésével létrehozott molekulákhoz jutunk – erre szintén vannak alkalmas szoftverek;
- b) molekulák dokkolásával és sorrendbe állításukkal (ezzel a módszerrel *in silico* szűrés is végezhető).

A dokkolásos módszer ma akadémiai és ipari kutatóhelyeken egyaránt széles körben rendelkezésre áll, érdemes róla kissé bővebben szólni.

A dokkolás („posing” + „scoring”) során a számítógépes program meghatározza azt az optimális molekulahelyzetet, ahogyan a molekula a receptorhoz illeszkedik és egy empirikus függvényel számítja az ehhez tartozó kötési affinitásnak megfelelő vagy legalábbis azzal arányos kölcsönhatási energiát (a függvény általában hidrogénhidas és ionos kölcsönhatásokat, hidrofób és pi-pi kölcsönhatásokat és egy entrópiájáruelkot vesz figyelembe). Ez a számítási mód, mely eleve közelítő számítás, behatárolja a kapott adatok megbízhatóságát és minőségét. A dokkolásra gyakran alkalmazott két szoftver az AutoDock (szabadon letölthető az internetről) és Glide (Schrödinger, LLC, New York, NY) eltérő közelítő függvényt használ, előbbi az AMBER erőteret, utóbbi experimentális úton meghatározott kötési affinitások alapján illesztett függvényt. Saját tapasztalataink szerint is e módszerek utóbbi években bevezetett verzióinak gyorsasága és teljesítménye jelentősen javult, s a hasznos információt nyújtó rutin-számítások egy jobb személyi számítógéppel is elvégezhetők.

A molekulaillesztés merev vagy flexibilis módon történhet. Az utóbbi felel meg a valóságos helyzetnek jobban; technikai problémát azonban éppen a konformációs flexibilitás figyelembe vétele jelenti, a nagymértékben megnövekvő számítási igény miatt. A dokkolás predikciós teljesítménye a HTS-étől nem sokban marad el. A dokkolás kiegészíthető molekuladinamika számításokkal is a még pontosabb predikció érdekében. Sőt, a technika még valamilyen *in silico* szűrés (pl. ADMET-tel összefüggő) paraméterrel is bővíthető, ésszerűen szűkítve a szintézisre/tesztelésre kiválasztott jelöltek körét.

Amennyiben nem áll rendelkezésre megfelelő minőségű fehérjeszerkezet, a racionális hatóanyag-tervezésnek másik

módszercsaládjá, a ligandumalapú tervezés alkalmazható. Ez esetben szükségünk van experimentális adatokra is. A biológiai hatás és szerkezet korrelációját megállapítva, vizsgálatra még nem került molekulák hatása is előre jelezhető.

Ákár egyetlen aktív molekula szerkezete alapján, kémiai hasonlósági kritériumokkal is kereshető várhatóan aktív analógja.

A farmakofor módszer szintén alkalmazható *in silico* szűrésre. A farmakofor a hatáshoz szükséges szerkezeti elemek azonosítását és geometriai elrendezésük definiálását jelenti. Meghatározásához néhány aktív ligandumra van szükség. E területen szintén eredményes fejlesztések történtek, különösen a receptor–ligandum komplexek alapján energia-optimalizált (7) vagy kristályszerkezetek alapján definiált farmakoforral végzett *in silico* szűrés eredményessége biztató; pl. a Phase (Schrödinger) vagy LigandScout (InteLigand GmbH) (8) szoftverekkel saját tapasztalataink is meggyőzőek. Érdekes azt is megemlíteni, hogy a ma egyre jobban terjedő több támadáspontú hatóanyagok tervezését, illetve adatbázisok e célból való *in silico* szűrését a megfelelő farmakoforok ismerete hatékonyan támogatja. Korai példaként említhetők több támadáspontú antiarrhythmias vegyületekkel kapcsolatos saját munkáink (9), míg egy újabb kitűnő összefoglaló a legújabb szempontokat ismerteti (10).

Kvantitatív biológiai adat becslésére képesek a QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) modellek. Ezekhez általában legalább 20 vegyületre van szükség. Főként háromdimenziós változataikat használják elterjedten. Az 1990-es években elterjedt CoMFA (Comperative Molecular Field Analysis) módszer mellett hasonló filozófiájú technikák is ismertek. A ligandumok szterikus és elektrosztatikus leírói és a biológiai aktivitás között, konvencionális módszerek esetén, lineáris kvantitatív kapcsolatot (folytonos QSAR) tételezünk fel, mely rendszerint csupán rokon struktúrákra érvényes, következésképpen a becslés is ilyen molekulákra lesz jobb. A nem lineáris módszerek hatékonyabban alkalmazhatók nem homológ sorozatokra is (11). A háromdimenziós QSAR módszerek esetében a számításhoz a molekulákat egy-

másra kell helyezni ahhoz, hogy a hatáskülönbséget okozó szerkezeti különbségeket pontosan értelmezzük. Ehhez ismerni kellene azonban az egyes molekulák bioaktív konformerét, amely rendszerint nem áll rendelkezésre. A felhasználó intuitív képessége és gyakorlata jelentős szerepet játszhat az eredményességben.

Ez a megállapítás akár a számítógépes hatóanyag-tervezés többi módszerére is vonatkozatható. Nincs csodafegyverünk. Az utóbbi évtizedben bevezetett új módszerek eredményesebben használhatók, ez azonban nem annyira a nagyobb számítógép teljesítménynek, hanem ötletes megoldásoknak köszönhető. Ha a modellező ismeri az alkalmazott metodikák teljesítőképességét elvi korlátaikkal együtt és képes azokat nemcsak sematikus, hanem kreatív módon, inspiráló eszközként használni, úgy hatékony támogatást remélhet a molekulák tervezéséhez.

*Mit újat hozhat a jövő a számítógépes molekulatervezés területén?* Nagy előrelépést jelenthet a makromolekulák konformációs (és kölcsönhatásaik) vizsgálatában az új filozófiájú molekuladinamikai számítások alkalmazása és azokat lehetővé tevő hardver fejlesztés. Ez áttörést hozhat a bioaktív konformerek meghatározásában, sőt, várhatóan a következő évtizedek gyógyszerkincsének jelentősebb hányadát képviselő fehérje–fehérje kölcsönhatások befolyásolására képes kismolekulák tervezésében.

Mindemellett, a gyógyszerkincset szintén gyarapítani képes, a meglévő gyógyszerkincs önmagában vagy kombinációban történő hasznosítása új hatásterületen egyszerűbb, gyorsabb és biztonságosabb fejlesztést jelenthet. Ezen a területen újabban számítógépes támogatást is hasznosító gyógyszerkeresési stratégiák is kezdenek kialakulni. Saját tapasztalataink is utalnak arra, hogy e célból a számítógépes hatóanyag-tervezési módszerek hatékonyan kombinálhatók a bioinformatika eszközeivel.

A gyógyszerkutató számára bőven lesznek tehát izgalmas új kihívások a következő évtizedekben is.

## Irodalom

1. Dobson CM: *Chemical space and biology*. *Nature* 2004; 432:824-828.
2. Lipinski C, Hopkins A: *Navigating chemical space for biology and medicine*. *Nature* 2004; 432:855-861.
3. Mátyus P, Borosy AP: *Három dimenziós szerkezet-hatás összefüggések*. *Acta Pharm Hung* 1998; 68:33-38.
4. Alonso H, Bliznyuk AA, Gready JE: *Combining docking and molecular dynamic simulations in drug design*. *Med Res Rev* 2006; 26:531-568.
5. Van Drie JH: *Computer-aided drug design: the next 20 years*. *J Comput Aided Mol Des* 2007; 21:591-601.
6. Young DC: *Computational Drug Design: A Guide for Computational and Medicinal Chemists*, Wiley, 2009.
7. Yoo J, Medina-Franco JL: *Homology modeling, docking and structure-based pharmacophore of inhibitors of DNA methyltransferase*. *J Comput Aided Mol Des* 2011; 25:555-567.
8. Wolber G, Seidel T, Bendix F, Langer T: *Molecule-pharmacophore superpositioning and pattern matching in computational drug design*. *Drug Discov Today* 2008; 13:23-29.
9. Mátyus P, Rettegi T, Varró A, Papp JGy: *New antiarrhythmic agents: A conceptually novel approach*. *Med Res Rev* 2000; 20:294-303; Backó I, El-Reyani NE, Farkas A, Virág L, Iost N, Leprán I, Mátyus P, Varró A, Papp JGy: *Antiarrhythmic and electrophysiological effects of GYKI-16638, a novel N-(phenoxyalkyl)-N-phenylalkylamine, in rabbits*. *Eur J Pharm* 2000; 404:181-190; Kövesdi I, Dominguez-Rodriguez MF, Órfi L, Náray-Szabó G, Varró A, Papp JGy, Mátyus P: *Application of neural networks in structure-activity relationships*. *Med Res Rev* 1999; 19:249-268.
10. MA XH, Shi Z, Tan C, Jiang Y, Go ML, Low BC, CHem YZ: *In-silico approaches to multi-target drug discovery: computer aided multi-target drug design, multi-target virtual screening*. *Pharm Res* 2010; 27:739-749.
11. Peltason L, Bajorath J: *Systematic computational analysis of structure-activity relationships: concepts, challenges and recent advances*. *Future Med Chem* 2009; 1:451-466.