

1

ΚΕΦΑΛΑΙΟ

ΑΝΑΠΤΥΞΗ ΦΑΡΜΑΚΩΝ

K. Θερμού

Τα τελευταία πενήντα χρόνια, η ανάπτυξη των φαρμάκων έχει φέρει επαναστατικές αλλαγές στην ιατρική καθιστώντας τις μέχρι σήμερα ανίατες νόσους θεραπεύσιμες στην καθημερινή κλινική πράξη. Η θεμελιώδης βελτίωση του τρόπου ανάπτυξης και μελέτης των νέων φαρμάκων αποτελεί την κύρια αιτία αυτής της ιατρικής προόδου. Η διαδικασία της ανακάλυψης, της ανάπτυξης και του ελέγχου νέων φαρμάκων συμπεριλαμβάνει μερικές από τις πιο εντυπωσιακές περιοχές της επιστήμης σήμερα. Η ανάπτυξη των νέων φαρμάκων ξεκινάει από τη βασική βιοϊατρική μελέτη των ζωντανών κυττάρων και των μορίων και καταλήγει στην εφαρμοσμένη έρευνα για την παροχή νέων καταναλωτικών προϊόντων, στοχεύοντας στην καλυτέρευση της δημόσιας υγείας.

Η ερευνητική αυτή πορεία είναι μια εξαιρετικά πολύπλοκη και χρονοβόρα διαδικασία με υψηλό κόστος, το αποτέλεσμα της οποίας δεν είναι ποτέ προβλέψιμο εξ αρχής. Εκατοντάδες και πολλές φορές χιλιάδες χημικές ενώσεις πρέπει να παρασκευαστούν και να μελετηθούν προκειμένου να βρεθεί ένα δυνητικά αποτελεσματικό φάρμακο, χωρίς σοβαρές ανεπιθύμητες ενέργειες.

Η πολυπλοκότητα της διαδικασίας μπορεί να μειωθεί, εν μέρει, από τη διεπιστημονική προσέγγιση στην εύρεση νέων φαρμάκων. Παραδοσιακά, οι συνθετικοί οργανικοί χημικοί σε συνεργασία με φυσιολόγους και στατιστικούς διαδραμάτιζαν σημαντικό ρόλο στην ανεύρεση και ανάπτυξη νέων φαρμάκων. Τα τελευταία χρόνια σημαντικό ρόλο παίζουν οι α) βιοχημικοί, β) μοριακοί βιολόγοι, γ) φαρμακολόγοι και δ) τοξικολόγοι που συμβάλλουν στη μελέτη α) της χημείας των διαδικασιών των ζωντανών οργανισμών, β) των μορίων που αποτελούν τους ζωντανούς οργανισμούς, γ) των μηχανισμών δράσης των φαρμάκων και δ) των πιθανών τοξικών τους δράσεων, αντίστοιχα. Η υπολογιστική επιστήμη προσθέτει τη δύναμη των έξυπνων μηχανών για τον σχεδιασμό, την ανάλυση και την αξιολόγηση των νέων μορίων-φαρμάκων.

Κριτήρια για την επιλογή φαρμάκου-στόχου

Η επιλογή ενός νέου φαρμάκου για ανάπτυξη επιτυγχάνεται μέσω ενός η περισσοτέρων κατευθύνσεων. Οι κατευθύνσεις αυτές περιλαμβάνουν:

- τη χημική τροποποίηση ενός γνωστού φαρμάκου. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι η χημική τροποποίηση των αναστολέων της καρβονικής ανυδράσης (ακεταζολαμίδη) για την ανάπτυξη πιο δραστικών διουρητικών, των θειαζίδων (χλωροθειαζίδη)
- τη χρήση ενός μεγάλου αριθμού φυσικών προϊόντων, τράπεζες χημικών μορίων ή βιβλιοθήκες πεπτιδών, νουκλεΐνικών οξέων ή άλλων οργανικών μορίων για τον προσδιορισμό των φαρμακολογικών τους ιδιοτήτων (random screening). Με τον τρόπο αυτό έχουν ανακαλυφθεί πολλά φάρμακα, συμπεριλαμβανομένων πολλών αντιβιοτικών και του ανοσοκατασταλτικού φαρμάκου κυκλοσπορίνη
- τον ορθολογικό σχεδιασμό φαρμάκων (rational drug design) - ο τρόπος αυτός βασίζεται στις υπάρχουσες γνώσεις σχετικά με τη χημική δομή φαρμάκων και των φαρμακολογικών μηχανισμών τους. Ένα από τα πρώτα παραδείγματα αυτής της κατεύθυνσης ήταν η ανάπτυξη ανταγωνιστών H1 ισταμινικών υποδοχέων. Η σύνθεση βασίστηκε στην υπόθεση για την ύπαρξη διαφορετικών τύπων υποδοχέων της ισταμίνης. Η ορθολογική τροποποίηση του μορίου της ισταμίνης οδήγησε στη σταδιακή βελτίωση της εκλεκτικότητας και της ισχύος νέων ανταγωνιστών. Η πορεία αυτή οδήγησε στην ανάπτυξη της σιμεπιδίνης και στην εισαγωγή της στη θεραπευτική. Ένα δεύτερο σημαντικό παράδειγμα αυτής της καπηγορίας είναι η τροποποίηση της β-φαινυλαιθυλαμίνης για την ανάπτυξη πολλών φαρμάκων με εκλεκτικότητα και συγγένεια στους α- και β-αδρενεργικούς υποδοχείς (Σχήμα 1.1α). Η δομή της β-φαινυλαιθυλαμίνης επιτρέπει υποκαταστάσεις στον αρωματικό πυρήνα, στα α και β άτομα άνθρακος και στην τελική αμινομάδα. Η μεγαλύτερη συμπαθομιμητική δραστηριότητα παρατηρείται όταν δύο άτομα άνθρακα χωρίζουν τον βενζολικό πυρήνα από την αμινομάδα. Η υποκατάσταση της αμινομάδας με αλκυλομάδες [-CH₃, C(CH₃)₃, CH(CH₃)₂] αυξάνει τη συγγένεια του φαρμάκου για τους β-αδρενεργικούς υποδοχείς. Μέγιστη α- και β- δραστικότητα εξαρτάται από την ύπαρξη υδροξυλίων στις θέσεις 3- και 4- του αρωματικού πυρήνα. Υδροξύλια στις θέσεις 3- και 5- προσδίδουν σε μόρια με μεγάλους υποκαταστάτες στην αμινομάδα β₂ εκλεκτικότητα. Η μεταπροτερενόλη και η τερβιουταλίνη προκαλούν βρογχοδιαστολή (β₂ - δράση) σε ασθενείς με άσθμα χωρίς να επιτρέπουν την καρδιά (β₁- δράση). Η αλβουτερόλη, ένας εκλεκτικός β2 αγωνιστής με ιδιότητες παρόμοιες με της τερβιουταλίνης, αποτελεί μια σημαντική εξαίρεση, δεδομένου ότι έχει υποκατασταθεί το υδροξύλιο στη θέση 3 (Σχήμα 1.1β).

Χημικές ομάδες εκτός των υδροξυλίων έχουν χρησιμοποιηθεί ως υποκαταστάτες στον αρωματικό πυρήνα. Η ισχύς των μορίων αυτών στους α- υπο-

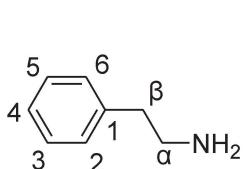
δοχείς μειώνεται και η δράση των β-υποδοχέων ελαχιστοποιείται. Οι ενώσεις αυτές αναστέλλουν τους β-υποδοχείς. Παράδειγμα είναι η μεθοξαμίνη (*Σχήμα 1.1γ*), η οποία έχει ομάδες μεθόξυ (-OCH₃) στις θέσεις 2- και 5- του αρωματικού πυρήνα. Η αλλαγή αυτή παρέχει στο μόριο εκλεκτική διεγερτική δράση στους α- υποδοχείς και σε μεγάλες δόσεις ανασταλτική δράση στους β- υποδοχείς. Τελευταία, ο ορθολογικός σχεδιασμός, σε συνεργασία με την υπολογιστική επιστήμη (βλέπε πιο κάτω) και τις μελέτες σχέσεων δομής-δραστικότητας, έχει κάνει μεγάλα άλματα στην ανάπτυξη πολλών φαρμάκων.

Τέλος, σε μεγάλη εξέλιξη βρίσκεται η χρήση της βιοτεχνολογίας και οι τεχνικές κλωνοποίησης γονιδίων για την κατασκευή μεγαλύτερων πεπτιδίων και πρωτεΐνων. Παράδειγμα αυτής της κατεύθυνσης αποτελεί η ανακάλυψη και η ανάπτυξη ανασυνδυασμένου ιστικού ενεργοποιητή του πλασμινογόνου (recombinant tissue plasminogen activator).

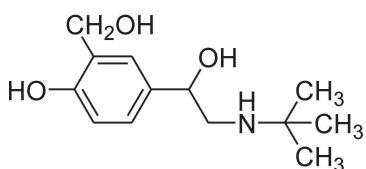
Αξιολόγηση

Ανεξάρτητα από την προέλευση του υποψήφιου φαρμάκου, η αξιολόγησή του περιλαμβάνει μια σειρά μελετών που συνολικά ονομάζεται drug screening. Μια πληθώρα βιολογικών εξετάσεων (μοριακών, κυτταρικών, χρήση απομονωμένων οργάνων και πειραματόζων) χρησιμοποιούνται για την ταυτοποίηση της εκλεκτικότητας, ισχύος και αποτελεσματικότητας των νέων φαρμάκων και τον προσδιορισμό του φαρμακολογικού προφίλ των. Οι μελέτες δέσμευσης και ενζυμικής δραστηριότητας προσδιορίζουν τη συγγένεια ενός φαρμάκου για τον στόχο-υποδοχέα ή ένζυμο. Μελέτες σε κυτταρικό επίπεδο (χρήση κυττάρων ή απομονωμένων οργάνων) προσδιορίζουν την αποτελεσματικότητα ενός φαρμάκου, καθώς και την ιδιότητα του ως αγωνιστή, ανταγωνιστή ή μερικού αγωνιστή. Κυτταρικές σειρές που εκφράζουν επιλεκτικά κάποιον υποδοχέα χρησιμοποιούνται για τη μελέτη των ανάστροφων αγωνιστών (inverse agonists). Η κλωνοποίηση ενός μεγάλου αριθμού υποδοχέων και η κατανόηση της δομής τους έχει συμβάλει σημαντικά στο σχεδιασμό και στη μελέτη νέων φαρμάκων.

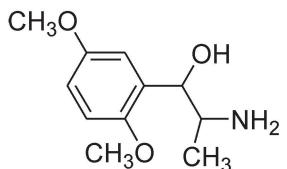
Η χρήση πειραματόζωων είναι απαραίτητη για τον προσδιορισμό φαρμάκων που δρουν στο κεντρικό νευρικό σύστημα (καταστολή, κινητικότητα, καταληψία, άγχος, κατάθλιψη, κ.ά.), καθώς και για τη μελέτη των δράσεων του



A: Φαιναιθυλαμίνη



B: Αλβουτερόλη



C: Μεθοξαμίνη

Σχήμα 1.1

φαρμάκου σε συστήματα οργάνων και πρότυπα νόσων. Μελέτες που στοχεύουν στην καρδιαγγειακή και νεφρική δράση ενός φαρμάκου μπορούν να πραγματοποιηθούν σε φυσιολογικά πειραματόζωα. Η μελέτη ενός πιθανού αντιυπερτασικού φαρμάκου θα απαιτήσει πειραματόζωα με υπέρταση για τον προσδιορισμό της διάρκειας δράσης του φαρμάκου και της αποτελεσματικότητάς του μετά από per os ή παρεντερική χορήγηση. Εάν οι αντιυπερτασικές δράσεις του φαρμάκου είναι ικανοποιητικές, τότε το φάρμακο θα μελετηθεί περαιτέρω για να προσδιορισθούν οι πιθανές ανεπιθύμητες δράσεις του σε άλλα κύρια όργανα (αναπνευστικό, γαστρεντερικό, ενδοκρινικό και κεντρικό νευρικό σύστημα).

Τα αποτελέσματα που θα προκύψουν από τις μελέτες αυτές πιθανόν να υπαγορεύσουν επιπλέον χημικές τροποποιήσεις του μορίου προκειμένου να επιτευχθούν περισσότερο επιθυμητές φαρμακοκινητικές ή φαρμακοδυναμικές ιδιότητες. Η αυτοματοποίηση έχει δημιουργήσει τη διαδικασία που είναι γνωστή ως "high through-put-screening", η οποία επιτρέπει την ανάλυση εκατομμυρίων μορίων το μήνα.

Χρήση υπολογιστών (Computer clues)

Η χρήση υπολογιστών έχει συμβάλει στην καλύτερη κατανόηση της δομής του φαρμάκου-στόχου (π.χ. υποδοχέα, ενζύμου) στον τρισδιάστατο χώρο και στον σχεδιασμό χημικών ουσιών "φαρμάκων" που θα δεσμευτούν εκλεκτικά με συγκεκριμένες θέσεις στον υποδοχέα. Η κλωνοποίηση ενός μεγάλου αριθμού υποδοχέων οδήγησε στον προσδιορισμό της αλληλουχίας των αμινοξέων που απαρτίζουν το μόριό του. Η χρήση της τεχνικής της κατευθυνόμενης μεταλλαξιγένεσης, σε συνδυασμό με φαρμακολογική ανάλυση και την χρήση υπολογιστικών μοντέλων του υποδοχέα, οδήγησε στις αρχές της δεκαετίας του 1990 στην ταυτοποίηση των αμινοξέων που παίζουν καθοριστικό ρόλο στη δέσμευση του β_2 -αγωνιστή ισοπροτερενόλη με τον β_2 -αδρενεργικό υποδοχέα. Η καρβοξυλομάδα του ασπαρτικού οξέος στη θέση 113 της τρίτης διαμεμβρανικής περιοχής θεωρείται σημαντική για τη δημιουργία ιονικών δεσμών με την αμινομάδα της κατεχολαμίνης. Εάν το ασπαρτικό οξύ μεταλλαχθεί στο αμινοξύ σερίνη, τότε οι κατεχολαμίνες δεν έχουν πλέον δράση αγωνιστή στον υποδοχέα ούτε φαρμακολογική αποτελεσματικότητα. Το ασπαρτικό οξύ βρίσκεται στην ίδια θέση στον μουσκαρινικό χολινεργικό υποδοχέα και η μεταλλαξή του επηρεάζει τη δέσμευση των αγωνιστών. Τούτο υπονοεί ότι το ασπαρτικό οξύ αλληλεπιδρά με το άζωτο της αμίνης στο μόριο της ακετυλοχολίνης. Οι αδρενεργικοί και οι μουσκαρινικοί χολινεργικοί υποδοχείς ανήκουν στην υπεροικογένεια των υποδοχέων που συνδέονται με τις G-πρωτεΐνες. Με τεχνικές μοριακής βιολογίας (δημιουργία χίμαιρων και κατευθυνόμενη μεταλλαξιγένεση) έχουν προσδιοριστεί επιπλέον οι θέσεις των αμινοξέων στη δομή του υποδοχέα που είναι υπεύθυνες για την εκλεκτικότητα των προσδετών για συγκεκριμένους υποτύπους υποδοχέων (π.χ. a1, a2,

β1, β2 αδρενεργικών υποδοχέων). Επιπλέον, έχουν καθοριστεί οι θέσεις στον υποδοχέα που είναι υπεύθυνες για τη λειτουργική σύζευξη του υποδοχέα με τις G-πρωτεΐνες που οδηγεί στη φαρμακολογική απάντηση.

Για πάρα πολλά συστήματα δεν έχει ακόμη προσδιοριστεί η θέση δέσμευσης του προσδέτη - φαρμάκου και δεν υπάρχει εγγύηση ότι θα βρεθεί, παρότι ο υποδοχέας ή το ένζυμο έχουν απομονωθεί, καθαριστεί σε μεγάλες συγκεντρώσεις και έχει γνωστοποιηθεί η δομή και η τοπολογία τους.

Εάν ο στρατηγικός στόχος για τη σύνθεση νέων φαρμάκων είναι η αναγνώριση της θέσης στον υποδοχέα που δεσμεύεται το φάρμακο, τότε υπάρχουν δύο βασικά ζητήματα στα οποία θα πρέπει να δοθεί προσοχή. Στην πρώτη περίπτωση, θα μπορούσε η αλληλουχία των αμινοξέων του υποδοχέα να είναι γνωστή, αλλά να παραμένει αδιευκρίνιστη η θέση δέσμευσης του προσδέτη. Στη δεύτερη περίπτωση, ο ερευνητής μπορεί να στοχεύει στον προσδιορισμό μιας εναλλακτικής αλλοστερικής θέσης δέσμευσης στο μόριο του υποδοχέα, διαφορετική από αυτή του προσδέτη, η οποία, όταν ενεργοποιείται, τροποποιεί τη λειτουργία του υποδοχέα.

Τα τελευταία χρόνια, η γνωστή πρωτεΐνική δομή των υποδοχέων ή άλλων μεγαλομορίων έχει χρησιμοποιηθεί για εικονικό (virtual) drug screening. Οι μέθοδοι αυτοί βασίζονται α) στην ομολογία που υπάρχει ανάμεσα σε διαφορετικά μόρια και β) στη χρήση έξυπνων μηχανών που χρησιμοποιούν αλγορίθμους για τον προσδιορισμό της δομής της υπό μελέτη πρωτεΐνης (www.molsoft.com). Δεδομένου ότι τα κύρια αμινοξέα στις θέσεις δέσμευσης δεν τροποποιούνται κατά την εξέλιξη σε πολλά είδη οργανισμών, με τη σύγκριση των αλληλουχιών γνωστών πρωτεΐνων, κάποια μεγάλα κομμάτια της πρωτεΐνης ταυτοποιούνται και θεωρούνται πιθανές θέσεις δέσμευσης ή ενεργά κέντρα (www.accelrys.com). Ένα παράδειγμα αυτού του φαινομένου είναι η τριάδα σερίνης-ιστιδίνης-ασπαρτικού οξέος που αποτελεί το καταλυτικό κέντρο των πρωτεασών της σερίνης.

Σε πολλές περιπτώσεις η δομή της υπό μελέτης πρωτεΐνης δεν είναι γνωστή και ως εκ τούτου δεν μπορεί να συγκριθεί με ήδη γνωστές δομές. Στην περίπτωση αυτή υπάρχουν αρκετοί διαφορετικοί οδοί μελέτης που μπορούν να χρησιμοποιηθούν. Η κρυσταλλική δομή ενός μέλους μιας οικογένειας πρωτεΐνων χρησιμοποιείται για τη δημιουργία υπολογιστικού μοντέλου που θα εμφανίσει τις δομές των άλλων μελών της οικογένειας. Καθώς αυξάνονται οι βάσεις δεδομένων με αλληλουχίες πρωτεΐνων ως αποτέλεσμα των μελετών της γενωμικής (genomic) και της πρωτεωμικής (proteomic), αυξάνεται η πίεση για τη μετατροπή των δεδομένων αυτών σε πληροφορία που θα χρησιμεύσει για τη δημιουργία φαρμάκων - στόχων.

Παρότι η υπολογιστική επιστήμη παρέχει σημαντικές πληροφορίες σχετικά με το ποια μόρια παρουσιάζουν ενδιαφέρον για να συντεθούν, δεν παρέχει τις τελικές φαρμακολογικές απαντήσεις. Οι νέες χημικές ουσίες θα πρέπει να μελετηθούν σε βιολογικά συστήματα για να αξιολογηθεί η φαρμακολογική τους δράση.