



Ευρωπαϊκή Ένωση
Ευρωπαϊκό Κοινωνικό Ταμείο



ΕΠΙΧΕΙΡΗΣΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ
ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ ΚΑΙ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗ
επένδυση στην κοινωνία της γνώσης

ΥΠΟΥΡΓΕΙΟ ΠΑΙΔΕΙΑΣ ΚΑΙ ΘΡΗΣΚΕΥΜΑΤΩΝ
ΕΙΔΙΚΗ ΥΠΗΡΕΣΙΑ ΔΙΑΧΕΙΡΙΣΗΣ

Με τη συγχρηματοδότηση της Ελλάδας και της Ευρωπαϊκής Ένωσης



ΕΥΡΩΠΑΪΚΟ ΚΟΙΝΩΝΙΚΟ ΤΑΜΕΙΟ

ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΔΙΑ ΒΙΟΥ ΜΑΘΗΣΗΣ ΑΕΙ ΓΙΑ ΤΗΝ ΕΠΙΚΑΙΡΟΠΟΙΗΣΗ ΓΝΩΣΕΩΝ ΑΠΟΦΟΙΤΩΝ ΑΕΙ (ΠΕΓΑ)

«Οι σύγχρονες τεχνικές βιο-ανάλυσης στην υγεία, τη γεωργία, το περιβάλλον και τη διατροφή»

Ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων (φάρμακα υψηλής ραπτικής)

Δημ. Δ. Λεωνίδας

Τμήμα Βιοχημείας και Βιοτεχνολογίας
Πανεπιστήμιο Θεσσαλίας

Τα φάρμακα εξοντώνουν τους ανεπιθύμητους εχθρούς που εισβάλλουν και απειλούν τον οργανισμό μας, ανακουφίζουν από πόνους και θεραπεύουν ασθένειες του ανθρώπινου οργανισμού αποκαθιστώντας γενικότερα την ανθρώπινη υγεία.

Ο άνθρωπος από τα αρχαία χρόνια προσπαθούσε να ανακαλύψει σκευάσματα που θα τον ανακούφιζαν και θα τον βοηθούσαν να αντιμετωπίσει τις διάφορες ασθένειες. Έτσι ανακάλυπτε, μέσω κυρίως της μεθόδου δοκιμής και λάθους, ποιά μούρα, ρίζες, βότανα ή φύλλα θα μπορούσε να χρησιμοποιήσει για να ανακουφίσει τα συμπτώματα μιας ασθένειας. Όλοι οι αρχαίοι πολιτισμοί έκαναν ανακαλύψεις σε αυτόν τον τομέα και τα Κινέζικα βότανα είναι ίσως το πλέον γνωστά. Ο Παράκελσος (1493-1541) και ο Jakob Böhme (1575-1624) εισήγαγαν την ιδέα ότι ο Θεός έχει «δώσει σε κάθε είδος χαρακτηριστικές θεραπευτικές ιδιότητες τις οποίες ο άνθρωπος έπρεπε να αποκαλύψει». Π.χ. πέταλα αγριόκρινου για τη θεραπεία σε μώλωπες, βρύα, για τη θεραπεία ηπατικών παθήσεων ή χρυσόβεργες για τη θεραπεία του ίκτερου (Διαφάνεια 2). Στο παρελθόν τα περισσότερα φάρμακα έχουν ανακαλυφθεί είτε με τον προσδιορισμό του ενεργού

συστατικού από τις παραδοσιακές θεραπείες είτε από τυχαία ανακάλυψη. Ένα από τα πλέον γνωστά αναλγητικά φάρμακα είναι η ασπιρίνη της οποίας η ανακάλυψη βασίστηκε σε κείμενα του Ιπποκράτη ο οποίος συνιστούσε το φλοιός της ιτιάς (Salix) ως ίαμα κατά του πυρετού και των πόνων. Το 1829 οι επιστήμονες ανακάλυψαν πως ο φλοιός της ιτιάς περιέχει μια ουσία που ονομάζεται σαλικίνη που του παρείχε τις αναλγητικές ιδιότητες. Τη χρονιά εκείνη ο Henri Leroux ανέπτυξε μία μέθοδο για την εξαγωγή της σαλικίνης από τους φλοιούς της ιτιάς (30g από 1.5 Kg φλοιού) και το 1838 η Raffaele Piria κατάφερε να διαχωρίσει τα συστατικά της σαλικίνης σε ένα σάκχαρο και ένα αρωματικό συστατικό τη σαλυκυλαλδεύδη την οποία στη συνέχεια μετέτρεψε χημικά σε σαλικυλικό οξύ: απομόνωση της βιοδραστικής ένωσης από το φυτό. Το 1899 ο Felix Hoffman που εργαζόταν στην εταιρεία Bayer κατάφερε να συνθέσει το σαλικυλικό οξύ και να κατοχυρώσει για την εταιρεία στην οποία εργαζόταν δίπλωμα ευρεσιτεχνίας (1900). Το 1915 τα πρώτα χάπια ασπιρίνης διατέθηκαν στο εμπόριο (Διαφάνεια 3). Να σημειώσουμε εδώ πως από την ανακάλυψη του βιοδραστικού συστατικού του φλοιού της ιτιάς μέχρι την εμπορική του διάθεση μεσολάβησαν σχεδόν 80 έτη. Παρόμοια είναι και η ιστορία της πενικιλίνης, του πλέον γνωστού αντιβιοτικού που ανακαλύφθηκε τυχαία μετά από παρατηρήσεις του Άγγλου ερευνητή Αλεξάντερ Φλέμινγκ το 1928 ο οποίος παρατήρησε ότι η πράσινη μούχλα παρήγαγε μια ουσία που ανέστελλε τη δραστηριότητα μερικών βακτηρίων και την ονόμασε πενικιλίνη. Η ουσία απομονώθηκε το 1940 από τον Ερνστ Τσέιν μέλος μιας ομάδας με επικεφαλής τον Χάουαρντ

Γουόλτερ Φλόρεϊ. Το 1942 άρχισε η βιομηχανική παραγωγή πενικιλίνης στις Η.Π.Α. Ο Φλέμινγκ, ο Τσέιν και ο Φλόρεϊ τιμήθηκαν με το βραβείο Νόμπελ το 1945 για τις εργασίες τους πάνω στην πενικιλίνη. Το σκεύασμα που χρησιμοποιείται στην ιατρική είναι μείγμα διαφόρων ειδών πενικιλίνης με τη μορφή αλάτων νατρίου και ασβεστίου. (Διαφάνεια 4).

Σήμερα, η έρευνα και ανάπτυξη ενός φαρμάκου απαιτεί μακροχρόνια επένδυση διάρκειας από 10 έως 15 έτη, ενώ προϋποθέτει την διεξαγωγή μεγάλων και δαπανηρών κλινικών μελετών. Μία επιπλέον επιβάρυνση του συνολικού κόστους Έρευνας και Ανάπτυξης, προέρχεται από το γεγονός ότι σήμερα πλέον απαιτείται η απόδειξη – πέραν της ασφάλειας και αποτελεσματικότητας του εκάστοτε φαρμάκου – και της πρόσθετης αξίας που παρέχει στην ποιότητα ζωής των ασθενών. Η ανακάλυψη και ανάπτυξη νέων φαρμάκων γίνεται όλο και πιο δύσκολη, με μόνο 1 στα 10.000 νέα μόρια που διερευνούνται, να καταλήγει ως νέο φάρμακο στην αγορά (Διαφάνειες 5 και 6). Σύμφωνα με την έκθεση του Ευρωπαϊκού Συνδέσμου Φαρμακευτικών Επιχειρήσεων (EFPIA) του 2007, κατά μέσο όρο το κόστος της έρευνας και ανάπτυξης μίας νέας χημικής ουσίας υπολογίζεται στο € 1 δισεκατομμύριο. Ωστόσο, το πλέον δαπανηρό και πιο χρονοβόρο στάδιο στην έρευνα και ανάπτυξη φαρμάκων, είναι οι κλινικές μελέτες (Φάσεις I, II και III) κατά τις οποίες διερευνάται η δράση μιας υπό έρευνα ουσίας στους ανθρώπους. Αυτό καθιστά την φαρμακοβιομηχανία σε παγκόσμιο επίπεδο τον μεγαλύτερο επενδυτή σε έρευνα και ανάπτυξη, από οποιονδήποτε άλλο κλάδο.

Πώς όμως σχεδιάζεται ένα φάρμακο σήμερα;

Η διαδικασία δεν είναι απλή καθώς δεν πρόκειται για ένα πείραμα, αλλά για μια σειρά διαδικασιών. Οι επιστήμονες αφού αναγνωρίσουν την ασθένεια, αναζητούν την αιτία της, δηλαδή τον παθογόνο παράγοντα που την προκάλεσε, ο οποίος μπορεί να είναι ιός, βακτήριο, ή μια μετάλλαξη στο DNA, στη συνέχεια στοχεύουν στην εξόντωση του. Μέχρι πριν από μια δεκαετία, τα φάρμακα ανακαλύπτονταν μέσα από πειράματα με εκατομμύρια χημικές ουσίες που δοκιμάζονταν μία προς μία για να καταπολεμήσουν τον παθογόνο παράγοντα, και οι επιστήμονες παρατηρούσαν ποια δρούσε και «κέρδιζε τη μάχη εξολοθρεύοντας τον εχθρό». Σήμερα αντίθετα, οι επιστήμονες εφαρμόζουν μία ορθολογική στρατηγική και στοχεύουν εξ' αρχής στο δυνατό σημείο του παθογόνου παράγοντα, στο συστατικό δηλαδή εκείνο που του εξασφαλίζει την επιβίωση και είναι συνήθως μία πρωτεΐνη. Στη νέα αυτή προσέγγιση επιχειρείται να γίνει κατανοητό πώς η ασθένεια ή η μόλυνση ελέγχεται σε μοριακό και φυσιολογικό επίπεδο. Εξετάζοντας την τρισδιάστατη δομή της πρωτεΐνης αυτής, οι επιστήμονες προβαίνουν στο σχεδιασμό της χημικής ουσίας ή αντισώματος που θα απενεργοποιήσει την πρωτεΐνη πετυχαίνοντας το επιθυμητό αποτέλεσμα: να θεραπευτεί ο ασθενής. Όλο λοιπόν το μυστικό της δημιουργίας των φαρμάκων κρύβεται στο σχεδιασμό της «ουσίας – όπλο» που θα καταστρέψει επιλεκτικά το συστατικό επιβίωσης του παθογόνου παράγοντα, και τελικά θα τον εξοντώσει. Η ουσία που σχεδιάζεται ως υποψήφιο

φάρμακο βελτιστοποιείται με βάση τη δραστικότητα, την απορρόφηση, την κατανομή της στον οργανισμό, το μεταβολισμό της, την απέκκριση από τον οργανισμό και την τοξικότητα πριν δοκιμαστεί σε ανθρώπους. Το σχεδιασμό φαρμάκων ακολουθούν προκλινικές και κλινικές δοκιμές. Αν η «ουσία – όπλο» έχει το επιθυμητό προφίλ, ελέγχεται αρχικά η δραστικότητά της σε θηλαστικά ζώα, όπως για παράδειγμα σε ποντίκια (προκλινικές δοκιμές). Σε επόμενο στάδιο, ακολουθούν κλινικές μελέτες, με τέσσερις φάσεις. Πρώτη έρχεται η Φάση 0, όπου μελετάται η επίπτωση που έχει το φάρμακο στον οργανισμό (φαρμακοδυναμική) και ο οργανισμός στο φάρμακο (φαρμακοκινητική) σε θηλαστικά ζώα. Στο επόμενο στάδιο (Φάση 1) το υποψήφιο φάρμακο χορηγείται σε μικρό δείγμα υγιών εθελοντών (20-80 άτομα), για να μελετηθεί η τοξικότητα της ουσίας και η δοσολογία. Στη Φάση 2, χορηγείται σε ασθενείς (100-300) για να διαπιστωθεί η δραστικότητά του και τέλος (Φάση 3) σε ακόμα μεγαλύτερο δείγμα ασθενών (1000 – 3000). Στο τελικό στάδιο (Φάση 4) και αφού ολοκληρωθούν όλες οι παραπάνω δοκιμές το φάρμακο εγκρίνεται από τον δημόσιο οργανισμό φαρμάκων κάθε χώρας και προωθείται στην αγορά, φτάνοντας τελικά στον καταναλωτή. Η διαδικασία σχεδιασμού ενός καινούριου φαρμάκου διαρκεί 12 – 15 έτη και το κόστος αγγίζει τα 800 εκατ. ευρώ. Τα κέρδη από τις πωλήσεις ενός ισχυρού ή δημοφιλούς φαρμάκου όμως μπορεί να φθάσουν και τα 12 δις ευρώ το χρόνο! (Διαφάνεια 7).

Ο σχεδιασμός καινοτόμων φαρμακευτικών μορίων επιτελείται λοιπόν, με δύο κύριες διεργασίες, το συστηματικό ή ορθολογικό

τρόπο και το μη συστηματικό ή εμπειρικό. Ο μη συστηματικός ή εμπειρικός τρόπος σχεδιασμού νέων εν δυνάμει βιοδραστικών μορίων, βασίζεται στη γνώση την οποία έχει ο ερευνητής για το σύστημα καθώς και τη διαίσθηση του. Ο συστηματικός ή ορθολογικός συνίσταται:

(α) Στην ταυτοποίηση και αποτίμηση του φαρμακευτικού στόχου.

(β) Στην ανάπτυξη μίας μεθόδου μέτρησης της βιοδραστικότητας των εν δυνάμει φαρμάκων.

(γ) Στην κατανόηση των φυσικοχημικών και φαρμακοκινητικών παραμέτρων που προσδιορίζουν την αλληλεπίδραση του φαρμάκου στο κέντρο δράσης. Αυτές οι παράμετροι περιλαμβάνουν την ανάλυση διαμορφωτικού χώρου των μορίων, τον προσδιορισμό των θέσεων πρόσδεσης στο κέντρο δράσης (docking), το οποίο μπορεί να είναι η βιολογική μεμβράνη ή ο διαμεμβρανικός υποδοχέας καθώς και την αξιολόγηση των θέσεων αυτών για την ανάδειξη της βέλτιστης (scoring) μέσω υπολογιστικής σάρωσης.

(δ) Στο σχεδιασμό νέων φαρμακοφόρων τμημάτων τα οποία βελτιστοποιούν τις φυσικοχημικές αλληλεπιδράσεις με το κέντρο δράσης.

(ε) Στη σύνθεση νέων ενώσεων και στον χαρακτηρισμό της βιοδραστικότητας τους

(στ) Στον προσδιορισμό των φαρμακοκινητικών και τοξικολογικών τους παραμέτρων με υπολογιστικές μεθόδους.

(ζ) Στη δοκιμή τους σε ζώα και στη συνέχεια σε κλινικές δοκιμές.

Είναι κατανοητό ότι ο ορθολογικός σχεδιασμός υπερτερεί του μη συστηματικού τρόπου σχεδιασμού φαρμακευτικών μορίων, γιατί βασίζεται στη γνώση σε μοριακό επίπεδο του υπό μελέτη συστήματος. (Διαφάνεια 8).

Σήμερα, υπάρχουν αρκετά πετυχημένα παραδείγματα παραγωγής φαρμάκων που σχεδιάσθηκαν και αναπτύχθηκαν με βάση τον ορθολογικό σχεδιασμό (Διαφάνεια 9). Ο κύκλος του ορθολογικού σχεδιασμού (Διαφάνεια 10) περιλαμβάνει τον προσδιορισμό των υποψηφίων, σύνθεση, χαρακτηρισμός, διαλογή, και δοκιμές για τη θεραπευτική αποτελεσματικότητα. Μόλις παρουσιάσει μια ένωση αξία της σε αυτές τις δοκιμές, θα αρχίσει η διαδικασία ανάπτυξης φαρμάκων πριν από κλινικές δοκιμές (Διαφάνεια 11). Η μέθοδος απαιτεί το συνδυασμό και την αλληλεπίδραση αρκετών ερευνητικών πεδίων όπως η Συνθετική οργανική χημεία, η βιοχημεία, η βιολογία, η υπολογιστική χημεία (Διαφάνεια 12) για την ανταλλαγή πειραματικών δεδομένων αλλά και προσεγγίσεων.

Η επιλογή του φαρμακευτικού στόχου, του βιομορίου που εμπλέκεται στη βιολογική εκείνη διεργασία την οποία θέλουμε να τροποποιήσουμε σε μία παθολογική κατάσταση είναι πολύ σημαντική. Θα πρέπει το βιομόριο αυτό να είναι μοναδικό, να είναι σημαντικό για τη βιοχημική πορεία και να μπορεί να μελετηθεί η δράση του σχετικά εύκολα (Διαφάνεια 13). Σήμερα οι φαρμακευτικοί στόχοι είναι κυρίως υποδοχείς και ένζυμα (Διαφάνεια 14). Γενικά, μία φαρμακευτική ένωση δρα ανταγωνιζόμενη έναν φυσιολογικό προσδέτη για σύνδεση στο κέντρο σύνδεσης του στο φαρμακευτικό μακρομοριακό στόχο (Διαφάνεια 15).

Ας ξεκινήσουμε να δούμε με περισσότερη λεπτομέρεια τα διάφορα στάδια της μεθόδου της ορθολογικής ανακάλυψης φαρμάκων. Ξεκινώντας λοιπόν στο εργαστήριο, θα πρέπει να ταυτοποιήσουμε

τον φαρμακευτικό στόχο. Σήμερα, η ταυτοποίηση μακρομοριακών στόχων (ένζυμα/υποδοχείς) είναι σχετικά εύκολη μετά την αποκωδικοποίηση του ανθρώπινου γονιδιώματος. Με τη χρήση τεχνικών ετερόλογης έκφρασης είναι δυνατή η απομόνωση σημαντικών ποσοτήτων του μακρομοριακού στόχου. Ταυτόχρονα θα πρέπει να έχουμε στη διάθεση μας αξιόπιστες πειραματικές μεθόδους για τη μέτρηση της βιοδραστικότητας και την απομόνωση του φαρμακευτικού στόχου. Η διαθεσιμότητα σήμερα τεχνικών αυτοματοποιημένης (υψηλής απόδοσης) διαλογής και μέτρησης της βιοδραστικότητας μίας σειράς βιοδραστικών ενώσεων έναντι ενός φαρμακευτικού στόχου η οποία συσχετίζεται με τη βιολογική ή φαρμακευτική δράση π.χ. ενζυμική αναστολή διευκολύνει σημαντικά αυτό το βήμα (Διαφάνεια 16).

Το επόμενο στάδιο (Διαφάνεια 17) είναι η ανακάλυψη μίας ή περισσότερων ενώσεων οδηγών. Ενώσεις οδηγοί θεωρούνται οι χημικές ενώσεις των οποίων η χημική δομή χρησιμοποιείται ως κρίωμα πάνω στο οποίο θα προστεθούν διάφορες ομάδες για την βελτιστοποίηση της βιοδραστικότητας τους. Η ανακάλυψη ενώσεων οδηγών μπορεί να προέλθει με πολλούς τρόπους αν και μέχρι σήμερα τα περισσότερα φάρμακα έχουν προκύψει μετά από διαλογή ενώσεων από φυσικά προϊόντα (φυτικό βασίλειο, κόσμος των μικροβίων, θαλάσσιος κόσμος, ζωικές πηγές, τοξίνες και δηλητήρια) (Διαφάνεια 18). Σε αρκετές περιπτώσεις έχουν προέλθει από τύχη, όπως η πενικιλίνη ή το Librium (Διαφάνεια 19), αλλά σήμερα υπάρχουν εμπορικά διαθέσιμες βιβλιοθήκες που

περιλαμβάνουν ένα μεγάλο πλήθος ενώσεων που έχουν συντεθεί με μεθόδους συνδυαστικής χημείας (Διαφάνεια 20). Αν και η σάρωση αυτών των βιβλιοθηκών είναι σήμερα αρκετά δημοφιλής και έχει επιταχύνει σημαντικά την ανακάλυψη καινοτόμων φαρμάκων το μεγάλο μειονέκτημα τους είναι η μικρή δομική τους ποικιλία (Διαφάνεια 21). Ενώσεις οδηγού επίσης μπορούν να προέλθουν και από την τροποποίηση φαρμάκων που είχαν ανεπιθύμητες παρενέργειες ή την απομόνωση ενεργών συστατικών από παραδοσιακές φαρμακευτικές ουσίες (Διαφάνεια 22). Με τέτοιες μεθόδους προέκυψαν παράγωγα της ασπιρίνης με ισχυρότερες βιοδραστικές ιδιότητες (Διαφάνεια 23). Η τροποποίηση ήδη γνωστών βιοδραστικών ενώσεων παρουσιάζει και αυτή αρκετά μειονεκτήματα όπως το «παράδοξο της ομοιότητας» όπου η τροποποίηση μίας ένωσης με δύο μικρές διαφορετικές χημικές ομάδες μπορεί να οδηγήσει σε βιοδραστική ή μη ένωση (Διαφάνεια 24). Μία πρόσφατη και αρκετά υποσχόμενη μέθοδος είναι η ανακάλυψη ενώσεων οδηγών μέσα από τη σύνδεση θραυσμάτων ή τμημάτων χημικών ενώσεων που έχουν συμπληρωματικότητα ως προς εντοπισμένους θύλακες του κέντρου σύνδεσης του φαρμακευτικού στόχου (Διαφάνεια 25). Πόση εξειδίκευση όμως πρέπει να έχει μία φαρμακευτική ουσία για το στόχο της; Μερικοί απλοί υπολογισμοί (Διαφάνεια 26) μπορούν να μας οδηγήσουν στο συμπέρασμα πως συνήθως με δοσολογία 1 mg βιοδραστικής ένωσης θα υπάρχει ένα μόριο της ένωσης ανά 100.000 κυτταρικά μόρια το οποίο σημαίνει πως για να είναι δραστικό ένα φάρμακο θα πρέπει αγκιστεία του προς τον στόχο του να είναι

της τάξης nM ή μικρότερη. Η αγκιστεία όμως ενός μορίου για μία πρωτεΐνη στόχο εξαρτάται άμεσα από την ποσότητα αλλά και την ποιότητα των αλληλεπιδράσεων τους. Σήμερα, η μόνη τεχνική που μπορεί να μας προσφέρει αναλυτικές δομικές πληροφορίες για τη σύνδεση ενός μορίου σε μία πρωτεΐνη είναι η κρυσταλλογραφία ακτίνων Χ. Η ανακάλυψη λοιπόν, ενώσεων οδηγών προϋποθέτει τη γνώση της τρισδιάστατης δομής του φαρμακευτικού στόχου σε σύμπλοκο με ένα ή περισσότερα εν δυνάμει φάρμακα μέσω κρυσταλλογραφίας ακτίνων Χ (τα στάδια της εμφανίζονται στη Διαφάνεια 27). Η μέθοδος του κατευθυνόμενου από τη δομή σχεδιασμού φαρμάκων, συνίσταται στην ανάλυση των δομικών πληροφοριών και κυρίως των αλληλεπιδράσεων στις οποίες οφείλεται η σύνδεση των διαφόρων προσδετών στο στόχο (Διαφάνεια 28) και στην επακόλουθη σχεδίαση ενώσεων που θα εκμεταλλεύονται όλες τις δυνατές αλληλεπιδράσεις με την πρωτεΐνη μεγιστοποιώντας την αγκιστεία της ένωσης-προσδέτη προς την πρωτεΐνη στόχο. Εναλλακτικά, μπορεί να γίνει δομική σάρωση με υπολογιστικές μεθόδους τμημάτων προσδετών (Διαφάνεια 29) που μπορεί να έχει μεγαλύτερο πιθανότητες επιτυχίας μέσω του σημαντικά μεγάλου αριθμού ενώσεων που δοκιμάζονται και της ταχείας βελτιστοποίησης του μέσω της δομής. Ενώσεις οδηγού μπορούν να προκύψουν επίσης και με παραλλαγή της μεθόδου αυτής μέσω της εξέλιξης μοναδιαίων θραυσμάτων (Διαφάνεια 30). Σε κάθε περίπτωση η διαδικασία αποτελεί μια πυραμίδα (Διαφάνεια 31) όπου ξεκινάμε από μία πληθώρα ενώσεων και μέσω των πληροφοριών που λαμβάνουμε από τα κρυσταλλογραφικά δεδομένα και τα

πειράματα βιοδραστικότητας οδηγούμαστε στην επιλογή του πλέον βιοδραστικού μορίου. Η μέθοδος του κατευθυνόμενου-από-τη-δομή σχεδιασμού φαρμάκων εστιάζεται λοιπόν, στον προσδιορισμό της τρισδιάστατης (3D) δομής του μακρομορίου-στόχου. Η ανάλυση της 3D δομής (Διαφάνεια 32) οδηγεί στην ταυτοποίηση και χαρακτηρισμό των αλληλεπιδράσεων στόχου/μικρού μορίου όπως δεσμών υδρογόνου, ηλεκτροστατικών αλληλεπιδράσεων και δυνάμεων van der Waals (Διαφάνεια 33), στον εντοπισμό μεταβολών είτε στη σύνδεση εσωτερικών μορίων ύδατος, είτε στην ίδια την πρωτεΐνη και γενικά παραγόντων που καθορίζουν τη μοριακή αναγνώριση (Διαφάνεια 34). Η γνώση της 3D δομής οδηγεί στην κατανόηση του μηχανισμού δράσης του μακρομοριακού στόχου και βοηθά αποτελεσματικά στο σχεδιασμό, σύνθεση και βελτιστοποίηση νέων, πλέον ενεργών, ενώσεων με αυξημένη συγγένεια και εξειδίκευση. Η επιτυχία στην ανακάλυψη ενός φαρμάκου εξαρτάται απόλυτα από τις αρχές που διέπουν την μοριακή αναγνώριση. Επίσης, η εξειδίκευση ή τουλάχιστον η εκλεκτικότητα της σύνδεσης του στον πρωτεϊνικό στόχο είναι απολύτως αναγκαία. Το φάρμακο της Agouron nelfinavir για το AIDS (εμπορικό όνομα Viracept) είναι ένα από τα φάρμακα το οποίο προήλθε εξολοκλήρου από τις μεθόδους ανακάλυψης ενώσεων οδηγών μέσω θραυσμάτων (Διαφάνεια 35) και της εξέλιξης τους μέσω της ανάλυσης της δομής συμπλόκων μεταξύ του φαρμακευτικού στόχου (πρωτεάση του HIV) και μικρών μορίων (Διαφάνεια 36). Ένα από τα πρώτα φάρμακα που σχεδιάστηκαν αξιοποιώντας τη δομική πληροφορία είναι το αντιγριπικό Relenza.

Το φάρμακο αυτό αναστέλλει τη δράση της νευραμινιδάσης, μιας πρωτεΐνης η οποία εντοπίζεται στην επιφάνεια του ιού της γρίπης και η οποία βοηθά στην εξάπλωσή του στον ανθρώπινο οργανισμό. Η διαλεύκανση της δομής της νευραμινιδάσης (από αυστραλούς επιστήμονες) άνοιξε τον δρόμο για τη σύνθεση αυτού του ισχυρού αναστολέα της. Ο συνδυασμός φαρμακευτικής χημείας και κρυσταλλογραφίας ακτίνων X οδήγησε επίσης στην ανάπτυξη του Gleevec, ST1571, ενός ορθολογιστικά αναπτυχθέντος αντικαρκινικού φαρμάκου, του πρώτου εξειδικευμένου αναστολέα της τυροσινικής κινάσης, του PDGF (platelet-derived growth factor) - για τη θεραπεία της χρόνιας μυελογενούς λευχαιμίας. Αυτή τη στιγμή περισσότερες από 40 ενώσεις που έχουν ανακαλυφθεί με τη μέθοδο του κατευθυνόμενου από τη δομή σχεδιασμού φαρμάκων έχουν εισέλθει σε κλινικές δοκιμές.

Ενώσεις οδηγοί είναι δυνατό να ανακαλυφθούν και με σύγκριση μίας βιβλιοθήκης μικρών μορίων με μόρια εγνωσμένης βιοδραστικότητας με τον φαρμακευτικό στόχο (Διαφάνεια 37). Επίσης πολλές φορές χρησιμοποιείται ως κρίωμα το φυσιολογικό υπόστρωμα μίας πρωτεΐνης-στόχου, όπως στην περίπτωση της συνθάσης του θυμυλιδικού, ένζυμο στόχο για το σχεδιασμό αντικαρκινικών φαρμάκων (Διαφάνεια 38). Μεταβάλλοντας τη χημική δομή του φυσιολογικού υποστρώματος είναι δυνατόν να προκύψουν μόρια με αυξημένη αχιστεία για την πρωτεΐνη-στόχο σε σχέση με το φυσιολογικό υπόστρωμα (Διαφάνεια 39) και τελικά κάποιο από αυτά να αποτελέσει

φάρμακο όπως το γνωστό AZT (Διαφάνεια 39).

Όταν ένα μικρό μόριο καθοριστεί ως πιθανός προσδέτης θα πρέπει πρώτα να αξιολογηθεί προτού περάσει στα επόμενα στάδια. Πρόδρομες ενώσεις (leads) αξιολογούνται σε σχέση με την βιοδιαθεσιμότητα τους σύμφωνα με τον κανόνα των 5 του Lipinski. Ο Christopher Lipinski πρότεινε τέσσερις παραμέτρους, για την ταυτοποίηση της “φαρμακότητας (drug-likeness)” εν δυνάμει φαρμάκων, με βάση την ανάλυση υπαρχόντων φαρμάκων. Ο κανόνας του πέντε πήρε το όνομα του από τις όρια των τιμών για κάθε παράμετρο οι οποίες έχουν όλες την τιμή 5 ή πολλαπλάσιο του 5 (Διαφάνεια 40). Ο κανόνας αποτελεί έναν από τους πιο απλούς και κοινούς τρόπους για να αξιολογηθεί ένα μόριο με βάση τις ιδιότητες ADME (Absorption, Distribution, Metabolism, Excretion) δηλαδή την απορρόφηση, κατανομή, μεταβολισμό και απέκκριση. Τα τέσσερα αυτά κριτήρια περιγράφουν τη διάθεση μιας φαρμακευτικής ένωσης εντός ενός οργανισμού και επηρεάζουν τα επίπεδα του φαρμάκου και την κινητική της έκθεσης φαρμάκου στους ιστούς και ως εκ τούτου την απόδοση και την φαρμακολογική δραστηριότητα ενός εν δυνάμει φαρμάκου. Για να αναλυθούν οι ιδιότητες ADME πραγματοποιείται ποιοτικός έλεγχος των βασικών τιμών του όπως το μοριακό βάρος (MW), το ClogP για την λιποφιλικότητα του, την πολική επιφάνεια (PSA), ο αριθμός των δοτών και δεκτών δεσμών υδρογόνου (HBD, HBA), και ο αριθμός των περιστρεφόμενων δεσμών (RB). Σύμφωνα με τον κανόνα του Lipinski ένα υποψήφιο φάρμακο δεν πρέπει να έχει μοριακό βάρος

> 500, λιποφιλία εκφρασμένης ως Clog > 5, και θέσεις δεκτών σε δεσμούς υδρογόνου > 10 και θέσεις δοτών σε δεσμούς υδρογόνου > 5. Στα όρια αυτά βασίστηκαν στις ιδιότητες του 90% των μορίων στον παγκόσμιο κατάλογο φαρμάκων (World Drug Index). Ο κανόνας του 5 θεωρεί ότι η παραβίαση σε δύο από τις παραπάνω τιμές αποτελεί ένδειξη χαμηλής απορρόφησης ή διαπερατότητας. Σήμερα οι διάφορες φαρμακευτικές εταιρείες χρησιμοποιούν πολλές περισσότερες παραμέτρους για να ελέγξουν τις ιδιότητες ADME ενός εν δυνάμει φαρμάκου πριν προχωρήσουν σε κλινικές δοκιμές (Διαφάνεια 41). Οι παράμετροι αυτοί προσδιορίζονται με υπολογιστικές μεθόδους (Διαφάνεια 42) και μπορούν να ξεχωρίσουν μεταξύ ισοδύναμων ενώσεων εκείνη που έχει τις μεγαλύτερες πιθανότητες επιτυχίας (Διαφάνεια 43) προτού προχωρήσουν σε δοκιμές που έχουν μεγάλο κόστος (όπως οι δοκιμές σε πειραματόζωα και οι κλινικές δοκιμές).

Σήμερα προτού προχωρήσουμε σε πειράματα μπορούμε να χρησιμοποιήσουμε εξειδικευμένα λογισμικά προγράμματα για την πρόγνωση των ιδιοτήτων διαφόρων ενώσεων. Για να γίνει πιο κατανοητό αυτό ας θεωρήσουμε πως σε ένα ικρίωμα (Διαφάνεια 44) προσθέτουμε διάφορους υποκαταστάτες στις διαφορετικές θέσεις X και Y. Προκύπτει έτσι μία μικρή συλλογή 22 ενώσεων (Διαφάνεια 45). Τα προγράμματα μπορούν να προβλέψουν τη βιοδραστηριότητα των ενώσεων (IC_{50}) τόσο *in vitro* όσο και *ex vivo* (ηπατοκύτταρα) και οι προβλεπόμενες τιμές βρίσκονται σε καλή συμφωνία με τα πειραματικά δεδομένα (Διαφάνεια 46). Έτσι αν συνθέσουμε μόνο την βέλτιστη ένωση

οδηγούμαστε σε πολύ καλά αποτελέσματα (Διαφάνεια 47).

Σε κάθε περίπτωση βέβαια θα πρέπει να τονίσουμε πως οι υπολογιστικές μέθοδοι δεν μπορούν να υποκαταστήσουν πλήρως τα πειραματικά δεδομένα μιας και σε αρκετές φορές αρκεί μία μικρή μεταβολή στη χημική δομή ενός εν δυνάμει φαρμάκου, π.χ. η προσθήκη μίας ομάδας υδροξυλίου να έχει σημαντική επίδραση στη βιοδραστικότητα του μορίου (Διαφάνεια 48). Επίσης αρκετές φορές το μόριο με την καλύτερη βιοδραστικότητα δεν έχει καμία χημική ή δομική ομοιότητα με γνωστούς προσδέτες ή φυσιολογικούς αναστολείς του φαρμακευτικού στόχου (Διαφάνεια 49).

Προς το παρόν τα περισσότερα φάρμακα που υπάρχουν στην αγορά έχουν σχεδιαστεί με κλασικές μεθόδους που βασίζονται σε συνεχείς δοκιμές και καμιά φορά σε εμπειρικές γνώσεις. Οι κλασικές μέθοδοι έχουν αποδειχθεί πλήρως ικανοποιητικές στο παρελθόν, αλλά οι νέες εξελίξεις στη βιολογία μοιραία θα καταστήσουν ένα μέρος αυτών παρωχημένο. Παραδείγματος χάριν, όταν δεν γνωρίζουμε τι ακριβώς προκαλεί μία ασθένεια, έχει νόημα να δοκιμάσουμε χιλιάδες μόρια για να εντοπίσουμε εκείνο που κατευνάζει τα συμπτώματά της. Τώρα όμως που βιώνουμε τη μετά την αποκωδικοποίηση του ανθρωπίνου γονιδιώματος εποχή, όπου τεράστια δεδομένα παράγονται καθημερινά, και βαθμηδόν αρχίζουμε να ανακαλύπτουμε τη μοριακή και γενετική βάση ασθενειών, ο σχεδιασμός φαρμάκων δεν θα μπορούσε να παραμείνει ανεπηρέαστος - και δεν έχει παραμείνει. Τα πρώτα φάρμακα που

σχεδιάστηκαν με γνώμονα τη δομή του μορίου του κυττάρου με το οποίο επρόκειτο να σχετιστούν για να αποτραπεί η παθογένεια κυκλοφορούν ήδη στην αγορά. Ο ορθολογικός σχεδιασμός φαρμάκων επί τη βάση της μοριακής δομής των στόχων αυτών των φαρμάκων είναι ένα ερευνητικό πεδίο με τεράστιες δυνατότητες. Είναι γεγονός ότι προς το παρόν στην πλειονότητά τους οι φαρμακευτικές ουσίες έχουν σχεδιαστεί με άλλες μεθόδους. Ωστόσο, καθώς οι γνώσεις μας αυξάνονται, είναι μοιραίο να υπάρχουν όλο και περισσότερα φάρμακα που θα προκύπτουν από τη μελέτη της τρισδιάστατης δομής των κυτταρικών συστατικών που ευθύνονται για την παθογένεια (Διαφάνεια 50).