

УДК 547.587.51:547.791/792

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ РАЦИОНАЛЬНОГО КОНСТРУИРОВАНИЯ И СИНТЕЗА БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ

В.П.Черных, С.Н.Коваленко, И.А.Журавель

Национальный фармацевтический университет,
61002, г. Харьков, ул. Пушкинская, 53. E-mail: press@ukrfa.kharkov.ua

Ключевые слова: конструирование лекарственных средств; физико-органическая химия; синтез биологически активных веществ; комбинаторная химия; биологический скрининг

Обсужден современный алгоритм поиска оригинальных синтетических средств, освещена роль физико-химических методов исследования на всех этапах конструирования и синтеза биологически активных веществ.

PHYSICAL AND CHEMICAL ASPECTS OF RATIONAL CONSTRUCTING AND SYNTHESIS OF BIOLOGICALLY ACTIVE SUBSTANCES

V.P.Chernykh, S.N.Kovalenko, I.A.Zhuravel

The modern algorithm of original synthetic substances creation has been discussed. We have established the role of physical and chemical methods of researches on all stages of biologically active substances constructing and synthesis.

ФІЗИКО-ХІМІЧНІ АСПЕКТИ РАЦІОНАЛЬНОГО КОНСТРУЮВАННЯ ТА СИНТЕЗУ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ РЕЧОВИН

В.П.Черних, С.М.Коваленко, І.О.Журавель

Обговорено сучасний алгоритм створення оригінальних синтетичних засобів, висвітлена роль фізико-хімічних методів дослідження на всіх етапах конструювання та синтезу біологічно активних речовин.

На протяжении почти 200 лет, начиная от химико-фармацевтической лаборатории Харьковского императорского университета и до настоящего времени, в Национальном фармацевтическом университете (г. Харьков) наряду с подготовкой фармацевтических кадров ведутся фундаментальные научные исследования в области синтеза, физико-химических исследований и биологического скрининга органических соединений. Их конечная цель — разработка новых оригинальных синтетических лекарственных препаратов — отечественных брендов. На сегодняшний день одной из основных задач указанного направления является повышение эффективности исследований.

Необходимость создания новых молекул во многом определяется как научными, экономическими, так и социальными факторами: увеличение продолжительности жизни, экологическая обстановка, появление новых заболеваний или их возбудителей, развитие толерантности к существующим препаратам и т.д. Кроме того, остается нерешенным ряд вопросов, связанных с лекарственной терапией таких тяжелых заболеваний, как рак, вирусные инфекции, нейродегенеративные заболевания.

При традиционном подходе к созданию лекарств проводится синтез и скрининг тысяч соединений, а этап выбора активного вещества для углубленного исследования является наиболее сложным и ответственным моментом. В современном мире автоматизированного синтеза и скрининга для того чтобы сократить расходы и уйти от примитивного перебора миллионов молекул, предложено несколько подходов, существенно рационализирующих путь поиска. Основные из них следующие:

- выяснение структуры соответствующей биологической мишени, дизайн и синтез фокусированных библиотек с учетом требования максимального взаимодействия молекулы со связывающими сайтами мишени;
- выявление молекул-хитов по результатам первичного скрининга библиотек и дизайн новых библиотек вокруг “молекул-хитов” с использованием фармакофорного моделирования или метода трехмерного количественного изучения связи структура-активность (3D-QSAR);
- применение сверхчувствительных методов автоматизированного скрининга с использованием клеточных культур или ферментных субстратов.

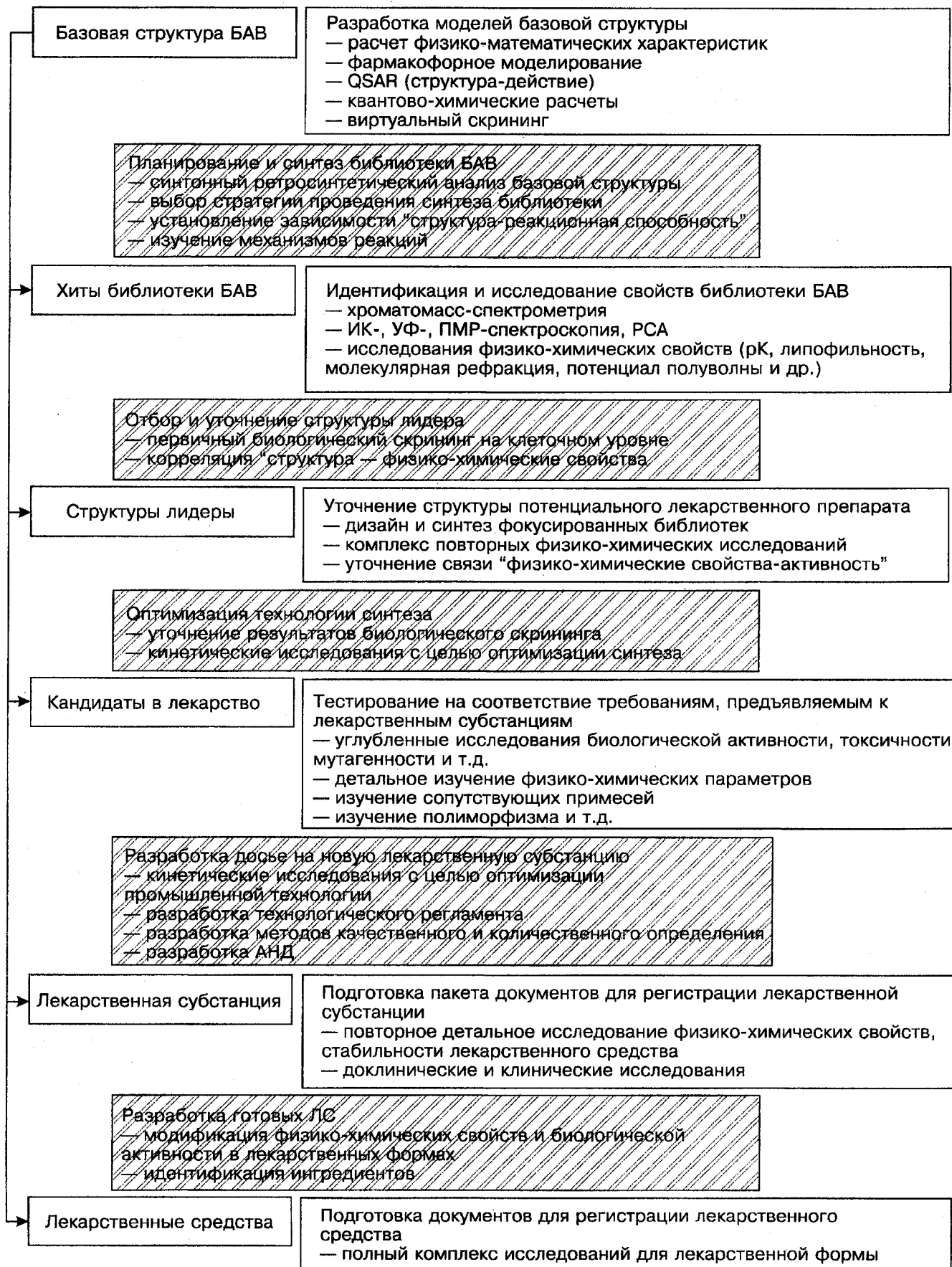


Рис. 1. Современный алгоритм создания новых оригинальных (брендовых) синтетических лекарственных средств.

В настоящее время в создании новых лекарственных препаратов все большее применение находят методы автоматизированного параллельного органического синтеза (комбинаторная химия) и высокопроизводительного автоматизированного скрининга (HTS). Кроме того, благодаря успехам геномики, в последнее время наблюдается лавинообразный процесс открытия разнообразных протеин-рецепторных мишеней, которые могут служить хорошей основой для виртуального скрининга, основанного на теоретических методах квантовой химии и молекулярной механики. Все это означает, что за последние годы методология поиска новых лекарств претерпела существенные и принципиальные изменения. Но, несмотря на достаточно широкий выбор скрининговых технологий, единого рецепта оптимального поиска кандидата в лекарство пока еще не существует.

С учетом вышеизложенного и основываясь на многолетнем опыте работы в области создания лекарственных веществ, нами предложен и реализован на практике современный алгоритм создания новых лекарственных препаратов.

Целенаправленный поиск и разработка новых лекарственных средств сегодня включают конструирование базовых структур и синтез библиотек биологически активных веществ (БАВ), изучение строения и физико-химических свойств соединений, их реакционной способности, определение особенностей кинетики и механизмов реакций, биологический скрининг, установление элементов зависимости "структура-действие", отбор наиболее перспективных веществ, разработка АНД, углубленные клинические исследования и доведение БАВ до статуса лекарственного препарата (рис. 1).

Практически на всех обозначенных этапах для решения указанных задач широко используются методы физической органической химии — начиная от выбора базовой структуры и заканчивая разработкой нормативной документации на лекарственный препарат. Объем этих исследований сегодня составляет более 60%. И их роль в создании новых лекарственных средств с каждым годом становится все более весомой.

Первый шаг дизайна будущего лекарственного средства состоит в выборе базовой "лекарствоподобной" молекулы на основе анализа физико-химических, топологических и электронных свойств всех известных прототипов и экстраполяции всех значимых свойств на новую структуру. Для этой цели используются как экспериментальные, так и теоретические методы. Так, например, первичную оценку подобия к лекарству проводят с учетом эмпирических правил Липинского, дискретного анализа лекарствоподобных структур по фармакофорным фрагментам, по корреляции величины биоэффекта с различными физико-химическими характеристиками веществ, такими как липофильность, молекулярная рефракция и т.п.

Наличие обширных баз данных лекарственных препаратов и биологически активных структур и соответствующих компьютерных программ позволяет не только отбирать, но и модифицировать химические молекулы. Виртуальный скрининг веществ по фармакологическому действию уже сегодня используется нами для конструирования веществ с заданным механизмом действия. Кроме того, работа с рентгеноструктурным банком данных биогенных молекул и их аллостерических центров дает возможность моделировать молекулярные структуры по принципу "ключ-замок".

Наряду с созданием виртуальной базовой структуры потенциального биологически активного соединения проводится ретросинтетический синтонный анализ с целью поиска соответствующих исходных реагентов и планирования стратегии синтеза комбинаторных библиотек. При прогнозировании направленности реакционного процесса широко используются методы квантовой химии, позволяющие учитывать различные индексы реакционной способности исходных реагентов: распределение зарядов на атомах, карты электростатического потенциала, распределение электронной плотности на ВЗМО и НСМО и др.

С учетом предложенного алгоритма за последние десятилетия нами синтезированы многочисленные комбинаторные библиотеки, насчитывающие в общей сложности более 20 тысяч веществ, относящихся к различным классам органических соединений [1-15] (рис. 2). Для установления чистоты и доказательства структуры всех синтезированных соединений был использован целый комплекс физико-химических и инструментальных методов анализа. В отдельных случаях с помощью спектроскопии ПМР проводилось доказательство прототропной таутомерии [16] и наличия диастереомеров [17]. При неоднозначном протекании реакции проводились хромато-масс-спектрометрические исследования и рентгеноструктурный анализ [18, 19]; для разделения компонентов использовали препаративную хроматографию.

Большая часть синтезированных соединений подвергалась фармакологическому скринингу на различные виды действия, часть из которых проводилась на клеточном уровне. При наличии высокой активности отдельной серии проводили более детальное изучение реакции получения данной библиотеки. Кинетические методы исследований позволили предложить оптимальные условия синтеза, а в ряде случаев подтвердить теоретические разработки по реакционной способности отдельных реагентов. Так, для оптимизации условий получения алифатических производных алкил-, арилсульфонамидов и арилсульфогидразидов дикарбоновых кислот проведена серия кинетических исследований взаимодействия солей этих соединений с эфирами оксаминовых кислот [20-23]. В сравнительном аспекте изучена реакционная способность таких ацилирующих

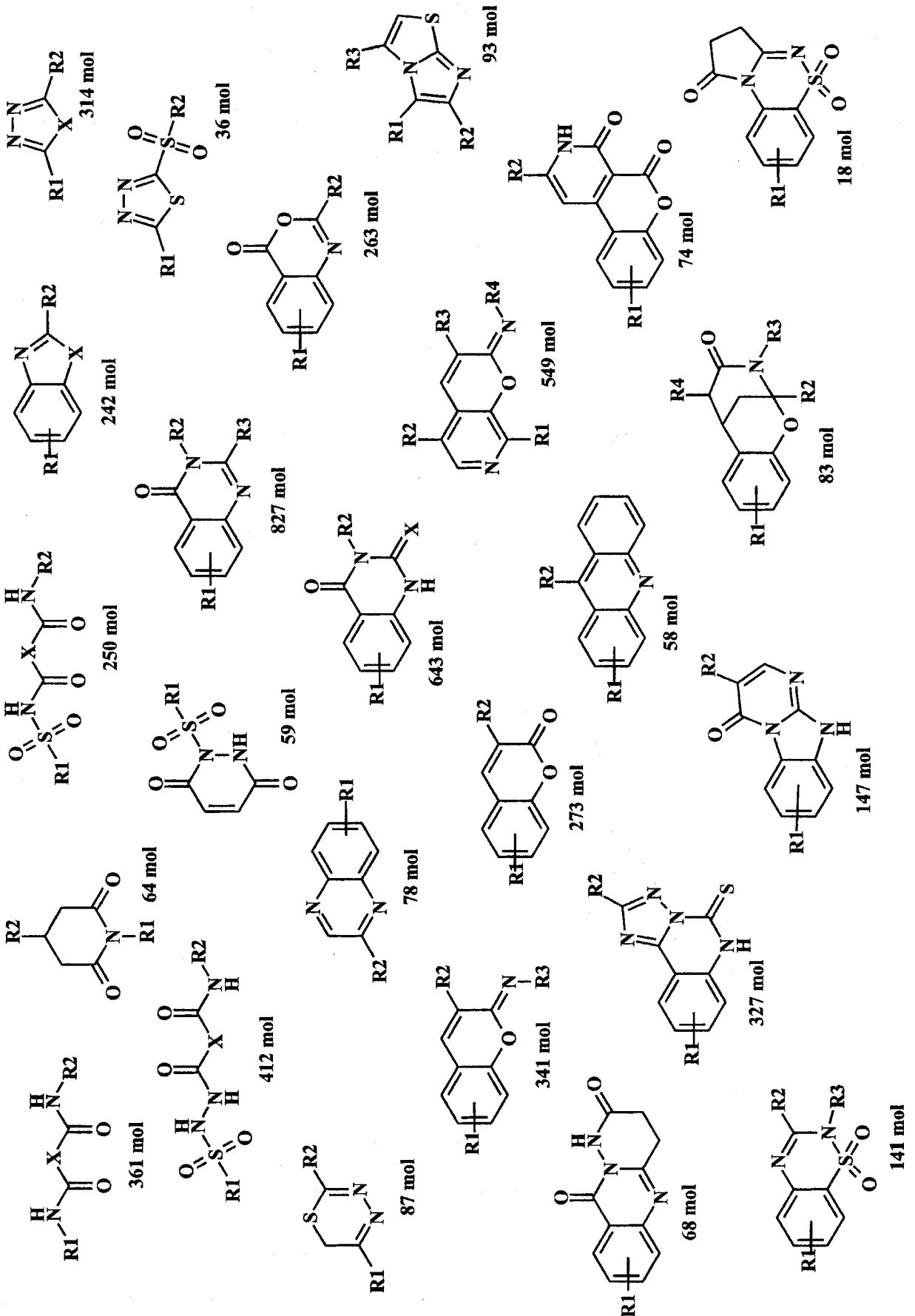


Рис. 2. Библиотеки биологически активных соединений, синтезированных на кафедре органической химии НФаУ.

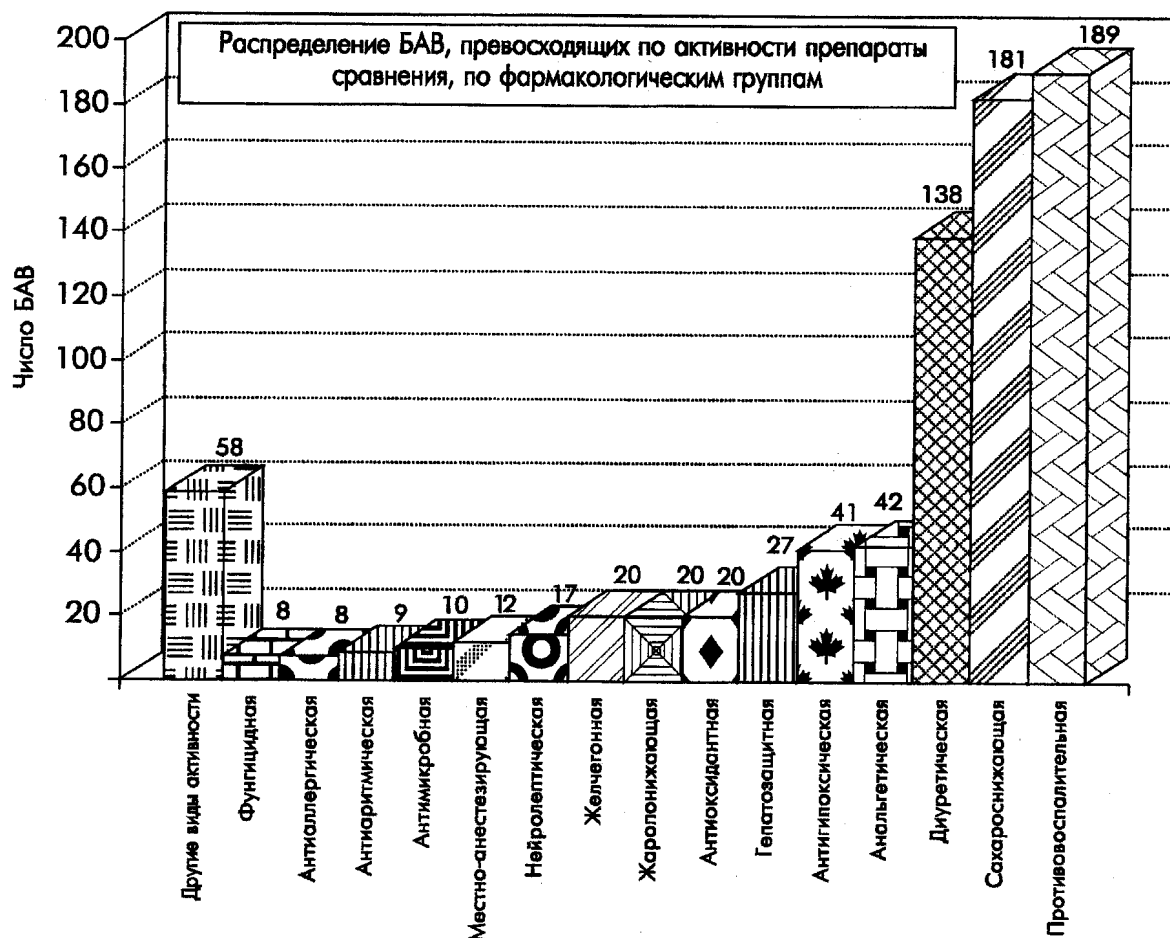
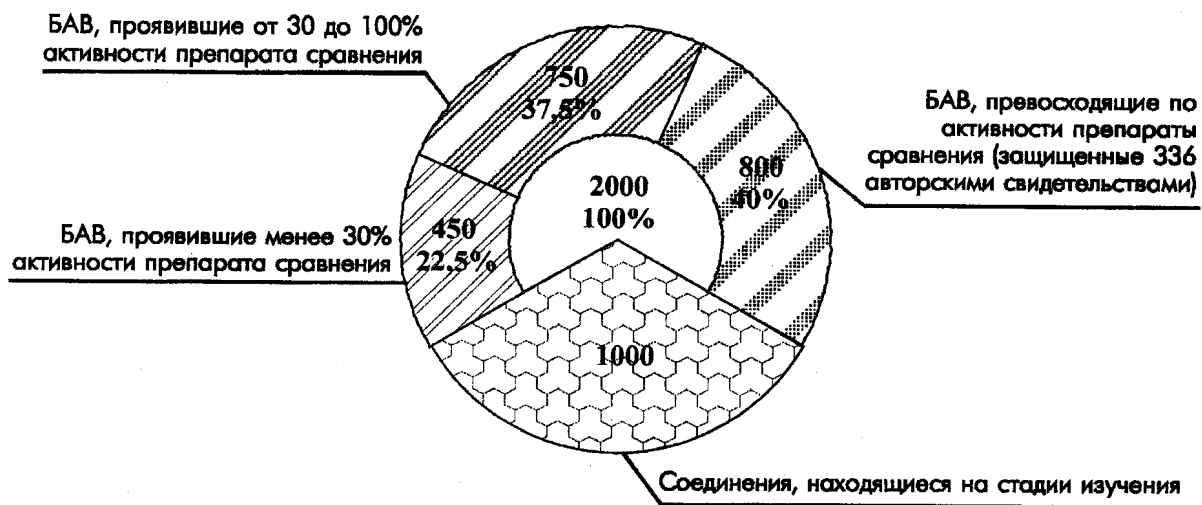


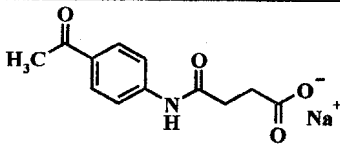
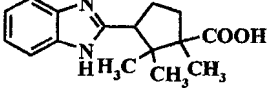
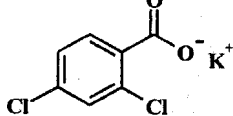
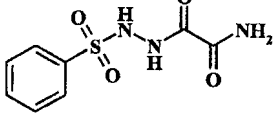
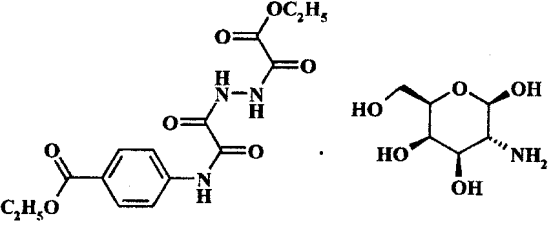
Рис. 3. Результаты фармакологического скрининга синтезированных соединений.

агентов, как ангидриды и имиды дикарбоновых кислот [24-27]. При изучении кинетики и механизма образования имидов дикарбоновых кислот проведены термогравиметрические исследования [28]. Спектрофотометрическим методом определены константы скорости реакции циклодегидратации глутараниловых кислот [29-31] и изучена кинетика гидразинолиза глутаримидов [32, 33]. Детальное изучение различных стадий синтеза в ряде случаев позволило предложить оптимальный

метод промышленного получения отдельных субстанций.

Важными физико-химическими параметрами в исследовании количественных соотношений "структура-активность" являются константы ионизации и липофильность веществ. Как известно, кислотно-основные характеристики веществ играют важную роль при изучении биодоступности соединений или обосновании биологического действия вследствие образования комплекса "лекар-

Прикладные исследования: синтез лекарственных субстанций

	<p>Сукцифенат —натриевая соль 4-ацетилсукцинаниловой кислоты. Гемостатическое средство. Завершена вторая фаза клинических испытаний.</p>
	<p>Диакамф —цис-3-(2-бензимидазолил)-1,2,2-триметилциклопентан-карбоновая кислота. Гипогликемическое средство. Завершена вторая фаза клинических испытаний.</p>
	<p>Анальбен —калиевая соль 2,4-дихлорбензойной кислоты</p>
	<p>Глисульфазид —бензолсульфогидразид оксаминовой кислоты. Гипогликемическое средство. Завершена первая фаза клинических испытаний.</p>
	<p>Оксаглюкамин —глюкозиламмонийная соль этилового эфира 4-карбэтоксиксанилоилгидразида щавелевой кислоты. Антиартрозное, противовоспалительное, кардиопротекторное, гепатопротекторное и антиаритмическое действие. Завершены клинические испытания.</p>
<p>$\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_n-\text{COOH}$</p>	<p>Пероникс —смесь пероксикарбоновых кислот. Средство для стерилизации и дезинфекции. Прошел комиссионные испытания.</p>

ственное вещество-рецептор". Поэтому для более чем 1,5 тыс. синтезированных соединений изучены константы ионизации [34-44], проведены расчеты коэффициентов электронной проводимости мостиковых групп, определены коэффициенты распределения в системе октанол-вода.

Исследование количественных соотношений "структура-активность" проведено на 20 сериях различных производных дикарбоновых кислот [45-51] (рис. 3). Изучена зависимость гипогликемической, диуретической и противовоспалительной активности от параметров кислотности и липофильности [52-55]. Подтверждением того, что сахароснижающий эффект зависит от накопления сульфгидрильных групп, являются полярографические исследования серосодержащих гетерилпроизводных дикарбоновых кислот [56-63]. Полученные закономерности взаимосвязи биологической активности и физико-химических параметров пред-

ставляют интерес для предварительной оценки фармакологической активности синтезированных соединений, а зачастую и для интерпретации их механизма действия. В рамках программы массового скрининга новых синтетических и природных веществ в Национальном институте рака США проведено изучение противораковой и противовирусной активности, в Национальном институте аллергии и инфекционных заболеваний США исследовано их туберкулостатическое действие.

Физико-химические исследования также помогают решить ряд биофармацевтических задач [64-68].

Практический результат осуществления предложенного алгоритма — оригинальные лекарственные препараты, находящиеся на различных стадиях внедрения — будущие бренды украинской фармации (табл.).

ЛИТЕРАТУРА

1. Банний І.П., Снітковський Є.Л., Черних В.П. та ін. // Вісник фармації. — 1996. — №1-2. — С. 114-119.
2. Кратасюк В.А., Макурина В.И., Кузнецова А.М. и др. // Прикл. биохимия и микробиол. — 1991. — Т. 27, вып. 1. — С. 127-133.
3. Kovalenko S.M., Parkhomenko O.O., Chernykh V.P. // Heterocycl. Commun. — 2002. — Vol. 8, №4. — P. 329-330.
4. Колесников О.В., Черних В.П., Шемчук Л.А., Канаан Х.М. // Вісник фармації. — 2002. — №4 (32). — С. 3-6.
5. Колесников О.В., Черних В.П., Шемчук Л.А. // Вісник фармації. — 2002. — №1 (29). — С. 10-13.
6. Орленко И.В., Коваленко С.Н., Черных В.П. и др. // Фізіологічно активні речовини. — 2002. — №2 (32). — С. 25-28.
7. Черных В.П., Коваленко С.Н., Былов И.Е., Васильев М.В. // Фізіологічно активні речовини. — 2001. — №1. — С. 10-13.

8. Пархоменко О.О., Коваленко С.М., Черних В.П. // Вісник фармації. — 2001. — №3 (27). — С. 16.
9. Зубков В.А., Коваленко С.Н., Черных В.П., Ивков С.М. // ХГС. — 1994. — №6. — С. 760-766.
10. Коваленко С.Н., Черных В.П., Белоконь Я.В. и др. // Казанский мед. журн. — 1995. — Т. LXXVI, №3. — С. 189-193.
11. Коваленко С.Н., Зубков В.А., Черных В.П. и др. // ХГС. — 1996. — №2. — С. 186-192.
12. Черних В.П., Коваленко С.М., Гриценко І.С. та ін. // Вісник фармації. — 1996. — №3-4. — С. 54-60.
13. Bilokin Y.V., Kovalenko S.N., Vylov I.E., Chernykh V.P. // Heterocycl. Commun. — 1998. — Vol. 4, №3. — P. 257-260.
14. Коваленко С.М., Черних В.П., Карасьов О.О., Журавель І.О. // Фізіологічно активні речовини. — 2002. — №2 (32). — С. 14-25.
15. Ковалев В.Н., Кабачный В.И., Черных В.П. // Укр. хим. журн. — 1984. — Т. 50, вып. 3. — С. 241-246.
16. Мерзликін С.И., Яременко Ф.Г., Черных В.П. // Фізіологічно активні речовини. — 2000. — №2. — С. 45-47.
17. Bilokin Y.V., Kovalenko S.N., Chernykh V.P. // Heterocycl. Commun. — 1998. — Vol. 4, №2. — P. 169-170.
18. Нестеров В.Н., Стручков Ю.Т., Коваленко С.Н., Журавель І.А. // Изв. РАН. Сер. Хим. — 1995. — №3. — С. 492-494.
19. Kovalenko S.N., Baumer V.N., Rusanova S.V., Chernykh V.P. // Z. fuer Kristallographie. — 1999. — Vol. 214. — P. 580-583.
20. Kovalenko S.M., Chernykh V.P., Baumer V.N., Kovalenko S.S. // Monatshefte fuer Chemie. — 2002. — Vol. 133, №5. — P. 673-678.
21. Петюнин П.А., Черных В.П., Банний И.П. // Реакц. способность орган. соед. — 1970. — Т. 7, вып. 1 (23). — С. 162-169.
22. Петюнин П.А., Черных В.П., Банний И.П. // ЖОрХ. — 1970. — Т. 6, вып. 5. — С. 1015-1019.
23. Черных В.П., Макурина В.И., Петюнин П.А. // Укр. хим. журн. — 1974. — Т. 40, вып. 4. — С. 414-416.
24. Черних В.П., Чувурін О.В., Яковлева Л.В. та ін. // Фармац. журн. — 1983. — №1. — С. 44-48.
25. Черних В.П., Сопельник О.М., Кабачный В.И. та ін. // Фармац. журн. — 1983. — №5. — С. 26-29.
26. Макурина В.И., Черных В.П., Гриценко І.С., Князь Е.М. // ЖОрХ. — 1986. — Т. 20, вып. 10. — С. 2155-2160.
27. Черных В.П., Гриценко І.С., Ставничук С.В. та ін. // Фармац. журн. — 1987. — №4. — С. 42-45.
28. Шемчук Л.А., Черних В.П., Шемчук Л.М. та ін. // Фармац. журн. — 1997. — №5. — С. 48-52.
29. Шемчук Л.А., Черных В.П., Шемчук Л.М. // ЖОрХ. — 1998. — Т. 34, вып. 2. — С. 258-260.
30. Шемчук Л.А., Черных В.П., Иванова И.Л. // ЖОрХ. — 1997. — Т. 33, вып. 4. — С. 494-496.
31. Шемчук Л.А., Черных В.П., Гриценко І.С. и др. // ЖОрХ. — 1994. — Т. 30, вып. 4. — С. 588-590.
32. Черных В.П., Буряк А.А., Шемчук Л.А. и др. // ЖОрХ. — 1993. — Т. 29, вып. 10. — С. 1971-1975.
33. Черных В.П., Буряк А.А., Шемчук Л.А. и др. // ЖОрХ. — 1994. — Т. 30, вып. 6. — С. 859-864.
34. Петюнин П.А., Черных В.П., Макурина В.И. // Реакц. способность орган. соед. — 1972. — Т. 9, вып. 1 (31). — С. 153-163.
35. Черных В.П., Макурина В.И., Гридасов В.И., Петюнин П.А. // Реакц. способность орган. соед. — 1974. — Т. 11, вып. 1 (39). — С. 7-12.
36. Черных В.П., Макурина В.И., Петюнин П.А. // Реакц. способность орган. соед. — 1974. — Т. 11, вып. 1 (39). — С. 13-18.
37. Черных В.П., Гридасов В.И. // Реакц. способность орган. соед. — 1975. — Т. 11, вып. 4 (42). — С. 791-799.
38. Черных В.П., Джан-Темирова Т.С., Макурина В.И. // Реакц. способность орган. соед. — 1975. — Т. 12, вып. 1 (43). — С. 47-53.
39. Черных В.П., Макурина В.И. // Реакц. способность орган. соед. — 1977. — Т. 14, вып. 1 (49). — С. 106-115.
40. Черных В.П., Булада Ж.П., Безуглый П.А. и др. // Реакц. способность орган. соед. — 1979. — Т. 16, вып. 1 (57). — С. 108-112.
41. Безуглый П.А., Черных В.П., Макурина В.И., Сопельник Е.М. // Сообщение АН СССР. — 1981. — Т. 102, №1. — С. 77-80.
42. Черных В.П., Джеймс Оке, Макурина В.И., Безуглый П.А. // Укр. хим. журн. — 1982. — Т. 48, вып. 8. — С. 856-858.
43. Макурина В.И., Черных В.П., Гриценко І.С. // Реакц. способн. орган. соед. — 1983. — Т. 20, вып. 1 (69). — С. 94-99.
44. Блажеєвський М.Є., Черных В.П. // Фізіологічно активні речовини. — 1999. — №2 (28). — С. 58-65.
45. Безуглый П.О., Черных В.П., Джеймс Оке та ін. // Фармац. журн. — 1982. — №3. — С. 47-50.
46. Черних В.П., Гриценко І.С., Захарова Т.І. та ін. // Фармац. журн. — 1984. — №2. — С. 64-65.
47. Кабачный В.И., Дроговоз С.М., Черных В.П. и др. // Фармакол. и токсикол. — 1984. — Т. 47, №4. — С. 91-94.
48. Кабачный В.И., Черных В.П., Кабачный Г.И., Сопельник Е.М. // Хим.-фарм. журн. — 1985. — Т. 19, №1. — С. 43-46.
49. Коваленко С.Н., Журавель І.А., Черных В.П. и др. // Сб. труд. Рязанского мед. ин-та. — Рязань, 1991. — С. 75-83.
50. Журавель І.А., Коваленко С.Н., Черных В.П. и др. // Укр. фармац. журн. — 1991. — №4. — С. 72-75.
51. Черних В.П., Бризицька О.А., Кузьмін В.Є. та ін. // Вісник фармації. — 1999. — №1. — С. 21-24.
52. Банний І.П., Черных В.П., Самура Б.А. та ін. // Вісник фармації. — 2001. — №4 (28). — С. 9-12.
53. Макурина В.И., Черных В.П., Гриценко І.С. и др. // Хим.-фарм. журн. — 1986. — Т. 20, №9. — С. 1095-1101.
54. Макурина В.И., Черных В.П., Гриценко І.С. та ін. // Фармац. журн. — 1986. — №2. — С. 69-70.
55. Черних В.П., Вошко Т.В., Сергієнко О.М. та ін. // Вісник фармації. — 2000. — №3 (23). — С. 4-6.
56. Мерзликін С.И., Черных В.П., Болотов В.В. и др. // Фармаком. — 2001. — №3. — С. 32-36.
57. Кабачный В.И., Черных В.П., Дроговоз С.М. и др. // Фармакол. и токсикол. — 1987. — Т. 50, №1. — С. 94-96.
58. Шаповалов В.А., Кабачный В.И., Сопельник Е.М., Черных В.П. // ЖОХ. — 1984. — Т. 54, вып. 2. — С. 410-414.
59. Шаповалов В.А., Кабачный В.И., Черных В.П., Безуглый П.А. // Фармация. — 1983. — Т. 17, №6. — С. 42-44.
60. Шаповалов В.А., Безуглый П.А., Черных В.П. и др. // Укр. хим. журн. — 1982. — Т. 48, №6. — С. 623-626.
61. Шаповалов В.А., Кабачный В.И., Васина В.А., Черных В.П. // Укр. хим. журн. — 1983. — Т. 49, вып. 12. — С. 1284-86.
62. Шаповалов В.Н., Кабачный В.И., Безуглый П.А., Черных В.П. // ЖОХ. — 1982. — Т. 52, вып. 2. — С. 404-407.
63. Банний И.П., Черных В.П., Петюнин П.А. и др. // Хим.-фарм. журн. — 1982. — Т. 16, №1. — С. 43-47.
64. Грицан Л.Д., Шаповалов В.А., Черных В.П. и др. // Вестник Харьков. ун-та. — Х., 1983. — №242: Термодинамика и электрохимия растворов в невод. средах. — С. 79-82.
65. Шаповалов В.А., Черных В.П., Гриценко І.С., Чувурін А.В. // ЖОХ. — 1984. — Т. 54, вып. 5. — С. 991-994.
66. Kovalenko S.N., Stepanjan S.G., Chernykh V.P. // Molecular Engineering. — 1992. — №2. — P. 153-163.
67. Черних В.П., Коваленко С.М., Буряк О.А. та ін. // Вісник фармації. — 1994. — №1-2. — С. 43-46.
68. Мерзликін С.И., Черных В.П., Болотов В.В. и др. // Фізіологічно активні речовини. — 2000. — №1 (29). — С. 32-34.
69. Мартинов А.В., Черных В.П. // Вісник фармації. — 2002. — №3 (31). — С. 13-16.
70. Мартинов А.В., Черных В.П. // Клінічна фармація. — 2002. — Т. 6, №3. — С. 3-8.