

Výzkum léčiv: mýty, pověsti a skutečnost¹

Hugo Kubinyi

Nízká úspěšnost kombinatoriální chemie a rychlostního screeningu (high-throughput screening) při hledání nových léčiv byla logickým důsledkem nesprávného přístupu při volbě testovaných chemických látek. Dnes je zřejmé, že množina zkoumaných látek musí být sestavena ze struktur, které mají „lead-like“ (předlohový typ) či „drug-like“ (lékový typ) charakter a rovněž musí mít fyzikálně-chemické předpoklady pro dostatečnou biodostupnost po perorálním podání. Bohužel se setkáváme s rostoucí tendencí tyto podmínky úspěšného výzkumu podceňovat. Dojde-li v klinické fázi hodnocení léčiva k selhání, bývá tento nezdar nadměrně připisován pouze ADME problematice. Není výjimkou, že neuspokojivé výsledky výzkumu provází také nekritická aplikace screeningových metod in silico. Přístupy založené na zkoumání struktury s využitím počítačových metod mohou být však úspěšné jen tehdy, jsou-li správné předpokládáné farmakologické hypotézy a teorie. Hledání nových léčiv, zvláště pak optimalizace předlohové struktury, je evoluční proces, jehož výsledky budou uspokojujivé pouze tehdy, když budou principy nových heuristických metodologií v souladu s poznatky klasické chemie léčiv (medicinal chemistry).

V souvislosti s aktuálním stavem výzkumu nových léčiv, jak připomíná David Horrobin², si můžeme položit otázku, zda specialisté na objev léčiv nežijí v pohádkovém světě podobném Hermannově-Hessově virtuální zemi Castalia, kde vybraní mistři organizují a hrají úžasnou, vysoce sofistikovanou hru, která však nemá žádný přínos pro řešení problémů skutečného světa. Jádrem této Horrobinovy kritiky je především nesoulad mezi studii *in vitro* a výsledky výzkumů potenciálních léčiv na animálních modelech, popř. výsledky v odpovídající humánní terapii. Ve skutečnosti však stojí za posunem výzkumu léčiv „mimo realitu“ a jeho selháním v klinické praxi daleko více činitelů než jen zjednodušenost studií *in vitro*³. Kdykoliv se objeví nová koncepce nebo technologie, nepřekvapí nás, že působí mezi lidmi velké vzrušení a podněcuje víceméně falešnou naději na automatické nalezení nového léčiva, aniž by byla řádně validována. Nové paradigma zdánlivě slibuje vyšší pravděpodobnost nalezení účinného léčiva, než specializace na základní výzkum a expertízu vyvíjených léčiv. Krom toho je výzkum léčiv, jak bude uvedeno dále, mnohdy obestřen vrstvou rozmanitých mýtů, pověstí a klamných úsudků.

¹ Tento článek je překladem Kubinyiho práce (KUBINYI H.: *Drug Research: Myths, Hype and Reality*, Nature Rev. Drug Discov. 2, 665-668 (2003).), která je volně dostupná na internetu: <http://www.kubinyi.de/nrdd-pub-08-03.pdf>, (cit. 28.12.2012).

² HORROBIN, D. F.: *Modern biomedical research: an internally self-consistent universe with little contact with medical reality?* Nature Rev. Drug Discov. 2, 151–154 (2003).

³ DREWS, J.: *Strategic trends in the drug industry*. Drug Discov. Today 8, 411–420 (2003).

Existuje „lékový genom“?

Hlavní rozdíl mezi výzkumem léčiv v předcházejících desetiletích a dnešní době spočívá v zaměření na *molekulární úroveň interakce*. Když byl započat projekt mapování lidského genomu, farmaceutický průmysl toužebně očekával objev bezpočtu nových *cílových komponent*. Předpokládalo se, že *bioinformatika* poskytne prostřednictvím analýzy sekvence lidského genomu platformu pro soubor s jakoukoli nemocí. Poradní společnosti a různé obchodní firmy předpovídaly, že farmaceutický průmysl bude zaplaven vlnou nepřeborné nabídky nových cílových komponent, díky nimž bude odhaleno nevídané množství inovativních léčiv. Současné výsledky výzkumu léčiv však tato optimistická očekávání ještě nesplňují³.

Určité zklamání přineslo rovněž zjištění, že lidský genom obsahuje pouze ~ 30 000 genů, namísto očekávaných 100 000. Obavy z nízkého počtu nových cílových komponent se ale ukázaly jako zbytečné, neboť počet *genů* není jediným faktorem, který o množství cílových komponent rozhoduje. Téměř každé léčivo totiž působí alespoň v prvním stupni interakce na úrovni *proteinů*. Proteom je naštěstí daleko rozsáhlejší než genom, protože jeho variabilitu podstatně zvyšuje alternativní post-transkripční sestřih mRNA (*splicing*) a post-translační modifikace. Cílové komponenty pro interakci s léčivem jsou navíc často tvořeny proteinovými komplexy, jež se skládají z několika polypeptidických domén (např. integriny, acetylcholinem regulovaný iontový kanál nikotinového typu, heterodimerické receptory, aj.). Důsledkem tohoto stavebního principu je existence statisíců potenciálních cílových komponent. Pokud k proteinovým cílovým komponentám přidáme látky náležející do systému biochemické signalizace, rozšíří se možnosti působení léčiv ještě více. Představa „*lékového genomu*“⁴ je tudíž značně zavádějící. Měli bychom spíše uvažovat o „*lékovém proteomu*“, anebo ještě přesněji o „*lékovém targetomu*“⁵. Není tedy nutné obávat se nízkého počtu cílových komponent, a to ani tehdy, kdyby bylo z farmakodynamického pohledu skutečně plausibilní pouze malé procento z nich.

Je zaměření výzkumu na cílovou komponentu vždy tou nejlepší cestou?

S příchodem testování *in vitro* zhruba pře 30 lety a rozvojem bioscreeningových metod (high-throughput screening - HTS; ultra-HTS) se výzkum léčiv začal odklánět od studia biologického účinku látek na živočiších směrem k analýzám cílových komponent. Tato redukcionistická strategie je úspěšná především v těch případech, kdy nemoc souvisí s jedinou cílovou komponentou, jejíž vlastnosti mohou být modulovány pomocí malých molekul. Příkladem je inhibitor BCR-ABL kinázy - *imatinib* (GLEEVEC, NOVARTIS), který inhibuje konstitutivně aktivní kinázu, nacházející se u pacientů s chronickou myelogenní leukémií. Avšak většina léčiv působí spíše nepřímým způsobem nebo v relativně vzdáleném kroku biochemických kaskád. Populární *statiny*, které jsou předepisovány ke snížení patologicky vysoké hladiny cholesterolu, interferují při biosyntéze cholesterolu na úrovni C₅ (hydroxymethyl-glutarát), čímž ovlivňují také biosyntézu farnesylových zbytků, cholových kyselin, pohlavních hormonů a kortikosteroidů. Je vskutku velmi překvapivé, že tato léčiva nevyvolávají dramatické vedlejší účinky. *Olanzapin*, jedno z úspěšných neuroleptik a současně jedno z 20-ti nejprodávanějších léčiv, působí jako vysoce nespecifický, nanomolární antagonist nejmeně deseti odlišných receptorů neurotransmitérů. Před časem byly podobné léčivé substance nazývány „špinavými drogami“ (*dirty drugs*), nyní převažuje názor, že v některých případech je vyvážená aktivita vůči několika

⁴ HOPKINS, A. L. & GROOM, C. R.: *The druggable genome*. Nature Rev. Drug Discov. 1, 727–730 (2002).

⁵ V originále uvádí prof. H. Kubinyi tyto pojmy: druggable genome, druggable proteom, druggable targetom. Tomu odpovídá volný překlad: lékový genom a lékový proteom. Poslední termín - druggable targetom - by mohl být česky vyjádřen jako soubor látek, které se mohou stát „cílem (=target)“, s nímž bude léčivo interagovat. Aby byla zachována určitá symetrie a jednoduchost, byla dána přednost sousloví „lékový targetom“.

cílovým komponentám terapeuticky výhodnější než vysoká léková specificita. První beta-blokátory byly nespecifickými antagonisty β_1 i β_2 receptorů. Z těchto dvou předlokových struktur byly později vyvinuty specificky působící β_1 -antagonisté a parciální β_1 -agonisté s agonistickým i antagonistickým účinkem vůči α_1 receptorům. Tato léčiva byla zavedena do terapie.

Pokud vezmeme v úvahu počet všech možných cílových komponent, které se podílí na vzniku výsledné biologické aktivity léčiva, můžeme vytvořit koncepci jakési cílové *super-komponenty*. Kombinaci cílových komponent můžeme také nazvat „*lékovým fyziomem*“ (jedná se o další pojem ze stále rostoucího lexikonu různých -omů). Pokrok ve výzkumu léčiv si proto žádá, aby se opustilo vžitě myšlenkové schéma: jedna látka - jedna cílová komponenta a bylo nahrazeno koncepcí vztahu jedné látky k mnoha cílovým komponentám.

Je nízká úroveň ADME nejvýznamnější problematikou ve výzkumu léčiv?

Od kombinatoriální chemie se očekávalo, že bude poskytovat nová léčiva pouze díky velikosti vytvořené chemické knihovny. Tyto představy se však nenaplnily⁶. Biologické testování vedlo k zjištění, že velké množství vygenerovaných reakčních směsí, většinou nedefinovaného složení, bylo biologicky neaktivní. Následně došlo ke změně přístupu v navrhování chemických knihoven. Významný posun nastal díky *Chrisu Lipinskému*, který definoval pravidla zvýšeného rizika nízké biodostupnosti potenciálních léčiv⁷. Podle *Lipinského pravidla „pěti“* by kandidát na léčivo měl mít molekulovou hmotnost nižší než 500 Daltonů, lipofilicitu $\log P$ nižší než 5, neměl by mít více než 5 donorů vodíkových vazeb a více než 10 kyslíkových a dusíkových atomů. Při porušení dvou nebo více z těchto podmínek lze předpokládat nízkou úroveň absorpce. Podobná pravidla byla vytvořena pro předpověď míry orální absorpce⁸ a prostupu přes BBB (blood-brain barrier)⁹ na základě plochy polárního povrchu¹⁰ nebo VolSurf parametrů¹¹. Další veličinou, která ovlivňuje biodostupnost, byla chápána flexibilita molekul¹². Současné výzkumy ukazují, že během jednotlivých etap vývoje léčiv (od klinické fáze až kuvedení na trh) se snižuje molekulová hmotnost léčiv, klesá počet akceptorů vodíkových vazeb a do určité míry dochází i redukci počtu rotovatelných vazeb.¹³ Ačkoli tato skutečnost může implikovat nižší účinnost látek, které jsou tvořené velkými flexibilními molekulami s množstvím akceptorů vodíkových vazeb, může se též jednat o důsledek příliš jednostranně zaměřeného vývoje léčiv v posledních letech právě na takové látky.

⁶ LAHANA, R.: *How many leads from HTS?* Drug Discov. Today **4**, 447–448 (1999).

⁷ LIPINSKI, C. A., LOMBARDO F., DOMINY, B. W. & FEENEY, P. J.: *Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings.* Adv. Drug Del. Rev. **23**, 3–25 (1997).

⁸ ERTL, P., ROHDE, B. & SELZER, P.: *Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties.* J. Med. Chem. **43**, 3714–3717 (2000); CRUCIANI, G., PASTOR, M. & GUBA, W.: *VolSurf: a new tool for the pharmacokinetic optimization of lead compounds.* Eur. J. Pharm. Sci. **11** (Suppl. 2) S29–S39 (2000); KELDER, J., GROOTENHUIS, P. D., BAYADA, D. M., DELBRESSINE, L. P. & PLOEMEN, J. P.: *Polar molecular surface as a dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drugs.* Pharm. Res. **16**, 1514–1519 (1999); BERGSTRÖM, C. A. S. ET AL.: *Absorption classification of oral drugs based on molecular surface properties.* J. Med. Chem. **46**, 558–570 (2003).

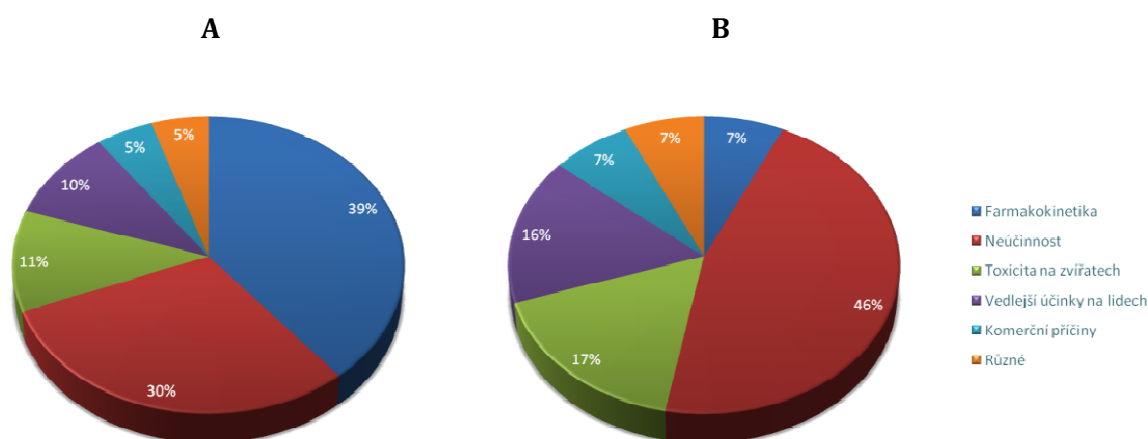
⁹ CRUCIANI, G., PASTOR, M. & GUBA, W.: *VolSurf: a new tool for the pharmacokinetic optimization of lead compounds.* Eur. J. Pharm. Sci. **11** (Suppl. 2) S29–S39 (2000); KELDER, J., GROOTENHUIS, P. D., BAYADA, D. M., DELBRESSINE, L. P. & PLOEMEN, J. P.: *Polar molecular surface as a dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drugs.* Pharm. Res. **16**, 1514–1519 (1999).

¹⁰ ERTL, P., ROHDE, B. & SELZER, P.: *Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties.* J. Med. Chem. **43**, 3714–3717 (2000).

¹¹ CRUCIANI, G., PASTOR, M. & GUBA, W.: *VolSurf: a new tool for the pharmacokinetic optimization of lead compounds.* Eur. J. Pharm. Sci. **11** (Suppl. 2) S29–S39 (2000).

¹² VEBER, D. F. ET AL.: *Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates.* J. Med. Chem. **45**, 2615–2623 (2002).

¹³ WENLOCK, M. C., AUSTIN, R. P., BARTON, P., DAVIS, A. M. & LEESON, P. D.: *A comparison of physicochemical property profiles of development and marketed oral drugs.* J. Med. Chem. **46**, 1250–1256 (2003).



Obrázek 1. Příčiny selhání léčiv. **A** – výsledky klinického testování 198 NCE¹⁴, vyprodukovaných největšími společnostmi UK během let 1964 – 1985. **B** – výsledky testování 121 NCE (množina **A** bez léčiv s anti-infektivním účinkem). (Údaje byly získány z Centra pro výzkum léčiv; viz ref. 13).

Porušení pravidel dle Lipinského bylo vskutku hlavním důvodem selhání raných aplikací kombinatoriálně chemických technik ve vývoji léčiv. Respektování těchto pravidel přineslo později v této oblasti významné zlepšení. V tomto ohledu bývají nejčastěji citovány dvě výzkumné práce¹⁵, které poukázaly na významnou korelaci mezi neuspokojivými farmakokinetickými vlastnostmi, přesněji nízkou orální biodostupností, a neulezenou biologickou neúčinností zhruba ve 40% zkoumaných potenciálních léčiv. Na základě těchto studií začaly být parametry absorpce, distribuce, metabolizace a exkrece (ADME) považovány za klíčové faktory ve vývoji léčiv (Obrázek 1A). Podstatnou otázkou však je, zda se *předpokládaná závislost* biologického účinku na farmakokinetických vlastnostech *zakládá na pravdě*. Bližší zkoumání použitých dat vedlo ke zjištění, že velká část neúčinných potenciálních léčiv, jejichž selhání bylo přisouzeno nevyhovujícím ADME vlastnostem, byla tvořena převážně anti-infektivy s nízkou biodostupností¹⁶. Pokud jsou tyto látky ze zkoumané množiny odstraněny, lze klinické selhání zbylých léčiv vysvětlit nedostatečnými ADME vlastnostmi pouze u 7% případů (Obrázek 1B). Je však nutné připustit, že principiálně je velmi problematické rozlišovat, jestli je za nedostatek „klinické účinnosti“ zodpovědná nízká biologická účinnost (tj. farmakodynamika, pozn. překl.), nevýhodné farmakokinetické vlastnosti nebo nepříznivá orgánová či tkáňová distribuce. Přesto se ale jasně ukázalo, že nevýhodná ADME charakteristika přispívá k selhání léčiva v klinickém použití mnohem méně, než se široce předpokládá. Pokud vezmeme v úvahu, že při vývoji léčiv se již projevuje rostoucí povědomí o výhodných biologických vlastnostech chemických látek, že se využívají pre-klinické rychlostní *in vitro* testy rozpustnosti a permeability, a současně že klesá zájem o léčiva se strukturou peptidového charakteru, je negativní vliv ADME parametrů ve finálním klinickém hodnocení ještě omezenější. Výzkumná práce, kterou demonstruje Obrázek 1A zahrnující anti-infektiva, je bohužel ještě velmi často citována (např. ref. 14), protože dobře slouží k podepření reklamy pro vývoj léčiv *in silico* metodami.

¹⁴ Nová chemická látka (NCE = new chemical entity).

¹⁵ PRENTIS, R. A., LIS, Y. & WALKER, S. R.: *Pharmaceutical innovation by the seven UK-owned pharmaceutical companies (1964–1985)*. Br. J. Clin. Pharmacol. **25**, 387–396 (1988); KENNEDY, T.: *Managing the drug discovery/development interface*. Drug Discov. Today **2**, 436–444 (1997).

¹⁶ KENNEDY, T.: *Managing the drug discovery/development interface*. Drug Discov. Today **2**, 436–444 (1997).

Používáme správné VS (virtual screening) techniky?

V současnosti se ve vývoji léčiv používá mnoho odlišných technik virtuálního screeningu, přičemž leckteří výzkumní pracovníci předkládají svou specifickou metodu jako tu nejlepší. I když některé metody jsou opravdu přesnější a rychlejší než ostatní, úspěšný výzkum není závislý výhradně na použití určité specifické techniky, ale spíše na řádném popisu relevantních molekulárních vlastností. Velmi častým nedorozuměním je domněnka, že molekuly, které mají lékové (drug-like) vlastnosti a vyhovují požadavkům Lipinského¹⁷, jsou již léky (což sám Lipinský nikdy netvrdil). Mnoho organických látek může vyhovovat těmto podmínkám, ale přesto nemají v žádném případě povahu léků (drug-like): pravidlo „pěti“ definuje pouze některé *nezbytné* vlastnosti potenciálních léčiv, nikoli však *postačující* vlastnosti. Lékový nebo nelékový charakter by měl být posouzen jinými, pokročilejšími metodami – např. umělými neuronovými sítěmi¹⁸, které mohou vyhodnotit také vliv strukturálních vlastností.

Protože předlokové struktury (lead structures) bývají často během optimalizace na potenciální léčiva modifikovány na látky s větším molekulovým objemem a vyšší lipofilitou, doporučuje se začínat hledání nových léčiv u malých a polárních sloučenin¹⁹ s nízkou komplexitou, popř. i u molekulárních fragmentů²⁰. Všechna tato doporučení, ačkoli jako taková jsou velmi cenná, by se však neměla brát jako dogmata²¹, zvláště pak při bioscreeningu přírodních látek (jak rozebírá ref. 21). V odborné literatuře je publikováno mnoho příkladů molekulárně malých léčiv, která byla odvozena z relativně molekulárně velké předlokové struktury; např. většina nejdůležitějších analgetik je odvozena z poměrně velké molekuly morfinu. Skutečnost, že během optimalizace předlokové struktury dochází či nedochází k zvětšování molekulového objemu nebo nárůstu lipofility je spíše odrazem zkušeností, tvořivosti a vytrvalosti pracovníka, který léčivo vyvíjí – nejedná se tedy o přírodní zákonitost. Při výzkumu 470 párů předloková struktura – léčivo se ukázalo, že průměrný nárůst molekulové hmotnosti během optimalizace činí pouze 38 Da (78% finálních léčiv mělo molekulární hmotnost o 63 Da vyšší než jejich předlokové struktury)²².

Vedle vlastností potenciálních léčiv, které doporučil Lipinski, se při racionální vývoji léčiv používá, a to zvláště v případech, kdy se aplikují umělé neuronové sítě, celá řada dalších filtračních pravidel (tzv. filtry „odpadků“ – garbage filters), které mohou eliminovat látky např. s předpokládanou cytotoxicitou. Otázkou však je, do jaké míry má cytotoxicita vztah k akutní a chronické toxicitě a do jaké míry může předznamenávat neobvyklé/nečekané vedlejší toxické účinky. Globální *in silico* filtry pro toxicitu nebo karcinogenitu by tudíž měly být ověřovány a používány s velkou pečlivostí. Existuje velmi mnoho rozdílných mechanismů biologického účinku, které nemohou být objasněny užitím pouze jednoho modelu. 60% nebo dokonce 70% úspěšnost predikce některé významné biologické vlastnosti sice vypadá přitažlivě, je ale nutné vzít v úvahu, že vrhání mincí též poskytuje v kategorizaci typu 1/0 50% úspěšných předpovědí.

¹⁷ LIPINSKI, C. A., LOMBARDO F., DOMINY, B. W. & FEENEY, P. J.: *Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings*. Adv. Drug Del. Rev. **23**, 3–25 (1997); LIPINSKI, C. A.: *Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability*. J. Pharmacol. Toxicol. Methods **44**, 235–249 (2000).

¹⁸ AJAY, A., WALTERS, W. P. & MURCKO, M. A.: *Can we learn to distinguish between 'drug-like' and 'non-drug-like' molecules?* J. Med. Chem. **41**, 3314–3324 (1998); SADOWSKI, J. & KUBINYI, H.: *A scoring scheme for discriminating between drugs and non-drugs*. J. Med. Chem. **41**, 3325–3329 (1998).

¹⁹ TEAGUE, S. J., DAVIS, A. M., LEESON, P. D. & OPREA, T.: *The design of leadlike combinatorial libraries*. Angew. Chem. Int. Ed. **38**, 3743–3748 (1999); OPREA, T. I., DAVIS, A. M., TEAGUE, S. J. & LEESON, P. D.: *Is there a difference between leads and drugs? A historical perspective*. J. Chem. Inf. Comput. Sci. **41**, 1308–1316 (2001); PROUDFOOT, J. R.: *Drugs, leads, and drug-likeness: an analysis of some recently launched drugs*. Bioorg. Med. Chem. Lett. **12**, 1647–1650 (2002).

²⁰ HANN, M. M., LEACH, A. R. & HARPER, G.: *Molecular complexity and its impact on the probability of finding leads for drug discovery*. J. Chem. Inf. Comput. Sci. **41**, 856–864 (2001); CARR, R. & HANN, M.: *The right road to drug discovery? Fragment-based screening casts doubt on the Lipinski route*. Modern Drug Discov. April, 45–48 (2002).

²¹ Výraz „dogma“ zde volně označuje nějakou hypotézu, jejíž pravdivost je zjevná/jistá. (pozn. překl.)

²² HANN, M. M., LEACH, A. R. & HARPER, G.: *Molecular complexity and its impact on the probability of finding leads for drug discovery*. J. Chem. Inf. Comput. Sci. **41**, 856–864 (2001).

V prvním případě by zde zůstávala také velmi významná 30-40% pravděpodobnost chyby predikce určité vlastnosti chemické látky. V druhém případě, týkajícím se 50%-ní pravděpodobnosti, je zcela jasné, že taková predikce neposkytuje žádné důležité rozlišení. Pokud jsou tyto predikční nástroje přesto použity, měly by sloužit pouze k určitému vyhodnocení (scoring) skupiny látek, nikoli k rozhodnutí o osudu konkrétní látky (tj. vyloučení nebo zařazení do další etapy vývoje léčiva).

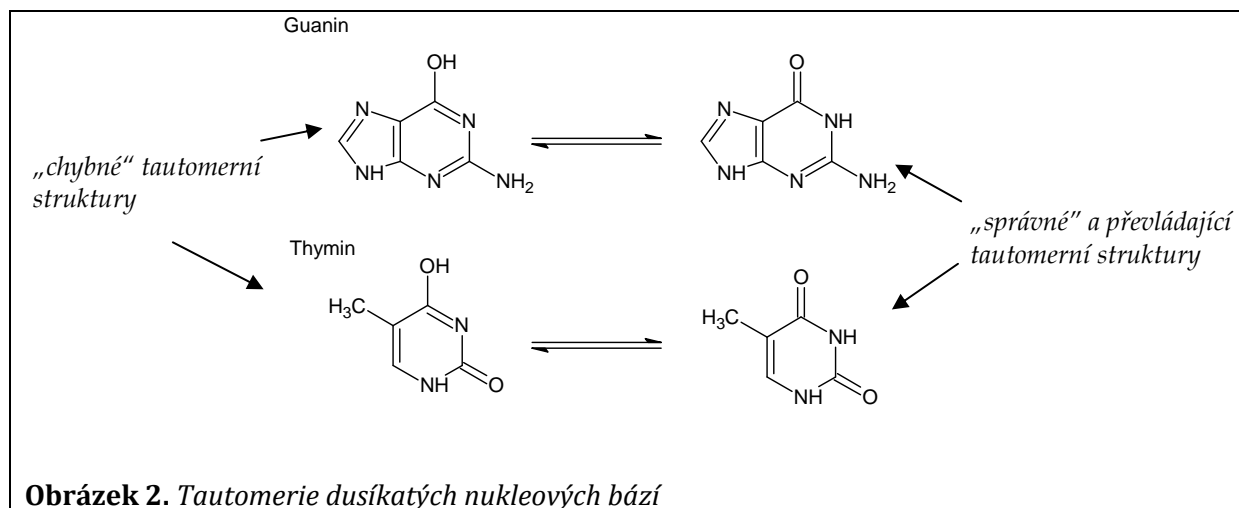
Jaké problémy se vyskytují ve VS (virtual screening)?

Farmakoforová analýza a docking jsou velmi mocnými technikami v racionálním designu léčiv, avšak bývají velmi často používány nepřiměřeným způsobem. Kdykoli lidé zapínají počítač, jsou vystaveni pokušení současně vypnout svůj mozek a spoléhat se příliš na určitou inteligenci uloženou v (komerčním) programu, který používají. Většina počítačových programů pracuje se strukturami, které je jim uživatel zadá. Někdy též uživatel velmi zjednodušeně definuje donorové a akceptorové vlastnosti heteroatomů, aniž by víceméně zohlednil např. možnost disociace kyselin a ionizace bází, během níž se donory mění v akceptory a naopak. Podobně je zhusta zanedbávána protomerie a tautomerie. Třebaže tato zjednodušení mohou být bezvýznamná v případě stanovení kritérií podle Lipinského, při strukturálních superimpozicích, při zkoumání podobnosti molekul a dockingu naproti tomu vnášejí do výpočtů velmi vážné chyby. Kdyby bývala byla chybně stanovena např. tautomerie dusíkatých nukleotidových bází, mohlo dojít k podstatnému zpoždění objevu dvojité helixové struktury DNA (viz Box 1).

BOX 1 | Watson & Crick a chybné vzorce tautomerů²³

Roku 1952 se biolog James Watson a fyzik Francis Crick pokoušeli odvodit strukturální model DNA. Když je v létě téhož roku navštívil biochemik Erwin Chargaff, rozzlobilo jej, že ani Crick ani Watson se nezajímali o chemickou strukturu čtyř nukleových bází. Oba vědci mu odpověděli, že kdyby to bylo pro jejich výzkum nezbytné, vyhledali by si tyto struktury v nějaké učebnici. Až později využili knihu *The Biochemistry of Nucleic Acids* napsanou J. N. Davidsonem, jež byla publikována roku 1950. Bohužel tato kniha, podobně jako další práce té doby, uváděla nesprávné tautomery guaninu a thyminu (viz Obrázek 2.). Na počátku roku 1953 zveřejnil Linus Pauling model DNA, který se skládal z fosfátového skeletu uprostřed tří řetězců. Watson a Crick po intenzivním bádání naopak přišli s modelem DNA, jenž měl podobu šroubovice s bázemi uprostřed ní. Ale ať se Watson s Crickem snažili sebevíc, nepodařilo se jim nalézt vhodné formy purinových a pyrimidinových bází, které by byly schopné pomocí vodíkových vazeb vytvořit α -helix podobný proteinovým řetězcům. Struktury bází, které v DNA předpokládali, spatřil 27. února teoretický chemik Jerry Donohue a uvědomil si, že jsou chybné. Když Watson a Crick použili správné tautomerní struktury bází, klíčové rysy modelu trojrozměrné struktury DNA mohli být opraveny do následujícího rána! Dne 28. února 1953 formulovali Watson a Crick správnou strukturu DNA jako dvojitou šroubovici složenou z dvou nukleotidových řetězců s obráceným pořadím bází. Výsledky byly publikovány v časopise *Nature* dne 25. dubna 1953.

²³ WATSON, J. D.: *The Double Helix: A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA*. (Atheneum, New York, 1968); WATSON, J. D., WITH BERRY, A.: *DNA. The Secret of Life*. (William Heinemann, London, 2003); *Finding the flaws* [online] [cited May 2003] <http://www.phy.cam.ac.uk/camphy/dna/dna13_1.htm> (2003); *A working model!* [online] [cited May 2003] <http://www.phy.cam.ac.uk/camphy/dna/dna14_1.htm> (2003).



Velmi důležité je správné přiřazení farmakoforových vlastností určitým typům atomů. Mnoho lidí věří, že esterová skupina má dvě akceptorová místa pro vodíkovou vazbu, protože obsahuje dva kyslíkové atomy. Ačkoli esterová skupina je skutečně dvojnásobným akceptorem vodíkové vazby, nejsou toho příčinou dva atomy kyslíku, nýbrž dva volné elektronové páry na atomu kyslíku s sp^2 hybridizací (kyslík s dvojnou vazbou). Kyslíkový atom esterové skupiny s sp^3 hybridizací (tj. vázaný pouze jednoduchými vazbami) není akceptorem vodíkové vazby²⁴. Dusíkové atomy oxazolů, izooxazolů a příbuzných heterocyklů jsou akceptory vodíkové vazby, zatímco kyslíkové atomy nikoli, popř. jsou jen velmi slabými akceptory²⁵. Kyslíkový atom v alifatických a cykloalifatických etherech je velmi silný akceptor vodíkových vazeb (kyslík je vázaný k dvěma elektron-donorovým skupinám), ve smíšených alifaticko-aromatických étherech je mnohem slabším akceptorem a v aromaticko-aromatických étherech nemá vůbec žádné akceptorové schopnosti. Tato skutečnost se odráží i v lipofilitě: rozdíl v experimentálně stanoveném $\log P$ (oktanol/voda) jsou 2.5 pro dvojici pentan-diethylether, 1.2 pro dvojici ethylbenzen-anisol a prakticky 0 pro dvojici difenylmethan-difenyloether (ve všech případech je skupina $-CH_2-$ nahrazena skupinou $-O-$)²⁶. Chybné přiřazení donorových a akceptorových vlastností určitým funkčním skupinám způsobuje selhání farmakoforové analýzy a nesprávný docking ligandů v trojrozměrné struktuře proteinů. Další potíže pramení ze složitosti vazebného procesu:

1. entropické a entalpické faktory působí současně;
2. podstatný vliv mohou mít přítomné molekuly vody;
3. jak ligand, tak vazebné místo jsou flexibilními strukturami.

Tyto skutečnosti zásadně komplikují kvantitativní popis interakce léčiva s cílovou komponentou (tj. predikci vazebné afinity), neboť je drtivá většina metod VS zanedbává.

²⁴ LOMMERSE, J. P. M., PRICE, S. L. & TAYLOR, R.: *Hydrogen bonding of carbonyl, ether, and ester oxygen atoms with alkanol hydroxyl groups*. J. Comput. Chem. **18**, 757–774 (1997).

²⁵ BÖHM, H.-J., BRODE, S., HESSE, U. & KLEBE, G.: *Oxygen and nitrogen in competitive situations: which is the hydrogen-bond acceptor?* Chem. Eur. J. **2**, 1509–1513 (1996).

²⁶ KUBINYI, H.: in *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research: Biological, Physicochemical, and Computational Strategies* (eds Testa, B., van de Waterbeemd, H., Folkers, G. & Guy, R.) 513–524 (Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zurich, 2001).

Co je příčinou selhání a jak bychom mohli dosáhnout lepších výsledků?

Již bylo kýmisi prohlášeno, že farmaceutický průmysl postupně ztrácí individualitu, porušuje věrnost vědě, a rovněž se zpronevřuje kulturním a etickým standardům²⁷. Jsme schopni realizovat rychlostní i vysoko-rychlostní screening jak *in vitro*, tak *in silico*, avšak často přitom zanedbáváme důležitou složku výzkumu léčiv zvanou: *in cerebro*. Ještě nežijeme v Castalii: naše hry jsou spíše surové, než vysoce sofistikované. Někdy se chováme jako kobylky v mlze, běžající za každou novou koncepcí nebo metodou, bez ohledu na to, zda je ověřená. Spoléháme se na umělé, umělé *in vitro* systémy a doufáme, že informace získané analýzou pouhých úlomků a střípků platí pro celý systém. Ztrácíme svou odbornost v klasické lékařské chemii a farmakologii. Přesná data, která byla získána v posledních výzkumných projektech, neuchováme systematicky. Důsledkem toho je fakt, že důležitá strategická rozhodnutí odvozujeme jen z malého, a často zavádějícího zlomku informací, které máme k dispozici.

Existuje nějaké východisko z této problematiky? Ano, skutečně existuje: pravá inovace potřebuje vědce a stimulující prostředí. Měli bychom se bránit nahrazování individuálního inovativního potenciálu technickými týmy. Spíše by pracovní týmy měly poskytnout zázemí pro jednotlivce, kteří se věnují inovaci. K tomu, aby byla zachována podnětná atmosféra pro výzkum, je zapotřebí vytvořit rovnováhu mezi managementem analýzy odborných informačních zdrojů a svobodou pro kreativitu. Měli bychom pečlivě zkoumat všechny pracovní hypotézy a dosažené výsledky a následně rozhodnout, zda podporují naše rozhodnutí, nebo jsou s ním v rozporu. Mnoho vědců působících v oblasti objevování léčiv si je vědoma těchto kritických míst. Ačkoli závěr může znít až triviálně, platí, že je nutné zřít se falešných prorocství, mýtů a bombastických reklam a nasměrovat své úsilí k seriózní vědě. Budoucí úspěch vývoje léčiv závisí na řádném propojení nových slibných technik se zkušenostmi²⁸ a strategiemi²⁹ vycházejícími z klasické lékařské chemie.

Reference

1. HORROBIN, D. F.: *Modern biomedical research: an internally self-consistent universe with little contact with medical reality?* Nature Rev. Drug Discov. **2**, 151–154 (2003).
2. DREWS, J.: *Strategic trends in the drug industry.* Drug Discov. Today **8**, 411–420 (2003).
3. HOPKINS, A. L. & GROOM, C. R.: *The druggable genome.* Nature Rev. Drug Discov. **1**, 727–730 (2002).
4. LAHANA, R.: *How many leads from HTS?* Drug Discov. Today **4**, 447–448 (1999).
5. LIPINSKI, C. A., LOMBARDO F., DOMINY, B. W. & FEENEY, P. J.: *Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings.* Adv. Drug Del. Rev. **23**, 3–25 (1997).
6. ERTL, P., ROHDE, B. & SELZER, P.: *Fast calculation of molecular polar surface area as a sum of fragment-based contributions and its application to the prediction of drug transport properties.* J. Med. Chem. **43**, 3714–3717 (2000).
7. CRUCIANI, G., PASTOR, M. & GUBA, W.: *VolSurf: a new tool for the pharmacokinetic optimization of lead compounds.* Eur. J. Pharm. Sci. **11** (Suppl. 2) S29–S39 (2000).
8. KELDER, J., GROOTENHUIS, P. D., BAYADA, D. M., DELBRESSINE, L. P. & PLOEMEN, J. P.: *Polar molecular surface as a dominating determinant for oral absorption and brain penetration of drugs.* Pharm. Res. **16**, 1514–1519 (1999).
9. BERGSTRÖM, C. A. S. ET AL.: *Absorption classification of oral drugs based on molecular surface properties.* J. Med. Chem. **46**, 558–570 (2003).

²⁷ DREWS, J.: *Strategic trends in the drug industry.* Drug Discov. Today **8**, 411–420 (2003).

²⁸ SNEADER, W.: *Drug Prototypes and Their Exploitation.* (John Wiley & Sons, Chichester, 1996).

²⁹ WERMUTH, C. G.: *The Practice of Medicinal Chemistry.* (Academic, London, 1996).

10. VEBER, D. F. ET AL.: *Molecular properties that influence the oral bioavailability of drug candidates*. J. Med. Chem. **45**, 2615–2623 (2002).
11. WENLOCK, M. C., AUSTIN, R. P., BARTON, P., DAVIS, A. M. & LEESON, P. D.: *A comparison of physicochemical property profiles of development and marketed oral drugs*. J. Med. Chem. **46**, 1250–1256 (2003).
12. PRENTIS, R. A., LIS, Y. & WALKER, S. R.: *Pharmaceutical innovation by the seven UK-owned pharmaceutical companies (1964–1985)*. Br. J. Clin. Pharmacol. **25**, 387–396 (1988).
13. KENNEDY, T.: *Managing the drug discovery/development interface*. Drug Discov. Today **2**, 436–444 (1997).
14. VAN DE WATERBEEMD, H. & GIFFORD, E.: *ADMET in silico modelling: towards prediction paradise?* Nature Rev. Drug Discov. **2**, 192–204 (2003).
15. LIPINSKI, C. A.: *Drug-like properties and the causes of poor solubility and poor permeability*. J. Pharmacol. Toxicol. Methods **44**, 235–249 (2000).
16. AJAY, A., WALTERS, W. P. & MURCKO, M. A.: *Can we learn to distinguish between 'drug-like' and 'nondrug-like' molecules?* J. Med. Chem. **41**, 3314–3324 (1998).
17. SADOWSKI, J. & KUBINYI, H.: *A scoring scheme for discriminating between drugs and nondrugs*. J. Med. Chem. **41**, 3325–3329 (1998).
18. TEAGUE, S. J., DAVIS, A. M., LEESON, P. D. & OPREA, T.: *The design of leadlike combinatorial libraries*. Angew. Chem. Int. Ed. **38**, 3743–3748 (1999).
19. OPREA, T. I., DAVIS, A. M., TEAGUE, S. J. & LEESON, P. D.: *Is there a difference between leads and drugs? A historical perspective*. J. Chem. Inf. Comput. Sci. **41**, 1308–1316 (2001).
20. PROUDFOOT, J. R.: *Drugs, leads, and drug-likeness: an analysis of some recently launched drugs*. Bioorg. Med. Chem. Lett. **12**, 1647–1650 (2002).
21. HANN, M. M., LEACH, A. R. & HARPER, G.: *Molecular complexity and its impact on the probability of finding leads for drug discovery*. J. Chem. Inf. Comput. Sci. **41**, 856–864 (2001).
22. CARR, R. & HANN, M.: *The right road to drug discovery? Fragment-based screening casts doubt on the Lipinski route*. Modern Drug Discov. April, 45–48 (2002).
23. LOMMERSE, J. P. M., PRICE, S. L. & TAYLOR, R.: *Hydrogen bonding of carbonyl, ether, and ester oxygen atoms with alkanol hydroxyl groups*. J. Comput. Chem. **18**, 757–774 (1997).
24. BÖHM, H.-J., BRODE, S., HESSE, U. & KLEBE, G.: *Oxygen and nitrogen in competitive situations: which is the hydrogen-bond acceptor?* Chem. Eur. J. **2**, 1509–1513 (1996).
25. KUBINYI, H.: in *Pharmacokinetic Optimization in Drug Research: Biological, Physicochemical, and Computational Strategies* (eds Testa, B., van de Waterbeemd, H., Folkers, G. & Guy, R.) 513–524 (Helvetica Chimica Acta and Wiley-VCH, Zurich, 2001).
26. SNEADER, W.: *Drug Prototypes and Their Exploitation*. (John Wiley & Sons, Chichester, 1996).
27. WERMUTH, C. G.: *The Practice of Medicinal Chemistry*. (Academic, London, 1996).
28. WATSON, J. D.: *The Double Helix: A Personal Account of the Discovery of the Structure of DNA*. (Atheneum, New York, 1968).
29. WATSON, J. D., WITH BERRY, A.: *DNA. The Secret of Life*. (William Heinemann, London, 2003).
30. *Finding the flaws* [online] (cited May 2003) <http://www.phy.cam.ac.uk/camphy/dna/dna13_1.htm> (2003).
31. *A working model!* [online] (cited May 2003) <http://www.phy.cam.ac.uk/camphy/dna/dna14_1.htm> (2003).

Překlad a úprava: Rafael Doležal
28.12.2012