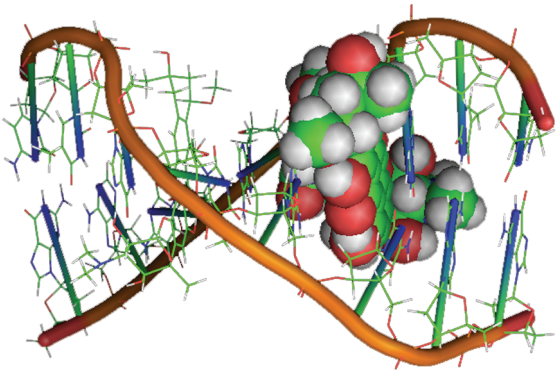
# ΕΠΙΔΡΑΣΗ 22 **...ΣΤΗΝ ΙΑΤΡΙΚΗ:**
# Μοριακή αναγνώριση και σχεδίαση φαρμάκων

Η πρόσδεση ενός υποκαταστάτη, ή *φιλοξενούμενου μορίου*, σε ένα βιοπολυμερές, ή *ξενιστή*, διέπεται από μοριακές αλληλεπιδράσεις. Για να βρούμε αποτελεσματικές θεραπείες, χρειάζεται να γνωρίζουμε πώς να χαρακτηρίζουμε και να βελτιστοποιούμε τις μοριακές αλληλεπιδράσεις μεταξύ του ξενιστή και του φιλοξενούμενου μορίου. Τα σύμπλοκα ενζύμου–υποστρώματος, αντιγόνου–αντισώματος και φαρμάκου–υποδοχέα αποτελούν παραδείγματα βιολογικών *συμπλόκων ξενιστή–φιλοξενούμενου μορίου*. Σε όλες αυτές τις περιπτώσεις, μια θέση στο φιλοξενούμενο μόριο περιέχει λειτουργικές ομάδες που μπορούν να αλληλεπιδράσουν με συμπληρωματικές λειτουργικές ομάδες του ξενιστή. Παραδείγματος χάριν, μια ομάδα δοτών δεσμού υδρογόνου του φιλοξενούμενου μορίου πρέπει να πάρει θέση κοντά σε μια ομάδα αποδεκτών δεσμού υδρογόνου του ξενιστή για να συμβεί ισχυρή σύζευξη. Τυπικά, πολλές ειδικές διαμοριακές επαφές πρέπει να συμβούν σε ένα βιολογικό σύμπλοκο ξενιστή–φιλοξενούμενου μορίου και, ως αποτέλεσμα, ένα φιλοξενούμενο μόριο προσδένεται μόνο σε ξενιστές που είναι χημικά παρόμοιοι. Οι αυστηροί κανόνες που διέπουν τη μοριακή αναγνώριση ενός φιλοξενούμενου μορίου από έναν ξενιστή ελέγχουν κάθε βιολογική διεργασία, από τον μεταβολισμό έως την ανοσοποιητική δράση, και παρέχουν σημαντικά στοιχεία για τη σχεδίαση αποτελεσματικών φαρμάκων για τη θεραπεία μιας ασθένειας.

Αλληλεπιδράσεις μεταξύ μη πολικών ομάδων μπορεί να είναι πολύ σημαντικές για τη δέσμευση ενός φιλοξενούμενου μορίου σε έναν ξενιστή. Παραδείγματος χάριν, πολλά ενεργά κέντρα ενζύμων έχουν υδρόφοβες εσοχές που δεσμεύουν μη πολικές ομάδες ενός υποστρώματος. Επιπλέον των απωστικών, των υδρόφοβων και των αλληλεπιδράσεων διασποράς, είναι επίσης δυνατές οι **αλληλεπιδράσεις στοίβαξης π**, στις οποίες τα επίπεδα συστήματα π των αρωματικών μακροκυκλικών μορίων βρίσκονται το ένα πάνω από το άλλο, σε σχεδόν παράλληλο προσανατολισμό. Τέτοιες αλληλεπιδράσεις είναι υπεύθυνες για τη στοίβαξη των ζευγών των βάσεων που έχουν ενωθεί με δεσμούς υδρογόνου στο DNA (Σχ. 1). Μερικά φάρμακα με επίπεδα συστήματα π (που φαίνονται με τα πράσινα άτομα άτομα άνθρακα στο Σχ. 1) είναι αποτελεσματικά διότι παρεμβάλλονται μεταξύ των ζευγών των βάσεων μέσω αλληλεπιδράσεων στοίβαξης π, αναγκάζοντας την έλικα να ξετυλιχτεί ελαφρώς αλλάζοντας έτσι τη λειτουργία του DNA.

Οι κουλομπικές αλληλεπιδράσεις μπορούν να είναι πολύ σημαντικές στο εσωτερικό ενός βιοπολυμερούς ξενιστή, όπου η σχετική επιτρεπτότητα μπορεί να είναι πολύ χαμηλότερη από εκείνη του υδατικού εξωτερικού. Παραδείγματος χάριν, σε φυσιολογικό pH, οι πλευρικές αλυσίδες αμινοξέων που περιέχουν καρβοξυλικό οξύ ή ομάδες αμινών είναι αρνητικά και θετικά φορτισμένες, αντίστοιχα, και μπορούν να έλκονται μεταξύ τους. Αλληλεπιδράσεις διπόλου–διπόλου είναι επίσης δυνατόν να υπάρξουν διότι πολλές από τις δομικές μονάδες των βιοπολυμερών είναι πολικές, συμπεριλαμβανομένου του πεπτιδικού δεσμού, –CONH–. Ωστόσο, οι αλληλεπιδράσεις δεσμών υδρογόνου είναι με μεγάλη διαφορά οι πιο συνήθεις στα βιολογικά σύμπλοκα ξενιστή–φιλοξενούμενου μορίου. Πολλά αποτελεσματικά φάρμακα προσδένονται ισχυρά και αναστέλλουν τη δράση των ενζύμων που συνδέονται με την εξέλιξη μιας ασθένειας. Σε πολλές περιπτώσεις, ένας πετυχημένος αναστολέας θα έχει την ικανότητα να σχηματίσει τους ίδιους δεσμούς υδρογόνου με τη θέση πρόσδεσης με αυτούς που μπορεί να σχηματίσει το κανονικό υπόστρωμα του ενζύμου, με τη διαφορά ότι το φάρμακο είναι χημικά αδρανές ως προς το ένζυμο.



**Σχήμα 1** Κάποια φάρμακα με επίπεδα συστήματα π παρεμβάλλονται μεταξύ ζευγών βάσεων του DNA.

Υπάρχουν δύο κύριες στρατηγικές ανακάλυψης ενός φαρμάκου. Στη *σχεδίαση με βάση τη δομή*, αναπτύσσονται νέα φάρμακα στηριγμένα στη γνωστή δομή της θέσης υποδοχής ενός γνωστού στόχου. Ωστόσο, σε πολλές περιπτώσεις ένας αριθμός αποκαλούμενων *ενώσεων οδηγών* είναι γνωστό ότι έχουν κάποια βιολογική δραστικότητα ενώ είναι διαθέσιμες πολύ λίγες πληροφορίες περί του στόχου. Για να σχεδιάσουμε ένα μόριο με βελτιωμένη φαρμακολογική αποτελεσματικότητα, συχνά γράφουμε **ποσοτικές σχέσεις δομής–δραστικότητας** (quantitative structure–activity relationships, QSAR) συσχετίζοντας δεδομένα για τη δραστικότητα των ενώσεων οδηγών με μοριακές ιδιότητες, που ονομάζονται και *μοριακοί περιγραφείς*, οι οποίες μπορούν να προσδιοριστούν είτε πειραματικά ή υπολογιστικά.

Σε γενικές γραμμές, το πρώτο στάδιο της μεθόδου QSAR συνίσταται στη συλλογή μοριακών περιγραφέων για πολύ μεγάλο αριθμό ενώσεων οδηγών. Περιγραφείς όπως η γραμμομοριακή μάζα, οι μοριακές διαστάσεις και ο όγκος, καθώς και η σχετική διαλυτότητα στο νερό και σε μη πολικούς διαλύτες

είναι διαθέσιμοι από συνήθεις πειραματικές διαδικασίες. Οι κβαντομηχανικοί περιγραφείς που καθορίζονται από υπολογισμούς ηλεκτρονιακής δομής περιλαμβάνουν τις τάξεις δεσμού και τις ενέργειες των HOMO και LUMO.

Στο δεύτερο στάδιο, η βιολογική δραστικότητα εκφράζεται ως συνάρτηση των μοριακών περιγραφέων. Ένα παράδειγμα εξίσωσης QSAR είναι η:

$$\textit{Δραστικότητα} = c_0 + c_1 d_1 + c_2 d_1^2 + c_3 d_2 + c_4 d_2^2 + \cdots$$

όπου $d_i$ είναι η τιμή του περιγραφέα και $c_i$ ένας συντελεστής που υπολογίζεται από την προσαρμογή των δεδομένων με ανάλυση παλινδρόμησης. Οι τετραγωνικοί όροι εξηγούν το γεγονός ότι η βιολογική δραστικότητα μπορεί να έχει μια μέγιστη η μια ελάχιστη τιμή σε μια συγκεκριμένη τιμή του περιγραφέα. Επί παραδείγματι, ένα μόριο μπορεί να μην διαπεράσει μια βιολογική μεμβράνη ώστε να μπορεί να προσδεθεί σε στόχους στο εσωτερικό του κυττάρου αν είναι πολύ υδρόφοβο, περίπτωση στην οποία δεν θα παρεμβληθεί στο υδρόφοβο στρώμα της κυτταρικής μεμβράνης, ή αν είναι πολύ υδρόφιλο, διότι τότε μπορεί να προσδεθεί πολύ ισχυρά στη μεμβράνη. Έπεται ότι η δραστικότητα θα γίνει μέγιστη σε κάποια ενδιάμεση τιμή της παραμέτρου που μετρά τη σχετική διαλυτότητα του φαρμάκου στο νερό και στους οργανικούς διαλύτες.

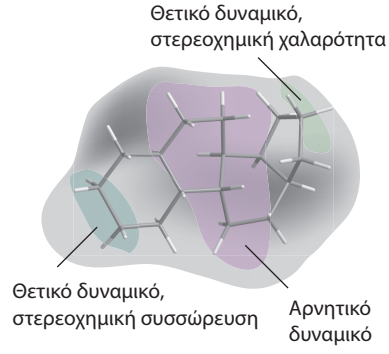
Στο τελικό στάδιο της διαδικασίας QSAR, η δραστικότητα ενός φαρμάκου μπορεί να εκτιμηθεί από τους μοριακούς του περιγραφείς και την εξίσωση QSAR με παρεμβολή ή προέκταση των δεδομένων. Οι προβλέψεις είναι πιο αξιόπιστες όταν μεγάλος αριθμός μορίων οδηγών και μοριακών περιγραφέων χρησιμοποιείται για να παραχθεί η εξίσωση QSAR.

Η παραδοσιακή τεχνική QSAR έχει βελτιστοποιηθεί στην **3D QSAR**, στην οποία χρησιμοποιούνται περίπλοκες υπολογιστικές τεχνικές για να αποκτήσουμε καλύτερη όψη των τριδιάστατων χαρακτηριστικών των υποψήφιων φαρμάκων που οδηγούν σε ισχυρή σύζευξη με τη θέση υποδοχής ενός στόχου. Η διαδικασία ξεκινά με τη χρήση ενός υπολογιστή για να υπερτεθούν τριδιάστατα μοντέλα δομής ενώσεων οδηγών και να αναζητηθούν κοινά χαρακτηριστικά, όπως ομοιότητες στη μορφή, στη θέση των λειτουργικών ομάδων και στις γραφικές παραστάσεις ηλεκτροστατικών δυναμικών οι οποίες μπορούν να προκύψουν από υπολογισμούς μοριακών τροχιακών. Η βασική υπόθεση της μεθόδου είναι ότι κοινά δομικά χαρακτηριστικά είναι ενδεικτικά μοριακών ιδιοτήτων που ενισχύουν τη δέσμευση του φαρμάκου στον υποδοχέα. Η συλλογή των υπερτεθέντων μορίων τοποθετείται στη συνέχεια σε ένα τριδιάστατο πλέγμα από σημεία. Ένας ατομικός ανιχνευτής, τυπικά ένα άτομο άνθρακα υβριδισμού $sp^3$, επισκέπτεται κάθε σημείο του πλέγματος και υπολογίζονται δύο ενέργειες αλληλεπίδρασης: η $E_{\text{στερ}}$, η στερεοχημική ενέργεια που αντικατοπτρίζει αλληλεπιδράσεις μεταξύ ανιχνευτή και ηλεκτρονίων σε μη φορτισμένες περιοχές του φαρμάκου, και η $E_{\text{ηλ}}$, η ηλεκτροστατική ενέργεια που προέρχεται από αλληλεπιδράσεις μεταξύ του ανιχνευτή και μιας περιοχής του μορίου που φέρει μερικό φορτίο. Η μετρούμενη σταθερά ισορροπίας για την πρόσδεση του φαρμάκου στον στόχο, $K_{\text{δεσμ}}$, θεωρείται τότε ότι συνδέεται με τις ενέργειες αλληλεπίδρασης σε κάθε σημείο $\boldsymbol{r}$ μέσω της εξίσωσης 3D QSAR

$$\log K_{\text{προσδ}} = c_0 + \sum_{\boldsymbol{r}} \{c_S(\boldsymbol{r})E_{\text{στερ}}(\boldsymbol{r}) + c_E(\boldsymbol{r})E_{\text{ηλ}}(\boldsymbol{r})\}$$

όπου τα $c(\boldsymbol{r})$ είναι συντελεστές που υπολογίζονται με ανάλυση παλινδρόμησης, με τους συντελεστές $c_S$ και $c_E$ να αντικατοπτρίζουν τη σχετική σημασία της στερεοχημικής και της ηλεκτροστατικής αλληλεπίδρασης, αντίστοιχα, στο πλεγματικό σημείο $\boldsymbol{r}$. Η οπτικοποίηση της ανάλυσης παλινδρόμησης διευκολύνεται με τον χρωματισμό κάθε πλεγματικού σημείου σύμφωνα με την τιμή των συντελεστών. Στο Σχ. 2 παρουσιάζονται τα αποτελέσματα μιας ανάλυσης 3D QSAR της πρόσδεσης των στεροειδών, μορίων με ανθρακικό σκελετό που φαίνεται στο σχήμα, στην ανθρώπινη σφαιρίνη κορτικοστεροειδούς πρόσδεσης (corticosteroid-binding globulin, CBG). Πράγματι, βλέπουμε ότι η τεχνική βοηθά στην κατανόηση της χημικής φύσης της θέσης πρόσδεσης ακόμα και όταν η δομή της δεν είναι γνωστή.

Παρόλο που η ισχύς των μεθόδων QSAR και 3D QSAR είναι μεγάλη, δεν παύει να είναι περιορισμένη: οι προβλέψεις είναι τόσο καλές όσο τα δεδομένα που χρησιμοποιούνται στις συσχετίσεις. Ωστόσο, οι τεχνικές έχουν χρησιμοποιηθεί με επιτυχία για την αναγνώριση ενώσεων για τις οποίες απαιτείται περαιτέρω συνθετική διαδικασία, όπως πρόσθεση ή αφαίρεση λειτουργικών ομάδων, και έλεγχος.




**Σχήμα 2** Μια ανάλυση 3D QSAR της πρόσδεσης των στεροειδών, μορίων με τον ανθρακικό σκελετό που φαίνεται εδώ, στην ανθρώπινη CBG. Οι ελλείψεις υποδεικνύουν περιοχές στη θέση πρόσδεσης της πρωτεΐνης με θετικό ή αρνητικό ηλεκτροστατικό δυναμικό και με λίγη ή πολλή στερεοχημική συσσώρευση. Από τους υπολογισμούς έπεται ότι πρόσθεση μεγάλων υποκαταστατών κοντά στο αριστερό μέρος του μορίου (όπως έχει σχεδιαστεί στη σελίδα) οδηγεί σε ασθενή ηλεκτροχημική συγγένεια του φαρμάκου στο σημείο πρόσδεσης. Επίσης, υποκαταστάτες που οδηγούν στη συσσώρευση αρνητικού ηλεκτροστατικού δυναμικού σε οποιαδήποτε από τα άκρα του φαρμάκου είναι πιθανόν να εμφανίσουν ενισχυμένη συγγένεια για το σημείο πρόσδεσης. (Πηγή: P. Krogsgaard-Larsen, T. Liljefors, U. Madsen (ed.), *Textbook of drug design and discovery*, Taylor & Francis, London (2002).)