

# Rola modelowania molekularnego w procesie poszukiwania nowych substancji chemicznych o potencjalnym znaczeniu terapeutycznym

The role of molecular modeling in the search for new chemical  
substances with potential therapeutic value

mgr Roksana Wałęsa, dr hab. Małgorzata A. Broda

Uniwersytet Opolski, Wydział Chemii, Zakład Chemii Fizycznej i Modelowania Molekularnego  
kierownik zakładu: dr hab. Małgorzata Anna Broda, prof. UO

PDF FULL-TEXT  
[www.lekwpolisce.pl](http://www.lekwpolisce.pl)

Oddano do publikacji: 03.07.2014

**Słowa kluczowe:** modelowanie molekularne, projektowanie leków *in silico*.

**Streszczenie:** Szybki rozwój komputerów oraz oprogramowania sprawił, że metody informatyczne *in silico* stały się integralną częścią procesu poszukiwania i projektowania nowych leków, intensywnie wspieraną przez przemysł farmaceutyczny. Za pomocą dostępnego obecnie oprogramowania do modelowania molekularnego możliwa jest analiza i porównywanie struktur, projektowanie związków wiodących, identyfikowanie konformacji aktywnej liganda i farmakoforu, analizowanie sposobu łączenia się liganda z receptorem oraz wiele innych. Zastosowanie metod i narzędzi obliczeniowych w procesie projektowania leków jest interesującą alternatywą, która pozwala na znaczną redukcję czasu i kosztów związanych z wprowadzeniem na rynek nowego leku.

**Key words:** molecular modelling, computer aided drug design, *in silico* methods.

**Abstract:** Rapid development of computers and software caused, that informatical methods *in silico* have become an integral part of drug design process. It's possible to analyse and comparison many compounds, design of lead compounds, identification of active conformation for ligand and pharmacophore and analyzing which interactions are the most important in binding receptor with the ligand. The incorporation of molecular modelling methods in drug design process is an interesting alternative that helps in reduction of cost and time, which are associated with the launch of new drugs.

## Proces i koszt wprowadzenia leku na rynek

Opracowanie nowego leku oraz wprowadzenie go na rynek jest procesem bardzo czasochłonnym – trwa od kilku do kilkunastu lat. Ponadto cena takiego projektu jest niebagatelna, gdyż może wynieść nawet kilka miliardów dolarów. Co więcej, nigdy nie ma się pewności, że to ogromne przedsięwzięcie zakończy się sukcesem, tj. pojawieniem się nowego leku na aptecznej półce. W ostatnim 10-leciu firma Pfizer

wypuściła na rynek 10 nowych leków. Szacuje się, że realizacja tego przedsięwzięcia pochłonie 7786 mln dolarów, co w przeliczeniu na jeden lek daje ogromną kwotę ok. 7.788 mld dolarów [1]. Olbrzymi koszt wdrożenia nowego leku wynika z wieloetapowości takiego procesu – począwszy od prac laboratoryjnych, gdzie nowy terapeutyk powstaje, przez badania przedkliniczne i kliniczne, aż po rejestrację i dopuszczenie leku do sprzedaży [2,3].

O tym, jak trudny to jest proces, mogą świadczyć poniższe liczby. Zwykle wstępnie badanych laboratoryjnie jest od 5000 do

10 000 związków o potencjalnym działaniu leczniczym, z czego ok. 250 poddawanych jest badaniom przedklinicznym. Gdy zakończą się one sukcesem, tzn. gdy zostaje uznane, że potencjalny lek jest wystarczająco bezpieczny, co stwierdza się zaledwie w przypadku kilku substancji (ok. 5), przeprowadza się badania kliniczne. Ogólnie szacuje się, że na 1000 przebadanych w pierwszej fazie substancji tylko jedna uzyskuje pozytywny wynik testu i przechodzi do etapu badań klinicznych. Ponadto jedna na pięć z tych, które dotrą do badań klinicznych jest rejestrowana i trafia na apteczną półkę [4].

Duża liczba leków, które odpadają na etapie badań klinicznych wynika z faktu, że większość z nich działa nieselektywnie. Poza tym niejednokrotnie pojawiają się trudności ze sposobem podawania, stężeniem, interakcjami oraz skutkami ubocznymi, tzn. nie uzyskuje się zamierzonej specyficzności i selektywności działania.

---

### Rola modelowania molekularnego w badaniach nad lekiem

---

W ostatnim dziesięcioleciu nastąpił gwałtowny wzrost mocy obliczeniowej komputerów oraz silny rozwój specjalistycznego oprogramowania, dlatego też możliwe stało się włączenie technik komputerowych (*in silico*) do badań nad nowymi substancjami chemicznymi o potencjalnym znaczeniu terapeutycznym [5-8]. Wykorzystanie technik komputerowych (*in silico*) pozwala na obniżenie kosztów ponoszonych w procesie poszukiwania nowych, aktywnych biologicznie substancji oraz skrócenie czasu określenia podstawowych parametrów fizykochemicznych, budowy przestrzennej, konformacji oraz grup wiążących [9-12]. Oszczędność czasu i redukcja kosztów wynika z radykalnej zmiany charakteru prowadzonych badań.

Poszukiwanie substancji aktywnej wpływającej na proces chorobowy w tradycyjnym podejściu obejmuje zaprojektowanie oraz syntezę szeregu struktur chemicznych, od których w kolejnych testach oczekuje się pozytywnej odpowiedzi receptora lub innego celu terapeutycznego. Wykorzystanie modelowania molekularnego ułatwia opracowanie struktury chemicznej związku dopasowującego się do miejsca aktywnego receptora czy enzymu tzw. struktury wiodącej, a następnie na jej modyfikację, aby w efekcie uzyskać jak najbardziej idealne dopasowanie. Jest to istotne o tyle, że pozwala na zaprojektowanie leku działającego specyficznie (mniej działań niepożądanych) oraz skutecznie [13].

---

### Komputerowe wspomaganie projektowania leków

---

Wyróżnia się dwa główne nurty projektowania leków.

Pierwszy to tzw. *receptor based design* – stosowany w sytuacji, gdy dokładnie znana jest struktura receptora. Receptory są w większości białkami, w których niezwykle skomplikowanej topografii znajduje się miejsce o specyficznym kształcie (miejsce wiążące).

Drugi nurt (*ligand based design*) sprowadza się do stworzenia tzw. farmakoforu, czyli modelu opisującego relacje przestrzenne między elementami wspólnymi dla ligandów oddziałujących z danym receptorem [14].

W procesie projektowania nowego leku kluczowe staje się poznanie celu molekularnego, jego miejsca wiążącego, oddziaływań i mechanizmów, za pomocą których receptor łączy się z ligandem oraz zmian konformacyjnych, którym podlega w wyniku związania się z substancją aktywną. Uzyskanie struktury przestrzennej receptora możliwe jest za pomocą rentgenografii strukturalnej. Niestety, meto-

da ta ma pewien minus w kontekście projektowania leków, ponieważ nie daje informacji o budowie jego miejsca aktywnego. Znacznie bardziej przydatna jest analiza rentgenostrukturalna kompleksu receptora z cząsteczką leku. W ten sposób można się dowiedzieć, jakie grupy funkcyjne uczestniczą w wiązaniu receptora z ligandem [15,16].

Znajomość topologii miejsca wiążącego umożliwiła za pomocą odpowiedniego oprogramowania sprawdzanie komplementarności ligandów (*screening*) dostępnych w bazach danych do celu molekularnego, tzn. dokowanie ligandu w miejscu aktywnym receptora, budowanie nowych ligandów w miejscu aktywnym receptora oraz badanie dynamiki kompleksu ligand-receptor [17,18]. Możliwość wizualizacji danego układu za pomocą dostępnego oprogramowania (GaussView, VMD) znacznie ułatwia ocenę modelu ligand-receptor oraz pozwala na dowolne modyfikowanie pierwotnej struktury poprzez dodawanie/usuwanie grup funkcyjnych, wydłużenie łańcucha itd. w celu uzyskania jak największego stopnia dopasowania do miejsca wiążącego, a tym samym, żeby lek wykazywał największą siłę działania.

Wyróżnia się trzy metody dokowania: sztywne, giętkie oraz semi-giętkie, w zależności od konformacji receptora i liganda. Podczas łączenia się receptora z ligandem dochodzi do zmian konformacyjnych zarówno w obrębie receptora, jak i liganda. Uwzględnienie tych dwóch efektów jednocześnie w metodzie dokowania jest utrudnione ze względu na znaczną czasochłonność obliczeń. W przypadku ligandów zwykle dokonuje się pełnej analizy konformacyjnej i w dalszym etapie procesowi dokowania poddawane są związki w najniższej energetycznej konformacji.

Najczęściej stosowanymi programami do dokowania molekularnego są FlexX, Flexidock, LigandFit, Gold, DOCK, Autodock, MOE-Dock,

Glide, Prodock [19]. Programy te mają zaimplementowane różne algorytmy obliczeniowe, z których w procesach dokowania najlepiej sprawdzają się metody Monte Carlo (MC), mechaniki molekularnej (MM). Opisywane są za pomocą pól siłowych, z których najbardziej popularne to AMBER, GROMOS, CHARMM oraz dynamiki molekularnej (MD) [19]. Symulacje dynamiki molekularnej pozwalają również badać procesy zachodzące w układach biologicznych, takie jak: trwałość, zmiany konformacyjne i folding białek, reakcje enzymatyczne, transport jonów przez membrany czy oddziaływanie peptydów, białek i innych związków chemicznych z dwuwarstwą lipidową.

---

### Przykłady leków zaprojektowanych *in silico*

---

Mechanika i dynamika molekularna są szczególnie przydatne do określenia oddziaływań wiążących ligand z receptorem. Na podstawie tych symulacji można wykluczyć na etapie przeszkukania potencjalnie aktywnych ligandów te, dla których siła oddziaływania jest najmniejsza. Takie metody były kluczowe dla wyznaczenia powinowactwa dla inhibitorów proteazy wirusa HIV [20].

$\beta$ -laktamazy są enzymami bakteryjnymi rozrywającymi wiązanie  $\beta$ -laktamowe w cząsteczce antybiotyku, co powoduje oporność produkujących je bakterii na działanie antybiotyku. Modelowanie molekularne przyczyniło się do uzyskania trójwymiarowej struktury podjednostki receptora VEB-1  $\beta$ -laktamazy. Po zatwierdzeniu wygenerowanego modelu receptora przeprowadzono wirtualny *screening* metodą dokowania ligandów. Cztery cząsteczki, dla których oddziaływanie z receptorem było najsilniejsze, poddano analizie toksyczności. W efekcie uzyskano jeden potencjalny inhibitor VEB-1  $\beta$ -laktamazy, dla którego określono podstawowe parametry

fizykochemiczne oraz sposób wiązania z receptorem. Te badania mogą być punktem wyjściowym do dalszych badań farmakokinetycznych oraz farmakodynamicznych w celu uzyskania kolejnego skutecznego leku, zapobiegającego tworzeniu się oporności na antybiotyki [21].

W podobny sposób zidentyfikowano nowe i selektywne związki przeciw przenoszonemu przez komary wirusowi Chikungunya (CHIKV), wywołującemu epidemie występujące głównie na terenie południowej Azji i wschodniej Afryki. Po raz pierwszy chorobę, której przyczyną był ten wirus opisano w 1953 r. Od tej pory nie opracowano szczepionki ani leku na wywoływaną przez tego wirusa chorobę [22].

Ponadto modelowanie molekularne jest jedną z metod wspomagających w pracach nad nowym, skutecznym lekiem przeciwnowotworowym [17].

Z kolei do farmaceutyków obecnych na aptecznej półce, których powstanie wspomogły metody dokowania należą: leki przeciwko proteazie wirusa HIV (np. nelfinawir, indinawir, sakwinawir), przeciwgrypowe (zanamiwir, oseltamiwir) czy obniżające ciśnienie krwi (kaptopryl) [23].

## Podsumowanie

Modelowanie molekularne jest użytecznym narzędziem pozwalającym interpretować, wyjaśniać i identyfikować molekularne właściwości potencjalnych substancji leczniczych, miejsc aktywnych receptorów, enzymów, inhibitorów, z wykorzystaniem struktur trójwymiarowych.

Metody modelowania molekularne obecnie nie są w stanie całkowicie zastąpić eksperymentalnego poszukiwania nowego leku, choćby ze względu na fakt ignorowania farmakokinetyki, ale mogą znacznie usprawnić i wspomóc ten proces oraz spowodować, że sukces prowadzonego projektu nie będzie jedynie wynikiem szczęścia i przypadku.

## Piśmiennictwo:

1. <http://www.forbes.com/sites/matthewherper/2013/08/11/the-cost-of-inventing-a-new-drug-98-companies-ranked/>
2. Ooms F, Molecular Modeling and Computer Aided Drug Design. Examples of their Applications in Medicinal Chemistry, *Curr Med Chem* 2000; 7:141-158.
3. Kurczab R, Projektowanie leków in silico, *Przemysł Farmaceutyczny* 2011; 1:32-34.
4. Polak S, Wiśniowska B, Modelowanie komputerowe w badaniach nad lekiem – projektowanie i poszukiwanie cząstki aktywnej, ocena właściwości fizykochemicznych oraz aktywności biologicznej, *Farmacja Polska* 2009; 65(3):214-223.
5. Maggiora GM, Is there a future for computational chemistry in drug research? *J Comput Aided Mol Des* 2012; 26:87-90.
6. Bajorath J, Computational chemistry in pharmaceutical research: at the crossroads, *J Comput Aided Mol Des* 2012; 26:11-12.
7. Kenny PW, Computation, experiment and molecular design, *J Comput Aided Mol Des* 2012; 26:69-72.
8. Buyya R, Branson K, Giddy J i wsp. The Virtual Laboratory: a toolset to enable distributed molecular modelling for drug design on the World-Wide Grid, *Concurrency Computat.: Pract. Exper* 2003; 15:1-25.
9. Moonsamy S, Soliman MES, Dual acting HIV inhibitors: integrated rational in silico design strategy, *Med Chem Res*, 2014; 23:682-689.
10. Nadendla RR, Molecular Modeling: A Powerful Tool for Drug Design and Molecular docking, *Resonance*, 2004; 51-60.
11. Ritchie TJ, McLay IM, Should medicinal chemists do molecular modelling? *Drug Discov Today* 2012; 17:535-537.
12. Mandal S, Moudgil M, Mandal SK, Rational drug design, *Eur J Pharmacol* 2009; 625:90-100.
13. Bodera P, Tworzenie nowych leków: miejsca docelowe i receptory, *Czasopismo Aptekarskie* 2009; 1(181):13-20.
14. Patrick G. L. *Chemia leków – Krótkie wykłady*, PWN, Warszawa 2004.
15. Patrick G. L. *Chemia medyczna – Podstawowe zagadnienia*, Wydawnictwo Naukowo Techniczne, Warszawa 2003.
16. Silverman R.B., *Chemia organiczna w projektowaniu leków*, Wydawnictwo Naukowo Techniczne, Warszawa 2004.
17. Friedman R, Boye K, Flatmark K, Molecular modelling and simulations in cancer research, *Biochim Biophys Acta* 2013; 1836:1-14.
18. Barril X, Luque FJ, Molecular simulation methods in drug discovery: a prospective outlook, *J Comput Aided Mol Des* 2012; 26:81-86.
19. Kitchin DB, Decornez H, Furr JR i wsp. Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: methods and applications, *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3:935-949.
20. Hensen C, Hermann JC, Nam K i wsp. *J Med Chem* 2004; 47:6673-6680.
21. Messaoudi A, Belguith H, Hamida JB, Homology modeling and virtual screening approaches to identify potent inhibitors of VEB-1  $\beta$ -lactamase, *Theor Biol Med Model* 2013; 10:22-32.
22. Bassetto M, Burghgraeve TD, Delang L i wsp. Computer-aided identification, design and synthesis of a novel series of compounds with selective antiviral activity against chikungunya virus, *Antiviral Res.* 2013; 98:12-18.
23. [http://www.biomodellab.eu/biomodeling/docs/lecture/CADD\\_SF\\_4\\_2013.pdf](http://www.biomodellab.eu/biomodeling/docs/lecture/CADD_SF_4_2013.pdf)

mgr Rokszana Wałęsa, dr hab. Małgorzata A. Broda  
[roksana.walesa@gmail.com](mailto:roksana.walesa@gmail.com); [broda@uni.opole.pl](mailto:broda@uni.opole.pl)

**„Lek w Polsce” w wersji elektronicznej**  
**do pobrania na [www.lekwpolsce.pl](http://www.lekwpolsce.pl) dla prenumeratorów**