

## Общий план лекций и семинарских занятий по курсу

### «Принципы конструирования лекарств и разработки новых препаратов»

Аудиторных занятий – 51 час. Из них лекций - 18 часов, семинаров – 33 часа.

#### Введение.

**Занятие 1 (лекция)<sup>1</sup>.** История развития методов поиска и создания лекарственных средств. Основные этапы развития подходов к созданию новых лекарств. Эмпирические подходы, использованные с древнейших времен до середины 19 века. Методы, основанные на знании химического строения эндогенных и известных биологически активных соединений (середина 19 – конец 20 века). Современные методы, основанные на знании строения и функций биологических мишеней действия лекарственных соединений.

Области науки, занимающиеся поиском и разработкой лекарственных соединений. Медицинская химия, фармацевтическая химия, молекулярная фармакология. Мультидисциплинарность исследований в области разработки новых препаратов. Создание нового лекарственного соединения – многостадийная задача, требующая значительных затрат и длительного времени. Основные этапы создания нового лекарственного средства от идеи до внедрения в медицинскую практику. Проблемы, возникающие при создании нового лекарства. Увеличение многообразия заболеваний; возникновение устойчивости и привыкания к имеющимся препаратам; уменьшение базы химического разнообразия соединений, используемых для поиска новых лекарств; ужесточение требований к безопасности препаратов; увеличение затрат на создание нового препарата.

#### Поведение лекарства в организме.

**Занятие 2 (семинар, имеющий своей целью оживление уже имеющихся у студентов знаний).** Понятия лекарственный препарат, лекарственная субстанция и физиологически активное соединение. Поведение биологически активного соединения в организме. Взаимодействие лекарственного препарата с организмом. Фармацевтическая, фармакокинетическая и фармакодинамическая стадии взаимодействия биологически активного соединения с организмом. Фармацевтическая стадия – введение препарата. Энтеральные (через пищеварительный тракт) и парентеральные (минуя пищеварительный тракт) пути введения лекарственных соединений.

Фармакокинетика – изучение действия организма на лекарство, т.е. исследование высвобождения из лекарственной формы, проникновения, распределения препарата в организме, его метаболизма и выведения. Особенности проникновения биологически активных соединений в организм. Пассивная диффузия и активный транспорт. Различные

---

<sup>1</sup> Длительность каждого занятия (лекции или семинара) – 3 академических часа (т.е. 2 ч. 15 мин.).

виды гистогематических барьеров в организме. Биотрансформация ксенобиотиков. Метаболическая трансформация и конъюгация. Ферментативные и химические процессы биотрансформации. Понятие пролекарства. Экскреция ксенобиотиков. Участие различных органов в экскреции (почки, печень, желудочно-кишечный тракт, легкие, потовые, слезные и слюнные железы). Основные механизмы экскреции в почках и печени. Биодоступность лекарственных препаратов.

Фармакодинамика – изучение действия лекарства на организм, т.е. исследование взаимодействия препарата с биологическими мишенями (как человека, так и вирусов, микроорганизмов или паразитов). Основные эффекты, оказываемые лекарственными средствами – подавляющее, стимулирующее, цитотоксическое, раздражающее и замещающее недостающие вещества. Понятие терапевтической широты действия лекарственного средства. Побочные действия лекарственных средств. Различные виды токсических осложнений при действии лекарственных средств. Кумуляция биологически активных соединений. Эффекты привыкания или толерантности при действии лекарственных средств. Взаимодействие лекарственных средств в условиях комбинированной фармакотерапии.

### **Биологические мишени**

**Занятие 3 (лекция).** Мишени действия биологически активных соединений. Комплексный характер взаимосвязи заболеваний и ассоциированных с ними мишеней. Одно заболевание может контролироваться несколькими ключевыми мишенями. Одна мишень может быть ассоциирована с несколькими различными заболеваниями. Типы мишеней: ферменты, рецепторные системы, ионные каналы, белки-переносчики, структурные белки, нуклеиновые кислоты, липиды мембран, субстраты и метаболиты. Каскады биологических мишеней на примерах заражения вирусом гриппа, бактериальных инфекций, артериальной гипертензии, воспалительных процессов, депрессивных расстройств. G-белок сопряженные рецепторы (GPCR).

**Занятие 4 (лекция).** Способы определения оптимальной мишени для лечения того или иного заболевания. Подходы, основанные на (i) изучении механизма конкретного заболевания; (ii) рассмотрении физиологических систем организма; (iii) рассмотрении механизма патологического процесса, приводящего, в частности, к различным заболеваниям; (iv) рассмотрении молекулярных механизмов биохимических процессов. Методы геномики, биоинформатики и протеомики, используемые для определения перспективных мишеней действия биологически активных соединений.

Методы протеомики. Физические основы электрофореза белков. Двумерный гель-электрофорез. Методы масс-спектрометрии для идентификации биомолекул. Методы ионизации молекул. Методы определения отношения массы к заряду. Методы определения аминокислотной последовательности методами масс-спектрометрии.

**Занятие 5 (лекция).** Рентгеновская дифракция для определения структуры биологических мишеней в кристалле. Рассеяние нейтронов и рентгеновских лучей единичным атомом и ансамблем атомов в кристалле. Методы кристаллизации белков. Симметрия

кристаллической решетки. Дифрактометры. Методы создания монохромного рентгеновского излучения. Рентгеновская кристаллография. Сбор и обработка дифракционных данных. Методики решения проблемы фаз. Определение модели, соответствующей экспериментальным данным. Распределение электронной плотности. Оптимизация структуры.

**Занятие 6 (лекция).** Ядерный магнитный резонанс для определения структуры биологических мишеней в растворе. Физические основы ЯМР. Импульсные методы ЯМР. Основные параметры ЯМР: химический сдвиг, константа спин-спинового взаимодействия, времена релаксации, константы прямого диполь-дипольного взаимодействия и их связь со строением молекул. Ядерный эффект Оверхаузера. Методы многомерной спектроскопии ЯМР. Отнесение сигналов в спектрах ЯМР биомолекул. Определение структуры биомолекул. Критерии качества и достоверности структур ЯМР.

**Занятие 7 (семинар).** Совместное использование нескольких физических методов при определении структуры биомолекул. Малоугловое рентгеновское рассеяние. Сочетание методов ЯМР и малоуглового рассеяния для определения структуры. Вычислительные методы молекулярной механики и молекулярной динамики. Методы гомологического моделирования структуры биомишеней. Использование вычислительных методов и экспериментальных данных для моделирования структуры биомишеней. Программы и вычислительные ресурсы для моделирования структуры белков: SWISS-MODEL, MODELLER, ROSETTA. Криоэлектронная микроскопия как метод определения структуры крупных биомолекулярных объектов.

#### **Физиологически активные соединения.**

**Занятие 8 (семинар).** Биологически активные соединения и их свойства. Физико-химические свойства: растворимость, липофильность, заряд, константа ионизации. Коэффициент распределения октанол/вода для оценки липофильности. Вычислительные методы оценки липофильности. Электронные свойства: дипольный момент, поляризуемость молекулы. Топологические свойства: размер, геометрия молекулы, конформация. Конформационные свойства низкомолекулярных соединений. Типы конформационных переходов и их энергетические характеристики. Стерические эффекты при взаимодействии лиганд-биомолекула. Стереохимические свойства низкомолекулярных соединений. Оптическая изомерия. Различия в связывании энантиомеров биологически активных соединений с биомолекулами. Эудесмическое (eudismic) соотношение и эудесмический индекс.

**Занятие 9 (семинар).** Структурные фрагменты биологически активных соединений. Понятие о биоактивном интерфейсе молекулы. Понятие о биофорах: фармакофорные, токсикофорные и метабофорные группы. Биоизостерические заместители.

Экспериментальные методы изучения строения и свойств низкомолекулярных соединений. Рентгеноструктурный анализ, ядерный магнитный резонанс, масс-спектрометрия, ИК и УФ спектрофотометрия, спектроскопия комбинационного рассеяния, определение оптической активности.

**Занятие 10 (семинар).** Методы квантовой фармакологии для определения строения и свойств низкомолекулярных соединений. Методы хемоинформатики для предсказания свойств потенциальных биологически активных соединений. Полуэмпирические методы определения электронной структуры молекул. Неэмпирические методы квантовой химии для определения структуры и свойств низкомолекулярных соединений. Методы QM/MM – комбинация квантовой химии и молекулярной динамики.

Структурное разнообразие химических соединений. Библиотеки химических соединений и принципы их формирования. Методы комбинаторной химии. Методы твердофазного и жидкофазного параллельного синтеза. Создание комбинаторных библиотек ациклических и гетероциклических соединений из аминокислот и коротких пептидов. Комбинаторные методы создания смесей фрагментов нуклеиновых кислот. Метод SELEX. Природные биологически активные соединения как источник новых перспективных структур.

### **Взаимодействие лиганд-биомишень.**

**Занятие 11 (семинар).** Взаимодействие низкомолекулярных соединений с биомолекулами – потенциальными биологическими мишенями. Типы межмолекулярных взаимодействий и значения их энергий. Ковалентное связывание. Кулоновское взаимодействие, образование ионных связей и комплексов с переносом заряда. Водородные связи. Дисперсионные и Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия. Гидрофобное взаимодействие и его природа. Структурно-динамические типы взаимодействия лиганд-мишень: замок и ключ (lock-and-key) и мишень-индуцированное изменение структуры лиганда (induced fit).

Кинетическое и термодинамическое описание связывания низкомолекулярного лиганда с биомолекулой. Константы связывания. Скорости связывания и диссоциации. Характер взаимодействия лиганда с рецептором и классификация лигандов по их действию на рецептор: агонисты, антагонисты, обратные агонисты и т.п. Понятия аффинность, эффективность, селективность, медиана эффективной дозы ED<sub>50</sub>, медиана токсической дозы TD<sub>50</sub>, медиана летальной дозы LD<sub>50</sub>, терапевтический индекс.

**Занятие 12 (семинар).** Описание связывания лигандов с ферментами. Обратимое и необратимое ингибирование. Константа ингибирования, медиана концентрации ингибирования IC<sub>50</sub>. Уравнение Михаэлиса-Ментен. Кооперативное взаимодействие при наличии двух и более центров связывания. Аллостерические эффекты. Мониторинг взаимодействия лиганд-мишень. Методы анализа кривых титрования. Координаты Скэтчарда, Бенеси-Хильдебранда, Диксона, Хилла, Бьеррума. Определение стехиометрии взаимодействия лиганд-биомолекула. Метод изомолярного титрования (метод Джобса).

**Занятие 13 (семинар).** Экспериментальные методы изучения взаимодействия лиганд-мишень. Спектрофотометрия, радиоизотопные методы, ЯМР-титрование, изотермическая калориметрия титрования (ИКТ). Определение термодинамических параметров связывания с помощью ИКТ. Структурные приложения метода ИКТ. Поверхностный плазмонный резонанс. Физические основы метода поверхностного плазмонного

резонанса и использование метода для создания биосенсоров и изучения связывания лигандов с биомолекулами.

### Поиск новых биологически активных соединений

**Занятие 14 (семинар).** Доклинические этапы создания нового активного соединения на основе знания мишени биологического действия. Понятия активного соединения (hit) и соединения-лидера (lead). Свойства соединения-лидера. Правило Липински. Основные подходы к мишень-ориентированному поиску соединений-лидеров: (i) вычислительные эксперименты (молекулярный докинг *in silico*); (ii) высокопроизводительный роботизированный скрининг (*high-throughput screening*), и (iii) метод молекулярных фрагментов (*fragment-based drug design*).

Компьютерные методы поиска соединений, которые с высокой вероятностью могут связываться с мишенью. Лиганд-ориентированные и мишень-ориентированные методы виртуального скрининга. Основные алгоритмы и программы молекулярного докинга, основанные на знании структуры молекулярной мишени. Методы высокопроизводительного скрининга, аппаратура для его реализации и способы детектирования взаимодействия тестируемых соединений с мишенью.

Метод молекулярных фрагментов – современный подход к рациональному дизайну соединений-лидеров. Физические основы метода молекулярных фрагментов. Модификация правила Липински для молекулярных фрагментов: правило 3-х. Вычислительные подходы для виртуальной реализации метода. Основные экспериментальные подходы для реализации метода молекулярных фрагментов: ЯМР, рентгеновская кристаллография, поверхностный плазмонный резонанс, масс-спектрометрия.

**Занятие 15 (лекция).** Методы ЯМР для мониторинга взаимодействия молекулярных фрагментов с биомолекулой. Медленный и быстрый обмен лиганда между связанным и свободным состояниями. Методы изотопной фильтрации и изотопного редактирования в изучении комплексов прочно связанных лигандов.

ЯМР в изучении комплексов слабо связываемых лигандов. Методы ЯМР-скрининга в поиске биологически активных соединений. Мониторинг сигналов биомолекулы. Метод SAR-by-NMR и определение центров связывания лигандов. Методы ЯМР, основанные на детектировании сигналов лигандов. Метод разностной спектроскопии с переносом насыщения (Saturation Transfer Difference). Метод Water-LOGSY.

**Занятие 16 (семинар).** Определения интерфейса взаимодействия лиганда с биомолекулой (Epitope mapping). Методы, основанные на конкурентном связывании лигандов и ЯМР на ядрах  $^{19}\text{F}$ . Методы ЯМР-докинга. Основные стратегии модификации молекулярных фрагментов для поиска соединений-лидеров. Методы SHAPES, INPHARMA-NMR, SAR-by-ILOE, NMR-SOLVE. Примеры реализации метода молекулярных фрагментов для создания новых соединений-лидеров, находящихся на различных стадиях доклинических и клинических испытаний. Перспективы развития рациональных методов дизайна биологически активных соединений.

**Занятие 17 (семинар).** Рассмотрение примеров реализации метода молекулярных фрагментов для создания новых соединений-лидеров, находящихся на различных стадиях доклинических и клинических испытаний (в виде кратких сообщений студентов – участников семинара на основе изучения ими литературных данных с последующим обсуждением).

План подготовлен в.н.с. ФФМ МГУ, д.х.н. Польшаковым В.И.

#### **Литература, использованная для подготовки курса.**

1. “Modern Methods of Drug Discovery”. Hillisch, A., Hilgenfeld, R., Editors, Birkhauser Verlag, Basel, Boston, Berlin, 2003.
2. Nogrady, T., Weaver, D.F., “Medicinal Chemistry. A Molecular and Biochemical Approach”, Third edition, Oxford University Press, Oxford, New York, 2005.
3. Coulson, C.J., “Molecular Mechanisms of drug action”, Taylor & Francis, London, 1994.
4. “BioNMR in Drug Research”, Zerbe Oliver, Editor, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2002.
5. “NMR of Biomolecules: Towards Mechanistic Systems Biology”, Edited by Ivano Bertini, Kathleen S. McGreevy, and Giacomo Parigi, Wiley-VCH Verlag GmbH, 2012.
6. Nelson, D.L., Cox, M.M., “Lehninger Principles of Biochemistry”,Worth Publishers, New York, 2000.
7. “Bioinformatics – From Genomes to Drugs”, Lengauer Thomas, Editor, in 2 volumes, Wiley-VCH Verlag GmbH, Weinheim, 2002.
8. Leach A.R., “Molecular Modeling. Principles and Applications”, Pearson Education Limited, Harlow, England, 1996.
9. Cohn R.M., Roth, K.S., “Biochemistry and Disease. Bridging Basic Science and Clinical Practice”, Williams & Wilkins, Baltimore, 1996.
10. “Encyclopedia of Life Sciences”, in 20 volumes, Nature Publishing Group, London, 2002.
11. Обзоры, опубликованные в 2000 – 2013 гг. в журналах «Nature Reviews Drug Discovery», «Future Medicinal Chemistry», «Drug Discovery Today», «Journal of Medicinal Chemistry», «Chemistry & Biology», «Chemical Reviews», «Angewandte Chemie International Edition».
12. Сердюк, И., Заккаи, Н., Заккаи, Дж., «Методы в молекулярной биофизике. Структура. Функция. Динамика», в 2-х томах, Издательство «Книжный Дом Университет», Москва, 2009.

13. Машковский, М.Д., «Лекарственные средства», в 2-х томах, Издательство Новая Волна, Москва, 2000.
14. Люльман, Х., Мор, К., Хайн, Л., «Наглядная фармакология», Издательство «Мир», Москва, 2008.
15. Харкевич, Д.А., «Фармакология», 9-е изд., перераб., доп. и испр., Издательство ГЭОТАР-Медиа, Москва, 2006.
16. Семенченко, В.Ф., «История Фармации», 2-е издание, Издательство Альфа-М, Москва, 2011.
17. Варфоломеев, С.Д., Гуревич, К.Г., «Биокинетика. Практический курс.», Издательство ФАИР-ПРЕСС, Москва, 1998.