УДК 615.3

В поисках новых соединений-лидеров для создания лекарств*

Г. Кубиньи

ГУГО КУБИНЬИ (HUGO KUBINYI) — профессор Гейдельбергского университета. С 1985 по 1998 гг. — руководитель отдела конструирования лекарств, 1998—2001 гг. возглавлял отдел комбинаторной химии и молекулярного моделирования фирмы BASF. С 1995 по 2000 гг. — президент Международного общества QSAR и молекулярного моделирования, в настоящее время занимает должность советника президента.

Фармацевтическая индустрия испытывает недостаток в новых лекарствах. В прошедшие десятилетия ежегодно проходили регистрацию и внедрялись в клиническую практику около 50—60 новых лекарственных препаратов. Однако за последние несколько лет количество новых внедренных лекарств существенно уменьшилось, достигнув минимума в 27 химических соединений в 2000 г., 24 — в 2001 г. и только 18 — в 2002 г. [1]. Расходы на исследование нового лекарства оцениваются в 500—900 млн. долл. [2]. Однако, если сопоставить общие ежегодные затраты в мире на разработку и исследование (включая биологические испытания) новых лекарств (в том числе и на исследования, закончившиеся неудачей), которые составили в 2001 г. 45 млрд. долл., с числом внедренных новых лекарственных веществ, то получим, что расходы на создание одного лекарства будут еще больше.

Уменьшение количества новых лекарств в настоящее время объясняется различными причинами (см. например, [3—5]). Одна из наиболее важных, по-видимому, связана с уже достигнутыми высокими терапевтическими стандартами, и теперь исследования сосредотачиваются на поисках лекарств для лечения хронических дегенеративных и других смертельных заболеваний, таких как ишемическая болезнь сердца, болезнь Альцгеймера, артриты, рак и СПИД. Темпы создания лекарств снижаются также из-за возрастающих требований к эффективности и безопасности новых лекарств. Вместе с тем текущая ситуация отражает дефицит новых структур-лидеров, которые могут быть оптимизированы в терапевтически пригодные лекарства. Данный обзор дает оценку различным стратегиям по поиску новых соединений-лидеров для создания лекарств.

Что такое соединение-лидер?

Предпринималось много попыток определить, какие свойства должны быть присущи структуре-лидеру. Прежде всего соединение-лидер должно обладать желаемой биологической активностью, и это должно быть основным критерием выбора, даже если активность исходного вещества слабая и неселективная. Далее, следует выбирать вещества, имеющие аналоги, с тем чтобы получить возможность путем структурных изменений регулировать биологическую активность и другие свойства. Соединение-лидер не должно быть слишком полярным или липофильным, в противном случае могут возникнуть проблемы с биодоступностью. Соединение не должно содержать токсофорных групп или групп, которые могут давать токсичные метаболиты. Оно не должно также необратимо реагировать с биологической мишенью (хотя следует признать, что некоторые наиболее удачные лекарства, такие как ацетилсалициловая кислота, пенициллины и омепразол, наоборот, являются необратимыми ингибиторами ферментов).

Наиболее важными параметрами соединения-лидера с точки зрения возможности удачной его оптимизации в активное, селективное, орально биодоступное и нетоксичное лекарство, по-видимому, являются молекулярная масса и липофильность. Оптимизация структуры соединения-лидера представляет собой эволюционный процесс: любые существенные или даже незначительные улучшения свойств ведут к новым аналогам, которые оптимизируются далее вплоть до получения кандидата в лекарство, обладающего всеми желаемыми свойствами для передачи на клинические испытания. Опыт показывает, что, как правило, молекула-кандидат в лекарство в ходе оптимизации увеличивается в размерах и становится более липофильной [6—12]. Существуют рекомендации [6], что соединение-лидер должно иметь молекулярную массу менее 350 Да и липофильность, выражаемую как $\log P$ (P — коэффициент распределения в системе *н*-октанол/вода), менее 3. Вместе с тем известное «правило пяти» Липински требует, чтобы лекарство имело молекулярную массу не более 500 Да, липофильность $\log P < 5$, в молекуле было не более пяти доноров водородной связи и не более 10 атомов азота и кислорода (грубая оценка числа акцепторов водородной связи) [13]. Если два или более из этих требований не будут соблюдены, существует большой риск плохой биодоступности соединения.

Другие группы исследователей рассматривали в качестве определяющих биодоступность факторов [14, 15] площадь полярной поверхности молекулы и ее гибкость, выражаемую числом связей, вокруг которых возможно вращение [16]. Несколько исследовательских групп анализировали молекулярные свойства продаваемых лекарств и кандидатов, проходящих клинические испытания [17—19].

Ханн с сотр. [8, 9] провели сравнение 470 пар соединений-лидеров и лекарственных препаратов, рассмотренных в книге Снидера (Sneader), посвященной

* Перевод с английского В.В. Королькова.

разработке прототипов лекарств [20]. Они показали, что в среднем увеличение молекулярной массы соединения-лидера при переходе к лекарству составляет лишь 38 массовых единиц (63 массовых единицы для 78% лекарств, которые имели более высокую молекулярную массу, чем исходное соединение-лидер) [8]. Однако, как показывает история химической модификации таких сложных природных веществ, как морфин, хинин или алкалоиды кураре, нередко можно получить более простые аналоги исходного соединения-лидера, сохраняющие его биологическую активность. Из последующего обсуждения станет ясно, что существует много исключений из эмпирических правил, касающихся свойств соединения-лидера, и что в отдельных случаях даже «плохие» лидеры могут быть успешно оптимизированы до ценных лекарств.

Природные вещества как традиционные источники структур-лидеров

Природные вещества продолжают оставаться богатейшим источником лекарств и структур-лидеров (см. например [21—24]). До сих пор около половины известных лекарств представлено природными веществами, их производными или аналогами. Если в прошлом доминирующую роль в поиске лекарств играли растительные продукты, а микроорганизмы рассматривались только в качестве продуцентов антибиотиков, то в наши дни многие выделяемые микроорганизмами вещества стали источником или основой для получения ряда важных классов лекарств.

Изготовление лекарств на основе природных веществ начиналось с алкалоидов наперстянки, морфина, хинина и салициловой кислоты. Из растений рода наперстянки и некоторых других были получены сердечные гликозиды, включая аналоги с улучшенными фармакокинетическими свойствами. Морфин оказался полезным соединением-лидером для создания основных анальгетиков, причем некоторые из них имеют более простую химическую структуру, а также для разработки противокашлевых средств, антагонистов морфина, антидиарейных средств и нейролептиков. Из хинина — сложного природного вещества также могут быть получены более простые аналоги. Салициловая кислота обладает слабой противовоспалительной активностью, а ее более активное производное — ацетилсалициловая кислота является необратимым ингибитором циклооксигеназы и пригодно также для профилактики тромбозов. Из других веществ растительного происхождения, которые послужили в качестве соединений-лидеров при создании лекарств, можно назвать алкалоиды кураре, папаверин, атропин и кокаин [20, 25, 26]. Недавно открытые противораковые препараты таксол и камптотецин, природное вещество гуперзин для лечения болезни Альцгеймера и противомалярийное средство артемизин также дают примеры растительных продуктов, представляющих терапевтический интерес.

За исключением эпибатидина и некоторых пептидов, таких как тепротид, гирудин и конотоксины, животные токсины играют более важную роль в качестве «инструментов» для биохимических исследований (например, тетродотоксин), чем в качестве лекарственных средств или соединений-лидеров (о роли эндогенных нейромедиаторов, стероидов и т.д. см. ниже).

С 1928 года, когда сэр Александр Флеминг открыл явление лизиса бактерий под действием продукта секреции штамма *Penicillium*, микроорганизмы остаются источником антибиотиков. Исходная молекула пенициллина была шаг за шагом оптимизирована сначала до биодоступных аналогов, затем до антибиотиков широкого спектра действия и наконец — до производных, устойчивых к действию лактамазы. Помимо пенициллина, ценными антибиотиками или соединениями-лидерами для них оказались цефалоспорины, тетрациклины, хлорамфеникол, стрептомицин, рифампицин, валиномицин и ряд других. Но из микроорганизмов были выделены не только антибиотики. Из спорыньи (*Secale cornutum*) получены сердечно-сосудистые препараты и галлюциногенный диэтиламид лизергиновой кислоты (лизергид, ЛСД). Микроорганизмы являются источником иммунодепрессантов циклоспорина А и такролимуса, противоракового препарата эпотилона и наиболее важной группы статинов, блокирующих биосинтез холестерина. Кумарины, обладающие антикоагуляционным действием, например фенпрокумон и варфарин, были получены из дикумарола — микробного продукта, впервые выделенного из гнилого сена [23].

Случайно открытые лекарства

Некоторые из первых лекарств были открыты случайно более 150 лет назад [20, 27—31]. Использование закиси азота (N_2O) и диэтилового эфира как наркотических газов в хирургии стало результатом наблюдения: люди, вдыхавшие эти вещества, не испытывали никакой боли в случае травм. Сосудорасширяющая активность амилнитрита и нитроглицерина была обнаружена также случайно: химики, работавшие с этими органическими соединениями, испытывали сильные головные боли после вдыхания или попадания внутрь небольших их количеств.

Открытие ряда других лекарств стало результатом ошибочных рабочих гипотез. Например, полагали, что хлоральгидрат в процессе метаболизма превращается в обладающий наркотическим действием хлороформ (в действительности активной формой является метаболит трихлорэтанол), а этилкарбамат, который, как считали, высвобождает этанол, обладает сам по себе снотворным действием. Считалось, что ацетилсалициловая кислота является всего лишь лучше переносимым пролекарством салициловой кислоты, но оказалось, что она имеет свой уникальный механизм действия. Фенолфталеин предполагалось использовать для маркировки дешевых вин, и только в ходе самоотверженного эксперимента на самом себе фармаколог обнаружил его сильное слабительное действие. Другой случай — после ошибочного приема внутрь клофелина человек заснул на 20 часов. Раньше полагали, что это только средство от насморка, а он оказался сильным гипотензивным препаратом.

Истории случайных открытий пенициллина, ЛСД и первого транквилизатора — хлордиазепоксида хорошо известны [20, 31]. Антикоагулянты ряда дикумарола были открыты в результате наблюдения за коровами, которые истекали кровью после поедания гнилого сена. Изначально антикоагулянт варфарин использовался в качестве крысиного яда. Начало его применению в клинической практике положил случай с аме-

риканским солдатом, который пытался с помощью варфарина покончить жизнь самоубийством, но остался жив после его приема. Сегодня этот «крысиный яд» — наиболее ценное лекарство в профилактической терапии инсульта и других тромботических заболеваний. Все основные искусственные подсластители, такие как сахарин, цикламат и аспартам, были открыты также случайно (химики обнаружили сладкий вкус, облизывая свои пальцы или выкуривая сигарету [30]).

Пристальное рассмотрение истории открытия лекарств показывает, что чистая случайность и прозорливость исследователя очень часто играют существенную роль [20, 27, 31]. Флеминг вполне мог выбросить испорченную бактериальную культуру, а Стернбах мог не заметить кристаллов хлордиазепоксида, когда убирал лабораторию. Но они этого не сделали, потому что были опытными исследователями. Согласно выражению Пастера, «удача улыбается только подготовленному уму», и «открытие заключается в том, чтобы видеть то, что видит каждый, и подумать о том, о чем не подумал никто» — сказано Альбертом Сент-Дьёрдьи, открывшим витамин С.

Рациональные подходы — золотой век в исследовании лекарств

Богатейшим источником новых лекарств, помимо природных веществ растительного происхождения, являются эндогенные нейромедиаторы и стероидные гормоны. Большое количество терапевтически пригодных соединений, как агонистов, так и антагонистов рецепторов, было получено в ходе изучения биохимического механизма, лежащего в основе передачи нервного импульса, и в результате глубокого понимания механизма действия гормонов. Этот этап можно, и ингибиторов захвата нейромедиаторов считать золотым веком в исследовании лекарств [32]. Практически каждая модификация дофамина, серотонина, гистамина и ацетилхолина, осуществляемая по стратегиям, разработанным в классической химии лекарственных веществ [33], приводила к получению соединения с измененной активностью и селективностью, которое часто оказывалось кандидатом в лекарство. Обширный набор лекарств, многие из которых используются до сих пор, был получен в период 1950—60 гг. [20, 26, 27, 34]. Самый первый Н1-антигистаминный препарат — дифенгидрамин, сейчас уже вышедший из употребления из-за своего седативного эффекта, был синтезирован в середине 40-х годов прошлого века молодым университетским профессором. Антигистаминные препараты стали сразу же популярны как «чудесные» лекарства. Тогда же случайно было открыто, что комплекс 8-хлортеофиллина с дифенгидрамином является эффективным лекарством против морской болезни. Его «клиническое испытание» произошло в 1947 году во время плавания корабля «Генерал Балу» из Нью-Йорка в Бремерхафен [20, 28]. Дифенгидрамин имел настолько большой финансовый успех, что гонорары изобретателю этого соединения превысили доход президента компании «Parke Davis», которая продавала лекарство. Позднее изобретатель возглавил исследовательскую работу в этой компании [20, 28]. До сих пор потенциал нейромедиаторных агонистов и антагонистов, например лигандов 5-НТ рецепторовне использован в полной мере.

Можно привести также аналогичные истории удачных открытий стероидных гормонов и их более селективных синтетических аналогов. Введение 17α-остатков, особенно этинильной группы, в эстрогенные, гестагенные и андрогенные гормоны с целью предупреждения быстрого метаболического превращения 17-кето- или 17β-гидроксильных групп в неактивные 17α-гидроксильные производные, явилось первым прорывом в разработке биодоступных аналогов. Синтетические аналоги кортикостероидов были с энтузиазмом восприняты как еще одна группа чудодейственных лекарств, при приеме которых пациенты, страдающие артритом, сразу же чувствовали облегчение от боли. Только позднее было обнаружено, что возможны серьезные побочные эффекты, особенно при постоянном применении таких препаратов.

Несколько менее известна история создания первого блокатора овуляции — норэтинодрела, разработанного компанией «Сирл» в конце 50-х годов прошлого века. Если разработку самого аналога как сильнодействующего, орально биодоступного гестагена осуществляли по рациональной схеме, то конечное лекарство явилось результатом случайных наблюдений. История его создания такова. Синтез этого препарата для предупреждения нежелательной беременности начинался с местранола — пролекарства (метилового эфира) сильнодействующего эстрогена этинилэстрадиола. Первые партии лекарства, использовавшиеся в клинических испытаниях, содержали незначительное количество этого исходного вещества. При налаживании производства лекарства и выпуска его на рынок компания приняла решение производить норэтинодрел в чистом виде. Однако следствием применения чистого препарата стали нежелательные беременности. Разработчики вынуждены были добавить эстрогенную «примесь», сделав комбинацию обоих соединений такой же надежной, как и прежний препарат [20]. Развитие блокаторов овуляции могло быть задержано на годы или даже десятилетия без этого нечаянного открытия совместного действия эстрогенной и гестагенной составляющих. К сожалению, количество эстрогена в препаратах первого поколения было слишком велико, и как результат во многих случаях наблюдались тяжелые тромботические эффекты.

В последние годы много ингибиторов ферментов было разработано на основе соединений, которые имитируют переходное состояние соответствующего фермента. Ингибиторы протеаз [35] построены из фрагментов расщепления пептидов, в которых затрагиваемая амидная связь превращается в другую функциональную группу. Опыт показывает, что ингибиторы сериновых и цистеиновых протеаз должны содержать так называемые аминокислоты Р-1, Р-2 и т.д. (N-концевой пептид), иногда соединенные с аналогом карбоксильной группы, который способен к взаимодействию с каталитическим остатком серина или цистеина. Например, такими аналогами могут быть альдегидная группа, активированная кето-группа, хлорметилкето-группа или остаток борной кислоты. С другой стороны, ингибиторы металлопротеаз должны включать аминокислоты Р-1′, Р-2′ с С-концевой стороны, а место аминогруппы пептида должна занимать группа, хелатирующая металл, например, сульфгидрильная группа или остаток иминоуксусной или гидроксамо-

вой кислоты. Для ингибиторов аспартильных протеаз ситуация также отличается: необходмо сохранить аминокислоты по обеим сторонам расщепляемой пептидной связи, а саму эту связь заменить устойчивым к действию фермента изостерным аналогом (в идеале — соответствующим переходному состоянию) [35].

Проблема превращения подобных пептидов в непептидные аналоги обсуждается ниже.

Исследования лекарств-клонов

Копирование существующих лекарств с незначительными химическими изменениями (создание лекарств-клонов) получило название исследования «me too». Такие аналоги могут не иметь существенных терапевтических преимуществ, однако нередко новые аналоги действительно обладают явными преимуществами. Например, разработаны биодоступные устойчивые к лактамазе пенициллины широкого спектра действия, диуретические и противодиабетические сульфамидные препараты на основе антибактериальных сульфамидов, полярные H1-антигистаминные препараты без седативного побочного действия, а также селективные антагонисты и частичные агонисты β_1-рецепторов (с α_1-антагонистической активностью или без нее), созданные путем модификации исходных неселективных β_1- и β_2-блокаторов. Если лекарство «me too» имеет некоторое терапевтическое преимущество, то оно, как правило, выдвигается на первое место, например, более популярным стал ранитидин по сравнению с циметидином или эналаприл по сравнению с каптоприлом. Несмотря на шансы по улучшению существующего лекарства, подход «me too» применяется только в том случае, если можно получить «выдающиеся» по свойствам лекарства, например антидепрессанты, ингибирующие захват нейромедиатора [36], статины [37] или ингибиторы PDE5 [38, 39]. Целью фармацевтической индустрии является создание не «такого же», а «лучшего», «первого» или даже «единственного» препарата.

От пептидов к пептидомиметикам

Многие из ферментных субстратов, например ангиотензиноген, ангиотензин, фибриноген (как предшественник фибрина), белки вируса иммунодефицита GAG и GAG-POL (предшественники протеазы и других белков ВИЧ) и многие лиганды ферментов и рецепторов, такие как серпины, энкефалины, нейрокинины, соматостатин, фибриноген (как лиганд рецепторов GP IIb/IIIa), витронектин и другие, являются либо низкомолекулярными пептидами, либо белками. В отличие от взаимодействий белок-белок в сигнальных цепях, взаимодействие этих лигандов с их биомишенями осуществляется с помощью участка полипептидной цепи, содержащего всего несколько аминокислот, а остальная часть полипептида или белка стабилизирует определенное пространственное расположение данной части макромолекулы. Показательным примером этого может служить пептидный мотив RGD (аргинин, глицин, аспартат), который взаимодействует с различными интегриновыми рецепторами в совершенно разных конформациях.

Синтез пептидов в больших количествах не вызывает трудностей — даже получение миллионов и миллиардов различных аналогов не является проблемой, если можно применить параллельный синтез смеси аналогов. За короткое время могут быть найдены и высокоаффинные субстраты или лиганды. Однако следующий шаг — химическое превращение пептида-лидера в непептидное (пептидомиметическое) биодоступное лекарство является далеко не тривиальным. Был предложен ряд структурных фрагментов, имитирующих пептидные петли, — основной пространственный мотив, взаимодействующий с другими белками. Однако, за исключением неселективных бензодиазепинов, большинство других описанных в литературе молекулярных скелетов пока не воплотилось в реальные активные аналоги пептидов.

Морфин и его многочисленные аналоги были открыты и получены первыми, и их молекулярный дизайн на основе энкефалиновых пептидов не производился. Несмотря на отдельные попытки доказать «фармакофорное сходство» между энкефалинами и морфином, приходится сделать вывод, что получить морфин только на основе структуры этих пентапептидов было бы невозможно.

Результатом успешного применения пептидомиметического подхода являются некоторые лиганды интегринов. Сначала была выявлена селективность циклических пептидов по отношению к соответствующим интегриновым рецепторам [40], а затем уже были сконструированы бензодиазепиновые пептидомиметики с превосходной селективностью [41, 42]. Другим примером удачного превращения пептидов в пептидомиметики являются лиганды рецепторов нейрокинина-1 и нейрокинина-2 [43, 44] и лиганды рецепторов соматостатина с резко выраженной селективностью к определенным их подтипам [45].

Методом пептидомиметического моделирования также удалось получить ряд ингибиторов протеазы ВИЧ, исходя из последовательности сайта расщепления [46]. Первые лекарства против ВИЧ — саквинавир, ритонавир и индинавир — еще очень похожи на пептиды, а более новые аналоги, полученные путем структурного дизайна, — нелфинавир, ампренавир, а также пока не выпущенные на рынок ингибиторы, разработанные фирмой «DuPont» [47, 48], являются настоящими пептидомиметиками.

Надо сказать, что затраты на получение этих пептидомиметических лекарств, видимо, достигают миллиардов долларов. Многие компании затратили не меньшие усилия на разработку непептидных орально доступных ингибиторов ренина и тромбина, однако без особого успеха. В принципе превращение пептидов в пептидомиметики возможно, и в некоторых случаях этот путь действительно может привести к успеху, но его нельзя считать простой универсальной стратегией.

Оптимизация побочных эффектов лекарств

Большинство лекарств, в дополнение к своему основному действию, обладает некоторыми побочными эффектами. Чтобы лекарство нашло терапевтическое применение, эти эффекты должны быть приемлемыми с учетом ожидаемого положительного результата. При разработке лекарств такие побочные эффекты часто открывают путь к новым областям применения. Приведем примеры. У ртутьорганических соединений, которые изначально применялись для лечения сифилиса (сейчас не используются), была обнаружена

диуретическая способность. Альтернативные лекарства, которые используются до сих пор, были получены путем оптимизации побочного диуретического эффекта противобактериальных сульфамидных препаратов. У другого противобактериального сульфамида были обнаружены тяжелые гипогликемические эффекты (приводившие даже к смерти больного), оптимизация которых позволила разработать противодиабетические препараты. Противокашлевые и закрепляющие побочные эффекты морфина удалось оптимизировать и на этой основе разработать ненаркотические противокашлевые средства (некоторые из них принадлежат к энантиомерным аналогам морфина) и ненаркотические противодиарейные средства. У ипрониазида, N-изопропильного аналога туберкулостатического препарата изониазида, при клинических испытаниях в качестве потенциального противотуберкулезного препарата на некоторых депрессивных пациентах были выявлены антидепрессантные свойства. Самый первый нейролептик хлорпромазин — антагонист дофамина — был разработан на основе антигистаминного препарата прометазина. Его близкие аналоги имипрамин и дезипрамин неожиданно оказались антидепрессантами, что обусловлено их способностью ингибировать захват нейромедиаторов.

Таким образом, различные механизмы действия и совершенно различные терапевтические применения могут базироваться на небольших структурных различиях (обзоры подобных разработок лекарств можно найти в [20, 27, 28]). Ацетилсалициловая кислота использовалась почти столетие в качестве мягкого анальгетика и жаропонижающего средства. Но когда был открыт механизм ее действия, оказалось, что она необратимо ингибирует циклооксигеназу тромбоцитов (в отличие от других клеток тромбоциты не в состоянии синтезировать циклооксигеназу). В результате была осознана важность ацетилсалициловой кислоты для профилактики инсульта и других тромботических заболеваний.

Следует упомянуть еще два замечательных примера использования побочных лекарственных эффектов в терапии в наше время. Первый препарат для лечения мужского сексуального расстройства — силденафил (препарат Viagra® компании «Pfizer») был получен при оптимизации и разработке противоаллергического, гипотензивного и антистенокардического препарата. При изучении переносимости препарата у мужчин был неожиданно обнаружен побочный эффект усиления эрекции пениса, что в дальнейшем привело к разработке силденафила в данном терапевтическом направлении [49]. Второй пример — противолейкемический препарат иматиниб [50]. Более чем у 90% всех пациентов с хронической миеломной лейкемией кроссовер между 9-й и 22-й хромосомой приводит к более короткому варианту 22-й хромосомы (так называемая филадельфийская хромосома), который кодирует новый белок — тирозиновую протеинкиназу bcr-abl. Путем структурной модификации ингибитора протеинкиназы C были получены аналоги, ингибирующие также протеинкиназу bcr-abl. Затем небольшое химическое изменение — введение метильной группы — позволило полностью убрать нежелательную активность в отношении протеинкиназы C. Дальнейшая оптимизация привела к созданию лучше растворимого и селективного к протеинкиназе bcr-abl препарата иматиниба (препараты Gleevec® и Glivec® компании «Novartis»), который стал первым средством для лечения хронической миеломной лейкемии [50].

Некоторые классы соединений относят к так называемым «привилегированным структурам» [51, 52], поскольку они служат основой для создания лекарств с множеством разных видов активности. Например, бензодиазепины могут быть транквилизаторами (т.е. агонистами ГАМК-рецептора), антагонистами и обратными агонистами ГАМК-рецептора, агонистами опиатных рецепторов, антагонистами рецепторов холецистокинина, нейрокинина-1, вазопрессина и интегриновых рецепторов, ингибиторами фарнезилтрансферазы, модуляторами калиевых каналов, миорелаксантами, снотворными препаратами, нейролептиками и антидепрессантами. Недавно Вермут предложил принцип «селективной оптимизации побочной активности» в качестве общей стратегии поиска лекарств [53]. Среди примеров применения этой стратегии — превращение прототипа с β-блокаторной активностью в активатор калиевых каналов кромакалим [54] и создание на основе антидепрессанта минаприна веществ с наномолярной активностью в качестве ингибиторов ацетилхолинэстеразы, антагонистов рецептора фактора освобождения кортикотрофина и агонистов мускариновых рецепторов M1 [53], а также дальнейший переход от этих мускариновых агонистов к антагонистам рецептора $5HT_3$ [55].

Пролекарства и «мягкие» лекарства

Перевод в пролекарства веществ-кандидатов с хорошими свойствами *in vitro*, но с неудовлетворительными свойствами *in vivo*, например, плохой биодоступностью, является достаточно общей стратегией оптимизации соединений-лидеров. Первыми примерами тому были ацетилсалициловая кислота (хотя в этом случае возникает новый механизм действия) и героин — диацетильное производное морфина. Моноэфиры дикарбоновых кислот — ингибиторов ангиотензин-превращающего фермента, например эналаприл (активной формой которого является свободная дикислота), используют для эффективного всасывания систему активного транспорта аминокислот.

Пролекарствам посвящены подробные обзоры, поэтому мы рассмотрим лишь два примера. Некоторые противовирусные аналоги нуклеозидов ведут себя подобно троянскому коню: они активируются только в зараженных вирусом клетках под действием вирусных киназ, превращаясь в мононуклеотиды, которые затем фосфорилируются до тринуклеотидов с помощью клеточных киназ. Благодаря особенностям химической структуры этих соединений при их включении в растущую цепь нуклеиновой кислоты ее биосинтез останавливается.

Противоязвенный препарат омепразол не разрабатывался как пролекарство, но оказалось, что он является лекарством с лучшей органной селективностью. В кислотоустойчивой форме он проходит желудок, затем абсорбируется в кишечнике и распределяется по всему организму. В клетках желудка, продуцирующих кислоту (и только в них), он активируется в результате кислотно-катализируемой перегруппировки, превращаясь в необратимый ингибитор H^+/K^+-АТФазы — так

называемого протонного насоса (для выяснения дальнейших деталей, касающихся пролекарств, см. например [25, 26, 33]).

«Мягкие» лекарства представляют собой активные производные неактивных аналогов лекарств. Например, такими являются эфиры кортикостероид-21-карбоновых кислот, которые активны при местном применении, но после всасывания через кожу очень быстро метаболически разлагаются до неактивных 21-кислот.

Биологическая активность энантиомеров: хиральный переход

В прошлом хиральные лекарства получались в виде рацематов или (при наличии в молекуле нескольких хиральных центров) в виде диастереомерных смесей. Лишь около 20 лет назад фармаколог Аренс подверг рацематы критике как вещества, «содержащие 50% примесей» [56]. Это подтолкнуло фармацевтическую промышленность к осознанию проблемы, связанной с тем, что оптически активное лекарство и его зеркальный изомер могут значительно различаться по биологической активности. Действительно, некоторые хиральные барбитураты в одной из форм обладают седативной активностью, тогда как другой их энантиомер вызывает судороги. В случае синтетических аналогов морфина один энантиомер может быть сильным анальгетиком, а другой — противокашлевым средством. Некоторые дигидропиридины в одной энантиомерной форме являются блокаторами кальциевых каналов, в то время как другой оптический изомер стабилизирует кальциевый канал в открытом состоянии, так что биологические эффекты в рацемате компенсируются. В случае ибупрофена его R(−)-изомер метаболически превращается в биологически активный S(+)-изомер, но переход в обратном направлении невозможен. Другой пример дает талидомид. Два его энантиомера обусловливают соответственно седативную активность и побочное тератогенное действие, однако разделение рацемата не приводит к продуктам с индивидуальной активностью из-за метаболической взаимотрансформации обоих энантиомеров.

В течение последнего десятилетия компаниям удалось продлить «время жизни» своих хиральных лекарств с помощью так называемого «хирального перехода» (см. например [57]) — на рынок поступает биологически активный энантиомер вместо рацемата. Примерами подобной стратегии являются дексфенфлурамин (изъят из продажи в 1997 г.), дексибупрофен, декскетопрофен, левофлоксацин, левалбутерол, левобупивакаин, эзомепразол, левоцетиризин, дексметилпенидат и эсциталопрам [57].

«Спасение» плохих соединений-лидеров: метаболический переход

Иногда соединения-лидеры имеют настолько плохие свойства, что ни классическая оптимизация, ни получение пролекарства не в состоянии повысить их терапевтические возможности. Тем не менее такие соединения можно «спасти», если понятны их биохимические механизмы действия, путем выбора их метаболического предшественника либо активного метаболита неактивного или токсичного лекарства. Подобный подход проиллюстрирован ниже на примере четырех лекарств: дофамина, фенацетина, терфенадина и занамивира.

Болезнь Паркинсона возникает в результате недостатка дофамина в определенных участках мозга. Простейший на первый взгляд способ лечения — оральный прием дофамина — невозможен вследствие его плохой биодоступности и неудовлетворительной проходимости через гематоэнцефалический барьер. Его метаболический предшественник L-дофа открывает хорошие перспективы благодаря активному транспорту как при абсорбции, так и при прохождении через гематоэнцефалический барьер, однако терапевтическая ценность этого метаболита ограничивается побочным действием на периферическую нервную систему (включая повышение пульса и артериального давления) и коротким временем жизни в организме. Оба эти фактора удается компенсировать при одновременном применении полярного ингибитора дофадекарбоксилазы, действующего только на периферии, и ингибитора моноаминооксидазы с активностью по отношению к ЦНС, что обеспечивает чрезвычайно успешные результаты такой рациональной комбинированной терапии.

Фенацетин десятилетиями использовался как мягкое анальгетическое и жаропонижающее средство до тех пор, пока при длительном приеме не была обнаружена его гепато- и нефротоксичность, и это лекарство было изъято из продажи. На смену ему пришел активный метаболит фенацетина — парацетамол, не образующий токсичных продуктов.

Точно так же не обладающий седативным эффектом H1-антагонист терфенадин пришлось заменить на его активный метаболит фексофенадин, поскольку сам терфенадин является ингибитором калиевых каналов hERG в тканях сердца. При нормальных условиях он быстро окисляется до фексофенадина, однако становится чрезвычайно токсичным при подавлении его метаболизма в присутствии ингибиторов цитохрома CYP3A4, включая кетоконазол, эритромицин, компоненты грейпфрутового сока и многие другие вещества [58, 59].

Занамивир — первый ингибитор нейраминидазы, используемый для лечения гриппа [60], является настолько полярным, что возможно лишь его ингаляционное применение. Анализ химической структуры не привел к изысканию никакого разумного способа его трансформации в орально активную форму лекарства. В то же время случайно обнаруженное сохранение биологической активности у аналогов, не содержащих характерной глицериновой боковой цепи сиаловой кислоты [61, 62], привело к созданию орально доступного препарата олсетамивира, который представляет собой пролекарство (этиловый эфир) липофильного аналога переходного состояния [62].

Хотя здесь приведены отдельные успешные примеры, они подтверждают, что «плохие» соединения-лидеры действительно можно трансформировать в ценные лекарства.

Скрининг и высокопроизводительный скрининг

Большинство лекарств появилось в результате более или менее систематической оптимизации соединений-лидеров, которые были найдены при тестировании веществ на животных, изолированных органах

либо *in vitro*, на моделях ингибирования ферментов или связывания с рецепторами. Бензодиазепины, нафтифин, циклоспорин А, кумарины как ингибиторы протеазы ВИЧ [63—65] и некоторые непептидные антагонисты G-белок-сопряженных рецепторов — вот лишь некоторые яркие примеры лекарственных соединений, полученных в результате скрининга. Нет сомнения в том, что скрининг внес свою лепту в открытие многих полезных лекарств.

Однако с появлением автоматизированного высокопроизводительного скрининга ситуация усложнилась. Хотя ряд лекарств (невирапин, делавирдин, эфавиренц, босентан, гефитиниб и сивелестат) получены из соединений-лидеров, найденных при высокопроизводительном скрининге [66], фармацевтические компании уже отдают себе отчет в том, что начальная идея тестировать свои коллекции соединений, любые коммерчески доступные вещества или комбинаторные библиотеки соединений на многие биологические свойства, не приводит к ожидаемым результатам. Ограниченная растворимость, осаждение после разбавления буферным раствором, разложение вещества при хранении в жидкой среде, неизвестные концентрации, окрашенные примеси, флуоресценция некоторых соединений и т.д. дают множество ложных положительных и ложных отрицательных результатов. Во многих случаях повторное тестирование не подтверждает наличия активности ни у одного из отобранных ранее соединений, а в других — выявляет активность у аналогов веществ с подтвержденной активностью, хотя при первоначальном скрининге они были признаны неактивными. Одной из возможных причин подобных ситуаций является многоплановая «активность» некоторых соединений в отношении многих мишеней [67, 68]. Такие соединения вызывают агломерацию белка и, как следствие, создают видимость биологической активности.

Возникает другой важный вопрос: является ли сосредоточение на какой-либо конкретной биомишени лучшей стратегией для поиска соединений-лидеров по сравнению с испытаниями на животных? Пути назад к скрининговым испытаниям на животных нет, но необходимо осознать, что некоторые лекарства, например антидепрессанты и нейролептики, обладают широким спектром активностей. Наиболее ярким примером является атипический нейролептик — оланзапин, который проявляет активность в наномолярном диапазоне при связывании более чем с десятком различных G-белок-сопряженных рецепторов [36].

Комбинаторная химия

Еще более неутешительным, чем результаты высокопроизводительного скрининга коллекций соединений, оказался рейтинг успешности комбинаторных библиотек, особенно на начальном этапе их применения. Тестированию без каких-либо положительных результатов подвергались огромные библиотеки неопределенных смесей веществ, чаще всего обладавших избыточной липофильностью и большой молекулярной массой. Только после появления «правила пяти» Липински [13] и других методик виртуального скрининга было осознано важное значение для биологической активности соединений таких параметров, как молекулярная масса и липофильность. Ханн и сотр. [8, 9] показали, что рейтинг успешности библиотек обычно уменьшается с ростом числа «перегруженных», т.е. слишком больших и слишком сложных молекул. Кроме того, они предложили изменить стратегию синтеза комбинаторных библиотек, например получать только сто R1-модифицированных аналогов с постоянными группами R2 и R3, сто R2-модифицированных аналогов и т.д., вместо миллионов аналогов со всевозможными комбинациями R1, R2 и R3 в молекуле с тремя различными положениями заместителей и сотней вариаций R в каждом положении.

Вместе с тем в ходе развития комбинаторной химии основное внимание было перенесено на методы автоматизированного параллельного синтеза небольших библиотек одиночных и чистых (или очищенных) соединений, представляющих биологический интерес. Сегодня комбинаторная химия в основном применяется не столько при поиске соединений-лидеров, сколько для их проверки и на начальных этапах оптимизации. Шрайбер с сотр. [69, 70] описали синтез библиотеки 2,18 млн. аналогов природных соединений, однако их биологическая активность до сих пор не описана. Более удачные рекомендации для синтеза комбинаторных библиотек аналогов природных соединений были даны в [71]. Вебер предложил синтез комбинаторных библиотек с большим уровнем разнообразия, основанный на многокомпонентных реакциях, которые позволяют генерировать множество различных молекулярных скелетов [72]. Убедительным примером правильного применения комбинаторной химии на ранних этапах оценки соединений-лидеров является, например, открытие в ряде библиотек, включающих до 350000 соединений, селективных лигандов определенных подтипов рецепторов соматостатина с наномолярной активностью [45].

Виртуальный скрининг

В классической химии лекарственных веществ разработка лекарства всегда начинается с нахождения соединения-лидера. При таком подходе часто цитируемое соотношение «одно открытое лекарство на 10000 исследованных соединений» — реалистичная оценка. В настоящее время вследствие широкого применения методов комбинаторной химии и высокопроизводительного скрининга это соотношение изменилось: сотни тысяч или даже миллионы исследуемых соединений для получения одного лекарства. Довольно часто высокопроизводительный скрининг вообще не обнаруживает активных соединений, и тогда соответствующую биомишень называют «непригодной для создания лекарства». Но даже в положительных случаях не каждый успешный результат скрининга удается подтвердить и затем проверить путем синтеза близких аналогов, а отобранные структуры не всегда подходят в качестве соединений-лидеров по своим физико-химическим свойствам [73].

В настоящее время для поиска структур биологически активных соединений все более широкое применение находит виртуальный скрининг — набор средств и методов для отбора подходящих кандидатов и «обогащения» коллекций веществ или комбинаторных библиотек многообещающими кандидатами [74—81]. Поскольку исходными данными для них являются

только химические структуры и рассчитанные свойства соединений, виртуальный скрининг также можно применять к виртуальным библиотекам практически любого размера.

Чрезвычайно важна надлежащая предварительная обработка баз данных, включающая удаление дубликатов и противоионов, корректное определение состояния протонирования, например с помощью заданного набора правил, и определение доминирующего таутомера соединения либо всех его таутомеров. Огромное значение, особенно для задач поиска сходных структур, наложения молекул, поиска по фармакофору и докинга, имеет правильное определение способности выступать донором и акцептором водородной связи (см. например [82]). Для отбора орально биодоступных соединений следует применять правило Липински [13]. Проводилось также обучение нейронных сетей для выявления соединений, похожих по характеристикам на лекарства [74, 83—85]. Другой метод виртуального скрининга предназначен для выявления «частых результатов», т.е. молекул, которые отбираются с помощью многих разных биологических тестов [86]. К фильтрам по токсичности, цитотоксичности, мутагенности и канцерогенности следует подходить с подозрением и применять их с огромной осторожностью. Во-первых, слишком большое число различных фильтров может привести к удалению слишком многих ложных положительных результатов (например, нетоксичных молекул, которые были сочтены токсичными). Во-вторых, большинство из этих фильтров обладает низкой предсказательной способностью на контрольных выборках, приближаясь по точности к случайному прогнозу.

Для быстрого сравнения молекул могут быть использованы «деревья свойств» [87, 88]. Этот подход особенно эффективен для оценки результатов скрининга и последующего поиска в больших виртуальных библиотеках. Для более точного сравнения и суперпозиции структур может быть использована программа FlexS [89, 90], а для генерации фармакофорных гипотез и поиска пространственных структур по базам данных — программа CATALYST [73].

Молекулярный дизайн лигандов на основе структуры мишени

Огромное количество пространственных структур белков, доступных в брукхейвенской базе данных (22823 структуры по состоянию на 1 августа 2003 г.) [91], в принципе позволяет конструировать «с нуля» (*de novo*) структуры лигандов, соответствующие заданному центру связывания по форме и другим важным свойствам [92—95]. История дизайна лигандов на основе структуры мишени началась около 25 лет назад, когда Гудфорд осуществил конструирование ароматических диальдегидов, имитирующих 2,3-дифосфоглицерат в качестве аллостерического регулятора гемоглобина, и аналогов триметоприма с улучшенным сродством к дигидрофолатредуктазе [96]. Это стало значительным прорывом в исследовании лекарств, однако уже в самом начале проявились и некоторые принципиальные проблемы. Идеальный лиганд не всегда является хорошим соединением-лидером для дальнейшей разработки лекарства: диальдегиды не могут проникнуть через мембрану эритроцитов, а аналоги триметоприма потеряли селективность к бактериальной дигидрофолатредуктазе. Некоторые другие ранние попытки окончились неудачно из-за низкой биодоступности сконструированного лекарственного соединения, слишком высокой липофильности или недостаточного времени жизни в организме.

Примерно тогда же в лечебную практику был внедрен первый лекарственный препарат, полученный методом структурно-ориентированного дизайна. Каптоприл был получен из низкоаффинного соединения-лидера, отражавшего трехмерную структуру комплекса ингибитора с родственным ферментом карбоксипептидазой [97]. Затем последовали другие лекарства, например дорзоламид [98] и ингибиторы протеазы ВИЧ нелфинавир и ампренавир [46]. Многие другие смоделированные лекарства находятся на стадии клинических исследований. Если учитывать другие важные свойства разрабатываемого кандидата, можно полагать, что структурно-ориентированный дизайн в настоящее время является наиболее важным методом в тех случаях, когда пространственная структура биомишени известна или доступна.

В ближайшем будущем появится еще больше данных о пространственных структурах белков и комплексов лиганд-белок благодаря развитию высокопроизводительных методов кристаллизации и кристаллографии белков [99]. Ряд проектов в области структурной геномики направлен на определение трехмерной структуры белков с возможными новыми типами фолдинга. Когда будут описаны основные черты всех типов фолдинга белков, методы моделирования по гомологии и замены молекул в кристаллографии приобретут еще большую значимость. Некоторые проблемы применения данных рентгеновской кристаллографии в конструировании лекарств обсуждаются в работе [100].

Дизайн лигандов с помощью компьютеров

История молекулярного моделирования [101, 102] началась около 25 лет назад, когда стало возможным изображение и вращение молекулы в реальном времени (!) на экране компьютера. За короткий период времени этот метод развился в достаточно мощное средство разработки лекарств. Особую помощь данный метод оказывает химикам-разработчикам лекарств в определении и оценке рабочих гипотез о соотношении «структура—активность». Первым воплощением компьютерной генерации активных молекул *de novo* была программа CAVEAT [103], которая заменяет пептидные петли на (жесткие) скелетные фрагменты, допускающие точно такое же пространственное расположение важных аминокислотных цепей, как в пептидном соединении-лидере. Таким образом, удается за один шаг сконструировать структуру пептидомиметика. Примером успешного применения этого принципа можно считать переход от пептидных лигандов интегринов к бензодиазепинам [41, 42].

Разработанная Гудфордом компьютерная программа GRID [104—106] «обследует» поверхность белка (особенно в центре связывания) с помощью различных химических зондов для нахождения «горячих точек», где определенные функциональные группы лиганда будут лучше всего взаимодействовать с белком. Наиболее впечатляющим примером применения структурно-ориентированного компьютерного дизайна

лекарств была разработка с помощью программы GRID ингибиторов вирусной нейраминидазы. При анализе ее трехмерной структуры фон Ицштайном был обнаружен «карман», благодаря которому введение положительно заряженного заместителя в низкоаффинную структуру-лидер должно увеличивать биоактивность. И действительно, при введении гуанидиниевой группы аффинность выросла примерно на четыре порядка, что привело к созданию противогриппозного препарата занамивира [60].

Альтернативой GRID является программа IsoStar [107], которая опирается на результаты статистического анализа данных о несвязанных межмолекулярных взаимодействиях из Кембриджского банка структурных данных [108]. Программа SuperStar [109—111] является расширенным вариантом IsoStar и позволяет генерировать контурные карты на основе положений отдельных взаимодействующих групп.

Вслед за рядом ограниченных прототипов Кунц разработал первую полнофункциональную компьютерную программу DOCK для геометрического докинга лигандов в сайт связывания [112]. Дальнейший прогресс связан с программой LUDI [113, 114], которая определяет места взаимодействия и использует оценочную функцию [115] для сравнения результатов докинга. Гибкий докинг лигандов в жесткий сайт связывания обеспечивают такие программы, как DOCK 4.0 [116], GOLD [117], FlexX [118, 119] и свободно распространяемая программа AutoDock [120, 121]. Модифицированные варианты FlexX — FlexE [122] и FlexPharm [123] позволяют проводить, соответственно, докинг гибкого лиганда в ансамбль различных конформаций сайта связывания и определение фармакофорных ограничений. Около двух десятков различных программ для докинга и несколько примеров успешного компьютерного дизайна рассмотрены в обзоре Шнайдера и Бёма [78].

Оценка аффинности лигандов при различных способах связывания до сих пор остается серьезной проблемой. Это демонстрирует, в частности, проведенное недавно сравнение результатов докинга, получаемых при использовании множества разнообразных оценочных функций [124]. Проведя тщательный анализ трехмерных структур белков, Ниссинк с сотр. собрал стандартный набор из 305 подтвержденных комплексов лиганд-белок с заданными вручную состояниями протонирования [125]. Этот набор рекомендуется в будущем использовать при сравнении оценочных функций.

Фрагментно-ориентированный дизайн лигандов

Способность лиганда связываться с белком зависит от степени сложности его структуры [8]. Небольшие лигандные молекулы имеют больше возможностей для подстройки к белку. Это учитывается в первой библиотеке малых лигандов в программе LUDI [113, 114], а также в программе докинга MCSS (одновременный поиск для нескольких копий) [126], которая рассматривает функциональные группы и небольшие молекулы при поиске ансамбля благоприятных мест связывания. Стратегия точечного скрининга [127, 128] исходит из небольших лигандов с оптимальными свойствами (например, высокой аффинностью и селективностью), а затем достраивает эти молекулы до более крупных лигандов.

Еще более сорока лет назад было замечено, что ингибитор, соответствующий переходному состоянию, имеет более высокую аффинность, чем его фрагменты [129]. Еще более существенный эффект наблюдается для связывания биотина с авидином: если фрагменты биотина обладают лишь микромолярной аффинностью к авидину, то сам биотин — фемтомолярной [130]. Пейдж и Дженкс объясняют такую огромную разницу в аффинности так называемым принципом якоря [131, 132]: при связывании любая молекула теряет поступательные и вращательные степени свободы [133], причем этот энтропийный вклад более или менее постоянен для всех молекул, поэтому связывание фрагментов менее выгодно, чем связывание единого лиганда. Принцип якоря был подтвержден в ряде других работ (см., например, [133, 134]) и недавно использован для рационального дизайна ингибитора фермента с наномолярной активностью на основе двух низкоаффинных природных продуктов, которые связываются со смежными участками белка [135].

Как ни странно, идея соединения двух (или нескольких) низкоаффинных лигандов в один высокоактивный лиганд систематически не использовалась, пока Фесик не предложил подход SAR by NMR [136—138]. Этот экспериментальный метод основан на поиске относительно небольших низкоаффинных лигандов для низкомолекулярных белков. Всякий раз, когда такой лиганд находится, соответствующий сайт связывания насыщается за счет него и далее продолжается поиск других низкоаффинных лигандов для связывания с соседними сайтами. На последнем этапе вводится фрагмент-линкер, связывающий обе молекулы в лиганд с наномолярной активностью [136—138]. Поскольку методы ЯМР превосходят другие подходы к выявлению низкоаффинных лигандов, на их основе был разработан метод SHAPES [139, 140] для поиска и последующей оптимизации новых соединений-лидеров, а также ряд других методов [141—145].

Карты электронной плотности, полученные на основе рентгеноструктурных исследований кристаллов белков, насыщенных различными растворителями, также могут помочь в поиске соединений-лидеров [146—152]. Метод CrystaLEAD [153] отслеживает изменения в картах электронной плотности кристаллов, находящихся в окружении набора потенциальных лигандов. Этот подход пока не используется в полной мере. Тем не менее насыщение кристаллов белков смесью нескольких небольших лигандов, различающихся по размеру и форме, в сочетании с высокопроизводительной кристаллографией представляет собой новый многообещающий подход к поиску соединений-лидеров [99, 154].

Комбинаторный дизайн лигандов

Идея фрагментно-ориентированного дизайна лигандов была воплощена также в комбинаторных методах [155], в которых при поиске новых соединений-лидеров тестируется множество лигандов. Изящный скрининговый метод использует микромассивы лигандов с низкой молекулярной массой [156]. До 10000 соединений может быть закреплено на позолоченном стекле с помощью якорной молекулы, несущей реакционноспособную группу. Связывание какого-либо белка с иммобилизованным лигандом обнаруживается

методом поверхностного плазмонного резонанса. Преимущество такого подхода в том, что он не требует разработки специфического метода скрининга для нового белка-мишени. Определенные проблемы могут возникнуть из-за ограниченной подвижности или доступности лигандов.

При динамической сборке лигандов [157—160] они генерируются из фрагментов, способных обратимо реагировать друг с другом в присутствии белка. При этом преимущественно образуются лиганды, комплементарные сайту связывания, которые затем улавливают с помощью реакции, «замораживающей» состояние равновесия. Применение этого подхода было продемонстрировано на примере ингибиторов карбоангидразы [157] и нейраминидазы [160]. Для обнаружения лигандов с низкой аффинностью можно вводить в биологическую мишень рядом с сайтом связывания остаток цистеина. Образование дисульфида стабилизирует связывание низкоаффинных лигандов, содержащих сульфгидрильные группы [161, 162]. Недавно было описано еще несколько подходов к комбинаторному дизайну новых соединений-лидеров [163, 164].

Изящный метод дизайна лигандов из различных фрагментов основан на спонтанных химических реакциях («клик-химия»), которые существенно ускоряются, если реагирующие группы двух молекул сближаются в сайте связывания белка. Фемтомолярные ингибиторы ацетилхолинэстеразы были получены из смеси фрагментов, которые способны необратимо реагировать друг с другом [165]. Многообещающий стохастический подход к получению новых соединений-лидеров опирается на так называемую «случайную химию»: молекулы облучаются в присутствии матрицы (например растворителя) с образованием аналогов, обладающих совершенно новыми химическими структурами и видами биологической активности. Подобным путем были получены новые субстраты и ингибиторы тимидинкиназы [166].

В дополнение к описанным экспериментальным методам существует несколько компьютерных методов комбинаторного сочетания фрагментов для конструирования новых соединений-лидеров. Первым шагом в этом направлении было создание алгоритма для дизайна лигандов, которые могут быть получены одностадийным синтезом [167]. Программа CombiGen позволяет строить комбинаторные библиотеки с высоким содержанием соединений, похожих по характеристикам на лекарства [168]. Она исходит из привилегированных и/или заданных пользователем фрагментов и собирает их с незначительными химическими изменениями (или без них) в новые структуры. Затем посредством виртуального скрининга удаляются молекулы с нежелательными свойствами. Программа TOPAS [169, 170] разбивает соединение-лидер на фрагменты и собирает новые молекулы, рекомбинируя химически сходные скелеты с похожими фрагментами. Разбиение и разрыв молекул на фрагменты соответствует химическим реакциям, которые определены RECAP-подобной процедурой [171]. Таким образом удается осуществить «перескок скелета» [172], и открывается путь к новым классам соединений.

В принципе сопоставимые результаты можно получить с помощью программы докинга (например, FlexX [118, 119]), выполняющей инкрементное построение лигандов в сайте связывания белка. Для этого программе нужно дать обширный набор разнообразных строительных блоков вместо нескольких исходных. В результате удается избежать построения виртуальной библиотеки из миллионов потенциальных кандидатов: система сможет генерировать и передать на следующие этапы анализа только нужные частичные решения. Тем не менее для выполнения этой задачи необходимы более надежные оценочные функции [124].

Заключение

При всем многообразии подходов к поиску соединений-лидеров он все еще остается проблемным. Традиционные источники кандидатов в лекарства, такие как растительные продукты, микробные метаболиты, эндогенные нейромедиаторы и гормоны, уже до некоторой степени «истощились». Высокопроизводительный скрининг и комбинаторная химия не привели к ожидаемому прорыву. Виртуальный скрининг и фрагментно-ориентированные подходы только начали развиваться, однако в ближайшем будущем они, по-видимому, станут наиболее мощными из имеющихся методов [81]. Коллекции соединений и виртуальные библиотеки, обогащенные многообещающими кандидатами, можно протестировать более внимательно, чем в рутинном высокопроизводительном скрининге. В конце концов интеграция кристаллографии белков, методов ЯМР и виртуального скрининга позволит «значительно повысить темпы исследовательского процесса и качество соединений, отбираемых для дальнейшей разработки» [173]. После нескольких удачных примеров структурно-ориентированного дизайна ингибиторов ферментов пришло время применить эти подходы к моделям G-белок-сопряженных рецепторов [174, 175].

При поиске новых соединений-лидеров и их оптимизации химия лекарственных веществ всегда следует принципу: сходные вещества должны проявлять сходную биологическую активность. Несмотря на многочисленные исключения из этого общего правила [176, 177], исследования лекарств сегодня часто ориентированы на семейства биомишеней. Новый термин «хемогеномика» обозначает изучение определенных классов соединений в семействах мишеней, например G-белок-сопряженных рецепторов, сериновых протеаз, киназ и т.д. [178—181]. С другой стороны, было бы заманчиво узнать, можно ли кандидаты в лекарства найти также в тех областях химической «вселенной», которые пока не стали их источником [182]. Учитывая неудачи ранней комбинаторной химии (опиравшейся на химическую доступность продуктов, а не их сходство с лекарствами), пока более продуктивным представляется поиск в областях, где уже были найдены кандидаты в лекарства. Вполне возможно, что лекарства неравномерно распределяются в химическом пространстве.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Frantz S., Smith A.* Nature Rev. Drug. Discov., 2003, v. 2, p. 95—96.
2. *DiMasi J.A., Hansen R.W., Grabowski H.G.* J. Health Econ., 2003, v. 835, p. 1—35; cf. comment in Nature Rev. Drug Discov., 2003, v. 2, p. 247.

3. *Spilker B.* Drug News Perspect, 1997, v. 10, p. 203—207.
4. *Horrobin D.F.* Nature Rev. Drug Discov., 2003, v. 2, p. 151—154.
5. *Drews J.* Drug Discov. Today, 2003, v. 8, p. 411—420.
6. *Teague S.J., Davis A.M., Leeson P.D., Oprea T.* Angew. Chem. Int. Ed., 1999, v. 38, p. 3743—3748.
7. *Oprea T.I., Davis A.M., Teague S.J., Leeson P.D.* J. Chem. Inf. Comput. Sci., 2001, v. 41, p. 1308—1316.
8. *Hann M.M., Leach A.R., Harper G.* Ibid., 2001, v. 4L, p. 856—864.
9. Carr R., Hann M. Modern Drug Discov., 2002, April, p. 45—48.
10. *Oprea T.I.* J. Comput.-Aided Mol. Design, 2002, v. 16, p. 325—334.
11. *Proudfoot J.R.* Bioorg. Med. Chem. Lett., 2002, v. 12, p. 1647—1650.
12. *Rishton G.M.* Drug Discov. Today, 2003, v. 8, p. 86—96.
13. *Lipinski C.A., Lombardo F., Dominy B.W., Feeney P.J.* Adv. Drug Deliv. Rev., 1997, v. 23, p. 3—25.
14. *Kelder J., Grootenhuis P.D., Bayada D.M., Delbressine L.P., Ploemen J.P.* Pharm. Res., 1999, v. 16, p. 1514—1519.
15. *Bergstrom C.A.S., Strafford M., Lazorova L., Avdeef A., Luthman K., Artursson P.* J. Med. Chem., 2003, v. 46, p. 558—570.
16. *Veber D.F., Johnson S.R., Cheng H.-Y., Smith B.R., Ward K.W., Kopple K.D.* Ibid., 2002, v. 45, p. 2615—2623.
17. *Oprea T.I.* J. Comput.-Aided Mol. Design, 2000, v. 14, p. 251—264.
18. *Wenlock M.C., Austin R.P., Barton P., Davis A.M., Leeson P.D.* Ibid., 2003, v. 46, p. 1250—1256.
19. *Blake J.R.* BioTechniques, 2003, v. 34, p. S16—S20.
20. *Sneader W.* Drug Prototypes and Their Exploitation. Chichester: John Wiley & Sons, 1996.
21. Drug Discovery from Nature. Eds. S. Grabley, R. Thiericke. Berlin: Springer-Verlag, 1999.
22. Bioactive Compounds from Natural Sources, Isolation, Characterisation and Biological Properties. Ed. C. Tringali. London: Taylor & Francis, 2001.
23. *Buss A.D., Cox B., Waigh R.D.* In: Natural products as leads for new pharmaceuticals, in Burger's Medicinal Chemistry & Drug Discovery. Ed. D.J. Abraham. Hoboken NJ: John Wiley & Sons, 2003, p. 847—900.
24. Top 200 prescriptions for 2002 by number of US prescriptions dispensed; www.rxlist.com/top200.htm.
25. Drug Actions: Basic Principles and Therapeutic Aspects. Eds. E. Mutschler, H. Derendorf. Stuttgart: Boca Raton, CRC Press, 1995.
26. Burger's Medicinal Chemistry & Drug Discovery. Ed. D.J. Abraham. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons, 2003.
27. *Burger A.* A Guide to the Chemical Basis of Drug Design. New York: John Wiley & Sons, 1983.
28. *Sneader W.* Drug Discovery: The Evolution of Modern Medicines. Chichester: John Wiley & Sons, 1985.
29. *de Stevens G.* Progr. Drug Res., 1986, v. 30, p. 189—203.
30. *Roberts R.M.* Serendipity. Accidental Discoveries in Science, New York: John Wiley & Sons, 1989.
31. *Kubinyi H.* J. Receptor Signal Transduct. Res., 1999, v. 19, p. 15—39.
32. *Hirschmann R.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1991, v. 30, p. 1278—1301.
33. The Practice of Medicinal Chemistry. 2nd Edition. Ed. C.G. Wermuth. London: Academic Press, 2003.
34. The Pharmaceutical Century. Ten Decades of Drug Discovery. Supplement to ACS Publications American Chemical Society. Ed. J.F. Ryan. Washington, DC, 2000.
35. *Hedstrom L.* Chem. Rev., 2002, v. 102, p. 4429—4906.
36. *Schaus J.M., Bymaster F.P.* Ann. Rep. Med. Chem., 1998, v. 33, p. 1—10.
37. *Tobert J.A.* Nature Rev. Drug Discov., 2003, v. 2, p. 517—526.
38. *Stamford A.W.* Ann. Rep. Med. Chem., 2002, v. 3_L, p. 53—64.
39. *Rotella D.P.* Nature Rev. Drug Discov., 2002, v. 1, p. 674—682.
40. *Haubner R., Finsinger D., Kessler H.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1997, v. 36, p. 1374—1389.
41. *Samanen J.M., Ali F.E., Barton L.S., Bondinell W.E., Burgess J.L. e. a.* J. Med. Chem., 1996, v. 39, p. 4867—4870.
42. *Keenan R.M., Miller W.H., Kwon C., Ali F.E., Callahan J.F., Calvo R.R., Hwang S.M., Kopple K.D., Peishoff C.E., Samanen J.M., Wong A.S., Yuan C.K., Huffman W.F.* J. Med. Chem., 1997, v. 40, p. 2289—2292.
43. *Howson W.* Drug News Perspect., 1995, v. 8, p. 97—103.
44. *MacLeod A.M., Merchant K.J., Cascieri M.A., Sadowski S., Ber E., Swain C.J., Baker R.* J. Med. Chem., 1993, v. 36, p. 2044—2045.
45. *Rohrer S.P., Birzin E.T., Mosley R.T., Berk S.C., Hutchins S.M. e. a.* Science, 1998, v. 282, p. 737—740; erratum Science, 1998, v. 282, p. 1646.
46. *De Clercq E.* Med. Res. Rev., 2002, v. 22, p. 531—565.
47. *Lam P.Y.S., Jadhav P.K., Eyermann C.J., Hodge C.N., Ru Y., Bacheler L.T. e. a.* Science, 1994, v. 263, p. 380—384.
48. *Kaltenbach R.F., Patel M., Waltermire R.E., Harris G.D., Stone B.R., Klabe R.M. e. a.* Bioorg. Med. Chem. Lett., 2003, v. 13, p. 605—608.
49. *Kling J.* Modern Drug Discov., 1998, November/December, p. 31—38.
50. *Capdeville R., Buchdunger E., Zimmermann J., Matter A.* Nature Rev. Drug Discov., 2002, v. 1, p. 493—502.
51. *Evans B.E., Kittle K.E., Bock M.G., DiPardo R.M., Freidinger R.M., .Whitter W.L. e. a.* J. Med. Chem., 1988, v. 31, p. 2235—2246.
52. *Patchett A.A., Nargund R.P.* Ann. Rep. Med. Chem., 2000, v. 35, p. 289—298.
53. *Wermuth C.G.* Med. Chem. Res., 2001, v. 10, p. 431—439.
54. *Stemp G., Evans J.M.* Discovery and development of cromakalim and related potassium channel activators, in Medicinal Chemistry. The Role of Organic Chemistry in Drug Research. 2nd Ed. Eds. C.R. Ganellin, S.M. Roberts. London: Academic Press, 1993, p. 141—162.
55. *Rival Y., Hoffmann R., Didier B., Rybaltchenko V., Bourguignon J.-J., Wermuth C.G.* J. Med. Chem., 1998, v. 41, p. 311—317.
56. *Ariens E.J.* Eur. J. Clin. Pharmacol., 1984, v. 26, p. 663—668.
57. *Agranat I., Caner H., Caldwell J.* Nature Rev. Drug Discov., 2002, v. 1, p. 753—768.
58. *Slater J.W., Zechnich A.D., Haxby D.G.* Drugs, 1999, v. 57, p. 31—47.
59. *Fermini B., Fossa A.A.* Nature Rev. Drug Discov., 2003, v. 2, p. 439—447.
60. *von Itzstein M., Wu W.Y., Kok G.B., Pegg M.S., Dyason J.C, Jin B., Phan T.V., Smythe M.L. e. a.* Nature, 1993, v. 363, p. 418—423.
61. *Chand P., Babu Y.S., Bantia S., Chu N., Cole L.B., Kotian P.L, Laver W.G., Montgomery J.A. e. a.* J. Med. Chem., 1997, v. 40, p. 4030—4052.
62. *Kim C.U., Lew W., Williams M.A., Liu H., Zhang L., Swaminathan S., Bischofberger N. e. a.* J. Am. Chem. Soc., 1997, v. 119, p. 681—690.
63. *Vara Prasad J.V.N., Para K.S., Lunney E.A., Ortwine D.F., Dunbar J.B., Ferguson D. e. a.* J. Am. Chem. Soc., 1994, v. 116, p. 6989—6990.
64. *Thaisrivongs S., Tomich P.K., Watenpaugh K.D., Chong K.-T., Howe W.J., Yang C.-P. e. a.* J. Med. Chem., 1994, v. 37, p. 3200—3204.
65. *Turner S.R., Strohbach J.W., Tommasi R.A., Aristoff P.A., Johnson P.D., Skulnick H.I. e. a.* Ibid., v. 41, p. 3467—3476.
66. *Proudfoot J.R.* Personal communication, 2003.
67. *McGovern S.L., Caselli E., Grigorieff N., Shoichet B.K.* J. Med. Chem., 2002, v. 45, p. 1712—1722.
68. *McGovern S.L., Shoichet B.K.* Ibid., 2003, v. 46, p. 1478—1483.
69. *Tan D.S., Foley M.A., Shair M.D., Schreiber S.L.* J. Am. Chem. Soc., 1998, v. 120, p. 8565—8566.
70. *Schreiber S.L.* Science, 2000, v. 287, p. 1964—1969.

71. *Breinbauer R., Vetter I.R., Waldmann H.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 2002, v. 41, p. 2879—2890.
72. *Weber L.* Curr. Opin. Chem. Biol., 2000, v. 4, p. 295—302.
73. *Kubinyi H.* Curr. Drug Discov., 2001, October, p. 9—11.
74. Virtual Screening for Bioactive Molecules. Eds. H.-J. Bohm, G. Schneider. Vol. 10. Methods and Principles in Medicinal Chemistry. Eds. R. Mannhold, H. Kubinyi, H. Timmerman. Weinheim: Wiley-VCH, 2000.
75. Virtual screening: an alternative or complement to high throughput screening (special issue) Ed. G. Klebe. Persp. Drug Discov. Design, 2000, v. 20, p. 1—287.
76. Pharmacophore Perception, Development and Use in Drug Design. Ed. O.F. Guner. Int. University Line, La Jolla. CA, 2000.
77. Protein-Ligand Interactions. From Molecular Recognition to Drug Design. Eds. H.-J. Bohm, G. Schneider. Vol. 19. Methods and Principles in Medicinal Chemistry. Eds. R. Mannhold, H. Kubinyi, G. Folkers. Weinheim: Wiley-VCH, 2003.
78. *Schneider G., Bohm H.-J.* Drug Discov. Today, 2002, v. 7, p. 64—70.
79. *Lyne P. D.* Ibid., 2002, v. 7, p. 1047—1055.
80. *Bajorath J.* Nature Rev. Drug Discov., 2002, v. 1, p. 882—894.
81. *Bleicher K.H., Bohm H.-J., Muller K., Alanine A.I.* Ibid., 2003, v. 2, p. 369—378.
82. *Kubinyi H.* Ibid., v. 2, p. 665—668.
83. *Ajay Walters W.P., Murcko M.A.* J. Med. Chem., 1998, v. 41, p. 3314—3324.
84. *Sadowski J., Kubinyi H.* Ibid., 1998, v. 41, p. 3325—3329.
85. *Walters W.P., Murcko M.A.* Adv. Drug Deliv. Rev., 2002, v. 54, p. 255—271.
86. *Roche O., Schneider P., Zuegge J., Guba W., Kansy M., Alanine A., Bleicher K., Danel F. e. a.* J. Med. Chem., 2002, v. 45, p. 137—142.
87. *Rarey M., Dixon J.S.* J. Comput.-Aided Mol. Design, 1998, v. 12, p. 471—490; www. biosolveit.de
88. *Rarey M., Stahl M.* Ibid., 2001, v. 15, p. 497—520.
89. *Lemmen C., Lengauer T.* Ibid., 1997, v. 15, p. 357—368; www.solveit.de; www.tripos.com
90. *Lemmen C., Lengauer T* Ibid., 2000, v. 14, p. 215—232; www.biosolveit.de; www.tripos.com
91. *Laskowski R.A., Hutchinson E.G., Michie A.D., Wallace A.C., Jones M.L., Thornton J.M.* Trends Biochem. Sci., 1997, v. 22, p. 288—290; www.rcsb.org/pdb, www.biochem.ucl.ac.uk/-bsm/pdbsum
92. *Babine R. E., Bender S.L.* Chem. Rev., 1997, v. 97, p. 1359—1472.
93. Structure-Based Drug Design. Ed. P. Veerapandian. New York: Marcel Dekker,1997.
94. Structure-Based Ligand Design. Eds. K. Gubernator, H.-J. Bohm. Vol. 6. Methods and Principles in Medicinal Chemistry. Eds. R. Mannhold, H. Kubinyi, H. Timmerman. Weinheim: Wiley-VCH, 1998.
95. *Kubinyi H.* Curr. Opin. Drug Discovery Dev., 1998, v. 1, p. 4—15.
96. *Goodford P.J.* J. Med. Chem., 1984, v. 27, p. 557—564.
97. *Redshaw S.* In: The Role of Organic Chemistry in Drug Research. 2nd Ed. Eds. C.R. Ganellin, S.M. Roberts. London: Academic Press, 1993, p. 163—185.
98. *Baldwin J.J., Ponticello G.S., Anderson P.S., Christy M.E., Murcko M.A., Randall W.C. e. a.* J. Med. Chem., 1989, v. 32, p. 2510—2513.
99. *Blundell T.L, Jhoti H., Abell C.* Nature Rev. Drug Discov., 2002, v. 1, p. 45—54.
100. *Davis A.M., Teague S.J., Kleywegt G.J.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 2003, v. 42, p. 2718—2736.
101. *Holtje H.-D., Sippl W., Rognan D., Folkers G.* Molecular Modelling. Basic Principles and Applications. 2nd Ed. Weinheim: Wiley-VCH, 2003.
102. *Leach A.R.* Molecular Modelling. Principles and Applications. 2nd Ed. Harlow: Prentice Hall, 2001.
103. *Lauri G., Bartlett P.A.* J. Comput.-Aided Mol. Design, 1994, v. 8, p. 51—66.
104. *Goodford P.J.* J. Med. Chem., 1985, v. 28, p. 849—857.
105. *Wade R.C.* In: Molecular interaction fields, in 3D QSAR in Drug Design. Theory, Methods and Applications. Ed. H. Kubinyi. Leiden: ESCOM Science Publishers B. V., 1993, p. 486—505.
106. *Goodford P.* J. Chemom., 1996, v. 10, p. 107—117.
107. *Bruno I.J., Cole J.C, Lommerse J.P., Rowland R.S., Taylor R., Verdonk M.L.* J. Comput.-Aided Mol. Design, 1997, v. 11, p. 525—537.
108. *Bruno I.J., Cole J.C, Edgington P.R., Kessler M., Macrae C.F., McCabe P., Pearson J., Taylor R.* Acta Crystallogr., 2002, v. 58B, p. 389—397.
109. *Verdonk M.L., Cole J.C., Taylor R.* J. Mol. Biol., 1999, v. 289, p. 1093—1108.
110. *Verdonk M.L., Cole J.C., Watson P., Gillet V., Willett P.* Ibid., 2001, v. 307, p. 841—859.
111. *Boer D.R., Kroon J., Cole J.C., Smith B., Verdonk M.L.* Ibid., 2001, v. 312, p. 275—287.
112. *DesJarlais R.L., Sheridan R.P., Seibel G.L., Dixon J.S., Kuntz I.D., Venkataraghavan R.* J. Med. Chem., 1988, v. 31, p. 722—729.
113. *Bohm H.-J.* J. Comput.-Aided Mol. Design, 1992, v. 6, p. 61—78.
114. *Bohm H.-J.* Ibid., 1992, v. 6, p. 593—606.
115. *Bohm H.-J.* Ibid., 1994, v. 8, p. 243—256.
116. *Ewing T.J., Makino S., Skillman A.G., Kuntz I. D.* Ibid., v. 15, p. 411—428.
117. *Jones G., Willett P., Glen R.C., Leach A.R., Taylor R.* J. Mol. Biol., 1997, v. 267, p. 727—748.
118. *Rarey M., Kramer B., Lengauer T., Klebe G.* Ibid., 1996, v. 261, p. 470—489; www.biosolveit.de; www.tripos.com
119. *Lengauer T., Rarey M.* Curr. pin. Struct. Biol., 1996, v. 6, p. 402—406.
120. *Goodsell D.S., Olson A.J.* Proteins, 1990, v. 8, p. 195—202.
121. *Morris G.M., Goodsell D.S., Halliday R.S., Huey R., Hart W.E., Belew R.K., Olson A.J.* J. Comput. Chem., 1998, v. 12, p. 1639—1662.
122. *Claussen H., Buning C., Rarey M., Lengauer T.* J. Mol. Biol., 2001, v. 308, p. 377—395; www.biosolveit.de; www.tri-pos.de
123. *Hindle S.A., Rarey M., Buning C., Lengauer T.* J. Comput.-Aided Mol. Design, 2002, v. 16, p. 129—149; www.biosolveit.de; www.tripos.de
124. *Wang R., Lu Y., Wang S.* J. Med. Chem., 2003, v. 46, p. 2287—2303.
125. *Nissink J.W.M., Murray C., Hartshorn M., Verdonk M.L, Cole J.C., Taylor R.* Proteins, 2002, v. 49, p. 457—471.
126. *Miranker A., Karplus M.* Ibid., 1991, v. 11, p. 29—34.
127. *Hilpert K., Ackermann J., Banner D.W., Gast A., Gubernator K., Hadvary P., Labler L. e. a.* J. Med. Chem., 1994, v. 37, p. 3889—3901.
128. *Boehm H.-J., Boehringer M., Bur D., Gmuender H., Huber W., Klaus W., Kostrewa D. e. a.* Ibid., 2000, v. 43, p. 2664—2674.
129. *Dempsey W.B., Snell E.E.* Biochemistry, 1963, v. 2, p. 1414—1419.
130. *Green N.M.* Adv. Protein Chem., 1975, v. 22, p. 85—133.
131. *Page M.I., Jencks W.P.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1971, v. 68, p. 1678—1683.
132. *Page M. I.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1977, v. 16, p. 449—459.
133. *Murray C.W., Verdonk M.L* J. Comput.-Aided Mol. Design, 2002, v. 16, p. 741—753.
134. *Kati W.M., Acheson S.A., Wolfenden R.* Biochemistry, 1992, v. 31, p. 7356—7366.
135. *Hanessian S., Lu P.-R., Sanceau J.-Y., Chemla P., Gohda K., Fonne-Pfister R., Prade L., Cowan-Jacob S.W.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1999, v. 38, p. 3159—3162.
136. *Shuker S.B., Hajduk P.J., Meadows R.P., Fesik S.W.* Science, 1996, v. 224, p. 1531—1534.

137. *Hajduk P.J., Meadows R.P., Fesik S.W.* Ibid., 1997, v. 278, p. 497—499.
138. *Hajduk P.J., Sheppard G., Nettesheim D.G., Olejniczak E.T., Shuker S.B., Meadows R.P. e. a.* J. Am. Chem. Soc., 1997, v. 119, p. 5818—5827.
139. *Fejzo J., Lepre C.A., Peng J.W, Bemis G.W., Ajay, Murcko M.A., Moore J.M.* Chem. Biol., 1999, v. 6, p. 755—769.
140. *Lepre C.A., Peng J., Fejzo J., Abdul-Manan N., Pocas J., Jacobs M., Xie X., Moore J.M.* Comb. Chem. High Throughput Screen., 2002, v. 5, p. 583—590.
141. BioNMR in Drug Research. Ed. O. Zerbe. Vol. 16. Methods and Principles in Medicinal Chemistry. Eds. R. Mannhold, H. Kubinyi, G. Folkers. Weinheim: Wiley-VCH, 2003.
142. *Diercks T, Coles M., Kessler H.* Curr. Opin. Chem. Biol., 2001, v. 5, p. 285—291.
143. *Pellecchia M., Sem D.S., Wuthrich K.* Nature Rev. Drug Discov., 2002, v. 1, p. 211—219.
144. *Jahnke W., Floersheim P., Ostermeier C, Zhang X., Hemmig R., Hurth K., Uzunov D.P.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 2002, v. 41, p. 3420—3423.
145. *Meyer B., Peters T.* Ibid., 2003, v. 42, p. 842—890.
146. *Mattos C, Ringe D.* Nature Biotechnol., 1996, v. 14, p. 595—599.
147. *Allen K.N., Bellamacina C.R., Ding X., Jeffery C.J., Mattos C., Petsko G.A., Ringe D.* J. Phys. Chem., 1996, v. 100, p. 2605—2611.
148. *Liepinsh E., Otting G.* Nature Biotechnol., 1997, v. 15, p. 264—268.
149. *English A.C., Done S.H., Caves L.S., Groom C.R., Hubbard R.E.* Proteins, 1999, v. 37, p. 628—640.
150. *Ringe D., Mattos C.* Med. Res. Rev., 1999, v. 19, p. 321—331.
151. *Mattos C., Ringe D.* Curr. Opin. Struct. Biol., 2001, v. 11, p. 761—764.
152. *English A.C., Groom C.R., Hubbard R.E.* Protein Eng., 2001, v. 14, p. 47—59.
153. *Nienaber V.L, Richardson P.L, Klighofer V., Bouska J.J., Giranda V.L, Greer J.* Nature Biotechnol., 2000, v. 18, p. 1105—1108.
154. *Carr R., Jhoti H.* Drug Discov. today, 2002, v. 7, p. 522—527.
155. *Kubinyi H.* Curr. Opin. Drug Discovery Dev., 1998, v. 1, p. 16—27.
156. *Metz G., Ottleben H., Vetter D.* In: From Molecular Recognition to Drug Design. Eds. H.-J. Bohm, G. Schneider. Vol. 19. Methods and Principles in Medicinal Chemistry. Eds. R. Mannhold, H. Kubinyi, G. Folkers. Weinheim: Wiley-VCH, 2003, p. 213—236.
157. *Hue I., Lehn J.-M.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 1997, v. 94, p. 2106—2110.
158. *Lehn J.-M., Eliseev A. V.* Science, 2001, v. 291, p. 2331—2332.
159. *Ramstrom O., Lehn J.-M.* Nature Rev. Drug Discov., 2002, v. 1, p. 26—36.
160. *Hochgurtel M., Kroth H., Piecha D., Hofmann M.W., Nicolau C., Krause S., Schaaf O., Sonnenmoser G., Eliseev A.V.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2002, v. 99, p. 3382—3387.
161. *Erlanson D.A., Braisted A.C., Raphael D.R., Randal M., Stroud R.M., Gordon E.M., Wells J.A.* Ibid., 2000, v. 97, p. 9367—9372.
162. *Erlanson D.A., Lam J.W., Wiesmann C., Luong T.N., Simmons R.L., DeLano W.L., Choong I.C. Burdett M.T., Flanagan W.M., Lee D., Gordon E.M., O'Brien T.* Nature Biotechnol., 2003, v. 21, p. 308—314.
163. *Maly D.J., Choong I.C., Ellman J.A.* Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 2000, v. 97, p. 2419—2424.
164. *Swayze E.E., Jefferson E.A., Sannes-Lowery K.A., Blyn L.B., Risen L.M., Arakawa S., Osgood S.A., Hofstadler S.A., Griffey R.H.* J. Med. Chem., 2002, v. 45, p. 3816—3819.
165. *Lewis W.G., Green L.G., Grynszpan F., Radic Z., Carlier P.R., Taylor P., Finn M.G., Sharpless K.B.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 2002, v. 41, p. 1053—1057.
166. *Folkers G., Kessler U.* Curr. Drug scov., 2003, January, p. 33—36.
167. *Bohm H.-J., Banner D.W., Weber L.* J. Comput.-Aided Mol. Design, 1999, v. 13, p. 51—56.
168. *Wolber G., Langer I.* Proc. of the 13th Eur. Symp. on Quantitative Structure-Activity Relationships, Dusseldorf, 2000. Eds. H.-D. Holtje, W. Sippl. Barcelona: Prous Science, 2001, p. 390—399.
169. *Schneider G., Clernent-Chomienne O., Hilfiger L., Schneider P., Kirsch S., Boehm H.-J., Neidhart W.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 2000, v. 39, p. 4130—4133.
170. *Schneider G., Lee M.L., Stahl M., Schneider P.* J. Comput.-Aided Mol. Design, 2000, v. 14, p. 487—494.
171. *Lewell X.Q., Judd D.B., Watson S.P., Hann M.M.* J. Chem. Inf. Comput. Sci., 1998, v. 38, p. 511—522.
172. *Schneider G., Neidhart W., Giller I., Schmid G.* Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1999, v. 38, p. 2894—2896.
173. *Muchmore S.W., Hajduk P.J.* Curr. Opin. Drug Discovery Dev., 2003, v. 6, p. 544—549.
174. *Bissantz C., Bernard P., Hibert M., Rognan D.* Proteins, 2003, v. 50, p. 5—25.
175. *Becker O.M., Shacham S., Marantz Y., Noiman S.* Curr. Opin. Drug Discovery Dev., 2003, v. 6, p. 353—361; cf. Rognan D. Curr. Opin. Drug Discovery Dev., 2003, v. 6, p. 434.
176. *Kubinyi H.* Similarity and dissimilarity-a medicinal chemist's view, in 3D QSAR in Drug Design. Vol. II. Ligand-Protein Interactions and Molecular Similarity. Eds. H. Kubinyi, G. Folkers, Y.C. Martin. Dordrecht: Kluwer/ESCOM, 1998, p. 225—252; Persp. Drug Design Discov., 1998, v. 9—11, p. 225—252.
177. *Martin Y.C., Kofron J.I., Traphagen L.M.* J. Med. Chem., 2002, v. 45, p. 4350—4358.
178. *Caron P.R., Mullican M.D., Mashal R.D., Wilson K.P., Su M.S., Murcko M.A.* Curr. Opin. Chem. Biol., 2001, v. 5, p. 464—470.
179. *Bleicher K. H.* Curr. Meal Chem., 2002, v. 9, p. 2077—2084.
180. *Jacoby E.* Drug News Perspect., 2003, v. 16, p. 93—102.
181. *Muller G.* Drug Discov. today, 2003, v. 8, p. 681—691.
182. *de Laet A., Hehenkamp J.J.J., Wife R.L.* J. Heterocyclic Chem., 2000, v. 37, p. 669—674.