

PH.D. ÉRTEKEZÉS TÉZISEI

**SZÁMÍTÁSI MÓDSZEREK FARMAKOKINETIKAI PARAMÉTEREK
ELŐREJELZÉSÉRE**

Készítette: Molnár László

Témavezető: Dr. Keserű György Miklós
Richter Gedeon Rt. Molekulatervezési osztály és
BME Kémiai Informatika Tanszék

Richter Gedeon Rt.

Molekulatervezési osztály

2003

BEVEZETÉS

A gyógyszeripari kutatás és fejlesztés sajátosságainak elemzésével foglalkozó Tufts Center 2001. november végén hozta nyilvánosságra új vizsgálatának eredményét, mely szerint egy új originális gyógyszer kifejlesztésének teljes költsége 802 millió USD 2000-es árfolyamon számolva. A tíz évvel korábbi felmérés eredménye 231 millió 1987-es árfolyamon számolt amerikai dollár volt. Az inflációval korrigált költségek tíz év alatt a két és félszeresére nőttek, 1991. és 2001. között évi 7,6%-os növekedést mutatva. A számított költség tartalmazza a fejlesztés valamely szakaszában sikertelennek bizonyult vegyületek fejlesztésének költségeit, valamint a kutatás-fejlesztés meg nem térült egyéb költségeit is. A vizsgálat szerint egy új originális készítmény kifejlesztése és törzskönyvezése átlagosan 10 - 15 évig tart. A szabadalmi oltalom általában 20 évig véd egy originális vegyületet és a szabadalom bejelentése legkésőbb a preklinikai kutatás

CÉLKITŰZÉSEK

Munkánk során célul tűztük ki vegyületek farmakokinetikai paramétereinek előrejelzésére szolgáló új, *in silico* módszerek kidolgozását. A munkát az ADME paraméterek becslésének két részterületén, a disztribúciós (eloszlási) profil és a metabolikus viselkedés témakörében végeztük.

A vegyületek szervezetben történő eloszlásuk során különböző biológiai membránokon juthatnak át, ezek egyike a központi idegrendszerre ható vegyületek szempontjából különösen jelentős vér-agy gát. A vér-agy gáton történő átjutás előfeltétele a központi idegrendszeri hatásnak, másfelől viszont a gátnak meg kell akadályoznia az élettanilag nemkívánatos hatást kifejtő vegyületek agyi penetrációját. Vegyületek agyi penetrációs képességének előrejelzésére két eljárást dolgoztunk ki. Az egyik módszer legfőbb ismérve, hogy alkalmazásával nagy számú vegyület kvalitatív vizsgálatára van lehetőség, melynek során a penetrábilis és nem penetráló struktúrák diszkriminációja valósul meg. A második eljárás fejlesztésének célja egy olyan módszer kidolgozása volt, amely képes az agyi penetrációra jellemző $\log BB$ (az agyi és plazmakoncentráció hányadosának logaritmus) kvantitatív előrejelzésére.

A metabolikus folyamatok PK vizsgálata magában foglalja metabolikus stabilitásuk, valamint metabolizmust befolyásoló szerepük (metabolikus gátlás, szubsztrát specificitás stb.) vizsgálatát. A szervezetbe kerülő vegyületek közel 50%-ának metabolizmusát a citokróm P450 enzimrendszer 3A4 izoenzimje végzi. Az izoenzim gátlása súlyos gyógyszerinterakciókhoz vezethet, ezért az ilyen vegyületek korai azonosításával jelentős fejlesztési kockázatsökkentés érhető el. Munkánk során ezért *in silico* predikciós módszert dolgoztunk ki citokróm P450 3A4 inhibitorok gyors azonosítására.

A vezérmolekula optimalálása során *in vitro* PK vizsgálatokkal megállapításra kerülő metabolikus profil a további fejlesztés szempontjából kedvező, illetve kedvezőtlen lehet. Az első esetben a további kutatómunka célja metabolikusan hasonló vegyületek azonosítása, míg a második esetben metabolikus viselkedésükben különböző új struktúrák előállítására a cél. Ehhez szükség van arra, hogy

a vegyületeket metabolikus viselkedésük szerint képesek legyünk megkülönböztetni, ami a jelenlegi szerkezetleíró deskriptorokkal nem valósítható meg. Munkánk befejező részében bemutatjuk a fenti kívánalmaknak megfelelő újonnan kidolgozott metabolikus deskriptort.

ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

A dolgozatban szereplő molekulamechanikai számításokat, valamint a különböző molekulaleírók kiszámítását a Tripos SYBYL programcsomagjával végeztem. A neurális hálózatok létrehozásához és tanításához a Stuttgart Neural Network Simulator (SNNS) programot használtam. Az egyes vegyületek lehetséges metabolikus átalakulásainak előrejelzését a MetabolExpert szakértői rendszer segítségével végeztem. Az eredmények statisztikai kiértékelését a STATISTICA program segítségével valósítottam meg. Az egyes számító és segédprogramokat C, perl, tcl/tk, SPL programnyelveken készítettem el SGI IRIX és Linux operációs rendszer alatt.

TÉZISPONTOK

1. Virtuális, kétdimenziós molekula ujjlenyomatokon alapuló neurális hálózatot fejlesztettem ki, molekulák vér-agy gáton való áthaladásuk alapján történő osztályozására. Az elkészült neurális hálózat képes a központi idegrendszerbe bejutó (CNS aktív) és bejutni képtelen (CNS inaktív) vegyületek megkülönböztetésére. Az eljárás sebessége igen nagy, még a kétdimenziós ujjlenyomatok kiszámításával együtt is több száz vegyület/perc, így alkalmas nagyméretű molekulakönyvtárak gyors vizsgálatára.
2. Eljárást dolgoztam ki molekulák agyi penetrációjának termodinamikai elveken nyugvó kvantitatív, logBB predikción alapuló előrejelzésére. Az eljárás alapját az az elméleti megfontolás képezi, hogy a vér-agy gáton való átjutáshoz a molekuláknak először deszolvatálódniuk kell, így egy vegyület deszolvatációs szabadentalpiájának arányosnak kell lennie a logBB értékével. Vizsgálataim alapján megállapítható, hogy a

deszolvatációs szabadentalpia az agyi penetrációs készség szignifikáns jellemzője, a deszolvatációs szabadentalpia 50 kJ/mol küszöbértéke felhasználható CNS aktív vegyületek gyors azonosítására. A deszolvatációs szabadentalpiát a GB/SA módszer alapján, saját fejlesztésű programmal számítottam. A kifejlesztett termodinamikai elven nyugvó eljárás az irodalomban ismert módszerekkel ellentétben csak egyetlen deszkriptor számítását igényli, gyors és megbízható eredményeket szolgáltat vegyületek agyi penetrációjának becslésében.

3. Virtuális, neurális hálózaton alapuló eljárást dolgoztam ki potenciális citokróm P450 3A4 inhibitorok gyors azonosítására. A kész neurális hálózat kétdimenziós UNITY ujjlenyomatok, mint bemenő adatok alapján képes molekulahalmazokból a potenciális citokróm P450 3A4 inhibitorok elkülönítésére. A neurális hálózat igen gyors diszkriminációra képes, így lehetséges nagy, akár virtuális vegyületkönyvtárak *in silico* szűrése is.
4. Kidolgoztam egy eddig egyedülálló metabolikus ujjlenyomatot, melyet molekulák szakértői rendszerrel előrejelzett lehetséges metabolikus átalakulásaiból, a prediktált metabolitok és kiindulási vegyületek molekulatömegeiből és logP értékeiből állítottam össze. A METAPRINT-nek nevezett új decimális ujjlenyomat képes molekulák közötti metabolikus diszkriminációra. Az irodalomból ismert hierarchikus csoportelemzés és többdimenziós skálázás módszereivel bizonyítottam, hogy az ujjlenyomat hordoz releváns metabolikus információt. Megmutattam, hogy a kétdimenziós UNITY molekula ujjlenyomat terével szemben a METAPRINT ujjlenyomat térben elkülönülnek a különböző farmakokinetikai paraméterekkel rendelkező vegyületek. A METAPRINT egy lehetséges felhasználásaként bemutattam alkalmazását vegyületkeverékek adagolásán alapuló (cassette dosing) *in vivo* metabolikus vizsgálatokban.

AZ EREDMÉNYEK HASZNOSÍTÁSA

A tézispontokban összefoglalt módszerek gyógyszergyári környezetben, valós kutatási programokban felmerülő, valós problémák megoldásaként jöttek létre. Az elkészült programokat integráltam a Richter Gedeon Rt. Molekulatervezési osztályán használt Tripos SYBYL molekulamodellező alkalmazásba, így az osztály minden dolgozójának az összes előrejelző módszer egyszerűen kezelhető formában áll rendelkezésére. Az eljárások által szolgáltatott farmakokinetikai előrejelzések a Richter Gedeon Rt. kutatási programjában napi használatban vannak.

Az értekezés alapját képező közlemények:

1. G. M. Keserű, L. Molnár, I. Greiner, A Neural Network Based Virtual High Throughput Screening Test for the Prediction of CNS Activity, *Comb. Chem. HTS* **3**: 535-540 (2000)
2. G. M. Keserű, L. Molnár, High-Throughput Prediction of Blood-Brain Partitioning: A Thermodynamic Approach, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **41**: 120-128 (2000)
3. L. Molnár, G. M. Keserű, A Neural Network Based Virtual Screening of Cytochrome P450 3A4 Inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **12**: 419-421 (2002)
4. G. M. Keserű, L. Molnár, METAPRINT: A Metabolic Fingerprint. Application to Cassette Design for High-Throughput ADME Screening, *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **42**: 437-444 (2002)

Az értekezéshez kapcsolódó de abban fel nem használt közlemény:

1. M. Lobell, L. Molnár, G. M. Keserű, Recent advances in the prediction of blood-brain partitioning from molecular structure *J. Pharm. Sci.* **92**: 360-370 (2003)

Az értekezéshez részben kapcsolódó előadások:

1. Molnár L., Vágó I., Egy kvázi platformfüggetlen kémiai és biológiai web-alapú relációs adatbázis, Gyógyszerkémiai és Gyógyszertechnológiai Szimpózium 2001, 2001. szeptember 24-25, Visegrád
2. L. Molnár, G. M. Keserű, Web based medicinal chemistry solutions at Gedeon Richter Ltd., TRIPOS szeminárium, 2002. március 19., KKK, Budapest