

# РОЗДІЛ 1.

## ВВЕДЕННЯ В ЛІКАРСЬКІ МІШЕНІ ТА МОЛЕКУЛЯРНУ ФАРМАКОЛОГІЮ

- 1.1. Введення в молекулярну фармакологію
- 1.2. Сфера застосування даного підручника
- 1.3. Природа лікарських мішеней
- 1.4. Майбутні мішені для лікарських засобів
- 1.5. Молекулярна фармакологія та відкриття ліків

### 1.1. Введення в молекулярну фармакологію

За останні 30 років відбувся значний прогрес і розвиток у дисципліні молекулярна фармакологія — галузі фармакології, яка займається вивченням ліків та їх мішеней на молекулярному або хімічному рівні. Основні віхи цього часу включають клонування першого рецептора, пов'язаного з G-білком (GPCR), а саме —  $\beta_2$ -адренергічного рецептора в 1986 році (Dixon et al., 1986). За цим швидко послідувало клонування додаткових генів родини адренергічних рецепторів і, зрештою, інших GPCR. Вибух молекулярної біології в 1980-х роках також призвів до клонування генів, що кодують субодиниці іонних каналів (наприклад, нікотинний ацетилхоліновий рецептор і потенціалзалежний канал  $\text{Na}^+$ ) і ядерні рецептори. У 1990-х роках клонування численних мішеней для ліків тривало швидкими темпами, але лише після завершення проекту геному людини в 2001 році вдалося визначити та повністю оцінити кількість генів для кожного основного сімейства мішеней для лікарських засобів. Як і слід було очікувати, клонування геному людини також призвело до ідентифікації багатьох потенційно нових мішеней для ліків. У завершенні проектів геному для широко використовуваної моделі такі організми, як миша (2002) і щур (2004), також принесли велику користь у процесі відкриття ліків.

Здатність клонувати та експресувати гени відкрила доступ до великої кількості інформації, яка була просто недоступна за допомогою традиційних фармакологічних підходів з використанням препаратів ізольованих тваринних тканин. У випадку GPCR детальний аналіз зразка експресії може бути виконаний за допомогою ряду методів молекулярної біології, таких як гібридизація *in situ*, RT-PCR (реакція зворотної транскриптази-полімерази) і Нозерн-блот. Крім того, наявність клонованого гена GPCR у простій ДНК-плазміді вперше дозволила трансфікувати та експресувати GPCR у культивованих клітинних лініях. Це дозволило провести детальний фармакологічний та функціональний аналіз (наприклад, шляхи вторинного месенджера) специфічних підтипів рецепторів у клітинах, які не експресують споріднені підтипи,

що часто було проблемою при використанні тканинних препаратів. Такі методи, як сайт-спрямований мутагенез, дозволяють фармакологам досліджувати складні зв'язки між структурою та функціями, щоб зрозуміти, наприклад, які амінокислотні залишки є вирішальними для зв'язування ліганду з рецептором. З подальшим розвитком техніки клонування та експресії стало можливим маніпулювати експресією генів *in vivo*. Зараз загальною практикою є вивчення наслідків видалення певного гена з усього геному (нокаут) або з конкретної тканини/органа (умовний нокаут). Також можна вставити мутовані форми генів у геном організму за допомогою технології *knock-in*. Ці трансгенні підходи дозволяють молекулярним фармакологам вивчати еволюційні та фізіологічні аспекти функції генів *in vivo*, а у випадку методів генного вибивання — розробляти моделі захворювання.

Револьюція в молекулярній біології також дозволила розробити нові підходи до вивчення складних характеристик передачі сигналу фармакологічно важливих білків, таких як рецептори та іонні канали. Сюди входять аналізи репортерного гена, методи на основі зеленого флуоресцентного білка (ЗФБ) для візуалізації білків у живих клітинах і два гібридних аналізи на основі дріжджів для вивчення білок-білкових взаємодій. Ви знайдете докладні пояснення цих та інших сучасних молекулярних методів у цьому підручнику. Іншим великим проривом у 2000-х роках стала розробка методів, які дозволили отримати структурні зображення мембранно-асоційованих білків з високою роздільною здатністю за допомогою рентгенівської кристалографії. У цей час було повідомлено про перші рентгенівські структури GPCR та іонних каналів, що дозволило вченим зрозуміти, як такі білки функціонують на молекулярному рівні. Дійсно, кристалографія є важливим інструментом у процесі відкриття ліків, оскільки кристалічні структури можна використовувати для розробки ліків *in silico*. Нещодавно дослідники використовували ЯМР-спектроскопію для отримання структурної інформації високої роздільної здатності  $\beta_2$ -адренергічного рецептора (Vokoch та ін., 2010).

Явною перевагою структурних досліджень на основі ЯМР, які вже використовуються для структурних досліджень інших лікарських цілей, таких як кінази, буде можливість отримати динаміку GPCR і дані про активацію ліганду, що неможливо за допомогою методів, що базуються на рентгенівських променях. Деякі підходи, засновані на молекулярній фармакології, які використовуються для опитування мішеней для лікарських засобів, наведено на рисунку 1.1.

Незважаючи на збільшення знань про цільові ліки, отримане під час революції в молекулярній біології, відбулося явне уповільнення кількості нових ліків, які виходять на ринок (Бетц, 2005). Однак, оскільки для виведення нового препарату на ринок потрібно приблизно 15 років, можливо, ще занадто рано оцінювати вплив проекту геному людини на відкриття ліків. У 2009 році світовий фармацевтичний ринок оцінювався у 815 мільярдів доларів. Однак протягом наступних кількох років основною проблемою, з якою зіткнеться фармацевтична промисловість, є втрата патентів на ліки в ключових блокбастерах. Надія на майбутнє полягає в тому, що досягнення молекулярної фармакології, які ми спостерігали протягом останнього десятиліття або близько того, почнуть створювати нові найкращі терапевтичні засоби для двадцять першого століття.

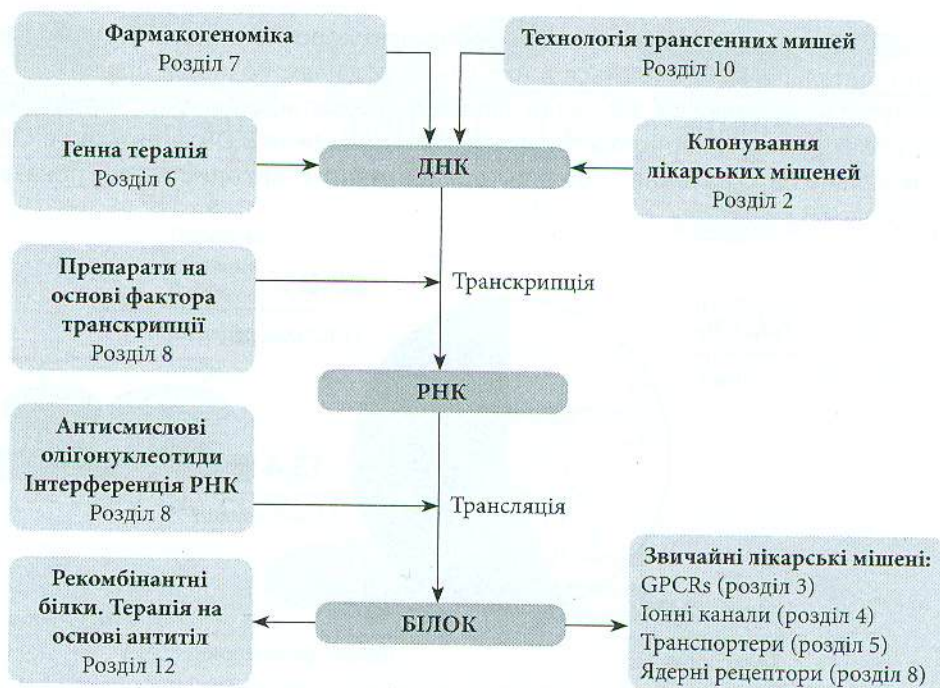


Рис. 1.1. Методи, засновані на молекулярній фармакології, які використовуються для опитування мішеней ліків

## 1.2. Сфера застосування даного підручника

Як коротко описано вище, у галузі молекулярної фармакології відбулися численні захоплюючі розробки. Метою цього підручника є вивчення аспектів молекулярної фармакології глибше, ніж це описано в традиційних підручниках з фармакології (узагальнено на рис. 1.2). Останні досягнення та розробки в чотирьох основних цільових групах лікарських засобів для людини (GPCR, іонні канали, ядерні рецептори і транспортери) висвітлено в окремих розділах (розділи 3–5 і 8). Молекулярні мішені протиінфекційних препаратів (антибактеріальних і противірусних), хоча й мають велике значення, у цій книзі не розглядаються. Інші розділи стосуються клонування лікарських цілей (розділ 2) і технології трансгенних тварин (розділ 10). Концепція генної терапії розглядається в розділі, заснованому на тематичному дослідженні, який розглядає поточні та можливі майбутні стратегії лікування муковісцидозу — найпоширенішого смертельного генетичного захворювання європеоїдів (розділ 6). Ще однією важливою подією в молекулярній фармакології стала дисципліна фармакогеноміка: дослідження того, як генетичний склад людини впливає на її реакцію на терапевтичні препарати (розділ 7). Ці природні варіації в геномі людини спричинені переважно однонуклеотидними поліморфізмами (варіації ДНК, що включають зміну в одному нуклеотиді), й існує великий дослідницький консорціум, метою якого є документування всіх поширених варіантів геному людини (міжнародний проект ХарМар).

Інформація про проект, яка є у вільному доступі в Інтернеті, дозволить ученим зрозуміти, як генетичні варіації впливають на ризик захворювання та відповідь на ліки. Нарешті, ми детально дослідимо роль кальцію в клітині, розглянувши методи, які використовуються для вимірювання цього важливого вторинного месенджера (Розділ 9).



**Рис. 1.2.** Лікарські мішені в рамках центральної догми молекулярної біології. На сьогодні більшість звичайних терапевтичних засобів спрямовані на відносно невелику групу сімейств білків, які включають G-білкові рецептори, іонні канали і транспортери. Нові терапевтичні стратегії включають блокування трансляції мРНК у білок за допомогою антисмислових олігонуклеотидів та/або технології інтерференції РНК. Транскрипція генів також може бути спрямована через активацію/інгібування функції ядерного рецептора. Позначено розділи, які охоплюють ці теми

### 1.3. Природа лікарських мішеней

Скільки потенційних мішеней для наркотиків є в геномі людини? Це важливе питання, яке часто задають представники фармацевтичної промисловості, оскільки перед ними стоїть завдання розробки нових терапевтичних засобів для майбутнього. Коли проект послідовності геному людини було завершено у 2001 році, за оцінками, він містив приблизно 31 000 генів, що кодують білок. Однак з моменту його завершення кількість генів, що кодують людський білок, постійно переглядалася з поточними оцінками в діапазоні від 20 000 до 25 000. Передбачається, що близько 3000 з них є здійсненними цілями білкових препаратів. У 2005 році було підраховано, що на всі ліки, які відпускаються за рецептом, припадає близько 100 лікарських цілей. На цій основі, очевидно, є значні можливості для розробки та відкриття нових ліків-мішеней для лікування захворювань. У даний час класичні лікарські мішені включають GPCR (розділ 3), іонні канали (розділ 4), ядерні рецептори (розділ 8), транспортери (розділ 5) і фер-