

Доктор химических наук

С.М. Лукьянов,

Н.А. Резцова



Сочетательная ХИМИЯ

ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ

Художник Н. Крашнин

Последнее столетие можно смело назвать веком синтетических лекарственных препаратов. Тысячи лет до этого человечество проводило испытания на себе, накапливая опыт применения целительных средств естественного происхождения. Однако этот опыт отошел на второй план, когда химики научились выделять из природных источников чистые действующие вещества, а затем и синтезировать неизвестные природе чудодейственные лекарства, такие, как сульфамиды и антибиотики. Подавляющее большинство современных препаратов было создано в лабораториях органического синтеза и отобрано в результате биологических испытаний. Но в последнее десятилетие этот процесс сильно изменился, что привело к созданию особого направления под названием «комбинаторная химия».

Какова всхожесть, таков и урожай

До конца XX века поиск новых лекарств был чрезвычайно длительным процессом. После того как ученые получали новые химические соединения, надо было провести их предварительный отбор — скрининг (*screening* — англ., просеивание, отсев). По статистике, чтобы выявить одно перспективное соединение, требовалось почти наугад протестировать около 50 000 веществ. Уже на этом этапе испытания стоили очень дорого, поскольку их проводили на животных и расходовали большие количества испытуемых соединений. Тесты не только требовали огромных затрат, но и затягивались на годы. Естественно, новые соединения синтезировали гораздо быстрее, чем проводили их биологические испытания. У химиков всего мира на полках скопились сотни тысяч веществ, среди которых наверняка были образцы с очень перспективной фармакологической активностью, — вот только как это узнать?

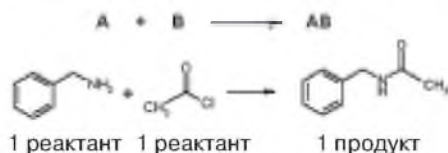
Положение принципиально изменилось около 20 лет назад благодаря быстрому прогрессу молекулярной биологии и геной технологии. Биологи научились расшифровывать структуру генов, которые кодируют определенные белки. Эти белки, ответственные за те или иные физиологические функции в организме, можно выделить в чистом виде и на их основе создать тестовые системы («мишени»). С их помощью быстро выявляют определенную биологическую активность синтезированных молекул, например способность избирательно взаимодействовать с клеточными рецепторами. Фактически это тесты на молекулярном уровне, которые требуют уже не десятки граммов, а миллиграммы испытуемых соединений.

Сейчас такое тестирование выполняют на сложнейших роботизированных установках, и если два десятилетия назад крупнейшие фармацевтические фирмы могли проверять примерно 10 тысяч соединений в год на один тип биологической активности, то теперь производительность доведена уже до 100 тысяч образцов в день. И это не предел.

Новая технология фармакологических испытаний получила название «высокопроизводительный скрининг» (*high throughput screening, HTS*). Ее цель — не только определение биоло-

1

Классический органический синтез (реактанты, в терминологии химиков-органиков, — исходные соединения, из которых строится молекула продукта; реагент — вспомогательное вещество, которое подготавливает один из реактантов к взаимодействию и при этом расходуется, в отличие от катализатора. Так, на рис. 4 TA^aB^b и R^3-Cl — это реактанты, а гидрид натрия NaH — реагент)



гической активности самых разнообразных соединений, но и выявление соединений-лидеров в больших сериях однотипных молекул. Такие серии веществ, имеющих одинаковую базовую структуру и различные комбинации заместителей, называются «библиотеки» (*libraries*).

В традиционной синтетической лаборатории на создание одной такой библиотеки всего из 100 образцов потребовался бы целый год, а новая технология скрининга (HTS) позволяет быстро испытать тысячи библиотек, состоящих из сотен структур. Теперь синтетики уже не успевали нарабатывать вещества для испытаний, и явно была необходима новая технология синтеза.

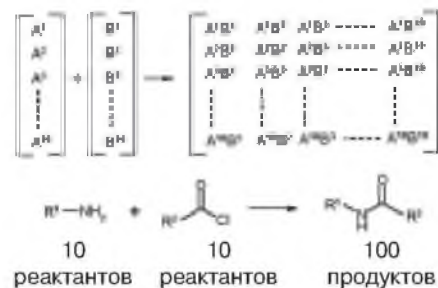
Овеществленная математика

Новая технология органического синтеза впервые заявила о себе в 1991 году и вскоре развилась в новое направление — комбинаторную химию (*combinatorial chemistry*).

В отличие от классического подхода «одно соединение за другим» (рис. 1), главный принцип комбинаторной химии — это одновременный синтез всей библиотеки («параллельный синтез») (рис. 2). Математический термин «комбинаторный» стал теперь и химическим. В комбинаторной химии речь, по сути, идет о сочетаниях (термин из

2

Комбинаторный органический синтез



3

С помощью многопозиционных пипеток-дозаторов вносят растворы исходных веществ

комбинаторики) исходных веществ — так называемых билдинг-блоков (от *building block* — кирпичик). Так, сочетания двадцати соединений по два дают 190 комбинаций. Из этого числа надо вычесть химически невозможные варианты A^aA^m и B^aB^m — их всего $45 \cdot 2 = 90$, и остаются 100 сочетаний A^aB^m . Таким образом, комбинаторную химию могли бы назвать комбинационной или сочетательной химией. Очевидно, что с увеличением числа билдинг-блоков количество продуктов возрастает по экспоненте.

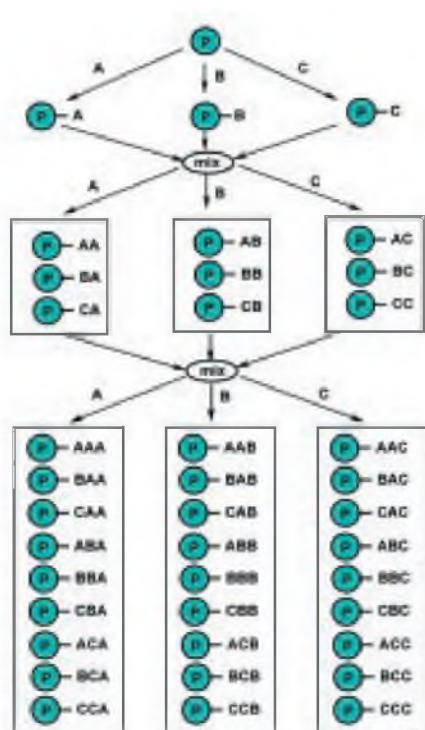
В принципе все реакции (рис. 2) можно провести в одной колбе, после чего получится смесь из ста продуктов. Эта ситуация, невыносимая для классического синтеза и традиционных биологических испытаний, оказалась вполне обычной для комбинаторной химии. Ведь еще одна революционная особенность HTS-технологии состоит в том, что можно тестировать не каждое соединение по отдельности, а смесь веществ. Предположим, мы синтезировали библиотеку из 1000 соединений, распределенных по 100 в десяти смесях. Если при испытании на определенном рецепторе хотя бы одно вещество из тысячи проявит нужную активность, то это специфическое взаимодействие обнаружится (например, по биолюминесценции продукта реакции) в одной из десяти смесей. Таким образом, круг поиска сразу сужается до ста соединений. Тогда снова синтезируют эти вещества, получая десять

новых смесей, но уже по десять компонентов каждая, и вновь проводят испытание. Порядок действий тот же, что и в задаче: «как минимальным числом взвешиваний выбрать самый тяжелый из кучки одинаковых на вид шаров».

Существует и другой путь. Синтез библиотеки (рис. 2) можно провести по отдельности в ста микропробирках. Их вставляют в специальный реакционный блок с большим количеством гнезд, и с помощью многопозиционных пипеток-дозаторов (рис. 3) вносят растворы исходных веществ. Блок закрывают общей крышкой, и все реакции проходят одновременно в одинаковых условиях (если нужно, блок нагревают и встряхивают специальным механизмом). В результате получают сто индивидуальных соединений, которые будут использованы для испытаний или для последующего параллельного синтеза.

Техника комбинаторного синтеза

Комбинаторный синтез можно проводить не только в растворе, но и на поверхности твердой фазы. В этом случае исходное вещество химически «пришивают» к функциональным группам на поверхности полимерного носителя (чаще всего используют сложноэфирную или амидную связь) и обрабатывают раствором второго исходного вещества, которое берется в значительном избытке, чтобы

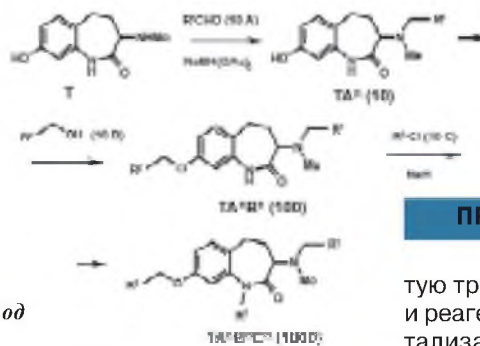
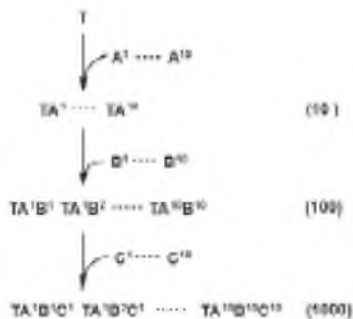


4 Сплит-метод синтеза комбинаторной библиотеки

реакция прошла до конца. В такой форме реакции есть определенное удобство, поскольку облегчается техника выделения продуктов: полимер просто отфильтровывают, тщательно промывают и химически отщепляют от него целевое соединение.

Элегантную стратегию многостадийного параллельного синтеза пептидов на твердой фазе предложили еще в 1982 году — она известна как «сплит-метод» (*split* — расщепление, разделение) (рис. 4).

Допустим, что из трех аминокислот (А, В и С) нужно получить все возможные комбинации трипептидов. Для этого твердый полимерный носитель (Р) разделяют на три равные порции и обрабатывают их раствором одной из аминокислот. При этом все аминокислоты химически связываются с поверхностью полимера одной из своих функциональных групп. Полученные полимеры трех сортов тщательно смешивают, и смесь опять разделяют на три части. Затем каждую часть, содержащую все три аминокислоты в одинаковых количествах, вновь обрабатывают одной из тех же трех аминокислот и получают девять дипептидов (три смеси по три продукта). Еще одно смешение, разделение на три равные части и обработка аминокислотами дают искомые 27 трипептидов (три смеси по девять продуктов) всего через девять стадий, тогда как получение их по отдельности потребовало бы синтеза из $27 \cdot 3 = 81$ стадий.



5 Многостадийный комбинаторный синтез (derivatизация темплейта). Т — темплейт, А, В, С — билдинг-блоки последовательных стадий, ТА — интермедиаты первого уровня, ТАВ — интермедиаты второго уровня, ТАВС — комбинаторная библиотека

ПРОБЛЕМЫ И МЕТОДЫ НАУКИ

тую требует специфических условий и реагентов (металлокомплексных катализаторов, инертной атмосферы, барботирования газов), а также защитных групп, которые не позволяют функциональным группировкам в молекуле преждевременно вступать в реакции. Защитные группы надо снимать в строгой последовательности, освобождая реакционные группы для следующей стадии. К сожалению, пока не все органические реакции можно проводить с помощью параллельного синтеза, поэтому при создании комбинаторной библиотеки он должен быть последней и относительно простой в исполнении стадией.

Количество или качество

За полтора века существования органического синтеза в химической литературе было описано (синтезировано и охарактеризовано) около 12 миллионов соединений. Нынешний синтетический потенциал комбинаторной химии настолько велик, что это число может быть удвоено менее чем за год. В этой ситуации многие химики полагают, что комбинаторная химия — это сугубо прикладная технология, далекая от науки, поскольку совершенно немыслимо определить физические свойства (температуры плавления или кипения, спектральные характеристики, данные элементного анализа) каждого из этих новых соединений, необходимые для научной публикации. Но даже если бы такое удалось, простое перечисление этих свойств переполнило бы все химические журналы мира. Однако зададимся вопросом: насколько нужна эта информация?

Комбинаторная химия практически полностью ориентирована на реше-



ние чрезвычайно важной задачи — поиск новых лекарственных средств. Комбинаторный синтез в сочетании с HTS-технологией резко увеличивает количество потенциальных кандидатов на роли высокоэффективных лекарств, но отнюдь не сокращает время, необходимое для всего комплекса испытаний (доклинических — на животных, а затем клинических). Самое главное в том, что поиск становится гораздо более целенаправленным, и тем самым экономятся время и средства, которые раньше тратились на отсеивание бесперспективных соединений. Отобранные эффективные образцы можно синтезировать отдельно и всесторонне их охарактеризовать.

И наконец, появление комбинаторной химии совсем не случайно. Есть все основания полагать, что мы — современники очередного, уже третьего, этапа естественной и закономерной эволюции химии. Этот этап обусловлен, с одной стороны, обострившимися проблемами технологической цивилизации, а с другой — высоким уровнем возможностей химии решать такие проблемы.

В процессе эволюции химии менялись ее предмет, методология и объекты исследований. С конца XVIII века, то есть со времен Лавуазье, и до середины XIX века химия была преимущественно наукой об элементах, основой ее методологии был анализ, а главным предметом — состав веществ. В этот период ученые сформулировали фундаментальные законы химии, сложились и утвердились такие основополагающие понятия, как атом, молекула, атомный и молекулярный вес, простое, сложное и чистое вещество.

С 60-х годов XIX века, когда уже было открыто большинство элементов, предмет химии изменился. На первый план выдвинулись такие понятия, как строение и структура. В самостоятельную науку выделилась и начала стремительно развиваться органическая химия, основой методологии которой стал синтез. К концу прошлого века к миллионам известных соединений каждый год прибав-

лялись 200—300 тысяч новых. Правда, совсем небольшая часть из них нашла практическое применение.

После этапов «состав» и «строение» наступает новый этап развития химии, когда на передний план выдвигаются «метод» и совсем непривычные «действие», «организация», «информация». Теперь синтетиков интересуют сложные молекулярные ансамбли и принципы их построения и функционирования. Синтез перестает быть статистическим и становится все более явно направленным на создание строго определенных молекулярных конструкций, способных выполнять специфические действия. На этом пути, наряду с комбинаторной химией, набирает силы супрамолекулярная химия (см. «Химия и жизнь», 2000, № 9, с. 18), главный синтетический принцип которой — самосборка сложнейших молекул в смеси множества реагентов, когда несколько реакций протекают одновременно в одной колбе. Успешное развитие таких новейших направлений вселяет уверенность в том, что в недалеком будущем органический синтез сможет создавать молекулярные структуры с заранее заданной реакционной способностью и геометрией, которые так нужны и для медицины, и для высокотехнологичного производства.

Комбинаторный синтез в России

Лавинообразное увеличение числа научных публикаций о комбинаторной химии началось в 1997 году, и одним из первых тематических журналов оказался основанный в 1995 году «Molecular Diversity» (что означает «разнообразие молекул»). В 1997 году целый номер научного обзорного журнала «Chemical Reviews» посвятили комбинаторной химии. В 1998 году рождаются другие журналы этого направления: «Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening» и «Combinatorial Chemistry», а в 1999 году — журнал Американского химического общества «Journal of Combinatorial Chemistry».

Как нетрудно заметить, русских журналов по комбинаторной химии нет, и публикации на русском языке, даже популярные, почти отсутствуют. Но это не значит, что ее нет в России, — наша комбинаторная химия успешно развивается, не отставая от мирового уровня. В Москве существуют крупнейшие в Европе лаборатории комбинаторной химии — например, в Московском отделении фирмы «ChemBridge Corporation», где в 1999 году синтезировали первую библиотеку химических соединений, а также на Химическом факультете МГУ. Первая всероссийская тематическая конференция «Органический синтез и комбинаторная химия» прошла в Звенигороде в 1999 году, теперь эти конференции стали в России регулярными. В мае этого года под эгидой Европейской федерации медицинской химии в Москве прошел международный симпозиум «Достижения синтетической, комбинаторной и медицинской химии» (ASCMC), а в сентябре в Новосибирске состоится международное совещание «Гетероциклические соединения в органической и комбинаторной химии».

С 2000 года комбинаторный синтез ввели в программу курса «Медицинская химия» и преподают в нескольких вузах России. Например, на спецпрактикуме на Химическом факультете МГУ им. М.В. Ломоносова студенты могут сами с помощью специального оборудования синтезировать библиотеку соединений.

Что можно почитать о комбинаторной химии

1. L.A.Thompson, J.A.Ellman. Synthesis and Applications of Small Molecule Libraries. *Chemical Reviews*, 1996, 96, №1, 555—600.
2. F.Balkenhohl, C.von dem Bussche-Hunnefeld, A.Lansky, C.Zechel. Combinatorial Synthesis of Small Organic Molecules. *Angewandte Chemie, Int. Ed. Engl.*, 1996, 35, 2288—2337.
3. *Chemical Reviews*, 1997, 97, No. 2 (весь номер журнала посвящен комбинаторной химии).