

Selektive lægemiddelstoffer designet ud fra krystalstrukturer

AMPA-receptorer er potentielle angrebepunkter for lægemidler til behandling af neurologiske sygdomme som demens og epilepsi. Receptorerne findes i mange varianter, og blokerende forbindelser, som kan skelne mellem dem, er nyttige modelstoffer i jagten på nye lægemidler med færre bivirkninger

Af Ewa Szymanska, PhD, adjunkt ved Institut for Medicinalkemi og Tommy N. Johansen, PhD, lektor ved Institut for Medicinalkemi, Københavns Universitet

Mange lægemidler virker ved at påvirke bestemte receptorer. Oftest findes der ikke blot én type af en human receptor, men derimod flere genetisk forskellige varianter, som kan have forskellige funktioner og være udtrykt i forskellige organer. Forsøg med modelstoffer, som kun påvirker én bestemt receptorvariant, er vigtige for at afdække de forskellige undertypers funktioner under normale og sygdomsrelaterede tilstande, og den opnåede viden kan udnyttes til at designe selektive lægemiddelstoffer med et minimum af bivirkninger.

β -receptorer er et velkendt eksempel på en receptortype med to varianter, som har vidt forskellige funktioner. β_1 -receptorerne findes især i hjertet og kontrollerer hjerteslaget, mens β_2 -receptorerne primært er udtrykt i lungerne og styrer passagen gennem luftvejene. Modelstoffer, som selektivt påvirker enten β_1 - eller β_2 -receptorerne, har været uhyre nyttige ved udviklin-

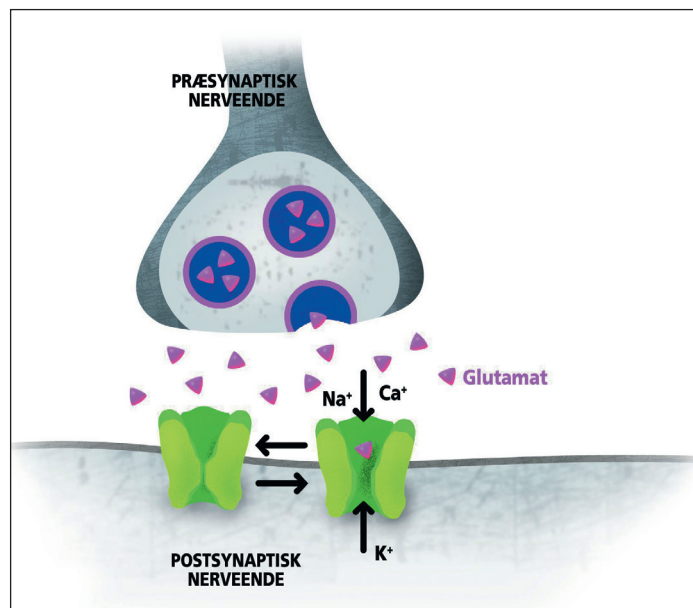
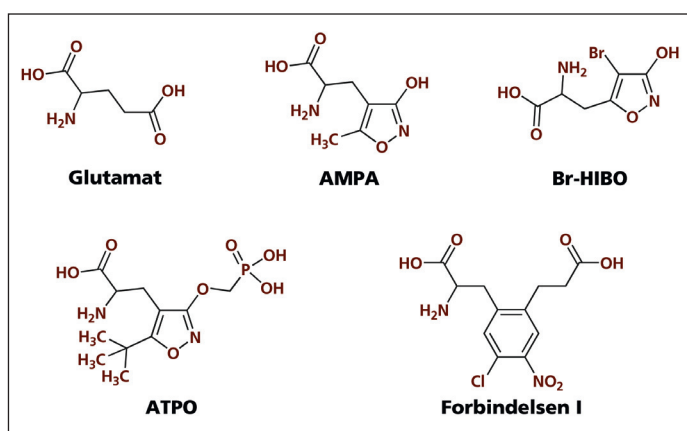


Illustration af signaltransmission mellem nerveceller med AMPA-receptorer. Uden bundet signalstof er receptoren i sin hviletilstand. Ved binding af signalstoffet glutamat ændres receptorens konformation, så en ionkanal åbnes, og herved overføres nerveimpulsen til modtagercellen. AMPA-receptorer er opbygget af 4 forskellige underenheder, GluR1 – GluR4, som alle er proteiner. Underenhederne kan sammensættes i forskellige kombinationer og på den måde danne de forskellige varianter af AMPA-receptorer. I receptorens bindingslomme er der meget stor lighed mellem de 4 underenheder. Alle aminosyreresterne i bindingslommen er identiske bortset fra Tyrosin-702. I GluR1 og GluR2 sidder der en tyrosinrest i position 702, mens en nærtbeslægtet aminosyrerest, phenylalanin, er placeret i den tilsvarende position i GluR3 og GluR4.



Øverst ses strukturerne af tre forbindelser, som stimulerer glutamatreceptorer med stigende selektivitet: Det naturlige signalstof glutamat påvirker alle glutamatreceptorer; AMPA påvirker kun AMPA-familien af receptorerne; Br-HIBO påvirker selektivt underenhederne GluR1 og GluR2 i AMPA-receptorerne. Nederst er vist to blokerende forbindelser. Til venstre ATPO, som har dannet grundlag for designet af mål molekylet, forbindelsen I.

gen af mange vigtige lægemidler. Et eksempel er β -blokkere, som selektivt blokerer β_1 -receptorer og bruges til behandling af forhøjet blodtryk og forstyrrelser i hjerterytmen, og et andet eksempel er lægemidler til behandling af astma, som selektivt stimulerer β_2 -receptorerne.

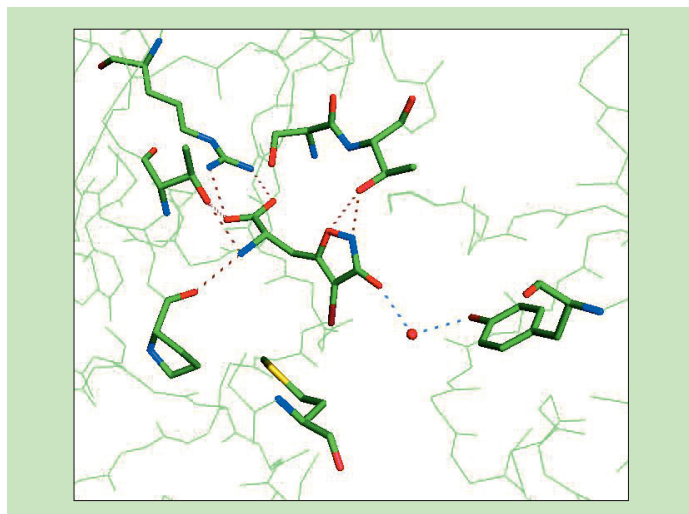
Selektive stimulerende forbindelser

På Institut for Medicinalkemi arbejder vi ikke med β -receptorer, men med glutamatreceptorer, som findes i centralnervesystemet, hvor de spiller en vigtig rolle for bl.a. indlæring og hukommelse.

Signalstoffet glutamat er en agonist, som har en stimulerende effekt på receptorerne, og det menes, at overaktivitet i glutamatsystemet har stor betydning i neurologiske sygdomme som Alzheimers syge og epilepsi. I hjernen findes der flere varianter af glutamatreceptorer. På Institut for Medicinalkemi har vi været pionerer i forhold til at designe og syntetisere forbindelser, som kun stimulerer nogle af disse receptorer.

Således stimulerer modelstoffet AMPA selektivt én gruppe af glutamatreceptorer, som derfor kaldes AMPA-receptorer. Receptorerne er ionkanaler, og de er opbygget af fire underenheder, GluR1 – GluR4, som er sammensat på forskellig vis i de forskellige varianter. AMPA bindes lige godt til underenhederne GluR1 – GluR4 og skelner således ikke mellem dem. Men det er der andre modelstoffer, som gør.

Med udgangspunkt i AMPA har den neuromedicinalkemiske



Illustrationen viser, hvordan den GluR1/2-stimulerende forbindelse Br-HIBO bindes til bindingslommen på GluR2. Farvekode på de involverede atomer: C: grøn; N: blå; O: rød; S: gul; Br: brun. Brintatomerne er ikke vist. Direkte vekselvirkninger mellem Br-HIBO og receptorproteinet er fremhævet med røde stiplede linier, mens brintbindinger mellem Br-HIBO, et vandmolekyle og aminosyreresten Tyrosin-702 er fremhævet med en blå stiplede linie. Det er bl.a. disse brintbindinger, som spiller en vigtig rolle for forbindelsens interessante receptorselektivitet.

gruppe udviklet en beslægtet forbindelse, Br-HIBO, som bindes stærkt til GluR1 og GluR2 og mere end hundrede gange svagere til GluR3 og GluR4. En del af forklaringen på denne markante selektivitet kan formentlig hentes i strukturkemiske analyser, som viser, at Br-HIBO er i stand til at danne et stærkere brintbindingsnetværk, når forbindelsen bindes til GluR1 eller GluR2 sammenlignet med binding til GluR3 eller GluR4. Særlig vigtig i denne sammenhæng er vekselvirkningen med aminosyreresten Tyrosin-702, som er placeret dybt nede i bindingslommen. Der eksisterer således en del viden om, hvilke strukturelle forhold, der har betydning for stimulerende forbindelsers skelnen mellem forskellige underenheder. Vi er nu ved at undersøge, om denne viden kan overføres til modelstoffer, der blokerer receptorerne; såkaldte antagonist.

Selektive blokerende stoffer

Forbindelser, der blokerer AMPA-receptorer, er potentielle lægemiddelstoffer, fx til behandling af epilepsi. Blandt de mange udviklede AMPA-receptorantagonister findes der imidlertid ingen stoffer, som udviser selektivitet mellem de fire underenheder i AMPA-receptorerne.

Strukturkemiske analyser viser, at de kendte antagonist placerer sig på en måde i bindingslommen, der bevirker, at de ikke kommer i tæt kontakt med Tyrosin-702, når de bindes til AMPA-receptorerne. Spørgsmålet er derfor, om det er muligt at designe antagonist, som gennem vekselvirkninger med Tyrosin-702 vil foretrække én variant af receptorerne frem for en anden.

Grundlaget for dette design hentes fra en krystalstruktur, som giver et billede af bindingen af antagonist ATPO til GluR2. ATPO blokerer alle fire underenheder i AMPA-receptorerne uden at skelne mellem dem. Målet var derfor at ændre strukturen af ATPO, så der placeres en passende substituent i nærheden af Tyrosin-702.

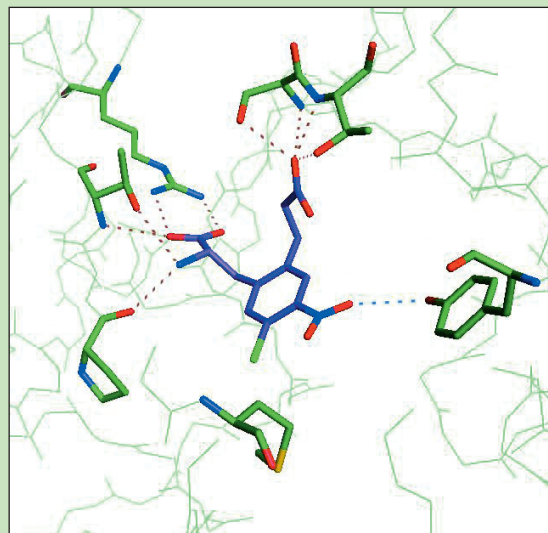
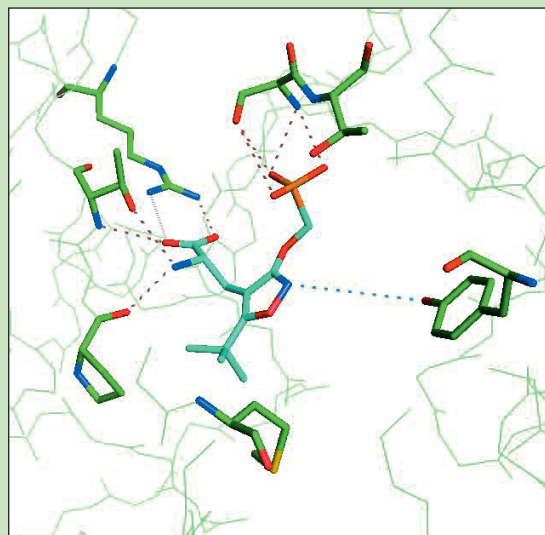
For at komme tæt på Tyrosin-702 valgte vi at erstatte den 5-leddede isoxazolring i ATPO med en lidt større 6-leddet phenylring, hvor der er flere muligheder for at indføre substituent. Hvis man placerer en nitrogruppe i en passende position, så gruppen kan modtage brintbindinger fra Tyrosin-702, tyder computerkemiske beregninger på, at der både kan forventes en god binding til receptoren og dannelse af en bro til den vigtige

aminosyrerest enten direkte eller gennem et vandmolekyle, som det er set med den stimulerende forbindelse Br-HIBO.

Forbindelsen I blev fremstillet med udgangspunkt i modelberegningerne, og farmakologiske studier har nu bekræftet, at forbindelsen er en antagonist, der binder sig væsentligt bedre til AMPA-receptorerne end ATPO; men desværre uden at vise tegn på selektivitet i forhold til de fire underenheder i receptorerne. Imidlertid bekræfter de strukturkemiske undersøgelser, at den introducerede nitrogruppe rent faktisk vekselvirker som ønsket med Tyrosin-702 i GluR2 gennem et vandmolekyle.

Yderligere studier er nu nødvendige for at undersøge, om en sådan vekselvirkning med Tyrosin-702 alene kan udnyttes ved design af agonister, som er selektive over for underenhederne i AMPA-receptorerne, men ikke ved design af antagonist med tilsvarende selektivitet. Alternativt kan det tænkes, at der er andre parametre end vekselvirkning med Tyrosin-702, som har større betydning for antagonisters selektivitet. En ting er givet: Virkningsmekanismen er mere kompleks end først antaget.

Kilde: Lægemiddelforskning 2007, Det Farmaceutiske Fakultet, KU



Binding af ATPO i GluR2-bindingslommen baseret på en røntgenkrystallografisk analyse af en proteinkrystal.

Computerkemisk analyse af den forventede bindingsmåde af forbindelsen I. Atomerne er farvekodet som i figuren øverst på siden, bortset fra C-atomerne i ATPO (turkis) og i forbindelsen I (lilla). Direkte vekselvirkninger mellem ATPO og receptorproteinet er vist med rødt, og afstanden til Tyrosin-702 er fremhævet med blå.