

Dynamisk kombinatorisk kemi

- molekylær genkendelse, hvor den stærkeste overlever

I dynamisk kombinatorisk kemi kombineres den kombinatoriske metode med en udvælgelsesproces, baseret på principper inspireret af evolution

Af Michael Pittelkow, Kemisk Institut, Københavns Universitet

Molekylær genkendelse kan opnås enten ved at designe og udvikle nye genkendelsesmotiver ud fra eksisterende viden eller ved en kombinatorisk tilgang, hvor mange forskellige mulige motiver testes på en gang. At forstå molekylær genkendelse er afgørende for at forstå masser af fænomener inden for kemien. Kemikeres evner til at designe og bygge systemer, der afhænger af molekylær genkendelse, især når det foregår i vand, er ret begrænsede. Dette gør sig især gældende set relativt til de komplicerede processer, der finder sted i naturen - og ja, måske endda også i vores kolber. At forstå lægemidlers virkemåder, katalysatorers regio- og stereoselektivitet og molekylære sensorers selektivitet er blot nogle områder, hvor vekselvirkning mellem molekyler, altså molekylær genkendelse, er af afgørende betydning.

Molekylær genkendelse danner basis for det forskningsområde, der kaldes supramolekylær kemi. Her studeres de, ofte svage, ikke-kovalente vekselvirkninger, der i høj grad bestemmer molekylers egenskaber. Mest prominent blandt disse interaktioner er nok hydrogenbindingen, som bl.a. er med til at give vand dets høje kogepunkt og DNA dets dobbelthelix-karakter.

I en oversigtsartikel har professor K. N. Houk fra UCLA sammenlignet målte bindingsaffiniteter for kunstige systemer

med naturligt forekommende systemer i vand (figur 1) [1]. Det ses, at der er stor forskel på bindingsaffiniteterne, og det er en herlig udfordring at danne bro mellem bindingsaffiniteterne for kunstige og naturligt forekommende gæst-vært-systemer. Der venter et stort og spændende stykke forskningsarbejde forude, før dette er muligt.

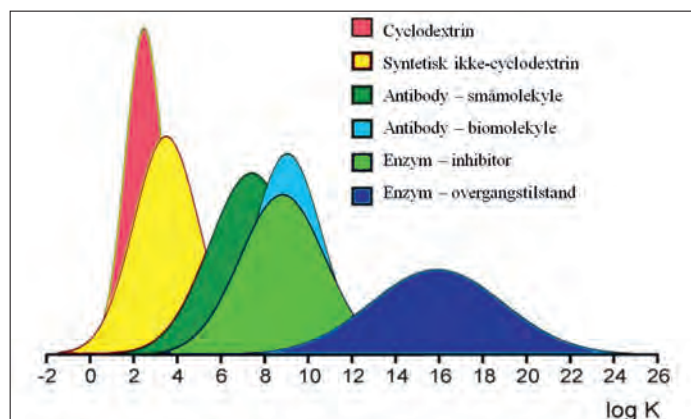
Hvis man kan acceptere, at kemikere ikke er specielt gode til at designe og kontrollere processer, der afhænger af molekylær genkendelse, så kan man (måske) også acceptere, at kombinatoriske metoder muligvis kan hjælpe til udviklingen af nye systemer, hvis virkemåde afhænger af molekylær genkendelse. Det er derfor vigtigt, at udviklingen af nye måder at anskue problemstillinger inden for kemien, især inden for molekylær genkendelse, fortsætter. Hvad hvis man kunne overlade en del af udvælgelsesprocessen af nye specifikke lægemidler til kemien – simpelthen lade molekylerne vælge selv i en slags kunstig (og stærkt forsimplet) evolutionsproces? Hvis man kan det, så kan man efterfølgende studere de udvalgte molekyler og (forsøge at) forstå hvorfor det var netop dem, der blev udvalgt.

Det er den tankerække man med dynamisk kombinatorisk kemi forfølger: en ny, alternativ, måde at opdage på.

Dynamisk kombinatorisk kemi

Forestil dig en blanding af forbindelser, der er dannet ud fra en række byggesten: et såkaldt kombinatorisk bibliotek. Forestil dig nu at alle byggesten i biblioteket holdes sammen med bindinger, der kan åbne og lukke - altså er reversible. Pga. denne reversibilitet opnås et kombinatorisk bibliotek, hvis sammensætning kan influeres ved en ændring i de ydre forhold som f.eks. koncentration, temperatur eller tryk - hvis sammensætning er dynamisk. Det er et dynamisk kombinatorisk bibliotek (figur 2, side 16) [2,3]. Det dynamisk kombinatoriske bibliotek kan også forstyrres ved, at en (eller flere) af biblioteksmedlemmerne stabiliseres pga. molekylær genkendelse - og hermed dannelse af et kompleks. Hvis det sker, vil ligevægtsblandingen producere mere af den komponent, der er blevet stabiliseret. Dette er i henhold til Le Châteliers princip (boks 1, side 16).

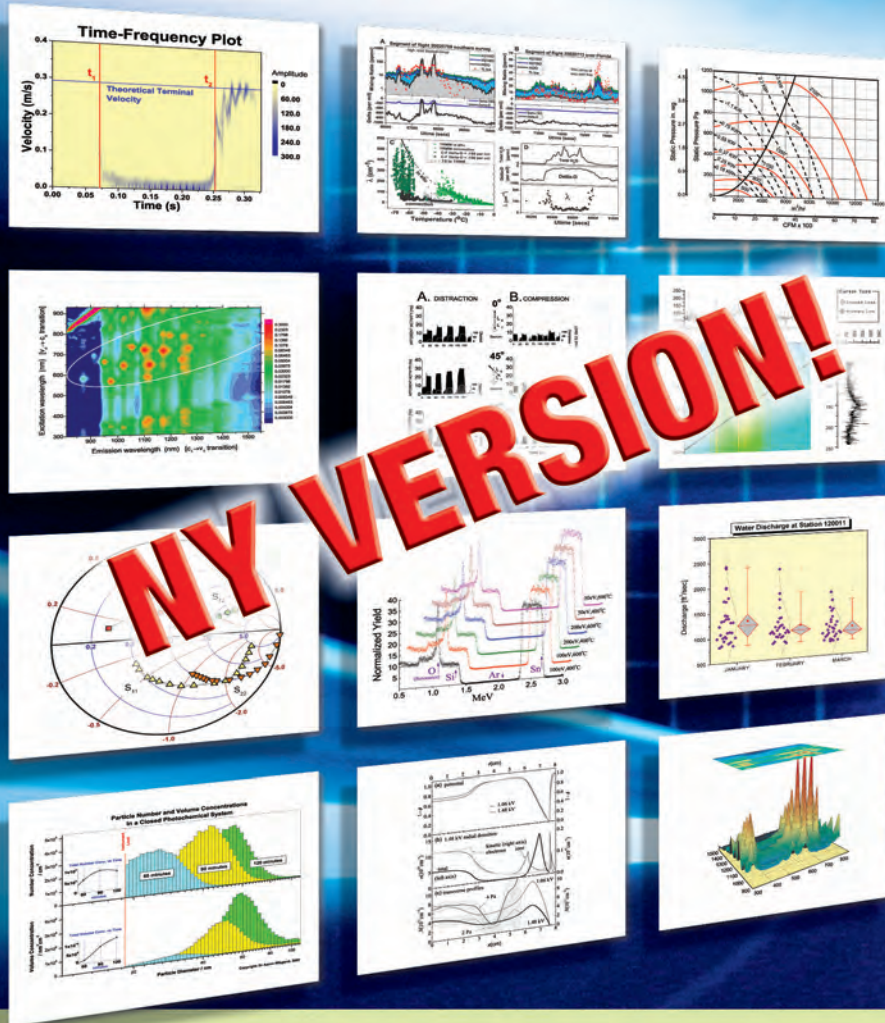
I figur 2 eksemplificeres det ekstreme tilfælde, hvor alle byggestenene omdannes til det samme produkt ved genkendelse af en skabelon (kaldes her "templat"): fire forskellige byggesten



Figur 1. Sammenligning af bindingsstyrker af gæst-vært-systemer i vand. Det ses, at kunstige systemer (gul og rød) generelt udviser markant svagere bindinger end de naturligt forekommende systemer (grøn og blå). Bemærk den logaritmiske skala. Denne figur stammer fra K. N. Houks oversigtsartikel [1].

ORIGIN® 8.1

SCIENTIFIC GRAPHING
AND ANALYSIS SOFTWARE



NEW VERSION!

POWERFUL...FLEXIBLE...EASY TO USE

**USE ORIGIN'S POWERFUL,
YET INTUITIVE TOOLS TO...**

Origin's intuitive interface allows first-time users to quickly and easily create sophisticated, publication-quality graphs. You can access data from many sources—import ASCII files, use ODBC to query databases, or directly open Excel workbooks. Origin worksheets support many data formats, including IRIG time, so you can view your data as you desire. With just a few clicks, 2D, 3D, contour and image graphs can be created using over 60 built-in templates. Graphs can be customized to exacting specifications by either directly modifying any graph element or by applying a graph theme. Point-and-click data analysis tools provide basic and advanced statistics, curve fitting, signal processing and peak analysis. A powerful programming environment is provided for creating custom graphing, analysis and batch processing routines. As you use Origin, you will discover how its timesaving features simplify your daily routine.

- Import data from many sources
- Perform data analysis
- Develop custom algorithms
- Create publication-quality graphs
- Annotate with drawings & text
- Copy-paste to other applications
- Export as EPS, PDF, TIF, and more

Dansk forhandler:



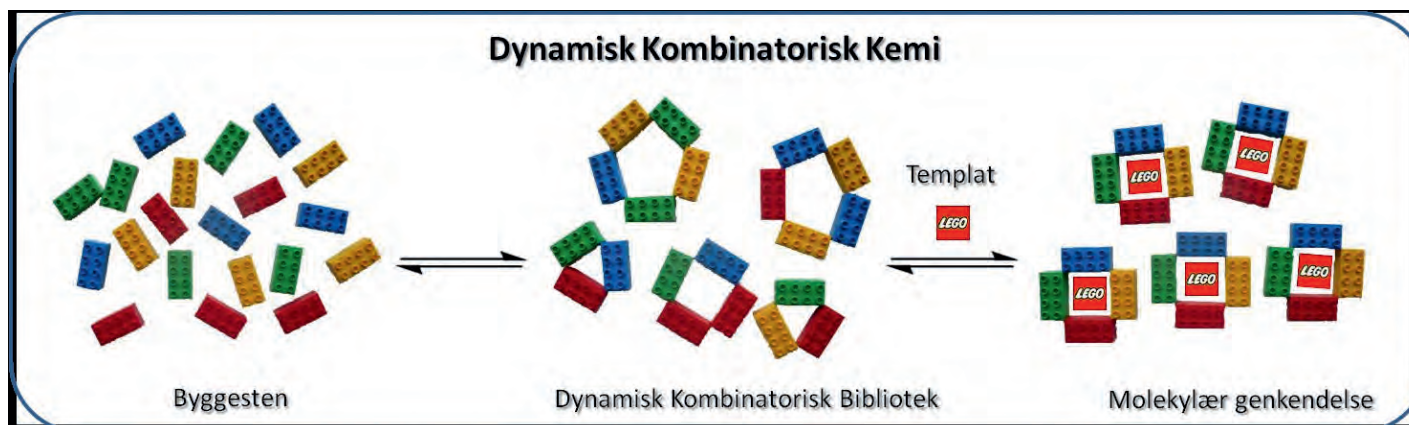
Inno-Max

Tlf: 96 96 11 11
www.innomax.dk

Student Version Also Available

See a multimedia introduction and download a **FREE EVALUATION COPY** at: www.originlab.com

Origin is a registered trademark of OriginLab Corporation.



Figur 2. Dynamisk kombinatorisk kemi. Det dynamisk kombinatoriske biblioteks sammensætning ændres pga. molekylær genkendelse af LEGO-logoet.

(en gul, en rød, en blå og en grøn legoklods) blandes og en serie af forskellige cykliske forbindelser dannes - og de bindinger, der holder legoklodserne sammen, er reversible. Når noget tilsættes, der genkender en af komponenterne, vil denne blive ophobet i blandingen. Det kan sagtens tænkes at en virtuel komponent - altså en komponent, der ikke var til stede i det dynamisk kombinatoriske bibliotek, inden templatens blev tilsat - genkendes og ophobes. Det er tilfældet i figur 2, og det er i figuren illustreret ved de forskellige farvesammensætninger af de makrocycliske forbindelser.

Boks 1 Le Châteliers princip [4]

Le Châteliers princip, i kemien en regel, fremsat i 1884 af den franske kemiker H. L. Le Châtelier, der siger, at en kemisk ligevægt ved indgreb udefra vil forskydes således, at virkningen af indgrebet formindskes mest muligt.

Templatens, det der genkendes, er et centralt element i dynamisk kombinatorisk kemi. I et dynamisk kombinatorisk eksperiment opnås først og fremmest at finde en ny receptor til den templat, man anvender. Templatens kan være et hvilket som helst mole-

kyle eller ion, f.eks. et lægemiddel, et sprængstof, et protein, en DNA-streng, en Na^+ -ion eller hvad man nu engang ønsker at genkende.

Tre ting på en gang

Når man benytter dynamisk kombinatorisk kemi, opnår man tre ting på en gang:

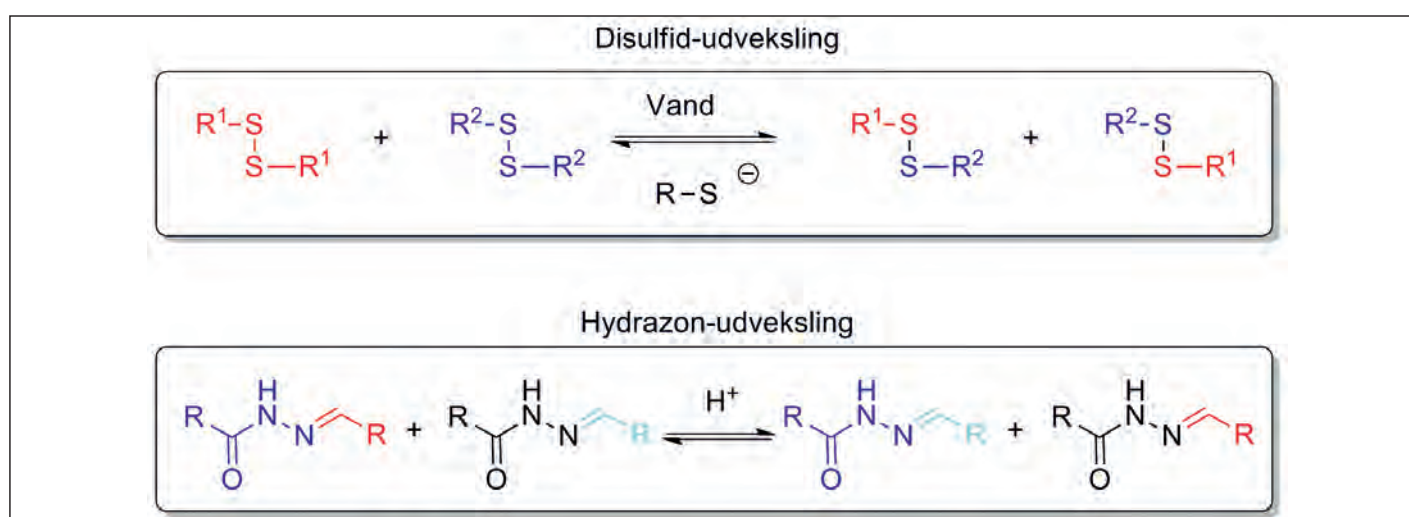
- 1: Identifikation af den receptor i blandingen der er stærkest.
- 2: Ophobning af den ønskede receptor i blandingen (pga. stabilisering via molekylær genkendelse).
- 3: Der udvikles en syntesevej til receptoren.

Det er præcis denne tilgang til opdagelsesprocessen, der henleder opmærksomheden på den måde evolutionen tænkes at fungere. Hvor udvælgelsen i biologiske systemer sker på baggrund af en funktion, mens det i dynamisk kombinatorisk kemi er den stærkeste receptor, der overlever.

Reversibel kemi

For at foretage et dynamisk kombinatorisk eksperiment skal der først vælges en type af reversibel kemi. Der findes en hel stribe af forskellige reaktionstyper beskrevet, men to af de reversible reaktioner, der er studeret mest, er disulfid-udveksling og hydrazone-udveksling (figur 3) [5].

Begge disse reaktioner udmærker sig ved at være reversible ved stuetemperatur og i øvrigt ved ret milde betingelser. ▶



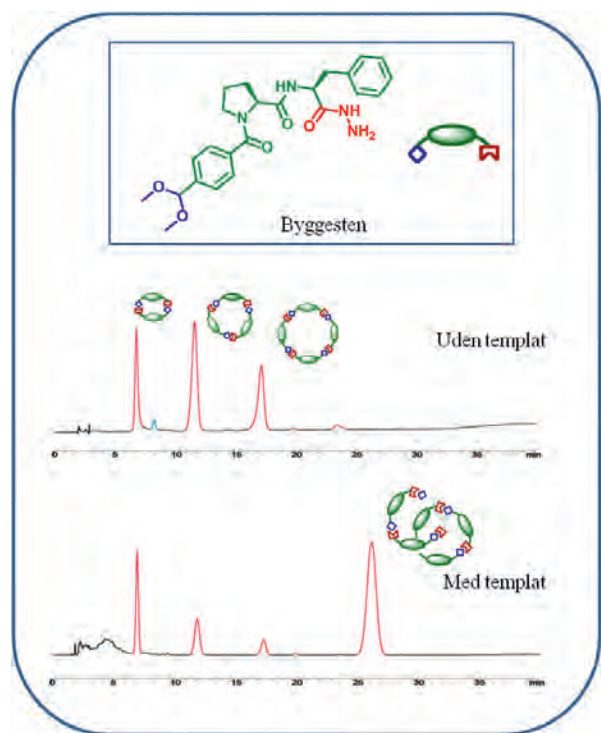
Figur 3. Reversible reaktioner. Øverst: disulfid-udveksling. Nederst: hydrazone-udveksling.

HPLC og GC udstyr fra Young Lin

- mere end 20 års erfaring

- smart, kompakt design
- enestående pålidelighed
- YL-Clarity software
- let at installere og bruge
- høj kvalitet til rimelige priser





Figur 4. Struktur af en byggesten til hydrazon-baseret dynamisk kombinatorisk kemi, samt HPLC-analyse af et dynamisk kombinatorisk eksperiment. En serie af makrocyclyler er blevet dannet – øverst uden templat og nederst med templat (acetylcholin). En ny komponent er til stede i det nederste HPLC-kromatogram. Den nye komponent viser sig at være en dimer-af-trimerer, altså en catenan.

Ydermere kan ændring i pH låse den reversible kemi. Det er vigtigt, da det gør det muligt at isolere de stoffer, der er blevet ophobet i det dynamisk kombinatoriske bibliotek. De dannede forbindelser med hydrazoner og disulfider er rimeligt stabile molekyler og dermed isolerbare, hvilket naturligvis også er et vigtigt element.

Et dynamisk kombinatorisk bibliotek

Et godt eksempel på hvordan dynamisk kombinatorisk kemi virker ses i figur 4. En byggesten, der er udstyret med et hydrazid (rød) og et acetalbeskyttet aldehyd (blå) (de to funktionelle grupper, der påkræves for at danne en hydrazon), bruges til det dynamisk kombinatoriske eksperiment. Ved behandling med en smule syre dannes hydrazoner, og en ligevægt indstilles (figur 4, øverst). Denne ligevægtsblanding udsættes så for en templat, i dette tilfælde neurotransmitteren acetylcholin, og en ny komponent bliver den dominerende i blandingen (figur 4, nederst) [6].

I figur 4 ses det, at et molekyle, der består af to cykliske trimerer, der sidder sammen som to hønseringe, også kendt som en catenan, er blevet ophobet i det dynamisk kombinatoriske bibliotek. Den kan isoleres i næsten 70% udbytte vha. præparativ HPLC. Analyse af komplekset mellem catenananen og acetylcholin viser, at kompleksdannelsen primært skyldes ion-dipol-interaktioner mellem den ladede ammonium-ion (acetylcholin) og amid-carbonylgrupperne i catenananen. Bindingsstyrken er omkring $3 \cdot 10^6 \text{ M}^{-1}$, hvilket er usædvanlig stærk for en kunstig receptor.

Hvordan ser fremtiden ud?

Den nærmeste fremtid for dynamisk kombinatorisk kemi vil

formentlig blive præget af nye typer af reversibel kemi, der er forenelig med biologiske systemer i vandig opløsning. Som det ser ud netop nu, er det næsten kun den reversible disulfidkemi, der er kompatibel med biologiske systemer (kemien er reversibel ved fysiologisk pH) ved milde betingelser. Denne udfordring har vi taget på os i min forskningsgruppe på Københavns Universitet, og vi udvikler såvel diselenid- som thiosemicarbazon-baseret dynamisk kombinatorisk kemi. Ved implementering og studier af disse reaktioner forventer vi at opdage nye receptorer for små molekyler.

Drømmen om at kunne genkende ethvert molekyle vha. dynamisk kombinatorisk kemi lever i bedste velgående [7]. Dynamisk kombinatorisk kemi vil, i hvert fald på den korte bane, mest finde anvendelse som et værktøj til at opdage nye ukonventionelle gæst-vært-komplekser og dermed udbygge forståelsen af de ikke-kovalente vekselvirkninger, der bestemmer deres dannelse. Så kan forståelsen føre til design af mere komplekse gæst-vært-systemer. Det kan være lægemidler (der typisk er baseret på vekselvirkninger mellem en gæst til en protein-vært), eksplosiver (der kan detekteres vha. en syntetisk vært) eller komponenter til molekulære maskiner (som kan baseres på gæst-vært-komplekser).

Dynamisk kombinatorisk kemi er stadig et godt stykke fra at kunne anvendes som konventionel kombinatorisk kemi i f.eks. high-throughput screening. Faktisk skal dynamisk kombinatorisk kemi nok ikke ses som en konkurrent til konventionel kombinatorisk kemi, men nærmere som et komplement.

Taksigelser

Jeg vil først og fremmest gerne takke de modige studerende, der har hjulpet mig i gang på Kemisk Institut, Københavns Universitet: Helle Ø. Nielsen, Richard A. Peck, Caralee Nelson, Sanna L. Diemer, Denis Trpceviski, Dennis Larsen, Frederik P. W. Winblad, Bjarne E. Nielsen, Micke Lisbjerg, Shubham Agarwal og Kristina Turgeneva. Dernæst vil jeg gerne takke FNU for støtte til mit postdoc-ophold i Cambridge (UK) og for et Stenostipendium til at fortsætte mit arbejde på KIKU. Jeg vil ligeledes gerne takke Lundbeckfonden for deres yderst gavmilde støtte i form af et Junior Group Leader Fellowship. Til sidst vil jeg gerne takke lektor Jørn B. Christensen og professor Mogens B. Nielsen for deres fantastiske støtte.

E-mail-adresse

Michael Pittelkow: pittel@kiku.dk

Litteraturhenvisninger:

1. Binding Affinities of Host-Guest, Protein-Ligand, and Protein-Transition-State Complexes. K. N. Houk, A. G. Leach, S. P. Kim, X. Zhang, *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2003, 42, 4872–4897.
2. Dynamic Combinatorial Chemistry. P. T. Corbett, J. Leclaire, L. Vial, K. R. West, J.-L. Wietor, J. K. M. Sanders, S. Otto, *Chem. Rev.*, 2006, 106, 3652–3711.
3. Dynamic Combinatorial Chemistry. J.-M. Lehn, A. V. Eliseev, *Science*, 2001, 291, 2331–2332.
4. Taget fra Den Store Danske Encyklopædi.
5. Dynamic Combinatorial Chemistry. Editors: J. N. H. Reek, S. Otto, 2010, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co., ISBN: 9783527321223.
6. Amplification of Acetylcholine-Binding Catenanes from Dynamic Combinatorial Libraries. R. T. S. Lam, A. M. Belenguer, S. L. Roberts, C. Naumann, T. Jarrosson, S. Otto, J. K. M. Sanders, *Science*, 2005, 308, 667–669.
7. Dynamic combinatorial chemistry: on the road to fulfilling the promise. S. Ladame, *Org. Biomol. Chem.*, 2008, 6, 219–226.