

Kemo- genomik:

Receptoren set fra lægemiddelstoffets synspunkt

I moderne lægemiddeludvikling screener man typisk store biblioteker med tusindvis af stoffer, og efter flere års søgen finder man et stof, der er egnet til klinisk afprøvning. En ny metode, kemogenomik, opdager hurtigt potentielle kandidater. Her identificerer man kemiske grundstrukturer, som kan passe ind i bindingslommerne på mange forskellige receptorer.

Af David E. Gloriam, Petrine Wellendorph, Lars D. Johansen, Daniel Sejer Pedersen og Hans Bräuner-Osborne.

I jagten på nye lægemiddelstoffer forsøger forskere ofte at forudsige, hvilke kemiske stoffer der binder sig til netop den receptor, som de ønsker at påvirke, fordi receptoren er involveret i en bestemt sygdom og derfor er et potentielt mål for nye lægemidler. Normalt tager forudsigelserne udgangspunkt i kendte lægemiddelstoffer med virkning på beslægtede receptorer, hvilket sker ud fra en formodning om, at beslægtede receptorer binder beslægtede stoffer.

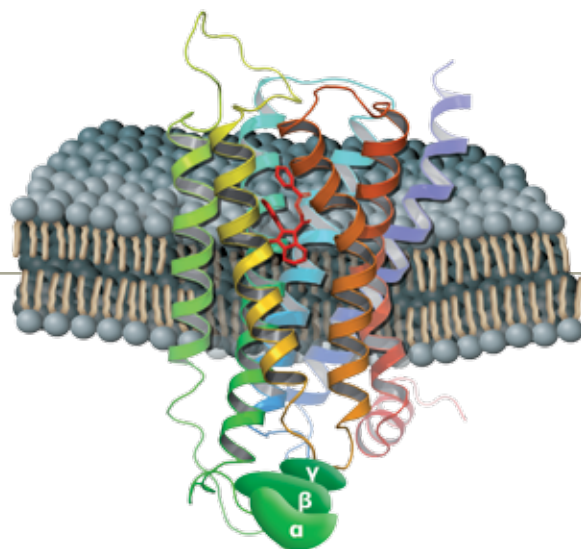
Imidlertid kan slægtskabet mellem receptorer defineres på flere forskellige måder, hvilket kan føre til meget forskellige resultater. Fx vil en farmakolog sige, at receptorer, der binder samme naturlige signalstof, er beslægtede, mens en bioinformatiker vil vurdere slægtskabet mellem receptorer ud fra ligheder mellem receptorenes aminosyresekvenser, som er genetisk bestemte og afstedkommet af den evolutionære udvikling. Desværre er ingen af de to tilgange særligt brugbare inden for medicinalkemi, fordi man normalt benytter syntetisk fremstillede stoffer frem for naturstoffer. Metoderne er i særdeleshed uegnede, når det gælder stoffer, der binder til andre steder i receptoren end de naturligt forekommende signalstoffer.

G-PROTEINKOBLEDE RECEPTORER ER CELLERNES OMSTILLINGSBORD

G-proteinkoblede receptorer er placeret i cellemembraner, hvor de udgør omstillingsbordet mellem det ydre miljø i kroppen og cellernes indre.

G-proteiner aktiveres i et væld af situationer: Når øjet reagerer på lys, når smagen breder sig på tungen, når næsens duftceller indsnuser lugte, når tankerne opstår i hjernens nerveceller, når hjertet slår, og når musklerne spændes eller slappes. Samtidig er G-proteiner involveret i mange sygdomme og dermed et centralt mål for lægemidler.

G-proteinkoblede receptorer har alle en fælles tredimensionel opbygning, som består af syv alfahelixkæder, der tilsammen danner en bindingslomme i cellemembranen.



Figuren viser den tredimensionelle struktur af en G-proteinkoblet receptor, som sidder i cellemembranen. Receptoren har syv transmembrane kæder, kaldet alfahelixer, som er vist med forskellige farver. Bindingslommen sidder en trediedel nede i receptoren, hvori stoffet 2-phenyl-indol (rød) er indsat. Når et naturligt signalstof binder til lommen, aktiveres et G-protein (grønt) på undersiden af membranen.

En ny metode, kemogenomik, kan med succes bruges på syntetiske stoffer. Her kombinerer man de kemiske strukturer af farmakologisk aktive stoffer med genomiske data; typisk receptorproteiners aminosyresekvenser. Kemogenomik adskiller sig fra bioinformatik ved specifikt at fokusere på den del af receptoren, som binder til stofferne – bindingslommen – frem for hele receptoren.

På den måde ser vi receptoren ud fra lægemiddelstoffets synspunkt, og det giver mere præcise forudsigelser af, hvilke type stoffer som binder til hvilke receptorer. Dette er særlig relevant for genetisk fjernt beslægtede receptorer, fordi kemogenomik er den eneste fremgangsmåde, som kan forklare og forudsige, hvorfor nogle stoffer binder til mange typer receptorer, som ikke umiddelbart er beslægtede.

Kemiske hovednøgler

Moderne lægemiddeludvikling starter ofte med, at forskere tester titusinder af tilfældigt udvalgte kemiske stoffer. Ofte tager det flere år før man finder et stof med reelt potentiale til klinisk afprøvning. Kemogenomiske forudsigelser kan bruges til at speede processen op ved at indsnævre stofbibliotekerne til en størrelse på få hundrede stoffer, som har langt større chance for at være aktive end de tilfældigt udvalgte molekyler i store stofbiblioteker.

Det gælder især for biblioteker baseret på små kemiske molekyler, som er kendt for at binde til mange forskellige receptorer, en slags kemiske hovednøgler. Her anvendes kemogenomik allerede med stor succes. Traditionelt er kemiske hovednøgler blevet testet mere eller mindre tilfældigt på forskellige receptorer, uden at man på forhånd havde en klar formodning om, at de ville kunne binde til den givne målreceptor. Med kemogenomik er vejen banet for at målrette udvælgelsen af kandidatstoffer og på den måde skyde genvej i lægemiddeludviklingen.

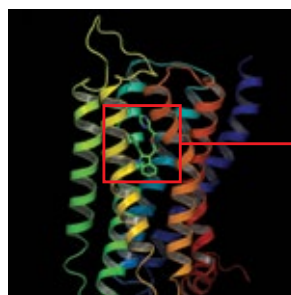
Mønstre i receptors bindingslommer

Kemogenomik er baseret på den hypotese, at receptorer, der binder de samme hovednøgler, har beslægtede bindingslommer med hensyn til kemiske egenskaber som form og ladning. For familier af receptorer, som har den samme overordnede tredimensionelle struktur, er det muligt direkte at sammenligne de aminosyrer, der danner bindingslommen i de forskellige undertyper, som binder de samme kemiske hovednøgler.

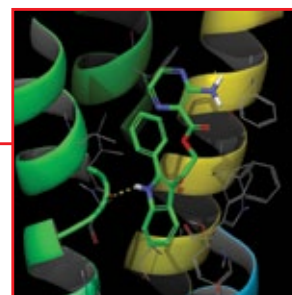
Ud fra denne viden kan forskere identificere aminosyremønstre, som er ansvarlige for binding af de forskellige dele af en kemisk hovednøgle. Et eksempel herpå er G-proteinkoblede receptorer, som tilhører den klasse af proteiner, som oftest udgør målet for lægemiddelstoffer.

Ved at sammenholde layoutet for bindingslommerne for hver af de mange G-proteinkoblede receptorer med hvilke kemiske hovednøgler, der kan binde til hvilke receptorer, opnår man efterhånden et billede af, hvilket layout der fører til binding af hvilke typer stoffer.

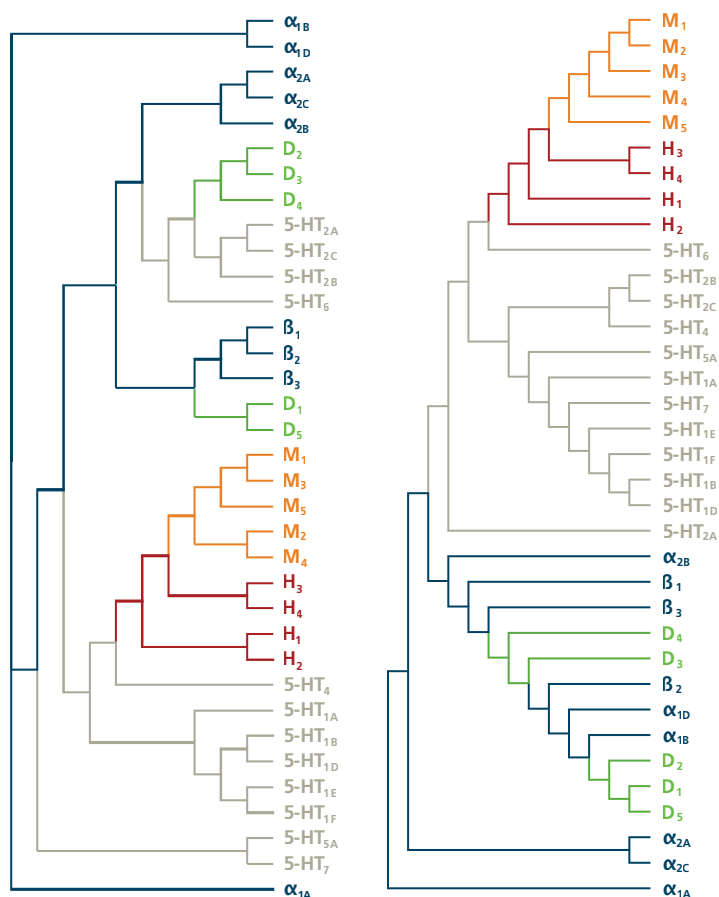
Når forskere står med en ny receptor, kan man nu se på de aminosyrer, som danner bindingslommen, og forudsige



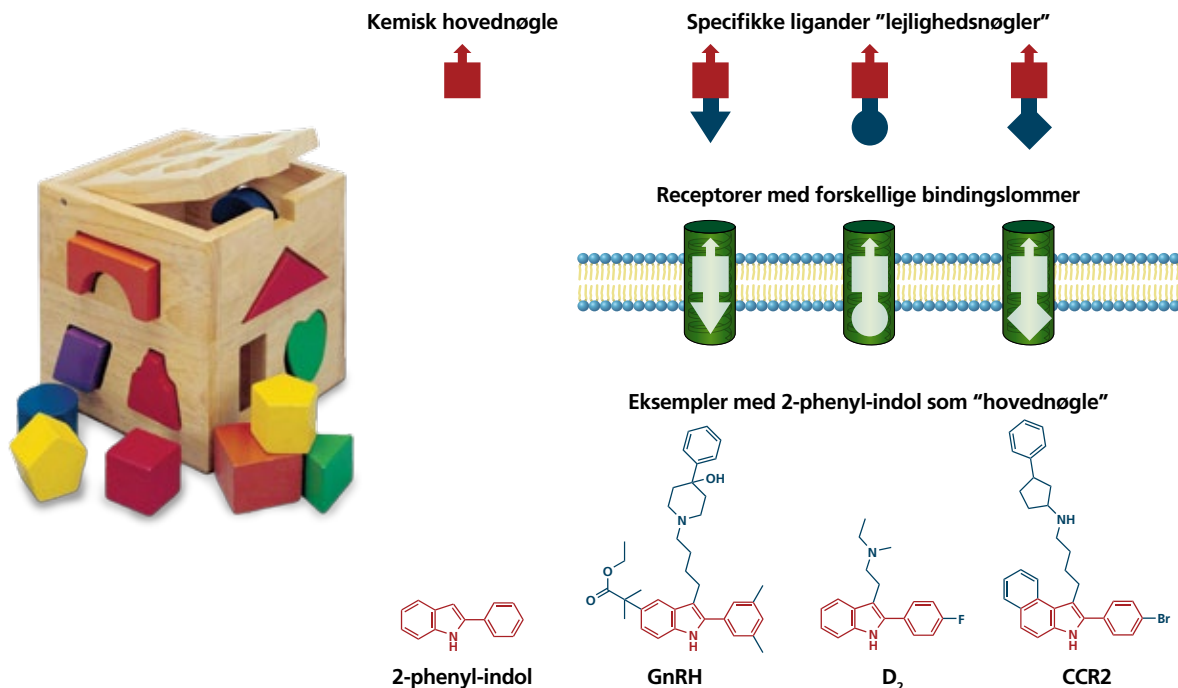
Bioinformatisk evolutionært slægtskab



Kemogenomisk bindingslomme-slægtskab



Slægtskab mellem receptorer kan analyseres bioinformatisk (tv.) og kemogenomisk (th). Ved en bioinformatisk analyse sammenlignes hele aminosyresekvensen i receptorproteinerne, mens man ved kemogenomisk analyse kun sammenligner sekvensen af de aminosyrer, som danner bindingslommen, hvortil et potentielt lægemiddelstof skal binde. Disse analyser fører til forskellige fylogenetiske træer, som ud fra hvert sit udgangspunkt beskriver, hvilke undertyper af en receptorfamilie, der er tættest beslægtet; jo kortere forgreninger, jo tættere slægtskab. I begge træer vises analyser af en række G-proteinkoblede receptorer, der binder signalstofferne adrenalin (blå), dopamin (grøn), serotonin (grå), acetylcholin (orange) og histamin (rød).



En kemisk hovednøgle har en grundstruktur (rød), som går igen i forskellige stoffer, der binder til forskellige receptorer. De kemiske modifikationer (blå) gør stofferne til specifikke lejlighedsnøgler, som hver især kun passer til en bestemt bindingslomme. Nederst er hovednøglen 2-phenyl-indol vist sammen med tre lejlighedsnøgler, som binder specifikt til tre forskellige receptorer: Gonadotropin releasing hormone-receptoren (GnRH), D₂ dopamin-receptoren og chemokin CCR2-receptoren.

hvilken type kemisk hovednøgle, der passer i lommen. De kemiske hovednøgler har en fælles grundstruktur, som genkendes af mange receptorer, men ved at tilføje sidekæder med variabel struktur kan man ofte ændre stofferne til kun at passe i netop den målreceptor, som man vil påvirke med et lægemiddelstof. Ved kemisk modifikation kan man med andre ord lave hovednøglerne om til lejlighedsnøgler, som kun påvirker den ønskede receptor. Sådanne specifikke lægemiddelstoffer er fordelagtige, fordi de som regel medfører færre bivirkninger end uspecifikke stoffer.

Kemogenomik i praksis

For fem år siden identificerede vi en ny G-proteinkoblet receptor, kaldet GPRC6A. Receptorens funktion er stadig ukendt, og for at afkode funktionen er det nødvendigt at udvikle stoffer, der selektivt kan hæmme receptoren. Ved at sammenholde aminosyresekvensmønstrene i bindingslommen for GPRC6A med kendte kemiske hovednøgler, fandt vi en match i form af en kemisk struktur, som kaldes 2-phenyl-indol.

På basis af en kemogenomisk forudsigelse købte vi nu et mindre bibliotek med 32 stoffer med et fælles 2-phenyl-indol-grundskelet, men med forskellige sidekæder. Stoffbiblioteket blev testet på vores receptor GPRC6A, og ligeledes på to andre receptorer, som også binder hovednøglen. På den

måde fandt vi otte stoffer, der alle virker selektivt på vor receptor, men ikke på de beslægtede receptorer på grund af forskelle i sidekæderne. To af stofferne er farmakologisk interessante og er nu genstand for fortsat forskning.

De identificerede stoffer hæmmer GPRC6A-receptorens funktion og er de første stoffer med en specifik effekt på denne receptor. Stofferne er derfor vigtige modelstoffer, som vi nu kan benytte til at undersøge receptorens funktion ved at slukke for den og dermed vurdere dens potentiale som mål for udviklingen af nye lægemidler.

Resultatet er et gennembrud for det kemogenomiske forskningsområde, fordi man ikke tidligere har kunnet finde kemiske hovednøgler, som kan anvendes på den gruppe af receptorer, som GPRC6A tilhører. Dette skyldes, at GPRC6A er meget fjern beslægtet med de receptorer, som 2-phenyl-indol normalt binder til. Hvis vi havde benyttet de klassiske farmakologiske eller bioinformatiske metoder, havde vi aldrig opdaget, at GPRC6A-receptoren kan hæmmes af 2-phenyl-indol-stoffer.

Kemogenomik udmærker sig således ved at være meget tidsbesparende, fordi de nye stoffer blev fundet på kort tid ved blot at teste nogle få dusin stoffer. Dét illustrerer tydeligt, hvor effektivt det kemogenomiske koncept er inden for moderne medicinsk kemi.

Ph.d. David E. Gloriam er postdoc på Institut for Medicinsk kemi
 Ph.d. Petrine Wellendorph er lektor på Institut for Medicinsk kemi
 Ph.d. Lars D. Johansen er forsker på ChemoMetec A/S
 Ph.d. Daniel Sejer Pedersen er postdoc på Institut for Medicinsk kemi
 Dr. pharm. Hans Bräuner-Osborne er professor på Institut for Medicinsk kemi