

# Molekulare Bioinformatik in der Pharmaforschung

## Rezeptoridentifizierung und Komplexvorhersage im Computer

Die Methoden der molekularen Bioinformatik sind aus allen Phasen der präklinischen pharmazeutischen Forschung nicht mehr wegzudenken. Rechnergestützte Verfahren helfen, die Mechanismen molekularer Erkennung besser zu verstehen, und unterstützen die Suche nach neuen Wirkstoffen.

Wissen über die wechselseitige Erkennung zellulärer Moleküle ist der Schlüssel zum Verständnis biologischer Prozesse. Die spezifische Wechselwirkung zwischen einem Rezeptor und einem Liganden ist Voraussetzung dafür, dass Enzyme wirken, Signale übertragen und Stoffe transportiert werden. Für die Pharmaforschung sind besonders solche Rezeptor-Ligand-Interaktionen interessant, die eine Schlüsselrolle bei der Entstehung schwerer Krankheiten wie Aids oder Krebs spielen. Um wirksame niedermolekulare Substanzen zu entwickeln, die Wirkstoffkandidaten für neue Arzneimittel sein können (sog. Leitstrukturen), wird eine möglichst präzise Beschreibung dieser Interaktionen auf atomarer Ebene benötigt.

Wie Abbildung 1 zeigt, lässt sich die präklinische Wirkstoffentwicklung in mehrere Abschnitte einteilen. Der Identifizierung und Bewertung möglicher Rezeptoren folgt die Suche nach einer Leitstruktur und deren Optimierung. Noch vor wenigen Jahren wurden hierfür fast ausschließlich aufwendige Experimente durchgeführt. Heute ist es möglich, Strukturen und Eigenschaften von Rezeptoren und Liganden im Computer zu

berechnen, was oftmals schneller, billiger und einfacher ist als die Durchführung von Experimenten. Wichtige und zuverlässige rechnergestützte Methoden kommen dabei aus dem Bereich der molekularen Bioinformatik. Erst der Einsatz dieser Methoden hat es ermöglicht, die großen Mengen experimentell erzeugter Daten über die atomare Struktur und die Energetik von Rezeptor-Ligand-Komplexen effizient zu nutzen.

### Identifizierung und Analyse der Rezeptorstruktur

Die zunehmende Leistungsfähigkeit von Computern und die Entwicklung neuer Algorithmen haben dazu beigetragen, dass sich die molekulare Bioinformatik in allen Bereichen der präklinischen Wirkstoffentwicklung etablieren konnte. Rechnergestützte Verfahren erheben dabei nicht den Anspruch, experimentelle Methoden zu ersetzen, sondern möchten sie ergänzen. Beispiele dafür sind Methoden zur Identifizierung und Bewertung der Rezeptorstruktur, bei denen experimentelle Daten meist der Ausgangspunkt rechnergestützter Analysen sind. Allerdings können in Fällen, in



Prof. Dr. Holger Gohlke, Arbeitsgruppenleiter, Universität Frankfurt am Main



Dipl.-Bioinf. Sebastian Radestock, wissenschaftlicher Mitarbeiter, Universität Frankfurt am Main

denen keine experimentelle Strukturbestimmung möglich ist, Rezeptorstrukturen *in silico* vorhergesagt werden. Hierbei kommen Strukturvorhersage-Verfahren wie die Homologie-Modellierung [1] oder das sog. Threading zum Einsatz.

Ist die Struktur eines Rezeptors bekannt, kann sie dazu benutzt werden, Aussagen über dessen pharmakologische Relevanz und die Möglichkeit einer erfolgreichen Wirkstoffentwicklung zu treffen. Die automatische Klassifizierung von Strukturen in Familien erlaubt eine Vorhersage der Funktion des jeweiligen Rezeptors. Weitere funktionelle und strukturelle Aspekte werden untersucht, indem der Computer zur Identifizierung potentieller Ligand-Bindestellen eingesetzt wird. Ligand-Bindestellen haben meist die Form einer Tasche in der Rezeptor-Oberfläche. Hydrophobe Teilbereiche der Tasche tragen dabei zu einer hohen Affinität des Liganden gegenüber seinem Rezeptor bei. Polare oder geladene Positionen auf der Rezeptoroberfläche sind darüber hinaus für die Spezifität der Bindung von Bedeutung.

Neben der Struktur- und Funktionsvorhersage gewinnt neuerdings auch die Modellierung dynamischer Eigenschaften der Struktur an Bedeutung für die Wirkstoffentwicklung. Weitverbreitete Ansätze zur Vorhersage von Rezeptor-Ligand-Konfigurationen (siehe unten) behandeln den Rezeptor bislang als starren Körper. Dies steht im Gegensatz zur inhärenten konformationellen Variabilität der Biomoleküle. Moderne Methoden der molekularen Bioinformatik sollten daher in der Lage sein, die Anpassung der Rezeptorstruktur an einen gebundenen Liganden zu modellieren. Eine sol-

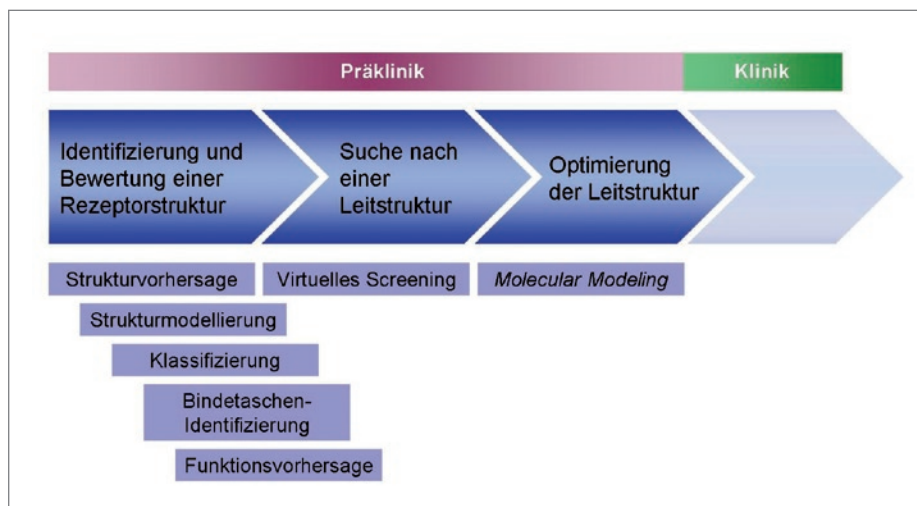


Abb. 1: Die Pipeline für den Wirkstoffentwurf. Methoden der molekularen Bioinformatik spielen in allen Abschnitten der präklinischen Phase eine wichtige Rolle.

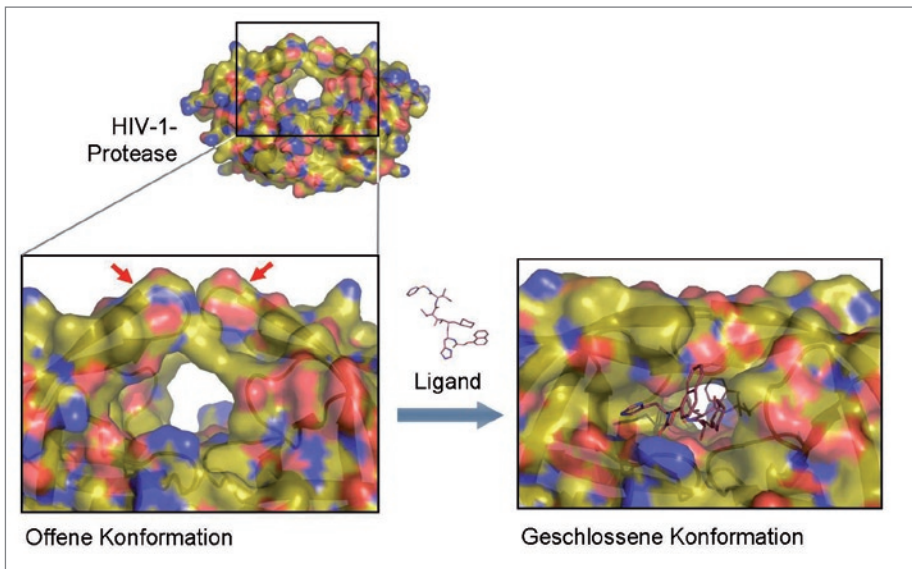


Abb. 2: Konformationelle Variabilität eines Rezeptors am Beispiel der HIV-1-Protease. Im ungebundenen Zustand liegt der Rezeptor in einer offenen Konformation vor (links). Die Bindung des Liganden ist nur möglich, wenn der Rezeptor die geschlossene Konformation annimmt (rechts). Die Modellierung solcher Rezeptorflexibilität im Computer ist Gegenstand der aktuellen Forschung.

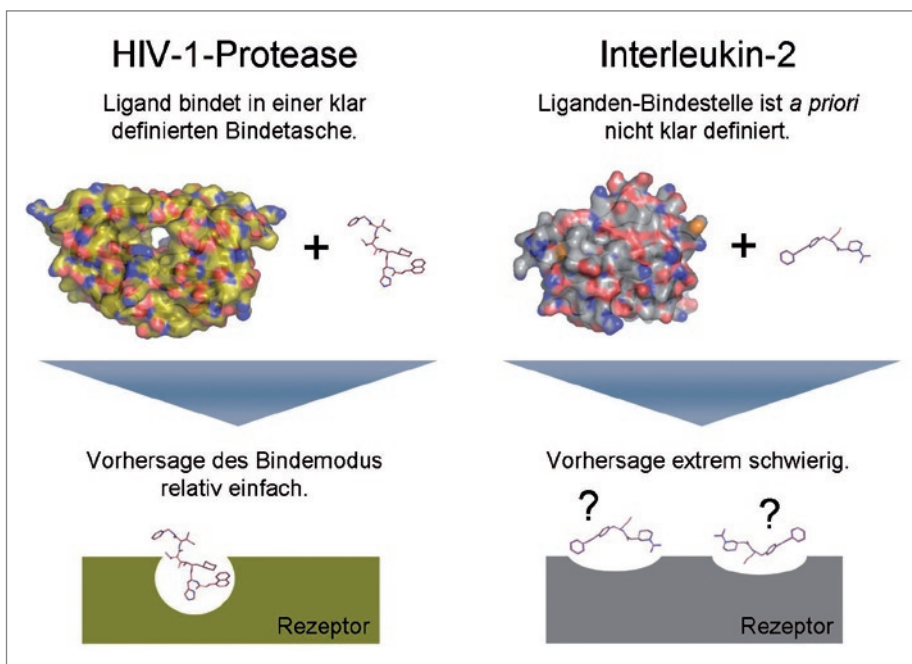


Abb. 3: Im Gegensatz zur Struktur der HIV-1-Protease (links) besitzt die Struktur des Interleukin-2 (rechts) *a priori* keine klar definierte Bindestelle. Es ist schwer vorherzusagen, wo der Ligand tatsächlich bindet.

che konformative Anpassung ist in Abbildung 2 für den Fall der HIV-1-Protease gezeigt. In unserer Arbeitsgruppe wurde kürzlich ein Verfahren zur Modellierung der Rezeptorflexibilität entwickelt, bei dem der Rezeptor in einer reduzierten Form als Netzwerk aus flexiblen und rigiden Bereichen repräsentiert wird [2].

### Vorhersage und Bewertung eines Rezeptor-Ligand-Komplexes

Die Kenntnis der strukturellen Eigenschaften eines Rezeptors wird unmittelbar dazu genutzt, Liganden mit guten Bindungseigenschaften zu finden und die

Konfiguration von Rezeptor-Ligand-Komplexen vorherzusagen. Ein guter Ligand muss eine hohe strukturelle und chemische Komplementarität zur Bindestelle aufweisen. Diese Tatsache nutzt man in der molekularen Bioinformatik in sog. strukturbasierten Verfahren aus.

Ein wichtiger Schritt bei der strukturbasierten Leitstruktur-Suche ist das sog. virtuelle Screening. Der Computer durchsucht dabei eine Moleküldatenbank, indem die potentiellen Liganden flexibel in die Bindetasche des Rezeptors eingepasst und hinsichtlich ihrer zu erwartenden Affinität bewertet werden. Für den letzteren, entscheidenden Schritt

kommen sog. Bewertungsfunktionen zum Einsatz [3]. Moderne Funktionen berücksichtigen die Komplementarität der Oberflächen und chemischen Eigenschaften der Bindungspartner sowie die Rolle entropischer Effekte, die etwa durch Lösemiteleinflüsse entstehen. Als erfolgversprechend haben sich wissensbasierte Bewertungsfunktionen herausgestellt, bei denen Informationen über Wechselwirkungen zwischen Rezeptor und Ligand aus strukturell bekannten Rezeptor-Ligand-Komplexen extrahiert werden. Die DrugScore-Funktion [4], die in unserer Gruppe weiterentwickelt wird, erlaubt die Bewertung von Liganden gegenüber Protein- und RNA-Rezeptoren.

Die zuverlässige Vorhersage der Rezeptor-Ligand-Konfiguration ist für eine akkurate Affinitätsvorhersage von entscheidender Bedeutung. Die Vorhersage ist besonders schwierig, wenn die Rezeptorstruktur eine relativ flexible Bindetasche besitzt. Eine Möglichkeit, die rechnergestützte Vorhersage und Bewertung von Rezeptor-Ligand-Konfigurationen in solchen Fällen zu verbessern, besteht in der Einbeziehung experimenteller Information. In unserer Arbeitsgruppe wurde dazu ein Verfahren entwickelt, das außer der strukturellen Information über

den Rezeptor auch strukturelle und energetische Informationen über bereits bekannte Liganden zur Leitstruktur-Suche verwendet [5].

Bei einem weiteren, ebenfalls in unserer Arbeitsgruppe entwickelten Verfahren werden Daten aus kernmagnetresonanz-spektroskopischen Untersuchungen von Rezeptor-Ligand-Komplexen als Zusatzinformation verwendet. Dies führt besonders dann zu verbesserten Ergebnissen bei der Rezeptor-Ligand-Konfigurationsvorhersage, wenn die Bindetasche des Rezeptors weniger deutlich ausgeprägt ist, wie das häufig bei Protein-Protein-Wechselwirkungsflächen der Fall ist. Abbildung 3 zeigt, weshalb die Wirkstoffentwicklung in diesem Fall schwierig ist: im Gegensatz zur Struktur der HIV-1-Protease besitzt Interleukin-2 nur eine sehr flache Bindestelle, bei der eine klar definierte Bindestasche *a priori* nicht auszumachen ist.

### Ausblick

Der Einsatz rechnergestützter Verfahren im präklinischen Wirkstoffentwurf hat sich bewährt. In einigen Fällen gelingen bereits Struktur- und Affinitätsvorhersagen mit experimenteller Genauigkeit. Dennoch sind weitere Anstrengungen

nötig, um den Einsatzbereich der Verfahren auf schwierige Fälle auszudehnen. Hierzu gehören Rezeptoren mit flexiblen Bindestellen, flache Protein-Protein-Wechselwirkungsflächen oder Nukleinsäuren. Wir sind davon überzeugt, dass Fortschritte möglich werden, wenn neue Verfahren für die Modellierung der Rezeptordynamik entwickelt werden und die Verknüpfung zwischen rechnergestützten und experimentellen Verfahren noch weiter zunimmt.

### Referenzen

- [1] Evers A. *et al.*: J. Mol. Biol. 334, 327–345 (2003)
- [2] Ahmed A. und Gohlke H.: Proteins 63, 1038–1051 (2006)
- [3] Gohlke H. und Klebe G.: Angew. Chem. 114, 2764–2798 (2002)
- [4] Gohlke H. *et al.*: J. Mol. Biol. 295, 337–356 (2000)
- [5] Radestock S. *et al.*: J. Med. Chem. 48, 5466–5479 (2005)

### Kontakt:

**Dipl.-Bioinf. Sebastian Radestock**  
**Prof. Dr. Holger Gohlke**  
Fachbereich Biowissenschaften  
Universität Frankfurt am Main  
gohlke@bioinformatik.uni-frankfurt.de