

Von der molekularen Erkennung zum Design neuer Wirkstoffe

Markus Tröger, SS 15

Gliederung

1	Molekulare Erkennung von Peptiden.....	1
2	Molekulare Erkennung als Schlüssel zur Selektivität	2
3	Einfluss des Lösemittels auf die Komplexbildung	2
4	Antibiotika-Resistenz.....	3
5	Synthetisches Vancomycin.....	5

Einstieg: Jeder trägt unzählige Bakterien auf seiner Haut. Ein gesunder Körper hält den potentiellen Angreifer mühelos in Schach. Doch sobald Krankheiten das Immun-System schwächen, schlägt der Feind erbarmungslos zu und kann lebensbedrohlich werden. Lange Zeit schien es, als habe der Mensch ein Wundermittel dagegen gefunden: Antibiotika.

Vor allem Glycopeptid-Antibiotika wie das Antibiotikum Vancomycin galten lange als letzte Waffe gegen die tödlichen Keime. Doch selbst diese letzte Verteidigungslinie wird von Keimen überwunden. Es kommt vermehrt zu Ansteckung mit Antibiotika resistenten Keimen, sog. Super-Bakterien. Von 400 Menschen, die sich jedes Jahr mit Krankenhaus-Keimen infizieren, sterben nach offiziellen Zahlen bis zu 15.

1 Molekulare Erkennung von Peptiden

Die molekulare Erkennung bestimmter Peptid-Strukturen spielt sowohl beim Auftreten von Antibiotika-Resistenzen als auch bei einer Vielzahl biochemischer Prozesse eine wichtige Rolle (Peptide als Enzyme, Hormone oder Ansatzpunkte für Regulations-Prozesse). Viele biologische, lebenswichtige Prozesse wie beispielsweise die Immun-Abwehr oder die Stoffwechsel-Regulation basieren auf selektiven Wechselwirkungen von Hormonen/exogenen Wirkstoffen mit ihren jeweiligen körpereigenen Rezeptor-Systemen.

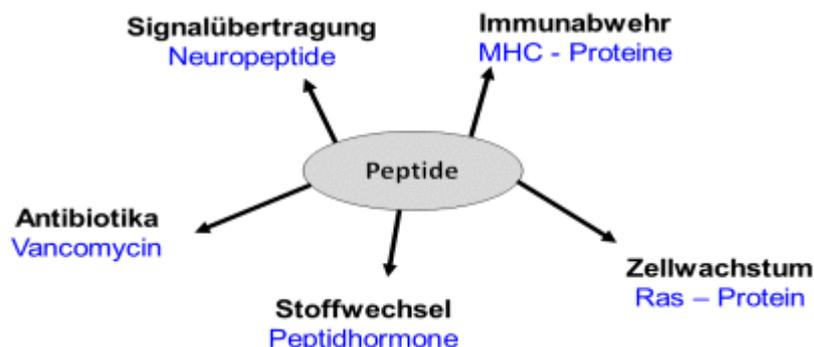


Abb. 1: molekulare Erkennung von Peptid-Strukturen bei biochemischen Prozessen [1]

Ein Ziel ist daher, maßgeschneiderte, künstliche Rezeptoren, welche die Wirkungsweise von bioaktiven Substanzen beeinflussen, zu entwickeln, um schlussendlich zelluläre Prozesse zu beeinflussen und steuern zu können. Dies könnte zu neuartigen medizinischen Therapie-Ansätzen führen.

2 Molekulare Erkennung als Schlüssel zur Selektivität

Für die Realisierung solcher künstlichen Rezeptoren ist ein genaues Verständnis der Prinzipien der molekularen Erkennung unabdingbar: Wie erkennen sich zwei Moleküle auf molekularer Ebene und treten selektiv miteinander in Wechselwirkung? Um zu gewährleisten, dass chemische Reaktionen im Körper gezielt und nur an spezifischen Substraten ablaufen, sind biochemische Vorgänge meist Zweistufen-Prozesse:

- das Substrat wird in einer Bindungs-Tasche gebunden; hierbei verläuft die molekulare Erkennung nach dem Schlüssel-Schloss-Prinzip
- am gebundenen Substrat erfolgt die eigentliche chemische Umsetzung

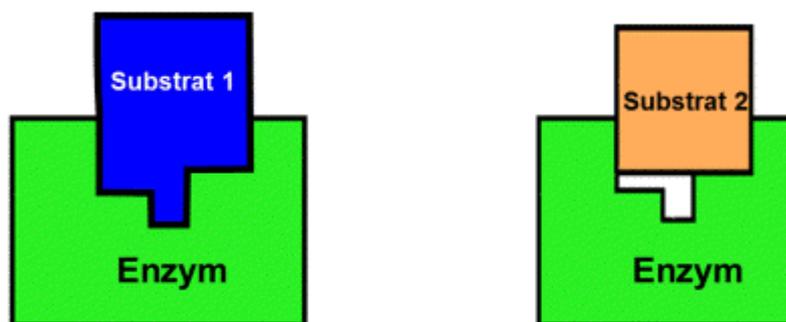


Abb. 2: Schlüssel-Schloss-Prinzip anhand von zwei unterschiedlichen Substraten

Nur wenn das Substrat zur Bindungs-Tasche, wie ein Schlüssel zum Schloss, passt, wird es ausreichend stark gebunden und anschließend umgesetzt. Dafür benötigt man maßgeschneiderte Bindungs-Taschen für das jeweilige, biologisch relevante Substrat, also den passenden „Handschuh“ für das vorliegende Substrat. Die erfolgreiche Komplexierung durch die gezielte Entwicklung einer Bindungs-Tasche, eines chemischen Rezeptors für ein Peptid, ist mit zwei Schwierigkeiten behaftet.

Die erste Schwierigkeit ist die hohe konformative Flexibilität von Peptiden: die Vorhersage der Konformation des Peptids in Lösung wird ab einer Verknüpfung von 2 – 3 Aminosäuren schwierig. Entweder wird ein Knäuel gebildet oder es liegt als langgestreckter Faden vor. Die äußere Form ist jedoch ein entscheidender Faktor für die Passgenauigkeit der Bindungs-Tasche (Schlüssel-Schloss-Prinzip).

3 Einfluss des Lösemittels auf die Komplexierung

Die zweite Schwierigkeit entsteht aufgrund dem noch unzureichendem Verständnis der nichtkovalenten Wechselwirkungen, welche für molekulare Erkennungs-Prozesse von entscheidender Bedeutung sind. Insbesondere die Wasserstoff-Brücken sind aufgrund ihrer Richtungs- und Abstands-Spezifität sehr wichtig, werden aber mit zunehmender Polarität des Lösemittels schwächer. Daher werden neben den Wasserstoff-Brücken ebenso Salz-Brücken und hydrophobe Wechselwirkungen dazugezählt. An dieser Stelle weist die chemische Struktur von Peptiden zusätzliche Vorteile auf. Aufgrund von Amid-Bindungen sowie polaren und unpolaren Seiten-Ketten können eine Vielzahl an nichtkovalenten Wechselwirkungen ausgebildet werden. Insgesamt lässt sich somit auch in Wasser eine ausreichend starke und stabile Komplexierung erreichen.

4 Antibiotika-Resistenz

Die molekulare Erkennung von Peptid-Strukturen spielt ebenso eine wichtige Rolle bei Antibiotika-Resistenzen, wie zum Beispiel beim Vancomycin, einem Glycopeptid-Antibiotika. Dieses blockiert in seiner Wirksamkeit selektiv die terminale Peptid-Sequenz D-Ala-D-Ala eines bakteriellen Glycopeptids und verhindert somit, dass das Bakterium weiter wächst.

Bakterien-Zellwände werden durch die Verknüpfung zweier Peptid-Ketten der Sequenz Ala-Glu-Lys-D-Ala-D-Ala stabilisiert. Die Quer-Vernetzung erfolgt durch die freie Amino-Gruppe einer an der Lysin-Seitenkette gebundenen Pentaglycin-Einheit, welche nukleophil die endständige Amid-Bindung zwischen den beiden D-Alaninen angreift. Anschließend wird die letzte Aminosäure abgespalten und die beiden Peptid-Ketten werden über die Lysin-Seitenkette miteinander vernetzt. Das Vancomycin greift in diesen Prozess ein, indem es die bakterielle Peptid-Sequenz umhüllt und somit die Transamidierung an der endständigen Amid-Bindung verhindert. Es wird folglich keine ausreichende Stabilisierung erreicht und das Bakterium kann nicht weiter wachsen.

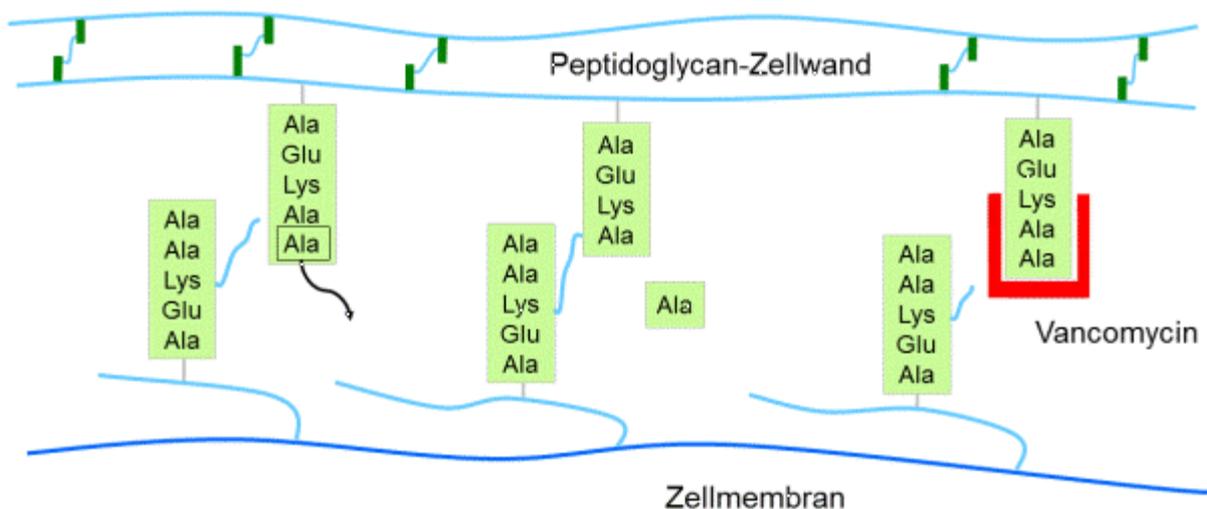


Abb. 3: Transamidierung in Bakterien-Zellwänden und Wirkungsweise von Vancomycin [1]

Die selektive Blockierung wird dadurch erreicht, da das Peptid insbesondere im vorderen Teil perfekt komplementär in eine Art Hohl-Raum des Vancomycin passt („induced fit“). Dort wird eine starke Komplexierung durch die Ausbildung von fünf Wasserstoff-Brücken erreicht. Vor allem die drei Wasserstoff-Brücken zur Carboxylat-Gruppe tragen zur starken Bindung bei, da diese ionischen Charakter haben (zusätzliche elektrostatische Wechselwirkungen). Ebenso verstärkt die unpolare „Mikroumgebung“ durch die zahlreichen aromatischen Reste des Vancomycin die Stärke der Wasserstoff-Brücken. Insgesamt handelt es sich somit bei der Komplex-Bildung zwischen Vancomycin und der Dipeptid-Sequenz D-Ala-D-Ala um ein Parade-Beispiel für einen selektiven molekularen Erkennungsprozess.

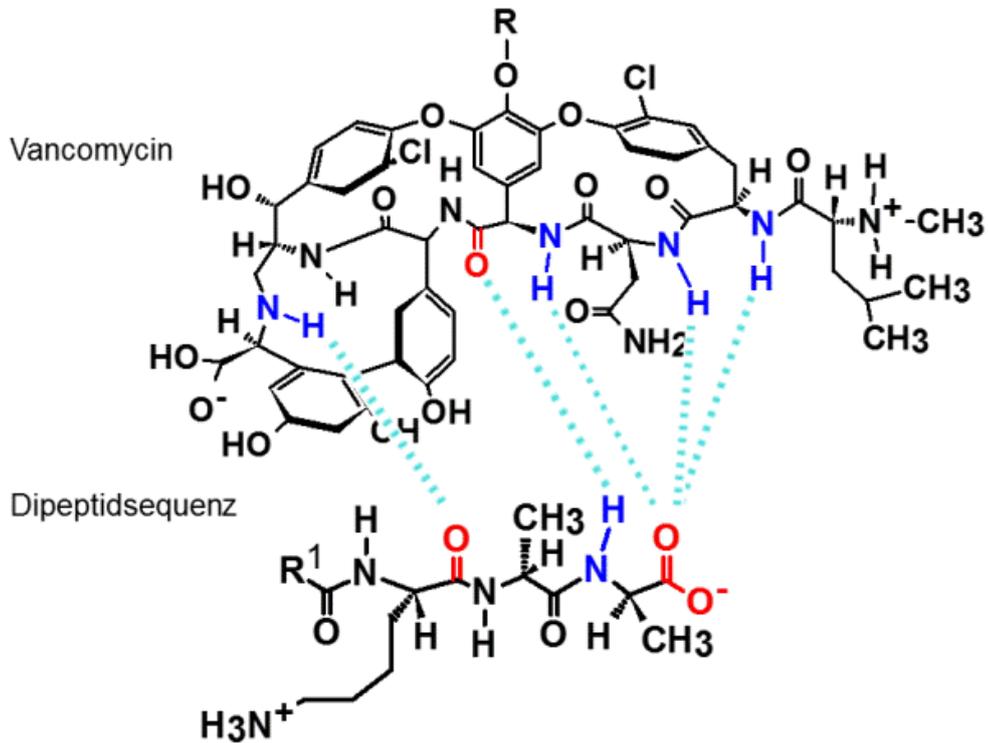


Abb. 4: Wasserstoff-Brücken zwischen Dipeptid-Sequenz und Vancomycin

In letzter Zeit sind jedoch auch bei dieser Wirkstoff-Klasse der Glycopeptid-Antibiotika Resistenzen aufgetreten. Diese beruhen auf einer Veränderung auf molekularer Ebene: In den Bakterien wird die Sequenz D-Ala-D-Ala durch D-Ala-D-Lac ersetzt und für die Transamidierung verwendet. Die Ersetzung einer Amino-Gruppe durch ein Sauerstoff-Atom hat dann für den molekularen Erkennungs-Prozess weitreichende Auswirkungen. Es wird eine attraktive Wasserstoff-Brücke durch eine abstoßende Dipol-Wechselwirkung ersetzt, was wiederum die Bindungs-Affinität und somit die Komplexierung stark reduziert. Das Depsipeptid wird im Vergleich zum Dipeptid um den Faktor 1.000 schlechter gebunden und somit das Bakterien-Wachstum nicht mehr ausreichend blockiert.

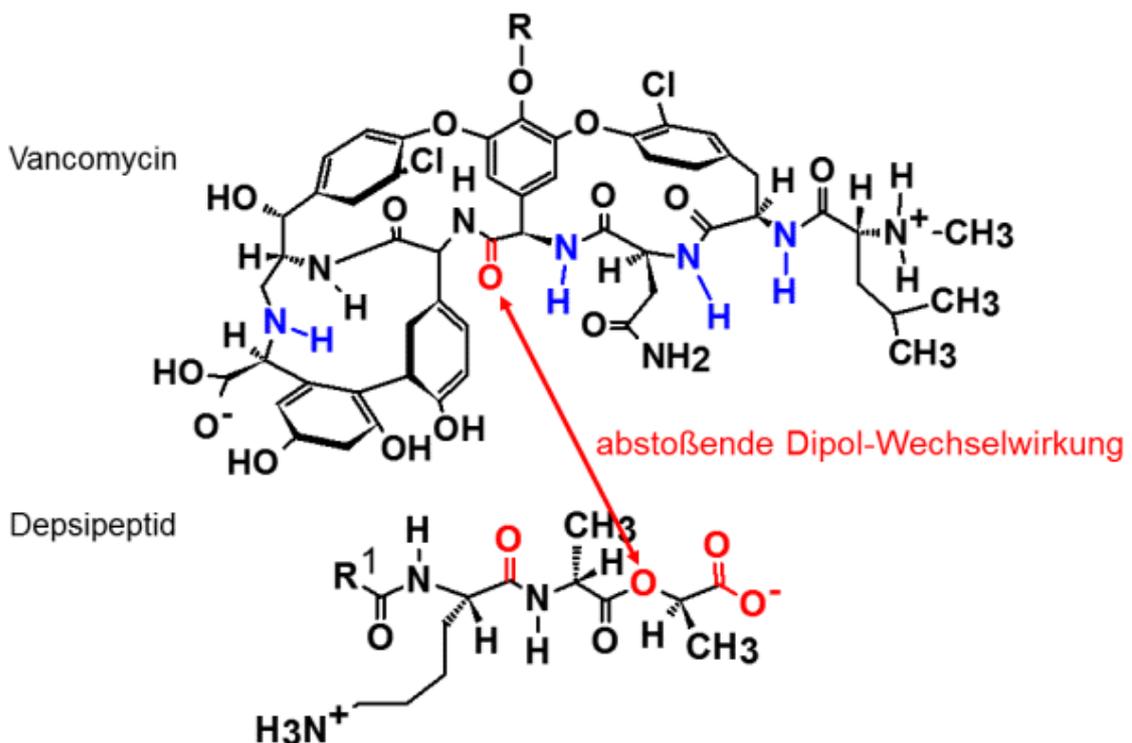


Abb. 5: Antibiotika-Resistenz

5 Synthetisches Vancomycin

Durch die Synthese maßgeschneiderter Rezeptoren könnte in die molekularen Wirk-Mechanismen des Vancomycin und die Bakterien-Resistenzen auf molekularer Ebene eingegriffen werden. Eine Möglichkeit besteht in synthetischem Vancomycin aus kombinatorischer Rezeptor-Bibliotheken. Hierbei können mittels kombinatorischer Chemie in kurzer Zeit eine Vielzahl potentieller Kandidaten synthetisiert und ihre Eigenschaften untersucht werden. So hat Ellman hochpotente Rezeptoren für die Dipeptid-Sequenz D-Ala-D-Ala, aber auch für das Depsipeptid D-Ala-D-Lac identifiziert.

Hierbei wurde anstatt des hydrophoben, aromatischen hinteren Teil des Vancomycin ein linearer Tripeptid-Baustein angeknüpft. Anschließend wurde im Rahmen einer kombinatorischen Festphasen-Synthese aus 34 verschiedenen Aminosäuren eine Bibliothek mit ca. 39.000 unterschiedlichen Rezeptoren (unterschiedliche Sequenzen im Tripeptid-Teil) aufgebaut.

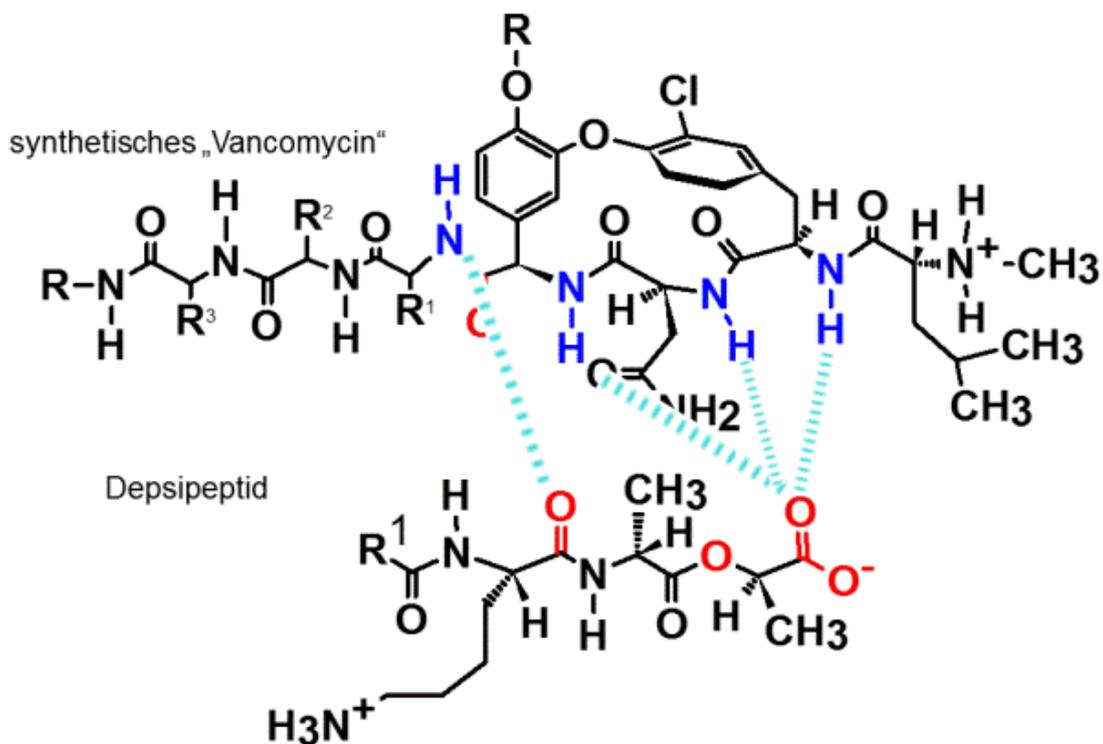


Abb. 6: Wasserstoff-Brücken zwischen Depsipeptid und synthetischem „Vancomycin“

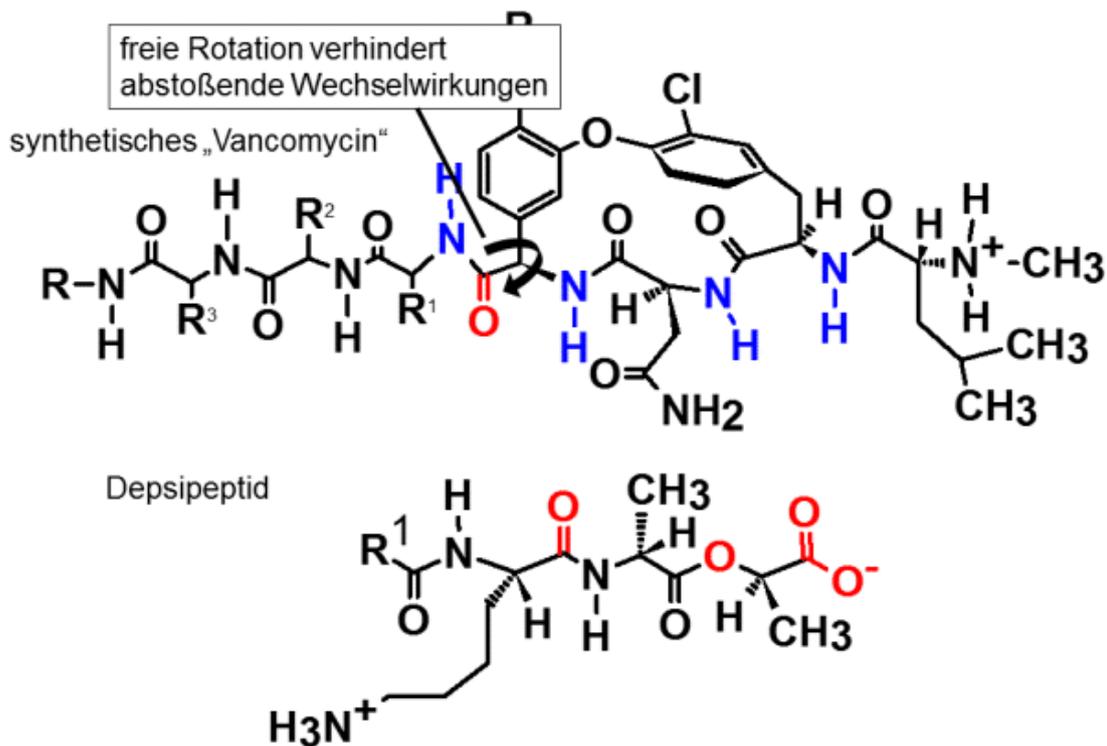


Abb. 7: Verhinderung abstoßender Wechselwirkungen bei synthetischem „Vancomycin“

Um die Rezeptoren identifizieren zu können, die das Dipeptid binden, wurde an das Dipeptid zusätzlich eine sogenannte Fluoreszenz-Sonde, also ein chemischer Marker, der sich durch ein charakteristisches Leuchten im UV-Licht zu erkennen gibt, angehängt. So lässt sich mit einem einzigen Experiment die gesamte Rezeptor-Bibliothek auf ihre Bindungs-Eigenschaften hin testen und geeignete Rezeptoren herausfiltern. Mit dieser Methode wurden Rezeptoren gefunden, die ähnlich stark wie das natürliche Vancomycin das Dipeptid binden. Das Depsipeptid wird vom synthetischen „Vancomycin“ dagegen um den Faktor 1.000 besser gebunden. Somit könnten durch weitere Variationen der Rezeptor-Struktur bessere Antibiotika für resistente Bakterien-Stämme entwickelt werden.

Zusammenfassung: fehlt.

Abschluss: Aufbauend auf den Erkenntnissen über molekulare Erkennungsprozesse bestimmter Peptid-Strukturen wurden erste chemische Rezeptor-Systeme entwickelt. Mit deren Hilfe kann eine selektive Komplexierung des jeweiligen Substrats tatsächlich erreicht werden. Das Ziel dabei ist, medizinisch relevante Prozesse von „außen“ chemisch steuerbar zu machen. Die Entwicklung eines eventuell neuen Medikaments steht jedoch noch an ihrem Anfang.

Quellen:

1. Schmuck, C.: Peptiden auf den Leib geschneidert: Von der molekularen Erkennung zum Design neuer Wirkstoffe, Chemie in unserer Zeit, 35, 356-366, 2001
2. Nelson, D. L.: Lehninger Biochemie, Springer, Berlin, 2001
3. Hädener, A.: Grundlagen der organischen Chemie, Birkhäuser, Basel, 2006
4. Frobel, K., Krämer, T.: Kombinatorische Synthese, Chemie unserer Zeit, 30, 270-285, 1996
5. <http://www.spektrum.de/alias/dachzeile/antibiotikaresistenz/823921>; 11.7.2016
6. <http://www.welt.de/print-welt/article566967/Der-Sieg-der-Bakterien.html>; 11.7.2016
7. <http://www.zeit.de/wissen/gesundheit/2015-01/keime-im-krankenhaus-uniklinik-kiel>; 11.7.2016