

Think Combinatorial

Computergestütztes Wirkstoffdesign mit chemischen Fragmenträumen

Screening – das systematische Durchmusterung großer Molekülmengen – ist in verschiedenen Ausprägungsformen die Standardtechnologie zur Suche nach neuen bioaktiven Verbindungen in der pharmazeutischen Forschung. Eine Alternative zum Screening großer Molekülbibliotheken stellen fragmentbasierte Ansätze dar: Zunächst werden kleine, bioaktive Molekülfragmente gesucht, die dann durch Kombination mit weiteren Fragmenten zu potenten Inhibitoren ausgebaut werden.



Matthias Rarey

Sowohl beim experimentellen Screening (High-Throughput Screening) als auch beim computergestützten virtuellen Screening wurden im letzten Jahrzehnt beachtliche Fortschritte bzgl. der Genauigkeit und des Durchsatzes erzielt.

Es stellt sich aber zunehmend die Frage, wie viele verschiedene Moleküle betrachtet werden müssen, um mit dieser Strategie erfolgreich zu sein: Im Verhältnis zum chemischen Raum mit 10^{60} – 10^{100} Verbindungen ist es jedenfalls zweifelhaft, ob eine Auswahl von 10^7

oder sogar 10^{10} Molekülen ausreichend ist.

Der für die pharmazeutische Forschung relevante chemische Raum, also die Menge kleiner wirkstofffähiger organischer Verbindungen, umfasst 10^{60} bzw. 10^{100} unterschiedliche Moleküle, so zwei Schätzungen aus den vergangenen Jahren [1]. Egal ob es nun 10^{60} , 10^{100} oder nur 10^{40} sind, es ist offensichtlich, dass ein Raum dieser Größe niemals mit Screeningverfahren, weder experimentell noch virtuell, erschlossen werden

kann. Mit einem Computer, bestehend aus 10.000 aktuellen Prozessoren und einem virtuellen Screening-Verfahren, das nur einen einzigen CPU-Zyklus pro Molekül verwenden würde, könnten pro Jahr lediglich ca. 10^{20} Moleküle betrachtet werden. Da häufig schon kleine Veränderungen in Molekülen großen Einfluss auf die Bioaktivität haben, ist das Konzept, möglichst diverse Moleküle auszuwählen, nur von begrenztem Nutzen. Lediglich die Tatsache, dass es im chemischen Raum wahrscheinlich auch sehr viele bioaktive Verbindungen für ein Zielprotein gibt, eröffnet Screening-Verfahren eine Erfolgchance.

Eine alternative Herangehensweise zum Screening ist die fragmentbasierte Wirkstoffsuche [2]. Experimentell lässt sich mit NMR- und röntgenkristallographischen Verfahren die Bindung kleiner Moleküle oder Molekülfragmente nachweisen. Auf der Basis so gefundener aktiver Fragmente können dann durch Er-

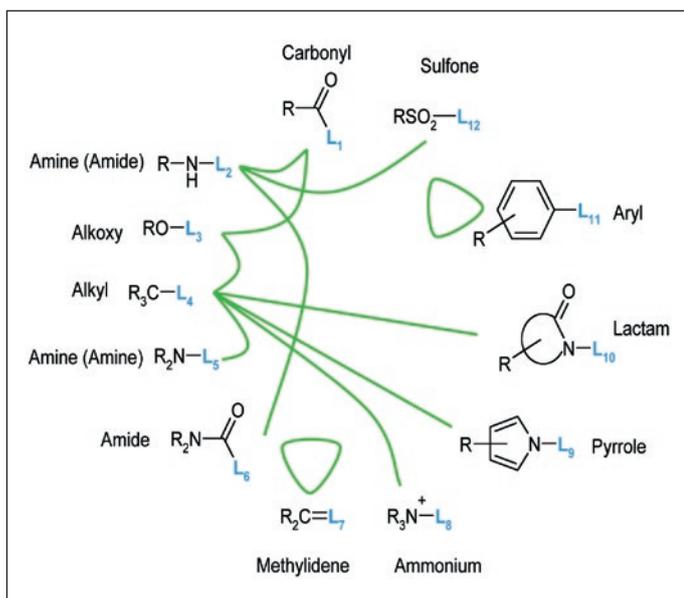


Abb. 1: Chemischer Fragmentraum

Schematische Darstellung eines chemischen Fragmentraums. Auf dem äußeren Kreis sind 12 verschiedene Link-Typen L_1 – L_{12} mit ihrem charakteristischen Fragment dargestellt, R steht für den Rest eines Molekülfragments. Die grünen Linien verbinden zueinander kompatible Link-Typen. So lassen sich z.B. Fragmente mit Link-Typen L_2 und L_{12} unter Bildung eines Sulfonamids miteinander verknüpfen.

Abb. 2: Fragview: Navigation durch chemische Fragmenträume

FragView ermöglicht die Darstellung von und Navigation durch chemische Fragmenträume. Links ist eine Menge von Fragmenten dargestellt, die über chemische Kriterien ausgewählt werden können. Eine detaillierte Auflistung von Fragmenten und ihren chemischen Eigenschaften ist mit einem Spreadsheet möglich (unten rechts). FragView ermöglicht die gezielte Konstruktion von Molekülen des Fragmentraums (oben rechts).

weiterung und Modifikation Moleküle mit hoher Bindungsaffinität konstruiert werden. In Bezug auf computerbasiertes Wirkstoffdesign stellt sich die Frage, wie ein chemischer Fragmentraum, also die Menge aller Moleküle, die mit einer vorgegebenen Menge von Fragmenten und entsprechenden Regeln zur Verknüpfung von Fragmenten gebildet werden können, verarbeitet werden kann. Ein solcher Fragmentraum deckt im Vergleich zu einer Screening-Bibliothek einen erheblich größeren Teil des chemischen Raums ab und bietet somit neue Möglichkeiten für die Suche nach Leitstrukturen. Eine Aufzählung aller Moleküle in einem chemischen Fragmentraum verbietet die Komplexität; zur effektiven Suche in Fragmenträumen sind daher kombinatorische Ansätze gefordert.

Das Management chemischer Fragmenträume

In 1998 entwickelten Lewell *et al.* das RECAP-Verfahren zur Identifikation von nützlichen Molekülfragmenten [3]. Basierend auf einem einfachen Regelsatz werden Moleküle in Fragmente zerlegt. Mit dem gleichen Regelsatz lassen sich die Fragmente wiederum in sinnvoller Weise zu Molekülen kombinieren. Mit dem RECAP-Verfahren lassen sich chemische Fragmenträume mit zwei wesentlichen Eigenschaften erzeugen: Zum einen sind Moleküle aus einem solchen Raum mit hoher Wahrscheinlichkeit synthetisch zugänglich, zum anderen sind Moleküle nur aus für den Anwendungsbereich typischen Fragmenten zusammengesetzt. So enthält z. B. ein Fragmentraum keine Fragmente, die für ihre Toxizität bekannt sind, wenn der Raum durch das Zerlegen von bekannten Wirkstoffen entstanden ist. Fragmenträume, die durch RECAP entstehen, können viele Zehntausende von Fragmenten enthalten und können problemlos einen Raum mit 10^{20} und mehr Molekülen aufspannen. Abbildung 1 zeigt beispielhaft ein Regelwerk für einen chemischen Fragmentraum. Für das Management solcher Fragmenträume sind effiziente Werkzeuge notwendig, die Visualisierung, Auswahl und Verknüpfung von Fragmenten ermöglichen. Abbildung 2 zeigt FragView, eine Software, die zu diesem Zweck am ZBH in Hamburg entwickelt wird.

Ähnlichkeitsbasierte Suche in chemischen Fragmenträumen

Die Suche nach ähnlichen Molekülen spielt eine zentrale Rolle im Wirkstoffentwurf. Auf der Basis z. B. eines Subst-

rats lassen sich ohne Information über die dreidimensionale Struktur des Zielproteins Moleküle identifizieren, die ein zum Substrat ähnliches Wechselwirkungsmuster realisieren können. Damit haben diese Moleküle eine höhere Wahrscheinlichkeit, gegenüber dem Protein bioaktiv zu sein.

Generische Optimierungsverfahren wie zum Beispiel Genetische Algorithmen oder Simulated Annealing ermöglichen eine gezielte Suche nach ähnlichen Molekülen aus einem Fragmentraum. Dazu wird eine Menge von Molekülen generiert, iterativ verändert und kombiniert und anschließend bezüglich ihrer Ähnlichkeit zu einem gegebenen Anfragemolekül bewertet. Während eine solche Suche heuristisch vorgeht und nur einen kleinen Teil des Fragmentraums tatsächlich betrachtet, lässt sich eine vollständige Durchsuchung durch gezielt ausgewählte additive Deskriptoren und kombinatorische Algorithmen realisieren. Der Feature-Tree Deskriptor eignet sich im besonderen Maße für eine solche Suche. Aufgrund seiner Struktur lässt sich mit einem speziell entwickelten kombinatorischen Algorithmus ein chemischer Fragmentraum mit mehr als 10^{18} Molekülen in wenigen Minuten vollständig durchsuchen [4].

Strukturbasierte Suche in chemischen Fragmenträumen

Steht die dreidimensionale Struktur eines Zielproteins zur Verfügung, können Docking-Verfahren zur Vorhersage von Aktivität eingesetzt werden. Im Gegensatz zur Ähnlichkeitsbasierten Suche ist aufgrund der Komplexität des Docking-Problems kein algorithmisches Verfahren zur vollständigen Suche in Fragmenträumen bekannt. Heuristische Verfahren werden jedoch bereits seit vielen Jahren zur Konstruktion von Molekülen in Protein-Bindetaschen angewandt (*de novo* Design, siehe [5] für einen aktuellen Überblick). Durch die Verwendung chemischer Fragmenträume in *de novo* Design Verfahren kann die synthetische Zugänglichkeit der generierten Moleküle signifikant verbessert werden. FlexNovo ist ein Verfahren, welches chemische Fragmenträume auf der Basis einer Proteinstruktur nach aktiven Molekülen durchsucht. Der Suchprozess wird durch Randvorgaben wie notwendige Wechselwirkungsmuster (Pharmakophor-Randbedingungen) und den zugrunde liegenden Fragmentraum steuerbar. Der Basisalgorithmus von FlexNovo ist ein inkrementeller Aufbauprozess, in dem energetisch gut platzierte Fragmente

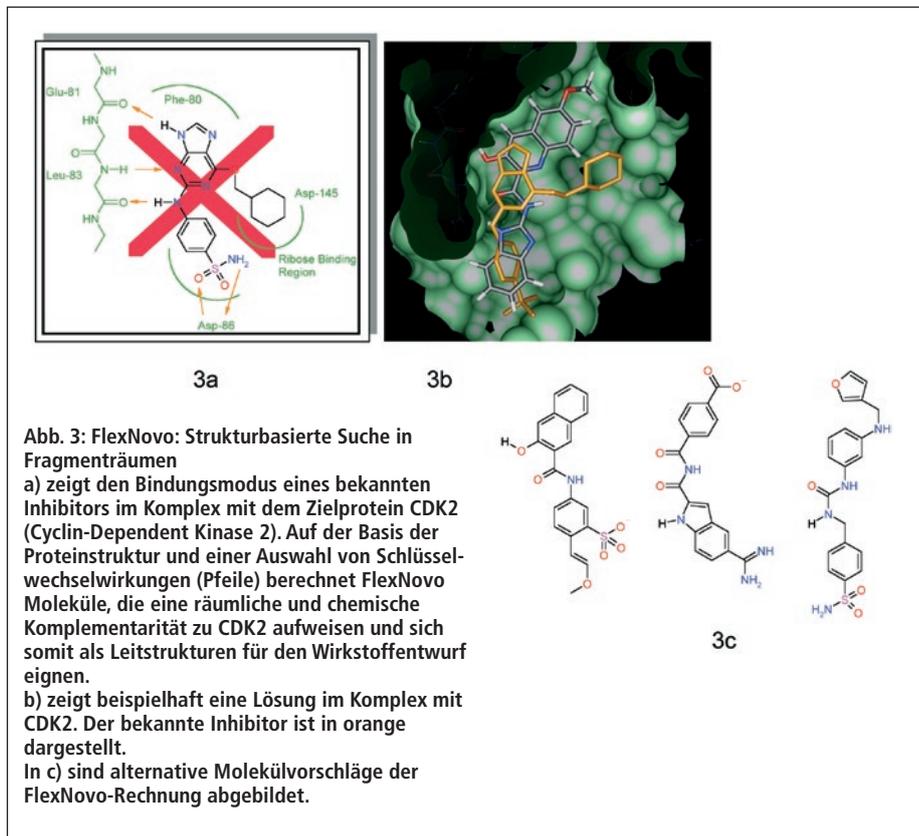
sukzessive ausgewählt und um Fragmente erweitert werden. Abbildung 3 zeigt eine Beispielrechnung von FlexNovo.

Think Combinatorial!

Als vor mehr als 20 Jahren die ersten parallelen Computersysteme entstanden, etablierte sich in der Informatik der Spruch „Think Parallel!“. Damit sollte zum Ausdruck gebracht werden, dass Computerverfahren für parallele Systeme anderer Algorithmen bedürfen. Kombinatorische Chemie und Parallelsynthese haben zu einer Systematik geführt, durch die viele Moleküle prinzipiell synthetisierbar werden. Im computergestützten Wirkstoffentwurf herrschen jedoch sequentielle Verfahren, die auf einer Enumerierung von Molekülen basieren, vor. Neue, kombinatorisch operierende Verfahren wie die hier aufgezeigten Beispiele ermöglichen hingegen eine um Größenordnungen umfassendere Suche nach neuen bioaktiven Verbindungen. Chemische Fragmenträume erlauben bereits eine recht gute, wenn auch noch nicht perfekte, Modellierung von synthetisch zugänglichen Molekülen. Gelingt eine enge Verzahnung experimenteller und computergestützter Verfahren sowie die Entwicklung effizienter Methoden für den Umgang mit Fragmenträumen, so könnte sich der fragmentbasierte Wirkstoffentwurf als eine bedeutende Technologie in der pharmazeutischen Forschung etablieren.

Danksagung

Teile der vorgestellten Forschungsarbeiten werden durch das Bundesministerium



für Bildung und Forschung im Rahmen des BioChance+ Programms finanziell unterstützt (Projekt Novobench, Förderkennzeichen 0313324B).

Referenzen

- [1] Dobson C.M.: Nature 2004, 432, 824–828 (2004)
- [2] Rees D.C. *et al.*: Nat Rev Drug Discov 3, 660–672 (2004)
- [3] Lewell X.Q. *et al.*: Journal of Chemical Information and Computer Science 38, 511–522 (1998)

- [4] Rarey M. und Stahl M.: Journal of Computer-Aided Molecular Design 15, 497–520 (2001)
- [5] Schneider G. und Fechner U.: Nature Reviews in Drug Discovery 4, 649–663 (2005)

Weitere Referenzen sind beim Autor erhältlich.

Prof. Dr. Matthias Rarey
Zentrum für Bioinformatik Hamburg (ZBH)
Universität Hamburg
Bundesstraße 43
20146 Hamburg
rarey@zbh.uni-hamburg.de