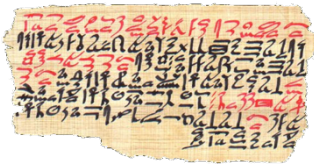




Arzneien – 2000 v. Chr.



EREBHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN


Ein anderes Heilmittel zum Vertreiben der Krankheit in jedem Körperglied des Mannes: gemaischter Pflanzenschleim; fein zerreiben, indem es gemischt wird mit fermentiertem Pflanzenschleim; damit verbinden. (pEbers 301)

Ein anderes (Heilmittel) zum Beseitigen der Bitternis (=dämonische Krankheit): Koloquinthe; zerreiben auf Honig; trinken auf/mit Bier. (pEbers 302)

Ein anderes (Heilmittel) zum Abwehren der Entzündungen: Frosch; zerkothen in Öl; damit salben. (pEbers 303)

Ein anderes (Heilmittel): Kopf des Dab-Fisches; zerkothen in Öl, dem Mann auf sein "Fleisch" geben. (pEbers 304)

Papyrus Ebers

- Das wichtigste vorchristliche med. Werk
- 16. Jh. v. Chr., teilweise Zusammenstellung aus anderen Werken (bis ca. 2600 v. Chr.)

<http://www.hieroglyphen.net/andere/Ebers/ebers.htm>

Drug Design Anno 1886

Centralblatt für KLINISCHE MEDICIN

(Aus der med. Klinik des Herrn Geh.-Rath Kussmaul zu Straßburg.)
Das Antifebrin, ein neues Fiebermittel.
Von
Dr. A. Cahn und Dr. P. Hepp,
Assistenten.

Ein glücklicher Zufall hat uns ein Präparat in die Hand gespielt, an dem wir ausgezeichnete antipyretische Wirkungen entdeckten. Dasselbe wurde von Herrn Dr. E. Hepp in Biebrich untersucht und als ein längst bekannter chemischer Körper bestimmt. Im System wird er als Acetanilid oder Phenylacetamid bezeichnet und hat die Formel $C_6H_5NHCOCH_3$. Wir wollen ihn mit dem unverfänglichen Namen Antifebrin belegen¹. Das Antifebrin ist ein rein weißes krystallinisches, geruchloses, auf der Zunge leicht bren-

¹ Größere Mengen desselben wurden uns gütigst von der Firma Kalle & Co. in vorzüglicher Beinheit dargestellt und sind diese Herren gern bereit, Kliniken und Krankenhäusern das Präparat zu Versuchen zur Verfügung zu stellen.

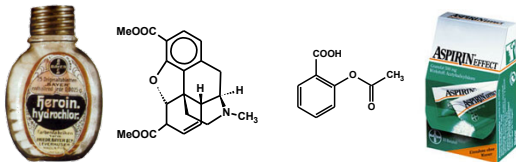
Cahn, Hepp, Centralbl. Klin. Med. (1886), 7, 33

EREBHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN


Wirkstoffentwurf

Arzneistoffe

Stoffe, die im Körper eine heilende oder lindernde Wirkung entfalten.



Wirkstoffentwurf

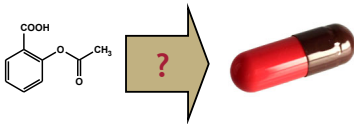
Entwurf

Gezielter schöpferischer Akt.

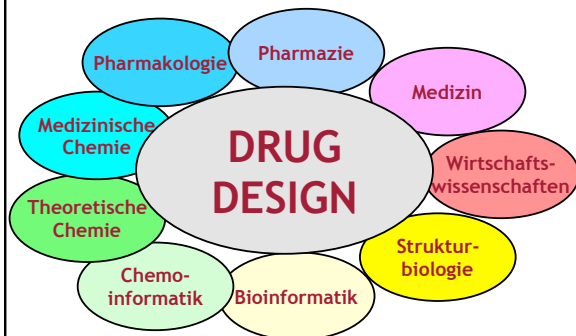
Wirkstoffentwurf

Gezielte Schaffung von Wirkstoffen.

Schlüsselfrage: Welcher Stoff soll in die Pille?



Wirkstoffentwurf/Drug Design



Drug Design – Gestern und Heute

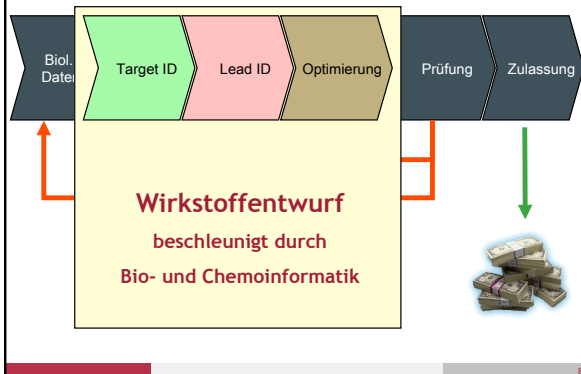
ERBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN



7

Drug-Discovery-Pipeline

ERBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN

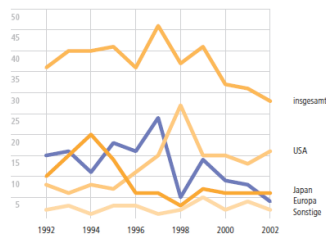


8

Neue Wirkstoffe – Welt

ERBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN

Neue Wirkstoffe weltweit
Anzahl

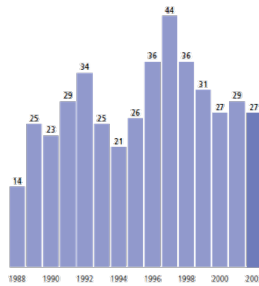


Neue Wirkstoffe: NME (*new molecular entities*)

9

Neue Wirkstoffe – Deutschland

Neue Wirkstoffe in Deutschland
Anzahl

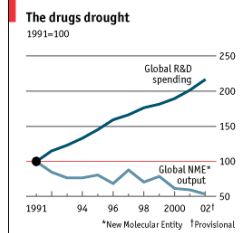


Quelle: Pharmazeutische Zeitung

10

Fail early, fail cheap

- Höhere F&E-Ausgaben scheinen weniger NMEs zu generieren
- Gesamtkosten stetig steigend: ca. US \$800 Mio./NME
- Kosten steigen stetig im Verlauf der Pipeline
- Je später ein Wirkstoff aussortiert wird, desto mehr Geld ist verschwendet
- Große Mehrheit schlägt fehl
- **Maxime:**
„Fail early, fail cheap“



The Economist: http://www.economist.com/science/tq/displayStory.cfm?story_id=2477075

11



Seite 1

taaccctaac cctaacccta accctaacc taaccctaac cctaacccta accctaacc
taaccctaac cctaacccta accctaacc taaccctaac cctaacccta accctaacc
aacctaacc ctaacccta accctaacc taaccctaac cctaacccta accctaacc
aacctaacc ctaacccta accctaacc taaccctaac cctaacccta accctaacc
taaccctaac cctaacccta accctaacc taaccctaac cctaacccta accctaacc
ccaacccta accctaacc caaccctaac cctaacccta accctaacc ctaacccta
cctaacccta accctaacc taaccctaac cctaacccta accctaacc cctaacccta
accctaacc taacccta accctaacc taaccctaacc ctaacccta cgtacccta
agcgcccg ccccgccgg tctgacctga ggagaaactgt gtcgacctt cagagtacca
cgaaaactgt tgcagaggac aacgcagctc cgcctcgcg gtgctctcg ggtctgtgt
gaggagaaac caactcgcc ggccgaggcg cagagaggcg cgcgcgcgc ggcgaggcg
agacacatgc tagcgctcg ggttgaggc gtggcgagg cgcagagag cgcgcgcgc
cgccgaggc gacagagac atgtctacgc gtccagggt ggaggcggt cgcaggcgca
gagaggcgca ccccgccgg gcaggcgag agacacatgc tagcgctcc aggggtggag
cgtgtggcgca ggccgagaga cgcgaaccta cggcggggg ttggggggg gtgtgttga
ggagcaaatgt cgcagggcg cggcgctggg cggggggagg gtggcgccgt gcacgcgag
aaactcactg caggttgcc cggcgcgag acgggtagaa cctcagtaac cggaaaagcc
gggatcgacc gcccttgtc tgcagccgg caactagga cccgttgtc caggttgtc
tgccaggcg cccctgtgt ggaactagg caactcagg gctctctgc tttagtgtgt
ggcagcgcc cctgtgtgc gccggggcag tgcaggccc tctgtctac tgtatagtgt
tgccagcgcc cctgtgtgc gtaagggaac tgcagggtc cctgtctac aggttagtgt
gcagcagcc cactgtgtg cagctggga cactgcggg cctcttgtc ccaacagtac
tgccggatta tagggaaaca cccgagcat atgtgtttg gtctcagtag actcctaact

13

Das Buch des Lebens

Das "Buch des Lebens"
versprach alle wesentlichen
Probleme der Medizin zu lösen

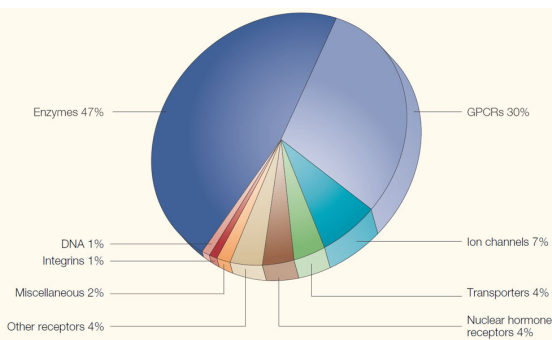
Problem:

haben $\neq$ lesen $\neq$ verstehen



14

Derzeit verwendete Targets



Hopkins, Groom: The druggable genome, Nat. Rev. Drug Discov. (2002), 1, 727-30

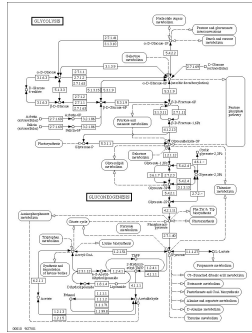
15

Netzwerke und Pfade

- Datenbanken zu **metabolischen Netzwerken** enthalten aktuellen Stand des Wissens zu spezifischen Organismen
- Komplexe Netzwerke, nicht notwendigerweise wohl definierte „Pfade“
- Bestimmte Stoffwechselwege in bestimmten Pfaden nicht vorhanden
- Vergleich liefert Anhaltspunkte für Targets

Beispiel:

KEGG (Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes)

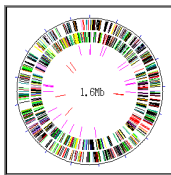


<http://www.genome.ad.jp/kegg/pathway.html>

16

Helicobacter Pylori

- 1,6 Mbp großes Genom
- Ca. 1600 Proteine
- Beteiligt an der Ausbildung von Magengeschwüren



www.tigr.org

17

H. pylori

- *H. pylori* ist durch die Schleimschicht im Magen gut geschützt
- Besondere Verhältnisse im Magen (pH) ungünstig für viele Antibiotika
- Immunsystem ineffektiv
- Breite Antibiotika-Therapie hat Nebenwirkungen, führt zu Resistenzen anderer Pathogene

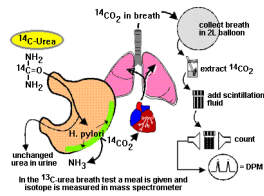
Ziel

Entwicklung eines spezifisch gegen *H. pylori* wirksamen antimikrobiellen Wirkstoffs

18

Besonderheit von *H. pylori*

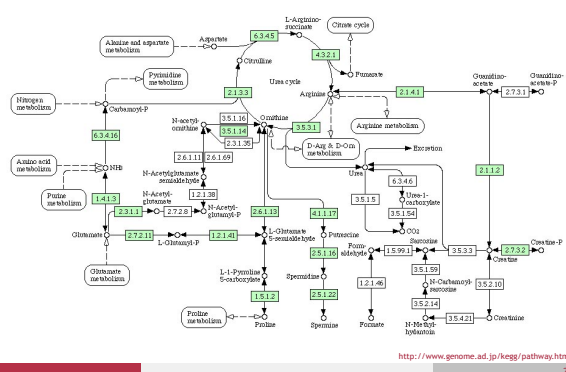
- Abbau von Harnstoff:
 $\text{H}_2\text{N-CO-NH}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{CO}_2 + 2 \text{NH}_3$
- Ammoniak führt zu Erhöhung des pH!
- Schutzmechanismus vor Magensäure
- Anwendung: Test auf Infektion mit *H. pylori* über Bestimmung von $^{14}/^{13}\text{CO}_2$ aus markiertem Harnstoff



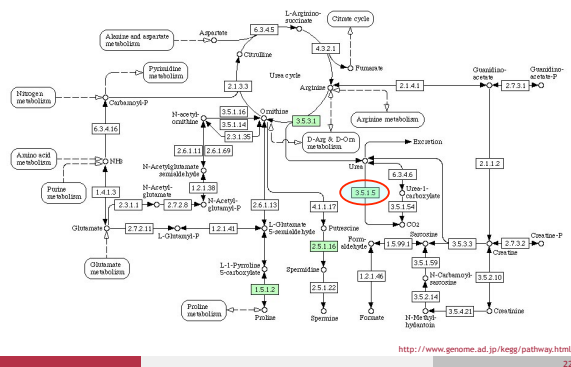
Vergleich Metabolischer Netze

- Vergleich der metabolischen Netze liefert Pfade, die exklusiv im Pathogen benutzt werden
- Es sollten wenige „Umwege“ zu diesem Pfad existieren
- Therapeutisch interessant
 - Geringe Wahrscheinlichkeit unerwünschter Wirkungen im Menschen
 - Wenn der Pfad keine Umwege besitzt, sind die Chancen gut, dass die Ausschaltung des Targets wirksam ist

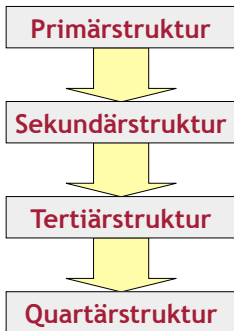
Harnstoffstoffwechsel *H. sapiens*



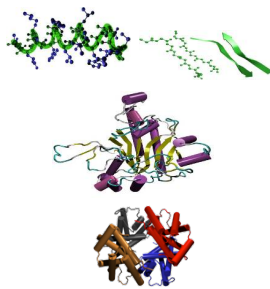
Harnstoffstoffwechsel *H. pylori*



Von der Sequenz zur Struktur



Sequenz: ...LGFCYWS...



Wirkmechanismen

- **Rezeptortheorie**

Wirkung = Wechselwirkung des Wirkstoffs mit dem Rezeptor

- **Paul Ehrlich (1913)**

„Corpora non agunt nisi fixata“

„die Körper wirken nicht, wenn sie nicht gebunden sind“



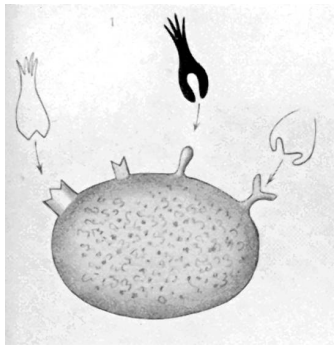
Paul Ehrlich

- **Wirkung setzt Bindung voraus**

Paul Ehrlich. Chemotherapeutics: scientific principles, methods, and results. Lancet (1913), 182, 445-451

25

Komplementarität



Paul Ehrlich: Of immunity with special reference to cell life, Proc. Royal Soc. London (1900), 66, 424-448

26

Geometrische Komplementarität

Emil Fischer 1894:

“Um ein Bild zu gebrauchen, will ich sagen, dass Enzym und Glucosid wie **Schloss und Schlüssel** zu einander passen müssen, um eine chemische Wirkung aufeinander ausüben zu können.”

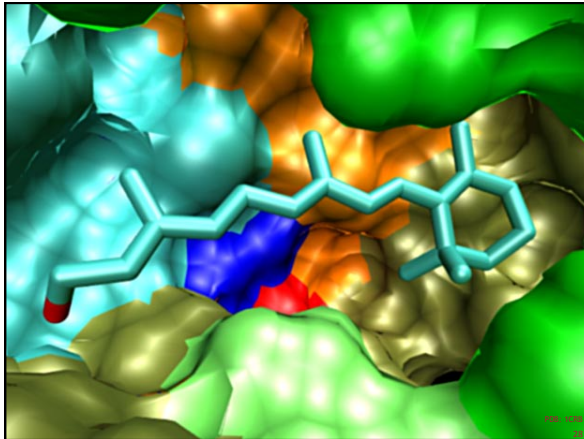


Emil Fischer

Schlüssel-Schloss-Prinzip

Emil Fischer, Ber. Dt. Chem. Ges. (1894), 27, 2985-2993

27



Virtual High-Throughput Screening (vHTS)

- **Idee:** Schlüssel-Schloss-Prinzip – 3D-Puzzle
- Algorithmen verwenden die Struktur eines Rezeptors/Proteins und testen, welche Strukturen daran binden können
- Teste viele(!) Strukturen schnell(!) gegen ein Target

ERBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN

29

Grundalgorithmus Docking

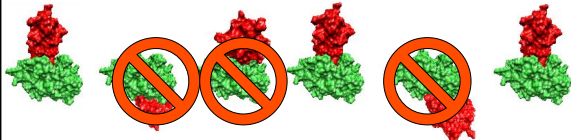
- **Strukturzeugung**
 - Erzeuge große Anzahl plausibler Komplexstrukturen
 - Bedingung: A in Kontakt mit B
 - Erzeugung in manchen Algorithmen nur implizit
 - Manche dieser Strukturen sind geometrisch oder energetisch ungünstig

ERBERHARD KARLS
UNIVERSITÄT
TÜBINGEN

30

Grundalgorithmus Docking

- Strukturierung
- Filterung
 - Entferne Komplexstrukturen, die geometrisch oder energetisch ungünstig sind
 - In der Regel sehr einfache Bewertungskriterien



31

Grundalgorithmus Docking

- Strukturierung
- Filterung
 - Entferne Komplexstrukturen, die geometrisch oder energetisch ungünstig sind
 - In der Regel sehr einfache Bewertungskriterien



32

Grundalgorithmus Docking

- Strukturierung
- Filterung
- Bewertung
 - Berechne Abschätzung von ΔG
 - Viele Bewertungsfunktionen sehr einfacher Natur
 - Ergebnis: nach ΔG geordnete Liste der Strukturen
 - Gutes Ergebnis: Kopf der Liste ist korrekte Struktur



33

Grundalgorithmus Docking

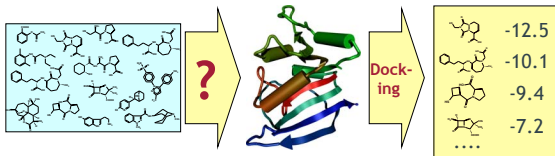
- Strukturzeugung
- Filterung
- Bewertung
 - Berechne Abschätzung von ΔG
 - Viele Bewertungsfunktionen sehr einfacher Natur
 - Ergebnis: nach ΔG geordnete Liste der Strukturen
 - Gutes Ergebnis: Kopf der Liste ist korrekte Struktur



34

Grundalgorithmus Virtual Screening

- Für jeden Ligand:
 - **DOCKE** Ligand an Rezeptor
 - Speichere **beste** Konformation/Energie aus dem Docking
- Gib nach Energie sortierte Liste der Liganden aus



35

AutoDock - Energiefunktion

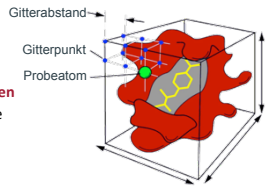
- Energiefunktion sei hier nur grob skizziert
- Entropische Beiträge sind konstant für alle Ligandenkonformationen (über Anzahl drehbarer Bindungen)
- Restliche WW sind paarweise zwischen je zwei Atomen i und j

$$\begin{aligned}
 \Delta G = & \Delta G_{vdW} \sum_{i,j} \left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) + \Delta G_{hb} \sum_{i,j} E(t) \left(\frac{C_{ij}}{r_{ij}^{12}} - \frac{D_{ij}}{r_{ij}^{10}} \right) \\
 & + \Delta G_{es} \sum_{i,j} \frac{q_i q_j}{\varepsilon(r_{ij}) r_{ij}} + \Delta G_{rot} N_{rot} \\
 & + \Delta G_{sol} \sum_{i,j} (S_i V_j + S_j V_i) e^{(-r_{ij}^2 / (2\sigma^2))}
 \end{aligned}$$

36

AutoDock - Energiefunktion

- Auswertung der Energiefunktion lässt sich stark beschleunigen durch Gittertechniken
- Für jede WW wird **Gitter um Bindungsstelle** herum vorberechnet
- Jeder Gitterpunkt enthält Wert entsprechend der **Energie eines Testatoms** an dieser Stelle
- Bringt man Liganden auf das Gitter ergibt sich Gesamtenergie durch **Auslesen der Werte** an der entsprechenden Stelle **im Gitter** (und Interpolation)
- Nachteil:
 - viele Gitter (eins pro Atomtyp/WW-Typ)
 - **hoher Speicherbedarf**
 - hoher Zeitbedarf für **Vorberechnung**

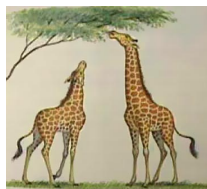


AutoDock – Genetischer Algorithmus

- Ligandenkonformationen werden als „Chromosomen“ kodiert – Vektoren von Fließkommazahlen – den Genen
- Jedes Individuum besitzt
 - Drei Gene für Translation (kart. Koordinaten)
 - Vier Gene für Rotation (Quaternion)
 - Je ein Gen (Zahl) für interne Torsionen
- Genom des Individuum beschreibt vollständige Konformation und Position des Liganden relativ zum Rezeptor

AutoDock – LGA

- **Lamarcksche Genetik:**
Adaptionen des Phänotyps im Laufe des Lebens werden über Genotyp weitervererbt
- LGA in AutoDock
 - Liganden werden **lokal nachoptimiert**
 - Optimierte Koordinaten werden in „Chromosomen“ kodiert
 - **Nachfolgegeneration besitzt optimierte Koordinaten**

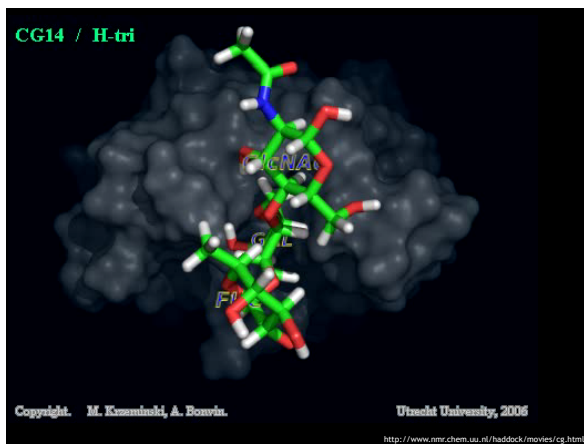


Jean-Baptiste Lamarck (1744-1829)

- Giraffen strecken sich um an Bäume heranzukommen
- Hals wird länger
- Langer Hals wird an Nachkommen vererbt

AutoDock – LGA

- Würfle Zufallspopulation von Individuen mit gleichverteilten Genomen
- Für vorgegebene Anzahl Iterationen:
 - Werte Energien für alle Individuen aus
 - Selektion/Reproduktion: Individuen mit bester Energie erzeugen Nachkommen
 - Crossover- und Mutationsoperatoren werden auf neue Generation angewandt
 - Lokale Nachoptimierung der Ligandenkonformation wird in Genom kodiert
- Wähle beste Individuen der letzten Generation aus



Zusammenfassung

- Moderner Wirkstoffentwurf kommt ohne Bioinformatik nicht mehr aus
- Neue Arzneistoffe zu entwickeln wird immer aufwändiger und teurer
- Analyse von Genom- und Transkriptomdaten identifiziert mögliche Targets
- Docking und virtuelles Screening finden kleine Moleküle, die an diese Targets binden können
- Docking basiert dabei auf dem Schlüssel-Schloss-Prinzip
- Der erforderliche Rechenaufwand ist erheblich, da sehr große Substanzbibliotheken untersucht werden müssen