

Chemie im Computer

ZWISCHEN FORM UND FUNKTION

Wo immer chemische Verbindungen im Organismus eine molekulare Funktion übernehmen, müssen sie auf definierte Weise mit einem biorelevanten Molekül – beispielsweise einem Rezeptor oder einem Enzym – in Wechselwirkung treten. Auf dieses chemische Signal folgt dann in aller Regel eine biologische Antwort, wie die Änderung des Blutdrucks oder die Unterbindung des Tumorwachstums.

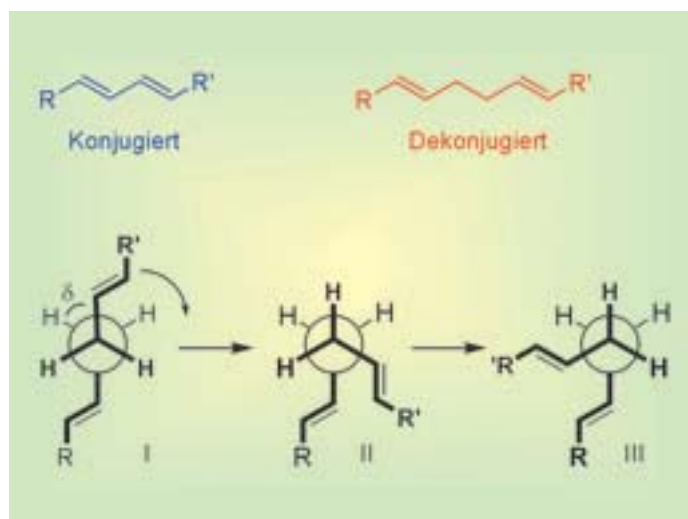
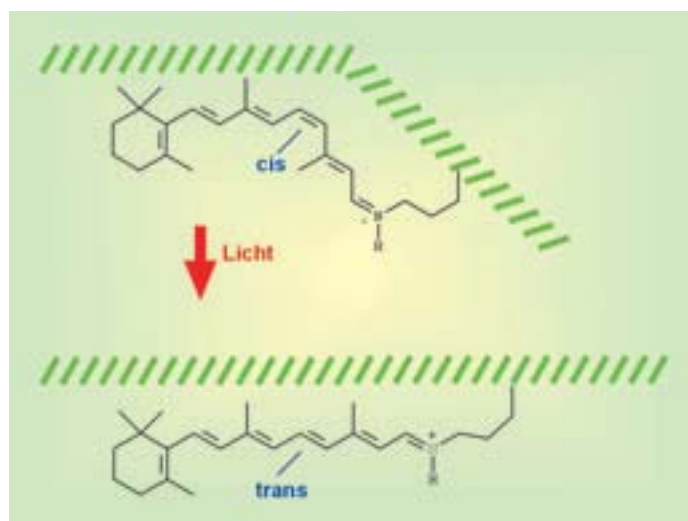


Abbildung 1
Schematische Darstellung der Vitamin-A-Rhodopsin Interaktion (Sehworgang)

Abbildung 2
Konjugierte versus dekonjugierte Olefine

Die Tatsache, dass alle wichtigen Lebensvorgänge durch wohl definierte chemische Verbindungen ausgelöst und gesteuert werden, bedingt, dass an diese Substanzen einige sehr klare und unverzichtbare Anforderungen gestellt werden. Sie müssen im Stande

sein, ihr sehr spezifisches »biologisch relevantes« Zielmolekül oder ihre Zielregion zu »erkennen«. Es muss ihnen gelingen, mit dieser Zielstruktur in sehr selektiver Manier in Wechselwirkung zu treten und in geeigneter Weise am entscheidenden Wirkort »an-

zudocken«. Dort lösen die Substanzen dann entweder eine chemische oder eine strukturelle Veränderung aus, die in der Folge den biologischen Prozess an- oder ausschaltet, beziehungsweise steuert.

Das »Andocken« kann entweder über ein Ensemble schwacher und reversibler Bindungen zu einigen speziellen Zentren der Zielstruktur – einem Klettverschluss vergleichbar – stattfinden, oder über sehr charakteristische strukturelle Eigenheiten sowohl des Wirkmoleküls als auch der angesteuerten Zielstruktur, die es gestatten, in eine ganz bestimmte Höhlung oder Spalte mit ausgezeichneter Passform einzudringen. Natürlich ist auch die Kombination beider Interaktionstypen denkbar.

Als sehr wichtiges aber auch sehr leicht holzschnittartig darstellbares Beispiel wählen wir hier das am Sehworgang beteiligte Retinal – den Vitamin-A-Aldehyd.

Dieser wird über eine Iminbildung (Abbildung 1) an ein Lysinmolekül des Proteins Rhodopsin angeheftet, und die schematische Darstellung der Rhodopsinstruktur zeigt, dass nur die V-förmige 11,12 Cis-Konfiguration des Vitamin-A-Gerüsts in die durch Schraffur angedeutete Molekültasche des Rhodopsin eingepasst werden kann.

Photochemische, also durch Lichteinwirkung gestartete

Cis-trans-Isomerisierung (Abbildung 2), hebt diese enge Verbindung und Wechselwirkung auf und führt zu einer Konformationsänderung des Rhodopsins, die dann indirekt den Nervenimpuls für die Lichtwahrnehmung auslöst.

Die Verbindungen vom Typ des Vitamins A haben nun den sehr großen Vorteil, dass ihre Molekülstruktur bis ins Detail recht leicht und genau bestimmbar ist.

leicht, diese Verbindungen entweder als gewinkelten (cis) oder linearen (Trans), in der Papierebene liegenden Strukturtyp zu erkennen.

Dies ist ein Glücksfall. Würde man die Doppelbindungen durch Einschubung gesättigter C-Atome voneinander trennen (dekonjugieren! – Abbildung 2), dann würde die hier zu berücksichtigende freie Drehbarkeit um die Kohlenstoffbindungen zu einer un-

einnehmen, der eventuelle störende räumliche Interaktionen ausschließt. Da aber der Winkel zwischen den Bindungen an CA und CB jeden Wert einnehmen kann, ist eine Rotation von beispielsweise CB im Uhrzeigersinn vorstellbar, die zum Zustand II führen kann mit erneut perfekt »auf Lücke« orientierten Substituenten.

In Anordnung II kommen sich die Doppelbindungsreste recht nahe, wie auch bei III, das sich aus weiterer Rotation von CB um 120 Grad ergibt.

Sind nun lediglich repulsive räumliche Wechselwirkungen am Werke, so würde man sich schnell für I als die Vorzugsanordnung des Moleküls entscheiden.

Was ist aber, wenn zwischen den Substituenten (in diesem Falle Doppelbindungen) auch attraktive elektronische Wechselwirkungen erwartet werden können? Was, wenn zusätzlich subtile Sekundäreffekte eine Rolle spielen können, die unser simples Bild nicht berücksichtigt?

Tatsächlich lehrt die bisherige Beschäftigung mit den Rotationsformen (Konformationen) strukturell wohl definierter Verbindungen, dass man es hier mit einem Multiparameterproblem zu tun hat, bei dem über die inhärenten Eigenschaften des Moleküls hinaus auch die Umgebung, also das Solvens und eventuelle Reaktionspartner eine Rolle spielen können.

In dieser Situation bietet es sich an, bei Molekülen, die nicht durch sehr starre cyclische oder ungesättigte Strukturen rigidisiert sind oder bei denen Doppelbindungsstrukturen durch eingeschobene gesättigte Kohlenstoffatome »auf Abstand« gehalten werden und rotationsfähig bleiben, die Computersimulation zur Aufindung der stabilsten und somit wahrscheinlichsten Konformation einzusetzen. Da, wie oben angedeutet, Raumstruktur und biologische Aktivität eng miteinander verzahnt sein können, würde die



Die Starrheit von Kohlenstoff-Kohlenstoff Doppelbindungen zusammen mit der perfekten Koplplanarität aller Zentren eines solchen konjugierten Systems, die durch Totalüberlappung aller Elektronen der Doppelbindung erzwungen wird, machen es

ermesslichen Zahl von räumlichen Anordnungen führen.

Betrachtet man das C-Atom-A des dekonjugierten Moleküls in der Fluchtlinie der CA-B-Bindung, so erkennt man, dass in der Anordnung I die beiden Doppelbindungsreste den maximalen Abstand

Da der Wirkstoff zur Auslösung des Signals von seinem Interaktionspartner »erkannt« werden muss, stellt sich die Frage: Haben Moleküle eine individuelle Gestalt und wenn, wie verlässlich ist sie? Rechnergestützte Struktursimulationen geben hier wertvolle Auskünfte.

Abbildung 3
Die gleitenden Bakterien aus dem Myxobakterienstamm *Sorangium cellulosum* (So ce360) sind die Produzenten des Ratjadons. Gezeigt sind die Bakterien in einer für diese Art typischen Sporenform.

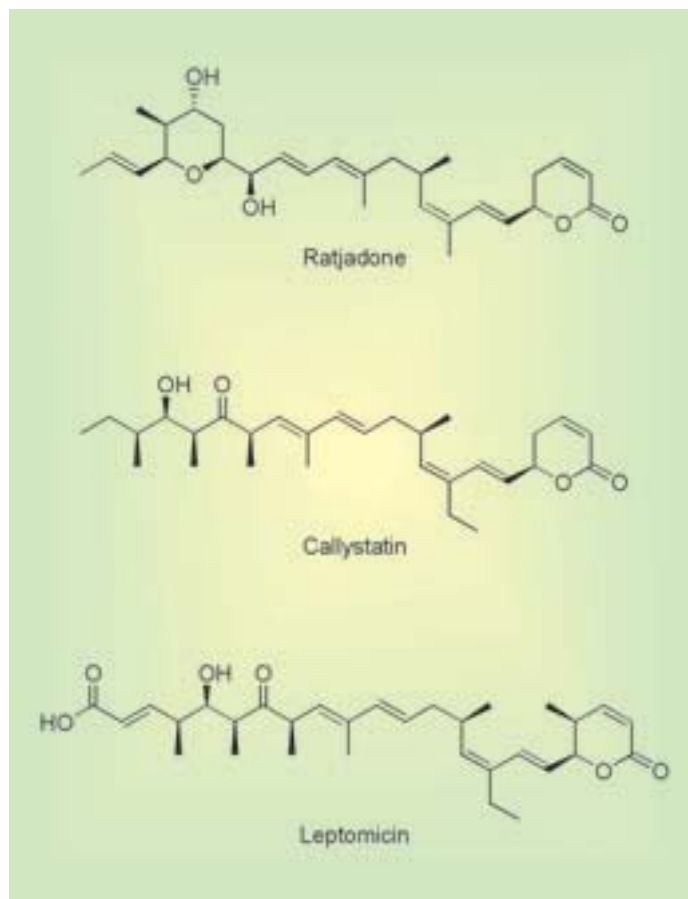


Abbildung 4
Ratjadon und die verwandten
Verbindungen Callystatin und
Leptomycin

rechnergestützte Struktur-
simulation hier wichtige Bei-
träge leisten.

Ein sehr gutes Beispiel für den
Typ mit unterbrochener Dop-
pelbindungskonjugation ist

der erst seit wenigen Jahren
bekannte biologisch aktive
Naturstoff Ratjadon.

Die KonFORMATION von Ratjadon

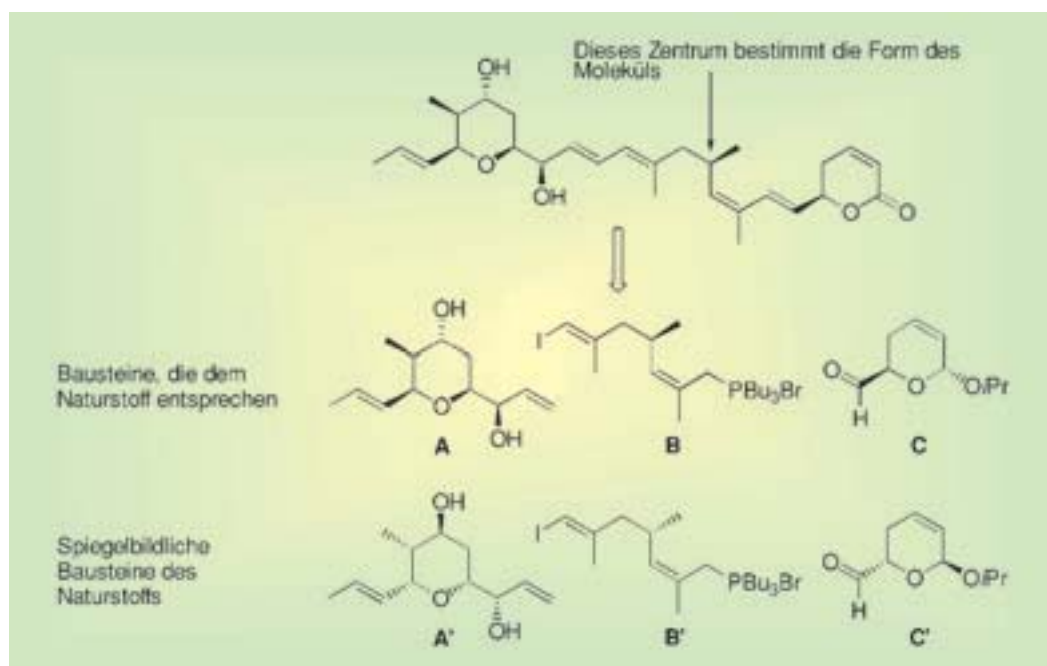
Ratjadon (1) ist eine neue, viel-
versprechende Verbindung,
die 1994 von Prof. Höfle und
seinen Mitarbeitern an der Ge-
sellschaft für Biotechnologi-
sche Forschung (GBF) aus
gleitenden Bakterien isoliert
wurde. [1]

Das Ratjadon ähnelt in sei-
ner Struktur und biologischen
Eigenschaft verwandten Ver-
bindungen wie etwa dem Lep-
tomycinen [2] und Callystatin
A. [3]

Diese Verbindungen stam-
men aus unterschiedlichen Or-
ganismen, und die Tatsache,
dass verschiedene Produzen-
ten in ganz unterschiedlichen
Lebensräumen (Callystatin
wurde aus einem Meeres-
schwamm und Leptomycin
aus Streptomyces-Bakterien
isoliert) sehr ähnliche chemi-
sche Verbindungen produzie-
ren, lässt vermuten, dass hier
auf verschiedenen Wegen sehr
ähnliche Lösungen für ein bio-
logisches »Problem« gefun-
den wurden.

Tatsächlich besitzt Ratjadon
eine Vielzahl interessanter bio-
logischer Eigenschaften. So
werden schädliche Pilze (*Phy-
thophthora drechsleri*), die Nutz-
pflanzen befallen, abgetötet
und Tumorzellen bei bemer-

Abbildung 5
Schematischer Zusammenbau des
Ratjadons. In der unteren Reihe
sieht man die spiegelbildlichen
Bausteine, die als Probe auf die
biologische Bedeutung der einzel-
nen Untereinheiten dienen sollen.



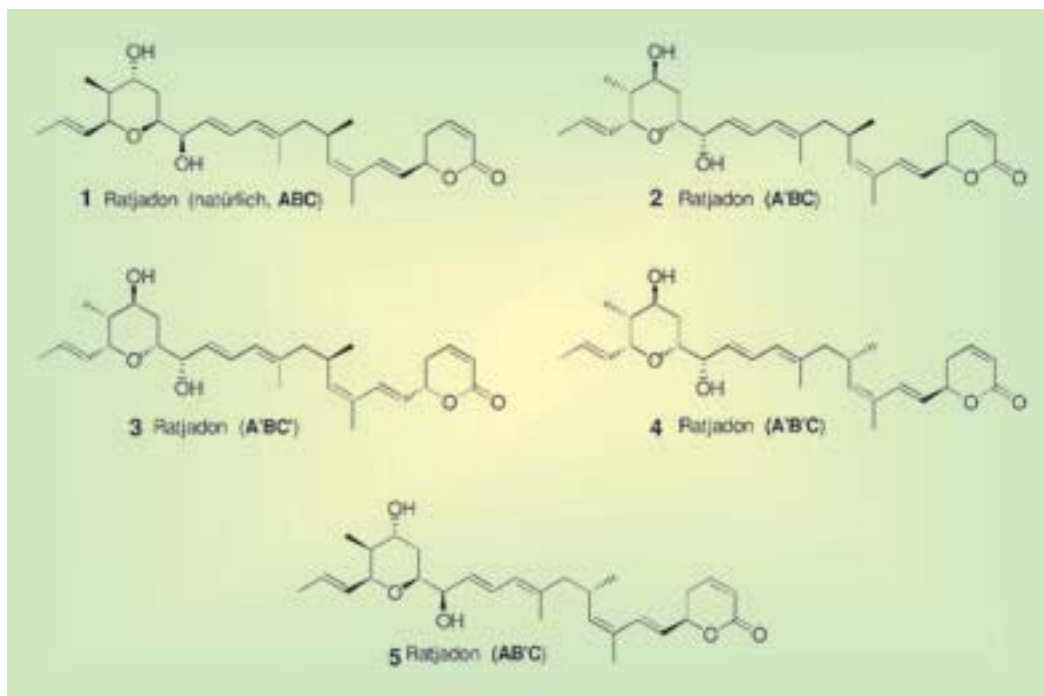


Abbildung 6
Eine Auswahl synthetisierter
Ratjadone

kenswert niedriger Konzentration (40 pgmL^{-1} , HeLA-Zelllinie) in ihrem Wachstum gehindert.

Speziell der letzte Effekt löste ein großes Interesse an den Struktur-Wirkungsbeziehungen aus:

Welche Einheiten dieser Verbindung sind für die biologische Aktivität notwendig?

Diese Fragestellung ist ein ideales Testfeld für die Ver-

Durch die erste Totalsynthese dieser Verbindung [4], die uns 2000 gelang, hatten wir die Möglichkeit, diesen Naturstoff, aber auch Variationen davon, auf ihre Anti-Tumor-Aktivität hin zu untersuchen.

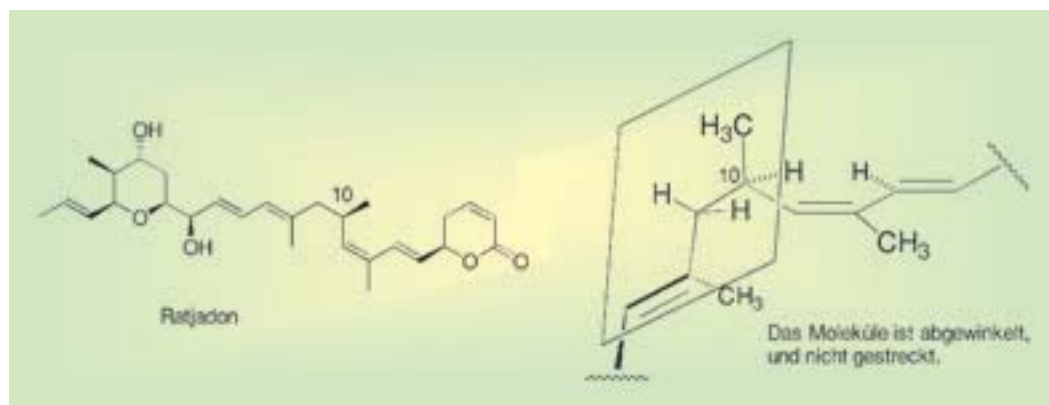
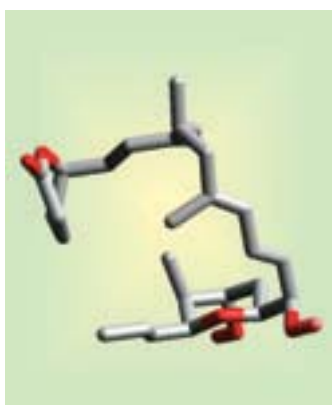
Bei der Totalsynthese wurde das Molekül aus drei Untereinheiten zusammengesetzt, und wir hatten daher die Möglichkeit, nicht nur das natürliche Ratjadon zu synthetisieren, sondern auch Varian-

Bei der Aufstellung dieser sogenannten Struktur-Aktivitäts-Beziehungen [5] stellte sich heraus, dass das mittlere Fragment (B) für die biologische Aktivität entscheidend ist.

Für die Inhibition des Wachstums von Tumorzelllinien ist es wichtig, dass die richtige Konfiguration (das richtige Spiegelbild) an dieser Stelle eingebaut wird.

Auf der anderen Seite spielen die beiden Fragmente A

Abbildung 7
Computersimulation der Struktur des natürlichen Ratjadons. Daneben ein Ausschnitt der Strichformel desselben Moleküls.



wendung computerberechneter Moleküle.

ten, bei denen die spiegelbildlichen Bausteine eingebaut wurden. Der Vergleich dieser ähnlichen, aber eben nicht identischen Verbindungen, sollte Hinweise auf die wichtigen Einheiten liefern.

und C keine so entscheidende Rolle. So können alle anderen Gruppen in Form ihrer unnatürlichen Spiegelbilder eingebaut werden und trotzdem bleibt die Anti-Tumorwirkung erhalten.

Uns stellte sich die Frage, warum gerade ein bestimmtes asymmetrisches Kohlenstoffatom (die Position an C10) von so entscheidender Bedeutung für die biologische Aktivität ist.[5]

Die Antwort konnte mit Hilfe einer Computersimulation der Struktur gegeben werden. Die Computerberechnung zeigte, dass das Molekül nicht als langgestreckte Kette vorliegt (so wie man es zeichnen würde), sondern in einer Form, bei der das Molekül am Kohlenstoffatom C10 nach unten abknickt und zusätzlich eine Drehung beginnt. Somit ähnelt die Form stark einer beginnenden Helix. Diese Form konnte durch die Computersimulation vorhergesagt und durch weitere Untersuchungen mit Kernresonanzmessungen (NMR NOE-Experimente) auch experimentell bestätigt werden.

lichen Ratjadons überlagert. Es zeigte sich, dass die Helix-artige Grundform immer erhalten bleibt.

Daraus erklärt sich die Bedeutung für die biologische Aktivität: Für die Bindung (Blockierung) eines Eiweißmoleküls in einer Tumorzelle ist die Gesamtform der Moleküle von vorrangiger Bedeutung. Nur ein Molekül, das in der Form dem Pendant des Eiweißmoleküls entspricht, kann an dieses Eiweißmolekül binden (Schlüssel-Schloss-Prinzip).

Man kann sich ein Eiweißmolekül wie einen Boxhandschuh vorstellen. Einen linken Boxhandschuh kann man nur mit der linken Hand anziehen. Dabei ist es relativ unbedeutend, wie lang die Finger sind. Die Gesamtform ist von größerer Bedeutung.

Dies ist die Situation bei der gezielten Synthese von Inhibi-

gesetztes Werkzeug in der Wirkstoffchemie.

Mit der Nutzung dieser Methoden können Synthesen im Vorfeld geplant, und Moleküle auf ihre potentiellen biologischen Eigenschaften hin beurteilt werden.

Um Wirkstoffe wie Ratjadon in ihrer 3D-Struktur über Computersimulationen (Molekülmechanik) beschreiben zu können, bedarf es exakter Parameter der mechanischen Modelle aller inkorporierten Untereinheiten.

Eine wichtige Untereinheit in den vorangehenden Beispielen ist die Doppelbindung, welche für unterschiedliche chemische Umgebungen jeweils differenziert parametrisiert werden muss.

Genau wie sich die Schwingung einer Feder über die Länge und die Federkonstante beschreiben lässt, lassen sich

Abbildung 8
Überlagerung der Strukturen des Ratjadons (1) mit Verbindung 3, in der nur die Position an C10 der des natürlichen Ratjadons entspricht. Beide Verbindungen sind hoch aktiv.

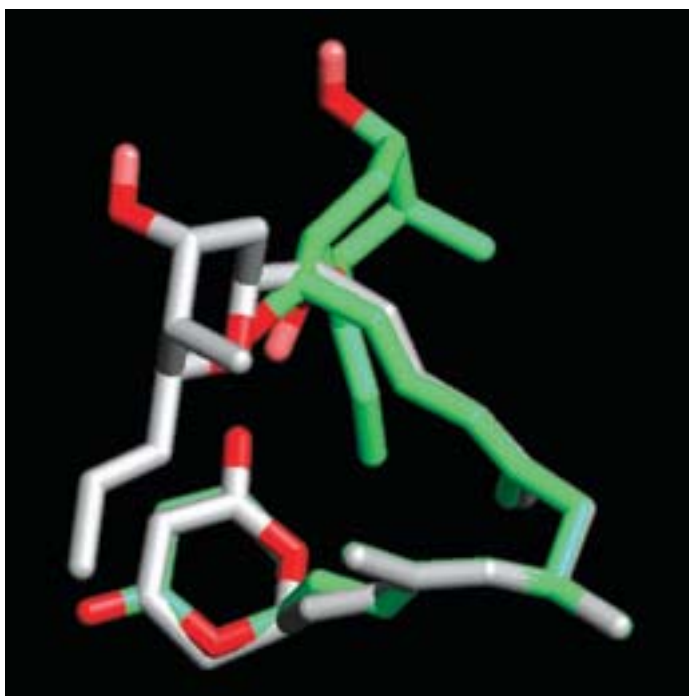
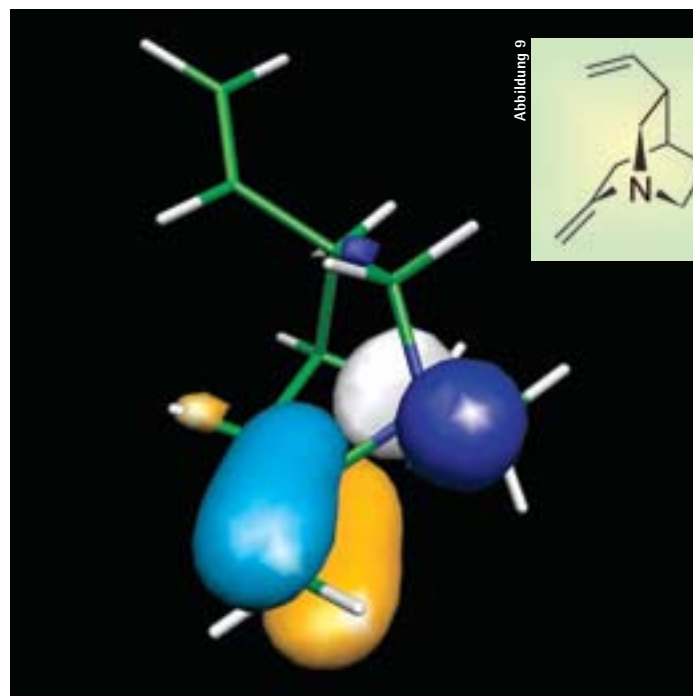


Abbildung 9
Enamin synthetisiert aus QCD[®]

Abbildung 10
Darstellung des räumlichen Ausdehnung der Molekülorbitale des Enamins: dargestellt sind das HOMO (Weiß/Blau) und HOMO-1 (Orange/Hellblau).

Die Berechnung der Formen anderer Ratjadon-Derivate zeigte zusätzlich, warum die anderen Positionen für die biologische Aktivität zweitrangig sind.

Die berechneten Molekülformen wurden dazu mit der Form (Struktur) des natür-



toren für Eiweißmoleküle. Spannend daran ist, dass die Form der kleinen Moleküle mit sehr hoher Verlässlichkeit schon vor der Synthese berechnet werden kann. Damit ist das Modellieren bereits heute ein wichtiges, schon im Vorfeld von Synthesen ein-

Modelle der chemische Bindungen über ähnliche Konstanten konstruieren. Die Gesamtgestalt einer größeren Verbindung ergibt sich dann als Zusammenspiel aller ihrer Komponenten.

Mit Hilfe dieses molekülmechanischen Ansatzes durch Aufstellung von Kraftfeldern (eine Kombination von geometrischen Parametern und Kraftkonstanten beispielsweise durch Benutzung des Programmpakets MacroModel 7.0 [6]) ist heutzutage schon mit relativ preiswerten Personalcomputern die Berechnung großer bis sehr großer Verbindungen (Proteinen) und deren Interaktion mit Wirkstoffen (Erkennen eines Wirkstoffs durch seinen Rezeptor) möglich.

Ein Weg zu mechanischen Modellen neuartiger, bis dato unbekannter strukturbestimmender Untereinheiten (Funktionalitäten und Struktur motive) ist die Berechnung mit Programmen, welche als Eingabe keinerlei experimenteller Daten bedürfen (ab initio Ansatz).

steine. Die Genauigkeit des Modells lässt sich experimentell überprüfen (beispielsweise durch Mikrowellenspektroskopie, Photoelektronenspektroskopie, Infrarotspektroskopie).

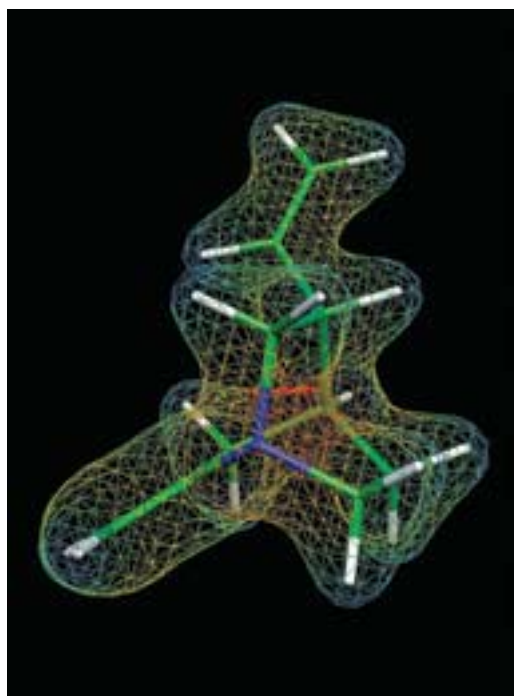
Dieser Ansatz bietet die Möglichkeit, noch nicht im Labor synthetisierte Verbindungen theoretisch zu untersuchen und ihre Eigenschaften (Gestalt, Raumbedarf und Ladungsverteilung) vorherzusagen.

Derartig gerüstet, können jetzt Computersimulationen an komplexen Wirkstoffmolekülen durchgeführt werden, die im Labor noch nicht beobachtet wurden. Ihr Verhalten in verschiedenen Umgebungen (Gasphase, Lösungsmittel, Interaktion mit anderen Verbindungen) kann simuliert werden. Wichtig hierbei bleibt, dass eine Überprüfung des

unterscheiden. Speziell bei der exocyclischen Methylen-doppelbindung ist es notwendig, eine Parametrisierung des Kraftfeldes in einem molekülmechanischen Ansatz durchzuführen.

Die Berechnung der Elektronendichteverteilung, der Molekülorbitale (Abbildung 10) und des Dipolmoments (Abbildung 11) erfolgte mit dem Programmpaket GAUSSIAN 94 [8], welches den Instituten der Universität Hannover vom RRZN (Regionales Rechenzentrum für Niedersachsen) auf einem Vektorrechner zur Verfügung gestellt wird. Eine Beurteilung des chemischen Verhaltens dieser völlig neuartigen Verbindung ist so schon vor der chemischen Synthese [7] möglich (Abbildung 12).

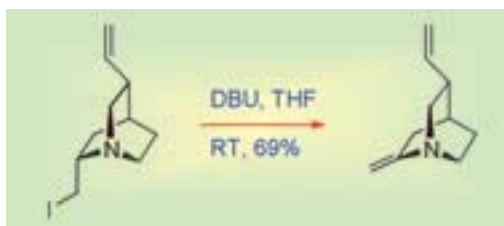
Eine Kommunikation des freien Elektronenpaares am Stickstoff mit der Enamin



Die Berechnung einer Vielzahl gleichartiger Systeme mit geringfügigen Abwandlungen von Form und Funktionalitäten und die Bildung von Mittelwerten führen zu zuverlässigen Beschreibungen des mechanischen und elektrostatischen Verhaltens dieser Bau-

schreibung einer neuartigen Funktionalität wird anhand eines Enamins (Abbildung 9) erfolgen [7].

In dieser Verbindung sind zwei Doppelbindungen zu betrachten, die sich in ihrem chemischen Verhalten stark



theoretischen Verhaltens durch den experimentellen Chemiker möglich sein muss und eine Beurteilung der Qualität der Computersimulation machbar ist. Ein Beispiel für die theoretische Be-

Doppelbindung ist in diesem Fall aufgrund der Orthogonalität der Elektronensysteme, im Gegensatz zu normalen Enaminen, nicht möglich. Hieraus ergibt sich ein völlig anderes chemisches Verhalten dieser Systeme. Eine spätere experimentelle Überprüfung bestätigte dieses ungewöhnliche chemische Verhalten. Die Geometrie konnte durch Röntgenstrukturanalyse und NMR-Spektroskopie bestätigt werden [9].

Ausgehend von dieser und weiter gehenden Rechnungen lässt sich nun ein mechanisches Modell aufstellen, mit dem sich auf handelsüblichen Personalcomputern für eine Vielzahl von ähnlichen Verbindungen dieses Strukturtyps Interaktionen mit anderen

Abbildung 12
Synthese des aus QCD® generierten stabilen Enamins

Abbildung 11
Darstellung des elektrostatischen Potentials und des Dipolmomentes



Dr. rer. nat. Stefanie Röper
Jahrgang 1973, hat im Bereich Naturstoffchemie am Institut für Organische Chemie promoviert.



Dipl.-Chem. Lars-Ole Haustedt
Jahrgang 1970, ist Doktorand im Bereich Naturstoffchemie am Institut für Organische Chemie.



Priv.-Doz. Dr. Markus Kalesse
Jahrgang 1961, hat sich im Bereich Naturstoffchemie am Institut für Organische Chemie habilitiert.



Prof. em. Dr. Ekkehard Winterfeldt
Jahrgang 1932, ist emeritierter Professor für Organische Chemie.

Zitierte Literatur

- 1 a) D. Schummer, K. Gerth, H. Reichenbach, G. Höfle, *Liebigs Ann.* 1995, 685–688; b) K. Gerth, D. Schummer, G. Höfle, H. Irschik, H. Reichenbach, *J. Antibiot.* 1995, 48, 973–976.
- 2 a) T. Hammamoto, H. Seto, T. Beppu, *J. Antibiot.* 1983, 36, 646; b) T. R. Hurlley, R. H. Bunge, N. E. Willer, G. C. Hokanson, J. C. French, *J. Antibiot.* 1986, 39, 1651; c) J. P. Schaumberg, G. C. Hokanson, J. C. French, *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 1984, 1450; d) B: M. Kobayashi, W. Wang, Y. Tsutsui, M. Sugimoto, N. Murakami, *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 8291.
- 3 a) M. Kobayashi, K. Higuchi, N. Murakami, H. Tajima, S. Aoki, *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 2859; b) N. Murakami, W. Wang, M. Aoki, Y. Tsutsui, K. Higuchi, S. Aoki, M. Kobayashi, *Tetrahedron Lett.* 1997, 38, 5533; c) N. Murakami, W. Wang, M. Aoki, Y. Tsutsui, M. Sugimoto, M. Kobayashi, *Tetrahedron Lett.* 1998, 39, 2349.
- 4 a) M. Christmann, U. Bhatt, M. Quitschalle, E. Claus, M. Kalesse, *Angew. Chem.* 2000, 112, 4535–4538; *Angew. Chem. Int. Ed.* 2000, 39, 4364–4366; b) M. Christmann, U. Bhatt, M. Quitschalle, E. Claus, M. Kalesse, *J. Org. Chem.* 2001, 1885–1893.
- 5 M. Christmann, U. Bhatt, M. Quitschalle, Winfried Beil, Arne Burzlaff, Cornelia Kasper, L. O. Haustedt, E. Hofer, T. Scheper, M. Kalesse, *ChemBioChem* 2001, 709–714.
- 6 F. Mohamadi, N. G. J. Richards, W. C. Guida, R. Liskamp, M. Lipton, C. Caulfield, G. Chang, T. Hendrickson, W. C. Still *J. Comp. Chem.*, 1990, 11, 440.
- 7 S. Röper, *Dissertation*, Institut für Organische Chemie, Universität Hannover, 2001
- 8 DFT Rechnung: Geometrie wurde auf dem B3LYP/6–31G(d)-Niveau der Theorie optimiert *Gaussian 94, Revision C3*, M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, P. M. W. Gill, B. G. Johnson, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, T. Keith, G. A. Peterson, J. A. Montgomery, K. Raghavachari, M. A. Al-Laham, V. G. Zakarewzski, J. V. Ortiz, J. B. Foreman, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, A. Nanayakkara, M. Challacombe, C. X. Peng, P. A. Ayala, W. Chen, M. W. Wong, J. L. Andres, E. S. Replogle, R. Gomperts, R. L. Martin, D. J. Fox, J. S. Binkley, D. J. Defrees, J. Baker, J. P. Baker, J. P. Stewart, M. Head-Gordon, C. Gonzalez, J. A. Pople, *Gaussian, Inc.*, Pittsburg PA, 1995.
- 9 S. Röper, H. M. Franz, D. Kremzow, L. O. Haustedt, R. Wartchow, H. M. R. Hoffmann, *Veröffentlichung in Vorbereitung*
- 10 *Molekel 4.1*, Flükinger, H.P. Lütin, S. Portman, J. Weber, Swiss Center for Scientific Computing, Manno (Switzerland) 2000–2001.

Verbindungen (Modellierung chemischer Reaktionen) simulieren lassen.

Aussagen über Bindungsverhalten gegenüber Metallkationen und hiermit durchführbaren Reaktionen sollten in weiteren Untersuchungen möglich sein (katalytische, asymmetrische Reaktionen).

Die hier diskutierten Beispiele lehren, dass die Rechnergestützte Struktursimulation auch bei Molekülen, für die prima facie hohe konformative Mobilität erwartet werden sollte, durchaus das Geschehen bestimmende Vorzugskonformationen auffinden kann.

Voraussetzung ist dafür die Nutzung geeigneter Programme, in die Datensätze für stabilisierende wie destabilisierende Effekte gleichermaßen Eingang finden. Obwohl derartige acyclische beziehungsweise macrocyclische Verbindungen niemals die gleiche strukturelle Rigidität erreichen, wie sie für konformativ starre polycyclische Systeme charakteristisch ist (zum Beispiel Sexualhormone, Herzglykoside, Heroin, Kokain und Penicillin), wird die Simulationstechnik verlässliche Auskünfte zum Raumbedarf und zu den sterischen Interaktionsmöglichkeiten von Wirkstoffen geben.

Damit gewinnt der Wirkstoffchemiker nicht nur Einblick in die Art und Weise der Annäherung an das Zielmolekül, sondern er ist auch in der Lage, aus der optimierten Struktur Rückschlüsse auf die räumlichen Gegebenheiten am Wirkort zu ziehen. Man kann also nicht nur die Passgenauigkeit des Schlüssels ermitteln, sondern die Form des Schlüssels läßt auch Rückschlüsse auf die Gestalt des Schlosses zu.