



## **GABAA-receptoren**

### **Bedre modeller - bedre lægemidler**

Frølund, Bente Flensburg; Sander, Tommy; Hansen, Henriette; Balle, Thomas

*Published in:*  
Lægemiddelforskning

*Publication date:*  
2009

*Document version*  
Også kaldet Forlagets PDF

*Citation for published version (APA):*  
Frølund, B. F., Sander, T., Hansen, H., & Balle, T. (2009). GABA<sub>A</sub>-receptoren: Bedre modeller - bedre lægemidler. *Lægemiddelforskning*, 31-33.

# GABA<sub>A</sub>-receptoren:

## Bedre modeller – bedre lægemidler

**Nye, forbedrede modeller giver grundlag for syntese af nye lægemidler med mere specifik virkningsprofil.**

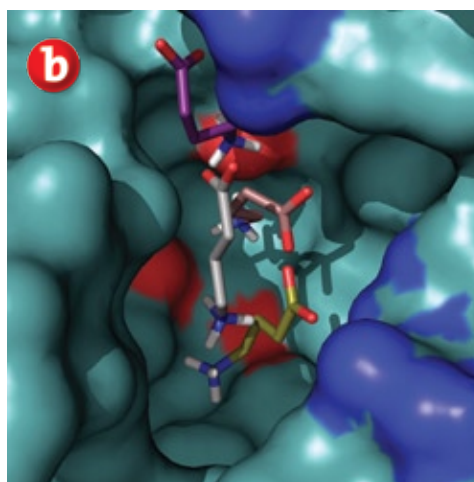
Af Bente Frølund, Tommy Sander, Henriette Hansen og Thomas Balle

Det optimale udgangspunkt for udvikling af lægemidler er et kendskab til den tredimensionelle struktur af målmolekylet og de nødvendige interaktioner mellem lægemiddelstoffet og målmolekylet, fx en receptor. For de målmolekyler, hvor den tredimensionelle struktur endnu ikke er kendt, er udviklingen af ligander endnu baseret på intuition og inspiration fra tidligere høstede erfaringer. GABA<sub>A</sub>-receptoren har længe været en af disse.

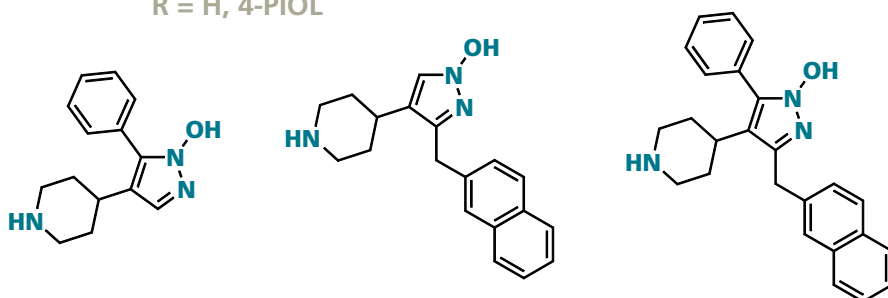
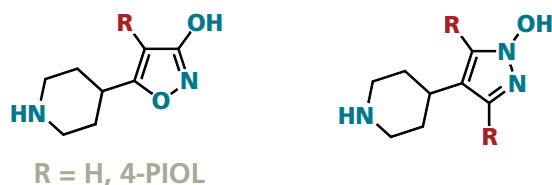
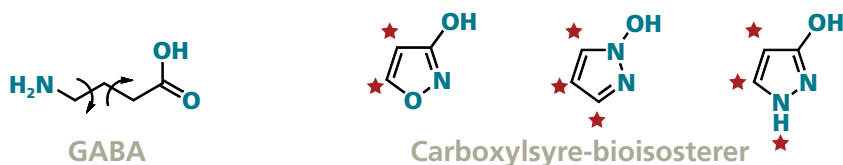
På Det Farmaceutiske Fakultet har vi i en årrække arbejdet med at udvikle ligander til GABA<sub>A</sub>-receptoren. Arbejdet har ført til syntese og karakterisering af et stort antal stoffer for at opnå et tilstrækkeligt klart billede af sammenhængen mellem stoffernes struktur og biologiske virkning. Dette arbejde har ført til ny indsigt i opbygningen af receptorlommen og interaktionen mellem ligand og receptor.

### GABA<sub>A</sub>-receptorer

GABA (γ-aminosmørsyre) er hjernens overordnede hæmmende signalstof, som dæmper aktiviteten af nervecellerne. Størstedelen af hjernens nerveceller indeholder receptorer for GABA, hvilket giver mange muligheder for at gribe ind med medicin ved defekte signalprocesser. GABA<sub>A</sub>-receptorerne har været anvendt som terapeutisk mål i mange år til behandling af bl.a. angst, smerte, søvnløshed og krampes. Desværre er brugen af mange af de lægemidler, der er rettet mod GABA<sub>A</sub>-receptorerne forbundet med uønskede bivirkninger som sløvhed, afhængighed og tolerance. Derfor er der brug for en øget indsigt i opbygning og funktion af denne receptorgruppe i udviklingen af nye og bedre lægemidler. GABA<sub>A</sub>-receptorerne tilhører en større familie af strukturelt og funktionelt beslægtede receptorer kaldet ligandstyrkede ionkanaler. GABA<sub>A</sub>-receptorerne er opbygget af fem enheder, som danner en kanal, der er gennemtrængelig for kloridioner. Når GABA binder til et specifikt bindingssted på receptoren, åbnes ionkanalen, og kloridioner strømmer ind i cellen. Indstrømningen af kloridioner bevirker, at det bliver sværere at aktivere nervecellen, og kommunikationen



- a** Overordnet struktur af to af de fem enheder, der udgør receptoren. Tilsammen danner de bindingslommen for GABA (atomer vist med van der Waals radier). Nogle af de aminosyrer, man fra mutationsstudier ved er placeret i bindingslommen, er fremhævet med turkis kulstofatomer.
- b** Close-up af bindingslommen (her vist som turkis van der Waals overflade) med fire forskellige placeringer/orienteringer af det lille og fleksible GABA-molekyle. Røde og blå overflader markerer udvalgte oxygen- og nitrogenatomer i receptoren, der alle er mulige interaktionspartnere for GABA.



Øverst ses strukturen af GABA, hvor pilene viser de bindinger, der kan drejes. Tre carboxylsyre-bioisoster-byggeblokke anvendt i dette studie er vist til højre herfor. De røde stjerner angiver positioner, der kan udbygges kemisk. I midten ses 4-PIOL samt analoger heraf baseret på de to af byggeblokkene, med en generel angivelse af indførte kemiske grupper (R). Nederst er vist eksempler på forbindelser, som har vist sig at binde stærkt til GABA<sub>A</sub>-receptoren.

### FASTLÅSTE BYGGEBLOKKE SOM CARBOXYLSYRE-BIOISOSTERER

Da vi ved, at en carboxylsyrefunktion er nødvendig, for at en ligand kan binde til GABA<sub>A</sub>-receptoren, har vi fokuseret på byggeblokke med samme funktion som carboxylsyren i GABA, også kaldet carboxylsyre-bioisosterer. Disse byggeblokke har en mere fastlåst struktur end GABA, hvilket betyder at der er færre muligheder for forskellige konformationer af molekylet (se ill.). Desuden indeholder byggeblokkene positioner, hvor man nemt kan udbygge strukturen kemisk. Den nedsatte flexibilitet og muligheder for kemisk udbygning giver samlet set basis for at finde frem til en sandsynlig placering af forbindelserne og en karakterisering af bindingslommen i veldefinerede områder.

Med GABA<sub>A</sub>-receptorliganden 4-PIOL som grundstruktur har vi fremstillet en række forbindelser baseret på disse byggeblokke og indført kemiske grupper med forskellig størrelse og elektroniske egenskaber i de tilgængelige positioner som vist ovenfor. Den biologiske karakterisering af disse forbindelser har vist, at stofferne binder til receptoren, hvilket betyder, at der i nærheden af bindingslommen for GABA i flere områder er forholdsvis meget plads. De biologiske resultater viser desuden, at forbindelserne ikke som GABA aktiverer, men derimod blokerer receptoren.

mellem nervecellerne hæmmes. Der findes flere forskellige undertyper af GABA<sub>A</sub>-receptorer med specifik funktion og placering i hjernen. Det betyder, at man har mulighed for at ramme en enkelt undergruppe og derved opnå en mere selektiv effekt, men også at studier af receptorgruppen bliver mere komplekse.

### Modeller for GABA<sub>A</sub>-receptoren på vej

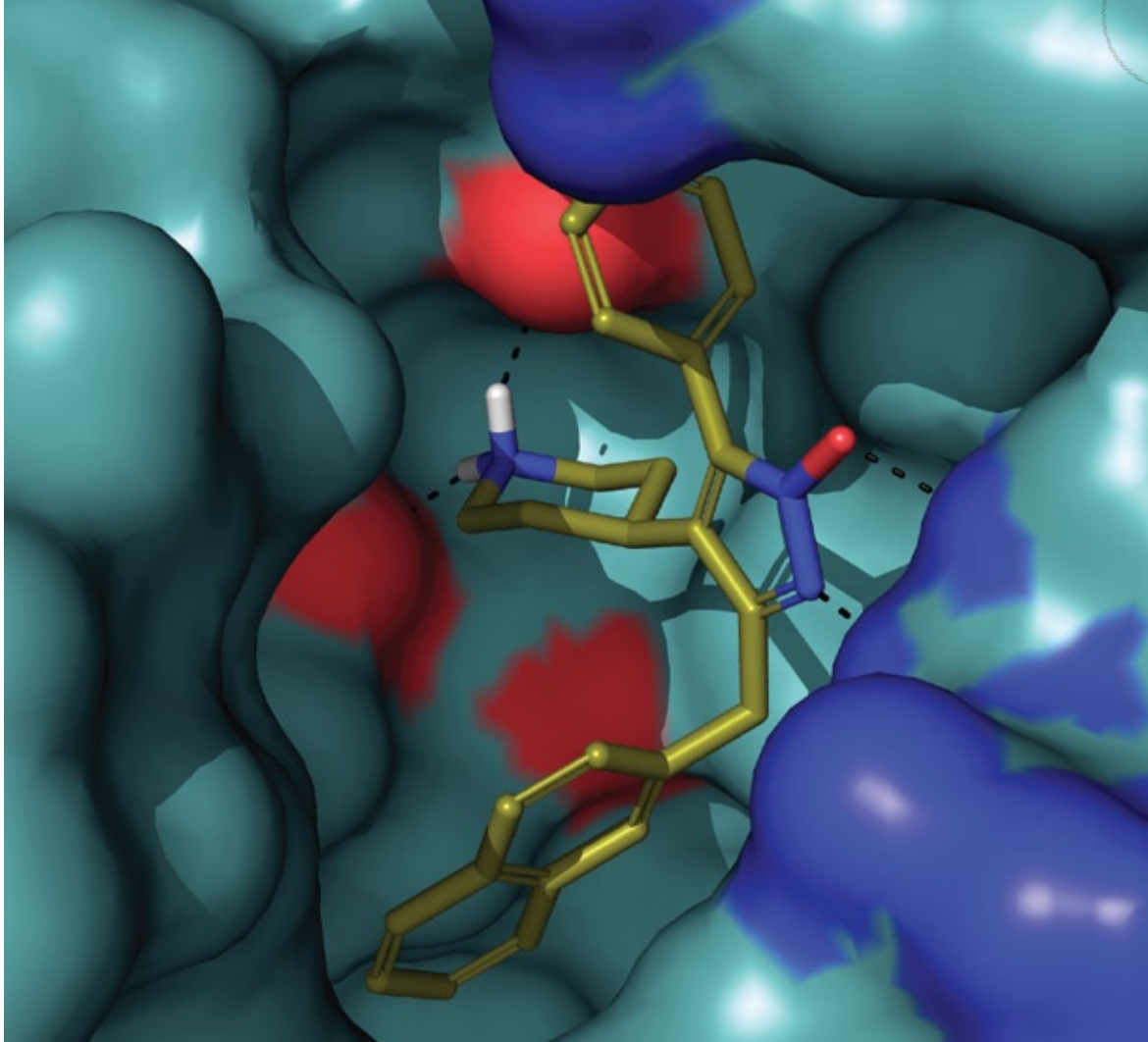
Vi har i dag en god idé om den overordnede struktur af GABA<sub>A</sub>-receptoren, men den tredimensionelle struktur af receptoren med detaljerede strukturelle informationer er endnu ikke fundet. I stedet anvendes en model, der primært er baseret på en røntgenstruktur af et protein isoleret fra en snegl. Proteinet har essentielle ligheder med den del af GABA<sub>A</sub>-receptoren, der binder GABA. Ved at kombinere aminosyresekvensen af GABA<sub>A</sub>-receptoren og den eksperimentelle tredimensionelle struktur af proteinet er en model af GABA<sub>A</sub>-receptoren foreslået. Da den samlede aminosyresekvenslighed mellem det isolerede protein fra sneglen og GABA<sub>A</sub>-receptoren er forholdsvis lav, er modellen forbundet med en vis usikkerhed og en lav detaljeringsgrad.

Modellen er desuden kun en overordnet model og dækker ikke den mangfoldighed af undergrupper af GABA<sub>A</sub>-receptorer, der adskiller sig fra hinanden med små forskelle i struktur og funktion.

For at få indsigt i hvad der kræves af en ligand for at opnå binding til GABA<sub>A</sub>-receptoren, har man indlejret strukturen af GABA i denne præliminære model. Da GABA er et lille og meget fleksibelt molekyle, har det været svært at finde en entydig placering af molekylet i den forholdsvis store lomme, der ved hjælp af mutationsstudier er defineret som bindingsstedet for GABA<sub>A</sub>-ligander (se ill. side 31).

### Placering af liganderne i bindingslommen

De nye uflexible forbindelser (se tekstboks ovenfor) har været en stor hjælp i udviklingen af en ny og forbedret receptormodel. Den store gruppe, der er koblet på 4-PIOL strukturskelettet, kan nærmest kun placeres på én måde i modellen, baseret på at aminen og carboxylsyre-bioisosteren, henholdsvis positiv og negativ ladet ved fysiologisk pH, samtidig skal kunne interagere med komplementære ladninger i bindingslommen. På side 33 er det illustreret, hvordan en



Forbindelsen, der er vist nederst til højre på illustrationen side 32, er her indlejret til 3D-modellen af GABA<sub>A</sub>-receptorbindingslommen. De aromatiske substituent er med til at definere, hvordan liganden formentlig skal orienteres, idet de skal placeres i hver sin hydrofobe lomme. Dermed opnås samtidig optimale interaktioner (stiplede linjer) mellem, på den ene side, ligandens positivt ladede aminogruppe og elektronrige glutaminsyre- og carbonylgrupper i receptoren (rød overflade), og på den anden side mellem carboxylsyre-bioisosteren og en af de positivt ladede arginin sidekæder (blå overflade).

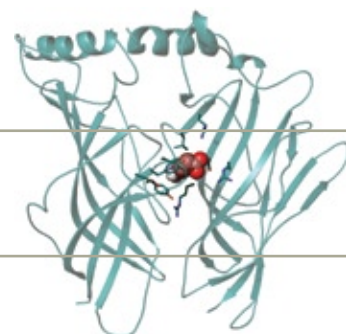
af liganderne passer optimalt ind i receptorlommen. Baseret på modellen er det lykkedes at designe og efterfølgende syntetisere en ny forbindelse som binder 410 gange bedre end udgangspunktet – et meget tilfredsstillende resultat som også er med til at validere modellen.

Da man kun har en model for den del af receptoren, der binder GABA, og ikke en model for hele receptoren, er det stadig uklart, hvilke faktorer der er ansvarlige for receptoraktivering, efter at liganden har bundet sig til receptoren. Man mener dog, at en rotation af en del af receptoren er en del af aktiveringsprocessen. I receptormodellen medfører placeringen af vore modelstoffer, at de store aromatiske grupper, der er indført i molekylerne, bliver placeret i et område af bindingslommen, som er involveret i den foreslåede rotation og derved fungerer som en kile i aktiveringsprocessen. Dette

kunne være en forklaring på den hæmmende effekt, forbindelserne har på GABA<sub>A</sub>-receptorerne.

#### Hvad kan det så bruges til?

Den nye forbedrede receptormodel har indtil videre kunnet forklare de forskelle, der er observeret i bindingsaffinitet for forskellige GABA<sub>A</sub>-hæmmere, og vi er så småt ved at bevæge os i retning af at studere stoffer, der aktiverer receptoren. Målet er at kunne forklare forskellene mellem stoffer, der binder til receptoren, og stoffer der både binder og aktiverer. Samtidig vil vi også gerne rationelt kunne designe stoffer, der kun binder til en enkelt af de ca. 20 forskellige undergrupper af GABA<sub>A</sub>-receptoren, hvoraf mange spiller en helt specifik rolle i hjernen.



Ph.d. Bente Frølund er lektor på Institut for Medicinalkemi  
 Cand.pharm. Tommy Sander er ph.d.-studerende på Institut for Medicinalkemi  
 Ph.d. Henriette Hansen ansat på H. Lundbeck A/S  
 Ph.d. Thomas Balle er lektor på Institut for Medicinalkemi