

> Ari Turunen

Uusilla lääkeainemolekyyleillä SYÖVÄN KIMPPUUN

© Ari Turunen

Rinta- ja eturauhassyöpä ovat yleisimmät syöpätaudit Suomessa. Helsingin yliopiston orgaanisen kemian professori **Kristiina Wähälä** yrittää löytää kasveista aineita lääkemolekyylin rakentamiseksi. Se edellyttää kuitenkin valtaisan määrän tutkimusta, tietokonemallinnuksia ja molekyylikirjastojen seulontaa.

Nais- ja mieshormonit, estrogeeni ja androgeeni vaikuttavat sukupuolisuuden kehittymiseen ihmisellä. Estrogeenien ja androgeenien muodostumisen viimeistä vaihetta nopeuttavat 17beta-Hydroksisteroididehydrogenaasi-perheen entsyymit ja aromataasi. Tutkimusten mukaan näitä entsyymeitä löytyy myös huomattavia määriä rinta- ja eturauhassyöpäkasvaimista. Tästä syystä nämä entsyymit ovat mielenkiintoinen kohde suunniteltaessa uutta lääkeainetta syöpäkasvaimien hoitoon.

"Tutkimme syövän synnyn mahdollisen kemiallisen kontrollin mekanismeja. Tietty syövät ovat sidonnaisia sukupuolihormoneihin. Jos voimme vaikuttaa sukupuolihormoneja tuotaviin entsyymeihin, voimme estää syöpäsolujen kasvun", Wähälä toteaa.

RUOKAVALIOLLA ON MERKITYSTÄ

Rinta- ja eturauhassyöpään sairastuu Suomessa 5000 ihmistä vuodessa. Kasvisruokia ja soijaa suosivassa Japanissa harva kuolee näihin syöpiin. Ruokavalion muuttuminen on yhteyksissä syöpään. Rinta- ja eturauhassyövän syntyä edesauttaa rasvainen ja vähäkuituinen ruoka. Jos olet syönyt varhaislapsuudesta lähtien palkokasveja, soijaa, marjoja ja runsaskuituista viljaa, sinulla on hyvät mahdollisuudet välttää sairastuminen syöpään.

Wähälä on ollut pitkään kiinnostunut kasvimaailmassa olevista potentiaalisista lääkeaineista kuten kasviestrogeeneista. Kasviestrogeenit ovat rakenteeltaan (molekyylin koko, tilavuus ja tasomaisuus) estrogeenien kaltaisia yhdisteitä. Monet kasviestrogeenit ovat tehokkaita antioksidantteja.

"Näitä polyfenolisia kasviestrogeeniyhdisteitä löytyy palkokasveissa ja vihanneksissa ja joitain esiintyy myös tietyissä puissa. Jos tällaisia yhdisteitä saadaan ruokavalioon, syöpä mahdollisesti voidaan torjua", Wähälä toteaa

Kiinnostavimpia kasviestrogeeneja ovat lignaanit ja isoflavonoidit. On jo pitkään tiedetty, että isoflavonoidisissa rakenteissa, kikkerheiden ja soijapavun yhdisteissä, kuten myös lignaaneja sisältävässä rukiissa ja puolukassa on rakenteellisia ominaisuuksia, jotka voivat ehkäistä syöpää estämällä steroideja tuottavia entsyymejä toimimasta syöpäsoluissa. Myös pellavansiemet, viljakasvit ja kokojuvatuotteet sisältävät runsaasti lignaaneja.

"Ennen Suomessa syötiin enemmän ruista ja marjoja. Nyt runsaskuituista ravintoa ei syödä niin paljon. Tosin kokojuvatuotteiden suosio on nyt kasvussa. Täysjyvässä on vielä jäljellä kuorikerroksessa olevaa lignaania. Valkoisissa vehnäjauhoissa tätä kerrosta ei ole."

Tiettyjen kasviestrogeenien ja niiden aineenvaihduntatuotteiden on todettu myös estävän solujen muuttumista pahanlaatuisiksi ja ne hidastavat syöpäsolujen kasvua ja leviämistä.



© Ari Turunen

Puunrungon sisällä olevien oksankohtien on havaittu sisältävän huomattavan suuria määriä erilaisia fenolisia suoja-aineita. Bioaktiivisia aineita voidaan eristää ja hyödyntää lääkkeissä. Kristiina Wähälän mielestä yksi kiinnostava aine on kuusen HMR-lignaani, joka saattaa hidastaa hormonaalisten syöpien kehitystä.

"Ei tiedetä, miksi kasvit tuottavat niitä. Ne voivat olla kasvin stressihormoneja ja meitä kiinnostavia potentiaalisia lääkeainekandidaatteja."

TIETOKONEMALLINNUS NOPEUTTAA LÄÄKEAINEIDEN LÖYTYMISTÄ

Kristiina Wähälän tutkimusryhmä etsii tietokoneiden avulla sopivia lääkeainemolekyylejä. Wähälä on erityisen kiinnostunut kasviestrogeenien ja steroidimolekyylien synteesisistä ja uusien synteesispolkujen suunnittelusta. Lääkeainesuunnittelussa molekyylejä muokataan ja samalla selvitetään miten molekyyli sitoutuu elimistössämme olevaan tiettyyn proteiiniin (reseptori). Jotta sitoutuminen onnistuisi, tämän molekyylin (ligandi) on oltava proteiiniin kuin käsi hanskaan.

"Kasviestrogeenit sitoutuvat löyhästi estrogeenireseptoreihin. HMR-lignaaniin, jota esiintyy mm. kuusen oksan alueilla, kemiallinen kolmiulotteinen rakenne on melkein samanlainen kuin estrogeeneilla, joten ne ja niiden aineenvaihduntatuotteet voivat sitoutua estrogeenireseptoreihin."

Tietokonemallinnuksen avulla voidaan laskea tehokkaasti ja nopeasti hyvät ehdokkaat lääkemolekyyleiksi.

"Tietokonemallinnus nopeuttaa kandidaattien löytämistä ja muokkaamista johtolankayhdisteiksi. Tusina lääkeainekandi-

"TIETYT SYÖVÄT OVAT SIDONNAISIA SUKUPUOLIHORMONEIHIN. JOS VOIMME VAIKUTTAA SUKUPUOLIHORMONEJA TUOTTAVIIN ENTSYIMEIHIN, VOIMME ESTÄÄ SYÖPÄSOLUJEN KASVUN."

daatteja on jo löytynyt. Tietokoneavusteisesti voidaan myös selvittää yhdisteiden myrkyllisyyttä ja sitä miten hyvin ne liukenevat elimistöön. Olennaista on, että elimistö ei ehdi pilkkoa niitä ennen kuin ne ehtivät kohteeseensa. Siksi niitä pitää muokata, jotta estettäisiin niiden pilkkoutuminen."

ENTSYMIEN TOIMINNAN ESTÄMINEN

Elimistön aineenvaihduntaa katalysoivat entsyymit muokkaavat kasviestrogeeneja uusiksi rakenteiksi, joista jotkut ovat biologisesti aktiivisempia kuin alkuperäiset yhdisteet kasveissa. Ne ovat hyvin mielenkiintoisia johtolankayhdisteitä lääkekehityksessä.

"Kasviestrogeenit estävät niiden entsyymien toiminnan, jotka vaikuttavat sukupuolihormonien muodostumiseen. Nämä inhibiittorit ovat suhteellisen pieniä yhdisteitä, jotka sitoutuvat entsyymeihin hormonien esiasteiden sijaan ja näin estävät hormonien syntymisen. Tämä on yksi tapa hoitaa hormoniriippuvaisia syöpäkasvaimia. Siksi entsyymien kolmiulotteisen rakenteen tunteminen on erittäin hyödyllistä uusien inhibiittoreiden suunnittelemiseksi."

Lääkeainesuunnittelijat yrittävät rakentaa tietokoneillaan ns. farmakoforin. Farmakoforit ovat kolmiulotteisia esityksiä esimerkiksi lääkkeen aktiivisuuteen vaikuttavista tekijöistä (esimerkiksi kaksi vetysidosluovuttajaa, yksi vetysidosvastaanottaja ja positiivisesti ionisoituva atomi tiettyssä kolmiulotteisessa järjestyksessä toisiinsa nähden). Entsyymien aktiivisesta paikasta yritetään löytää alueita, jotka ottavat osaa lääkeaineen sitoutumiseen.



© Walter Siegmund

Taksoli löytyi alun perin lännenmarjakuusen (*Taxus brevifolia*, eng. Pacific Yew) kaarnasta, mutta nykyään sitä valmistetaan muista luonnonaineista puolisynteettisesti, jolloin lääkeainetta saadaan nopeammin ja enemmän. Taksoli on kuoresta eristetty solunsalpaaja, joka pysäyttää syöpäsolun jakautumisen 150-vuotiaan marjakuusen kaarna sisältää 300 milligrammaa taksolia. Rintasyöpäpotilaan hoidossa tarvitaan sitä vuoden aikana noin gramma. Yhtä rintasyöpäpotilasta varten pitäisi siis istuttaa neljä marjakuusta.



Markkinoilla olevista syöpälääkkeistä jopa yli puolet sisältää vaikuttavina ainesosina kasviyhdisteitä tai niiden johdannaisia. Useimpia tällaisia rakenteeltaan monimutkaisia yhdisteitä on vaikeaa ja kallista syntetisoida. Esimerkiksi polyfenoleja tunnetaan jo kymmeniä tuhansia, mutta kasvukunnassa arvellaan olevan vielä 20 miljoonaa yhdistettä lisää. Ne ovat tehokkaita antioksidantteja ja myös merkittäviä tulehdusten hoidossa.

”UUDEN LÄÄKEAINEEN KEHITTÄMINEN ON MONITIETEELLISTÄ, AIKAVIEVÄÄ JA KALLISTA PUUHAA. MOLEKYYLIMALLINNUS ON YKSI TEKIJÄ PITKÄN KETJUN ALKUPÄÄSSÄ.”

”Joukosta aktiivisia yhdisteitä voidaan luoda farmakoforimalli, josta saadaan tietoa tutkittavan proteiinin sitoutumispaikasta, vaikka proteiinin rakenne ei olisi selvillä”, toteaa **Sampo Karkola**, joka teki väitöskirjansa lääkeainesuunnittelusta Wähälän tutkimusryhmässä.

Helsingin yliopiston orgaanisen kemian laboratoriossa on valmistettu inhibiittoreita estrogeenia tuottaville entsyymeille. Näin voitiin luoda kolmiulotteinen rakenne-aktiivisuussuhdemalli, jonka perusteella voidaan ennustaa uusien, testaamattomien yhdisteiden aktiivisuus. Farmakoforeja voidaan käyttää yhdistetietokantojen virtuaaliselontaan. Tavoitteena on löytää yhdisteitä, joilla on farmakoforissa esitetyt ominaisuudet ja siten olisivat aktiivisia suhteessa kohde-entsyymiin.

”Tietokantojen läpikäynnin tuloksena saadaan siis yhdisteitä, joilta löytyvät aktiivisuuteen vaadittavat ominaisuudet, mutta joiden kemiallinen rakenne voi olla aivan erilainen kuin esim. tunnetulla proteiiniin sitoutuvalla yhdisteellä. Tämä tarjoaa uusia ideoita lääkeainesuunnitteluun ja voi joissain tapauksissa tuottaa uusia johtolankayhdisteitä.”

AROMATAASIENTSYYMIN MALLI RINTASYÖVÄN TORJUNNASSA

Suomessa on tutkittu paljon miten estrogeeni muuttuu elimistön aineenvaihdunnassa. Kun testosteroni muuttuu estrogeeniksi, sen aktiivinen muoto on estradioli. Jos tämän muutoksen estää, hormoniriippuvaisen syöpäsolan kasvu vaikeutuu ja loppuu. Tietokoneiden avulla voidaan tarkastella, mallintaa, muokata ja rakentaa steroideja ihmiselimistönsä muodostavia ihmisentsyymejä.

Sampo Karkola teki väitöskirjansa aromataasientsyymistä. Se kuuluu CYP450-entsyymien perheeseen, jonka jäsenet osallistuvat elimistöössämme mm. lääke- ja vierasaineiden aineenvaihduntaan sekä steroidihormonien tuotantoon. Karkola tutki monta vuotta aromataasientsyymien aktiivista kohtaa käyttäen pohjana jäniksen CYP450-entsyymien kiderakennetta. Luodun mallin rakenteen varmistamiseksi käytettiin molekyyliidynamiikkasimulaatiota, joka mallintaa entsyymien luonnollista liikettä esim. vedessä. Tällä mallilla saadaan lisää tietoa entsyymien toiminnasta.

”Aromataasientsyymi on elimistön estrogeenitehdas”, Karkola huomauttaa.

”Aromataasientsyymi tuottaa estrogeeneja androgeeneista kolmivaiheisen katalyyttisen reaktion välityksellä. Mikään muu entsyymi elimistöössämme ei pysty vastaavaan reaktioon ja siksi aromataasi on tärkeä tekijä estrogeenien tuotannossa ja siten rintasyövän kehittymisessä. Tuotetut estrogeenit sitoutuvat normaalin solun tumassa oleviin

reseptoreihin ja aiheuttavat solunjakautumisen. Näin tapahtuu myös rintasyöpäkasvaimessa eli estrogeenit pitävät yllä syöpäkasvaimen kasvua. Syöpäkudoksen solut saavat estrogeeninsa paikallisesti, jolloin juuri tämän paikallisen tuotannon rajoittaminen on tärkeää kasvaimen kasvun rajoittamisessa.”

Aromataasientsyymien aktiivipaikan rakenteen mallintaminen alkoi 1980- ja 90-lukujen taitteessa. Silloiset mallit tehtiin bakteerien CYP450-entsyymien pohjalta ja ne olivat hyvin yksinkertaisia johtuen menetelmistä ja vähäisestä laskentatehosta nykypäivään verrattuna. 2000-luvulla luodut mallit on tehty nisäkkäiden CYP450-entsyymirakenteiden pohjalta kehittyneemmällä menetelmällä. Nyt voitiin käyttää hyväksi molekyyliidynamiikkasimulaatioita.

Saadaanko näillä malleilla luotua uusia luotua uusia lääkkeitä?

”Uuden lääkeaineen kehittäminen on monitieteellistä, aikavievää ja kallista puuhaa. Molekyylihallinnus on yksi tekijä pitkän ketjun alkupäässä. Mallinnuksen merkitys on kasvanut viime aikoina, koska mallinnus on halvempaa kuin yhdisteiden valmistus ja testaaminen ja menetelmät ovat kehittyneet huimasti viimeisen kymmenen vuoden aikana”, Karkola korostaa.

”On kuitenkin uskaliaista sanoa, että näillä malleilla saataisiin luotua uusi lääkeaine, mutta mallinnusta käytetään johtolankayhdisteiden ja niiden ominaisuuksien muokkaamiseksi useassa vaiheessa kehitysketjua. Tuloksena voi syntyä uusi lääkeaine.” ■

INFO

LISÄTIETOJA:

Sampo Karkola: Molecular Modelling of Estrogen-Producing Enzymes CYP450 Aromatase and 17beta-Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 <https://oa.doria.fi/handle/10024/434>

S. Karkola, A. Lilienkampff, K. Wähälä. A 3D-QSAR model of 17β-HSD1 inhibitors based on a thieno [2,3-d]pyrimidin-4 [3H]-one core applying molecular dynamics simulations and ligand-protein docking. ChemMedChem. 3, 2008, 461-472.

Karkola, S. and Wähälä, K. The Binding of Lignans, Flavonoids, Coumestrol to CYP450 Aromatase. A Molecular Modelling Study Mol. Cell Endocrinol. 301 (2009), 235-244.

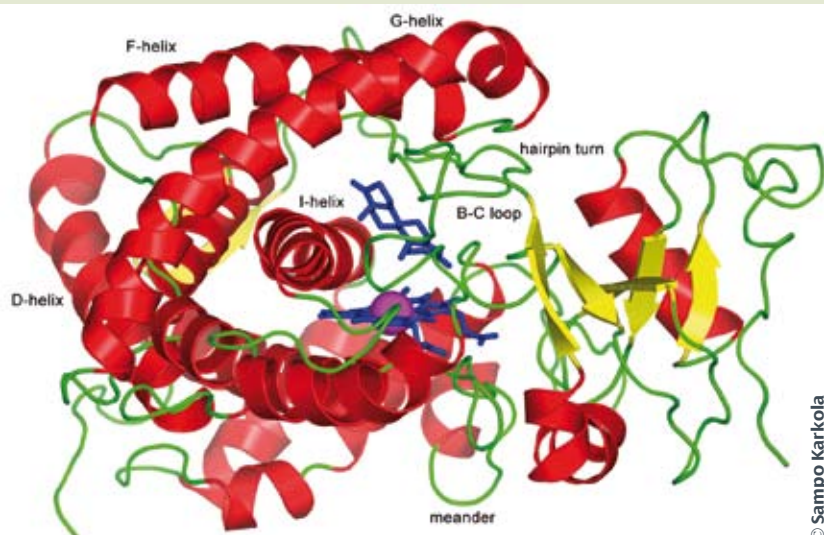
S. Karkola A. Lilienkampff and K. Wähälä: Chapter 13, Phytoestrogens in drug discovery for controlling steroid biosynthesis. in Recent Advances in Polyphenol Research. Vol. 1. Eds F. Daayf and V. Lattazio. Blackwell Publishing Ltd., 2008, 293-316.

<http://www.helsinki.fi/kemia/orgaaninen/index.htm>

http://www.csc.fi/tutkimus/ohjelmistot_ja_tietokannat/index_html

OHJELMISTOT PROTEIINIMALLIN RAKENTAMISEEN

Proteiinimallin rakennuksessa tarvittiin ohjelmistoja, joilla voidaan käsitellä usean entsyymien sekvenssiä ja rakennetta samaan aikaan (Discovery Studio, SYBYL Triposilta, Schrödinger, MOE). Useimpia tutkimuksessa käytettyjä mallinnohjelmistoja pääsee käyttämään CSC:n tekemien sopimusten kautta. CSC:n superkoneresursseja käytettiin molekyyliidynamiikkasimulaatioihin eli proteiinien liikkeen mallintamiseen vesiympäristössä. Työ vie aikaa useamman prosessorin koneissa eikä silti päästä aikaskaaloihin, joita kokeellisesti havaitaan.



© Sampo Karkola

Aromataasientsyymien malli.

”SYBYL-ohjelmisto on erityisesti lääkeainemallinnukseen kehitetty tehokas molekyylihallinnusympäristö. Sybylin kehityksen takana on vuosien työ ja ohjelmistotoimittaja Tripos on aktiivisesti mukana kuuntelemassa tutkijoiden toiveita”, kertoo CSC:n SYBYL-konsortion koordinoija **Johanna Blomqvist**.

SYBYL-konsortioon kuuluu kymmenen tutkimusryhmää Suomessa. Ryhmät tekevät lääkeainemallinnusta syövän lisäksi mm. ikääntymisen, Parkinsonin taudin ja MS-taudin torjuntaan.

Lääkeainemallinnuksessa pyritään löytämään sopivia lääkeainekandidaatteja tiettyyn lääkevaikutuskohteeseen, yleensä proteiiniin. Proteiinin (esimerkiksi entsyymi) tietokonemallia voidaan käyttää uusien aktiivisten molekyylien etsimiseen ja/tai tutkittavien molekyylien ominaisuuksien parantamiseen eli optimointiin. Mallia voidaan myös käyttää virtuaaliselontaan, jossa yhdistetietokannoista etsitään uusia mahdollisesti sitoutuvia molekyyliä. Sybyl-ohjelmisto sisältää joukon erilaisia työkaluja kaikkeen tähän. ■