

# TARGET ORIENTED LIBRARY PLATFORM

## ÚJ FÓKUSZÁLT SZIGMA RECEPTOR MOLEKULAKÖNYVTÁRAK TERVEZÉSE ÉS ELŐÁLLÍTÁSA

BERTÓK Béla<sup>1\*</sup>, DORMÁN György<sup>2</sup>, VÁRKONYI Zoltán<sup>1</sup>, MAGYAR Csaba<sup>3</sup>, KŐHIDAI László<sup>4</sup>, LÁNG Orsolya<sup>4</sup>,

<sup>1</sup>ComInnex Zrt., H-1031 Budapest, Záhony utca 7.; <sup>2</sup>Innostudió Zrt., H-1031 Budapest, Záhony utca 7.; <sup>3</sup>Magyar Tudományos Akadémia Természettudományi Kutatóközpont Enzimológiai Intézet, H-1117 Budapest, Magyar Tudósok Körútja 2.; <sup>4</sup>Semmelweis Egyetem, H-1085 Budapest, Üllői út 26.

### BEVEZETŐ

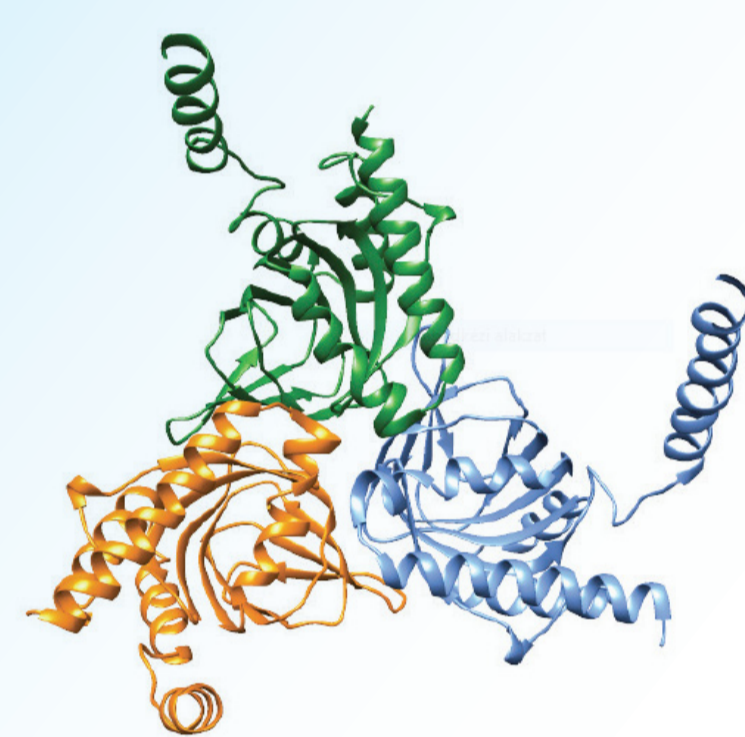
ComInnex Zrt. az új molekulakönyvtárak és kémiai szintézisek specialistája. A vállalat új molekulákat és vegyület könyvtárakat tervez és állít elő. Az új könyvtárakkal szemben támasztott igények a korábban meghatározó kémia és HTS irányított molekulatervezés helyett egyre inkább a biológia vezérelt molekulák és könyvtárak felé fordult. Az új hitek keresése ezen keresztül sokkal hatékonyabb. Egyre pontosabbak az in silico modellezési és tervezési platformok, ezek lehetővé teszik egy adott célpontra fókuszált aktív molekulakönyvtárak virtuális tervezését. ComInnex in silico tervezett, targetekhez rendelt és előszűrt molekulakönyvtárakat és együttműködést ajánl potenciális partnereinek. A prezentáció egy aktuális példán keresztül röviden bemutatja az alkalmazott target orientált könyvtár tervezési platformot és a tesztlesek során kapott eredményeket, ami alapján új gyógyszerek felé nyílnak út.

### CÉL

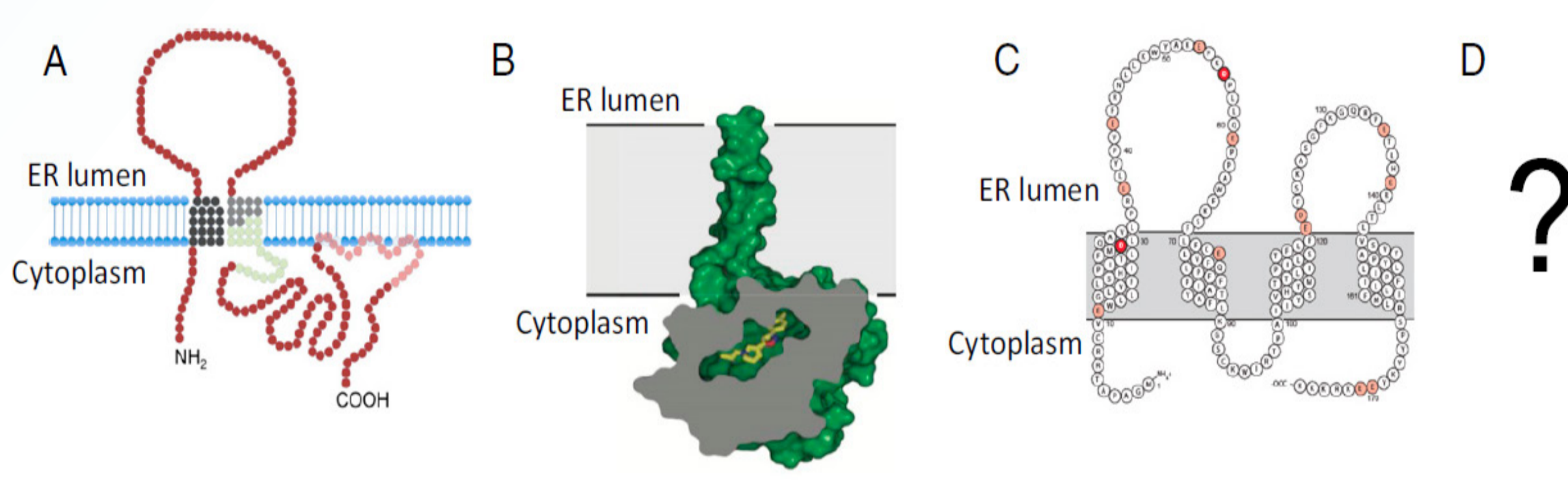
**Új szigma1 receptor molekulakönyvtárak tervezése, előállítás, melyek biztonságosan, tumor proliferáció veszélye nélkül, szelektíven alkalmazhatóak központi idegrendszeri betegségek, illetve apoptózis indukción keresztül rák kezelésében, valamint az alapvető biokémiai mechanizmusok tisztázásában.**

### SZIGMA RECEPTOROK

Számos alapvető folyamat szabályozásában vesznek részt, ennek ellenére sok szempontból még nem teljesen tisztázott a szerepük. Az azonban egyértelműen látszik, hogy sok betegség kialakulása és lefolyása köthető hozzájuk, így pl. részt vesznek a központi idegrendszeri folyamatok, az ioncsatorna működés, az apoptózis indukció és a sejt proliferáció szabályozásában. Bebizonyosodott, hogy nem sorolhatók az opioid receptorok közé. Kiderült, hogy legalább két formában szigma1 és szigma2 változatban léteznek. A  $\sigma_1$  receptor kristályszerkezetét nemrég sikerült meghatározni (1. ábra)<sup>1</sup>, viszont a  $\sigma_2$  receptor még nem ismert (2. ábra)<sup>2</sup>. A  $\sigma_2$  receptor kötődését egyelőre a kaszpáz-3 enzim kiváltott biológiai hatás alapján nevesítik<sup>3</sup>.



1. ábra, 5HK1  $\sigma_1$  receptor



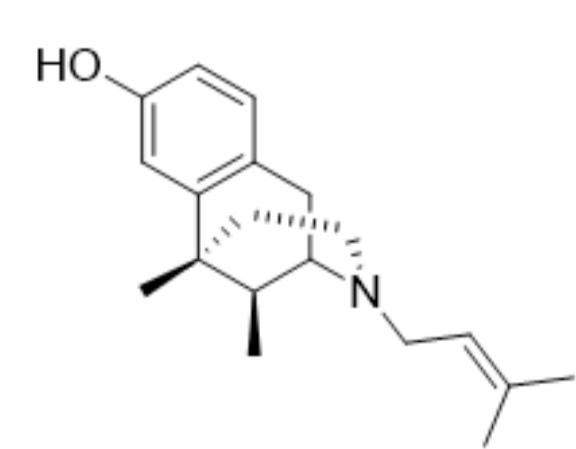
2. ábra, A, B:  $\sigma_1$ , C, D:  $\sigma_2$  receptor topológia és kristályszerkezet

### LIGANDUM AGONISTA VAGY ANTAGONISTA, ESETLEG MODULÁTOR?

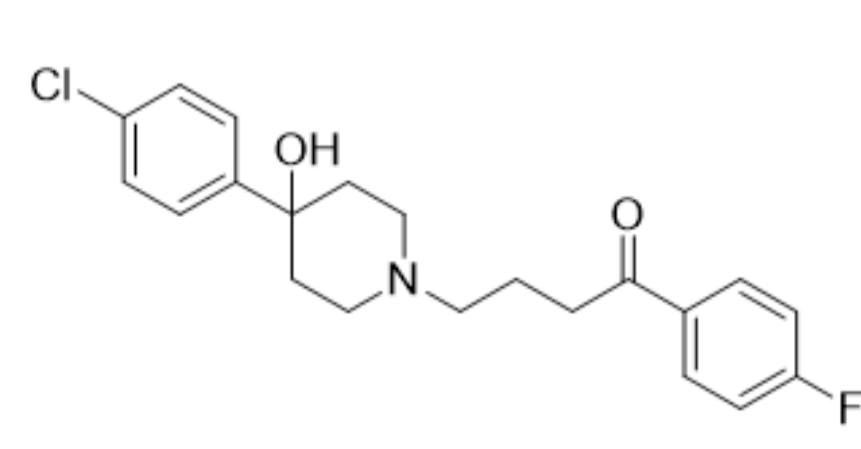
Jelen tudásunk szerint sem a  $\sigma_1$  sem a  $\sigma_2$  nem rendelkezik beazonosított természetes ligandummal. A receptoron potenciálisan aktívnak mutató molekulák besorolása, hogy agonistaként vagy antagonistaként hatnak, szintén gondot okoz, sok esetben még ma is csak ligandumként vagy újabban modulátorként jellemzik őket. A targetjeiket egyes kutatók ma már nem is direkt receptorként, hanem **alloszterikus kötőhelyként** kezelik<sup>4</sup>. Vizsgálatok szerint a  $\sigma_2$  receptorok a rákos sejtekben jellemzően a normálisnál magasabb arányban vannak jelen, így tumor markerként is használhatók. Konszenzus van arról, hogy jó célpontok lehetnek új gyógyszerek kifejlesztésére, habár a  $\sigma_1$  **agonista Pentazocine esetén tumor proliferációt tapasztaltak, így a ligandum típus és a kötődési helyének ismerete alapvető**. Néhány ismertebb agonista, illetve antagonisták gyógyszer hatóanyagot és hatásukat az 1. táblázatban foglaljuk össze.

Receptor	Agonista	Agonista
Sigma-1	"Sigma-1 receptor agonists as potential therapeutic drugs for the treatment of cognitive impairment in schizophrenia and psychotic depression." , <i>Curr Pharm Des.</i> <b>2012</b> , 8(7), 875-83.	E-52862, szigma-1 receptor antagonist, klinika phase II, neuropátiás fájdalomcsillapítás. Esteve EP2353591, EP2415471, US2011112095
	(+) Pentazocine	Haloperidol
Sigma-2	Siramesine enyhe neuropátiás fájdalomcsökkentő, <i>ACS Chem Neurosci.</i> , <b>2017</b> , 8(8), 1801-1811	Apoptózis kiváltás. "The sigma-2 receptor has been identified as a biomarker in proliferating tumors. To date there is no well-established functional assay for defining sigma-2 agonists and antagonists." <i>Anal Biochem</i> , <b>2014</b> , 448, 68-74.
	Siramesine, Haloperidol	?

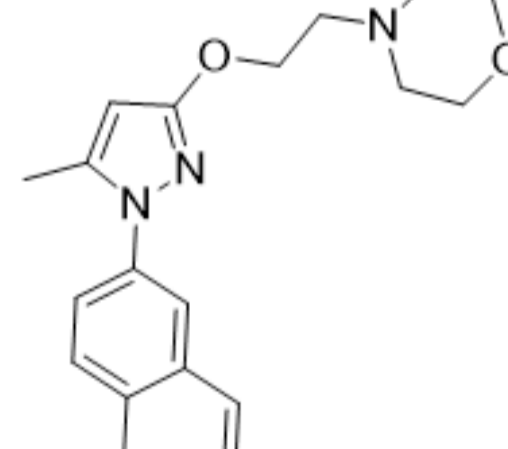
**Sigma-1 and Sigma-2 receptor ligands ((+) Pentazocine vs Haloperidol) "induce apoptosis and autophagy but have opposite effect on cell proliferation in uveal melanoma", *Oncotarget*, 2017, 8(53), 91099-91111.**



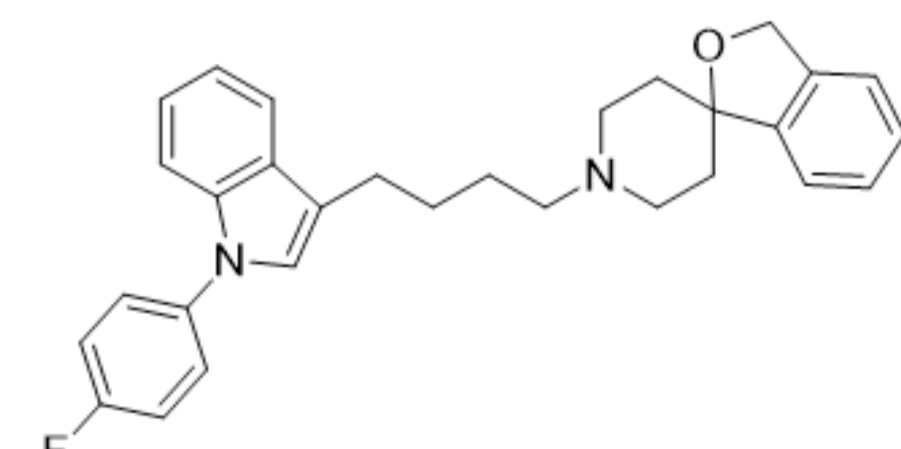
(+)-Pentazocine



Haloperidol



E-52862 (Esteve, 2008)



Siramesine

### SZELEKTIVITÁS

Az eredmények azt mutatják, hogy a ligandumok mindkét receptorhoz képesek kötődni, habár célzott szerkezetekkel kellő szelektivitás érhető el. A már felderített  $\sigma_1$  kristályszerkezet alapján a receptor kötődés in silico modellezhető<sup>5</sup> és farmakofor modellek építhetők.

Idézett irodalmak:  
1) Nature, 2016,532(7600), 527-530.  
2) Proceeding of the National Academy of Science, 2017,114(27),6888-6890.

3) Anal. Biochem, 2014,448,68-74.  
4) Frontiers in Pharmacology, 2019,10,1-17.

5) J.Med.Chem.,2012, 55, 8047-65.  
6) Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 2012, 22(17), 5493-5497

\* Kapcsolat: [bela.bertok@cominnex.com](mailto:bela.bertok@cominnex.com)

Köszönettel tartozunk a Nemzeti Kutatási és Fejlesztési Innovációs Hivatalnak az NVKP16-1-2016-0036 pályázat keretében projekthez nyújtott támogatásért. Külön köszönötünket fejezzük a Chemico Kft.-nek a rendelkezésünkre bocsátott Schrödinger szoftverekért.

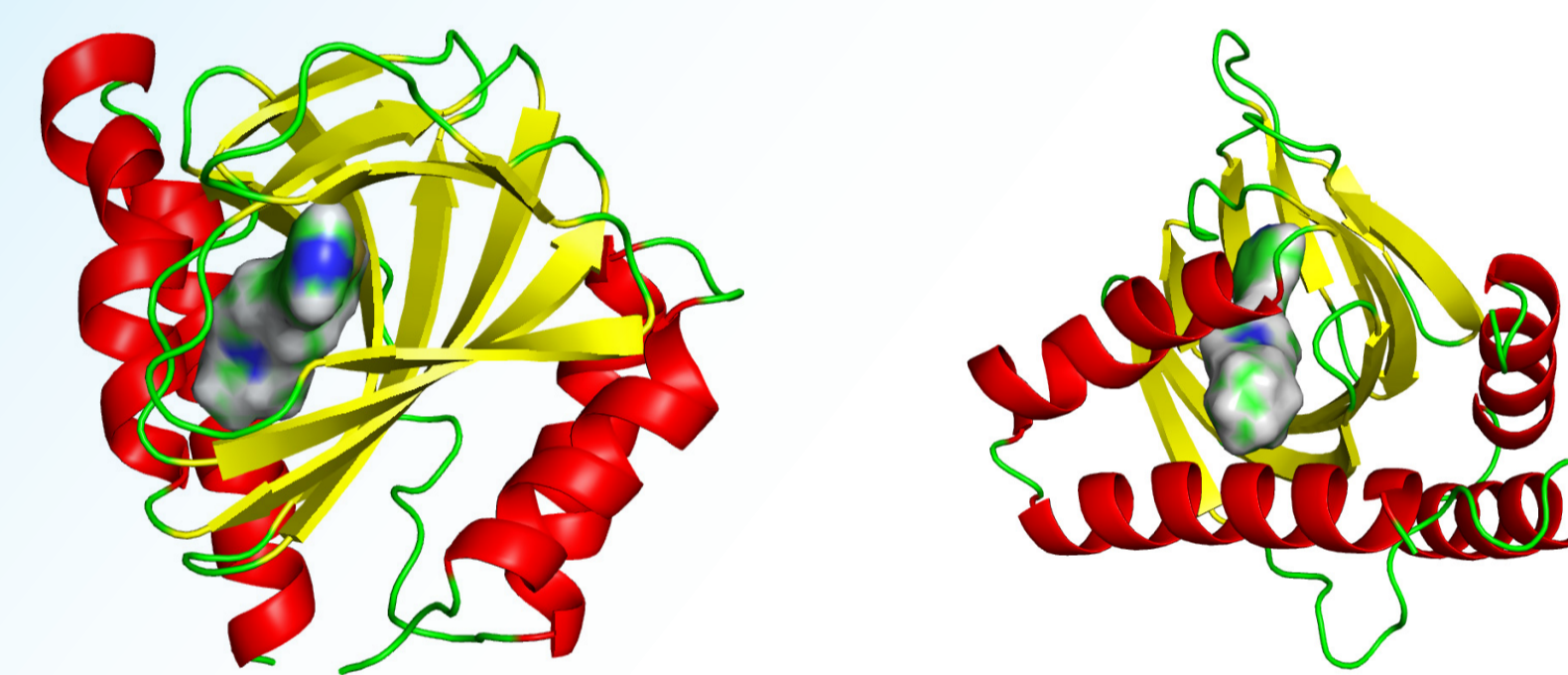
### ÚJ FÓKUSZÁLT KÖNYVTÁR TERVEZÉSI FOLYAMATA



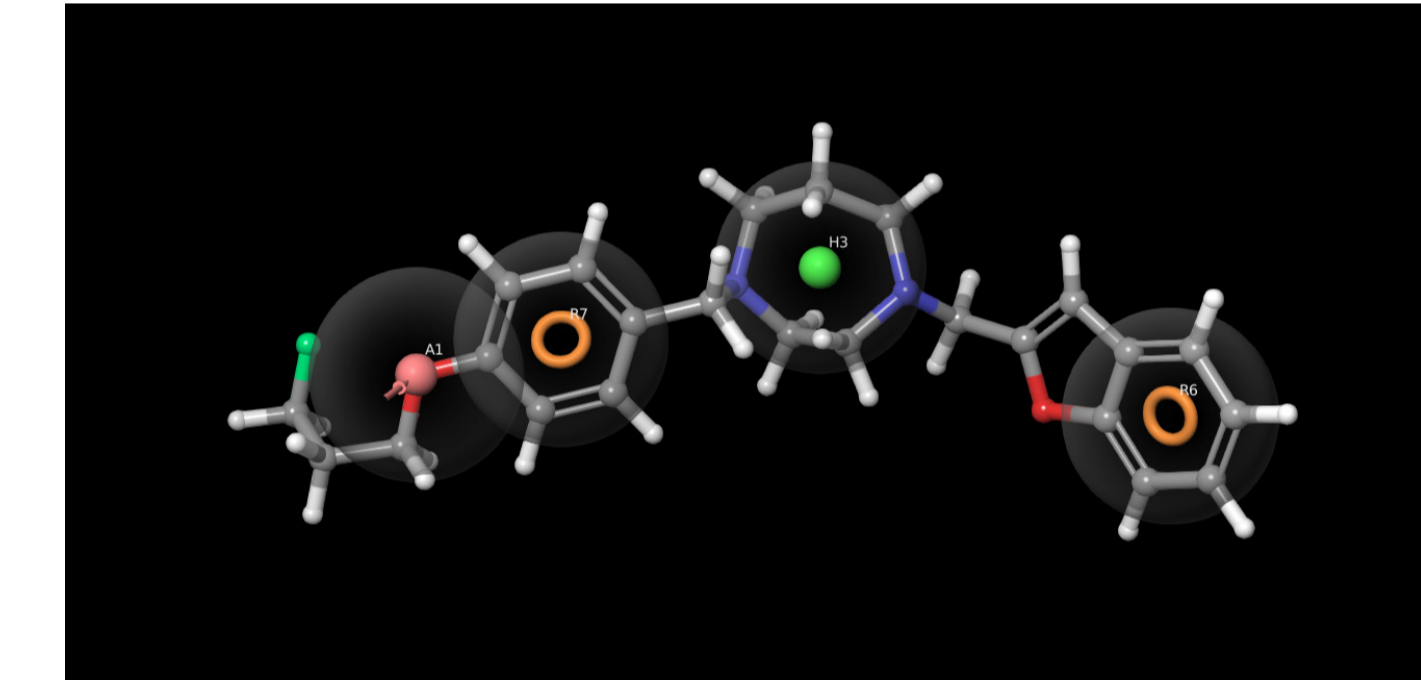
3. ábra, tervezés és validálás fő lépései

### IN SILICO MODELLEZÉS ÉS SZŰRÉS

Az 5HK1 receptor szerkezetet választottuk ki a PDB adatbázisban elérhető  $\sigma_1$  receptor szerkezetek közül több szigma1 PDB szerkezetben található ligandum kereszt-dokkolási eredményei alapján. Néhány kiválasztott ligandum esetében Induced Fit Docking számítások segítségével optimalizáltuk a kötőhely szerkezetét. Az optimalizált kötőhelyekbe a Schrödinger Glide SP program segítségével vegyület és fragmens könyvtárakat dokkolunk. A legígéretesebb hiteket kiszűrtük és a felállított farmakofor modell alapján új molekulákat terveztünk. Az új szerkezetekből könyvtárakat képeztünk, fiz-kém paraméterek alapján leszűrtük a kémiaiag kivitelezhető eredeti molekulákat a modell alapján visszadokkoltuk, majd MM-GBSA számítások segítségével újra rangsoroltuk.

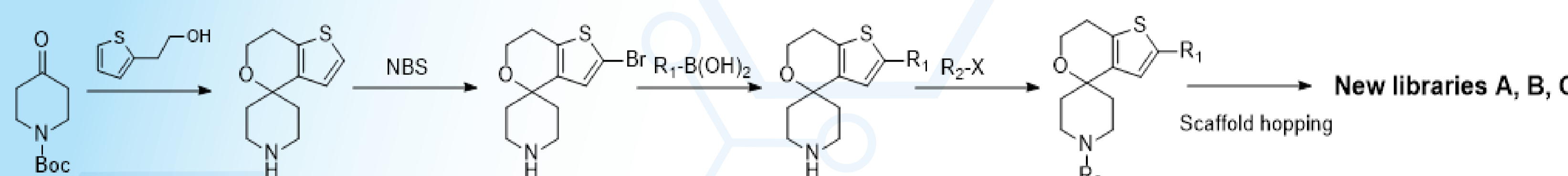


4. ábra, CI7-8 molekula 5HK1  $\sigma_1$  receptor kötődése



5. ábra, farmakofor modell a 6) cikk 19 vegyülete alapján

### PÉLDAKÖNYVTÁR A, B ÉS C SZINTÉZISE



6. ábra, a, B és C könyvtárak szintézisének összefoglalója

### REPRESENTATÍV KÖTŐ MOLEKULÁK DOKKOLÁSI ÉRTÉKEI, JELLEMZŐI

Molekula	MM-GBSA $\Delta G$ (kcal/mol)	MW	HBA	HBD	LogP	Fsp3	TPSA	Rotable Bonds
CI7-7	-81,8	391,5	4	1	3,07	0,35	51,4	3
CI7-8	-89,0	382,6	3	0	4,29	0,61	25,4	3
Haloperidol	-84,4	375,9	3	1	3,66	0,38	40,5	6

2. táblázat, kiemelkedő vegyületek adatai a referencia haloperidolhoz hasonlítva

### REPRESENTÁNSOK CITOTOXICITÁSI VIZSGÁLATA 4 TUMOR SEJTVONALON

GSI KÓD	PANC1			A2058 - Melanoma			Colo205- Colon			EBC1 - Lung		
	10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-6</sup> M	10 <sup>-4</sup> M	10 <sup>-5</sup> M	10 <sup>-6</sup> M
CI7_7	24	48	72	24	48	72	24	48	72	24	48	72
CI7_8	17	16	16	90	95	64	23	11	9	97	99	108
CI7_8	11	10	9	90	93	86	27	15	13	102	97	96
CI7_8	37	18	14	96	75	53	48	22	14	91	86	70

3. táblázat, hasnyálmirigy, melanoma, vastagbél és tüdő tumor sejtek viabilitása - (kontroll 100%)

### KONKLÚZIÓ ÉS ÖSSZEFOGLALÁS

A reprezentatív új vegyületek a viabilitási és citotoxicitási tesztek (Flow Cytometry és Alamar Blue mérések) alapján több rákos sejtvonalon is apoptózist váltottak ki, a tumor proliferációt gátolták. Tumor gátlásban kifejtett hatásuk és a modell eredményei korrelálnak. Az új könyvtárak alkalmasak lehetnek új CNS, illetve rákgyógyszerek kifejlesztésére. A ComInnex által kidolgozott és bevezetett rendszer igazolta alkalmazását új célzott könyvtárak tervezésére és előállítására. A módszerrel több eredeti könyvtár és több ezer virtuális molekula áll rendelkezésre potenciális partnereinknek.