

**Drug Design - Bezüge zum Schulunterricht und experimenteller Zugang
- Zwischenmolekulare Wechselwirkungen und Basiskonzepte -**

Die medizinische Chemie bzw. das Thema „Arzneistoffe“ sind sowohl klassische als auch immer wieder beachtete und hochaktuelle Inhalte des Chemieunterrichts (CU). Aufgrund ihres hohen Lebensweltbezugs und ihrer Interdisziplinarität bieten sie sich im besonderen Maße dazu an, Faszination für und Interesse an den Naturwissenschaften und insbesondere der Chemie zu wecken. Der eigentliche Kern der Thematik war bisher jedoch nicht prägnant für den CU erarbeitet worden, nämlich die zielgerichtete Variation der molekularen Struktur des Wirkstoffmoleküls zur systematischen Erhöhung der Gesamtbindungsaffinität an sein Zielmolekül im Organismus (Scheffel *et al.*, 2007; Klebe, 2009).

Zentrale Konzepte sind dabei die intermolekularen Wechselwirkungen und die molekulare Erkennung zwischen Molekülen. Anhand eines der *Community* unterbreiteten Vorschlags (Hoffmann *et al.*, 2020) können diese ein Modellsystem bestehend aus Trypsin (Zielprotein, *Target*) und mehreren Amin-Bindern (Inhibitoren, *Ligands*) im CU erschlossen werden. Dabei wurde der klassische und bewährte Ansatz des durch die Schülerinnen und Schüler (SuS) durchführbaren Experiments (im Mikromaßstab) gewählt, welches sich in den zeitlichen Rahmen einer Doppelstunde einfügen lässt. Durch Zusatz von *L*-BANA (*N*- α -Benzoyl-*L*-arginin-4-nitroanilid), einem chromogenen Substrat von Trypsin in Assays zur Messung seiner enzymatischen Aktivität (Erlanger *et al.*, 1961), kann seine Aktivität mit dem blossen Auge oder alternativ UV-VIS-spektrometrisch in der Schule verfolgt werden. Trypsin bewirkt die Hydrolyse von *L*-BANA, wobei der gelbe Farbstoff *para*-Nitroanilin freigesetzt wird (Abb. 1).

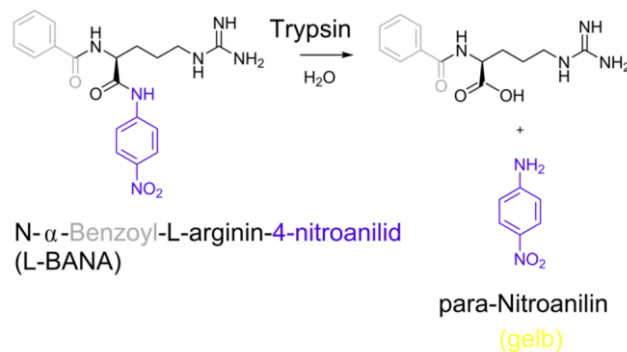


Abb. 1: Hydrolyse von *L*-BANA und Freisetzung des gelben *para*-Nitroanilins

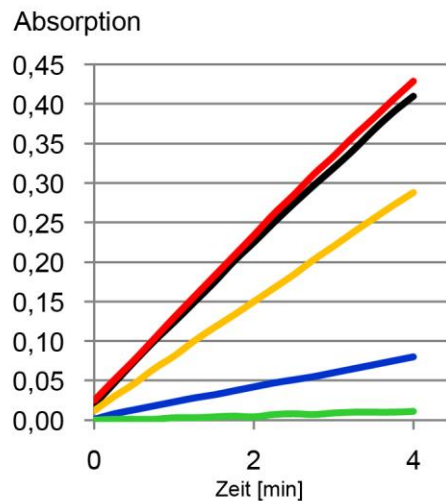
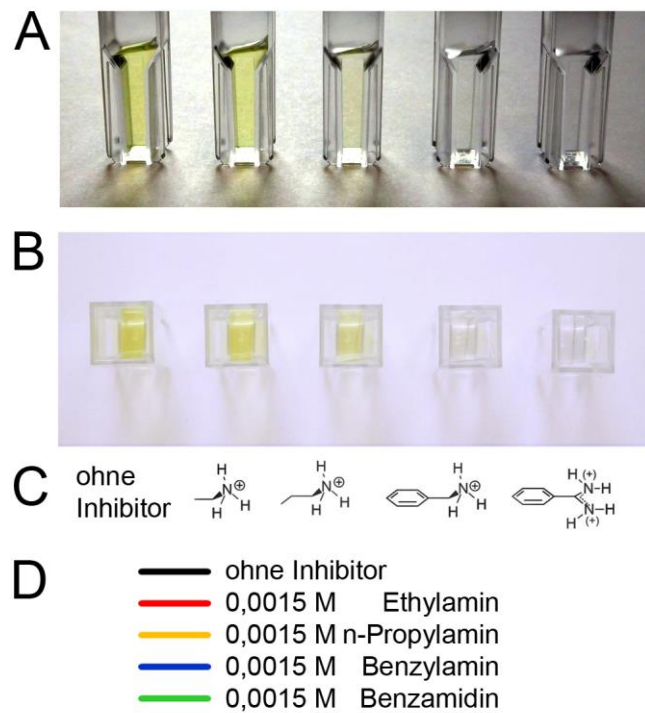


Abb. 2: Visuelle Beobachtung des Trends der Gelbfärbung (A,B) und UV-VIS-spektrometrisches Verfolgen der Hydrolyse (D), bei Zusatz der unter C gezeigten (protonierten) Amine. Informationen zur Durchführung: Nutzung von Stammlösungen und Verdünnungsreihen, TRIS-Puffer mit pH = 8,15, Bereithaltung der Trypsinlösung auf Eis, jew. 30 min Inkubationszeit, L-BANA-Zusatz jew. 0,000.015M, Inhibitor-Zusatz jew. 0,015M.

Je höher die Gesamtbindungsaffinität des zugesetzten Hemmers ist, desto langsamer erfolgt die Hydrolyse und Gelbfärbung der Lösung aufgrund der Konkurrenz um die Bindungsstelle (Abb. 2). Aufgrund des mikroskaligen Experiments ist die Durchführung inherent sehr sicher und kostengünstig.

Der experiment-basierte Unterricht kann flankiert werden durch die begleitende und kostenlose Nutzung der *Protein Data Bank* der *Royal Chemical Society* (*RCSB Protein Data Bank*) zur Visualisierung der Inhalte: Durch dreidimensionale Betrachtung von dort hinterlegten Enzym-Ligand-Co-Kristallstrukturen wird das schrittweise Ausfüllen des „höhlenartigen“ aktiven Zentrums des Enzyms („Schlüssel-Schloss-Prinzip“) bei einer jeweils auftretenden Erhöhung der Gesamtbindungsaffinität greifbar.

Die Additivität der Bindungsbeiträge kann im Rahmen der im Gymnasialkontext relevanten zwischenmolekularen Wechselwirkungen, (i) Van der Waals-Kräfte, (ii) Wasserstoff-Brückenbindungen, (iii) Dipol-Dipol-Wechselwirkungen im allgemeinen und (iv) ionische Bindungen („Salzbrücken“), verstanden und um den Hydrophoben Effekt (Koolman & Röhm, 2003) ergänzt werden. Ein visueller Vorschlag der didaktischen Reduktion wird dabei ins Zentrum der Betrachtungen gestellt (Abb. 3, Erlanger *et al.*, 1961; Inagami & Murachi, 1963; Inagami, 1964; Mares-Guia & Shaw, 1965; Marquart *et al.*, 1983; Ota *et al.*, 1999; Di Fenza *et al.*, 2007).

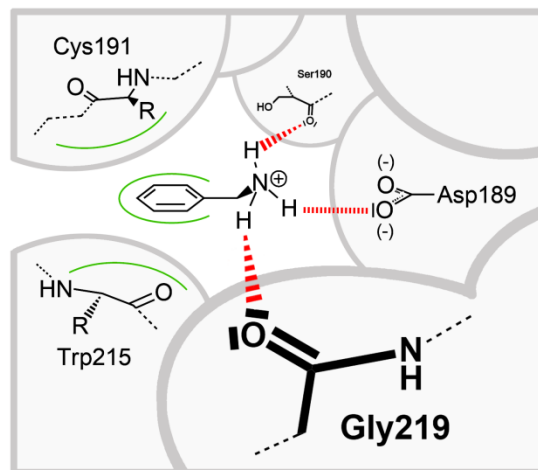


Abb. 3: Schematische Darstellung von Benzylammonium in der Bindetasche von Trypsin. (Ladungsverstärkte) Wasserstoffbrücken sind rot und hydrophile Bereiche sind grün gezeigt.

Die obligatorischen Basiskonzepte des CU können anhand oder eng verzahnt mit der Thematik behandelt und vertieft werden: Nur beim Passen und bei der richtigen räumlichen Ausrichtung des Wirkstoffs in die Bindetasche („Struktur-Eigenschaften“) resultiert eine effektive Wechselwirkung durch energetisches Absenken der Situation („Energie“), wobei u.a. H-Brücken und deren Ladungsverstärkungen auftreten („Donator-Akzeptor“).

Außerdem wird Lehr-Lern-Material zur Abrundung der Unterrichtseinheit (für leistungsstarke Lerngruppen) vorgeschlagen. Der Unterricht kann ergänzt werden um weitere Vorgehensweisen und „Regeln“ des so genannten *Drug Designs* (Klebe, 2009; Graham, 2013): Rigidisierung (bspw. zur Verringerung von Nebenwirkungen), *Induced fit* (Veränderung der Geometrie des Zielmoleküls „vergleichbar mit einer in einen Handschuh gesteckten Hand“, *Prodrugs* (die zum eigentlichen Wirkstoff metabolisiert werden) und Bioisosterie (Ersatz funktioneller Gruppen durch solche mit ähnlicher „Wirkung“).

Literatur

- Di Fenza, A., Heine, A., Koert, U., Klebe, G. (2007). Understanding Binding Selectivity toward Trypsin and Factor Xa: the Role of Aromatic Interactions. *ChemMedChem* 2, 297–308
- Erlanger, B. F., Kokowsky, N., Cohen, W. (1961). The Preparation and Properties of Two New Chromogenic Substrates of Trypsin. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 95, 271–278
- Graham, L. P. (2013). *An Introduction to Medicinal Chemistry*, fifth Ed. Oxford University Press, Oxford.
- Hoffmann, H., Tausch, M.W., Lühken, A. (2020). *CHEMKON*, 27, Nr. 3, 107-114
- Inagami, T. (1964). The Mechanism of the Specificity of Trypsin Catalysis – Inhibition by Alkyl Ammonium Ions. *The Journal of Biological Chemistry* 239/3, 787–791
- Inagami, T., Murachi, T. (1963). Induced Activation of the Catalytic Site of Trypsin. *J. Biol. Chem.* 238/5, 1905–1907
- Klebe, G. (2009). *Wirkstoffdesign. Entwurf und Wirkung von Arzneistoffen*, zweite Auflage. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg.
- Koolman J., Röhm, K.-H. (2003). *Taschenatlas der Biochemie*, dritte Auflage. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.
- Mares-Guia, M., Shaw, E. (1965). Studies on the Active Center of Trypsin. *The Journal of Biological Chemistry* 240/4, 1579–1585
- Marquart, M., Walter, J., Deisenhofer, J., Bode, W., Huber, R. (1983). The Geometry of the Reactive Site and of the Peptide Groups in Trypsin, Trypsinogen and Its Complexes with Inhibitors. *Acta Crystallographica Section B*, 39, 480–490
- Ota, N., Stroupe, C., Ferreira-da-Silva, J. M.S., Shah, S. A., Mares-Guia, M. (1999). Non-Boltzmann Thermodynamic Integration (NBTD) for Macromolecular Systems: Relative Free Energy of Binding of Trypsin to Benzamide and Benzylamine. *PROTEINS: Structure, Function and Genetics* 37, 641–653
- RCSB Protein Data Bank, <https://www.rcsb.org/> (letzter Zugriff: 30.10.2021)
- Scheffel, L., Hallerbach, K., Parchmann, I. (2007). Drug Design im Chemieunterricht. *NiU-Ch* 102/18, 43– 45