

Oplosmiddelen van  
**Gewoon  
de beste  
oplossing.**



- Optimale toepassing in elk bereik
- Voor elke toepassing het geschikte oplosmiddel
- Gelijkblijvende hoge kwaliteit voor betrouwbare analysesresultaten
- Een redelijke prijs bij de hoogste kwaliteit

Wij zijn experts op het gebied van chemicaliën, laboratoriumbehoeften en Life Science.

Contact Nederland:

Tel. 01 80 51 67 04 · [www.carlroth.nl](http://www.carlroth.nl)

Contact België:

Vlaanderen & Brussel:

Tel. 03 283 47 10

Wallonie & Bruxelles:

Tel. 080 447 958

[www.carlroth.be](http://www.carlroth.be)



# Helixmimetica met een twist

*Eiwit-eiwitinteracties moduleren staat steeds meer in de belangstelling in de farmaceutische industrie. Helixmimetica speelt daarin een belangrijke rol.*

‘In de medicinale chemie kijken we steeds meer naar de modulatie van eiwit-eiwitinteracties en eiwit-DNA-interacties’, zegt Wim de Borggraeve, hoofd van het lab MolDesignS van de KU Leuven. ‘Die interacties liggen aan de basis van tal van biologische regulatiepaden. De farma liet ze tot voor kort links liggen. De industrie dacht namelijk dat ze niet zouden zijn toe te passen voor medicijnontwikkeling.’ Ze ging ervan uit dat een *small molecule* nooit de competitie zou kunnen aangaan met een eiwit in een eiwit-eiwit of eiwit-DNA-interactie. ‘Ondertussen heeft onderzoek het tegendeel bewezen en zijn er zelfs verschillende producten in klinische ontwikkeling.’

Je kunt potentiële modulatoren onder meer vinden door bibliotheken met chemische verbindingen te screenen. Maar die benadering heeft weinig succes. Bibliotheken bestaan namelijk vaak uit moleculen die een klein interactieoppervlak bestrijken (van 300 tot 1.000 Å<sup>2</sup>). Terwijl modulatoren juist de interactie tussen twee eiwitten moeten verhinderen. En het interactieoppervlak daarvan is veel groter (1.000 tot 6.000 Å<sup>2</sup>).

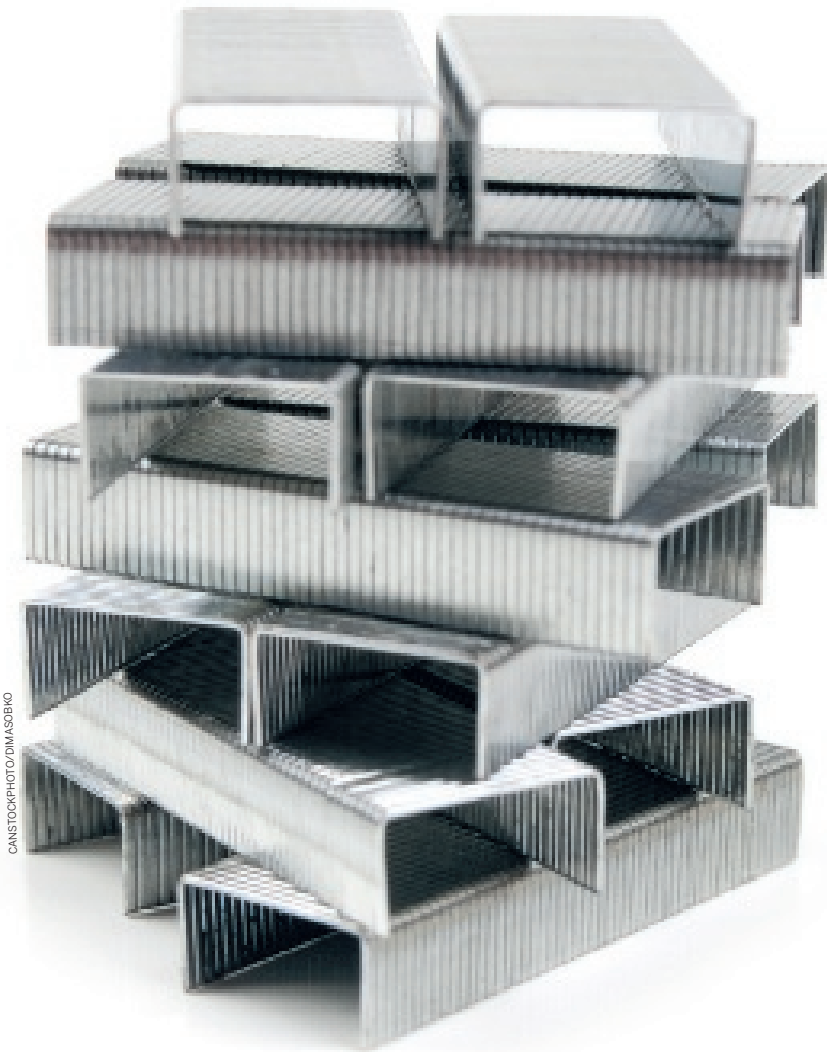
## Extra stabilisering

Onderzoekers focussen steeds vaker op het interactieoppervlak tussen eiwitcomplexen zelf. In meer dan de helft van de gevallen zijn  $\alpha$ -helices essentieel voor de binding. Als je die helixstructuren kunt nabootsen, kun je veel gerichtere modulatoren maken. Het nabootsen gebeurt door peptidomimetica te maken. Dit vakgebied is zelf niet nieuw, maar vindt wel steeds meer toepassing bij de creatie van modulatoren voor

een eiwit-eiwit- of eiwit-DNA-interactie (kortweg PPI of PDI).

Als je zo'n eiwit reduceert tot alleen de helixvormende sequentie gaat vaak de helixstructuur verloren. ‘Interacties van andere domeinen stabiliseren een helix in een eiwit. Als je het peptide simpelweg uit het eiwit knipt en dit namaakt, dan heb je die extra stabilisering niet meer en ontvouwt het’, legt Annemieke Madder uit. Zij is hoofd van de onderzoeksgroep organische en biomimetische chemie van de Universiteit Gent. Je moet de helixmimetica dus chemisch stabiliseren. Madder en haar collega's gebruiken daarvoor *peptide stapling* (nieten). ‘Wij leggen de helixstructuur vast door de juiste aminozuren aan dezelfde zijde van de helix covalent met elkaar te verbinden. Dit kan bijvoorbeeld elke twee of drie *turns* van de helix. Je zet dus als het ware een nietje over de turns, zodat de helixstructuur intact blijft’, vertelt Madder. Sommige stapling-technieken gebruiken onnatuurlijke aminozuren als geniete bouwstenen. Madders groep houdt het bij natuurlijk voorkomende cysteïne-aminozuren, mede met het oog op de toxiciteit die de onnatuurlijke varianten met zich kunnen meebrengen. ‘Wij introduceerden steeds twee cysteïnes op correcte posities en koppelden ze aan elkaar via alkylering met bifunctionele aromatische linkers.

*‘Je zet als het ware een nietje over de turns’*



CANSTOCKPHOTO/DIMASBEKO

Hiervoor kozen we peptidesequenties die veel voorkomen in het interactieoppervlak van DNA-bindende eiwitten. Onze mimetica kan dus uiteindelijk een PDI gaan moduleren, in ons geval van de transcriptiefactor GCN4 met DNA.’

### Minimalistische benadering

Het kan ook compleet anders. Helixmimetica kun je ook maken via de novo-ontwerp. De Borggraeve en zijn groep volgen hiervoor de minimalistische benadering. ‘Dit doen wij door puur te focussen op die elementen in het peptide die de interactie aangaan met het eiwit. Vaak zijn dat de zijketens van aminozuren die aan eenzelfde kant van de helix zitten. Wij proberen niet-peptide-structuren te ontwikkelen die gedecoreerd zijn met de zijketens van de aminozuren op cruciale posities van de helix. We spreken dan van minimalistische helixmimetica. De helix brengen we terug tot de interagerende zijketens.’

Voor de structuur van de verbindingen heeft de groep van De Borggraeve zich laten inspireren door oligo-benzamide- en oligo-pyridinylamidesystemen uit de literatuur. ‘We ontwikkelden *scaffolds* gebaseerd op pyrazines’, zegt De Borggraeve. ‘Het vernieuwende is dat wij voor de assemblage van die systemen onze toevlucht nemen tot chemie die koolstofmonoxide gebruikt als de lijm tussen de verschillende bouwstenen. Door het gas *ex situ* te genereren in een tweekamerreactor en door op kleine schaal te werken, reduceren we het risico verbonden aan het werken met deze *silent killer* tot een minimum. De ontwikkeling van minimalistische helixmimetica was onze eerste toepassing hiermee.’

Voor minimalistische helixmimetica moet je nieuwe synthesemethodes ontwikkelen en sommige bouwstenen zijn slecht toegankelijk of onveilig. Bij peptides is dat anders, aldus Madder. ‘Aminozuren zijn commercieel altijd beschikbaar, net als de

## ‘De verbindingen zijn tot nu toe heel slecht oplosbaar’

materialen die je nodig hebt voor stabilisatie. Ook de methode waarbij we de aminozuren aan elkaar rijgen, *solid phase peptide synthesis*, is zo oud als de straat. Je hoeft dus niet helemaal vanaf nul te beginnen, zoals bij minimalistische helixmimetica. Bovendien werk je met onnatuurlijke structuren en creëer je daarmee kans op toxiciteit, wat je bij medische toepassingen liever niet hebt.’

Waarom richten De Borggraeve en ook andere onderzoeksgroepen zich toch op minimalistische helixmimetica? ‘Wel, het grote voordeel hiervan ten opzichte van gestabiliseerde peptides is dat ze een stuk bestendiger zijn’, legt De Borggraeve uit. ‘Enzymen kunnen gestabiliseerde peptides in bepaalde gevallen nog degraderen. Bovendien maken minimalistische helixmimetica kans om toe te kunnen dienen in pilvorm. Dat is met peptides minder evident omdat die de passage door het maag-darmkanaal vaak niet overleven.’ Minimalistische helixmimetica heeft nog een nadeel. ‘De verbindingen zijn tot nu toe heel slecht oplosbaar’, verklaart De Borggraeve. ‘We kunnen dit proberen aan te pakken door solubiliserende groepen toe te voegen. Het is afwachten of die groepen de binding met het eiwit gaan verstoren. Maar dit moeten we verder bekijken als we eenmaal verbindingen hebben gevonden met potentieel als PPI-modulator.’

### Zelf samenstellen

De Borggraeve is nu vooral van plan een *proof of concept*-toepassing te vinden voor zijn mimetica. Als dit lukt, wil hij de systemen zo aanpassen dat je ze dynamisch combinatorieel kunt functionaliseren. Dat concept is eerder dit jaar in de literatuur voorgesteld binnen het domein van de helixmimetica. De Borggraeve besluit: ‘Daarmee hopen we het eiwit zijn eigen modulator te laten samenstellen wanneer we het samenbrengen met een oligopyridinylamide-scaffold en de juiste zijketenbouwstenen.’ ●