

KEMIAN LAITOS
JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

Foldameerien lääketieteelliset käyttösovellukset

Kandidaatintutkielma ja
tutkimusprojekti
08.02.2019
Jussi Lundahl



JYVÄSKYLÄN YLIOPISTO

TIIVISTELMÄ

Kirjallisuuskatsauksessa tutkitaan foldameerien lääketieteellisiä käyttösovelluksia. Tässä työssä myös perehdytään foldameerien perusrakenteisiin ja foldameerien luokitteluun abioottisiksi tai bioottisiksi. Lääketieteen sovelluksia, joita käsitellään ovat antibakteeriset sovellukset, soluun tunkeutuvat foldameerit sekä proteiini-proteiinivuorovaikutusten inhibointi. Kokeellisessa osassa syntetisoitiin 6-(metoksikarbonyyli)pikoliinihappo, sekä N-(2-aminofenyyl)bensamidi, jotka ovat foldameerien perusyksiköitä.

ESIPUHE

Luonnontieteiden kandidaattiprojekti (LuK-projekti) suoritettiin professori Maija Nissisen tutkimusryhmässä 4.6.-13.6.2018. Työn ohjaajana toimi tohtorikoulutettava Riia Annala. Kokeellisen osan tarkoituksena oli syntetisoida 6-(metoksikarbonyyli)pikoliinihappo, sekä N-(2-aminofenyyl)bensamidi. Kirjallisessa osassa tutkittiin foldameerien lääketieteellisiä käyttösovelluksia.

Aiheen rajaus toteutettiin työn aikana niin, että tutkielmaan saatiin mahdollisimman paljon tietoa eri lähteistä. Lähteitä ei ollut tarjolla kovinkaan runsaasti, joten suurta rajausta ei voinut tehdä ja hakusanoja piti käyttää luovasti. Kirjallisuus on etsitty käyttäen Internetistä löytyviä hakukoneita, kuten Googlea, SciFinderia ja Reaxsysiä. Löytyneiden tutkimusten kirjallisuusviitteistä saatiin lisää kirjallisuusviittauksia tutkielmaan.

Haluan kiittää professori Maija Nissistä ja tohtorikoulutettava Riia Annalaa tästä mahdollisuudesta perehtyä foldameereihin ja niiden syntetisointiin. Vaikeina hetkinä tukenani olivat myös ollut kanssaopiskelijat, sekä läheiset. Erityisesti kiitos Leena Silvän että jaksoit kannustaa tämän projektin kanssa.

SISÄLLYSLUETTELO

TIIVISTELMÄ	i
ESIPUHE	ii
SISÄLLYSLUETTELO	iii
1 JOHDANTO	1
2 FOLDAMEERIEN PERUSRAKENTEET	1
2.1 Abioottiset foldameerit	3
2.2 Bioottiset foldameerit	4
3 LÄÄKETIETEELLISET SOVELLUKSET	5
3.1 Yleiset edellytykset lääketieteellisille sovelluksille	5
3.2 Antibakteeriset sovellukset	6
3.3 Soluun tunkeutuvat foldameerit	8
3.4 Proteiini-proteiinivuorovaikutus	9
3.4.1 Syöpä	9
3.4.2 HI-virus	10
4 YHTEENVETO	12
KIRJALLISUUSLUETTELO	13

1 JOHDANTO

Tämän työn tarkoituksena on perehtyä foldameerien lääketieteellisiin käyttösovelluksiin ja samalla tarkastella foldameerilääkkeiden reunaehtoja. Foldameerit esiteltiin ensimmäisen kerran vuonna 1998.¹ Foldameerit ovat keinotekoisia oligomeerejä, jotka laskostuvat itsestään intramolekylaaristen vuorovaikutusten takia aina samalla tavalla liuoksessa. Intramolekylaariset vuorovaikutukset ovat heikkoja, ei-kovalenttisia vuorovaikutuksia kuten vetysidokset, π -vuorovaikutukset, van der Waals-voimat tai elektrostaattinen vuorovaikutus. Konformaation stabiilisuus määräytyy ei-kovalenttisten vuorovaikutusten ansiosta ilman, että viereiset monomeerit vaikuttavat rakenteeseen.²

Foldameerien tyypillisiä ominaisuuksia ovat i) stabiili ja tunnistettava sekundaarirakenne, ii) suurempi vaikuttava pinta-ala kuin perinteisillä orgaanisilla molekyyileillä sekä iii) sovellusten kannalta tarkoituksenmukaiset ja ennustettavat sivuketjujen funktionaalisten ryhmien orientaatiot.³ Lisäksi lääketieteellisten sovellusten kannalta foldameerien pitää selvittää elimistössä ilman, että ne hajoavat solujen proteasomeissa.

Foldameerit voivat toimia esimerkiksi proteiini-proteiinivuorovaikutuksessa (PPV), jossa tietty substraatti kiinnittyy entsyymiin ja inhiboi sen toimintaa. Foldameereillä voidaan tulevaisuudessa kenties hoitaa joitakin sairauksia, joiden taustalla ovat proteiini-proteiinivuorovaikutukset.⁴ Tällaisia ovat esimerkiksi syöpäsolujen tuhoaminen tai HI-viruksen lisääntymisen ehkäisy.⁵

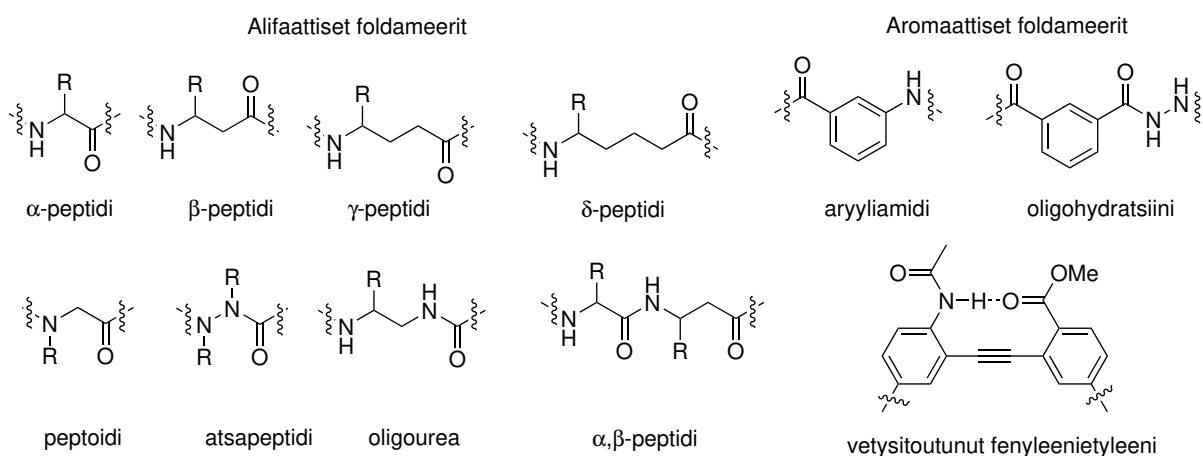
2 FOLDAMEERIEN PERUSRAKENTEET

Luonnossa on kolme erilaista biopolymeerirunkoa: proteiinit, ribonukleiinihapot ja polysakkaridit.² Näiden luonnollisten polymeerien ja niiden muunnosten toiminta on herättänyt kysymyksen, voitaisiinko niitä jäljitteleviä oligomeerejä valmistaa synteettisesti.

Foldameerien alayksiköt (monomeerit) liittyvät toisiinsa esimerkiksi amidi- tai ureasidoksin ja muodostavat foldameerin perusrakenteen. Tyypillisiä rakenteiden perusyksiköitä on esitetty kuvassa 1. Rakenteen modulaarisuus mahdollistaa proteiineja jäljittelevien foldameerien valmistuksen. Perusrakenteessa olevat sivuryhmät ja aromaattiset yhdisteet määrittelevät sen miten foldameeri laskostuu.

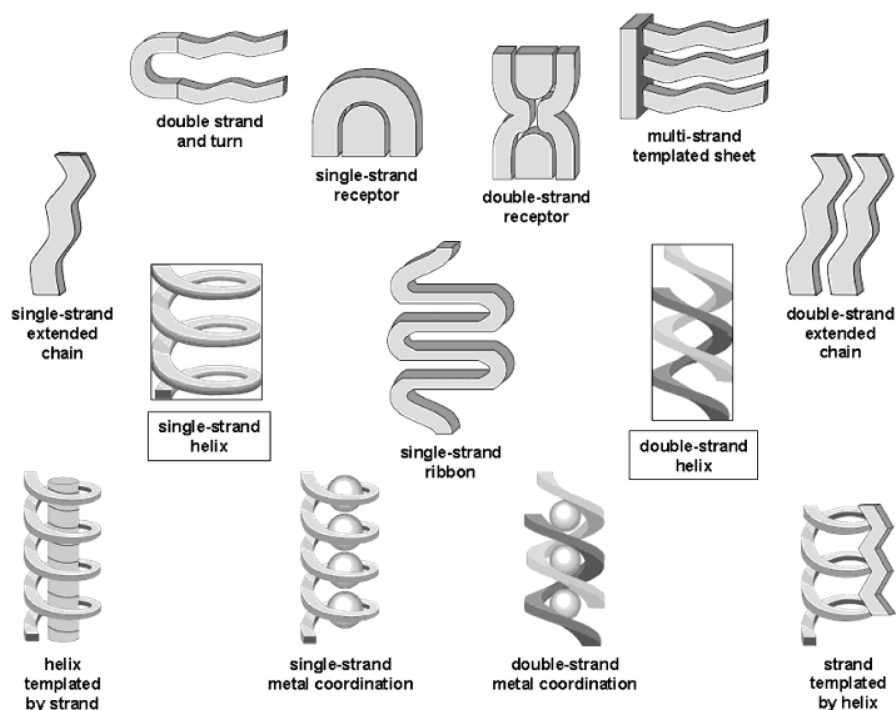
Viimeisen 15 vuoden aikana on löydetty useita perusrakenteita, joista foldameerien runko voidaan valmistaa.⁶ Rakenneyksiköiden alkuperän ja tyyppin perusteella foldameerit voidaan jakaa kahteen eri ryhmään: bioottiset ja abioottiset foldameerit.^{2,7} Toisaalta ne voidaan jakaa yksi-

tai kaksijuosteisiin foldameereihin. Bioottiset foldameerit jäljittelevät luonnollisia aminohappopoketjuja ja abioottisilla tarkoitetaan foldameerejä, jotka eivät koostu luonnossa esiintyvistä rakenneosista.



Kuva 1. Foldameerien erilaisia perusyksiköitä.

Foldameerien kolmiulotteinen rakenne vaihtelee suuresti sen mukaan, millaisista perusyksiköistä se on rakennettu.² Perusyksiköiden sivuketjut määräävät sen, millainen foldameerin sekundaarirakenne on. Kuvassa 2 on esitetty foldameerien yleisimpiä sekundaarirakenteita.



Kuva 2. Foldameerien erilaisia sekundaarirakenteita. Adapted with permission from Hill, D. J. *et al.*, A Field Guide to Foldamers, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893–4012. Copyright 2001 American Chemical Society.

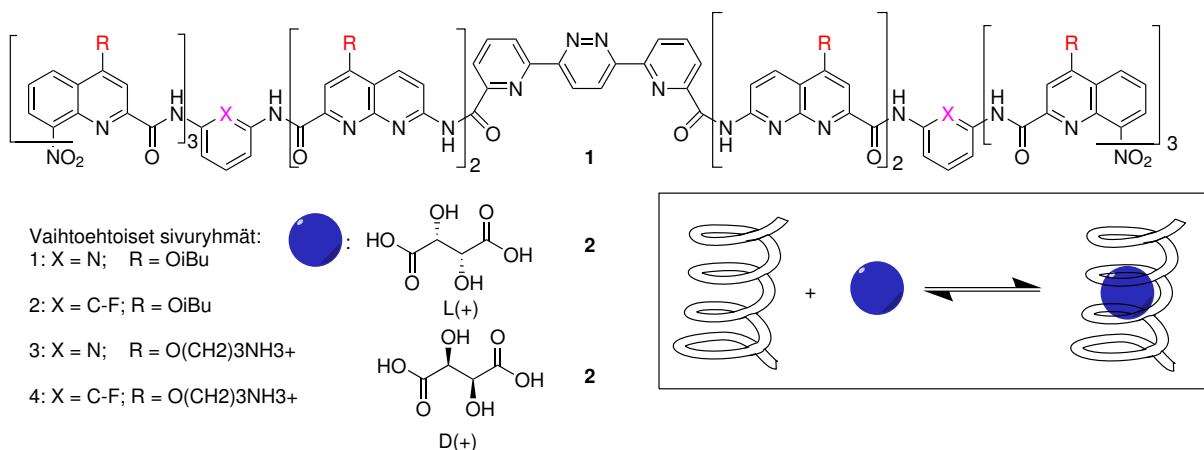
Sekä bioottisia että abiottisia foldameerejä voidaan käyttää esimerkiksi lääkeaineen kuljetuksessa soluun. Erilaisia foldameerejä voidaan käyttää samaan tehtävään, sillä vain kuljetettavan molekyylin rakenne ratkaisee sen, millaista foldameeriä voidaan käyttää.

2.1 ABIOOTTISET FOLDAMEERIT

Abioottiset foldameerit eivät muistuta mitään luonnossa esiintyvää molekyyliä. Tällaisia foldameerejä ovat esimerkiksi pyridiini-, guanidiini-, sekä syklofaanipohjaiset foldameerit ja aedameerit.² Näiden lisäksi foldameerin sivuketjuissa voi olla erilaisia aromaattisia rengasrakenteita sisältäviä alayksiköitä. Nämä sivuketjut ja primäärirakenne vuorovaikutuksineen määrittelevät sen, miten foldameeri laskostuu.² Tällaisten foldameerien sekundaarirakenteet ovat yleensä yksi- tai kaksijuosteisia kierrarakenteita.

Abioottiset foldameerit sopivat isäntä-vieraskemian hyödyntämiseen, koska niiden rakennetta voidaan muokata halutun käyttötarpeen mukaan ja niiden rakenteeseen voidaan sitoa siten ioneja tai pieniä orgaanisia molekyyliä.⁸ Isäntä-vieraskemialla tarkoitetaan supramolekulaarisia komplekseja, missä isäntä on suurempi molekyyli ja vieras pienempi, isäntään sitoutuva ioni tai orgaaninen molekyyli.⁹

Vieras molekyylien sitoutumisen takia abiottisilla foldameereillä on huomattavaa potentiaalia esimerkiksi lääkkeiden kuljetuksessa solun sisälle. Toisaalta abiottisia foldameerejä voidaan käyttää esimerkiksi sitomaan toksisia aineita, orgaanisia molekyyliä tai raskasmetalleja jätevedestä. Kuvassa 3 on esitetty, kuinka foldameerillä 1 sidotaan viinihappo 2.¹⁰



Kuva 3. Abioottinen foldameeri, joka sitoo viinihappomolekyylin.¹⁰

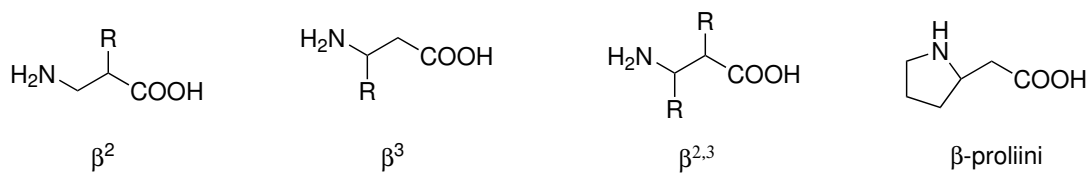
Abioottisten foldameerien rakenteissa käytetään usein useita aromaattisia renkaita, jotta laskostuminen tuottaa halutun rakenteen.¹¹ Aromaattiset renkaat ja niiden $\pi - \pi$ -vuorovaikutukset

jäykistävät foldameerin rakennetta. Abioottiset foldameerit voidaan jakaa laskostumisen mukaan vielä kahteen alaryhmään: a) sellaisiin, joissa laskostuminen tapahtuu vetysidosten takia ja b) sellaisiin, joissa laskostuminen tapahtuu solvofobisen efektin tai π -vuorovaikutuksen takia.

2.2 BIOOTTISET FOLDAMEERIT

Bioottiset foldameerit jäljittelevät luonnossa olevia peptidiketjuja. $\alpha/\beta/\gamma/\delta$ -peptideissä amidisidoksien välissä on yksi, kaksi, kolme tai neljä hiiltä ja niissä vaihteleva määrä sivuketjuja ja kiraliakeskuksia (kuva 1). Aminohapot ovat α -peptidiketjuja ja aminohappojen sivuketjujen ominaisuudet määräävät proteiinin sekundaarirakenteen.

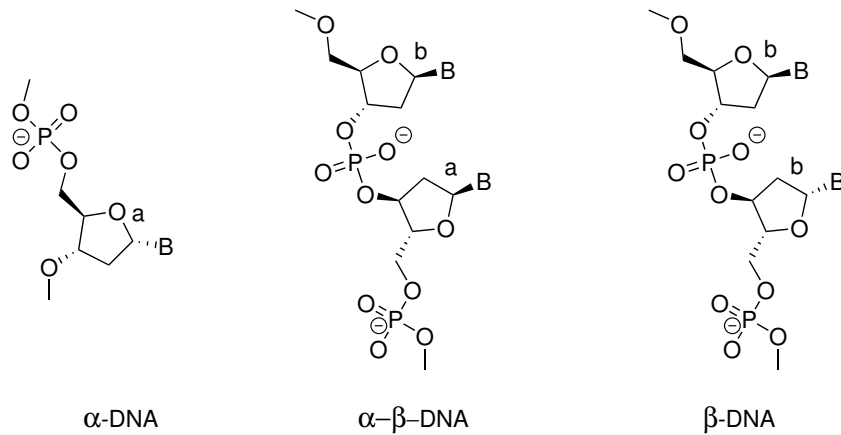
β -peptidit voidaan jakaa vielä alaryhmiin β^2 -, β^3 - ja $\beta^{2,3}$ -peptideiksi, riippuen siitä, missä kohtaa hiilivetyketjua sivuryhmät sijaitsevat. Syklisten β -peptidien aminoryhmä sijaitsee rengasrakenteessa, kuten β -proliinilla. Kuvassa 4 on esitetty erilaiset β -peptidien rakenteet.¹¹



Kuva 4. Erilaisia β -peptideitä.

Bioottiset foldameerit jäljittelevät proteiinien rakennetta, mutta niiden stabiilisuus ja solukalvon läpäisykyky ovat parempia kuin elimistön omilla peptidiketjuilla.¹² Stabiilisuus johtuu siitä että hiiliketjussa on enemmän hiiliä kuin normaaleissa α -aminohapoissa, joten solun metabolia ei pysty hajottamaan foldameerejä niin helposti. Solukalvon läpäisyyn vaikuttavat sivuketjujen polaariset ominaisuudet eli millaisia funktionaalisia ryhmiä foldameerillä on sivuketjuissa. Läpäisykykyyn vaikuttavat myös molekyylin koko ja konformaatio, eli mitä pienempi ja poollittomampi molekyyli on, sitä paremmin se läpäisee solukalvon.

Bioottisiin foldameereihin luetaan myös nukleotidejä jäljittelevät rakenteet.² Nämä rakenteet ovat DNA:n ja RNA:n kaltaisia rakenteita (kuva 5) kaksi- tai yksijuosteisia kierrarakenteita ja niiden laskostumiseen vaikuttavat monomeerien väliset vetysidokset. Nukleotidiketjut rakentuvat monomeereistä, jotka ovat sitoutuneet toisiinsa kovalenttisin sidoksin. Ketju vuorovaikuttaa toisen ketjun kanssa vetysidoksien välityksellä. Runkoon on yleensä liitetty Watson-Crick-emäspareja, jolloin ketjut pariutuvat kuten DNA.²



Kuva 5. Kolme erilaista DNA:n runkoa, joihin voidaan liittää erilaisia funktionaalisia ryhmiä. α -DNA, α , β -DNA ja β -DNA.²

3 LÄÄKETIETEELLISET SOVELLUKSET

3.1 YLEISET EDELLYTYKSET LÄÄKETIETEELLISILLE SOVELLUKSILLE

α/β -peptidit kestävät sata kertaa paremmin proteolyysiä kuin luonnollinen α -peptidiketju.¹² Tarkkaa syytä kestävyydelle ei tiedetä, mutta arvellaan että β -peptidiketjun lukuisat ja erilaiset funktionaaliset sivuryhmät aiheuttavat sen, että tällainen foldameeri ei sovi kunnolla proteasomiin. Proteasomeissa luonnollisten proteiinien konformaatio muuttuu ja aminohappojen välillä olevat peptidisidokset katkeavat. α/β -peptidiketjupohjaisten lääkeaineiden puoliintumisaika elimistössä on huomattavan pitkä.

Foldameerilääkkeitä voidaan käyttää monessa eri tarkoituksessa ja niiden suunnittelussa pitää ottaa huomioon, millaisia vaikutuksia niillä halutaan olevan. Tulee muistaa, että yhdisteiden tulee olla stabiileja ihmisen elimistössä ja niiden pitää toimia siellä, missä niiden halutaan toimivan.¹³ Toisaalta lääkeaineet eivät saa olla toksisia tai karsinogeenisiä, vaan solujen pitää kestää niitä. Lääkeaineiden pitää myös olla liukoisia ihmisen elimistön pH-olosuhteissa eli foldameerit eivät saa saostua verenkierrossa, eivätkä bioottiset foldameerit saa hajota endosomien happamissa olosuhteissa. Toisaalta abioottisten foldameerien pitäisi hajota endosomeissa, jotta niihin sidotut lääkeaineet vapautuisivat solun sisälle.

Foldameerilääkkeille pätevät samat farmakokinetiikan säännöt kuin muillekin lääkeaineille. Farmakokinetiikka keskittyy lääkeaineiden ja niiden aineenvaihduntatuotteiden vaiheisiin elimistössä, kun taas farmakodynamiikalla tarkoitetaan lääkeaineiden vaikutuksia.¹⁴ Tarkemmin sanottuna farmakokinetiikalla tarkoitetaan lääkeaineen imeytymistä, jakautumista kudoksiin,

aineenvaihduntaa eli metaboliaa ja erittymistä. Metabolialla ja erittyminen muodostavat yhdessä lääkeaineen eliminaation eli poistumisen elimistöstä.¹⁵

Lääkeaine käy lävitse vaiheet, jolloin 1a) nieltävän lääkeaineen tulee aluksi hajota ja liueta, ennen kuin se voi imeytyä ruuansulatuskanavasta, 1b) suun limakalvolle, lihakseen tai iholle annettavat lääkeaineet imeytyvät suoraan verenkiertoon, 1c) lääkeaine voidaan antaa myös suoraan verenkiertoon. 2) Nieltävästä lääkeaineesta osa kulkeutuu maksaan, jossa ensikierron metabolia muuntaa lääkeaineen kokonaan tai osittain toiseksi aineeksi, joka kulkeutuu edelleen verenkiertoon. 3) Lääkeaine jakautuu verenkierron mukana kudoksiin ja kulkeutuu vaikutuspaikkaansa. 4) Lääkeaine eliminoituu eli poistuu elimistöstä a) joko maksassa tapahtuvan metabolian seurauksena ja lopulta virtsan mukana tai b) erittymällä suoraan munuaisten kautta virtsaan.¹⁵

Ensikierron metabolia tarkoittaa sitä aineenvaihduntaa, joka tapahtuu suolesta imeytyvälle lääkeaineelle, kun se kulkeutuu suolesta maksan kautta yleiseen verenkiertoon.¹⁵ Munuaisten vajaatoiminnasta johtuen on vaarana, että lääkeaine kertyy eli kumuloituu elimistöön. Kertyvä lääkeainemäärä riippuu lääkannoksen koosta, lääkkeen hyötyosuudesta ja puoliintumisajasta sekä lääkkeenottojen välisestä ajasta. Lääkeaineiden kertyminen elimistöön saattaa johtaa monenlaisiin ongelmiin, kuten nesteen kertymiseen ja maksan rasittumiseen.

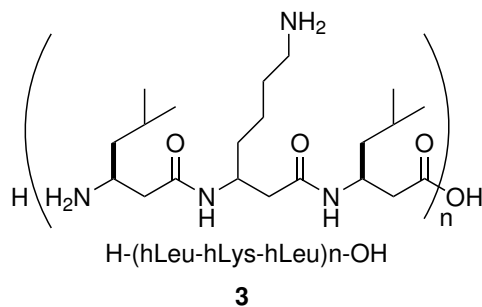
Farmakokinetiikkaa tutkitaan yleensä nestekromatografi-massaspektrometrilla. Kun näytteitä otetaan tietyin väliajoin, saadaan tehtyä matemaattinen malli lääkeaineen hajoamisesta ja poistumisesta elimistöstä.

3.2 ANTIBAKTEERISET SOVELLUKSET

Antibakteeriset foldameerit voivat olla bioottisia, kuten β -peptidit tai abioottisia, kuten aryyliamidijohdannaiset. Mielenkiinto antibakteerisiin foldameereihin on herännyt, koska bakteerit ovat kehittäneet immuniteetin monia antibiootteja kohtaan ja näille antibiooteille pitäisi tulevaisuudessa löytää korvaaja.¹⁶ Antibakteeristen foldameerien vaikutus perustuu bakteerien solukalvon tuhoutumiseen, toisin kuin entsyymeihin vaikuttavien antibioottien. Solukalvo tuhoutuu siten, että positiivisesti varautunut β -peptidi tai aryyliamidi hakeutuu bakteerien negatiivisesti varautuneelle lipidikalvolle ja näin ollen tuhoaa vähitellen lipidikalvon yhtenäisyyden, jolloin bakteerisolukuolet.¹⁷

Ensimmäisen sukupolven antibakteeriset foldameerit olivat todistetusti tehokkaita antimikrobilääkkeitä, mutta nämä β -peptidit vahingoittivat ihmisen eretrosoytejä, jolloin sivuvaikutuksena oli merkittävää verenvuotoa.^{18,19} Voidaan olettaa, että punasoluja tuhoava mekanismi on sama

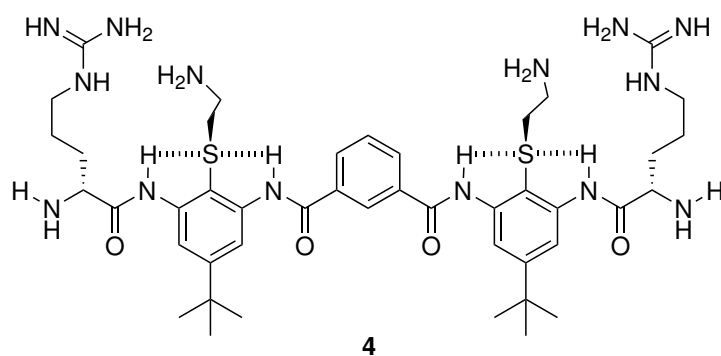
kuin bakteerisoluilla. Verenvuotoa aiheuttavan foldameerin 3 rakenne on esitetty kuvassa 6. Hemolyysi vaihteli sen mukaan kuinka monta yksikköä n foldameerissä oli. Tutkimukset viittaavat siihen, että mitä hydrofobisempi foldameeri on sitä suurempi on hemolyysi.^{18,20} Toisaalta foldameerin pituudella, poolisuudella ja sillä miten foldameeri kiertyy, voidaan vaikuttaa siihen, kiinnittyykö foldameeri punasolun vai bakteerin solukalvolle.



Kuva 6. β -peptidiketjasta muodostuva foldameeri, jolla on antibakteerisia ominaisuuksia.¹⁹

Antibakteerisia ominaisuuksia löytyy myös aryylimidifoldameereistä. Ne toimivat samalla tavalla kuin β -peptidit eli ne tuhoavat solukalvon. Niiden aiheuttama hemolyysi on vähäisempää, koska ne eivät ole liian polaarisia tai hydrofobisia.¹⁶ Liian polaariset foldameerit eivät kykene sitoutumaan bakteerien solukalvoon ja kovin hydrofobiset foldameerit tuhoavat sekä eretrosyytit että bakteerisolut.

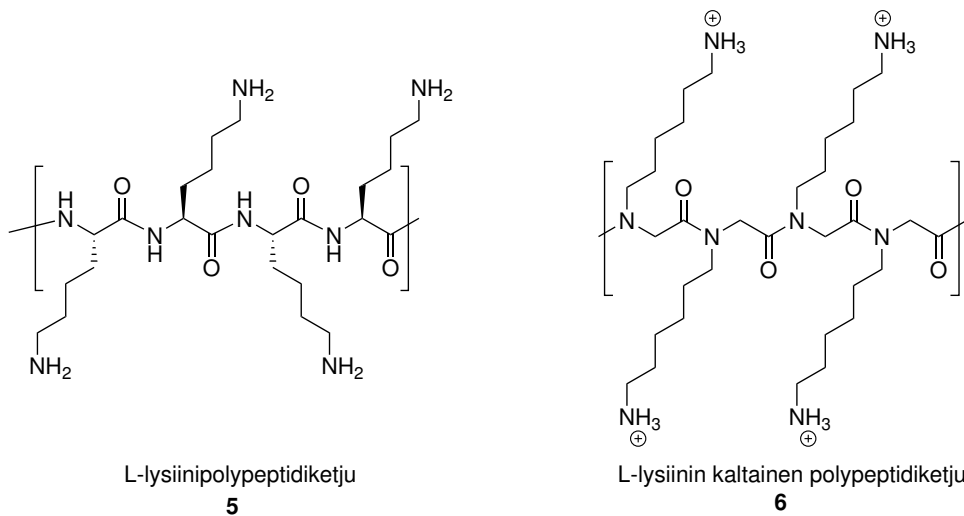
Foldameeripohjaisten antibakteeristen lääkeaineiden etuna on, että niin vaikutusmekanismi toimii bakteerin solukalvolla, jolloin bakteerit eivät pysty sopeutumaan ja muodostamaan resistenssiä foldameerilääkkeille.²¹ Aryylimidifoldameeri 4 (kuva 7), jossa on sivuketjuna arginiini paransi lääkkeen tehokkuutta ja samalla vähensi hemolyysiä. Hemolyysi väheni koska arginiinitähteet vähensivät foldameerin hydrofobisuutta.²²



Kuva 7. Aryylimidifoldameeri, jossa on arginiinitähteet.²¹

3.3 SOLUUN TUNKEUTUVAT FOLDAMEERIT

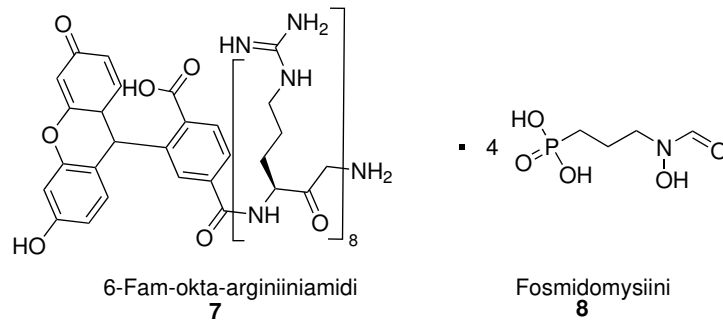
Lyhyet peptidit ovat luonnostaan hyviä tunkeutumaan soluun ja niitä voidaan käyttää kuljettamaan vektoreita, kuten esimerkiksi kemoterapiassa tarvittavia molekyyliä, oligonukleotidejä tai proteiineja soluun.²³ Tällaiset peptidit ovat alle 40 aminohapon ketjuja, jotka mahdollistavat tunkeutumisen soluun siten, että aminohappoketjun positiivisesti varautuneet aminohapot hakeutuvat negatiivisesti varautuneelle solukalvolle.²³ Tällainen foldameeri on esimerkiksi kuvassa 8 esitetty lysiinin kaltainen polypeptidiketju 6.



Kuva 8. Lysiinin kaltaisella polypeptidiketjulla on saatu kuljetettua soluun aineita, jotka eivät sinne muuten pääsisi.

Joitakin kuljettajamolekyyliä on jo valmistettu ja on huomattu, että mitä pidempi molekyyli on, sitä paremmin se tunkeutuu soluun.²⁴ Tutkimuksessa havaittiin, että kuljettajafoldameerit pystyivät penetroitumaan K562-, L929- ja HeLa-soluihin jo 5 minuutin kuluessa.

Soluun tunkeutuvista foldameereistä paras saavutus on ollut α - ja β -arginiini-oligomeerien käyttö *Plasmodium falciparum* -loisen aiheuttaman malarian hoidossa.²⁵ Tässä tutkimuksessa oligomeerit eivät läpäisseet terveen eretroosyytin solukalvoa, vaan tunkeutuivat vain infektoituneisiin punasoluihin sekä parasiitin soluihin. Arginiinioligomeeri 7 yhdessä malarialääke fosmidomysiinin 8 kanssa paransi lääkkeen tehokkuutta. Paras tulos saavutettiin fluoresoivalla arginiini-oligomeeri suolalla, jonka rakenne on esitetty kuvassa 9.



Kuva 9. Fosmidomysiinin oligoarginiiniisuola.

3.4 PROTEIINI-PROTEIINIVUOROVAIKUTUS

PPV:ssa kaksi proteiinia yhdistyvät laajalta pinta-alalta, jolloin proteiinien välille syntyy vetysidoksia. Näin proteiinien kiinnittyminen toisiinsa muodostaa stabiilin yhdisteen. Proteiini-proteiinivuorovaikutusta ei voida estää perinteisillä pienillä orgaanisilla molekyyileillä, vaan siihen tarvitaan foldameerejä, jotka voivat olla samankaltaisia kuin luonnollinen ligandi. Pienet orgaaniset yhdisteet eivät pääse tunkeutumaan solun sisään kunnolla ja toisaalta pienten orgaanisten yhdisteiden valmistaminen ja puhdistaminen on kallista ja hidasta.³

Solun sisäisten proteiini-proteiinivuorovaikutusten (PPV) aiheuttamat sairaudet ovat vaikeita hoitaa, koska solun sisälle on vaikea saada sellaisia lääkkeitä, jotka selviäisivät siellä pitkään. Solun sisällä olevat proteasomit toimivat vieraiden tai viallisten proteiinien hajottajina, mutta ne eivät kykene hajottamaan foldameerejä yhtä tehokkaasti, koska foldameerit poikkeavat solun omista proteiineista. Orgaaniset pienet molekyylit eivät välttämättä selviä elimistössä kohdesoluun asti, vaan hajoavat elimistön aineenvaihdunnan mukana.^{4,15}

Koska foldameereillä on taipumus omaksua tietty konformaatio, niillä voidaan jäljitellä esimerkiksi α -kierteen omaavia proteiineja. Siten tällaisia foldameerejä voidaan käyttää inhiboimaan proteiini-proteiinivuorovaikutuksia.²⁶ α -kierteiden jäljittely voidaan toteuttaa kolmella eri tavalla: i) jäljittelemällä proteiinin runkoa, ii) jäljittelemässä proteiinin funktionaalisia ryhmiä tai iii) näiden kahden yhdistelmä, jolloin rungossa olevat funktionaaliset ryhmät ovat orientoituneet kuten luonnollisessa proteiiniketjussa.

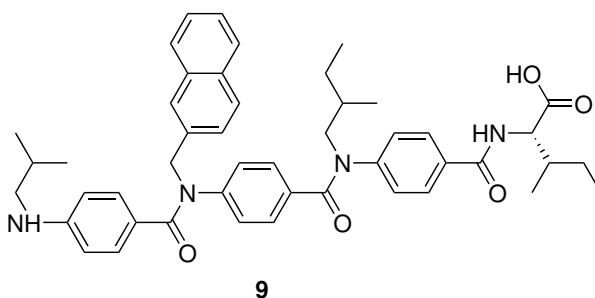
3.4.1 Syöpä

Proteiini-proteiinivuorovaikutuksia on pystytty estämään tai niitä on voitu modifioida foldameerien avulla.²⁷ Esimerkiksi apoptoosia säätelevää p53-proteiinia ja sen säätelyligandi MDM2:n

toimintaan voidaan vaikuttaa häiritsevästi foldameerien avulla. Tämä häirintä on yksi syöpätutkimuksen kohteista.²⁸

Normaalissa solussa p53-proteiinin taso pidetään matalalla MDM2-proteiinin avulla. MDM2-proteiini liittyy p53-proteiiniin ubikitiniin. Ubikitiniini on säätelyproteiini, jonka lisääminen proteiiniin ohjaa sen proteasomiin hajotettavaksi.²⁸ Solun ulkoiset stressitekijät saavat aikaan tapahtumaketjun, jossa p53-MDM2 kompleksi ei muodostu ja p53-proteiini pääsee kiinnittymään DNA:han, jolloin tiettyjen proteiinien ilmentyminen voimistuu. Riippuen ulkoisesta stressistä ja p53-proteiiniin liittyvistä apukompekseista, niin joko soluun syntyneet vauriot korjataan tai apoptoosi mahdollistuu.

On havaittu, että syöpäsoluissa MDM2-proteiinia on enemmän kuin terveissä soluissa, jolloin syöpäsolun apoptoosi estyy. Jotta syöpäsolun apoptoosi olisi mahdollinen, p53-proteiinin pitäisi pystyä käynnistämään apoptoosiin johtava tapahtumaketju. Tämä onnistuu esimerkiksi siten, että MDM2-proteiiniin sidotaan p53-proteiinia muistuttava molekyyli 9 (kuva 10).²⁹



Kuva 10. p53-proteiinin sitoutumiskohtaa jäljittelevä aryylamidifoldameeri.²⁹

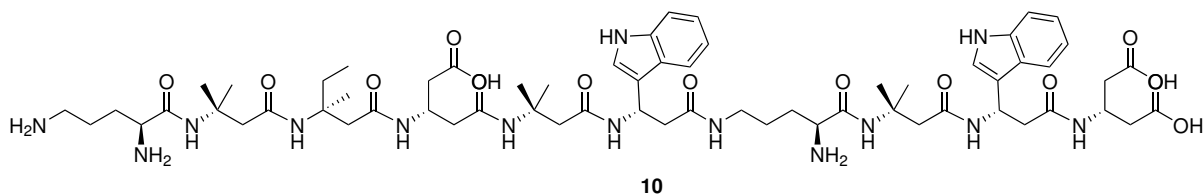
3.4.2 HI-virus

HI-viruksen eli ihmisen immunikatoviruksen tunkeutuminen soluun on monivaiheinen prosessi. Viruksen proteiinkuoren ympärillä on lipidivaippa, jossa on kiinni gp120- ja gp41-pintaproteiineja.³⁰ Nämä pintaproteiinit kiinnittyvät solunpinnalla olevaan CD4-reseptoriin ja sopivaan ko-reseptoriin (CCR5 tai CXCR4). Tämä kiinnittyminen laukaisee solun endosytoottisen reitin ja virus pääsee soluun sisälle.

Solun sisälle päästyään HI-viruksen proteiinkapseli hajoaa ja sytosoliin vapautuu viruksen RNA, käänteiskopioijaentsyymi, HIV-integraasientsyymi ja proteaasi. Käänteiskopioijaentsyymi muuttaa RNA:n DNA:ksi ja DNA liitetään kohdesolun perimään HIV-integraasientsyymin avulla.³¹

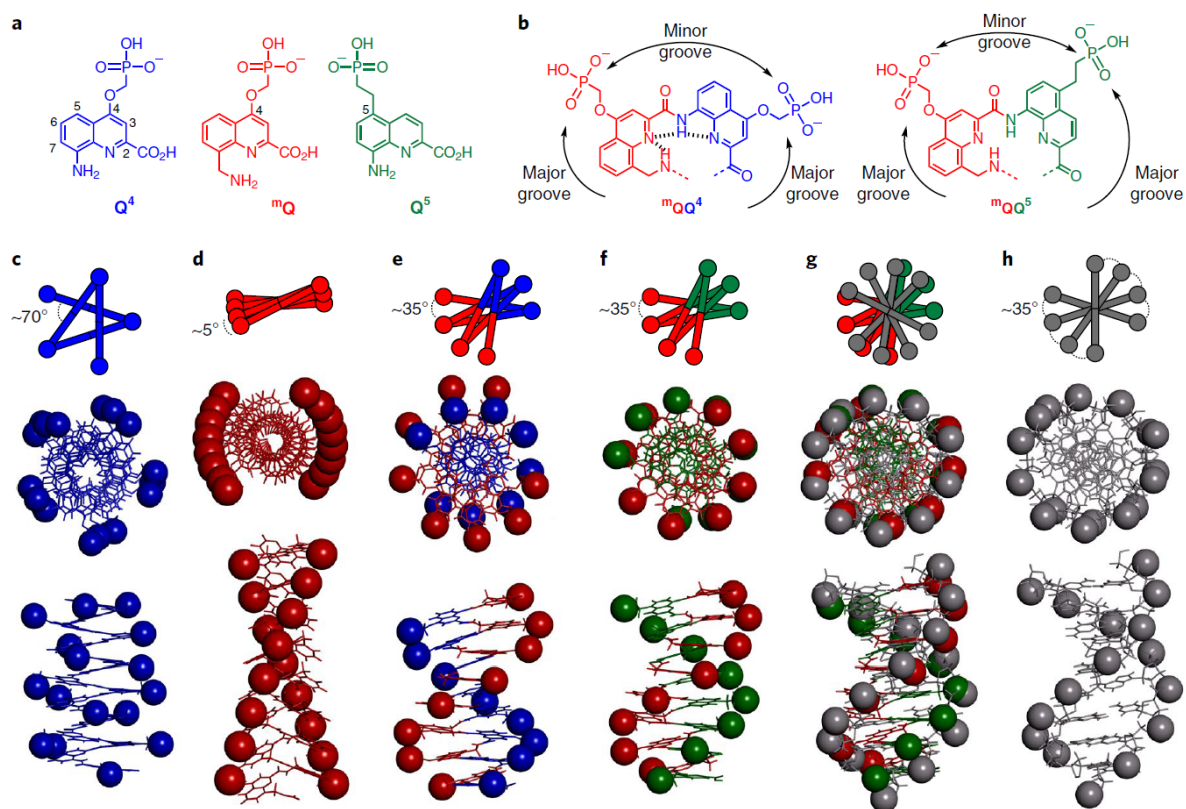
HIV:n gp41-proteiiniin kiinnittyvällä β -peptidifoldameerilla 10 (kuva 11) on saatu rajoitettua

viruksen tunkeutumista valkosoluihin.⁵ Tällainen molekyyli sitoutuu viruksen lipidivaipan pintaproteiiniin gp41:n n-terminaaliseen päähän. Molekyyli toimii inhibiittorina viruksen pintaproteiinin ja solun reseptorin välillä ja näin ollen estää virusta pääsemästä solun sisälle.



Kuva 11. β -peptidiketju, jolla voidaan rajoittaa HI-viruksen tunkeutumista valkosoluun

HI-viruksen lisääntymistä solussa on voitu estää myös häiritsemällä HIV-integraasientsyymin toimintaa foldameerilla.³² Kuvassa 12 on esitetty DNA:ta jäljitteleviä foldameerin perusrakenteita ja niiden muodostamia α -kierrerakenteita. Tutkimuksen mukaan paras inhibiittori oli $(^m\text{QQ}^4)_8$ eli HIV-integraasientsyymi sitoutui parhaiten $(^m\text{QQ}^4)_8$ -foldameeriin.³²



Kuva 12. DNA:ta jäljittelevän foldameerin perusrakenteita ja niiden muodostamia kierrerakenteita. Adapted with permission from Ziach, K. *et al.*, Single helically folded aromatic oligoamides that mimic the charge surface of double-stranded B-DNA, *Nat. Chem.* **2018**, *10*, 511–518. Copyright 2018 Clearance Center.

4 YHTEENVETO

Foldameerilääkkeistä on saatu joitakin lupaavia tuloksia, mutta niiden käyttöön liittyy edelleen monia avoimia kysymyksiä. Tässä työssä esitellyissä tutkimuksissa potentiaalisille foldameereille ei ollut tehty tietokonesimulaatioita (ns. virtual screening). Lääketutkimuksen kannalta voisi kuitenkin olla järkevää kokeilla ensin foldameerien sitoutumista proteiiniin virtuaalisesti ja vasta tämän jälkeen kokeilla laboratoriossa, miten foldameeri toimii *in vitro*.

Avoin kysymys on myös, riittäisikö β -peptidien kohdalla pienempi annos niiden α -peptidejä pidemmän puoliintumisajan takia ja toisaalta kertyykö lääkeainetta elimistöön tämän takia haitallisessa määrin. Tähän mennessä ihmisen kehittämät lääkeainemolekyylit ovat olleet kohtuullisen yksinkertaisia johtuen siitä, että niiden tuottaminen on kohtuullisen helppoa ja edullista. Foldameereistä voidaan valmistaa nykyisin isojakin molekyyleja yksinkertaisilla ja toistettavilla reaktioilla. Suurten lääkeainemolekyylien ensikierron metaboliaa pitää kuitenkin tutkia, jotta tiedetään onko lääkeaine turvallinen ja mitä oireita suuren molekyylin hajoamistuotteet aiheuttavat ja voivatko nämä hajoamistuotteet kertyä elimistöön.

Yhdisteiden turvallisuuden arvioinnissa täytyy punnita tarkkaan, ovatko lääketieteelliset hyödyt suurempia kuin mahdolliset sivuvaikutukset ja haitat. Koska abioottiset foldameerit saattavat sisältää polyaromaattisia yhdisteitä, jotka voivat olla karsinogeenisiä.

Bakteerien antibioottiresistenssi on lähitulevaisuuden suurin ongelma. Vaikka länsimaissa antibioottien käyttöä valvotaan järjestelmällisesti, kolmannen maailman valtioissa antibioottien käyttö on todella vapaata. Tämä johtaa siihen, että jossain vaiheessa bakteerit saavuttavat resistenssin ainakin osaan antibiooteista ja silloin moderni lääketiede ei enää kykene hoitamaan yksinkertaisia bakteri-infektioita. Foldameerilääkkeet voisivat olla ratkaisu tähän pulmaan, koska niille bakteerit eivät voi kehittää resistenssiä.

HIV-infektion parantaminen saattaa tapahtua lähitulevaisuuden aikana, mutta HIV-infektio ei ole niin suuri ongelma ihmiskunnalle kuin bakteerien antibioottiresistenssi. HIV-infektion parantaminen saattaa auttaa myös muiden virusperäisten tautien torjunnassa. Toisaalta pitää muistaa, että jokainen virus käyttää erilaisia pintaproteiineja ja reseptoreita tunkeutuessaan soluun. Jos viruksen tunkeutuminen soluun tai viruksen perimän replikaatio voidaan estää, ollaan todella lähellä sitä, että kyseinen virustauti voidaan nujertaa.

Yhtään foldameerilääkettä ei vielä ole markkinoilla ja saattaa kestää vielä vuosia ennen kuin tällaisia lääkkeitä saadaan markkinoille. Lupaavista tuloksista johtuen foldameerien lääketieteellistä käyttöä on syytä tutkia enemmän.

KIRJALLISUUSLUETTELO

- Gellman, S. H., Foldamers: A Manifesto, *Acc. Chem. Res.* **1998**, *31*, 173–180.
- Hill, D. J.; Mio, M. J.; Prince, R. B.; Hughes, T. S. ja Moore, J. S., A Field Guide to Foldamers, *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3893–4012.
- Mándity, I. M. ja Fülöp, F., An overview of peptide and peptoid foldamers in medicinal chemistry, *Expert Opin. Drug Discov.* **2015**, *10*, 1163–1177.
- Cabrele, C.; Martinek, T. A.; Reiser, O. ja Berlicki, Ł., Peptides Containing β -Amino Acid Patterns: Challenges and Successes in Medicinal Chemistry, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 9718–9739.
- Stephens, O. M.; Kim, S.; Welch, B. D.; Hodsdon, M. E.; Kay, M. S. ja Schepartz, A., Inhibiting HIV fusion with a beta-peptide foldamer 1, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13126–13127.
- Gopalakrishnan, R.; Frolov, A. I.; Knerr, L.; Drury, W. J. ja Valeur, E., Therapeutic potential of foldamers: From chemical biology tools to drug candidates?, *J. Med. Chem.* **2016**, *59*, 9599–9621.
- Barron, A. E. ja Zuckerman, R. N., Bioinspired polymeric materials: In-between proteins and plastics, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **1999**, *3*, 681–687.
- Happonen, L., *Foldameerien isäntä-vieraskemia*, Pro gradu -tutkielma, Jyväskylän yliopisto, kemian laitos, Jyväskylä, 2017.
- Steed, J. W. ja Atwood, J. L., *Supramolecular chemistry*, 2. painos, John Wiley, Sons, Chichester, 2009, ss. 1–9.
- Chandramouli, N.; El-Behairy, M. F.; Lautrette, G.; Ferrand, Y. ja Huc, I., Polar solvent effects on tartaric acid binding by aromatic oligoamide foldamer capsules, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 2466–2472.
- Maayan, G. ja Albrecht, M., *Metallofoldamers: Supramolecular Architectures from Helicates to Biomimetics*, John Wiley & Sons, Ltd. Chichester, 2013, ss. 70–89.
- Checco, J. W. *et al.*, α/β -Peptide Foldamers Targeting Intracellular Protein–Protein Interactions with Activity in Living Cells, *J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 11365–11375.
- Lemke, T. L. ja Williams, D. A., *Foye's Principles of Medicinal Chemistry*, 7. painos, Lippincott Williams, Wilkins, Baltimore, 2013, ss. 29–60.
- Nordberg, M.; Duffus, J. ja Templeton, D. M., Glossary of terms used in toxicokinetics (IUPAC Recommendations 2003), *Pure Appl. Chem.* **2004**, *76*, 1033–1082.

15. Saano, S. ja Taam-Ukkonen, M., *Lääkehoidon käsikirja*, 1.-5. painos, Sanoma Pro Oy, Helsinki, 2016, ss. 88–112.
16. Choi, S.; Isaacs, A.; Clements, D.; Liu, D.; Kim, H.; Scott, R. W.; Winkler, J. D. ja DeGrado, W. F., De novo design and in vivo activity of conformationally restrained antimicrobial arylamide foldamers, *Proc. Natl. Acad. Sci.* **2009**, *106*, 6968–6973.
17. Arvidsson, P. I.; Ryder, N. S.; Weiss, H. M.; Gross, G.; Kretz, O.; Woessner, R. ja Seebach, D., Antibiotic and Hemolytic Activity of a β 2/ β 3 Peptide Capable of Folding into a 12/10-Helical Secondary Structure, *ChemBioChem*, **2003**, *4*, 1345–1347.
18. Hamuro, Y.; Schneider, J. P. ja DeGrado, W. F., De Novo Design of Antibacterial β -Peptides, *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 12200–12201.
19. DeGrado, W. F.; Hamuro, Y. ja Liu, D., Design, preparation, and properties of antibacterial β -peptides, *US pat.*, 6677431B2, 2000.
20. Arvidsson, P. I.; Frackenpohl, J.; Ryder, N. S.; Liechty, B.; Petersen, F.; Zimmermann, H.; Camenisch, G. P.; Woessner, R. ja Seebach, D., On the antimicrobial and hemolytic activities of amphiphilic β -peptides, *ChemBioChem*, **2001**, *2*, 771–773.
21. Tew, G. N.; Scott, R. W.; Klein, M. L. ja DeGrado, W. F., De novo design of antimicrobial polymers, foldamers, and small molecules: From discovery to practical applications, *Acc. Chem. Res.* **2010**, *43*, 30–39.
22. Liu, D.; Choi, S.; Chen, B.; Doerksen, R. J.; Clements, D. J.; Winkler, J. D.; Klein, M. L. ja DeGrado, W. F., Nontoxic Membrane-Active Antimicrobial Arylamide Oligomers, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2004**, *43*, 1158–1162.
23. Copolovici, D. M.; Langel, K.; Eriste, E. ja Langel, Ü., Cell-Penetrating Peptides: Design, Synthesis, and Applications, *ACS Nano*, **2014**, *8*, 1972–1994.
24. Unciti-Broceta, A.; Diezmann, F.; Ou-Yang, C. Y.; Fara, M. A. ja Bradley, M., Synthesis, penetrability and intracellular targeting of fluorescein-tagged peptoids and peptide-peptoid hybrids, *Bioorg. Med. Chem.* **2009**, *17*, 959–966.
25. Sparr, C.; Purkayastha, N.; Kolesinska, B.; Gengenbacher, M.; Amulic, B.; Matuschewski, K.; Seebach, D. ja Kamena, F., Improved Efficacy of Fosmidomycin against Plasmodium and Mycobacterium Species by Combination with the Cell-Penetrating Peptide Octaarginine, *Antimicrob. Agents Chemother.* **2013**, *57*, 4689–4698.
26. Edwards, T. A. ja Wilson, A. J., Helix-mediated protein–protein interactions as targets for intervention using foldamers, *Amino Acids*, **2011**, *41*, 743–754.
27. Azzarito, V.; Long, K.; Murphy, N. S. ja Wilson, A. J., Inhibition of α -helix-mediated protein–protein interactions using designed molecules, *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 161–173.

28. Chène, P., Inhibiting the p53–MDM2 interaction: an important target for cancer therapy, *Nat. Rev. Cancer*, **2003**, *3*, 102–109.
29. Barnard, A.; Long, K.; Martin, H. L.; Miles, J. A.; Edwards, T. A.; Tomlinson, D. C.; Macdonald, A. ja Wilson, A. J., Selective and Potent Proteomimetic Inhibitors of Intracellular Protein-Protein Interactions, *Angew. Chemie Int. Ed.* **2015**, *54*, 2960–2965.
30. Wilen, C. B.; Tilton, J. C. ja Doms, R. W., HIV: cell binding and entry. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2012**, *2*, a006866.
31. Chiu, T. ja Davies, D., Structure and Function of HIV-1 Integrase, *Curr. Top. Med. Chem.* **2004**, *4*, 965–977.
32. Ziach, K.; Chollet, C.; Parissi, V.; Prabhakaran, P.; Marchivie, M.; Corvaglia, V.; Bose, P. P.; Laxmi-Reddy, K.; Godde, F.; Schmitter, J.-M.; Chaignepain, S.; Pourquier, P. ja Huc, I., Single helically folded aromatic oligoamides that mimic the charge surface of double-stranded B-DNA, *Nat. Chem.* **2018**, *10*, 511–518.