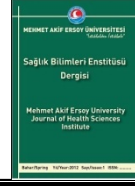




MEHMET AKİF ERSOY ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ DERGİSİ
“MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg.”
<http://edergi.mehmetakif.edu.tr/index.php/sabed/index>



İlaç Geliştirmede Reseptör Analizinin Önemi

Importance of Receptor Analysis in Drug Discovery

Hidayet Tutun¹, Emine Baydan¹

¹ Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, ANKARA, TÜRKİYE

Abstract: In the last century, drug development researches presented a great contribution to the progress of medicine through advancements of pharmacology, clinical and especially chemistry sciences. In drug development studies, especially discovery of transmembrane receptors and production of ligands specific to these receptors provide important developments in this area. The advent of molecular biology also has impacted on drug discovery. The increase in complexity of drug research enforced us to strengthen the multidisciplinary approaches. Genome sciences, combined with bioinformatic tools allow us to understand mechanism of many diseases and to discover drug targets. Cooperation between academia and biotechnology industry have accelerated drug discovery.

Öz: Geçen yüzyılda, farmakoloji, klinik ve özellikle kimya bilim dallarının katkılarıyla ilaç geliştirme çalışmaları tıbbın gelişmesinde önemli paya sahip olmuştur. İlaç geliştirme çalışmalarında, özellikle transmembran reseptörlerinin keşfedilmesi ve bunlara özgü ligandların üretilmesi bu alanda önemli gelişmelere neden olmuştur. Son zamanlarda moleküler biyoloji alanındaki gelişmeler de ilaç geliştirmede güçlü etkiler meydana getirmiştir. İlaç geliştirmede gittikçe zorlukların artması disiplinler arası iletişimi güçlendirmek zorunda bırakmıştır. Biyoenformatik araçlarla kombine edilen genetik bilimler birçok hastalığın genetik temeline inmemize ve yeni ilaç hedeflerinin keşfine olanak sağlamıştır. Biyoteknoloji firmaları ile akademik camianın iş birliği yeni ilaç keşfini hızlandırmıştır.

Key words: Chemistry, drug, genetics, pharmacology, receptor.

Anahtar sözcükler: İlaç, farmakoloji, genetik, kimya, reseptör.

Yazışma Adresi: Arş. Gör. Hidayet TUTUN
Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi, Farmakoloji ve Toksikoloji Anabilim Dalı, 06110, Dışkapı, ANKARA
E-posta: hidayetutun@gmail.com
Tel: 0312 317 03 15 /4437

Geliş Tarihi: 22.12.2015

Kabul Tarihi: 25.02.2016

Kaynak göstermek için: Tutun H, Baydan E. 2016. İlaç geliştirmede reseptör analizinin önemi. MAKÜ Sag. Bil. Enst. Derg. 4(1): 42-49.

Giriş

Hücrelerde özel bir büyük molekülün belli bir kısmını oluşturan ve ilaç, zehir ya da vücutta şekillenen maddeleri seçici bir biçimde yüksek ilgiyle bağlayan ve böylece etkinin başlamasına aracılık eden yapılara reseptör denir (Kaya ve Ünsal, 2002). Proteinler ilaç reseptörlerinin yapısal ve sayısal bakımdan en önemli sınıfını oluştururlar. En önemli ilaç reseptörleri arasında özellikle hormonlar, büyüme faktörleri, çevirim faktörleri, sinirsel araçları, metabolizma ya da düzenleme yollarının enzimleri, taşıma süreçlerine katılan proteinler, salgı glikoproteinleri ve yapısal proteinler gibi içsel düzenleyici ligandlar¹ için reseptör görevi yapan hücresel proteinler vardır. Bu tür fizyolojik reseptörlerin işlevi, uygun içsel ligandı bağlamak ve yanıt olarak düzenleyici sinyalini hedef hücrenin içine yaymaktan oluşur. Ayrıca, tedavi amacı ile diğer hücresel bileşenlerin spesifik bağlama özelliklerinden de yararlanılabilir. Bu bağlamda nükleik asitler özellikle kanser tedavisinde kullanılan ajanlar için önemli nükleer ilaç reseptörleridir. İlaç reseptörlerinin özellikle önemi bir grubunu normalde içsel düzenleyici ligandlar (hormonlar ve sinirsel araçlar gibi) için reseptör olarak görev yapan proteinler oluşturur (Buxton, 2006).

Reseptörler hücrelerin değişik yerlerinde bulunurlar. Bunlar; i) membran reseptörleri; ii) stoplazma reseptörleri; iii) nükleustaki reseptörlerdir. Reseptörlerin büyük bir kısmı stoplazma membranlarının dış yüzünde bulunan membran reseptörleri (katekolaminler, peptid yapılı diğer etkin maddelerin reseptörleri) dir. Hücre yüzeyinde yerleşmiş olan bu reseptörler suda çözünen ve yeterli derecede lipofilik olmadığı için hücre içine basit difüzyonla giremeyen bazı nöromediatör, hormon veya diğer etkin maddelerin etkiledikleri reseptörlerdir. Böylece dışarıdan bir ligandın bağlanması, hücrenin içine doğru sinyal transdüksiyon yolunun etkinleşmesini sağlar. Bu reseptörler hücre membranında bulunan özel enzimler, iyon kanalları ve aktif transport sistemleri gibi efektör yapılar ile kenetlenirler (Özalp Dural, 2008). Reseptörlerin bir diğer ana sınıfı nükleer reseptörlerdir ve hücre çekirdeğinde bulunurlar. Bu reseptörlerin ligandları steroid hormonlardır, bunlar reseptörlerine bağlanınca, aktive edilmiş reseptör DNA'daki bazı özel dizilere bağlanır ve bu yolla transkripsiyonun hızını değiştirebilir. Aslında nükleer reseptörler transkripsiyon

¹ Reseptöre bağlanan moleküle ligand denir.

faktörleridir. Reseptörlerin DNA üzerinde bağlandığı spesifik dizilere “hormona yanıt elemanı” adı verilir (Hormone Responsive Element, HRE) (Buxton, 2006).

İlaç Geliştirmede Reseptörlerin Önemi

Reseptör üzerine etki eden ilaçlar kavramı John Langley (1878)’e atfedilir. Langley (1878) pilokarpin ile oluşturulan salya salgılaması üzerine atropinin karşıt etkilerini çalışırken "sinir uçlarında ve bez hücrelerinde hem atropin hem de pilokarpin ile bileşkeler oluşturabilen bazı madde ya da maddelerin olduğunu" gözlemlemiştir (Maehle ve ark., 2002; Kenakin, 2004). Reseptör kelimesi ise ilk kez 1909 yılında Paul Ehrlich tarafından kullanılmıştır (Kenakin, 2004).

Biyokimya birçok yönden ilaç araştırmalarını etkilemiştir. Biyokimya ile oluşturulan ilaç hedefi kavramı deneysel olarak bulunan enzimler ve reseptörlerdir. Bu hedefler üzerine yapılan çalışmalar ilk olarak 1933’de karbonanhidrazın karakterizasyonu ve tanımlanması ile başlamış (Meldrum ve Roughton, 1933), sülfanamidin bir enzimi engellediği ve bu etki natriüresisde ve suyun ekskresyonunda artışa neden olduğunun anlaşılmasıyla devam etmiştir (Drews, 2000).

Benzen teorisi, katran türevlerinin özellikle de boyaları araştırmak için güçlü bir destek olmuştur. Boya sanayinin gelişimi tıpta da derin bir etki oluşturmuştur. 1972’de Wilhelm Waldeyer’in araştırmalarında boyaların biyolojik dokulara olan seçici afinitesi kemoreseptörlerin varlığını düşünmesine yol açmıştır (Drews, 2000). Ehrlich parazitler mikroorganizmalar ve kanser hücreleri üzerindeki bazı kemoreseptörlerin konakçının dokusundaki benzer yapılardan farklı olabileceğini ve bu değişikliklerin terapötik olarak kullanılabilir olduğunu iddia etmiş ve bu da kemoterapinin doğuşuna öncü olmuştur (Maehle ve ark., 2002).

Reseptörler, kemoterapötik ajanların özel bir sinyal oluşturmasında rol oynayan bir anahtardır. Bu yönde kritik bir aşama da Ahlquist’in (1966) adrenerjik reseptörler üzerindeki çalışması olmuştur. Reseptörlerin farmakolojik karakterizasyonu çok sayıda çeşitli ilacın bulunmasında temel oluşturmuştur (Drews, 2000). 1996’da yapılan ilaç terapisinin kapsamlı bir analizinde, ilaç hedeflerinin yaklaşık 500 molekül olduğunu göstermiştir. Analizlere göre, hücre membran reseptörleri hedeflerin yüzde 45’ini, yani en geniş grubunu oluşturmakta, enzimler ise tüm ilaç hedeflerinin yüzde 28’ini oluşturmaktadır (Drews 1997; Drews ve Ryser, 1997).

Kimya ile başlayıp devam eden ama giderek farmakoloji ve klinik bilimlere doğru kayan ilaç araştırmaları, geçen yüzyıl boyunca tıbbın gelişmesine çok katkıda bulunmuştur. Moleküler biyolojide ve özellikle de genetik bilimlerdeki gelişmeler ilaç keşfinde çok etkili olmuştur. Rekombinat proteinler ve monoklonal antikorlar terapötik tedavi usul ve araçlarımızı oldukça zenginleştirmiştir. Biyoenformatik araçlar ile birlikte genetik bilimler multifaktoral hastalıkların genetik temeline inmemize ve gelecekteki tıp için en uygun başlangıç noktaları belirlememize olanak sağlamış ve böylece tedavi seçeneklerimizin sayısı artmıştır. İlaç araştırmalarındaki zorlukların daha da artması disiplinler arası işbirliğinin kurumsal temelinde değişiklikleri mecbur kılmıştır. Biyoteknoloji sanayisi, farmasötik sanayinin bir keşif kolu olarak kendisini yapılandırmaktadır. Büyük farmasötik şirketler, biyoteknoloji firmaları ile üniversiteler arasındaki iletişimi destekleyerek, teknoloji transferinde etkili bir aracı kurum olmaktadır (Drews, 2000).

Sistemik bilgi analizi yapabilmeye, gittikçe daha karmaşık hale gelen bilgisayar destekli metodların geliştirilmesindeki ilerlemeler, biyolojik sistemlerin karmaşıklığını daha iyi anlayabilecek cihazlar ile bilim insanlarının yetiştirilmesini sağlamıştır. Bu yeni deneysel ve analitik yaklaşımların güçlü bileşimi, daha etkili terapötik yaklaşıma yol açmalıdır. Çoklu işlem yapabilen bu yaklaşımlar genellikle sonuç çıktılarına göre katagorize edilebilirler (genomik, transkripsiyonik, metabolik ve proteomik gibi). Ama bunların her birinden elde edilen biyolojik bilgiler, sonuçlarda farklılıkların olmasına karşın, sıklıkla örtüşür ve tamamlayıcıdır. Bu nedenle, bilimin giderek birbirine bağımlı doğası, biyoinformatik, biyobilişim, sayısal biyoloji gibi devasa deneysel bilgileri yorumlama ve birleştirmesine ve biyolojik ipuçlarından hipotezler oluşturmaya yarayacak disiplinlerin çıkmasına sebep olmuştur. Böylece bilim adamları karmaşık biyolojik mekanizmaların özelliklerini giderek anlayacaklar ve bu bilgileri de elde etmek istedikleri bilgiler doğrultusunda kullanacaklardır. Bilhassa farmasötik sanayi için kritik olan nokta sayısal algoritmalar ile deneysel yaklaşımların ilişkilendirilmesidir. Bu entegrasyon önemli ölçüde keşife, araştırma ve geliştirme masraflarının azalmasına, yararı ve zararı önceden tahmin edilerek ilaç israfının en aza indirilmesine katkıda bulunacak ve nihayetinde de dünya pazarında şirketlerin rekabetini belirleyecektir (Alexopoulos ve ark., 2009).

Genetik bilimler, hızlı DNA dizileme, kombinasyonel kimya, hücre kökenli deneyler ve otomatik yüksek kapasiteli gözlemler ilaç geliştirmeye yeni bir bakış açısı getirmiş ve ilaç üretiminde kullanılmaya başlanmıştır. Yeni reseptörlere yönelik moleküler biyolojik

araştırmalar ile birçok reseptöre özgü yüzlerce genin keşfine olanak sağlamıştır. Ancak bu reseptörlerin birçoğu "yetim" dir, yani liganları belli olmayan sahipsiz reseptörlerdir. Yetim reseptörlerin içsel ligandları ve bunların fizyolojik işlevlerinin keşfedilmesi, çoğu kez tedavi edilemeyen hastalık durumlarını modüle edebilecek yeni ilaçların keşfine olanak sağlayacağı aşikârdır. İnsan genomu 12000 ile 14000 civarında protein üreten gene sahiptir. Sadece bu proteinlerin yüzde bir veya ikisi ilaç olarak tanımlansaydı, 120 ile 280 arasında terapötik protein olurdu. Günümüzde bunlardan çoğu keşfedilmeyi ve geliştirilmeyi beklemektedir (Drews, 2000).

Yapısal biyolojide gelişmeler, özellikle nükleer manyetik rezonans spektrofotometresinde, robotik kristallenme, kriyojenik kristal yapılabilmesi, x ışınli kristalografi ve yüksek hızlı programlama, protein yapısını belirlemeyi kolaylaştırmıştır. Aslında teknolojik gelişmeler, medikal olarak önemli proteinlerin geniş çapta görünür hale gelmesini sağlamış, hatta üç boyutlu görüntüsünü elde edilebilir kılmıştır (Drews, 2000). Ayrıca alerji, kanser, otoimmün hastalıklar veya astım durumunda IgE, vasküler endotelial büyüme faktör veya IL-2 veya IL-5'lerin kendi reseptörlerine bağlanması gibi protein-protein etkileşimlerini de inceleyebilir hale getirmiştir. Protein-protein birleşme yüzeyi, bağlanma için kritik olan ve küçük moleküllerle aynı hacme sahip olan "etkin nokta" olarak bilinen yerlerdir. Küçük moleküller ile bu etkin noktaların hedeflenmesi, istenmeyen protein-protein bağlanmasının engellenmesini de sağlayabilir. Sonuç olarak, iyi bir şekilde valide edilmiş hedef yapılar yeni ilaç geliştirmede bizlere yönlendirici olabilir (Clackson ve Wells, 1995; Stigers ve ark., 1999).

Bu teknolojik gelişmeler fizyolojik reseptörlerin keşfinde patlamalara ve buna paralel olarak reseptörlerin biyokimyasal mekanizmaların anlaşılmasına hız kazandırmıştır. İlaçların farklılıkları ve seçicilikleri arttıkça, reseptörlerin de alt tiplerinin olduğu anlaşılmiş ve bu da ilaç geliştirmede reseptör alt tiplerinin önemini ortaya çıkarmıştır. Özellikle moleküler klonlama, tümüyle yeni reseptörlerin ortaya çıkarılması, sayısız izoformlar ya da daha önce bilinen reseptörlerin alt tiplerinin ortaya çıkarılması ve bunların rekombine proteinler olarak ekspresyonunun yapılarak alt-tipe özel ilaçların keşfine olanak sağlamıştır. Reseptör alt-tipleri arasındaki farmakolojik farklardan, terapötik olarak reseptör-seçici ilaçların geliştirilmesi ve kullanılması sırasında yararlanılır. Bu gibi ilaçlar, reseptör alt-tiplerinde değişik hücre içi sinyaller başlattığı için tek bir dokudan farklı yanıtlar çıkarmada kullanılır. Bu şekilde ilacın

seçiciliği arttırılabilir ve ilacın terapötik yararının, istenmeyen etkilerine ağır basıp basmadığı saptanabilir (Temizkan, 2008).

Radioligand bağlanma deneyleri, reseptör tanımlama ve onların anatomik dağılımını belirlemek için geniş çapta kullanılmaktadır. Bu deneylerle, özellikle rodopsin gibi superfamilya, yedi transmembran üniteli G-protein kenetli reseptör (GPCRs) (Davenport ve Russell, 1996; Dacenport ve Kuc, 2005) alt tipleri gibi pek çok reseptör keşfedilmiştir. Birçok önemli fizyolojik süreçleri yönlendiren ve tüm ilaçların yaklaşık %50'sine hedef olan 200'den fazla reseptör, bu familya içerisinde yer alır. Yaklaşık 160, belki de daha fazla yetim GPCRs insan genomunda bulunduğu ve GPCR'nin karakteristik mRNA dizilerinin olduğu bilinmesine rağmen, onlara ait iç ligandları halen isimlendirilmeyi beklemektedir. Bir diğer deney yönteminde ise, transfeksiyon ile hücre hatlarında reseptörlerin yapay olarak eksprese edilmesi sağlanır. Transfekte edilen bu hücre hatlarında raportör sistemler kullanılarak reseptörlere bağlanan ligandlar tespit edilir. Bu deneyler sayesinde, 45'den fazla reseptör yetim olmaktan kurtarılmış veya yapısal olarak benzer ligandlar oluşturulmuştur. Bu içsel transmitterlerin neredeyse yarısının peptid olduğu anlaşılmış ve benzer yapıdaki ligand geliştirilmeye başlanmıştır. Geriye kalan isimlendirilmemiş yetim reseptörlerinin yaklaşık 70 kadarının ise yine peptidik bir liganda sahip olabileceği düşünülmektedir (Wise ve ark., 2004; Dacenport ve Kuc, 2005).

Birçok yetim GPCR reseptörleri için ya doğal ya da yapay ligandların bulunması hatırısayılır bir çaba gerektirir. Ligandın radyoişaretleli analogunun sentezini takiben, reseptör tanımlayan farmakolojik kriterleri (ismi, doyurulabilirlik, spesifiklik ve afinite) tarafından doku ve hücrelerdeki reseptörün ekspresyonu saptanabilir. Bir doku veya hücrede yeni bir reseptörün keşfi, olası fonksiyonları anlamada bir ipucu ve fonksiyonel deneylerin tasarlanmasına kılavuzluk yapabilir (Dacenport ve Kuc, 2005). Bu gibi çalışmalar histamin H₄ reseptörleri için iyi tanımlanmış farmakolojik ligandlar reseptörün alt tiplerini ortaya çıkarmıştır. Başka çalışmalarda da buna benzer birçok yetim reseptör tanımlanmıştır (GABA-B reseptör, peptid reseptörlerle ilgili kalsitonin geni, amilin reseptör ve nikotinik reseptörü gibi). Bunlar içerisinde GPCR'nin bir sınıfı olan "trace amino reseptör" lerin keşfi ise ayrıca önem taşımaktadır. Bu reseptör sınıfında bulunan prokinetisin (PROKR) reseptörleri ve nöromedin reseptörlerinin iki alt tipinin isimlendirilmesi akademik ve ilaç sanayinin büyük ilgisini çekmiştir. Bu buluşlar, hücre biyolojisini ve hastalıkların mekanizmalarını anlamada yeni bir ışık olmuştur (Wise ve ark., 2004).

Hastalıkların patogenezi ve tedavi yaklaşımlarını anlamaya yönelik reseptör ekspresyonuna üzerine çalışmalar günümüzde giderek artmaktadır. Reseptörler, aktarıcılar ve efektörler bir canlıda genetik uygulamalar ile fazla ekspresse edilebilir ya da tamamen ekspresyonu baskılanabilir; bu gibi değişikliklerin sonucunda oluşan kültüre edilmiş memeli hücreleri ya da maya veya *Candida elegans* gibi uygun sistemlerde yapılan çalışmalar, klinik uygulamalara dahil edilmektedir. Ayrıca, şimdi özel bir reseptörü olmayan genetik-geçişli yoksunlaştırılmış hayvanlardan ilaç araştırmalarında fazlasıyla yararlanılmaktadır. Gen çıkarılmasının ölümcül olmaması ve yavruların üreyebilmesi sağlanırsa, kayıp reseptörlerinin rolü hakkında çok şey öğrenilebileceği düşünülmektedir (Temizkan, 2008).

Sonuç

Transmembran reseptörleri üzerine yapılan çalışmalarda en çok radyoligand bağlanma deneyi kullanılmaktadır. Aynı zamanda moleküler genetikteki gelişmeler ile transmembran reseptörlerini ekspresse eden genlerin ve nükleer reseptörlerin keşfine olanak sağlamıştır. Keşfedilen her reseptör kendisine özgü ligandların bulunmasına veya sentezlenmesine sebep olmuştur. Reseptör analiz yöntemleriyle yeni reseptörler ve reseptör alt tipleri keşfedilmekte, bunlar için yeni ligand ve ligandın karakterizasyon çalışmaları yapılmaktadır. Teknolojik gelişmelerin reseptör analiz yöntemlerine entegre edilmesiyle yetim reseptörlerin karakterizasyonu, reseptör alt tiplerinin bulunması ve reseptörlere özel ligandların geliştirilmesinde hızlanmanın olması beklenmektedir. Akademik camianın ve ilaç şirketlerinin birlikte çalışmaları bu süreci hızlandırmaktadır.

Kaynaklar

1. Ahlquist RA. 1966. The adrenergic receptor. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 55(4): 359-
2. Alexopoulos GL, Saez-Rodriguez J, Espelin WC. 2009. High-throughput protein-based technologies and computational models for drug development, efficacy, and toxicity. *Drug Efficacy, Safety, and Biologics Discovery*. Ed. S. Ekins ve J.J.Xu. Wiley, New Jersey.
3. Buxton LLO. 2006. Farmakokinetik ve farmakodinamik: ilaç emilimi, dağılımı, metabolizması ve eliminasyonunun dinamiği. Laurence L, Brunton, John S. Lazo, Keith L.Parker. eds. Ö. Süzer. çev eds. Goodman ve Gilman Tedavinin Farmakolojik Temeli, Ankara: Nobel Tıp Kitapevi, 1-39

4. Clackson T, Wells JA. 1995. A hot spot of binding energy in a hormone- receptor interface. *Science* 269(5196); 383-6.
5. Davenport AP, Kuc RE. 2005. Radioligand-binding and molecular-imaging techniques for the quantitative analysis of established and emerging orphan receptor systems, methods in molecular biology, vol.306: Receptor Binding Techniques: Second Edition. Ed. A.P. Davenport Totowa, NJ. Humana Press Inc. S: 93-120
6. Davenport AP, Russell FD. 1996. Radioligand binding assays: Theory and practice, Mather SJ. Eds. Current Directions in Radiopharmaceutical Research and Development. Netherland, Kluwer Academic Publishers. S: 169-179.
7. Drews J. 1997. In human diseases, Drews J., Ryser ST Eds. Genetic Causes to Biochemical Effects, Blackwell Berlin pp:5-9.
8. Drews J. 2000. Drug discovery: a historical perspective. *science*, 287, 1960-1964.
9. Drews J, Ryser ST. 1997. Classic drug targets. special pullout. *Nature Biotechnol.* 15.
10. Ozalp Dural, EA. 2008. Farmakodinamik. Farmakoloji. 4. Baskı. Ankara. Nobel Tıp Kitapevleri. S:37-44
11. Kaya S, Ünsal A. 2002. İlaçların etkileri, veteriner farmakoloji. Cilt 1.4. Baskı. Ankara: Medisan Yayınevi, s.:89-121
12. Kenakin T. 2004. Principles: receptor theory in pharmacology, *Trends pharmacol Sci* Vol:25 No.4
13. Langley JN. 1878. On the physiology of salivary secretion. Part II. On the mutual antagonism of atropin and pilocarpin, having especial reference to their relations in the sub-maxillary gland of the cat. *J. Physiol. (Lond.)* 1, 339–369.
14. Maehle AH, Prüll CR, Halliwell RF. 2002. The emergence of the drug receptor theory. *Nature reviews. Drug discovery* 1 (8): 637–41.
15. Meldrum NU, Roughton FJW. 1933. Carbonic anhydrase. its preparation and properties. *J. Physiol.* 80(2):113-142.
16. Stigers KD, Soth MJ, Nowick JS. 1999. Designed molecules that fold to mimic protein secondary structures. *Curr Opin Chem Biol.* 3(6): 714-23.
17. Temizkan G. 2008. Moleküler biyolojide kullanılan yöntemler: genel bakış, Temizkan G. ve Arda N. Eds. Moleküler Biyolojide Kullanılan Yöntemler. Baskı: 2, Nobel Tıp Kitapevleri. Ankara.
18. Wise A, Jupe SC, Rees S. 2004. The identification of ligands at orphan g-protein coupled receptors. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*, 44:43-66.