

Schnappschuss von Antidepressiva bei der Arbeit: die Struktur von Neurotransmittertransporter-Proteinen

Serena Cuboni und Felix Hausch*

Antidepressiva · Membranproteine · Neurotransmitter ·
Strukturaufklärung · Transporter

Transporter für Neurotransmitter sind eine der wichtigsten Proteinfamilien der Psychopharmakologie,^[1] wie sie aber genau mit Wirkstoffen interagieren, ist nach wie vor umstritten.^[2] Jetzt entschlüsselten Gouaux und Mitarbeiter in zwei sich ergänzenden Studien den molekularen Bindungsmodus dieser Proteine mit Antidepressiva.^[3,4] Damit erklären sie, wie Neurotransmittertransporter mit einer Vielzahl von Wirkstoffen interagieren können und schaffen die Voraussetzungen für eine strukturbasierte Entwicklung von verbesserten Psychopharmaka.

Neurotransmitter-Natrium-Symporter (NSSs) sind Natriumionen-gekoppelte Transporter, die die Neurotransmission beenden, indem sie Neurotransmitter vom synaptischen Spalt entfernen.^[1] Diese Transporter spielen bei vielen psychiatrischen Erkrankungen eine Rolle und sind das Ziel wichtiger Wirkstoffe, z. B. tricyclischer Antidepressiva (TCAs), selektiver Serotonin-Wiederaufnahmehemmer (SSRIs) oder Serotonin-Norepinephrin-Wiederaufnahmehemmer (SNRIs), die die Behandlung von psychiatrischen Krankheiten revolutioniert haben. Wie diese Wirkstoffe an Neurotransmittertransporter binden, ist jedoch nach wie vor unklar. Dies liegt unter anderem daran, dass diese integralen Membranproteine schwer zu kristallisieren sind. Der erste Durchbruch auf diesem Gebiet gelang Gouaux und Mitarbeitern 2005, als sie LeuT, ein entferntes Homologes der eukaryotischen NSSs, kristallisierten und damit ein neues Proteinfaltungsmotiv definierten, das allen NSSs gemeinsam ist.^[5] LeuT, ein bakterieller Leucintransporter von *Aquifex aeolicus*, besteht aus zwölf Transmembranhelices und weist in seiner Sequenz 20–25 % Identität mit menschlichen Neurotransmittertransportern auf. Die LeuT-Struktur zeigte die primäre Substratbindungsstelle im Innern des Proteins sowie zwei Natriumionen, die über einen Konzentrationsgradienten die Triebkraft für den Transport der Neurotransmitter liefern. 2007 erschienen von verschiedenen Gruppen Kristallstrukturen von LeuT im Komplex mit Antidepressiva, die in einer allosterischen Tasche, entfernt von der Substratbindungsstelle, gebunden waren.^[6] Diese Exo-Bindungsstelle im extrazellulären Vorhof

des Proteins stand jedoch im Widerspruch zu verschiedenen biochemischen Studien über eukaryotische Neurotransmittertransporter, was auf substanzielle Unterschiede zwischen prokaryotischen und eukaryotischen Transportern schließen ließ.^[2]

Die Gruppe um Gouaux untersuchte diese Diskrepanz zwischen bakteriellen und eukaryotischen Transportern mit zwei komplementären Ansätzen. Wang et al. rekonstruierten eine Eukaryoten-ähnliche Bindungsstelle innerhalb des bakteriellen LeuT-Transporters, indem sie ausgewählte Reste durch die entsprechenden Aminosäuren der eukaryotischen Transporter ersetzten.^[4] In der Tat hatte die resultierende bakteriell-humane Hybridtransportermutante LeuBAT ein pharmakologisches Profil, das denen der eukaryotischen Transporter ähnelte und verschiedene SSRIs, SNRIs und TCAs mit stark verbesserter Affinität binden konnte. Die Autoren konnten nun eine Reihe von Kokristallstrukturen der LeuBAT-Mutante mit diesen SSRIs, SNRIs oder TCAs lösen. In allen Fällen stabilisierten die Wirkstoffe die LeuBAT-Mutanten in einer nach außen gerichteten, offenen Konformation und banden an einer Position, die früher als primäre Substratbindungsstelle für diese Konformation postuliert worden war.^[5]

In einem zweiten Ansatz lösten Penmatsa et al. die Kokristallstruktur eines vollständig eukaryotischen Neurotransmittertransporters, des Dopamintransporters (DAT) der Fliege *Drosophila melanogaster*.^[3] Wie bei allen anderen eukaryotischen Neurotransmittertransportern ist der unmodifizierte *Drosophila*-DAT in gereinigter und gelöster Form höchst instabil und unzugänglich für kristallographische Strukturanalysen. Penmatsa et al. lösten dieses Problem, indem sie flexible Schleifen und Termini des Proteins entfernten, thermostabilisierende Mutationen einführten und das Protein zusätzlich mit einem Antikörperfragment stabilisierten. Diese Techniken haben in den vergangenen Jahren die Strukturbiologie von integralen Membranproteinen revolutioniert, vor allem für G-Protein-gekoppelte Rezeptoren.^[7] Die Autoren lösten anschließend den Komplex des *Drosophila*-DAT mit dem Antidepressivum Nortriptylin, das wiederum an die mutmaßliche Substratbindungsstelle in der nach außen gerichteten offenen Konformation band (Abbildung 1).

Zusammengenommen liefern diese Studien ein überzeugendes Modell für den Hauptbindungsmodus von Antidepressiva. Durch den Vergleich verschiedener Strukturen

[*] Dr. S. Cuboni, Dr. F. Hausch
AG Chemische Genomik, Max-Planck-Institut für Psychiatrie
Kraepelinstraße 2, München (Deutschland)
E-Mail: hausch@mpipsykl.mpg.de
Homepage: <http://www.mpipsykl.mpg.de/en/research/groups/hausch/index.html>

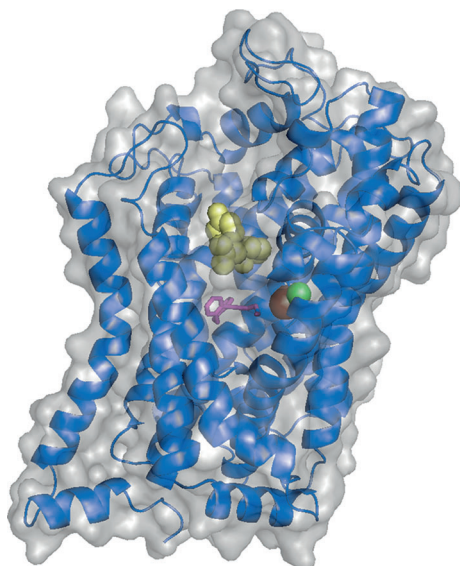


Abbildung 1. Struktur des thermostabilisierten Dopamintransporters (DAT) von *D. melanogaster* im Komplex mit dem Antidepressivum Nortriptylin (pinkfarbene Stäbe, pdb-Code: 4M48) im Kristall. Die Oberfläche von mdDAT ist grau dargestellt, das Proteinrückgrat ist in Form blauer Helices gezeigt. Ein Teil von Helix 6 wurde der Übersichtlichkeit halber weggelassen. Zwei gebundene Natriumionen und ein Chloridion sind als braune bzw. grüne Kugeln dargestellt. Die sekundäre Antidepressiva-Bindungsstelle in der extrazellulären Hälfte ist in Gelb ange deutet.

konnten die Autoren drei Untertaschen in der Hauptbin dungsstelle definieren sowie die Aminosäuren identifizieren, die mit den Wirkstoffen interagieren. Ihre Arbeiten erklären, wie relativ unterschiedliche Liganden an derselben Stelle der Neurotransmittertransporter binden können. Sie liefern da mit eine strukturelle Erklärung für die außerordentlich hohe „Druggability“ dieser Proteinklasse, d.h. die vergleichsweise hohe Wahrscheinlichkeit, Liganden für sie zu finden.

Im Falle von LeuBAT konnten Wang et al. auch eine Kokristallstruktur mit zwei Desvenlafaxin-Molekülen erhalten, wobei eines an die mutmaßliche Substratbindungsstelle und das andere an einer zweiten, mehr äußeren Tasche band. Diese zweite Position entspricht der Exo-Bindungsstelle, die zuvor für LeuT beobachtet worden war^[6] und könnte die al losterische Tasche mit niedriger Affinität repräsentieren, die früher bereits für Antidepressiva wie Escitalopram postuliert worden war.^[8a] Es bleibt abzuwarten, ob Wirkstoffe speziell für diese sekundäre Bindungsstelle entwickelt werden kön nen und ob dies neue pharmakologische Eigenschaften er möglicht.^[8b]

Ein kleiner Schönheitsfehler der vorliegenden Strukturen ist die Tatsache, dass die verwendeten stabilisierten Protein konstrukte keine Neurotransmitter mehr transportieren können und dass sie eine gemischte Dopamin/Norepinephrin/ Serotonin-Transporterpharmakologie aufweisen. Daher kön nen sie keinen Aufschluss über die Transporterselektivität z. B. der SSRIs geben. Dennoch sind die Befunde von Gouaux et al. richtungweisend für die künftige Entwicklung von

Neurotransmittertransporter-Liganden. Dabei liegt der be deutendste Aspekt nicht notwendigerweise in der Verbesse rung der Bindungsaffinität für die menschlichen Monoamin transporter an sich, da es hier bereits hochoptimierte Ligan den gibt – vielmehr werden andere vielversprechende Wirk stoffziele innerhalb der NSS-Familie, z. B. die Transporter für Glycin (GlyT), GABA (GAT) oder neutrale Aminosäuren (z. B. SLC6A15), die ebenfalls bei psychiatrischen Erkrank ungen eine Rolle spielen, stark von den Methoden und Befunden der Gruppe um Gouaux profitieren. Ferner geht ein aktueller Trend zur Verbesserung von Psychopharmaka dahin, die Affinität für mehrere Wirkstoffziele in einem Molekül zu kombinieren,^[9] wie z. B. beim kürzlich zugelas senen Antidepressivum Vortioxetine (LuAA21004) gesche hen.^[10] Hier liefern Wang et al. und Penmatsa et al. die Grundlage für ein rationales, strukturbasiertes Design von Polypharmaka, d.h. von Wirkstoffen, bei denen die Hem mung von Monoamintransportern eine von mehreren phar makologischen Schlüsselkomponenten ist.

Eingegangen am 5. Dezember 2013

Online veröffentlicht am 11. April 2014

- [1] S. Bröer, U. Gether, *Br. J. Pharmacol.* **2012**, 167, 256.
- [2] G. Rudnick, *ACS Chem. Biol.* **2007**, 2, 606.
- [3] A. Penmatsa, K. H. Wang, E. Gouaux, *Nature* **2013**, 503, 85.
- [4] H. Wang, A. Goehring, K. H. Wang, A. Penmatsa, R. Ressler, E. Gouaux, *Nature* **2013**, 503, 141.
- [5] A. Yamashita, S. K. Singh, T. Kawate, Y. Jin, E. Gouaux, *Nature* **2005**, 437, 215.
- [6] a) S. K. Singh, A. Yamashita, E. Gouaux, *Nature* **2007**, 448, 952; b) Z. Zhou, J. Zhen, N. K. Karpowich, R. M. Goetz, C. J. Law, M. E. Reith, D. N. Wang, *Science* **2007**, 317, 1390; c) Z. Zhou, J. Zhen, N. K. Karpowich, C. J. Law, M. E. Reith, D. N. Wang, *Nat. Struct. Mol. Biol.* **2009**, 16, 652.
- [7] a) S. G. Rasmussen, H. J. Choi, D. M. Rosenbaum, T. S. Kobilka, F. S. Thian, P. C. Edwards, M. Burghammer, V. R. Ratnala, R. Sanishvili, R. F. Fischetti, G. F. Schertler, W. I. Weis, B. K. Kobilka, *Nature* **2007**, 450, 383; b) F. Hausch, *Angew. Chem.* **2008**, 120, 3360; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, 47, 3314; c) S. G. Ras mussen, B. T. DeVree, Y. Zou, A. C. Kruse, K. Y. Chung, T. S. Kobilka, F. S. Thian, P. S. Chae, E. Pardon, D. Calinski, J. M. Mathiesen, S. T. Shah, J. A. Lyons, M. Caffrey, S. H. Gellman, J. Steyaert, G. Skiniotis, W. I. Weis, R. K. Sunahara, B. K. Kobilka, *Nature* **2011**, 477, 549; d) F. Hausch, F. Holsboer, *Angew. Chem.* **2012**, 124, 12338; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, 51, 12172.
- [8] a) H. Zhong, N. Haddjeri, C. Sanchez, *Psychopharmacology* **2012**, 219, 1; b) A. K. Banala, P. Zhang, P. Plenge, G. Cyriac, T. Kopajtic, J. L. Katz, C. J. Loland, A. H. Newman, *J. Med. Chem.* **2013**, 56, 9709–9724.
- [9] a) R. Morphy, C. Kay, Z. Rankovic, *Drug Discovery Today* **2004**, 9, 641; b) M. J. Millan, *Neurotherapeutics* **2009**, 6, 53.
- [10] a) B. Bang-Andersen, T. Ruhland, M. Jorgensen, G. Smith, K. Frederiksen, K. G. Jensen, H. Zhong, S. M. Nielsen, S. Hogg, A. Mork, T. B. Stensbol, *J. Med. Chem.* **2011**, 54, 3206; b) A. Mork, A. Pehrson, L. T. Brennum, S. M. Nielsen, H. Zhong, A. B. Lassen, S. Miller, L. Westrich, N. J. Boyle, C. Sanchez, C. W. Fischer, N. Liebenberg, G. Wegener, C. Bundgaard, S. Hogg, B. Bang-Andersen, T. B. Stensbol, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **2012**, 340, 666.