

Genetische Algorithmen im 3D-QSAR: Voraussage der Toxizität von Dibenzodioxinen, Dibenzofuranen und Biphenylen

Angelo Vedani¹, Daniel R. McMasters¹ und Max Dobler²

¹Biografik-Labor 3R, CH-Basel; ²Laboratorium für Organische Chemie, ETH, CH-Zürich,

Zusammenfassung

2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-*p*-dioxin (TCDD) und verwandte in der Umwelt auftretende Substanzen stellen ernsthafte Gesundheitsrisiken dar. Sie sind Hautgifte, schädigen das Immunsystem, fördern die Tumorentstehung und sind bezüglich Fortpflanzung und Entwicklung toxisch. Es gilt als gesichert, daß die Toxizität dieser Verbindungen durch den Aryl hydrocarbon (Ah)-Rezeptor - einem wichtigen Protein im Fremdstoffmetabolismus von Säugern - vermittelt wird. Mittels Quasi-atomistic receptor modeling, einer 3D-QSAR-Methode, haben wir ein Rezeptormodell für den Ah-Rezeptor erstellt. Das Modell wurde mit 76 Dibenzodioxinen, Dibenzofuranen und Biphenylen trainiert und anhand von 26 weiteren Substanzen getestet. 24 dieser Testsubstanzen (92,3%) wurden innerhalb eines Faktors 10 der experimentellen Bindungsaffinität vorausgesagt. Je ein Toxin wurde falsch positiv bzw. falsch negativ eingestuft (total 7,7%). Die Empfindlichkeit des Modelles bezüglich der biologischen Aktivität ist durch einen negativ verlaufenen Scramble Test belegt. Quasi-atomistic receptor modeling kann in der ersten Entwicklungsphase von Chemikalien und Pharmaka zum Screening auf ein toxikologisches Potential eingesetzt werden und damit belastende Versuche an Tieren ersetzen.

*Summary: Genetic algorithms in 3D-QSAR: Predicting the toxicity of dibenzodioxins, dibenzofurans and biphenyls 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) and related compounds represent serious environmental health hazards, whose effects include dermal toxicity, immunotoxicity, developmental and reproductive toxicity and tumor promotion. There is strong evidence that the toxicity is mediated by the Aryl hydrocarbon (Ah) receptor, a regulatory element involved in the mammalian metabolism of xenobiotics. Using quasi-atomistic receptor modeling, a 3D-QSAR technique, we have generated a receptor model for the Ah receptor. The model was trained using 76 dibenzodioxins, dibenzofurans, and biphenyls, and tested using 26 compounds different therefrom. 24 of these test compounds (92.3%) were predicted to within a factor of 10 of the experimental binding affinity. One compound was predicted false positive, another false negative (7.7% total). The sensitivity of the model with respect to the biological activity was demonstrated by means of a scramble test with negative outcome. Quasi-atomistic receptor modeling can be used for the testing of chemicals and pharmaca for a toxicological potential in an early development phase and thereby replace stressful tests on animals.*

Keywords: 3D-QSAR, genetic algorithms, Aryl hydrocarbon receptor, toxicity testing, dibenzodioxins, dibenzofurans, biphenyls

1 Einleitung

2,3,7,8-Tetrachlordibenzo-*p*-dioxin (TCDD) und verwandte halogenierte aromatische Substanzen werden in zahlreichen industriellen Verbrennungsprozessen als Nebenprodukte freigesetzt und treten in der Folge in vielen Teilen des globalen Ökosystems auf (Rappe, 1993). Ein Kontakt mit halogenierten aromatischen Substanzen führt beim Menschen zur Ausbildung von Chlorakne und zur Induktion gewisser Enzymaktivitäten in der Leber. In Tieren und menschlichen Zellkulturen ruft diese Verbindungsklasse ein breites Spektrum an toxischen und biochemischen Reaktionen wie Hauttoxizität, Immunotoxizität, Lebertoxizität und Porphy-

rie, Fortpflanzungs- und Entwicklungstoxizität, Tumorentwicklung, Gewichtsverlust, Modulation von Endokrinwirkungsmechanismen sowie Induktion und Hemmung verschiedenster Enzymaktivitäten hervor (siehe z.B. Safe, 1990). Reaktionen des Organismus auf TCDD und verwandte Substanzen beruhen auf deren Wechselwirkungen mit dem Aryl hydrocarbon (Ah)-Rezeptor – einem intrazellulären Protein, das im Fremdstoffmetabolismus von Säugern eine wichtige Rolle spielt. Poland und Mitarbeiter (1976) haben den Ah-Rezeptor erstmals nachgewiesen. Sie zeigten, daß radioaktiv markiertes TCDD spezifisch an ein hepatisches Protein bindet, das klassische Merkmale eines Rezeptors – niedrige Bindungs-

kapazität, hohe Ligandenaffinität und reversible Ligandenbindung – aufweist. In eine Zelle eingedrungen, bindet TCDD zunächst an den Ah-Rezeptor, der sich im Kern als ein heterodimerer Komplex – Ah receptor-aryl hydrocarbon nuclear translocator – akkumuliert. Dieser nukleare Komplex agiert schließlich als ligand-induzierter Transkriptionsfaktor. TCDD und verwandte Ah-Rezeptoragonisten vermögen sowohl Genexpression als auch Enzymaktivitäten zu beeinflussen. Die Rolle dieser veränderten Wirkungsmechanismen in der Entstehung von TCDD-induzierter Toxizität und die ihr zugrundeliegenden molekularen Vorgänge sind derzeit noch ungeklärt (Safe and Krishnan, 1995; Swanson and Bradfield, 1993).



Quantitative Struktur-Wirkungsbeziehungen (*Quantitative structure-activity relationships*, QSAR) versuchen mittels mathematischer oder virtueller Modelle die biologische Aktivität einer Serie von strukturell oder wirkungsmäßig vergleichbaren Substanzen quantitativ zu erklären. QSAR basiert auf der Annahme, daß molekulare Eigenschaften mit biologischer Aktivität korreliert werden können.

QSAR-Modelle können auf verschiedenen Abstraktionsebenen gegenüber dem biologischen Rezeptor (bzw. dessen dreidimensionaler Struktur) erstellt werden: Von verwandten Strukturen abgeleitete Homologiemodelle vermitteln – in Abwesenheit der experimentellen Struktur eines Rezeptors – den höchsten Grad an Realismus des Surrogats (vgl. z.B. Sali et al., 1990). Bis heute ist aber keine solche Struktur eines Ah-Rezeptor-Homologen verfügbar, weshalb dieser elegante Ansatz entfällt. Alternativ können aus Aminosäuren aufgebaute Bindungsstellenmodelle (sog. Pseudorezeptoren) verwendet werden, um die Affinität vorauszusagen. Die Philosophie dieses Konzeptes besteht darin, die Wirkstoffe in ein molekulares Wechselwirkungsmuster mit dem Pseudorezeptor einzubinden, das die Verhältnisse am wahren Rezeptor simulieren soll (Snyder et al., 1992; Vedani et al., 1995). In einer früheren Arbeit haben wir über ein solches peptidisches Bindungsstellenmodell für den Ah-Rezeptor berichtet, mit dem die Wechselwirkungen von TCDD und polyhalogenierten Biphenylen auf molekularer Ebene untersucht wurden (Vedani and Zbinden, 1996). Das Modell besteht aus zwölf Aminosäuren (Phe-Ala-Trp; Tyr-Ala; Ser-Ala; Ala-Tyr; Leu-Val-Tyr), welche die aktive Stelle definieren. Das Surrogat war imstande, die Bindungsaffinität von acht Testsubstanzen innerhalb von 0,6 kcal/mol vom experimentellen Wert vorauszusagen. In diesem Modell wird die extreme Toxizität von TCDD damit erklärt, daß es – im Gegensatz zu den Biphenylen – zwei Wasserstoffbrücken mit einem Serin bzw. einem Tyrosin ausbilden kann. Die Voraussagekraft dieses relativ einfachen Modelles ist bemerkenswert, kann es doch den Unterschied von vier Größenordnungen in der Bindungsaffinität von TCDD und unsubstituiertem Biphenyl erklären. Aufgrund des eher kleinen Datensatzes (insgesamt 18 Verbindungen) kann es jedoch nicht un-

mittelbar zur Voraussage von anderen Substanzklassen wie beispielsweise polyhalogenierten Kohlenwasserstoffen herangezogen werden.

Rezeptoroberflächenmodelle repräsentieren einen nächsthöheren Abstraktionsgrad. Hier wird die essentielle Information über die hypothetische Rezeptorstruktur über eine – die Wirkstoffmoleküle umspannende – dreidimensionale Hülle vermittelt, auf deren Oberfläche "molekulare Eigenschaften" verteilt werden. Die Topologie dieser Oberfläche widerspiegelt die dreidimensionale Form der Bindungsstelle am wahren Rezeptor, die darauf abgelegten Eigenschaften repräsentieren physikalische Größen wie Hydrophobizität, elektrostatisches Potential oder Neigung zur Ausbildung von Wasserstoffbrücken (Hahn, 1995). Die Verwendung von genetischen Algorithmen zur Optimierung von Rezeptormodellen hat sich gegenüber von "menschlicher Intuition" hergeleiteten Surrogaten als vorteilhaft erwiesen: Einerseits werden subjektive Entscheidungen vermieden; andererseits wird nicht mit nur einem Modell gearbeitet, sondern mit einer Familie von Modellen, die während einer simulierten Evolution aus einer Anfangspopulation mit zufälligen verteilten Eigenschaften stetig in ihrer Voraussagekraft verbessert wird (Rogers and Hopfinger, 1994; Walter and Hinds, 1994; Vedani et al., 1998).

Alle bisher veröffentlichten Ansätze dieser Art beruhen jedoch auf einem gemittelten Modell, das für alle Wirkstoffe gleich ist. Dies entspricht nicht der Realität am wahren biologischen Rezeptor, der sich unterschiedlichen Wirkstoffen unterschiedlich gut anpassen kann. Dieser Effekt ist als *ligand-dependent induced fit* bekannt. Auch bleibt die Möglichkeit des "Umklappens von Wasserstoffbrückenbindungen" (*H-bond flip-flop*) verwehrt, was es gewissen Aminosäuren (Ser, Thr, Tyr, Cys, His, Asn und Gln) erlaubt, gegenüber einem Wirkstoff als Wasserstoffbrückendonator und gegenüber einem anderen als Wasserstoffbrückenakzeptor zu fungieren. Schließlich bleiben in den meisten QSAR-Ansätzen Solvatationseffekte unberücksichtigt.

2 Methodik

Quasi-atomistic receptor modeling – eine auf dreidimensionalen Strukturen beru-

hende QSAR-Methode (3D-QSAR), die an unserem Labor entwickelt wurde – erlaubt die Voraussage der Bindungsaffinität einer Serie von Wirkstoffen unter Berücksichtigung von *induced fit*, Wasserstoffbrücken-Flip-Flop und Solvatationseffekten (Software *Quasar*, Vedani et al., 1998). Bei toxikologischen Fragestellungen kann unser Ansatz zur Voraussage der Giftigkeit strukturell verwandter Wirkstoffe eingesetzt werden, sofern ein Rezeptorvermittelter Mechanismus angenommen werden kann. Diese Annahme wird durch den genetischen Algorithmus selbst überprüft – ein entscheidender Vorteil des Verfahrens. Bei anderen Mechanismen der Toxizität wird kaum eine ansprechende Korrelation gefunden. In *Quasar* umfaßt die Generierung und Optimierung einer Familie von Rezeptormodellen die folgenden Schritte:

1. Konstruktion der Rezeptorhülle und ihre individuelle Anpassung an die einzelnen Wirkstoffe
2. Generierung der Anfangspopulation durch zufällige Verteilung von "molekularen Eigenschaften" (vgl. Tab. 1) auf dieser Rezeptorhülle
3. Simulation der Evolution (cross-over und Mutationsvorgänge)
4. Validierung der Modelle durch einen externen Testsatz einschließlich "Scramble-Test"

Da dieser Artikel zur Klärung der Frage, inwieweit 3D-QSAR-Ansätze zur Voraussage der Toxizität bestimmter Substanzklassen geeignet sind, beitragen will, wird auf Details des Algorithmus' nicht weiter eingegangen; diese sind jedoch publiziert (Vedani et al., 1998). Hingegen erscheint es angebracht, die Quantifizierung der Wirkstoff-Rezeptor-Wechselwirkungen und der daraus abgeleiteten freien Bindungsenergie ΔG° bzw. Bindungsaffinität K ($\Delta G^\circ = -RT \cdot \ln K \rightarrow K = \exp[-\Delta G^\circ/RT]$) näher zu diskutieren. In unserem Konzept (vgl. Vedani et al., 1995; Zbinden et al., 1998; Vedani et al., 1998) haben wir den Ansatz zur Abschätzung der freien Bindungsenergie nach Blaney et al. (1982) mit einer Methode von Still et al. (1990) zur Berechnung von Desolvatationsenergie sowie einem Term zur Korrektur für Entropieänderung während des Bindungsvorgangs gemäß Searle und Williams (1992) kombiniert:

$$E_{\text{bdg}} \approx E_{\text{Lig-Rec}} - T\Delta S_{\text{bdg}} - \Delta G_{\text{solv.,Lig}} + \Delta E_{\text{int.,Lig}} + \Delta E_{\text{ind.fit}} \quad [1]$$

$E_{\text{Lig-Rec}}$: Wechselwirkung zwischen Toxin und Rezeptor (vgl. Vedani and Huhta, 1990)

$T\Delta S_{\text{bdg}}$: Entropieänderung während der Bindung des Toxins an den Rezeptor

$\Delta G_{\text{solv.,Lig}}$: Desolvatationsenergie des Toxins

$\Delta E_{\text{int.,Lig}}$: Änderung der Faltung während der Bindung des Toxins an den Rezeptor

$\Delta E_{\text{ind.fit}}$: Energie, die mit dem individuellen Anpassen der Rezeptorhülle verbunden ist

E_{bdg} entspricht dem approximativen Nettogewinn an freier Energie bei der Bindung des Toxins an den Rezeptor. Die Änderung der freien Energie, die daraus resultiert ($\Delta G_{\text{ber}}^{\circ}$), wird aus der linearen Regression zwischen $\Delta G_{\text{exp}}^{\circ}$ und E_{bdg} ermittelt. Hierzu werden ausschließlich die Wirkstoffe (Toxine) des Trainingssatzes verwendet:

$$\Delta G_{\text{ber}}^{\circ} = |a| \cdot E_{\text{bdg}} + b \quad [2]$$

Steigung und Achsenabschnitt sind inhärent mit einem bestimmten Modell (aus der gesamten Familie) verbunden; sie werden auch zur Voraussage der Bindungsenergie – und damit der Toxizität – neuer oder hypothetischer Substanzen verwendet. Der Trainingssatz wird im QSAR dazu verwendet, um das Modell zu trainieren. Darunter ist zu verstehen, daß ein Modell mittels des genetischen Algorithmus' so lange verändert wird, bis die Korrelation in Gleichung [2] möglichst hoch ist – bevorzugterweise 0,7 bis 0,9. Gegenüber Einzelmodellen (Homologiemodell, Pseudorezeptor) erzeugen genetische Algorithmen eine große Familie mit typischerweise 200-500 Modellen - ein weiterer Vorteil der Methode. Die einzelnen Modelle unterscheiden sich leicht in ihren Eigenschaften, vermögen aber einen komplexen und vor allem strukturell flexiblen biologischen Rezeptor viel besser zu repräsentieren. Die Überprüfung der Voraussagekraft eines Modelles geschieht dann anhand eines Testsatzes von Wirkstoffen, die nicht im Trainingssatz enthalten sein dürfen.

Das *Quasar*-Konzept wurde an einer Serie von sechs Systemen (b2-adrenerger, cannabinoider, dopaminerg, Neurokinin-1, steroider und Süßstoffrezeptor) validiert: Die Voraussage für einen Satz von Testwirkstoffen wich im Mittel (RMS) zwischen 0,4 und 0,8 kcal/mol vom experimentellen Wert ab, was einer Unsicherheit in der Bindungsaffinität von einem Faktor 3 bis 4 entspricht (Vedani et al., 1998).

3 Resultate und Diskussion

Die dreidimensionalen Strukturen der 102 verwendeten Dibenzodioxine, Dibenzofurane und Biphenyle wurden mit *MacroModel 6.0* (Mohamadi et al., 1990) erzeugt und unter Verwendung des *AMBER*-Kraftfeldes (Weiner et al., 1984) in wäßriger Lösung (vgl. Still et al., 1990) optimiert. Die experimentellen EC_{50} -Werte wurden unter vergleichbaren Bedingungen bestimmt (Romkes et al., 1987; Denomme et al., 1986, 1985; Mason et al., 1986, 1985; Bandiera et al., 1984, 1982) und für die vorliegende 3D-QSAR-Studie herangezogen.

Die mittels *quasi-atomistic receptor modeling* (Software *Quasar*, Vedani et al., 1998) erstellte Familie von Rezeptormodellen für den Ah-Rezeptor wurde mit 76 polysubstituierten Dibenzodioxinen, Dibenzofuranen und Biphenylen (vgl. Abb. 1 und Tab. 2) trainiert. Die Familie umfaßte 200 Einzelmodelle, die sich um mindestens 10% aller auf der Rezeptoroberfläche verteilten Eigenschaften unterscheiden mußten. Die Evolution wurde durch 5000 sog. *cross-overs* simuliert. Ein *cross-*

over entspricht der Erzeugung von zwei Nachkommen aus zwei zufällig ausgewählten Elternpaaren durch zufällige Neuverteilung der Eigenschaften von Vater und Mutter auf die beiden Kinder. Die Mutationsrate beim *cross-over* (Transkriptionsfehler) wurde auf 2% festgesetzt. Nach jedem *cross-over*-Vorgang wurden diejenigen zwei Individuen der Gesamtpopulation mit der schlechtesten Voraussagekraft verworfen.

Das Rezeptormodell kann topologisch als „Erdnuß mit einer seitlichen Öffnung“ beschrieben werden, die im Mittel über alle 200 Modelle 26,8% der Gesamtoberfläche ausmacht und zwischen den Positionen „R1“ und „R9“ (vgl. Abb. 1) der Dibenzop-dioxine liegt. 20,7% der Eigenschaften repräsentieren leicht positiv geladene hydrophobe Partikel (etwa den Protonen von Phenylalanin oder Tryptophan bzw. Histidin entsprechend), 7,3% repräsentieren leicht negativ geladene hydrophobe Partikel (dem π -System in Phenylalanin oder Tyrosin entsprechend), 2,8% sind Wasserstoffbrückendonoren, 1,5% positiv geladene Salzbrücken (Arginin, Lysin). Die übrigen 40,9% der Eigenschaften repräsentieren neutrale hydrophobe Partikel (Glycin, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin).

Der cross-validierte q^2 -Wert für die 76 Toxine des Trainingssatzes beträgt 0,836; die mittlere Abweichung (RMS) der freien Bindungsenergie 0,638 kcal/mol, was einer Unsicherheit von einem Faktor 3,0

Tabelle 1: Übersicht der „atomistischen Eigenschaften“ in *Quasar* und ihrer Analogie zu Aminosäuren in Proteinen.

Eigenschaft	El. Ladung	Analogie im Protein
hydrophob, neutral	-	Glycin, Alanin, Valin, Leucin, Isoleucin, Prolin
hydrophob, positiv	+0.10	Phenylalanin (Ringwasserstoffe), Tryptophan; Histidin
hydrophob, negativ	-0.10	Phenylalanin (Ring- π -Elektronen), Tyrosin
H-Brückendonor	-	Hauptketten >N-H; Serin, Threonin, Cystein, Histidin, Asparagin, Glutamin, Tryptophan, Tyrosin; ans Protein gebundenes Wasser
H-Brückenakzeptor	-	Hauptketten >C=O; Serin, Threonin, Cystein, Methionin, Histidin, Asparagin, Glutamin, Tyrosin; ans Protein gebundenes Wasser
Salzbrücke, positiv	+0.25	Arginin, Lysin; Metallionen
Salzbrücke, negativ	-0.25	Aspartat, Glutamat
H-Brücken Flip-Flop	-	Serin, Threonin, Cystein; Asparagin, Glutamin; Histidin
Wasser	-	Lösungsmittelzugängliche Bindungsstelle
Leere Eigenschaft	-	Hydrophobe Öffnung der Bindungsstelle

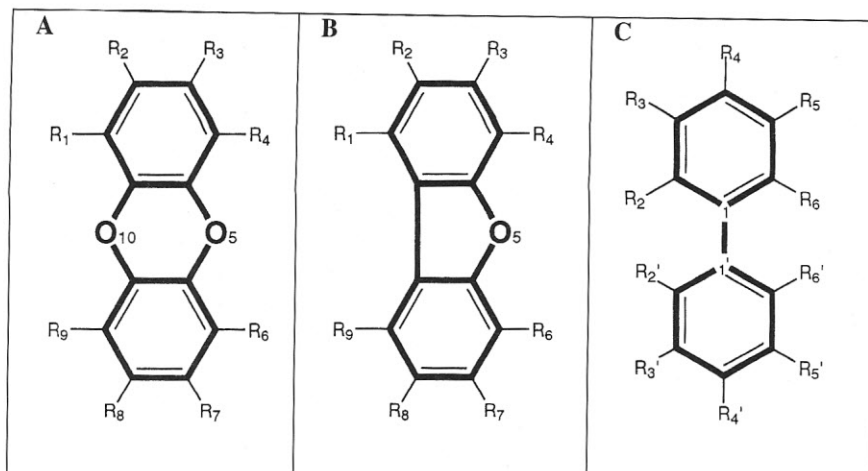


Abb. 1: Die Strukturklassen von Dibenzodioxinen (A), Dibenzofuranen (B) und Biphenylen (C). Die Substituentennumerierung (R1–R9) entspricht der Nomenklatur in Tabelle 2.

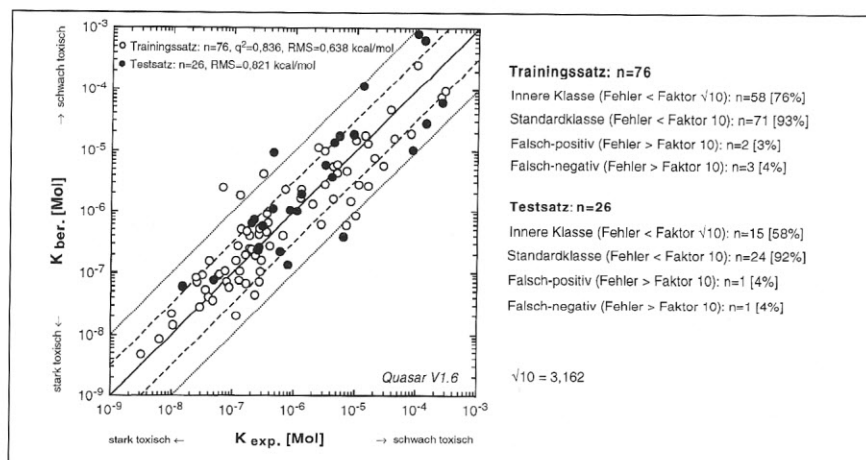


Abb. 2: Grafischer Vergleich der berechneten und experimentellen Bindungsaffinitäten der untersuchten 102 Dibenzodioxine, Dibenzofurane und Biphenyle bezüglich des Ah-Rezeptors. (A: Trainingsatz, B: Testsatz)

entspricht. Dieser Wert liegt nicht unweit der experimentellen Reproduzierbarkeit. Die maximale individuelle Abweichung beträgt 2,09 kcal/mol, entsprechend einem Faktor 36. Von den 76 Substanzen werden 71 (93,4%) innerhalb eines Faktors 10 des experimentellen Wertes vorausgesagt; 58 (76,3%) sogar innerhalb eines Faktors $\sqrt{10}=3,16$. Zwei Substanzen (2,6%) werden falsch-positiv vorausgesagt; drei (3,9%) falsch negativ (Abb. 2, Tab. 2).

Die Reproduktion der Substanzen des Trainingsatzes ist eine notwendige, aber nicht hinreichende Bedingung für die Validierung eines Rezeptormodells. Viel wichtiger ist die Voraussagekraft bezüglich von Toxinen, die nicht im Trainingsatz enthalten sind – dem sog. Testsatz: Von 26 Testsubstanzen werden 24 (92,3%) innerhalb eines Faktors 10 vorausgesagt;

15 (57,7%) innerhalb eines Faktors $\sqrt{10}=3,16$. Je ein Toxin (3,8%) wird falsch positiv bzw. falsch negativ eingestuft, d.h. die berechnete Bindungsaffinität weicht um mehr als eine Größenordnung vom Experiment ab (Abb. 2, Tab. 2). Die mittlere Abweichung (RMS) beträgt 0,821 kcal/mol (Faktor 4,1); die maximale Abweichung beträgt 1,77 kcal/mol (Faktor 21).

Der härteste Test eines Rezeptormodells besteht im sog. *scramble test* (Hahn, 1995). Hier werden die experimentellen Werte des Trainingsatzes mittels eines Zufallszahlengenerators falsch zugewiesen. Mit diesen, absichtlich falschen Werten wird dann die Simulation unter ansonsten gleichen Bedingungen ausgeführt. Manchmal wird für die Substanzen des Trainingsatzes trotzdem eine anspre-

chende Korrelation gefunden; meist jedoch “versagt” die Evolution, da sinnvollen chemisch-physikalischen Eigenschaften falsche biologische Werte zugeordnet wurden. Wichtiger aber ist das Abschneiden des Testsatzes. Werden die Testsubstanzen im *scramble test* vergleichbar gut wie in der korrekten Simulation vorausgesagt, sind die Voraussagen gar nicht von den relevanten biologischen Größen abhängig; das Modell ist schlechthin wertlos. Der *scramble test* für das Ah-Rezeptormodell ergab einen kreuz-validierten q^2 -Wert von lediglich 0,049 (korrekte Simulation: 0,836; q^2 kann Werte von $-\infty$ bis +1,0 annehmen, wobei 1,0 einer perfekten Übereinstimmung entspricht) und (k)eine Korrelation von $-0,042$ (0,916). Die RMS-Abweichung des Testsatzes beträgt 1,65 kcal/mol (0,821), entsprechend einem Faktor 17 (4,1). Dies belegt, daß dieses Modell empfindlich auf die biologischen Werte (Bindungsaffinitäten) reagiert; d.h. mit falschen Aktivitäten wird keine Korrelation gefunden. Die Güte unseres Modells ist vergleichbar mit den Resultaten, die Rannug et al. (1991) mit einem *artificial intelligence*-Ansatz erreicht haben. Im Gegensatz zu ihrer Methode ist unser quasi-atomistisches Verfahren in der Lage, auch quantitative toxikologische Daten zu verarbeiten, was die Empfindlichkeit der Methode signifikant erhöht.

4 Schlußfolgerungen und 3R-Relevanz

Mit nur 2 von 26 Testsubstanzen, die fälschlicherweise als falsch-positiv bzw. falsch-negativ vorausgesagt wurden, konnte das Potential eines 3D-QSAR-Konzeptes (Software *Quasar*) aufgezeigt werden, um die Toxizität von chemischen Substanzen semi-quantitativ vorauszusagen. Voraussetzung ist allerdings, daß ein Rezeptor-vermittelter Mechanismus vorliegt – diese Annahme wird aber vom genetischen Algorithmus gleich selbst überprüft; d.h. bei anderen Mechanismen der Toxizität wird kaum eine Korrelation gefunden. Weitere Vorzüge schliessen die Schnelligkeit des Tests (drei Stunden Rechenzeit auf einem 300 MHz *Macintosh G3 Computer*) und die Möglichkeit, auch hypothetische Substanzen auf eine mögliche Toxizität hin zu analysieren, ein. Dies ist denn auch das Hauptargument für den Einsatz von *Quasi-atomistic recep-*

- T., Sawyer, T. and Safe, S. (1985). Effects of substituents on the cytosolic receptor-binding avidities and aryl hydrocarbon hydroxylase induction potencies of 7-substituted 2,3-dichlorodibenzo-*p*-dioxins. *Mol.Pharmacol.* 27, 656-661.
- Hahn, M. (1995). Receptor surface models. *J.Med.Chem.* 38, 2080-2090.
- Mason, G., Farrell, K., Keys, B., Piskorska-Plisczynska, J., Safe, L. and Safe, S. (1986). Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins: Quantitative in vitro and in vivo structure-activity relationships. *Toxicology*, 41, 21-31.
- Mason, G., Sawyer, T., Keys, B., Bandiera, S., Romkes, M., Piskorska-Plisczynska, J., Zmudzka, B. and Safe, S. (1985). Polychlorinated dibenzofurans (PCDFs): Correlation between in vivo and in vitro structure-activity relationships. *Toxicology* 37, 1-12.
- Mohamadi, F., Richards, N. G. J., Guida, W. C., Liskamp, R., Lipton, M., Caufield, C., Chang, G., Hendrickson, T. and Still, W. C. (1990). MacroModel - An integrated software system for modeling organic and bioorganic molecules using molecular mechanics. *J.Comput.Chem.* 11, 440-467.
- Poland, A., Glover, E. and Kende, A. S. (1976). Stereospecific, high-affinity binding of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin by hepatic cytosol: Evidence that the binding species is a receptor for induction of Aryl hydrocarbon hydroxylase. *J.Biol.Chem.* 251, 4936-4946.
- Rappe, C. (1993). Environmental concentrations and ecotoxicological effects of PCDDs, PCDFs and related compounds. *Organohalogen Compounds, Dioxin* 12, 163-170.
- Rannug, U., Sjörgren, M., Rannug, A., Gillner, M., Toftgard, R., Gustafsson, J-Å, Rosenkranz, H. and Klopman, G. (1991). Use of artificial intelligence in structure-affinity correlations of 2,3,7,8-tetrachloro-dibenzo-*p*-dioxin (TCDD) receptor ligands. *Carcinogenesis* 12, 2007-2015.
- Rogers, D. and Hopfinger, A. J. (1994). Genetic function approximation to generate a family of QSAR equations using genetic algorithms. *J.Chem.Inf. Comput.Sci.*, 34, 854-866.
- Romkes, M., Piskorska-Plisczynska, J., Keys, B., Safe, S. and Fujita, T. (1987). Quantitative-Structure-Activity Relationships: Analysis of interactions of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and 2-substituted analogues with rat, mouse, guinea pig, and hamster cytosolic receptor. *Cancer Research* 47, 5108-5111.
- Safe, S. (1990). Polychlorinated biphenyls (PCBs), dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), dibenzofurans (PCDFs) and related compounds: Environmental and mechanistic considerations which support the development of toxic equivalency factors (TEFs). *CRC Crit.Rev.Toxicol.* 21, 51-88.
- Safe, S. and Krishnan, K. (1995). Cellular and molecular biology of Aryl hydrocarbon (Ah) receptor-mediated gene expression. In D. H. Degen, J. P. Seiler and P. Bentley (eds.), *Archives of Toxicology, Supplement* 17 (116-124). Berlin: Springer.
- Sali, A., Overington, J.P., Johnson, M. S. and Blundell, T. L. (1990). From comparisons of protein sequences to protein modelling and design. *Trends. Biochem.Sci.*, 15, 235-240.
- Searle, M. S. and Williams, D.H. (1992). The cost of conformational order: Entropy changes in molecular associations. *J.Am.Chem.Soc.* 114, 10690-10697.
- Snyder, J. P., Rao, S. N., Koehler, K. F. and Pellicciari, R. (1992). Drug modeling at cell membrane receptors: The concept of pseudoreceptors. In P. Angeli, U. Gulini and W. Quaglia (Eds.), *Trends in Receptor Research* (367-403). Amsterdam: Elsevier Science Publishers.
- Still, W. C., Tempczyk, A., Hawley, R. C. and Hendrickson, T. (1990). Semianalytical treatment of solvation for molecular mechanics and dynamics. *J.Am.Chem.Soc.* 112, 6127-6129.
- Swanson, H. I. and Bradfield, C. A. (1993). The Ah-Receptor: Genetics, structure and function. *Pharmacogenetics* 3, 213-230.
- Vedani, A., Dobler, M. and Zbinden, P. (1998). Quasi-atomistic receptor surface models: A bridge between 3-D QSAR and receptor modeling. *J.Am.Chem.Soc.* 120, 4471-4477.
- Vedani, A., Zbinden, P., Snyder, J.P. and Greenidge, P.A. (1995). Pseudoreceptor modeling: The construction of three-dimensional receptor surrogates. *J.Am.Chem.Soc.* 117, 4987-4994.
- Vedani, A. and Zbinden P. (1996). Computermodelle im pharmakologischen und toxikologischen Screening. In F. P. Gruber und H. Spielmann (Hrsg.), *Alternativen zu Tierversuchen* (143-162). Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag.
- Vedani, A. and Huhta, D. W. (1990). A new force field for modeling metalloproteins. *J.Am.Chem. Soc.* 112, 4759-4767.
- Walters, D. E. and Hinds, R. M. (1994). Genetically evolved receptor models: A computational approach to construction of receptor models. *J.Med.Chem.* 37, 2527-2536.
- Weiner, S. J., Kollmann, P. A., Case, D. A., Singh, U. C., Ghio, C., Alagona, G., Profeta Jr., S. and Weiner, P. (1984). A new force field for molecular mechanical simulation of nucleic acids and proteins. *J.Am.Chem.Soc.* 106, 765-784.
- Zbinden, P., Dobler, M., Folkers, G. and Vedani, A. (1998). PrGen: Pseudoreceptor modeling using receptor-mediated ligand alignment and pharmacophore equilibration. *Quant.Struct.-Act.Relat.* 17, 122-130.

Danksagung

Diese Arbeit wurde in großzügiger Weise von der Margaret und Francis Fleitmann-Stiftung sowie vom Fonds für versuchsfreie Forschung (Zürich) in Luzern gefördert.

Korrespondenzadresse

Dr. Angelo Vedani
Biografik-Labor 3R
Missionsstrasse 60
CH-4055 Basel
Telefon: +41-61-321-0533
Telefax: +41-61-321-0540
Internet: www: biograf.ch

