

# Computergestützte Simulationen zur Abschätzung gesundheitlicher Risiken durch anthropogene Spurenstoffe in der Wassermatrix

Vedat Durmaz, Marcus Weber (Berlin), Johannes Meyer und Harald Mückter (München)

*In einem vom Bundesministerium für Bildung und Forschung geförderten Forschungsprojekt soll die humantoxische Wirkung von anthropogenen Spurenstoffen und ihren Abbauprodukten durch den Einsatz computergestützter Verfahren berechnet werden. Eine solche Abschätzung gesundheitlicher Risiken ist kein Ersatz für die empirische Risikoabschätzung. Allerdings können Modellierungen am Rechner in vielen Fällen dafür sorgen, dass die verfügbaren Ressourcen besser genutzt werden und die notwendige Priorisierung, die bei einer zunehmenden Fülle potenzieller Risikostoffe unvermeidlich ist, nachvollziehbar auf eine wissenschaftliche Grundlage gestellt wird. Mit zunehmendem „Training“ werden aber auch die Vorhersagen solcher Systeme aussagekräftiger. Die immer noch rasant wachsende Leistungsfähigkeit moderner Hardware hilft bei der Ermittlung relevanter Stoffe in einer komplexen Interaktionsmatrix. Zwei praktikable Systeme werden im Folgenden vorgestellt.*

## 1 Einleitung

Die Erfassung von Risiken für die menschliche Gesundheit und für das balancierte Zusammenspiel co-existierender Ökosysteme gehört zu den wichtigen Aufgaben einer modernen toxikologischen Forschung. Im Bereich der Bewertung von Spurenstoffen in der Wassermatrix ist das vorrangige Ziel, drohenden Schaden für den Menschen frühzeitig, das heißt vor dem tatsächlichen Auftreten, zu erkennen (humantoxikologische Forschung) oder unnatürliche Ver-

schiebungen im Gleichgewicht der aquatischen Ökosysteme vorauszusagen (ökotoxikologische Forschung). Nur dann ist eine wissenschaftlich fundierte Prävention von gesundheitlichen Schäden bzw. die Vermeidung ökologischer Katastrophen möglich.

Die Entdeckung von Quecksilberseen im Boden in der Umgebung von Galvanisieranlagen und chemischen Betrieben, wie der Fall der Chemischen Fabrik Markredwitz in den 1980er-Jahren zeigte [1], oder das massenhafte, durch Arsenoxide in der Luft verursachte Bienensterben in der Slowakei, das in den 1960er-Jahren für Aufregung sorgte [2], sind berechtete Beispiele für Umweltkatastrophen, die zunächst als lokal begrenzte „Kuriosität, dann aber schnell als ein generelles, überregionales Problem erkannt wurden. In der aquatischen Umgebung waren die Entdeckungen von Arzneimittelrückständen und hormonaktiven Substanzen im Spurenbereich zunächst ebenfalls Einzelfälle, die rasch eine globale Dimension gewannen, nachdem eine Vielzahl ähnlich gelagerter Fälle publiziert worden war. Inzwischen sind im Wasser mehr als 100 gesundheitlich relevante Spurenstoffe identifiziert worden – Tendenz steigend.

Wenn erkennbar wird, dass die zu erwartende Anzahl von Risikofaktoren und Schadstoffen eine unüberschaubare Größenordnung annimmt, schielen die Experten hinüber zu den Computerfachleuten und Modellrechnern, die im Gegensatz zur empirischen Risikoforschung anscheinend keine Probleme mit der „Verarbeitung“ großer Datenmengen haben.

Die Suche nach effizienten mathematischen Modellen, mit denen Vorhersagen zur möglichen Human- und Ökotoxizität gemacht werden können, hat mit

der Entwicklung von Datenbanksystemen und Simulationsalgorithmen einen rasanten Aufschwung genommen. Die Verfügbarkeit leistungsfähiger Rechenzentren hat die vor Jahren noch ehrgeizig anmutende, technische Herausforderung in den Bereich der Machbarkeit gerückt. Das vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF) geförderte Forschungsprojekt „Charakterisierung, Kommunikation und Minimierung von Risiken durch neue Schadstoffe und Krankheitserreger im Wasserkreislauf“ (TransRisk) hat diesem Problem besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Diese konzentriert sich auf die Entwicklung integrierter Ansätze eines auf Expertensystemen und auf modernen Interaktionsanalysen beruhenden Vorhersagesystems. Die Notwendigkeit zu einem solchen Vorgehen ergab sich nicht zuletzt aus der ständig steigenden Anzahl von anthropogenen Spurenstoffen und ihren Abbau- bzw. Transformationsprodukten (TP), die nach der Untersuchung der biotischen und abiotischen Ab- bzw. Umbauprozesse einzelner Problemstoffe bekannt geworden sind (Abbildung 1 zeigt ein Beispiel).

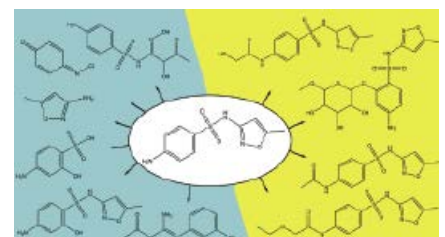


Abb. 1: Eine kleine Auswahl an abiotischen (blauer Hintergrund) und biotischen (gelber Hintergrund) Transformationsprodukten des Antiinfektivums Sulfamethoxazol (SMZ)

## 2 Vorhersagesysteme

In der Theorie basiert die Vorhersagbarkeit gesundheitlicher Risiken auf zwei Voraussetzungen. Erstens müssen die Stoffeigenschaften der identifizierten Schadstoffe genau bekannt sein, zweitens müssen die biologischen Zielstrukturen umfassend und genau charakterisiert sein. Beide Voraussetzungen sind in der täglichen Praxis nur teilweise oder gar nicht erfüllt, sodass aus Ähnlichkeitsanalysen Wahrscheinlichkeiten abgeleitet werden müssen. Bei diesen Ähnlichkeitsanalysen stützt man sich zum einen auf die zu strukturell verwandten Stoffen bereits ermittelten toxikologischen Risiken, zum anderen auf Wahrscheinlichkeitsberechnungen für die Interaktion mit bekannten biologischen Zielstrukturen. Zu letzteren gehören die Bausteine der Organismen, also Proteine, die als Enzyme, Rezeptoren, Poren und Kanäle, Transportsysteme in Erscheinung treten, auf Lipide, die für die notwendige Kompartimentierung höherer Organismen verantwortlich sind, sowie Kohlenhydrate, die eine entscheidende Rolle im Energiestoffwechsel und im Bauplan aller Organismen spielen.

Wenn die Strukturen, mit denen die Stoffe interagieren, nicht bekannt sind, bleibt nichts anderes, als die bekannten chemischen Strukturen der Stoffe heuristisch zu analysieren, die physikochemischen Eigenschaften [Polarität, HOMO (highest occupied molecular orbital), LUMO (lowest occupied molecular orbital), cLogP (Octanol-Wasser-Verteilungskoeffizient)] nach bekannten Algorithmen zu berechnen, reaktive Gruppen und Toxikophore (funktionelle Molekülgruppen mit bestimmten physikochemischen und biochemischen Merkmalen) zu identifizieren und sterische Parameter [hydrodynamischer Radius, Solvatationsraum (chemische Umgebung, in der der Stoff gelöst ist) etc.] abzuschätzen. Anschließend wird in großen Faktendatenbanken nach ähnlichen Verbindungen gesucht, deren toxikologische Eigenschaften aus tierexperimentellen oder – besser noch – aus epidemiologischen Studien gut bekannt sind. Aus diesem Grund heißen solche Systeme „Expertensysteme“.

Gibt es dagegen Anhaltspunkte, mit welchen biologischen Zielstrukturen die fraglichen Stoffe interagieren, kann man den Versuch unternehmen, diese Interaktion mit einem Kraftfeldmodell abzubilden und die energetischen Beziehungen

(Affinitäten) zu berechnen. In günstigen Fällen existieren für den betroffenen Stoff sogar experimentelle Daten. Dann kann es gelingen, das Modell auf diese Daten zu trainieren, und es ist möglich, semiquantitative Vergleichswerte für die bislang nicht charakterisierten Schadstoffe zu erhalten. Zur Aufstellung des Kraftfeldmodells sind hochaufgelöste, dreidimensionale Strukturdaten des Enzyms, Rezeptors usw., wie sie aus Röntgen- oder NMR(Kernspinresonanz)-spektroskopischen Untersuchungen erhalten wurden, eine zwingende Voraussetzung. Idealerweise enthalten diese experimentell erarbeiteten 3D-Strukturen bereits einen (physiologischen oder pharmakologischen) Liganden im aktiven Zentrum bzw. an der Bindungsstelle, um die In-vivo-Verhältnisse, also die Bedingungen im lebenden Organismus, besser abzubilden. Es kann aber auch sein, dass der fragliche Schadstoff seine Wirkung ausübt, indem er an einer anderen Stelle der

biologischen Zielstrukturen bindet (allosterisch) oder den Weg zum aktiven Zentrum „verlegt“. In jedem Fall muss die Interaktion zwischen Schadstoff und Zielstruktur energetisch günstig sein, denn sonst wäre dieser gebundene Zustand thermodynamisch instabil und würde – statistisch gesehen – höchst unwahrscheinlich sein.

## 3 Klassische Moleküldynamiksimulationen

Alle für die Simulationen ausgewählten Moleküle lagen zunächst in Form einer Datei mit 3D-Atomkoordinaten vor. Um sie einer klassischen moleküldynamischen (MD) Simulation zur Abschätzung von Bindungsaffinitäten unterziehen zu können, mussten allesamt mit sogenannten Kraftfeldparametern [3] (Ladungen, Bindungslängen/-stärken etc.) zur Beschreibung sämtlicher zwischenatomarer Wechselwirkungen versehen werden.



### SWP-EVOLOC-Wickelrohr

#### Selbsttragend und muffenlos

Als erfahrener Spezialist für Kanalsanierungen in geschlossener Bauweise bieten wir Ihnen ingenieurtechnisches Know-how und zuverlässige Qualitätsarbeit. Von uns als Komplettanbieter erhalten Sie wirtschaftliche Gesamtlösungen.

SWP-Wickelrohr · Schlauch-Lining · Close-Fit-Lining · Grundleitungs-sanierung · Großprofil-sanierung · Schacht- und Bauwerksanierung  
KATE-Roboter · Quick-Lock-System · EDS-System · SAT-Roboter  
UV-Lichtliner · ZM-Verpresstechnik · Kurzliner-Technik · Sonderverfahren

#### Geiger Kanaltechnik GmbH & Co. KG

München · Kempten · Stuttgart  
Aschaffenburg · Bochum  
kanaltechnik@geigergruppe.de  
www.geigergruppe.de/kanaltechnik

**Geiger**

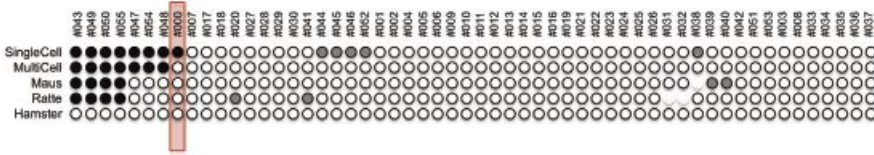


Abb. 2: Expertenmatrix der möglichen mutagenen oder kanzerogenen Eigenschaften von Transformationsprodukten des Carbamazepins. (CBZ-TPs; o = negative, • positive, • fragliche Reaktion) Die mit #000 gekennzeichnete Substanz ist CBZ selbst.

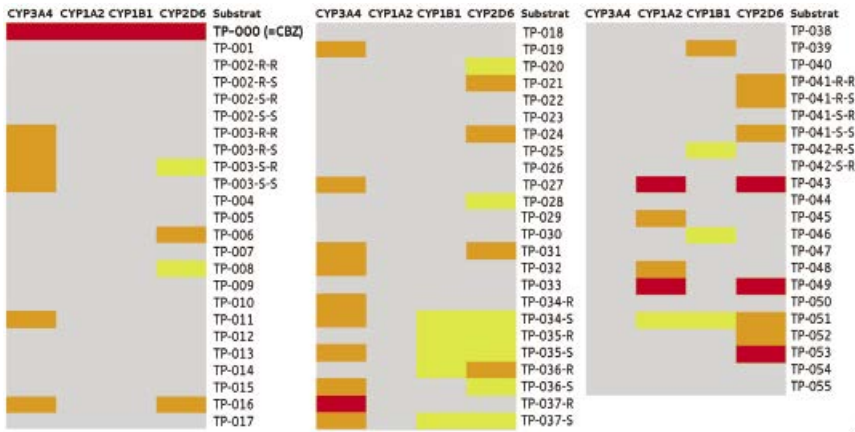


Abb. 3: Priorisierungsmatrix bezüglich des Bindungspotenzials von mehr als 60 (inklusive Stereoisomere) CBZ-TPs (Zeilen) im Vergleich mit der Muttersubstanz CBZ hinsichtlich diverser CYP-Isoformen (Spalten). Farbcode von grau (ohne Effekt) über orange und gelb bis rot (höchstes Potenzial: Alle Energiebeiträge weisen auf eine höhere Affinität als CBZ hin).

Mangels Kenntnis des genauen Bindungsmodus wurden die Liganden in 60 gleichverteilten Orientierungen an die Bindestellen der Targetmoleküle gesetzt, mit Wassermolekülen umgeben und einer MD-Simulation mit dem Programm GROMACS unterzogen [4]. Aus den Daten (insbesondere Atomkoordinaten und potenzielle Energien) der erzeugten Zeitreihen lassen sich der wahrscheinlichste Bindungsmodus sowie eine Bindungsaffinität (freie Energie) abschätzen. Die Bindungsaffinität macht eine quantitative Aussage darüber, ob ein Ligand eine wässrige Umgebung, also den ungebundenen Zustand oder die Bindestelle des Zielmoleküls, den gebundenen Zustand bevorzugt. Ihr Betrag basiert zum einen auf Kräften, die auf der Wechselwirkung mit dem Protein beruhen, und zum anderen auf Einschränkungen der Bewegungsfreiheit (Entropie), die mit der Bindung an das Protein einhergehen.

## 4 Beispiele

### 4.1 Beispiel 1: Carbamazepin

Das bereits seit vielen Jahren als „Leitsubstanz“ anthropogener Spurenstoffe im Wasserkreislauf gehandelte Carbamazepin (CBZ) ist ein Paradebeispiel für eine ganze Familie von Transformationsprodukten, die durch Biotransformation, aber auch in der Umwelt aus dem bekannten Antikonvulsivum entstehen können. Mehr als 50 vom CBZ abgeleitete Molekülstrukturen sind in diversen analytischen Studien plausibel gemacht worden, die unmöglich alle getestet werden können, da sie gar nicht in präparativen Mengen verfügbar sind. Lazar (= lazy structure-activity relationship) ist ein Frontend zu einer Datenbank voller geprüfter toxikologischer Fakten. Füttert man Lazar mit den Strukturen von CBZ und seinen TPs, dann lernt man, dass die meisten TPs nach Ansicht des Expertensystems keinerlei mutagene oder kanzerogene Eigenschaften haben. Allerdings sind Strukturen dabei, die „risikoreicher“ sein sollen (Abbildung 2). Bemerkenswerterweise gehört auch CBZ selbst zu diesen Kandidaten, obwohl in vielen Untersuchungen gezeigt worden ist, dass diese Substanz in keinem der verwendeten Modelle ein Gesundheitsrisiko dargestellt hat. Da die Datenbank, die hinter Lazar steht, vor allem tierexperimentelle Daten und epidemiologische Fakten zur Kanzerogenität, Mutagenität und akuten Toxizität enthält, darf man gespannt sein, was die Ursache für die Diskrepanz

zwischen Expertensystem und experimenteller Forschung ist. Eine Lösung des Dilemmas könnte ein bislang noch nicht nachgewiesener Metabolit (= Produkt aus der Biotransformation von CBZ) sein, der die Testergebnisse beeinflusst. Man darf gespannt sein, ob es in nächster Zeit gelingt, Theorie und Wirklichkeit zur Deckung zu bringen.

Vergleicht man die vermeintlich aktiven CBZ-TPs mit einer Priorisierungsmatrix, die die gefundenen TPs bezüglich der Bindungsaffinität zu bekannten Enzymen der Biotransformation charakterisiert [Cytochrom P450-Familie (CYP450 = Hämproteine mit enzymatischer Aktivität), Abbildung 3], dann fallen zwei der risikoreicheren TPs (#043 und #049) weg, da sie als Substrate der Isoenzyme CYP1A2 und CYP2D6 mit hoher Wahrscheinlichkeit weiter abgebaut werden (Abbildung 3).

zwischen Expertensystem und experimenteller Forschung ist. Eine Lösung des Dilemmas könnte ein bislang noch nicht nachgewiesener Metabolit (= Produkt aus der Biotransformation von CBZ) sein, der die Testergebnisse beeinflusst. Man darf gespannt sein, ob es in nächster Zeit gelingt, Theorie und Wirklichkeit zur Deckung zu bringen.

Vergleicht man die vermeintlich aktiven CBZ-TPs mit einer Priorisierungsmatrix, die die gefundenen TPs bezüglich der Bindungsaffinität zu bekannten Enzymen der Biotransformation charakterisiert [Cytochrom P450-Familie (CYP450 = Hämproteine mit enzymatischer Aktivität), Abbildung 3], dann fallen zwei der risikoreicheren TPs (#043 und #049) weg, da sie als Substrate der Isoenzyme CYP1A2 und CYP2D6 mit hoher Wahrscheinlichkeit weiter abgebaut werden (Abbildung 3).

### 4.2 Beispiel 2: Sulfamethoxazol

Im Gegensatz zu Carbamazepin, das im menschlichen Organismus mit einer Vielzahl von Enzymen und Ionenkanälen reagiert, ist das als antiinfektives Chemotherapeutikum gebrauchte Sulfamethoxazol (SMZ) vor allem ein Hemmstoff der bakteriellen Dihydropteroat-synthetase (DHPS). Wird dieses Enzym gehemmt, dann können sich die Mikroorganismen nicht mehr ausreichend mit Folsäure versorgen und sterben ab. Alle Stoffe, die dem SMZ entsprechend eine Anti-Folat-Wirkung haben, können in entsprechend hoher Konzentration einen Selektionsdruck auf die mikrobielle Flora ausüben und der Ausbreitung von Resistenzen gegen SMZ Vorschub leisten. Nachdem eine ganze Reihe von hochaufgelösten 3D-Strukturen dieses Enzyms verfügbar waren, wurden mehr als 30 bekannte SMZ TPs in einer rechenintensiven moleküldynamischen Modellsimulationen gegen dieses Enzym „getestet“ (Abbildung 4).

Im Vergleich erwiesen sich alle bis auf fünf Strukturen dem SMZ unterlegen (Abbildung 5). Nur in einem Fall (N4-Acetyl-SMZ) war Gleichwertigkeit der Affinität zur DHPS gegeben, die als antibakterielle Wirkung in einem Agardiffusionstest bestätigt wurde.

## 5 Ausblick

Die gezeigten Beispiele machen deutlich, dass eine computergestützte Risikobe-



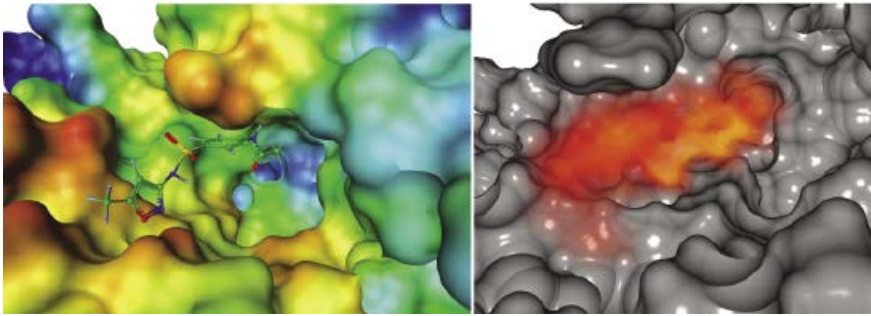


Abb. 4: In-silico(durch Computerberechnung)-Bestimmung von Molekülinteraktionen (links) und Konformationsentropien (rechts) zur Abschätzung von freien Bindungsenergien am Beispiel von SMZ-Transformationsprodukten und dem Enzym DHPS

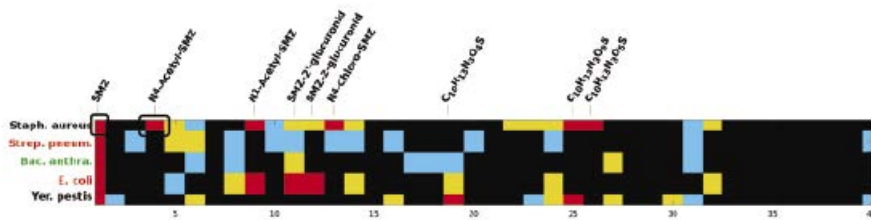


Abb. 5: Priorisierungsmatrix bezüglich des Bindungspotenzials aller 40 (inklusive Stereoisomere) SMZ-TP (Spalten) im Vergleich mit der Muttersubstanz SMZ hinsichtlich des Enzyms DHPS aus fünf unterschiedlichen Bakterienstämmen (Zeilen). Farbcode von schwarz (vernachlässigbar) über blau und gelb bis rot (höchstes Potenzial: Alle Energiebeiträge weisen auf eine höhere Affinität als SMZ hin).

wertung trotz aller Fortschritte in der Molekülsimulation immer noch ein heikles Geschäft ist, dessen Ergebnisse mit äußerster Vorsicht zu interpretieren sind. Dennoch lässt die wachsende Anzahl von TP, die durch biotische oder abiotische Ab- und Umbauprozesse gebildet werden, keine andere Wahl, als solche EDV-

Methoden mit ins Kalkül einzubeziehen. Auch in den Fällen, wo die quantitativen Ergebnisse aufgrund fehlender Trainingsdaten nicht zu verwenden sind, helfen diese Methoden bei der Priorisierung und bei der Visualisierung der Probleme und erlauben klassische „what – if“-Analysen, bei denen man durch Probieren

den Einfluss einer Seitenkette oder eines Toxikophors „studieren“ kann.

In puncto Praxistauglichkeit stecken die rechenintensiven Methoden immer noch in den „Kinderschuhen“. Ähnlich wie der Entwicklung des Personalcomputers darf man allerdings getrost darauf vertrauen, dass solche Modellsimulationen, die heute noch von großen Rechenzentren erledigt werden, in ein paar Jahren bequem vom Schreibtisch aus möglich sind.

**Literatur**

- [1] [http://de.wikipedia.org/wiki/Chemische\\_Fabrik\\_Marktredwitz](http://de.wikipedia.org/wiki/Chemische_Fabrik_Marktredwitz)
- [2] Belin, P, Bencko, V, Petran, J.: *Cesk Hyg.* 1964, 9, 73–77
- [3] [http://de.wikipedia.org/wiki/Kraftfeld\\_%28Computerphysik%29](http://de.wikipedia.org/wiki/Kraftfeld_%28Computerphysik%29)
- [4] <http://de.wikipedia.org/wiki/GROMACS>

**Autoren**

Vedat Durmaz  
 Priv.-Doz. Dr. Marcus Weber  
 Konrad-Zuse-Zentrum  
 für Informationstechnik Berlin  
 Takustraße 7, 14195 Berlin

Apotheker Johannes Meyer  
 Priv.-Doz. Dr. Dr. Harald Mückter  
 Walther-Straub-Institut  
 für Pharmakologie und Toxikologie  
 Universität München  
 Nußbaumstraße 26, 80336 München **KA**

# HOCK

GmbH

**MOBILE  
 ENTWÄSSERUNG  
 & VERWERTUNG**

**Ihr Dienstleister für:**

**Schlammwässerung · Reststoffverwertung**

**Gewässersanierung · Faulturmentleerung**

Niedernberger Straße 50 · 63762 Grobostheim  
 Telefon: 06026 9730-0 · Telefax: 06026 7603 · [info@hock-gmbh.de](mailto:info@hock-gmbh.de)  
**[www.hock-gmbh.de](http://www.hock-gmbh.de)**