

## 5. Lesmüller-Vorlesung

am 12. Juni 2002 im Hörsaal H 43 des Instituts für Pharmazie (Fakultät Chemie/Pharmazie)  
der Universität Regensburg, Universitätsstraße 31

### Moderne Wirkstoff-Forschung - eine weltweite interdisziplinäre Herausforderung

*Prof. Dr. Gottfried Märkl*

Moderne Wirkstoff-Forschung ist ohne Zweifel das inter/multidisziplinärste Arbeitsgebiet, das es in der naturwissenschaftlichen Forschung je gegeben hat und gibt.

Wirkstoff-Forschung vor 50 Jahren und heute - ihr sichtbarster Erfolg: die statistische Lebenserwartung der Menschen in Deutschland hat sich seitdem von 68 auf 75 Jahre beim Mann und von 73 auf über 80 Jahre bei der Frau erhöht! Die Natur kennt eben keine Gleichberechtigung!

Die Forschung hat sich in dieser Zeit deutlich von der Chemie zu den Biowissenschaften hin verschoben, die Chemie allerdings war und ist unverzichtbare Voraussetzung! Aussage zur Pharmazie im Deutschen Museum in München: Die Chemie muss stimmen, sonst wird der Mensch krank!

Es spricht für die weise Voraussicht von Herbert Oelschläger, dass er als Mitglied der Strukturkommission Pharmazie schon vor über 25 Jahren forderte, dass die Pharmazeutische Chemie in Regensburg nicht schlicht organisch, sondern pharmakologisch und biochemisch - also interdisziplinär - orientiert sein sollte, ohne mit den „nativen“ Pharmakologen ins Gehege zu kommen!

Steigen wir ein ins zu Ende gehende 19. Jahrhundert! Acetylsalizylsäure (ASS), bis heute - mit einer Jahresproduktion von 50.000 t - das erfolgreichste und meistverwendete Arzneimittel in der Geschichte der Menschheit, wird 1897 von dem Bayer-Chemiker Felix Hoffmann erstmals rein isoliert. Sein Chef, Eichengrün schickt auf eigene Faust 100 g ASS an zwei Mediziner in Berlin und Halle, die ihre analgetische und antipyretische Wirkung feststellen. Und das war's!

Der legendäre Forschungsleiter bei Bayer, Carl Duisberg, bringt ASS auf den Markt, 1899

erhält Bayer das Recht, Aspirin als Markenzeichen zu verwenden, Wirkstoff-Forschung war eindeutig Sache der Chemiker! (Abb. 1). Und zum 100. Geburtstag gabs in Leverkusen eine 120 m hohe Großpackung!



Abbildung 1

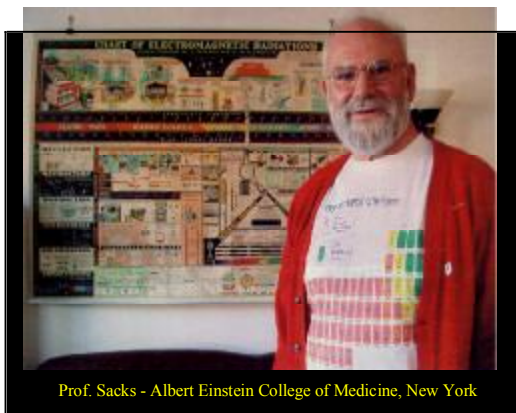
Hildegard von Bingen im 12. Jahrhundert war auf die Extrakte der Weidenrinde als Quelle der Salizylsäure angewiesen, Kolbe ist es zu danken, dass die Salizylsäure seit 1859 aus Naphenolat und CO<sub>2</sub> unter Druck technisch zugänglich ist. Die Kolbe-Schmidt-Synthese ist bis heute ein „Muss“ für jeden Chemie - und hoffentlich auch Pharmaziestudenten!

Heute hätte Aspirin wegen seiner Unspezifität und der zu hohen Dosen wahrscheinlich nicht einmal die Hürden zur klinischen Prüfung genommen. „Take an Aspirin“ wäre nicht die Standardempfehlung der Amerikaner geworden! Wahrscheinlich hätte man in den 90er Jahren des letzten Jahrhunderts auch nicht entdeckt, dass Aspirin ein Thrombocytenaggregationshemmer ist und Präventivwirkung beim Herzinfarkt und bei Angina Pectoris besitzt.

Für die Aufklärung der molekularen Grundlagen der Wirkungsweise von Aspirin - Hemmung der Cyclooxygenase als

Schlüsselenzym bei der Prostaglandinsynthese - erhält der englische Pharmakologe John Robert Vane 1982 den Nobelpreis, die Väter der ASS erhielten nicht einmal ein Patent. Es wird deutlich: die moderne Wirkstoff-Forschung orientiert sich an den Wirkmechanismen „drug design goes molecular“: Molekularbiologie, molekulare Pharmakologie, molekulare Medizin! Und überall, wo molekular draufsteht, ist auch Chemie drin!

Auch Pharmakologen und Mediziner müssen sich mit Strukturformeln befassen. Und dass dies sogar Spaß machen kann, schildert der berühmte klinische Neurologe am Albert Einstein College of Medicine in New York, Oliver Sachs, in seinem letzten Buch „Onkel Wolfram“, der bei chemischen Reaktionen „Erektionen des Geistes“ erlebt. (Abb. 2)



Prof. Sachs - Albert Einstein College of Medicine, New York

Abbildung 2

Die auf den Zufall setzende Maschinengewehr-methode in der Pharmaforschung - 1000 Schuss ins Blaue ohne Kenntnis der Targets - ist weitgehend Vergangenheit.

Das Dilemma indes ist, dass mit der multidisziplinären Wirkstoff-Forschung nach dem Prinzip der „molecular recognition“, postgenom die Zahl der Targets mit dem Proteom schneller wächst als die Zahl der Wirkstoffe. Und die Euphorie, mit der man von riesigen kombinatorischen Substanzbibliotheken neue Medikamente erwartete, hat sich weitgehend in Luft aufgelöst! Prof. Wess - Forschungsleiter bei Aventis - setzt auf das an den 3D-Strukturen der Eiweiße des Proteoms orientierte strukturbasierte Design und fordert endlich ein Zusammengehen von Chemie und Biologie in der „Chemischen Biologie“. Wess wirft uns vor, dass die Schlagbäume zwischen den

Fakultäten nach wie vor nur recht zögerlich abgebaut werden!

Mit dem Einzug in den molekularen Raum wird die Wirkstoff-Forschung überdies noch teurer als bisher. Ich zitiere: „Devoting billions of dollars to research and development, typically exploring 5000 compounds in pursuit of one patented winner“. Diese Situation hat die großen Pharmafirmen zur „Blockbuster-Philosophie“ geführt. Ein Blockbuster: ein Produkt mit einem Mindestumsatz von 1-2 Milliarden €/Jahr. Die Pharmaunternehmen müssten 3 Blockbuster/Jahr in der Pipeline haben, z. Zt. kämpfen sie um 1 -2/Jahr! Eine große Chance übrigens für die kleinen virulenten Biotec-Start up’s und spin off’s.

Wie schnell die Blockbuster-Philosophie fragwürdig werden kann, zeigt Bayer, die einstige Apotheke der Welt. Mit Lipobay verdient Bayer heute keinen müden Euro mehr! Und mit dem Lipobay-Desaster kommen amerikanische Forderungen in Milliardenhöhe auf das Unternehmen zu!

Wo und wie erblicken Blockbuster das Licht der Pharmawelt? Die Chinolone, die heute zu den weltweit umsatzstärksten Pharmaka in der Human- und Veterinärmedizin gehören, sind ein eindrucksvolles Beispiel für die rein synthetisch/chemische Entwicklung eines Wirkstoffs. Nach einem anfänglichen Hindümpeln seit den 60er Jahren führen die sogenannten Chinolone der 2. Generation (Abb. 3) zum Erfolg.

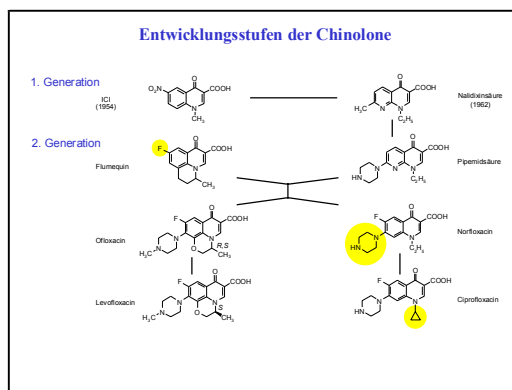


Abbildung 3

Einführung von Fluor in 6-, cyclischen Aminen in 7-Stellung und Cyclopropyl- am Chinolon-Stickstoff. Sie haben ein breites Wirkungsspektrum sowohl gegenüber

grampositiven als auch gramnegativen Bakterien. Das bereits erwähnte Ciprofloxazin - das Bayer-Ciprobay ist ein „Blockbuster“, der Jahresumsatz betrug 1997 ca. 3 Milliarden DM! Die simple 3-Stufen-Synthese dieser Chinolone - nach der sehr schlichten Cycloaracylierungsmethode (Abb. 4) führen zu einem weltweiten Impuls in der Chinolonforschung und die ersten Patente tragen einen einzigen Namen:

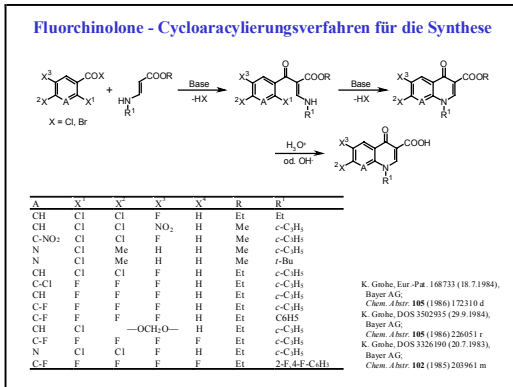


Abbildung 4

Klaus Grohe. Wir haben beide in etwa zur gleichen Zeit bei Roedig in Würzburg promoviert, doch im Unterschied zu mir ist er ein reicher Mann geworden. Ich werde am Ende meines Referats darauf zurückkommen, was der Klaus im Glück mit seinem Geldsack anstellt.

Das Chinolongerüst ist eine „lead-structure“, im wesentlichen mit der Grohe-Methode werden „hits“ gesucht und ein erster mit dem Ciprobay gefunden! Der Chemiker hat zunächst seine Schuldigkeit getan - jetzt sind Pharmakologen, Biochemiker und Mediziner zur Aufklärung der molekularen Wirkungsweise gefordert!

Bereits in den 70er Jahren hatte man aus E.-coli-Zellen ein Enzym, die DNA-Gyrase - eine Biommaschine (Abb. 5) isoliert, die den Faden des E.-coli-K<sub>12</sub>-Chromosoms - der aufgedröselte 1200 nm lang ist in ein kompaktes Knäuel „überspiralisiert“ (supercoiling), um ihn in der 1x2 µ m kleinen E.coli-Zelle unterzubringen!

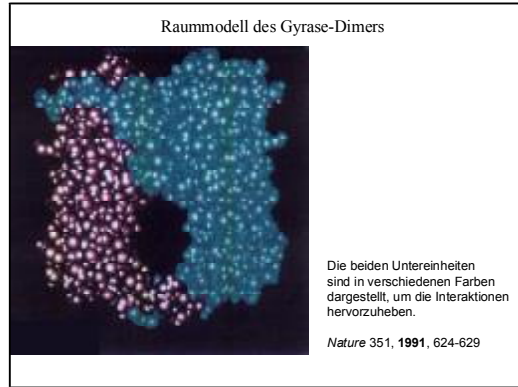


Abbildung 5

Die Chinolone sind Gyrasehemmer, sie verhindern das supercoiling, die DNA-Replikation in E.coli wird unterbunden - es gibt keine Nachkommenschaft!

Doch der Feind schläft nicht! So sind die Resistenzen auch gegen Gyrasehemmer bereits ein ernsthaftes Problem. Die Bakterien entwickeln generell innerhalb weniger Jahre resistente Mutanten, bei denen das Schwert vieler Antibiotika - Penicillin G, Makrolide - stumpf bis völlig wirkungslos wird (Abb. 6). Etwaige Ähnlichkeiten des nicht resistenten Onkel Herbert mit Prof. Oelschläger sind rein zufällig.

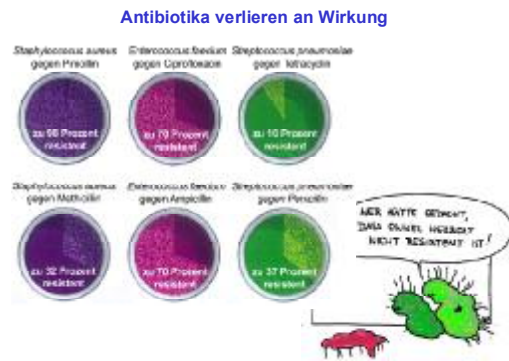


Abbildung 6

Unter den über 150 heute therapeutisch eingesetzten Antibiotika ist kaum noch eines, gegen das durch Gentransfer mutierte Erregerstämme nicht schon Resistenzen entwickelt haben. Die Aufklärung der Resistenzmechanismen erlaubt es den Chemikern meistens, neue, wirksame Medikamente aufzubauen. Wegen der hohen genetischen Variabilität und Vermehrungsgeschwindigkeit bakterieller Erreger dürfte eine

dauerhafte Verhinderung von Resistenzen allerdings nicht möglich sein. Die Arbeitsplätze der Wirkstoff-Forscher sind sicher! So entwickeln die Chemiker von Bayer und Grünenthal in der 3. Generation der Chinolone (Abb. 7) Moxifloxazin und Gatifloxazin, Antibiotika, die verglichen mit Ciprofloxacin eine 2-16-fach stärkere Wirkung gegenüber grampositiven Erregern einschließlich  $\beta$ -Lactam- und Makrolid-resistenten Spezies aufweisen!

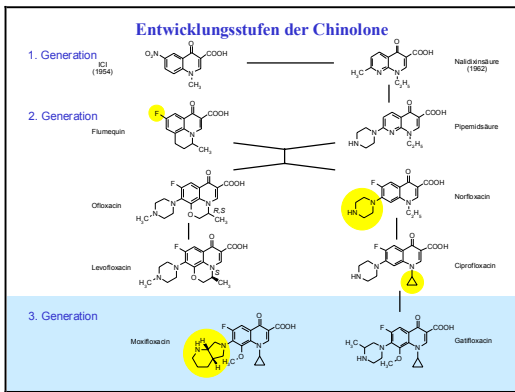


Abbildung 7

Gegenüber den gefährlichen eitererregenden Staphylococcus-Aureus-Stämmen haben allerdings auch die Chinolon-Antibiotika keine echte Chance! Die einzige z. Zt. noch tödliche Waffe gegen Staphylococcus-Aureus - eigentlich ja ganz goldige Kerlchen (Abb. 8) - ist das Mitte der 50er Jahre aus der Fermentationsbrühe des Actinomyceten Streptomyces orientalis von Eli Lilly isolierte 05865 - das Vancomycin - ein Naturprodukt (aus einer Bodenprobe im Dschungel von Borneo).



Abbildung 8

Und wenn Sie sich die Formel ansehen (Abb. 9), müssen Sie zugeben, dass selbst der phantasiebegabteste Chemiker solche Strukturen nicht aufs Reißbrett bringen würde! Vancomycin repräsentiert die Klasse der Glykopeptide.

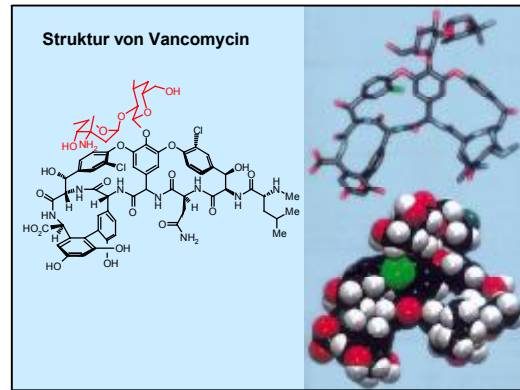


Abbildung 9

Es hat 30 Jahre gedauert bis der naturwissenschaftlichen Community die Aufklärung des Wirkmechanismus gelang. Bakterien brauchen eine dicke, formgebende Zellwand, eine Stützstruktur, ansonsten zerplatzen sie am eigenen Innendruck. Und die Zellwände bestehen aus einem verwobenen Molekülkomplex aus Kohlenhydraten und Proteinen, dem Peptidoglykan. Vancomycin verhindert die Verknüpfung der Peptide zum Peptidoglykan, die Zelle von Staphylococcus-Aureus zerplatzt und läuft aus: Exitus! (Abb. 10).



Abbildung 10

Nicolaou bezeichnet ein Molekül wie das Vancomycin als Mount Everest in der chemischen Landschaft. Schaffen die Synthesechemiker den Aufstieg? Die alpinistischen Leistungen der Chemiker wurden in den letzten 75 Jahren immer glanzvoller. Die Totalsynthese des Hämins 1928 durch Hans

Fischer (Nobelpreis 1930) - weitgehend ohne spektroskopischen Flankenschutz - war eine wissenschaftliche Großtat! (Abb. 11).

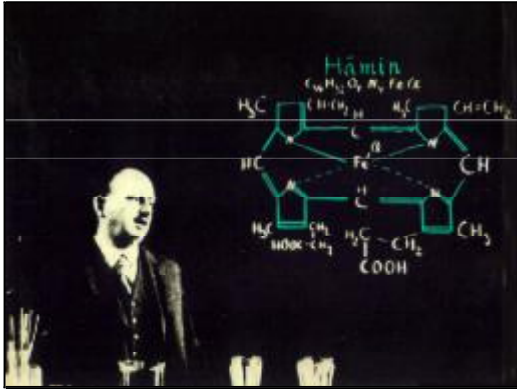


Abbildung 11

Totalsynthese des Chlorophylls durch R. B. Woodward (Nobelpreis 1965) (Abb. 12): Alpiner Schwierigkeitsgrad 6! Auf die Frage, warum er das tue, wo doch die Natur Chlorophyll in Billionen Jato's produziert, antwortet er schlicht und ergreifend: „Nobody else can do it“!

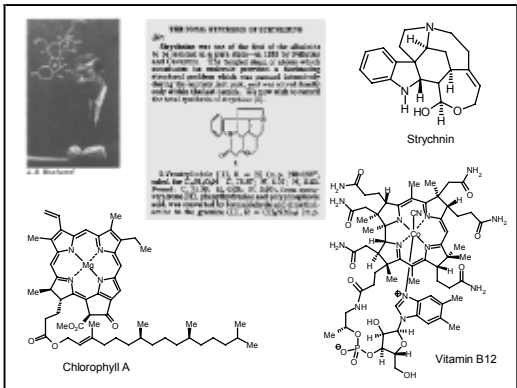


Abbildung 12

Fakt ist, dass wir durch solche Highlights lernen, Synthesestrategien für hochkomplexe Systeme zu entwickeln - denken Sie z. B. an das Prinzip der Retrosynthese von E. J. Corey (Nobelpreis 1990).

Die Totalsynthese des Aglycons des Vanomycins, also des zuckerfreien Moleküls gelingt fast gleichzeitig (1998) den Teams von Evans an Harvard und Nicolaou am Scripps Research Institut in La Jolla, Californien. Die stark komprimierte Totalsynthese von Nicolaou (Abb. 13) soll Sie um Gottes Willen nicht veranlassen, die Synthese, die 10 Jahre Kampf gekostet hat, innerhalb von 60 sec nach-

zuvollziehen! Ehrfürchtigem Erschrecken ist angesagt: Helm ab zum Gebet!

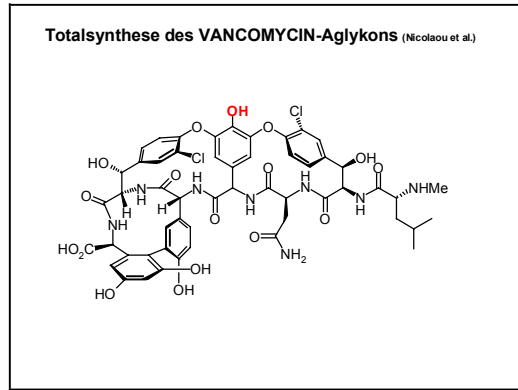


Abbildung 13

Diese Synthesen haben indes keine ökonomische Bedeutung, Streptomyces orientalis kann's schneller und billiger! Also was soll's?

Die intime Kenntnis von Struktur und Reaktivität eines komplexen Moleküls erlaubt indes Modifizierungen (Abb. 14), beim Vancomycin z. B. eröffnen die chemische oder enzymatische Entfernung des Kohlenhydrats und Anknüpfen neuer Zucker oder NH-Alkylierungen. Wege zur Darstellung kombinatorischer Bibliotheken von semisynthetischen Vancomycinen.

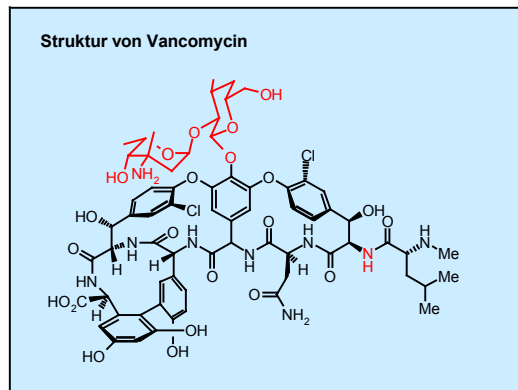
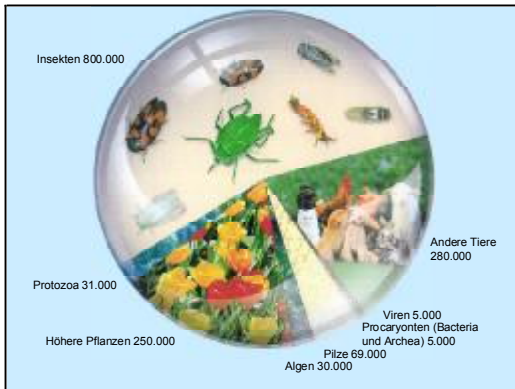


Abbildung 14

Die Natur - von den Pro- bis zu den Eukarionten (Abb. 15) verfügt über Abwehrsysteme mit definierten Funktionen, die über Jahrmillionen optimiert wurden - Waffensysteme vom schweren Säbel bis zum Florett - um sich gegen natürliche Feinde zu wehren, Waffensysteme, die für den Menschen bei richtiger Dosierung Wirkstoffe sein können.



**Abbildung 15**

Voraussetzung ist natürlich, dass wir diese Waffenarsenale finden, und wir kennen erst ganze 2 % der globalen Mikroorganismen! Mikrobiologen pirschen durch modrige und sumpfige Wälder (Abb. 16), um den Chemikern



**Abbildung 16**

Borken, verfaultes Holz oder tote Käfer mit gelben Pusteln, schmierigem Filz oder schleimigen Überzügen - Mikroorganismen - heimzubringen. Ethnopharmakologen und Ethnomediziner schlagen sich durch den Mato Grosso oder den afrikanischen Busch, um festzustellen, welchen Pflanzenbrei Gorillas auf ihre Wunden schmieren (Abb. 17) oder um



**Abbildung 17**

Medizinmänner oder Schamanen zu extrahieren. Ein beeindruckendes Beispiel (Abb. 18):



**Abbildung 18**

Die Buschmänner vom Stamme der San in der Kalahari: Sie kauen bei Hungergefühl auf dem Hoodia-Kaktus. Der Wirkstoff „P 57“ im Hoodia-Kaktus erweist sich als Appetitzügler von bis dato nicht bekannter Effizienz mit einer komplexen Wirkungskette. Allein in Deutschland gibt man im Jahr ca. 25 Mrd. € gegen die Fettsucht aus. P 57 kann eines der meistverkauften Medikamente weltweit - ein Superblockbuster - werden. Die Biotech-Firma Phytofarm hat 3 diese Kakteenarten patentiert, Pfizer hat sich die Vermarktungsrechte gesichert. Und die Buschmänner klagen inzwischen diese Unternehmen der Biopiraterie und des Gendiebstahl an! Eine sehr ernste Problematik!

Die tibetanischen Mönche haben das Studium ihrer Medikamente trotz hoher Gebote abgelehnt: Sie wirken angeblich nur im Verbund mit meditativen Übungen - und die gibt es mei-nes Wissens in Deutschland nicht auf Krankenschein!

Die Abwehrwaffen der Natur als Wirkstoff-Reservoirs! Der Botaniker und Pilzfanatiker Anke, Universität Kaiserslautern findet 1976 vor seiner Haustür auf einem Tannenzapfen einen kümmerlichen kleinen Pilz, den ich wahrscheinlich nicht mal zur Kenntnis genommen hätte: *Strobilurus tenacellus* (Abb. 19).



Abbildung 19

H. Steglich (LMU) isoliert aus den Pilzkulturen eine unglaublich einfache Verbindung (Abb. 20) mit hoher antifungischer Aktivität, die er Strobilurin nennt. Anke und von Jagow (Universität Frankfurt) stellen fest, dass Strobilurin den Elektronentransport in den Mitochondrien, - exakt im  $bc_1$ -Komplex der Atmungskette als Target - unterbricht.

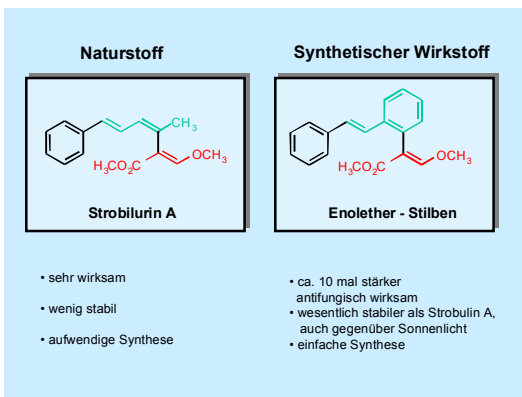


Abbildung 20

Im Freilandversuch ist Strobilurin zunächst eine herbe Enttäuschung, da am Licht das Z-Isomer photochemisch schnell in das völlig unwirksame E-Isomer übergeht. Zusammen mit der BASF ersetzt man an der LMU die Z-Doppelbindung durch Phenyl zu dem photochemisch völlig stabilen Enolether, der 10mal wirksamer als das Strobilurin ist. Eine

neue Leitstruktur war geboren - und die Natur war der Ideengeber.

Ein erbitterter Kampf um das erste Patent mit der ICI entbrennt, den die BASF um ganze zwei Tage gewinnt! Das prognostizierte Umsatzvolumen wird auf 2 Milliarden €/Jahr geschätzt, ein echter Blockbuster im Pflanzenschutz - aus einem kleinen unscheinbaren Schwammerl!

Die Meeresflora und -fauna mit wahrscheinlich  $10^{10}$ - $10^{16}$  Organismen ist ein unerschöpfliches Reservoir für marine Wirkstoffe und Toxine. Aus Phytoplankton-Spezies werden isoliert, z. B. Brevetoxin (Abb. 21), das für

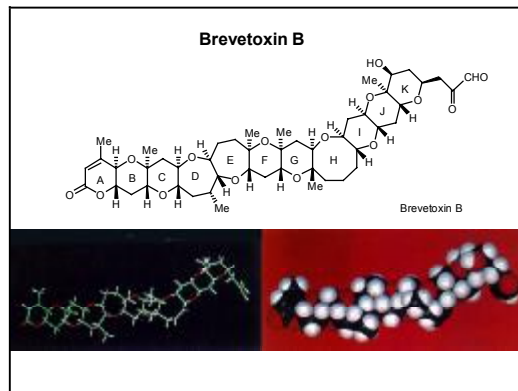


Abbildung 21

viele marine Katastrophen verantwortlich ist (Totalsynthese Nicolaou 1996), Palytoxin (Kishi, Harvard 1994) und Maitotoxin, (Abb. 22)

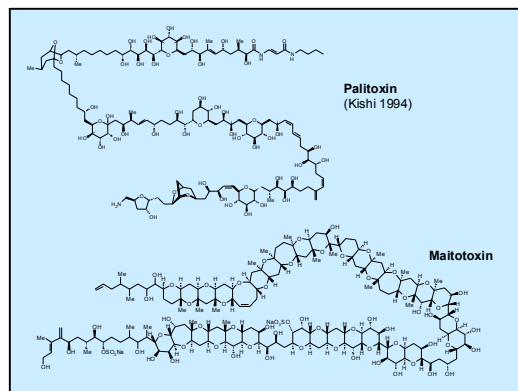


Abbildung 22

das größte bekannte Nichtbiopolymer (MG = 3422), für Säuger extrem toxisch. Respekt- und ehrfurchtgebietende Moleküle, die in ihrer Toxizität nur von einigen Eiweißtoxinen übertroffen werden. Für bioaktive, toxische Peptide gilt das große Barrier-Riff in

Queensland (Abb. 23) als der gefährlichste Platz der Welt. Quallen, bei deren Berührung Fische den Sekundentod erleiden. Abendzeitung 17.04.02:

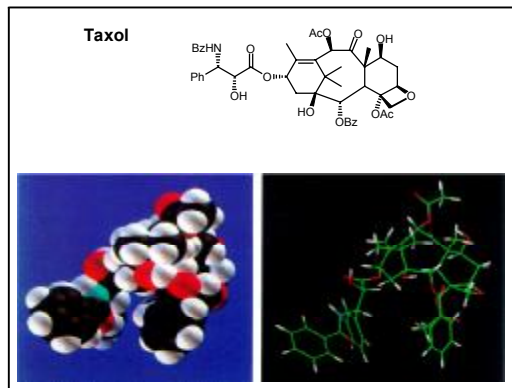
Tod eines Touristen nach Berührung einer fingernagelgroßen Irukandji-Qualle. Am



**Abbildung 23**

multidisziplinären Institut für molekulare Biowissenschaften in Brisbane isoliert man aus dem Gift einer Meeresschnecke im Barrier-Riff ein hochtoxisches Peptid, das bei entsprechender Konzentration ein Schmerzmittel ähnlich wirksam wie Morphinum ist. Klinische Studien der Stufe II bei Krebspatienten in Australien und Schweden sind erfolgreich, keine Nebenwirkungen und keine Entwicklung von Abhängigkeiten. Man hofft auf ein Milliardenprodukt!

Die durch das Fegefeuer der Evolution gelaufenen zellulären Synthesefabriken der Natur übertreffen alles, was die großen Pharmaunternehmen an „Highchem“ leisten können. Ein glänzendes Beispiel ist der Milliarden Dollar Tumorchemstoff Taxol (Abb. 24) aus der Borke der pazifischen Eibe, einem kleinen, langsam wachsenden Baum, der nach dem Schälen der Borke abstirbt. Die Ausbeute beträgt 0.01 % des Trockengewichts! Taxol ist ein hochkomplexes, pentacyclisches Diterpen mit 11 Stereozentren. Obwohl bereits 1971 entdeckt, erobert sich Taxol für die Behandlung solider Tumore bei Ovarial- und Mammacarcinom z. T. in Kombination mit cis-Platin erst in den 90er Jahren den Markt (Bristol-Myers Squibb).



**Abbildung 24**

Der Grund ist die Schwerzugänglichkeit des Taxols (1 Eibe/Patientin) und seine Schwerlöslichkeit. Da die Taxole eine neue Leitstruktur und einen neuen Wirkmechanismus besitzen, werden auch die Chemiker - 20 Jahre nach der Entdeckung - hellwach. Hier geht es auch um wirtschaftliche Interessen, über 40 der weltbesten Naturstoffteams stürzen sich auf die Totalsynthese. Diese gelingt 1994 fast zeitgleich: Holton (Florida State University) und Nicolaou. Faszinierende Synthesen, die das Selbstbewusstsein der Chemiker stärken - aber leider nur akademischen Wert besitzen. Das Mengenproblem ist nicht gelöst. Botaniker auf der ganzen Welt untersuchen nun ihre Eiben in Europa, Japan, China, Kanada und sogar im Himalaja! Nur in der europäischen Eibe (*Taxus Baccata*) wird man fündig.

In den Nadeln und Zweigen der deutschen Eibe findet man eine seitenkettenfreie Vorstufe des Taxols, das Baccatin (Abb. 25) in 10-fach höherer Konzentration als Taxol in der pazifischen Eibe! Das scheinbar simple Anflanschen der Seitenkette stellt die Chemiker überraschend vor Probleme - die OH-Gruppe an C-13 ist sterisch stark gehindert! Nun, die Synthespezialisten schaffen es - wenn auch mit Mühe - und man ist heute in der Lage, eine ganze Bibliothek von Taxolen - auch wasserlöslichen aufzubauen!



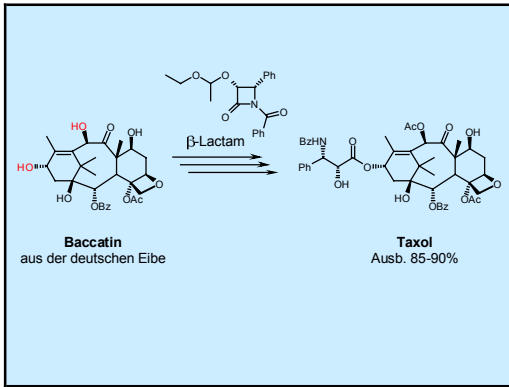


Abbildung 25

So neu die Taxol-Leitstruktur ist, so neu ist auch der Wirkmechanismus - eine detektivische Meisterleistung. Die aus globulären ( $\alpha$ - und  $\beta$ -) Tubulinen aufgebauten Mikrotubuli (Abb. 26) – zelluläre Nanotubes (Nanoröhren) ( $\varnothing$  24 nm) sind fundamentale Bausteine der Zelle und zugleich molekulare Maschinen - Förderbänder - die u. a. den Transport der Chromosomen während der Mitose bewerkstelligen. Diese Fähigkeit basiert auf ihrer dynamischen Instabilität.

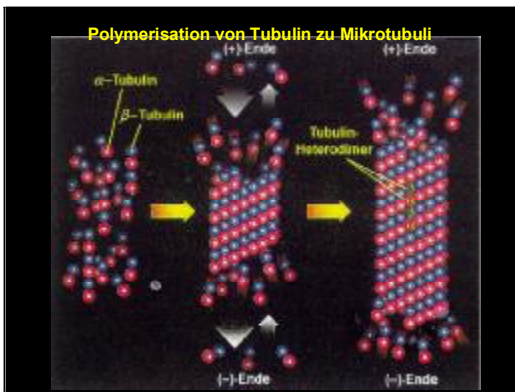


Abbildung 26

Im Gegensatz zu den bis dato bekannten Tumorstoffen führt das an die Mikrotubuline gebundene Taxol (Abb. 27) zu ihrer extremen Stabilisierung, damit zur Blockade der Zellteilung und zum Zelltod. Die sich häufiger teilenden Krebszellen werden davon wesentlich stärker betroffen als gesunde Zellen!



Abbildung 27

Wirkstoff-Forschung global! Im Uferboden des Sambesi in Südafrika isoliert man das Myxobakterium: „Sorangium Cellulosum“ (Abb. 28), die Sporenkapseln können in trockenen Böden 20 Jahre überleben. Aus der Kulturbrühe



Abbildung 28

isolieren Chemiker der GBF in Braunschweig erneut ein Wunderwerk der Hightech-Zelle. Die Strukturen: Epoxid, Thiazol und Ketogruppen (Abb. 29) induzieren die Bezeichnung Epothilone, Makrolide, von denen man bis heute 5 natürlich vorkommende: A-E kennt.

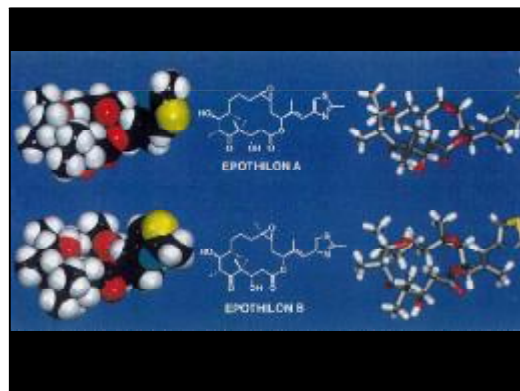


Abbildung 29

Cytotoxizitätsexperimente zeigen, dass die Epothilone eine wesentlich höhere Wirksamkeit aufweisen als Taxol und selbst Taxol-Resistenzen überwinden! Trotz der völlig verschiedenen Strukturen operieren die Epothilone nach dem gleichen Wirkmechanismus, sie verdrängen sogar Taxol von den Bindungsstellen an den Mikrotubuli!

Gleich 3 High-tech-Arbeitskreise erstürmen 1996/1997 die Epothilon-Festung: Danishefsky, Nicolaou und Schinzer.

Nicolaou erschließt zugleich eine neue Dimension der kombinatorischen Synthese: Sein multinationales Team (Abb. 30) setzt die REC (radiofrequency encoded combinatorial chemistry) (Abb. 31) - Split- und Pool-Strategie an fester Phase zur kombinatorischen Synthese ein und baut eine Epothilon-Bibliothek auf unter Verwendung von Micro Kans und Micro Tubes: SMART-Mikroreaktoren mit Halbleiterspeichereinheiten auf.

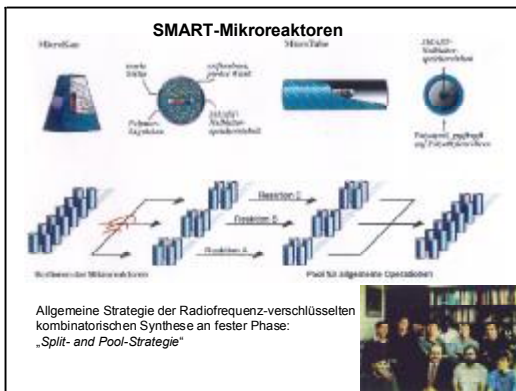


Abbildung 30/31

Trotz dieser beeindruckenden Ergebnisse haben anfangs der 90er Jahre viele Pharmafirmen die Naturstoff-Forschung zurückgefahren in der Erwartung schneller Erfolge beim Computer Assisted Drug Design (CASS) und der virtuellen Synthese.

Das Rezeptor-basierte Drug-Design nach dem Emil Fischer'schen Schlüssel-Schloss-Prinzip setzt die Kenntnis der 3-dimensionalen Struktur des Rezeptors voraus - und die liegt praktisch nur für wasserlösliche Protein-Enzyme vor. Die Publikation der Röntgenstruktur des membrangebundenen Rinderrhodopsins mit 7 trans-membralen  $\alpha$ -Helices und Retinal (Abb. 32) vor 2 Jahren war ein entscheidender

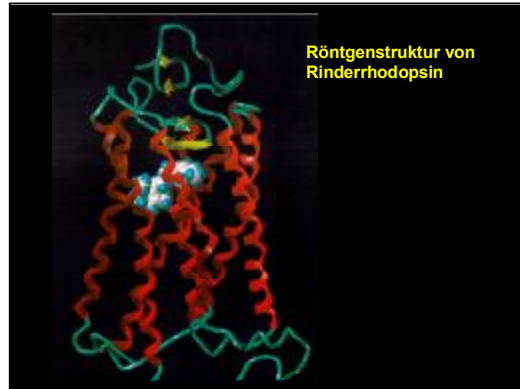


Abbildung 32

Durchbruch - und ein perfektes Schlüssel-Schloss-Beispiel der Natur (Abb. 33). In Anlehnung hieran entwickelt, z. B. Kollege Dove am

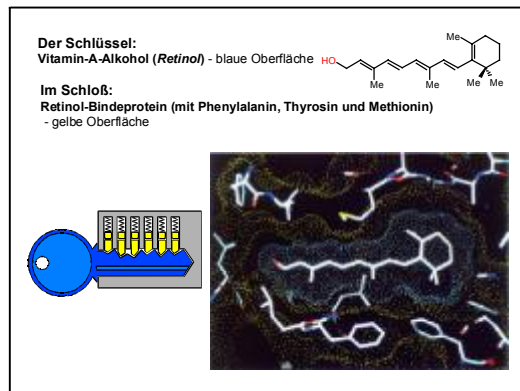


Abbildung 33

Lehrstuhl Buschauer, ein Computermodell der Bindung von Apromidin an den Meerschweinchen-Histamin H<sub>2</sub>-Rezeptor (Abb. 34). Die farbigen Schleifenmodelle lassen mich als Chemiker immer wieder vor Neid erblassen – obwohl die Natur von dieser ihrer Schönheit ja auch nichts weiß!

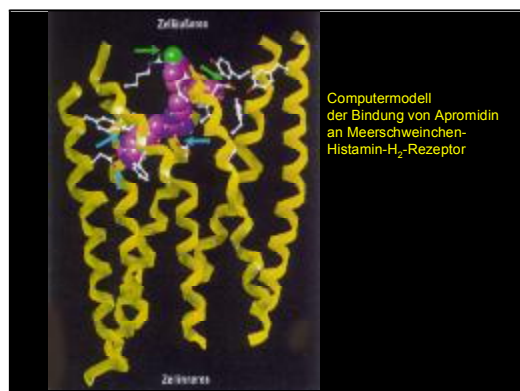


Abbildung 34

Die Methoden des Molecular Modelling haben ohne Zweifel unser Wissen über die Natur der Ligand-Biomolekül-Wechselwirkung deutlich erweitert, die Hoffnung, eines Tages auch noch einen Blockbuster auf dem Bildschirm zu haben, sichert den Molecular Modelling-Spezialisten an den Hochschulen und in der Industrie einen festen Platz im großen Orchester der Wirkstoff-Forschung.

Doch zunächst heißt die Botschaft: Zurück zur Natur!

Neue Horizonte für die Synthese von Wirkstoffen eröffnet die kombinatorische Biochemie.

1998 hat P. F. Leadly vom „Cambridge Center for Molecular Recognition“ den Startschuss abgefeuert (Abb. 35). Im Multienzymkomplex der Erythromycin-Polyketid-Synthase tauscht er das „loading module“ gegen das der Avermectin produzierenden Polyketidsynthase aus, das mehr als 40 verschiedene Carbonsäuren akzeptiert. Das Hybridenzym kann jetzt in Erythromycin Sacharopolyspora eine ganze Erythromycin-Bibliothek exprimieren.

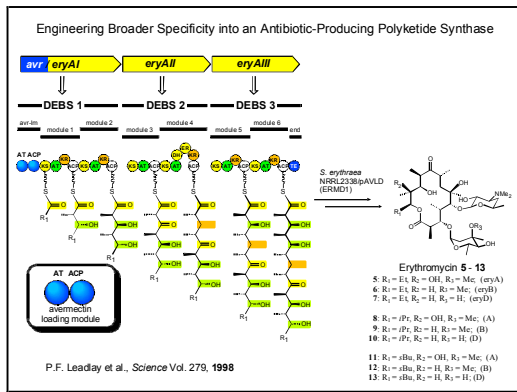


Abbildung 35

Im Juni 2000 stellen Bill Clinton und Tony Blair mit großer Emphase die Rohfassung des menschlichen Genoms mit ca. 90-proz. Richtigkeit der DNA-Sequenz vor - eine endlose Kette von 4 Buchstaben (Abb. 36) - Triumph einer gigantischen Armada von Hochdurchsatz-Kapillar-Sequenziergeräten und Hochleistungsrechnern. Zur gleichen Zeit gehen die Bayer AG und die US-Biotech-Firma Millenium vor die Presse: die Genomforschung (Genomics) ist der Schlüssel zur Suche nach

neuen Medikamenten. Dies war eine vorläufige, aber wohl auch eine etwas voreilige Mitteilung.



Abbildung 36

Die Baupläne zahlreicher Pro- und Eucarionten wurden inzwischen weitgehend entschlüsselt. Überraschend, dass der Mensch nicht - wie zunächst angenommen - 70-100.000, sondern nur 30-40.000 Gene und damit nur doppelt soviel wie die berühmte Drosophila besitzt. Die Gene allein können die ungeheure Komplexität des Lebens nicht erklären, ebenso wenig wie die Entstehung einer Sarah Connor oder eines Edmund Stoiber (Originalton Spiegel!). Auch dass z. B. Gene des Fadenwurms und menschliche Gene funktionell vielfach einander äquivalent sind, hat so direkt auch niemand erwartet!

Warum tut sich die Wissenschaft noch so schwer, das Genom zur Findung innovativer Arzneistoffe zu nutzen? Jedes Gen liefert über die mRNA durch alternatives Spleißen die Baupläne für 5-10 Eiweißmoleküle. Da man schätzt, dass etwa 1000 Gene an der Entstehung der häufigsten Krankheiten beteiligt sind, muss man nach 5-10.000 Proteinen suchen, an denen Medikamente andocken könnten. Das Proteom mit inzwischen 22 gencodierten Aminosäure-Bausteinen und komplizierten Raumstrukturen ist ungleich komplexer als das Genom, das ja mit vier Nucleotidbasen vergleichsweise eine „Simple Symphony“ ist, zumal die Proteine noch posttranslational modifiziert sind. War in der Pionierzeit das Target „terra inkognita“ (bislang kennen wir etwa 500 Targets), so lässt die Genomik/Proteomik bis zu 10.000 Targets erwarten und es fehlen die Wirkstoffe. Wie schon eingangs erwähnt, ist es eine große Herausforderung für die Strukturchemiker und Strukturbologen, die Schlüssel zum Knacken der Schlösser zu finden, (Abb. 37) vielleicht

gibt es ja sogar molekulare Dietriche! Eine Idee, die Waldmann vom Max-Planck-Institut für molekulare Physiologie in Dortmund im Prinzip mit dem Protein-Domänen-Konzept verfolgt.

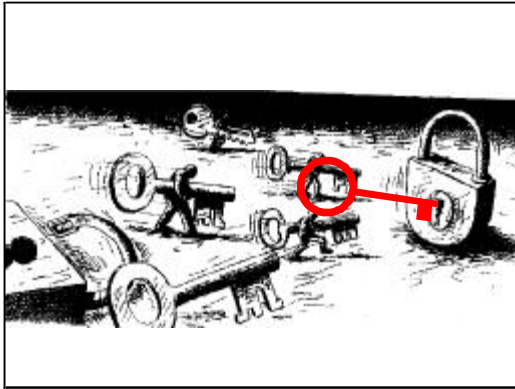


Abbildung 37

Ein sehr eleganter Ansatz, der keinerlei Kenntnis der Raumstruktur des Proteins voraussetzt, ist die gerichtete in vitro Evolution im Reagensglas im Zeitraffer z. B. zur Erzeugung enantioselektiver Biokatalysatoren von Reetz am Max Planck Institut für Kohleforschung in Mülheim: ein in der Wolle gefärbter org. Chemiker! Der Wildtyp der aus 285 Aminosäuren aufgebauten Lipase aus dem Bakterium *Pseudomonas aeruginosa* hydrolysiert den racemischen 2-Methyldecansäure-p-nitrophenylester mit einem ee-Wert von 2 %! (Abb. 38)

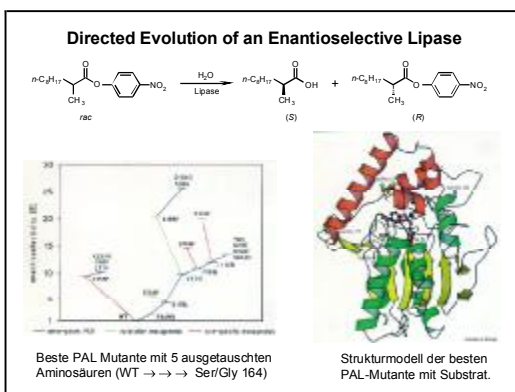


Abbildung 38

Beim Austausch von nur einer Aminosäure im Enzym durch eine der restlichen 19 Aminosäuren ist eine Bibliothek von 5415 Mutanten zu erwarten! Mit einer speziellen Variante der Polymerase-Ketten-Reaktion, der sog. fehlerhaften (error prone) ep-PCR und/oder der site-specific Mutagenese wird das aus 933 Basenpaaren

bestehende Lipasegen einer Zufallsmutation unterworfen mit einem statistischen Austausch von 1-2 Basen. 1000 in *Pseudomonas aeruginosa* exprimierte Lipasemutanten werden auf ihre Eignung als enantioselektive Katalysatoren geprüft. In der 1. Generation weisen 12 eine erhöhte Selektivität auf, beste Mutante ee = 31 %. Der iterative Selektionsprozess liefert in der 4. Generation nach sukzessivem Austausch von fünf Aminosäuren eine Steigerung des ee-Wertes von 2 auf 91 %!

Bei einem Markt für enantiomerenreine Pharmazeutika von 100 Milliarden € dürfte dem Design bioaktiver Nucleinsäuren nach dem Prinzip der gerichteten in vitro Evolution eine große Zukunft beschieden sein. Auf diesem Wege erhaltene Enzyme mit erhöhter Stabilität und Aktivität sollten überdies ihren vermehrten Einsatz in industriellen Prozessen ermöglichen. Kollege Stetter aus der Biologie dürfte seinen ersten Ferrari mit technisch interessanten thermisch extrem stabilen Enzymsystemen verdient haben! Wie das? Man isoliert sie aus seinen hyperthermophilen Archebakterien (den Archeae), die sich erst bei 100 °C so richtig wohl fühlen.

Während die Findung von Wirkstoffen, die an den komplexen 3-dimensionalen Proteinstrukturen andocken, noch eine gewaltige Herausforderung an die Chemie ist, ist die Genbasierte Wirkstoff-Entwicklung deutlich weiter. Gezielt veränderte oder rein chemisch synthetisierte Gene werden in *E. coli* oder *Saccharomyces* transfiziert und amplifiziert, und die exprimierten rekombinanten Proteine gehen in's High through put Screening!

Von den bis heute etwa 80 biotermologisch hergestellten Wirkstoffen: z. B. schnell wirkende Insuline (Insulin als part), das Antikoagulanzen Hirudin, das Wachstumshormon Gomatropin, die  $\beta$ -Glucocerebrosidase (Morbus Gäucker), un die Interferone (IFN- $\alpha$ , IFN- $\beta$ ) kommt m. E. der neuen Generation monoklonaler Antikörper besondere Bedeutung zu.

Die Euphorie der 70er Jahre, dass monoklonale Antikörper (Abb. 39) die ultimative Antwort in der Tumorbekämpfung sind, wurde ja bitter enttäuscht - die murinen Antikörper (Maus)

Charakteristische Struktur eines Antikörpers

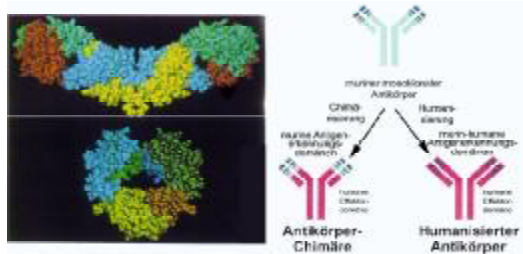


Abbildung 39

wurden vom menschlichen Immunsystem schlicht und ergreifend gefressen. 25 Jahre später hat man gelernt, dass die Antikörper aus der Maus humanisiert werden müssen (Abb. 39). Auf DNA-Ebene werden konservierte Bereiche gentechnisch durch entsprechende Bereiche eines humanen Antikörpers ersetzt. Man spricht von murin/humanen Antikörper-Chimären, wenn weniger als 10 % der Maus erhalten bleiben von humanisierten Antikörpern. Nach und nach wird alles ersetzt bis auf winzige Bereiche, die zum Anhaften des Antikörpers an das Antigen nötig sind. Zugleich werden die Antikörper verkleinert, nur noch selten liegt das vollständige Y vor. Aus dem Antibody ist durch Molekülstriptease ein Minibody geworden. Seit 1998 wurden 6 gentechnisch hergestellte chimäre Antikörper zugelassen, u. a. das Rituximab gegen das Non-Hodgkin-Lymphom und das Trastuzumab, das Fortschritte in der Krebstherapie, insbesondere beim Mammacarcinom verspricht.

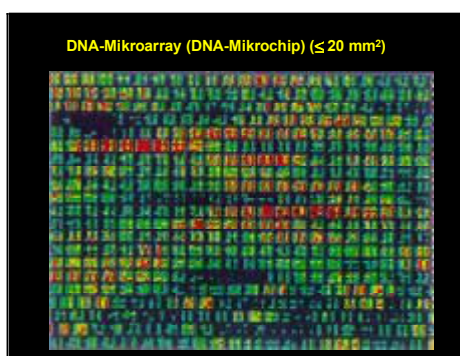


Abbildung 40

Das Proteom - die Gesamtheit der vom Genom der Zelle geplanten Eiweißmoleküle - stellt bei 20/22 Aminosäurebausteinen und der 3-Dimensionalität die Struktur-Chemiker und -Biologen, die Röntgenstruktur und die 900 MHz-NMR-Spezialisten vor gewaltige Aufgaben. Kommt hinzu, dass alle

eukariontischen Proteine posttranslational modifiziert sind - Phosphorylierungen, Methylierungen, Glykosylierungen usw.

Welche Proteine werden nach dem Schnittmuster der messenger-RNA wann und in welcher Menge von einer Zelle exprimiert? Wie interagieren Sie? Wie unterscheiden sich die Proteine einer gesunden Zelle von denen einer kranken?

Eine Revolution hat sich mit den inzwischen käuflichen Gen-Mikrochips/Gen-Mikroarrays angebahnt. Die mit den Techniken der Mikrochip-Produktion - das ist viel, viel Chemie - oder mit Mikropipetierrobotern aus c-DNA-Fragmenten auf Glas oder Si-Wafern hergestellten, markierten Arrays (Abb.40) erlauben u. a. die vollständige Darstellung der 30.000 bislang bekannten menschlichen Gene auf einem Mikroarray und damit neue Einblicke in physiologische und pathologische Prozesse und den Vergleich gesunder und kranker Gene. Dotierte Nanokunststoffperlen als Suspensions-Arraysysteme der Fa. Qiagen bewähren sich insbesondere in der Proteom- und Wirkstoff-Forschung. Die Wechselwirkung zwischen Genen und Medikamenten, die „Pharmakogenomics“, bereiten den Weg für eine molekulare Medizin!

Ziel der Forschung: Heilung von Krankheiten, die auf fehlerhafte Proteine zurückzuführen sind! Die Proteine sind ja die eigentlichen Macher in der Zelle, man spricht bei den Proteomics von der postgenomischen Revolution!

Forscher des European Biology Laboratory (EMBL) und des spinoffs Cellzome in Heidelberg haben mit molekularbiologischen Angeln aus der Hefezelle 232 Multiproteinverbände, aufgebaut aus 1440 verschiedenen Eiweißen, herausgefischt (Abb. 41). Diese Proteinteam aus durchschnittlich 12 bis höchstens 83 Eiweißen sind „Biomaschinen“ im zellulären Geschehen!

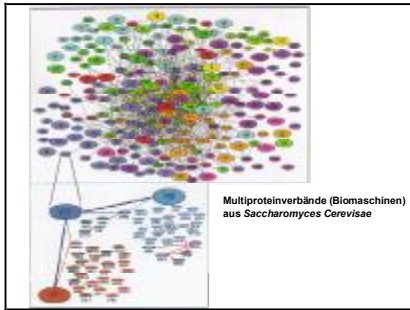


Abbildung 41

Und diese Biomachines zeigen ein überaus soziales Verhalten. Ein Protein interagiert mit etwa 5 bis 50 verschiedenen Proteinpartnern z. T. auch kovalent über gemeinsame Bausteine. Schon bei einer Hefezelle mit ~6000 Proteinen ergeben sich 30.000 bis 300.000 Protein/Protein-Interaktionen. Es entsteht ein gewaltiges, hier an einem Proteasom demonstriertes, Eiweißnetz! (Abb. 42). Erfolg ist das Ergebnis von Teamarbeit: auch in der Zelle!



Abbildung 42

Zukunftsvision: Schaffung einer virtuellen Zelle, ein „Cybernom“, ein Computermodell sämtlicher biologischer Vorgänge und aller Moleküle in allen Geweben des Organismus: die vollständige Aufklärung der komplexen biologischen und chemischen Zusammenhänge auf molekularer Ebene könnte jeweils zum maßgeschneiderten Medikament führen!

Indes: Das beste Medikament taugt nichts, wenn man es nicht dahin bringen kann, wo es gebraucht wird. Eine völlig neue Entwicklung bahnt sich hier mit der Nanotechnik an (Science Dez. 2001, „Durchbruch des Jahres“). Man lernt mit Nanopartikeln - wenige Millionstel mm klein und nur im Elektronenmikroskop sichtbar - Medikamente oder DNA in kranke Zellen zu schleusen, eine faszinierende Entwicklung, die u.a. im „Institut für Neue Materialien“ (INM) in Saarbrücken geleistet

wird. Gefahren: auf Si-Nanopartikel aufgerollte DNA, transportieren die DNA ins Zellinnere der Ratte, Medikamente lassen sich gezielter an ihren Wirkort bringen und man arbeitet daran, dotierte Nanopartikel durch die Blut-Hirn-Schranke zu schmuggeln! Da passt es ins Bild, dass Kollege Stetter justament in Science über die Entdeckung submariner Nanoarchaeen berichtet, mit maximal 4000 Genen wahrscheinlich die einfachsten und mit 4 Mrd. Jahren die ältesten irdischen Lebewesen.

Fazit: Alle Bereiche der Wirkstoff-Forschung: Analytik, Spektroskopie, Biologie, Chemie, Pharmazie, Informatik, Medizin und Physik fordern Spezialisten, die aber zugleich teamfähig sein müssen. Nur das Team ist fähig durch Synergismen die erforderliche geballte Intelligenz zu sichern.

Eine Fachkommission der GDCh hat unter Mitarbeit von etwa 30 renommierten Kollegen aller genannten Fakultäten aus Hochschule und Industrie einen Lehrinhaltskatalog für das universitäre Studium der Biomedizinischen Chemie mit Schwerpunkt Wirkstoff-Forschung im 7.-10. Semester erarbeitet (Abb. 43).



Abbildung 43

Im 1.-6. Semester werden die Grundlagen des jeweiligen Faches, Chemie, Biologie, Pharmazie gelehrt, die Bachelor der Chemie, Biologie, Pharmazie nehmen anschließend mit unterschiedlicher Gewichtung das Wirkstoff-Masterstudium auf, (Abb. 44) ohne ihre „roots“ zu verleugnen. Leider gibt es einen Diplom- bzw. B.Sc.- oder M.Sc.-Abschluss für Studierende der Pharmazie in Deutschland bis heute nicht. Dies ins Poesiealbum der hier versammelten pharmazeutischen Würdenträger!

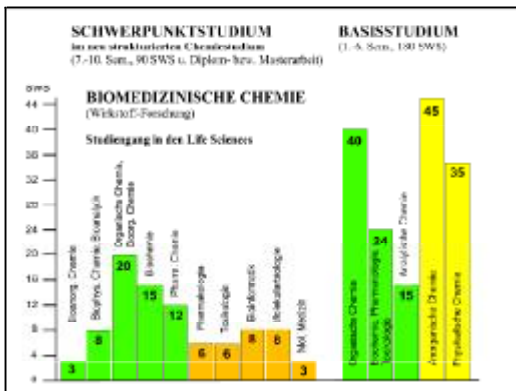


Abbildung 44

Wir brauchen den teamfähigen Spezialisten, aber auch den Generalisten - und das ist bitte schön kein Schimpfwort - wir brauchen den General auf dem Feldherrnhügel, der die Master-Strategien entwickelt und alle Aktivitäten zielgerichtet koordiniert.

Der eingangs von mir zitierte Ciprobay-Entdecker K. Grohe war von diesen Empfehlungen so angetan, dass er auf der GDCh-Hauptversammlung im letzten Jahr in Würzburg aus seinen „Geldsack“ eine exzellent dotierte Stiftung für die universitäre Wirkstoff-Forschung einbrachte.



Zum Vortragenden

Prof. Dr. rer. nat. Gottfried Märkl; geb. 28.04.1929  
 Studium der Chemie in Würzburg, 1954 Diplom-Hauptprüfung, 1957 Promotion, 1960 Postdoc am Chemischen Institut Würzburg; Aufbau eines Isotopen-Laboratoriums.  
 1964 Habilitation für das Fach Organische Chemie, ab 1964/65 Research Fellow und Stipendiat der Harvard University, Cambridge, Masschusetts,  
 1971 Ernennung o. Professor für Chemie an der Universität Regensburg, 1974 bis 1977 Organisation des Aufbaus der Pharmazie in Regensburg,  
 1990 o. Mitglied der Bayerischen Akademie der Wissenschaften, 1991 - 1993 Dekan der Naturwissenschaftlichen Fakultät IV, Chemie und Pharmazie, 1988 - 1990 und 1993 - 1995 Mitglied des Senats.  
 2000 „Carl-Duisberg Medaille“ der Deutschen Chemischen Gesellschaft.

Anschrift:

Professor Dr. G. Märkl  
 Institut für Organische Chemie  
 Universitätsstraße 31  
 93053 Regensburg

Es ist mir eine Freude, dass auch meine Fakultät die Herausforderung der Wirkstoff-Forschung angenommen hat - sowohl im Studium als auch mit einem Graduiertenkolleg.

Das Ganze ist des Schweißes der Edlen wert! Zum Erfolg gehören - neben multifakultativem Wissen, Viel-Wissen: Intuition, schöpferische Phantasie, nicht selten der Zufall und eine große Portion Glück: wer gräbt schon am Sambesi ein Bakterium aus, das die riesige Wirkstoffgruppe der Epothilone gebiert?

Lassen Sie mich schließen mit einem Zitat der Weltgesundheitsorganisation: „Gesundheit ist ein Zustand vollständigen körperlichen, geistigen und sozialen Wohlbefindens und daher weit mehr als die Abwesenheit von Krankheit.“ Nun, meine Damen und Herrn, wer sich jetzt noch gesund fühlt, der muss krank sein!