

Die Natur als Arzneimittelhersteller und als Quelle der Inspiration für den Chemiker: Die Bedeutung von Naturstoffen in der Arzneimittelforschung

Karl-Heinz Altmann (Zürich)

Zusammenfassung

Naturstoffe bilden ein unermessliches Reservoir an Leitstrukturen für die Entwicklung neuer Arzneimittel. Bei mehr als 50% der heute therapeutisch eingesetzten Medikamente handelt es sich um solche z. B. von Pflanzen, Pilzen oder Bakterien gebildete Stoffe oder strukturell davon abgeleitete Substanzen. Im ersten Teil dieses Beitrags wird die Verwendung von Naturstoffen als Leitstrukturen für die Arzneimittelentwicklung anhand von zwei in der klinischen Praxis etablierten Arzneimitteln bzw. Arzneimittelgruppen exemplarisch illustriert. Der zweite Teil des Artikels beschäftigt sich mit einer neuen Klasse von Naturstoffen, den so genannten Epothilonen, die als Leitstrukturen für die Krebsmittelforschung in der jüngsten Vergangenheit grosse Aufmerksamkeit auf sich gezogen haben. Die Untersuchung der Zusammenhänge zwischen Struktur und Wirkung dieser Moleküle durch chemische Synthese geeigneter Analoga bildet eines der Forschungsthemen in der Arbeitsgruppe des Autors am Institut für Pharmazeutische Wissenschaften der ETH Zürich. Das Erkennen dieser Zusammenhänge bildet die Voraussetzung für die Entwicklung von neuen Arzneistoffen, die ein gegenüber den ursprünglich aus natürlichen Quellen isolierten Naturstoffen verbessertes Wirkprofil aufweisen. Gegenwärtig befinden sich 6 Verbindungen vom Epothilon-Typ in verschiedenen Phasen der klinischen Entwicklung als Krebsmedikamente.

Nature as drug producer and as a source of inspiration for the chemist: The importance of natural products in drug discovery

Natural products represent an immeasurable reservoir of lead structures for the development of new drugs. Today, more than 50% of drugs in clinical use are substances, which are produced, e. g., by plants, fungi, or bacteria or which are structurally derived from such compounds. The first part of this article will highlight the importance of natural product leads for drug discovery based on two specific examples of drugs (or groups of drugs) which are currently in clinical use. The second part of the paper will then deal with a new class of natural products, which are called epothilones, and which in the recent past have attracted considerable attention as new lead structures for anticancer drug discovery. The elucidation of the relationship between structure and biological activity of these molecules through the synthesis of appropriate analogs represents one of the major topics in the author's research group at the Institute of Pharmaceutical Sciences at the ETH Zürich. The understanding of structure-activity-relationships provides the necessary basis for the development of new drugs, which exhibit an improved overall profile over the original natural product leads. Currently 6 compounds of the epothilone structural class are undergoing clinical evaluation in humans.

Schlagwörter: Antibiotika – Biogene Arzneistoffe – Epothilone – Leitstrukturen – Lovastatin – Naturstoffforschung – Statine – Taxol

1 EINLEITUNG

Biogene Arzneistoffe im allgemeinsten Sinne sind, wie sich aus dem Begriff unschwer ableiten lässt, Arzneistoffe, die entweder direkt biologischen Quellen entstammen, seien

es z. B. Pflanzen, Pilze, Mikroorganismen o. a. m. oder die sich in irgendeiner Weise auf biologische Quellen zurückführen lassen (Abb. 1). (Auf die Bedeutung des Ausdrucks «sich ... zurückführen lassen» wird weiter unten noch

genauer eingegangen werden). Bei solchen biogenen Arzneistoffen handelt es sich einerseits, vor allem wenn sie aus pflanzlichen Quellen stammen, um so genannte *Extrakte*, die entweder direkt therapeutisch eingesetzt oder die zu Phytopharmaka weiterverarbeitet werden können. Ein wesentliches Merkmal solcher Extrakte besteht darin, dass es sich um Gemische einer ganzen Reihe verschiedener Substanzen handelt. Im therapeutischen Sinne ist dabei der gesamte Extrakt, also das Vielstoffgemisch als Ganzes, als Arzneistoff zu betrachten, dessen therapeutische Wirkung an die Anwesenheit zumindest einer gewissen Anzahl der einzelnen Inhaltsstoffe gebunden ist (DINGERMANN und LÖW, 2003). Am anderen Ende des Spektrums finden sich die *reinen Naturstoffe*, also isolierte Einzelsubstanzen, die als solche therapeutisch eingesetzt werden und deren molekularer Wirkungsmechanismus in vielen, wenn auch nicht in allen Fällen und nicht immer in seiner Gesamtheit einigermassen verstanden ist (Abb. 1). Es ist nicht das Ziel dieses Beitrags, eine vergleichende Betrachtung dieser beiden Ansätze anzustellen. Es steht meiner Ansicht nach ausser Frage, dass beide Arten von Arzneimitteln, sowohl Extraktpräparate wie auch auf Naturstoffen basierende Reinpräparate, von therapeutischer Relevanz sind und dass die Wahl des einen oder des anderen Ansatzes von der Art der klinischen Fragestellung und dem Schweregrad der zu behandelnden Erkrankung abhängt. Es soll jedoch ausdrücklich darauf hingewiesen werden, dass auch die therapeutischen Effekte von Extrakten und Phytopharmaka selbstverständlich das Resultat einer ganzen Reihe von *molekularen* Wirkungsmechanismen darstellen, die sich in

sehr komplexer Art und Weise überlagern und ergänzen und die wir in vielen Fällen einfach nicht verstehen. Das ist eigentlich eine triviale Feststellung, im Lichte manch irrationaler Diskussion über die Wirkung natürlicher Heilmittel im Allgemeinen und von pflanzlichen Arzneidrogen im Speziellen ist es aber nichtsdestotrotz nützlich, sich diesen Umstand von Zeit zu Zeit in Erinnerung zu rufen.

2 NATURSTOFFE ALS LEITSTRUKTUREN IN DER ARZNEIMITTEL-ENTWICKLUNG

2.1 Kurzer historischer Rückblick

Wie allgemein bekannt, weisen pflanzliche Arzneidrogen eine jahrtausendealte Geschichte auf und stellten bis ins 20. Jahrhundert hinein die eigentliche Grundlage jeder medikamentösen medizinischen Behandlung dar. Pflanzliche Arzneidrogen bilden also einen integralen Bestandteil der Entwicklung der Medizin im Sinne einer heilkundlichen Wissenschaft. Im Vergleich dazu ist die Geschichte der Naturstoffforschung im Sinne der Isolierung, Charakterisierung und Anwendung isolierter Naturstoffe erst von kurzer Dauer, sie ist aber von Beginn an ebenfalls mit einer medizinisch-therapeutischen Anwendung dieser Substanzen auf das Engste verknüpft. Als erster wirklich reiner Naturstoff wurde 1805 das *Morphin* von Friedrich Wilhelm Sertürner aus Opium isoliert, also aus dem eingedickten Milchsaft der unreifen Samenkapseln des Schlafmohns *Papaver somniferum* (Abb. 2) (IHDE, 1984). Darauf folgten im weiteren Verlauf der ersten Hälfte des 19. Jahrhunderts eine Reihe weiterer so genannter «Alkaloide», von denen hier stellvertretend noch das *Chinin* genannt werden soll, das eine grosse Bedeutung zur Behandlung der Malaria erlangt hat und das erstmals 1827 aus der Chinarinde isoliert wurde (von CAVENTOU und PELLETIER, 1820) (Abb. 2).

Dass es sich bei den meisten in der Anfangsphase der eigentlichen Naturstoffforschung isolierten Substanzen um Alkaloide handelt, ist keineswegs zufällig, da die Strukturen dieser Alkaloide i. a. durch die Anwesenheit zumindest eines Stickstoffatoms gekennzeichnet sind, das den Substanzen basische Eigenschaften verleiht. Sie sind daher in der Lage mit Mineralsäuren, wie z. B. Salzsäure, Salze zu bilden, die aufgrund ihrer Wasserlöslichkeit relativ leicht von der

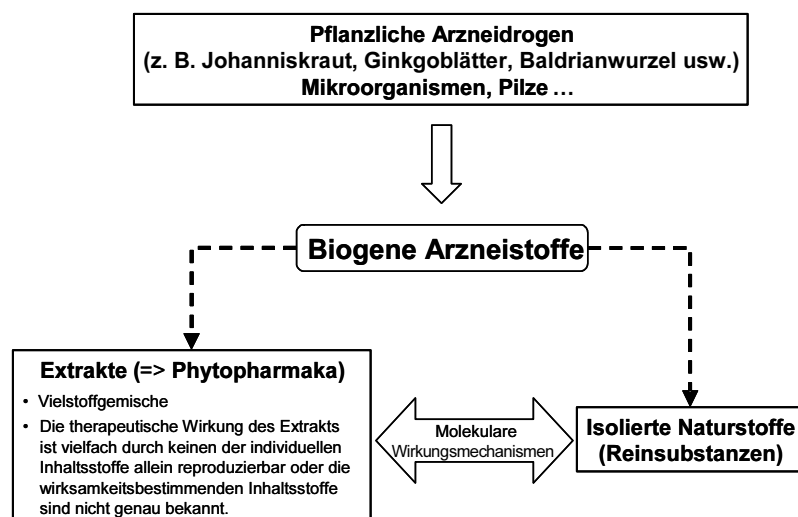


Abb. 1. Extrakte und reine Naturstoffe als biogene Arzneistoffe.
Fig. 1. Extracts and pure natural products as biogenic drugs.

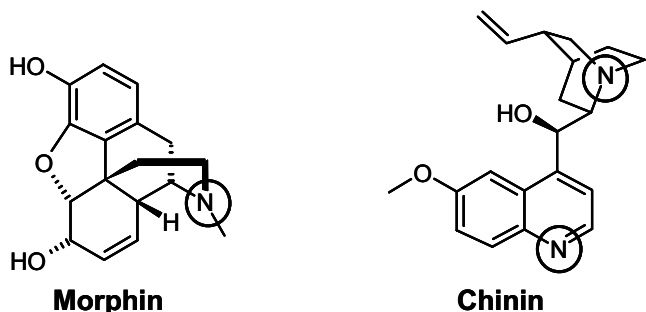


Abb. 2. Morphin (aus dem Schlafmohn) und Chinin (aus der Chinarinde) gehören zu den ersten rein isolierten Naturstoffen. Das für die meisten Alkaloide charakteristische basische Stickstoffatom ist eingekreist.

Fig. 2. Morphine (from opium poppy) and quinine (from China bark) are among the first natural products isolated in pure form. The basic nitrogen atom characteristic of most alkaloids is indicated by a circle.

Vielzahl anderer pflanzlicher Inhaltsstoffe abgetrennt werden können.

2.2 Konzepte und Beispiele

Die moderne Naturstoffforschung ist für die Isolierung reiner Substanzen aus biologischem Material natürlich schon lange nicht mehr auf das Vorhandensein spezifischer Strukturelemente angewiesen und in den vergangenen Jahrzehnten sind Zehntausende von Naturstoffen mit den unterschiedlichsten molekularen Strukturen isoliert und charakterisiert worden. Im Laufe dieser Zeit haben sich Naturstoffe als eine hochergiebige Quelle für die Entwicklung neuer Therapeutika erwiesen und Substanzen, die sich direkt oder indirekt von Naturstoffen ableiten, sind aus der modernen Arzneimitteltherapie nicht wegzudenken. Vielleicht am eindrucklichsten wird dieser Umstand durch die Tatsache illustriert, dass sich heute mehr als 50% (!) der 100 meistverkauften Medikamente von einer Vielzahl strukturell unterschiedlicher Naturstoffe ableiten (NEWMAN et al., 2003; 2000). So steht z. B. das aus dem Pilz *Penicillium chrysogenum* stammende und in Abb. 3 dargestellte *Pencillin G* am Anfang der Entwicklung aller Betalaktam-Antibiotika, wie überhaupt Naturstoffen im Bereich der Therapie bakterieller Infektionen

eine herausragende Bedeutung zukommt (NEWMAN et al., 2000). Eine zweite in Abb. 3 gezeigte Substanz mit überragender klinischer Bedeutung ist das *Cyclosporin*, das ebenfalls von einem Pilz produziert wird und das die moderne Transplantationsmedizin (also die Möglichkeit der Organverpflanzung), so wie wir sie heute kennen, aufgrund ihrer immunsuppressiven Eigenschaften überhaupt erst möglich gemacht hat (BOREL et al., 1995; BOREL und KIS, 1991; vgl. aber auch HEUSLER und PLETSCHER, 2001). Zum dritten sind in Abb. 3 zwei Beispiele aus dem Bereich der Krebstherapie dargestellt, nämlich das Irinotecan und das Topotecan, die sich beide strukturell auf das *Camptothecin*, einen Inhaltsstoff der Rinde des Baumes *Camptotheca accuminata* zurückführen lassen (PIZZOLATO und SALTZ, 2003). Dieser nun wiederholt aufgetauchte Begriff des «sich zurückführen lassens» weist darauf hin, dass Abb. 3 über die gezeigten konkreten Beispiele hinaus noch eine weitere implizite «message» transportiert, nämlich die Tatsache, dass die aus natürlichen Quellen isolierten Naturstoffe in bestimmten Fällen direkt als Therapeutika eingesetzt werden können, wie das z. B. beim Cyclosporin der Fall ist, während sie in anderen Fällen als *struktureller Ausgangspunkt* für die Entwicklung neuer Therapeutika fungieren, wie das z. B. für viele Antibiotika und auch für die hier genannten Irinotecan und Topotecan zutrifft.

Konzeptionell können Naturstoffe somit grundsätzlich auf drei verschiedene Arten in die Arzneimittelforschung und -entwicklung einfließen. Wie bereits erwähnt können sie erstens als solche, wie z. B. das Cyclosporin, zu

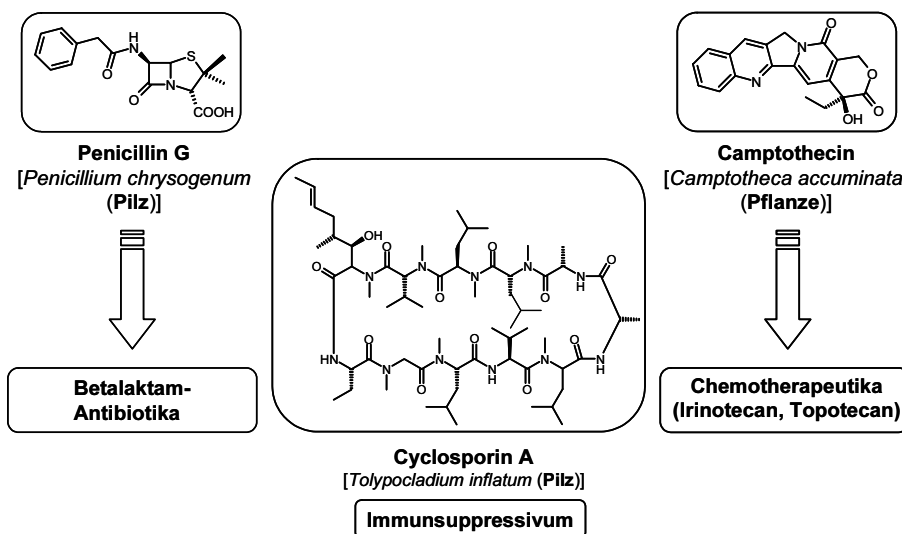


Abb. 3. Beispiele pharmazeutisch wichtiger Naturstoffe.
Fig. 3. Examples of pharmaceutically important natural products.

klinischen Therapeutika entwickelt werden. Sie können zweitens physisch als Ausgangsmaterial zur Herstellung von Substanzen mit mehr oder weniger stark abgewandelter Struktur eingesetzt werden, oder sie können, last but not least, dem Chemiker als so genannte «Leitstrukturen» zur Entwicklung von strukturell möglicherweise stark vom ursprünglichen Naturstoff abweichenden neuen Therapeutika dienen. Und es ist dieser dritte Ansatz, auf den der Ausdruck der «...Quelle der Inspiration für den Chemiker» im Titel dieses Beitrags Bezug nimmt.

Diese Konzepte sollen im Folgenden an zwei willkürlich gewählten Beispielen etwas näher erläutert werden. Bevor dies geschieht, soll aber kurz auf den Begriff des Naturstoffs als solchen zurückgekommen werden, der zwar bereits vielfach verwendet, im Interesse des Textflusses bisher aber nicht exakt erläutert wurde.

Der Begriff des Naturstoffs, so wie er hier verwendet und wie er in der Naturstoffforschung generell verstanden wird, bezieht sich auf so genannte *sekundäre Stoffwechselprodukte*, die folgendermassen definiert werden können (vgl. HÄNSEL und STICHER, 2003):

Sekundäre Stoffwechselprodukte sind Substanzen, die durch Pflanzen, Bakterien, Pilze, marine Makroorganismen, Algen, Actinomyceten, Insekten, Würmer oder Mollusken produziert werden, ohne dass sie eine erkennbare stoffwechselphysiologische Funktion aufweisen oder eine Bedeutung als Energiequelle besitzen würden.

Diese Begriffsdefinition impliziert *nicht*, dass die Herstellung solcher sekundärer Stoffwechselprodukte für den produzierenden Organismus als Ganzes keine Bedeutung hätte, also keinen Überlebensvorteil bieten würde. Tatsächlich ist vielfach das Gegenteil der Fall, aber die Diskussion dieses Themas würde eine separate Abhandlung erfordern. Worum es mit der obigen Begriffsdefinition primär geht, ist es *Sekundärmetabolite* von den Produkten des *Primärmetabolismus* abzugrenzen, der z. B. Aminosäuren als Protein- oder Nukleoside als DNA-Bausteine umfasst, die für Wachstum und Überleben jeder einzelnen Zelle unverzichtbar sind. Obwohl es sich also bei den proteinogenen Aminosäuren und den DNA- und RNA-Bausteinen natürlich ebenfalls um natürlich vorkommende Substanzen handelt, werden diese nicht zu den Naturstoffen im engeren Sinne gerechnet.

Nach diesem Einschub kommen wir zurück zu den verschiedenen Strategien der Nutzbarmachung von Naturstoffen zur Entwicklung neuer Therapeutika und als erstes Beispiel ist in Abb. 4 das *Lovastatin* dargestellt. Es handelt sich dabei um eine Substanz pilzlichen Ursprungs, die 1979 entdeckt wurde und von der man fand, dass sie in der Lage war, einen Schlüsselschritt in der Biosynthese des vielgescholtenen Cholesterins zu hemmen (NEWMAN et al., 2000). Somit sollte sie potentiell in der Lage sein, eine krankhaft (oder vielleicht auch Lebensstil-bedingte) Erhöhung des Cholesterinspiegels im Menschen rückgängig zu machen. Dieses Potential liess sich in der Folge tatsächlich bestätigen und realisieren, und die Substanz wurde 1987 unter dem Handelsnamen Mevinacor® als erster Lipidsenker aus der Klasse der so genannten Statine für eine therapeutische Anwendung am Menschen zugelassen. Rückblickend war das aber nur der Anfang einer rasanten Entwicklung, die durch strukturelle Abwandlung des ursprünglichen Naturstoffs zur Entdeckung weiterer Statine führte, die heute zu den meistverwendeten Medikamenten gehören. Ich hoffe, dass aus der in Abb. 4 gezeigten Struktur des Atorvastatins selbst für den Nichtchemiker deutlich wird, dass diese strukturelle Abwandlung sehr weit führen kann, wobei im Atorvastatin nur noch der obere Teil der Struktur an das Lovastatin als Ausgangspunkt erinnert. Es sei aber noch einmal explizit hervorgehoben, dass ohne die Entdeckung des Naturstoffs Lovastatin kaum jemals eine

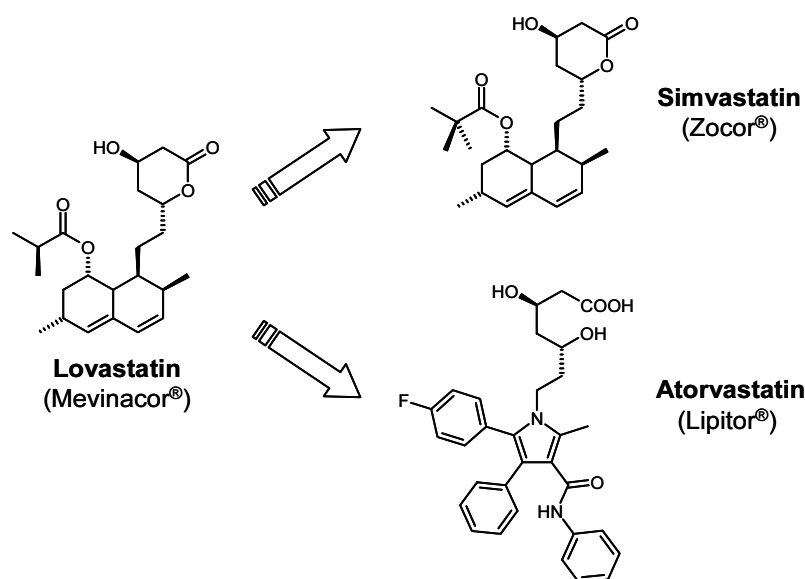


Abb. 4. Der Naturstoff Lovastatin als Arzneimittel und als Ausgangspunkt für die Entwicklung weiterer Lipidsenker aus der Klasse der Statine.

Fig. 4. The natural product lovastatin as a drug and as the starting point for the development of additional lipid lowering agents of the statine class.

Substanz mit der Struktur des Atorvastatins im Rahmen der Suche nach neuen Lipidsenkern gezielt hergestellt und untersucht worden wäre. Im übertragenen Sinne kann also das Lovastatin als «geistiger Vater» sowohl des Simvastatins als auch des Atorvastatins betrachtet werden. In Zeiten des globalen Pharmamarktes und ständiger Diskussionen um Kosten und Margen sei auch noch kurz erwähnt, dass die entsprechenden Unternehmen für die Innovationskraft ihrer Medizinalchemiker und letztlich natürlich für den Einfallsreichtum der Natur reich belohnt werden. So erwirtschaftete Simvastatin im Jahre 2002 einen weltweiten Umsatz von 3,1 Mrd. \$, und Atorvastatin war mit einem Umsatz von 5,2 Mrd. \$ das weltweit umsatzstärkste Medikament.

Das zweite Beispiel zur Illustration der Strategien der Nutzbarmachung von Naturstoffen für klinisch-therapeutische Zwecke bildet das Taxol, das gleichzeitig als Überleitung zu meinem eigenen Arbeitsgebiet dienen wird (Abb. 5).¹ Taxol® ist eines der wichtigsten Chemotherapeutika zur Behandlung von Eierstock-, Brust- und Lungentumoren, wobei der molekulare Wirkungsmechanismus, der dieser Antitumorwirkung zugrunde liegt, vor der Entdeckung des Taxols für keine andere Substanz jemals beobachtet worden war, er war also schlichtweg nicht bekannt. Der Naturstoff Taxol besitzt somit nicht nur eine direkte Bedeutung als Therapeutikum, sondern er steht darüberhinaus auch als Synonym für die Entdeckung und Entwicklung eines neuen molekularen Konzepts zur Hemmung des Wachstums menschlicher Krebszellen, auf das weiter unten noch genauer eingegangen werden soll. Taxol kommt in geringen Mengen in der Rinde der pazifischen Eibe *Taxus brevifolia* vor und wurde aus dieser auch zuerst isoliert (WANI et al., 1971). Die so verfügbaren Mengen sind jedoch äusserst gering; darüberhinaus ist die Gewinnung der Substanz aus der Rinde von *Taxus brevifolia* mit der Vernichtung des Baumes verbun-

den und somit weder ökonomisch noch ökologisch tragbar und verantwortbar. Diese Tatsache begleitete die klinische Entwicklung der Substanz über viele Jahre hinweg wie ein Damoklesschwert und als ein kontinuierliches Dilemma, das erst im Wechselspiel von Phytochemie, Naturstoffchemie und synthetischer organischer Chemie aufgelöst werden konnte.² Die Lösung des Problems besteht nämlich darin, dass klinisch verwendetes Taxol, obwohl *strukturell* ein Naturstoff, heute durch Partialsynthese aus 10-Deacetylbaccatin III, einem anderen Naturstoff, und einem synthetisch hergestellten Betalaktam als Ausgangsmaterialien effizient und in ausreichenden Mengen produziert werden kann (Abb. 5). Der entscheidende Vorteil dieses Verfahrens besteht in der Tatsache, dass sich das 10-Deacetylbaccatin III in genügenden Mengen aus den Nadeln der europäischen Eibe *Taxus baccata* gewinnen lässt, ohne dass dies mit der Vernichtung des Baumes verbunden wäre. Das Verfahren basiert also auf einer kultivierbaren und sich selbst erneuernden natürlichen Ressource.

Es sei an dieser Stelle noch kurz angefügt, dass die Herstellung von Taxol zur Sicherung des klinischen Bedarfs auf rein synthetischem Weg angesichts der strukturellen Komplexität des Moleküls keine gangbare Option darstellt, also für die erforderlichen Mengen ganz einfach zu schwierig und somit auch zu teuer wäre.

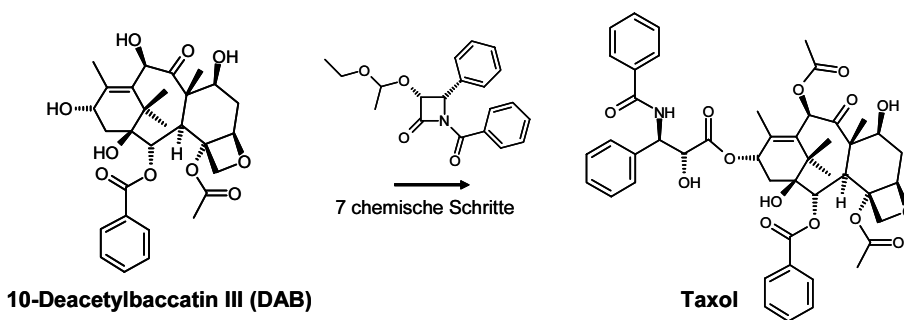


Abb. 5. Partialsynthetische Herstellung von Taxol aus dem Naturstoff 10-Deacetylbaccatin III.

Fig. 5. Preparation of taxol through partial synthesis from the natural product 10-deacetyl baccatin III.

¹ Der Name «Taxol» ist von Bristol-Meyers-Squibb (BMS) als Markenname geschützt. Andererseits wurde der entsprechende Naturstoff bereits lange vor Einführung eines pharmazeutischen Präparats durch BMS geprägt und in der wissenschaftlichen Literatur verwendet. In diesem Beitrag wird die Bezeichnung «Taxol®» deshalb nur dann verwendet, wenn es sich explizit um das von BMS vertriebene Produkt handelt, während der Naturstoff selbst einfach als «Taxol» bezeichnet wird.

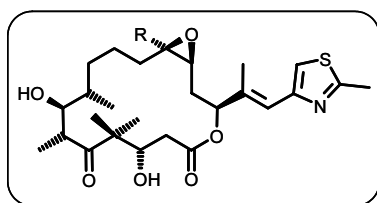
² Eine kurze Zusammenfassung zur Geschichte der Entwicklung von Taxol® findet sich auf der folgenden Internetseite von Bristol-Meyers-Squibb: www.taxol.com.

2.3 Epothilone als Leitstrukturen in der Krebsmittelforschung

2.3.1 Biologie und Pharmakologie natürlich vorkommender Epothilone

Wie bereits angedeutet bildet das Beispiel des Taxols den Übergang zur Diskussion einiger Aspekte meiner eigenen Forschungstätigkeit und das führt zu einer ganz anderen Familie von Naturstoffen, nämlich den so genannten Epothilonen.

Was sind Epothilone? Epothilone sind 16-gliedrige zytotoxische (zelltoxische) makrozyklische Ester (Abb. 6), die von verschiedenen Typen von Bodenbakterien produziert werden und die erstmals zu Beginn der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts isoliert wurden (HÖFLE et al., 1993; GERTH et al., 1996). Die beiden Hauptvertreter dieser neuen Naturstofffamilie, das Epothilon A und B (Abb. 6), entpuppten sich sehr schnell als potente Hemmer des Wachstums menschlicher Krebszellen *in vitro*, was aber angesichts der relativ grossen Zahl zytotoxischer Naturstoffe zunächst kein weitergehendes allgemeines Interesse weckte. Das änderte sich schlagartig, als 1995 entdeckt wurde, dass der Hemmung des Wachstums menschlicher Krebszellen durch Epothilone der gleiche molekulare Mechanismus zu Grunde liegt wie im Falle des Taxols (BOLLAG et al., 1995). Das führte praktisch über Nacht zu einem exponentiellen Anstieg des Interesses an diesen Naturstoffen sowohl in akademischen Forschungslabors wie auch in der forschenden pharmazeutischen Industrie. Dieses breite Interesse lässt sich einerseits durch die hohe klinische Relevanz des Taxols, andererseits aber auch (im Hinblick auf die industrielle Forschung) durch dessen profunden ökonomischen Erfolg erklären. (Taxol® ist ein so genannter «Blockbuster», also ein Arzneimittel, dessen jährlicher Umsatz 1 Mrd. US \$ übersteigt). Diese Aspekte wurden noch durch die Tatsache unterlegt, dass die Epothilone seit der Entdeckung des Wirkungsmechanismus des Taxols im Jahre 1979 erst die zweite Substanzklasse überhaupt darstellten, die einen solchen Wirkungsmechanismus aufwies.



R = H: *Epothilon A*
R = CH₃: *Epothilon B*

Abb. 6. Molekulare Struktur der Epothilone A und B.
 Fig. 6. Molecular structure of epothilones A and B.

Worin besteht nun dieser Wirkungsmechanismus? Den molekularen Angriffspunkt des Taxols und der Epothilone in der Zelle bilden die so genannten *Mikrotubuli*, die einen der wesentlichen Bestandteile des Zellskeletts, also des strukturellen Rückgrats der Zelle, ausmachen. Auf der molekularen Ebene handelt es sich dabei um röhrenförmige Strukturen mit einem inneren Durchmesser von ca. 25 nm, die aus den beiden Proteinen α - und β -Tubulin als regelmässig angeordneten Untereinheiten aufgebaut sind (Abb. 7). Diese röhrenförmigen Gebilde sind jedoch keineswegs statischer Natur, sondern unterliegen einem kontinuierlichen Prozess der Verlängerung und Verkürzung, ein Phänomen, das allgemein als «dynamische Instabilität» bezeichnet wird (WILSON und JORDAN, 1995). Es sind nun genau diese dynamischen Eigenschaften des Mikrotubuli-Systems, die durch Taxol oder Epothilone unterdrückt werden. Mit anderen Worten führen Taxol oder die Epothilone zu einem Einfrieren der Beweglichkeit der Mikrotubuli, was im Laufe des Zellteilungsprozesses gravierende Konsequenzen nach sich zieht. Die Mikrotubulidynamik, die sich während der Zellteilung noch verstärkt, bildet nämlich die grundlegende Voraussetzung sowohl für die Ausbildung der mitotischen Spindel wie auch für die Bewegung der Tochterchromatide zu den Spindelpolen. Jeder Defekt in der Mikrotubulidynamik führt daher zur Ausbildung einer nicht funktionsfähigen Spindel und oftmals kann man im Falle Epothilon- oder Taxol-behandelter Zellen nicht einmal mehr von einer eigentlichen Spindel

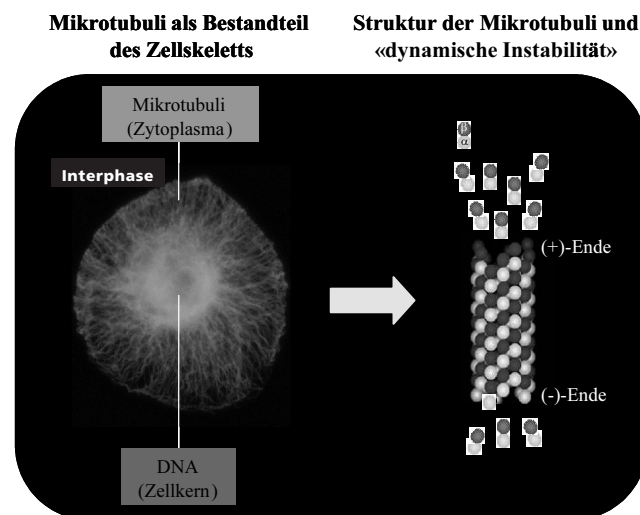


Abb. 7. Das Mikrotubuliskelett einer ruhenden Zelle (links) und die Struktur der Mikrotubuli (rechts).

Fig. 7. Microtubule skeleton of a resting cell (left) and microtubule structure (right).

sprechen. Das wiederum hat zur Folge, dass die Zelle die Mitose nicht regulär durchlaufen kann, was dann schliesslich die Einleitung des programmierten Zelltods, der sogenannten Apoptose, auslöst (Abb. 8).

ten Konzentrationen hemmen lässt. Epothilon B ist darüber hinaus in der Lage, in experimentellen Krebsmodellen in Mäusen (also *in vivo*) das Tumorwachstum zu stoppen oder sehr stark zu verlangsamen. In einigen Fällen wurde sogar

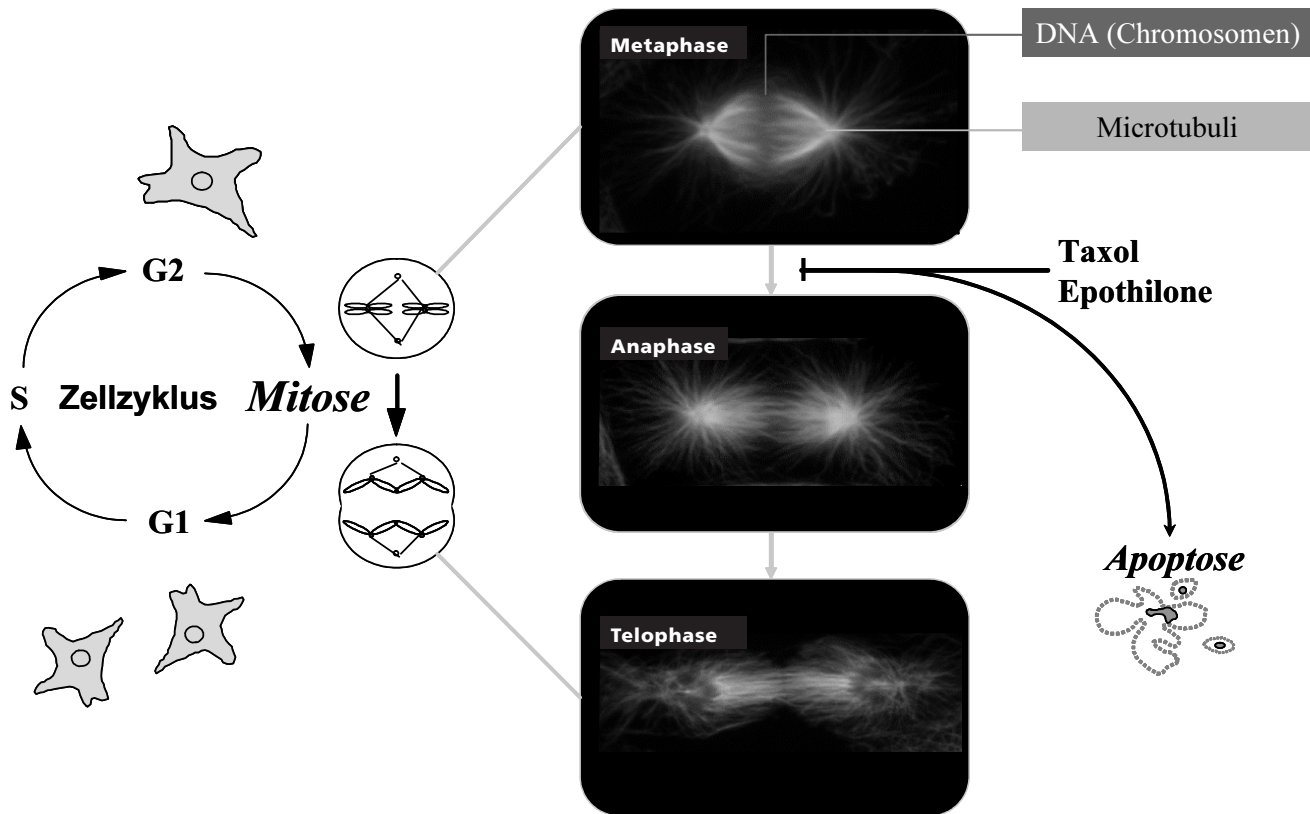


Abb. 8. Hemmung des Zellzyklus in der Mitose-Phase durch Taxol und Epothilone.

Fig. 8. Cell cycle inhibition in mitosis by taxol and epothilones.

Als Folge dieser Interferenz mit der Funktionalität der Mikrotubuli hemmen die Epothilone das Wachstum menschlicher Krebszellen im nanomolaren (10^{-9} -molaren) Konzentrationsbereich. (Eine Konzentration von 1 nM entspricht für Epothilon A/B ca. 0,5 Mikrogramm/Liter!). Dabei hemmt Epothilon A das Wachstum menschlicher Krebszellen in etwa gleich stark wie Taxol, während Epothilon B eine je nach Zelllinie 5–30-mal höhere Potenz als Taxol aufweist. Der entscheidende Unterschied zwischen Taxol und Epothilonen besteht jedoch nicht primär in der grösseren intrinsischen Potenz des Epothilons B, sondern in der Tatsache, dass Epothilone auch in der Lage sind, das Wachstum Taxol-resistenter Krebszellen zu hemmen, also von Zellen, die gegen Taxol weitgehend unempfindlich sind und deren Wachstum sich durch Taxol nur bei stark erhöh-

ein Schrumpfen oder ein vollständiges Verschwinden existierender Tumore beobachtet. Wie im Falle anderer Chemotherapeutika ist zwar auch die Behandlung von Mäusen mit Epothilon B mit durchaus signifikanten Nebenwirkungen verbunden, jedoch konnten in einer Vielzahl von Modellen die genannten Antitumoreffekte bei tolerierten Dosen erreicht werden (ALTMANN et al., 2000). Ob diese Resultate auch auf den Menschen übertragbar sind, kann jedoch nur durch kontrollierte klinische Studien abgeklärt werden. Novartis hat deshalb im Juni 1999 klinische Studien mit Epothilon B eingeleitet und nachdem die Substanz in Phase-I-Studien deutliche Hinweise auf Antitumoraktivität im Menschen gezeigt hat, durchläuft sie gegenwärtig Phase-II-Studien, also eine spezifische Wirksamkeitsprüfung in einer Reihe von Tumortypen (ROTHERMEL et al., 2003).

2.3.2 Epothilon-Analoga

Die obige Anmerkung zum Stand der klinischen Entwicklung des Epothilons B bildet den Schlusspunkt der Besprechung der natürlichen Epothilone und deren biologischer und pharmakologischer Profilierung. Der verbleibende Teil dieses Beitrags soll einen kurzen Eindruck unserer chemischen Arbeiten am System «Epothilon» (dem Kernstück unserer Forschung) und den damit verbundenen Möglichkeiten vermitteln. Damit vollziehen wir wiederum den bereits oben besprochenen Schritt vom eigentlichen Naturstoff zu strukturell abgewandelten Analoga und Derivaten.

Die Ziele unserer synthetisch-chemischen Arbeiten bestanden und bestehen zunächst einmal darin, durch gezielte Modifikationen der Epothilon-Struktur Informationen über den Zusammenhang zwischen strukturellen Eigenschaften und biologischer Aktivität zu gewinnen, also eine so genannte Struktur-Aktivitäts-Beziehung («structure-activity-relationship» oder SAR) zu etablieren. Solche Arbeiten bilden die Grundlage für das Design (oder einfach die Entdeckung) von Analoga mit einem gegenüber der Leitstruktur verbesserten Gesamtprofil, was letztlich das Ziel jeder medizinalchemischen Forschung darstellt (unabhängig davon ob es sich bei dieser Leitstruktur um einen Naturstoff oder eine synthetische Verbindung handelt). In diesem Kontext ist es auch wichtig, sich vor Augen zu führen, dass es sich bei Epothilonen zwar um komplexe Naturstoffe handelt, dass diese aber im Vergleich zu Taxol doch um einiges besser synthetisch zugänglich sind. Das erlaubt es einerseits bzw. hat es erlaubt, und wir waren hier bei weitem nicht die einzig aktive Gruppe, innerhalb eines relativ kurzen Zeitraums eine breit abgestützte SAR zu etablieren (WARTMANN und ALTMANN, 2002). Andererseits bewegen sich synthetische Analoga von Epothilonen im Hinblick auf ihre technische Machbarkeit im Gegensatz zu Taxol durchaus in einem Bereich, der auch die Herstellung genügend grosser Substanzmengen für klinische Anwendungen zulassen sollte.

Abb. 9 illustriert exemplarisch zwei der Ansätze, die wir bei unseren Arbeiten zur Epothilon-SAR verfolgt haben. Beide Ansätze haben die strukturelle Abwandlung der Epothilon-Seitenkette zum Inhalt, wobei es im Zuge der ersten Strategie (A) darum ging, den Thiazolring entweder zu modifizieren oder durch eine ganze Reihe anderer Heterozyklen ganz zu ersetzen. Dies in der Absicht auf diese Weise die physikalisch-chemischen und damit ggf. auch die pharmakokinetischen Eigenschaften der Naturstoffe zu modifizieren. Die Herstellung dieser Verbindungen erfolgte ausgehend von Epothilon B durch

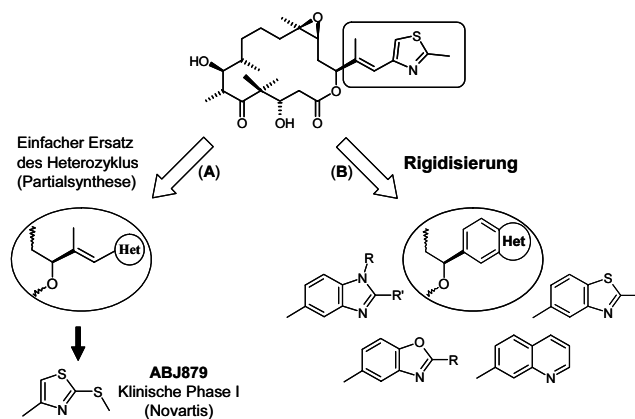


Abb. 9. Epothilon-Analoga mit modifizierter Seitenkette.

Fig. 9. Epothilone analogs with modified side chains.

Partialsynthese und diese Anstrengungen haben zu einem neuen klinischen Entwicklungskandidaten geführt, nämlich dem hier gezeigten 20-Desmethyl-20-Methylsulfanyl-Epothilon B (ABJ879), das sich gegenwärtig in klinischen Studien der Phase I befindet (WARTMANN et al., 2004). Die zweite Strategie (B) beinhaltet zusätzlich eine Versteifung der Seitenkette in der Form eines benzo-anellierten Heterozyklus. Analoga des letzteren Typs erwiesen sich in verschiedenen Fällen *in vitro* als potentere Hemmer des Wachstums menschlicher Krebszellen als die Mutterverbindung selbst und die weitere Profilierung dieser Substanzen könnte sich durchaus als lohnenswert erweisen.

2.3.3 Schlussfolgerung

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass Epothilone vielversprechende Leitstrukturen bei der Suche nach neuen Krebsmedikamenten darstellen, die seit der klinischen Einführung des Taxols erstmals die Möglichkeit der Entwicklung einer wirklich neuen Generation von Hemmern der Depolymerisation von Mikrotubuli bieten. Bisher wurden 6 klinische Entwicklungskandidaten vom Epothilon-Strukturtyp identifiziert (Bristol-Myers-Squibb (2, Phase I/II/III), Novartis (2, Phase I/II), Schering AG (1, Phase II), Sloan-Kettering Cancer Center/Kosan (1, Phase I/II)), von denen die Mehrzahl durch Partialsynthese ausgehend von Epothilon B hergestellt wird. Klinische Studien mit weiteren Analoga sind in nächster Zukunft sehr wahrscheinlich. Die Tatsache, dass bereits sechs Verbindungen vom Epothilon-Typ in klinischen Studien am Menschen erprobt werden, belegt das mögliche Potential dieser Naturstoffklasse in der Krebstherapie in sehr eindrucksvoller Weise. Bei allem Optimismus muss aber auch betont werden, dass bis jetzt immer noch von einem *Potential* gespro-

chen werden muss, das erst dann realisiert ist, wenn sich eine solche Verbindung in der klinischen Praxis tatsächlich als nützlich erweist.

3 DANKSAGUNG

Der Autor dankt allen Kollegen, die während seiner Tätigkeit bei Novartis mit ihm gemeinsam am damaligen Epothilon-Programm beteiligt waren und allen anderen, die ihn bei seiner Tätigkeit unterstützt haben. Besonders hervorzuheben sind dabei Drs. Andreas Flörsheimer, Terence O'Reilly und Markus Wartmann, sowie Herr Kurt Hauenstein.

4 LITERATUR

ALTMANN, K.-H., WARTMANN, M., O'REILLY, T. 2000. Epothilones and related structures – A new class of microtubule inhibitors with potent *in vivo* antitumor activity. *Biochimica et Biophysica Acta* 1470, M79–M91.

BOLLAG, D. M., MCQUENEY, P. A., ZHU, J., HENSENS, O., KOUPAL, L., LIESCH, J., GOETZ, M., LAZARIDES, E., WOODS, C. M. 1995. Epothilones, a new class of microtubule-stabilizing agents with a Taxol-like mechanism of action. *Cancer Research* 55, 2325–2333.

BOREL, J. F., KIS, Z. L., BEVERIDGE, T. 1995. The history of discovery and development of cyclosporine (Sandimmune®). In: «The search for anti-inflammatory drugs», V. J. MELUZZI, J. ADAMS, pp. 27–63. Birkhäuser, Boston.

BOREL, J. F., KIS, Z. L. 1991. The discovery and development of cyclosporine (Sandimmune®). *Transplantation Proceedings* 23, 1867–1874.

DINGERMANN, T., LOEW, D. 2003. *Phytopharmakologie*. Wissenschaftliche Verlagsgesellschaft mbH, Stuttgart, 367 pp.

GERTH, K., BEDORF, N., HÖFLE, G., IRSCHIK, H., REICHENBACH, H. 1996. Epothilons A and B – antifungal and cytotoxic compounds from *Sorangium cellulosum* (myxobacteria) – Production, physico-chemical and biological properties. *Journal of Antibiotics* 49, 560–564.

HÄNSEL, R., STICHER, O. 2003. *Pharmakognosie – Phytopharmazie*, 7. Aufl., Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1214 pp.

HEUSLER, K., PLETSCHER, A. 2001. The controversial early history of cyclosporin. *Swiss medical weekly* 131, 299–302.

HÖFLE, G., BEDORF, N., GERTH, K., REICHENBACH, H. 1993. Deutsche Patentoffenbarung, DE 4138042.

IHDE, A. J. 1984. *The Development of Modern Chemistry*. Dover Publications, Inc., New York, 851 pp.

NEWMAN, D. J., CRAGG, G. M., SNADER, K. M. 2003. Natural products as sources of new drugs over the period 1981–2002. *Journal of natural products* 66, 1022–1037.

NEWMAN, D. J., CRAGG, G. M., SNADER, K. M. 2000. The influence of natural products upon drug discovery. *Natural products reports* 17, 215–234.

PIZZOLATO, J. F., SALTZ, L. B. 2003. The camptothecins. *Lancet* 361, 2235–2242.

ROTHERMEL, J., WARTMANN, M., CHEN, T., HOHNEKER, T. 2003. EPO906 (epothilone B): a promising novel microtubule stabilizer. *Seminars in oncology* 30 (Suppl. 6), 51–55.

WANI, M. C., TAYLOR, H. L., WALL, M. E., COGGON, P., MCPHAIL, A. T. 1971. Plant antitumor agents. VI. Isolation and structure of taxol, a novel antileukemic and antitumor agent from *Taxus brevifolia*. *Journal of the american chemical society* 93, 2325–2327.

WARTMANN, M., LORETAN, J., REUTER, R., HATTENBERGER, M., MÜLLER, M., VAXELAIRE, J., MAIRA, S.-M., FLÖRSHEIMER, A., O'REILLY, T., NICOLAOU, K. C., ALTMANN, K.-H. 2004. Preclinical pharmacological profile of ABJ879, a novel epothilone B analog with potent and protracted anti-tumor activity. *Proceedings of the American Association for Cancer Research* 45, Abstract #5440.

WARTMANN, M., ALTMANN, K.-H. 2002. The biology and medicinal chemistry of Epothilones. *Current medicinal chemistry. Anti-cancer agents* 2, 123–148.

WILSON, S., JORDAN, M. A. 1995. Microtubule dynamics: taking aim at a moving target. *Chemistry & biology* 2, 569–573.

Prof. Dr. Karl-Heinz Altmann, ETH Zürich, Department of Chemistry and Applied Biosciences, Institute of Pharmaceutical Sciences, ETH Hönggerberg, HCI H 405, Wolfgang-Pauli-Str. 10, CH-8093 Zürich, Switzerland, Tel. 044 633 73 90, Fax 044 633 13 60