

Viele Arzneistoffe basieren auf Naturstoffen. Aspirin (oben) ist ein chemischer Abkömmling einer Verbindung, die aus der Weidenrinde (rechts) gewonnen wird. Seit langem weiß man, dass Weidenrindenextrakte medizinische Eigenschaften haben. Die wirksame Verbindung wurde isoliert, verändert und ab 1899 für die Verbraucher bereitgestellt (rechts außen). (Rechts außen: Mit freundlicher Genehmigung der Bayer AG. Rechts innen: Image Ideas/Picture Quest.)



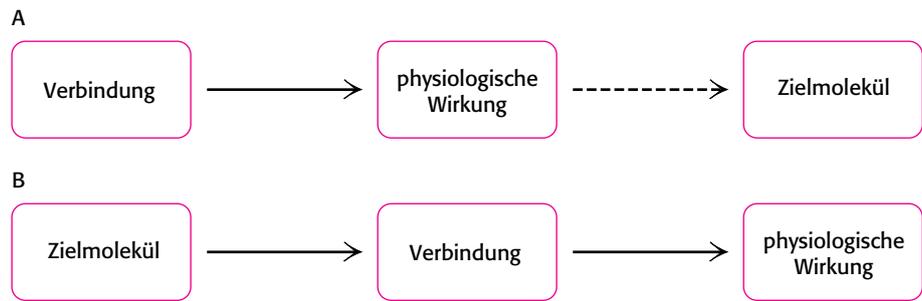
Die Entwicklung von Arzneistoffen stellt eine der wichtigsten Schnittstellen zwischen der Biochemie und der Medizin dar. In den meisten Fällen entfalten die Arzneistoffe ihre Wirkung, indem sie an spezifische Rezeptoren oder Enzyme binden und diese inhibieren oder deren Aktivität auf eine andere Weise verändern. Deshalb ist das Wissen über diese Moleküle und die Stoffwechselwege, in die sie eingreifen, von entscheidender Bedeutung für die Arzneistoffentwicklung. Ein effektiver Arzneistoff ist jedoch weit mehr als ein stark wirkender Modulator. Arzneistoffe müssen sich den Patienten einfach verabreichen lassen, vorzugsweise als kleine, oral gegebene Tabletten, und sie müssen im Körper lange genug überdauern, damit sie ihr Ziel erreichen können. Um unerwünschte physiologische Wirkungen zu verhindern, dürfen die Arzneistoffe zudem nicht die Eigenschaften von anderen Biomolekülen verändern, die nicht ihre Zielmoleküle sind. Diese Anforderungen schränken die Anzahl der Verbindungen, die klinisch von Nutzen sein können, enorm ein.

Arzneistoffe hat man mithilfe von zwei grundsätzlich entgegengesetzten Herangehensweisen entdeckt (Abb. 36.1). Der erste Ansatz identifiziert eine Substanz, die ein gewünschtes physiologisches Resultat zeigt, wenn sie dem Menschen, einem geeigneten Tier oder Zellen verabreicht wird. Solche Substanzen lassen sich auf verschiedene Weise auffinden: durch einen glücklichen Zufall, durch Auftrennung von pflanzlichen Inhaltsstoffen oder eines anderen Materials mit medizinischen Eigenschaften oder durch ein Screening natürlicher Produkte oder von Verbindungen anderer „Bibliotheken“. Bei diesem Ansatz kennt man die biologische Wirkung, bevor das molekulare Ziel identifiziert ist. Die Wirkungsweise der Substanz wird erst später in vielen zusätzlichen Arbeitsschritten ermittelt. Der zweite Ansatz geht von einem bekannten Zielmolekül aus. Es werden Verbindungen gesucht, entweder durch Screening oder indem man Moleküle mit den gewünschten Eigenschaften konzipiert, die an das Zielmolekül binden und dessen Eigenschaften verän-

Kapitelfahrplan

- 36.1 Die Entwicklung von Arzneistoffen ist eine große Herausforderung
- 36.2 Arzneistoffkandidaten können durch einen glücklichen Zufall oder ein Screening gefunden oder gezielt konzipiert werden
- 36.3 Genomanalysen sind für die Entdeckung von Arzneistoffen vielversprechend
- 36.4 Die Entwicklung von Arzneistoffen erfolgt in mehreren Stufen

■ **36.1 Zwei Wege für die Entdeckung von Arzneistoffen.** A) Man entdeckt, dass eine Verbindung eine wünschenswerte physiologische Wirkung zeigt. In einem gesonderten Schritt kann das Zielmolekül identifiziert werden. B) Zunächst wird ein Zielmolekül ausgewählt. Dann identifiziert man Arzneistoffkandidaten, die an das Zielmolekül binden, und untersucht sie auf ihre physiologische Wirkung.



Pharmakologie

Die Wissenschaft, die sich mit der Entdeckung, Chemie, Zusammensetzung, Identifizierung, den biologischen und physiologischen Wirkungen, Anwendungen und der Herstellung von Arzneistoffen befasst.

dern. Sobald solche Verbindungen vorliegen, können Wissenschaftler deren Wirkung an geeigneten Zellen oder Organismen erforschen. Man kann bei diesem Vorgehen auf viele unerwartete Ergebnisse stoßen, welche die Komplexität biologischer Systeme widerspiegeln.

In diesem Kapitel beleuchten wir die Pharmakologie. Wir untersuchen eine Reihe von Fallbeispielen, welche die Entwicklung von Arzneistoffen veranschaulichen – einschließlich vieler Konzepte, Methoden und Herausforderungen. Anschließend erfahren Sie, wie die Konzepte und Werkzeuge der Genomik die Ansätze für die Entwicklung von Arzneistoffen beeinflussen. Den Abschluss des Kapitels bildet ein zusammenfassender Überblick über die Phasen bei der Entwicklung von Arzneistoffen.

36.1 Die Entwicklung von Arzneistoffen ist eine große Herausforderung

Viele Verbindungen haben eine deutliche Wirkung, wenn sie vom Körper aufgenommen werden, aber nur ein kleiner Teil von ihnen sind nützliche Arzneistoffe. Eine fremde Verbindung, die sich im Verlauf der Evolution an ihre Aufgabe in der Zelle angepasst hat, muss eine Reihe spezieller Eigenschaften besitzen, um wirksam zu sein, ohne ernsthafte Schäden zu verursachen. Als Nächstes betrachten wir einige Schwierigkeiten, mit denen die Arzneistoffentwickler konfrontiert sind.

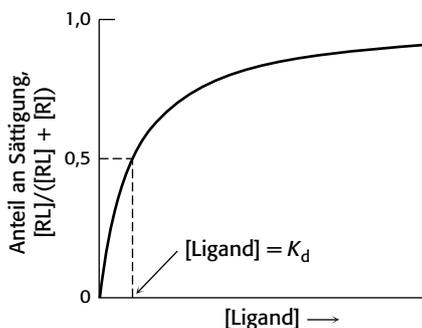
Arzneistoffkandidaten müssen leistungsfähige Modulatoren ihrer Zielstrukturen sein

Viele Arzneistoffe binden an spezifische Proteine, in der Regel sind dies Rezeptoren oder Enzyme im Körper. Um eine Wirkung zu zeigen, muss der Arzneistoff in ausreichender Menge an seine Zielproteine binden, wenn er in angemessener Dosis eingenommen wird. Ein Faktor, mit dem sich die Wirksamkeit eines Arzneistoffes bestimmen lässt, ist die Bindungsstärke zwischen dem Arzneistoff und seinem Zielmolekül.

Ein Molekül, das an ein gewisses Zielmolekül bindet, wird häufig als ein **Ligand** bezeichnet. ■ Abbildung 36.2 zeigt eine Ligandenbindungskurve. Mit steigender Ligandenkonzentration besetzen immer mehr Ligandenmoleküle die Bindungsstellen des Zielmoleküls, bis alle verfügbaren Bindungsstellen besetzt sind. Die Neigung eines Liganden, an sein Zielmolekül zu binden, misst man mit der **Dissoziationskonstante** K_d . Diese ist folgendermaßen definiert:

$$K_d = \frac{[R][L]}{[RL]}$$

Dabei ist $[R]$ die Konzentration des ungebundenen Rezeptors, $[L]$ die Konzentration des Liganden und $[RL]$ die Konzentration des Rezeptor-Liganden-Komplexes. Die Dissoziationskonstante ist ein Maß für die Stärke der Wechselwirkung zwischen dem Arzneistoffkandidaten und dem Zielmolekül: je niedriger der Wert, umso stärker die Wechsel-



■ **36.2 Ligandenbindung.** Die Mengenbestimmung eines Rezeptors R durch einen Liganden L hat die Bildung eines Komplexes RL zur Folge. Bei unkomplizierten Fällen verläuft die Bindungsreaktion nach einer einfachen Sättigungskurve. Wenn die Ligandenkonzentration gleich der Dissoziationskonstante K_d für den RL -Komplex ist, dann hat die Hälfte der Rezeptoren an den Liganden gebunden.

wirkung. Solange die Konzentration der Bindungsstellen substanziell geringer ist als die Dissoziationskonstante, ist die Konzentration an freien Liganden, bei der die Hälfte der Bindungsstellen besetzt ist, gleich der Dissoziationskonstanten.

In vielen Fällen kommen biologische Tests (anstelle eines direkten Enzym- oder Bindungstests) zum Einsatz, um die Wirksamkeit des Arzneistoffkandidaten zu untersuchen. So kann beispielsweise der Anteil an getöteten Bakterien die Fähigkeit eines potenziellen Antibiotikums anzeigen. In solchen Fällen werden Werte wie der EC_{50} verwendet. Unter dem EC_{50} (EC für *effective concentration*) versteht man die Konzentration des Arzneistoffkandidaten, mit der man 50 Prozent der maximalen biologischen Reaktion hervorrufen kann (Abb. 36.3). Entsprechend ist EC_{90} die Konzentration, die zum Erreichen von 90 Prozent der maximalen Reaktion erforderlich ist. Im Fall des erwähnten Antibiotikums wäre EC_{90} die notwendige Konzentration, um 90 Prozent der Bakterien, die dem Arzneistoff ausgesetzt sind, zu töten. Für Arzneistoffkandidaten mit inhibitorischer Wirkung werden häufig die entsprechenden Bezeichnungen IC_{50} und IC_{90} verwendet, um die Inhibitorkonzentration zu beschreiben, die erforderlich ist, um die Reaktion auf 50 bzw. 90 Prozent des Wertes, der in Abwesenheit des Inhibitors erreicht wird, zu verringern.

Werte wie IC_{50} und IC_{90} sind ein Maß für die Fähigkeit eines Arzneistoffkandidaten, die Aktivität einer gewünschten biologischen Zielstruktur zu modulieren. Um unerwünschte Wirkungen, sogenannte **Nebenwirkungen**, zu verhindern, sollte ein idealer Arzneistoffkandidat außer dem Zielmolekül keine anderen biologischen Moleküle in signifikantem Ausmaß binden. Die Entwicklung eines solchen Arzneistoffes kann eine große Herausforderung sein, insbesondere, wenn das Zielmolekül des Arzneistoffes ein Mitglied einer großen Familie von evolutionär verwandten Proteinen ist. Der Grad der Spezifität lässt sich durch das Verhältnis der K_d -Werte für die Bindung eines Arzneistoffkandidaten an irgendein anderes Molekül zum K_d -Wert für die Bindung des Arzneistoffkandidaten an das gewünschte Zielmolekül beschreiben.

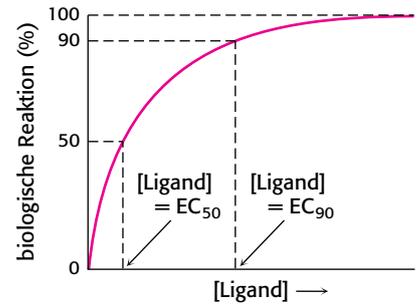
Unter physiologischen Bedingungen existieren viele erschwerende Faktoren. Viele Zielmoleküle von Arzneistoffen binden auch Liganden, die normalerweise im Gewebe vorkommen; häufig konkurrieren die Arzneistoffkandidaten mit diesen Liganden um die Bindungsstellen an der Zielstruktur. Wir sind dieser Situation begegnet, als wir in Kapitel 8 kompetitive Inhibitoren betrachtet haben. Angenommen, die Zielstruktur des Arzneistoffes sei ein Enzym und der Arzneistoffkandidat ein kompetitiver Inhibitor, dann hängt die für die Inhibition des Enzyms notwendige Arzneistoffkonzentration von der physiologischen Konzentration des normalen Substrats dieses Enzyms ab (Abb. 36.4). Die Biochemiker Yung-Chi Cheng und William Prusoff beschrieben diese Relation zwischen dem IC_{50} eines Enzyminhibitors und seiner **Inhibitionskonstanten** K_i (analog der Dissoziationskonstanten K_d eines Liganden):

$$IC_{50} = K_i (1 + [S]/K_M)$$

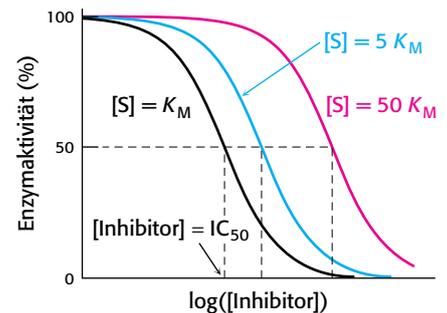
Diese unter dem Namen **Cheng-Prusoff-Gleichung** bekannte Beziehung zeigt, dass der IC_{50} eines kompetitiven Inhibitors von der Konzentration und von der Michaelis-Konstanten (K_M) des Substrats S abhängt. Je höher die Konzentration des natürlichen Substrats ist, umso höher ist auch die benötigte Konzentration des Arzneistoffes, um das Enzym bis zu einem bestimmten Ausmaß zu inhibieren.

Arzneistoffe müssen geeignet sein, um ihre Zielmoleküle zu erreichen

Bis jetzt galt unsere Aufmerksamkeit der Fähigkeit von Molekülen, mit ihren spezifischen Zielmolekülen in Wechselwirkung zu treten. Ein wirksamer Arzneistoff muss jedoch noch andere Eigenschaften besitzen. Er muss sich einfach verabreichen lassen und sein Ziel in ausreichender Konzentration erreichen können, um wirksam zu sein. Nachdem ein Arzneistoff in den Körper gelangt ist, trifft er auf dem Weg zu seinem Zielmolekül auf vielfältige Hindernisse, die mit seiner Resorption, Verteilung, Stoffwechsel und Ausscheidung zusammenhängen. Diese Vorgänge stehen in Wechselwirkung, wie in Abbildung 36.5

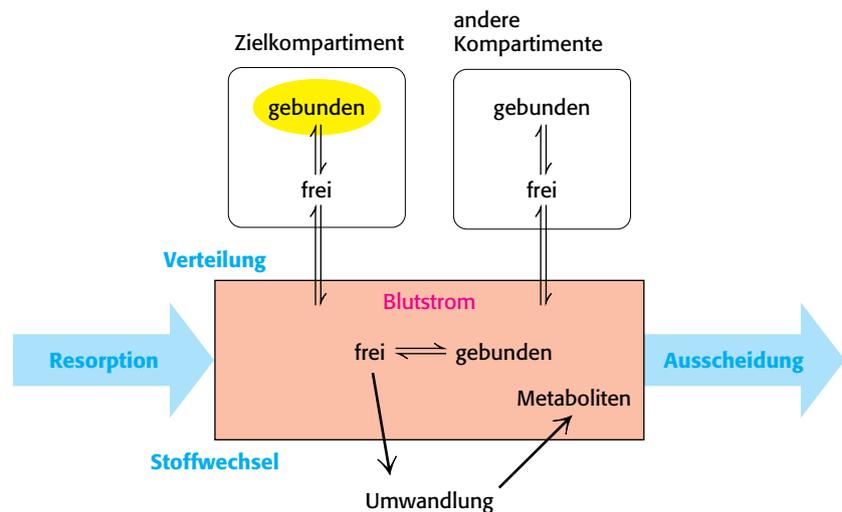


36.3 Wirksame Konzentrationen. Die für eine biologische Reaktion erforderliche Ligandenkonzentration lässt sich als EC_{50} messen; dies ist die notwendige Konzentration, um 50 Prozent der maximal möglichen Reaktion zu erhalten. EC_{90} ist die erforderliche Konzentration, um 90 Prozent der maximalen Reaktion zu erreichen.



36.4 Inhibitoren konkurrieren mit Substraten um die aktiven Zentren von Enzymen. Der gemessene IC_{50} eines kompetitiven Inhibitors für sein Zielenzym hängt von der Konzentration des vorhandenen Substrats ab.

36.5 Resorption, Verteilung, Stoffwechsel und Ausscheidung (ADME). Die Konzentration einer Verbindung an ihrem Zielort (gelb) wird beeinflusst vom Ausmaß und der Geschwindigkeit von Resorption, Verteilung, Stoffwechsel und Ausscheidung.



im Überblick dargestellt ist. Zusammengefasst bezeichnet man die Art und Weise, wie ein Arzneistoff resorbiert, verteilt, metabolisiert und ausgeschieden wird, oft als **ADME**-Eigenschaften (*absorption, distribution, metabolism, excretion*).

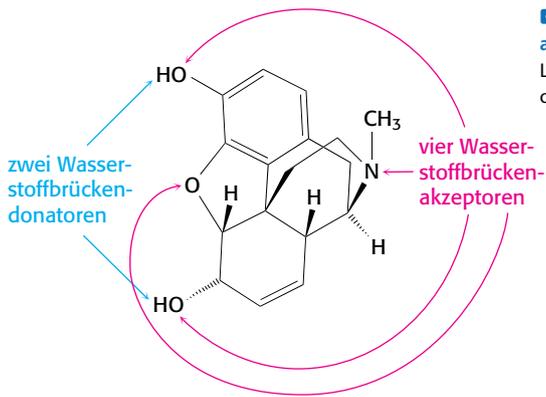
Verabreichung und Resorption. Idealerweise kann man ein Medikament in Form einer kleinen Tablette oral einnehmen. Eine oral verabreichte, wirksame Verbindung muss das saure Milieu im Magen überstehen und dann vom Darmepithel resorbiert werden. Damit muss die Verbindung in der Lage sein, Zellmembranen in nennenswerter Menge zu durchqueren. Größere Moleküle wie Proteine können nicht oral verabreicht werden, weil sie häufig das saure Magenmilieu nicht überdauern, und falls doch, sind sie nicht leicht zu resorbieren. Auch viele kleine Moleküle werden nicht gut resorbiert: Sie können zum Beispiel zu polar sein, um einfach die Zellmembranen zu passieren. Die Resorptionsfähigkeit wird oft als **orale Bioverfügbarkeit** quantitativ angegeben. Dieses Maß ist definiert als das Verhältnis der höchsten Konzentration einer oral gegebenen Verbindung zur höchsten Konzentration der gleichen, direkt ins Blut injizierten Dosis. Die Bioverfügbarkeit kann zwischen verschiedenen Arten beträchtlich variieren; deshalb ist es unter Umständen schwierig, Ergebnisse aus Tierstudien auf den Menschen zu übertragen. Trotz dieser Abweichungen hat man einige Verallgemeinerungen verfasst. Eine nützliche Aufstellung sind die **Lipinski-Regeln**.

Lipinskis Regeln besagen, dass eine schwache Resorption zu erwarten ist, wenn:

1. die Molekülmasse über 500 liegt,
2. die Anzahl der Wasserstoffbrückendonatoren größer als 5 ist,
3. die Anzahl der Wasserstoffbrückenakzeptoren größer als 10 ist,
4. der Verteilungskoeffizient (gemessen als $\log[P]$) größer als 5 ist.

Mit dem Verteilungskoeffizienten lässt sich ermitteln, wie stark sich ein Molekül in Membranen löst; eine Eigenschaft, die mit seiner Fähigkeit, sich in organischen Lösungsmitteln zu lösen, korreliert. Man bestimmt den Koeffizienten, indem man eine Substanz ihr Konzentrationsgleichgewicht zwischen Wasser und einer organischen Phase, *n*-Octanol, herstellen lässt. Der Wert $\log(P)$ ist definiert als \log_{10} des Quotienten der Stoffkonzentration in *n*-Octanol zur Stoffkonzentration in Wasser. Ist beispielsweise die Konzentration der Verbindung in der *n*-Octanol-Phase 100-fach höher als in Wasser, dann ist der $\log(P)$ 2. Auch bei einer idealen Verteilungsfähigkeit eines Arzneistoffes in organischen Lösungsmitteln, die impliziert, dass diese Verbindung Membranen durchdringen kann, deutet ein zu hoher $\log(P)$ -Wert darauf hin, dass dieses Molekül in wässriger Umgebung schlecht löslich sein könnte.

Morphin beispielsweise erfüllt alle Lipinski-Regeln und hat eine mäßige Bioverfügbarkeit (Abb. 36.6). Auch wenn ein Arzneistoff eine oder mehrere dieser Regeln nicht einhält, kann er immer noch eine befriedigende Bioverfügbarkeit besitzen. Nichtsdestotrotz dienen diese Regeln als Richtlinien bei der Bewertung neuer Arzneistoffkandidaten.

Morphin (C₁₇H₁₉O₅N)

Molekülmasse = 285
log(P) = 1,27

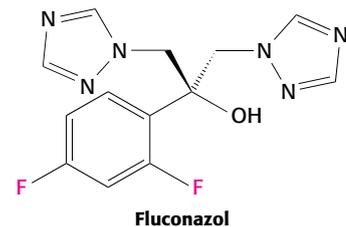
▣ 36.6 Lipinski-Regeln, auf Morphin angewandt. Morphin erfüllt alle Regeln Lipinskis und besitzt beim Menschen eine orale Bioverfügbarkeit von 33 Prozent.

Verteilung. Wurden Verbindungen von den Epithelzellen des Darms aufgenommen, können sie ins Blut gelangen. Hydrophobe Moleküle und auch viele andere sind nicht frei im Blut gelöst. Solche Verbindungen binden an Proteine wie Albumin (▣ Abb. 36.7), das im Blutserum in ausreichender Menge vorkommt und mit dessen Hilfe sie überall dorthin gebracht werden, wohin der Blutstrom gelangt.

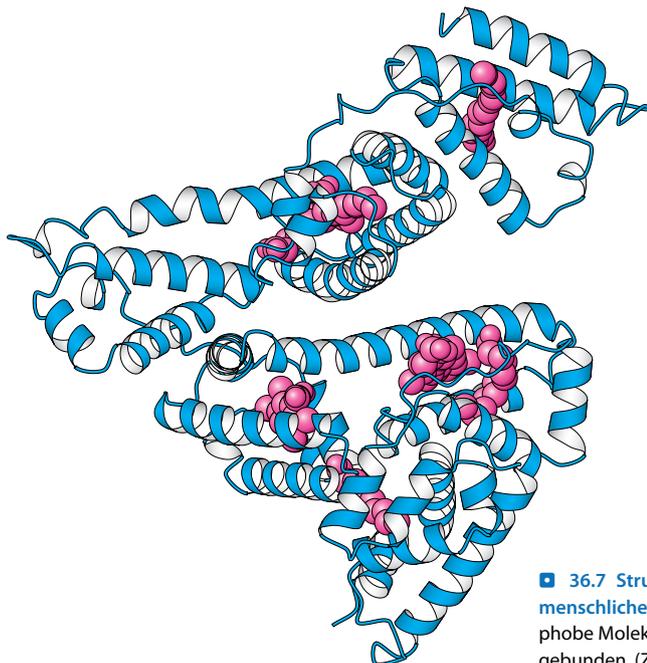
Ist eine Verbindung ins Blut gelangt, wird sie auf verschiedene Flüssigkeiten und Gewebe verteilt, die man häufig als **Kompartimente** bezeichnet. Manche Verbindungen werden in ihrem Zielkompartiment stark angereichert, entweder durch Bindung an das eigentliche Zielmolekül oder durch einen anderen Mechanismus. Andere Verbindungen verteilen sich stärker (▣ Abb. 36.8). Ein wirksamer Arzneistoff erreicht das Zielkompartiment in ausreichender Menge; die Konzentration der Verbindung in diesem Kompartiment verringert sich, wenn sich die Verbindung auch in anderen Kompartimenten verteilt.

Manche Zielkompartimente sind besonders schwer zugänglich. Die **Blut-Hirn-Schranke**, das sind die geschlossenen Kontakte (*tight junctions*) zwischen den Endothelzellen, welche die Blutgefäße im Gehirn und Rückenmark auskleiden, schließt viele Verbindungen vom Nervensystem aus.

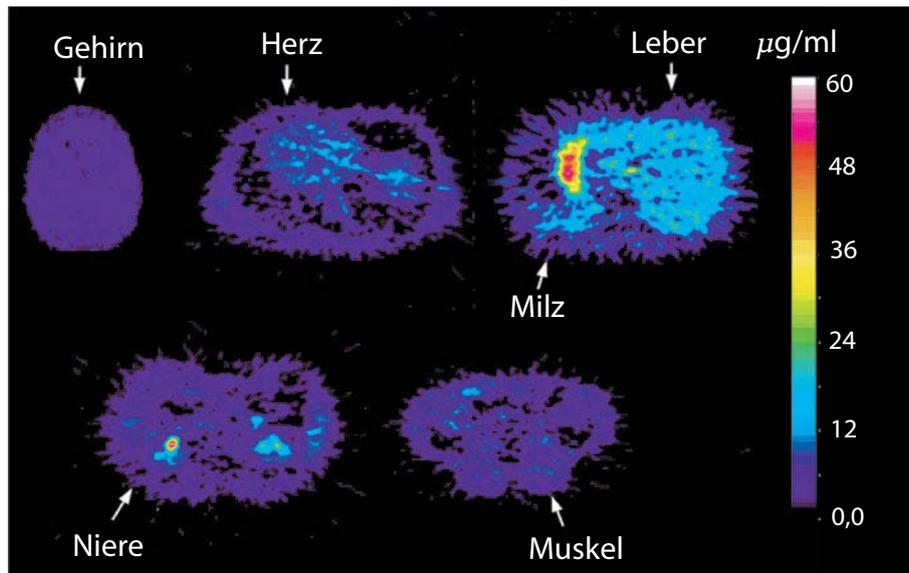
Stoffwechsel und Ausscheidung. Als letzte Herausforderung muss das potenzielle Arzneistoffmolekül der körpereigenen Maschinerie zur Beseitigung von fremden Verbindungen



Fluconazol



▣ 36.7 Struktur des Arzneistoffträgers, menschliches Serumalbumin. Sieben hydrophobe Moleküle (rot) haben an das Molekül gebunden. (Zeichnung nach 1BKE.pdb.)



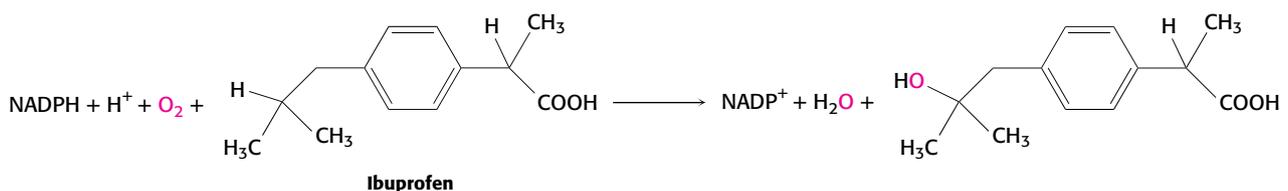
■ **36.8 Verteilung des Arzneistoffes Fluconazol.** Nach der Einnahme verteilen sich Verbindungen im Körper auf verschiedene Organe. Die Verteilung des Antimykotikums Fluconazol wurde mithilfe der Positronenemissionstomographie (PET) beobachtet. Diese Bilder wurden von einem gesunden männlichen Freiwilligen 90 Minuten nach Injektion einer Dosis von 5 mg kg^{-1} Fluconazol gemacht, die Spuren von Fluconazol enthielt, welches mit dem positronenemittierenden Isotop ^{18}F markiert war. (Aus Fischman AJ et al (1993) *Antimicrob Agents Chemother* 37: 1270–1277.)

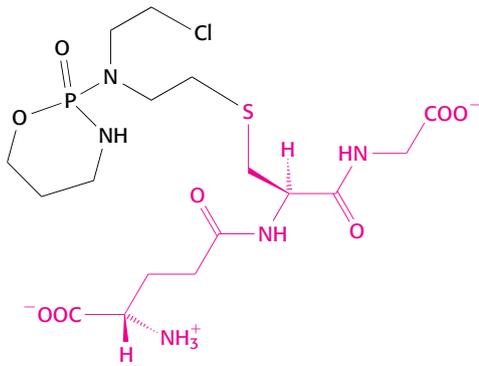
gen entkommen. Solche Verbindungen (oft als **xenobiotische Verbindungen** oder Xenobiotika bezeichnet) werden vom Körper häufig über Urin oder Fäzes abgegeben. Dieses geschieht oft, nachdem sie metabolisiert wurden, um die Ausscheidung zu unterstützen. Dieser **Arzneistoffmetabolismus** ist für die Wirksamkeit des Arzneistoffes eine beträchtliche Bedrohung, da die Konzentration der gewünschten Verbindung sinkt, wenn sie metabolisiert wird. Somit muss eine Verbindung, die rasch metabolisiert wird, häufiger oder in höherer Dosis verabreicht werden.

Zwei der üblichsten Wege des xenobiotischen Stoffwechsels sind die **Oxidation** und die **Konjugation**. Oxidationsreaktionen können die Ausscheidung auf mindestens zwei Weisen unterstützen: indem sie die Wasserlöslichkeit steigern und damit den Transport erleichtern, und durch Einführen funktioneller Gruppen, die an nachfolgenden Stoffwechselschritten beteiligt sind. Diese Reaktionen werden oft durch Cytochrom- P_{450} -Enzyme in der Leber unterstützt (Abschnitt 26.4). Das menschliche Genom codiert über 50 verschiedene P_{450} -Isoenzyme, von denen viele am xenobiotischen Stoffwechsel beteiligt sind. Eine typische Reaktion, die von einem P_{450} -Isozym katalysiert wird, ist die Hydroxylierung von Ibuprofen (■ Abb. 36.9).

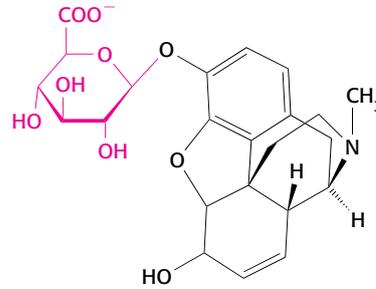
Unter Konjugation versteht man die Übertragung bestimmter Gruppen auf eine xenobiotische Verbindung. Übliche Gruppen hierfür sind Glutathion (Abschnitt 20.5), Glucuronsäure und Sulfat (■ Abb. 36.10). Das Anhängen der Gruppen erhöht häufig die Wasserlöslichkeit und liefert Erkennungszeichen zur Ausscheidung. Beispiele für die Konjugation sind die Übertragung von Glutathion auf den Antikrebswirkstoff Cyclophosphamid, das Anheften von Glucuronidat an das Schmerzmittel Morphin und das Anfügen einer Sulfatgruppe an das Haarwuchsmittel Minoxidil.

■ **36.9 P_{450} -Umwandlung von Ibuprofen.** Cytochrom- P_{450} -Isoenzyme katalysieren vor allem in der Leber xenobiotische Stoffwechselreaktionen wie die Hydroxylierung. Die Reaktion führt ein Sauerstoffatom ein, das aus molekularem Sauerstoff stammt.

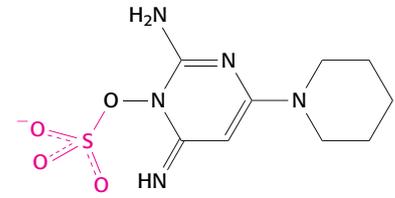




Cyclophosphamid-Glutathion-Konjugat



Morphinglucuronidat

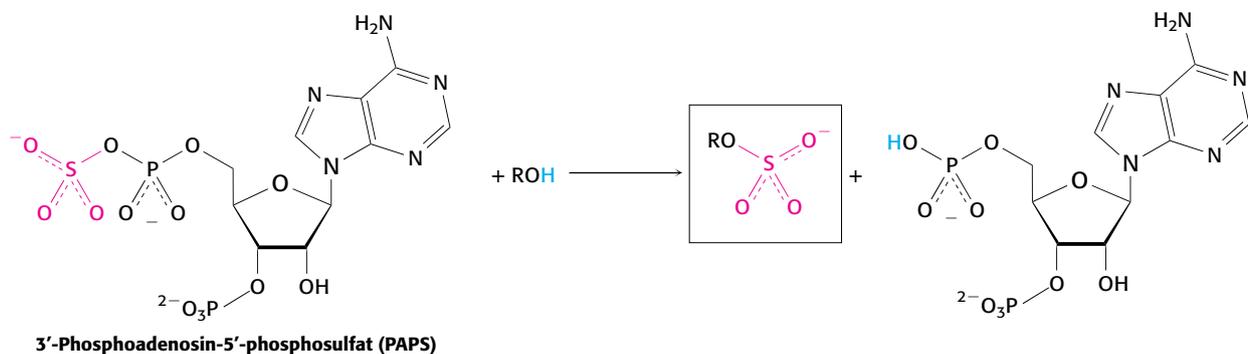
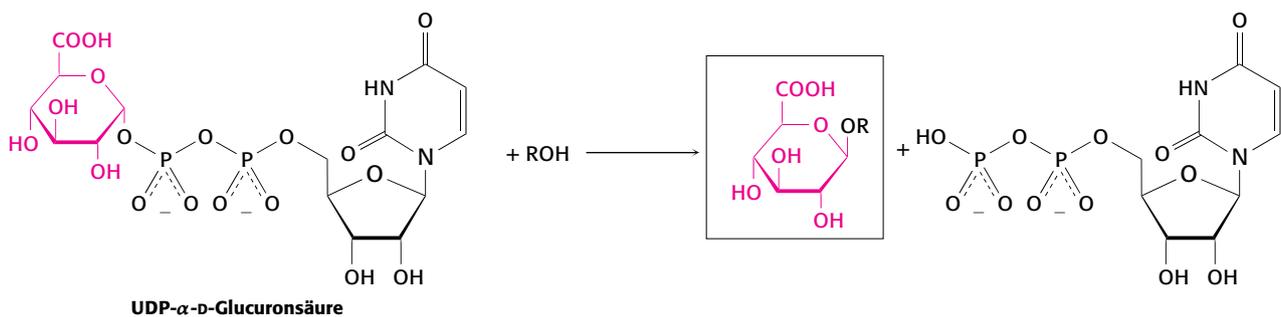
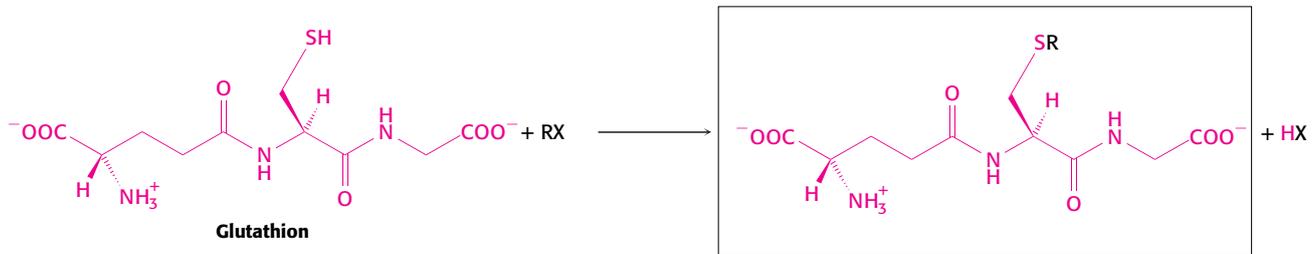


Minoxidilsulfat

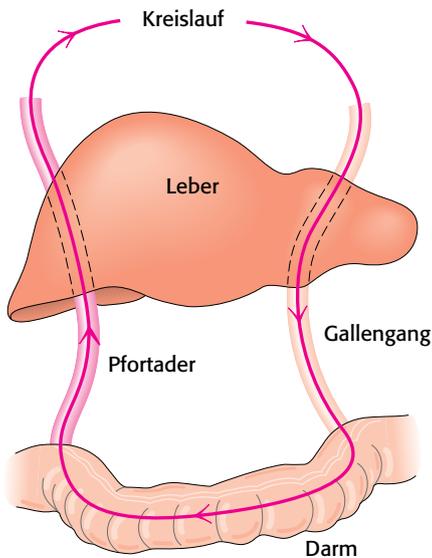
Interessanterweise entsteht durch die Sulfatierung von Minoxidil eine Verbindung, die das Haarwachstum wirksamer stimuliert als die nichtveränderte Verbindung. Der Arzneistoff ist zwar meist wirksamer als sein Stoffwechselprodukt, gelegentlich kann aber auch das Stoffwechselprodukt mehr Wirkung zeigen.

Bemerkenswert ist, dass einer Konjugation häufig eine Oxidationsreaktion vorangeht, weil sie Hydroxyl- und andere Gruppen erzeugen kann, an die wiederum Gruppen wie Glucuronsäure geknüpft werden können. Oxidationsreaktionen xenobiotischer Verbindungen bezeichnet man häufig als **Phase-I-Transformationen** und Konjugationsreaktionen als **Phase-II-Transformationen**. Sie finden in erster Linie in der Leber statt. Da das Blut vom Darm direkt durch die Pfortader zur Leber fließt, verändert der xenobiotische Stoffwechsel die Arzneistoffverbindungen oft schon, bevor diese überhaupt den gesamten

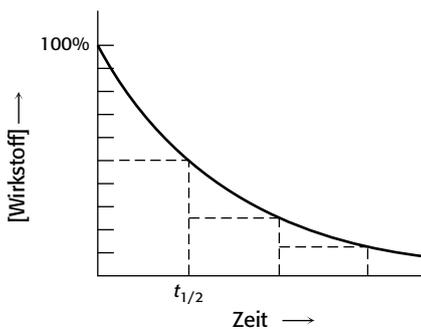
36.10 Konjugationsreaktionen. Wenn Verbindungen über entsprechende Gruppen verfügen, werden sie oft durch Konjugationsreaktionen verändert. Zu diesen Reaktionen zählen die Verknüpfung mit Glutathion (oben), mit Glucuronsäure (Mitte) oder Sulfat (unten). Das konjugierte Produkt ist eingrahmt.



3'-Phosphoadenosin-5'-phosphosulfat (PAPS)



■ **36.11 Enterohepatischer Kreislauf.** Manche Arzneistoffe können vom Blutkreislauf zur Leber, in die Gallenflüssigkeit, den Darm, zur Leber und zurück in den Blutkreislauf wandern. Dieser Kreislauf senkt die Ausscheidungsrate des Arzneistoffes.



■ **36.12 Halbwertszeit für die Ausscheidung von Arzneistoffen.** Im hier gezeigten Beispiel sinkt die Konzentration eines Arzneistoffes im Blut im Zeitraum $t_{1/2}$ auf die Hälfte seines Wertes ab; diese Zeitspanne wird als Halbwertszeit bezeichnet.

Blutkreislauf erreicht haben. Dieser **erste Stoffwechselschritt** kann die Verfügbarkeit von oral verabreichten Verbindungen erheblich einschränken.

Sind Verbindungen in den Blutstrom gelangt, können sie aus dem Kreislauf entfernt und vom Körper hauptsächlich auf zwei Wegen ausgeschieden werden. Zum einen werden sie von den Nieren resorbiert und mit dem Urin ausgeschieden. Bei diesem Vorgang passiert das Blut die **Glomeruli**, Netze aus feinen Kapillaren in der Niere, die als Filter fungieren. Verbindungen mit einer Molekülmasse unter etwa 60 000 treten durch die Glomeruli hindurch. Viele der Wasser- und Glucosemoleküle, Nucleotide und anderen niedermolekularen Verbindungen, welche die Niere passieren, werden wieder rückresorbiert und gelangen in das Blut; dies geschieht entweder mithilfe von Transportern, die eine breite Spezifität haben, oder durch passiven Transport hydrophober Moleküle durch Membranen. Arzneistoffe und Metaboliten, die den ersten Filtrationsschritt durchlaufen und nicht wieder resorbiert werden, werden ausgeschieden.

Zum anderen können Verbindungen aktiv in die Gallenflüssigkeit befördert werden, ein Vorgang, der sich in der Leber abspielt. Nach ihrer Konzentrierung fließt die Gallenflüssigkeit in den Dünndarm. Im Darm werden die Arzneistoffe und Metaboliten mit dem Stuhl ausgeschieden, ins Blut rückresorbiert oder von Verdauungsenzymen weiter abgebaut. Manchmal werden Verbindungen vom Blut in den Darm und wieder zurück in das Blut befördert; diesen Vorgang bezeichnet man als **enterohepatischen Kreislauf** (■ Abb. 36.11). Durch ihn lässt sich die Ausscheidungsrate mancher Verbindungen deutlich senken, weil sie dem Ausscheidungsweg entkommen und erneut in den Kreislauf gelangen.

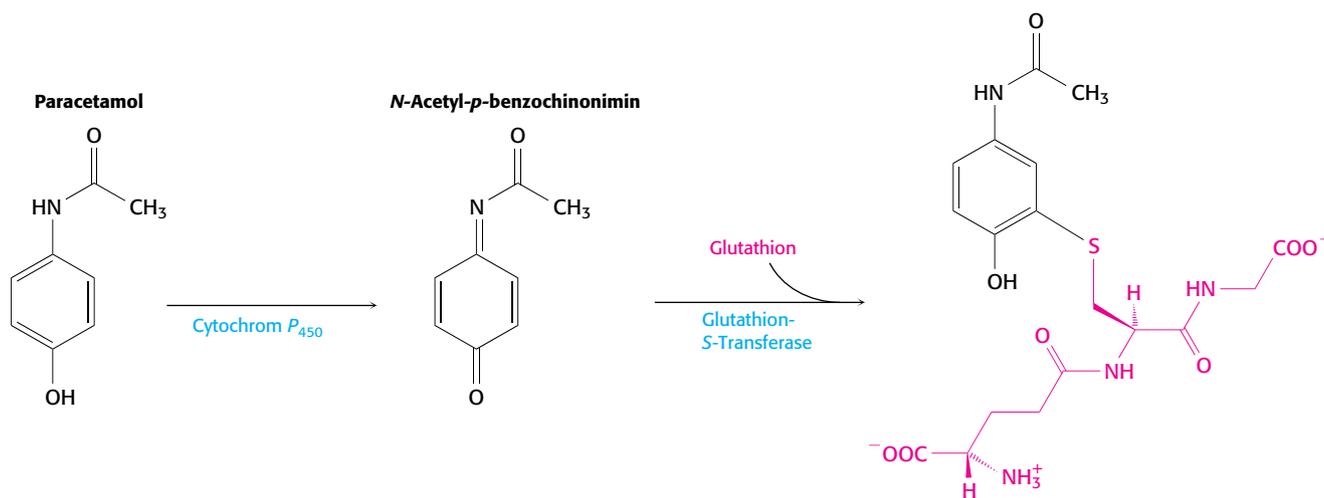
Die Ausscheidungskinetik von Verbindungen ist häufig komplex. In manchen Fällen wird während eines bestimmten Zeitraums ein fester Prozentsatz der verbliebenen Verbindung ausgeschieden (■ Abb. 36.12). Dieses Muster hat den exponentiellen Verlust der Verbindung aus dem Blut zur Folge, der sich mit einer Halbwertszeit ($t_{1/2}$) beschreiben lässt. Unter der Halbwertszeit versteht man einen festen Zeitabschnitt, der erforderlich ist, um 50 Prozent der noch verbliebenen Verbindung zu entfernen. Sie ist ein Maß dafür, wie lange eine wirksame Konzentration der Verbindung nach der Verabreichung im System verbleibt. Bei der Festlegung, wie oft ein Arzneistoff einzunehmen ist, stellt sie somit einen wichtigen Faktor dar. Ein Arzneistoff mit langer Halbwertszeit braucht nur einmal täglich eingenommen zu werden, ein Arzneistoff mit kurzer Halbwertszeit hingegen drei- oder viermal am Tag.

Die Toxizität kann die Wirksamkeit des Arzneistoffes einschränken

Ein wirksamer Arzneistoff darf nicht so toxisch sein, dass er die Person, die ihn einnimmt, ernsthaft schädigt. Ein Arzneistoff kann aus mehreren Gründen toxisch sein. Erstens kann er das Zielmolekül zu wirkungsvoll verändern. Beispielsweise kann ein Zuviel des Antikoagulans Warfarin (Coumadin) gefährliche, unkontrollierte Blutungen und den Tod zur Folge haben. Zweitens kann die Verbindung die Eigenschaften von Proteinen verändern, die sich zwar vom Zielmolekül unterscheiden, mit diesem aber verwandt sind. Verbindungen, die gegen ein Mitglied einer Enzym- oder Rezeptorfamilie gerichtet sind, binden oft auch an andere Familienmitglieder. So kann ein gegen virale Proteasen gerichtetes antivirales Mittel toxisch sein, wenn es auch Proteasen inhibiert, die normalerweise im Körper vorkommen, wie jene Proteasen, die den Blutdruck regulieren.

Eine Verbindung kann aber auch dann toxisch sein, wenn sie die Aktivität eines nicht mit dem beabsichtigten Zielmolekül verwandten Proteins verändert. Beispielsweise blockieren viele Verbindungen Ionenkanäle wie den Kaliumkanal hERG (S. 396), wodurch potenziell lebensbedrohliche Herzrhythmusstörungen verursacht werden. Um Nebenwirkungen auf das Herz zu verhindern, prüft man viele Verbindungen auf ihre Fähigkeit, solche Kanäle zu blockieren.

Schließlich können auch die Stoffwechselabbauprodukte einer an sich nicht toxischen Verbindung giftig sein. Ein wichtiges Beispiel ist die Lebertoxizität, die man bei hohen Dosen des gebräuchlichen Schmerzmittels Paracetamol (Acetaminophen) beobachtet (■ Abb. 36.13). Ein bestimmtes Cytochrom- P_{450} -Isozym oxidiert Paracetamol zu *N*-Ace-



tyl-*p*-benzochinonimin. Die entstehende Verbindung wird mit Glutathion verknüpft. Mit steigenden Dosen sinkt die Glutathionkonzentration in der Leber jedoch drastisch und die Leber ist nicht mehr länger in der Lage, sich vor dieser und anderen reaktiven Verbindungen zu schützen. Zu den Anfangssymptomen der Überdosierung von Paracetamol gehören Schwindel und Erbrechen. Innerhalb von 24 bis 48 Stunden können Symptome von Leberversagen auftreten. Etwa 35 Prozent der Fälle von schwerem Leberversagen in den Vereinigten Staaten gehen auf eine Paracetamolvergiftung zurück. Oft ist eine Lebertransplantation die einzig wirksame Behandlung.

Die Toxizität eines Arzneistoffkandidaten lässt sich mit dem **therapeutischen Index** beschreiben. Dieses Maß für die Giftigkeit bestimmt man mithilfe von Tiertests, gewöhnlich an Mäusen oder Ratten. Der therapeutische Index wird definiert als Quotient aus der Dosis der Verbindung, die erforderlich ist, um die Hälfte der Tiere zu töten (als LD₅₀ bezeichnet für die „letale Dosis“) und einem vergleichbaren Maß für die wirksame Dosis, gewöhnlich dem EC₅₀. Wenn der therapeutische Index 1 000 ist, ist somit die Letalität nur dann bedeutend, wenn das 1 000-Fache der wirksamen Dosis verabreicht wird. Entsprechende Indices können ein Maß für die Toxizität liefern, die weniger schwerwiegend als die Letalität ist.

Viele Verbindungen zeigen *in vitro* hervorragende Eigenschaften, fallen jedoch wegen der unzureichenden ADME-Eigenschaften und aufgrund ihrer Toxizität durch, wenn sie einem lebenden Organismus verabreicht werden. Kosten- und zeitintensive Tierversuche sind erforderlich, um zu beweisen, dass ein Arzneistoffkandidat nicht giftig ist, jedoch können auch unterschiedliche Reaktionen verschiedener Tierarten einen Test der Verbindung am Menschen vereiteln. Es besteht die Hoffnung, dass die Wissenschaftler mit dem besseren Verständnis der Biochemie dieser Vorgänge computergestützte Modelle entwickeln können, um Tierversuche zu ersetzen oder zu ergänzen. Solche Modelle müssten das Schicksal einer Verbindung innerhalb eines lebenden Organismus aus der Molekülstruktur oder anderen Eigenschaften, die sich im Labor ohne Einsatz von Tierversuchen leicht messen lassen, genau vorhersagen können.

36.2 Arzneistoffkandidaten können durch einen glücklichen Zufall oder ein Screening gefunden oder gezielt konzipiert werden

In der Vergangenheit wurden viele Arzneistoffe durch einen glücklichen Zufall oder eine zufällige Beobachtung als solche erkannt. Erst seit kurzem werden Arzneistoffe entdeckt, indem man Sammlungen natürlicher Produkte oder anderer Verbindungen auf Stoffe mit den gewünschten medizinischen Eigenschaften durchsucht. Alternativ dazu haben Wissenschaftler spezifische Arzneistoffkandidaten gezielt konzipiert, indem sie ihr Wissen über ein im Vorfeld gewähltes Zielmolekül einsetzten. Wir wollen nun einige Beispiele für jeden dieser Wege untersuchen, um übliche Prinzipien aufzuzeigen.

36.13 Toxizität von Paracetamol. Ein kleineres Stoffwechselprodukt von Paracetamol ist *N*-Acetyl-*p*-benzochinonimin. Der Metabolit wird mit Glutathion verknüpft. Hohe Dosen von Paracetamol erschöpfen den Glutathionvorrat der Leber.

Zufällige Entdeckungen können die Entwicklung von Arzneistoffen vorantreiben

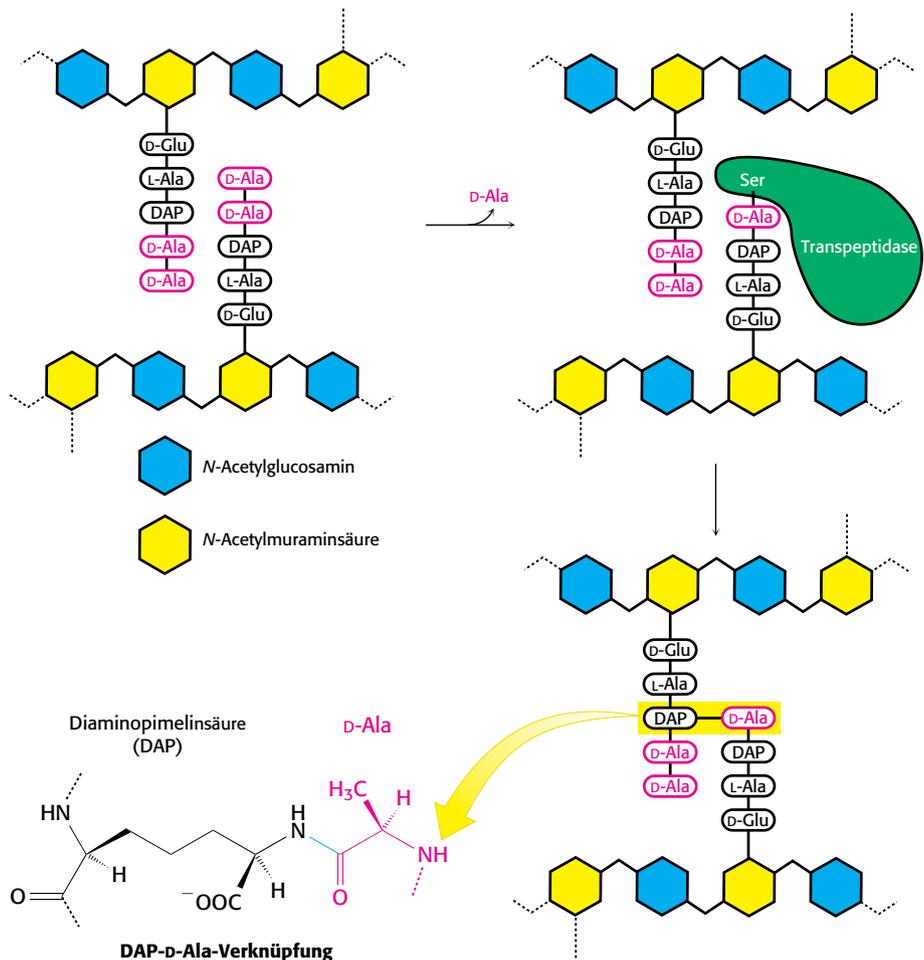
Die vielleicht bekannteste Beobachtung in der Geschichte der Arzneistoffentwicklung ist die zufällige Beobachtung von Alexander Fleming im Jahre 1928, der erkannte, dass Kolonien des Bakteriums *Staphylococcus aureus* starben, wenn sie sich in der Nachbarschaft des Schimmelpilzes *Penicillium notatum* befanden. Pilzsporen waren zufällig auf Nährplatten gelangt, auf denen Bakterien wuchsen. Fleming erkannte rasch, dass der Pilz einen Stoff bildet, der krankheitsverursachende Bakterien zu töten vermag. Diese Entdeckung führte zu einem grundlegend neuen Ansatz für die Behandlung bakterieller Infektionen. Howard Florey und Ernest Chain entwickelten eine Pulverform dieser Substanz, die unter dem Namen Penicillin in den 1940er-Jahren zu einem weitverbreiteten Antibiotikum wurde.

Im Jahre 1945 wurde dann die Struktur dieses Antibiotikums aufgeklärt, deren wichtigstes Merkmal der viergliedrige β -Lactamring ist. Wie schon erwähnt (Abschnitt 8.5), ist diese ungewöhnliche Struktur für die antibakterielle Wirkung von Penicillin ausschlaggebend.

Drei Schritte waren entscheidend, um Flemings Entdeckung in Kapital zu verwandeln: Zuerst entwickelte man ein industrielles Verfahren, um Penicillin in großem Maßstab mit dem Pilz *Penicillium* herstellen zu können. Als Zweites wurden Penicillin und Penicillinderivate chemisch synthetisiert. Diese eröffneten den Wissenschaftlern einen Weg, die Beziehungen zwischen Struktur und Funktion zu erforschen. Viele der Derivate haben in der Medizin breite Anwendung gefunden. Im Jahre 1965 stellten schließlich Jack Strominger und James Park unabhängig voneinander fest, wie Penicillin seine antibiotische Wirkung ausübt, nämlich durch Hemmung einer entscheidenden Transpeptidase bei der Biosynthese der Bakterienzellwand (Abb. 36.14), die bereits in Abschnitt 8.5 besprochen wurde.

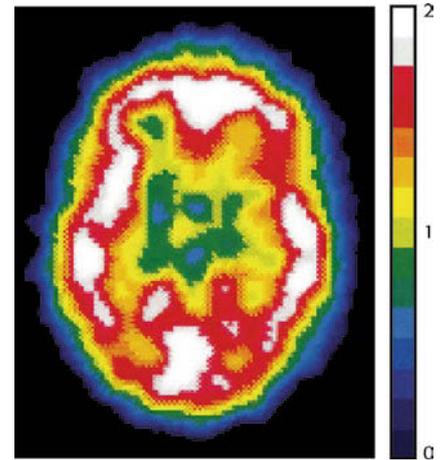
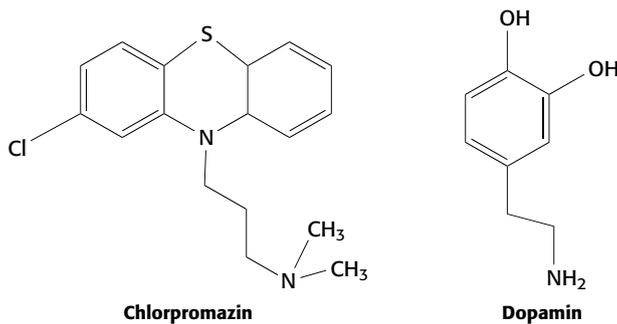
Auch viele andere Arzneistoffe hat man durch zufällige Beobachtungen entdeckt. Das Neuroleptikum Chlorpromazin fand man im Verlauf von Untersuchungen zur Behand-

36.14 Mechanismus der Zellwandbiosynthese, der durch Penicillin gestört wird. Ein Enzym, die Transpeptidase, katalysiert die Bildung von Quervernetzungen zwischen Peptidoglykangruppen. Im hier gezeigten Beispiel katalysiert die Transpeptidase die Verknüpfung von D-Alanin am Ende einer Peptidkette mit der Aminosäure Diaminopimelinsäure (DAP) an einer anderen Peptidkette. Die Diaminopimelinsäure-Verknüpfung (unten links) kommt bei gramnegativen Bakterien wie *E. coli* vor. Bei grampositiven Bakterien findet man Verknüpfungen von glycinreichen Peptiden. Penicillin inhibiert die Wirkung der Transpeptidase. Deshalb besitzen Bakterien, die dem Arzneistoff ausgesetzt sind, schwache Zellwände, die anfällig für die Zellyse sind.



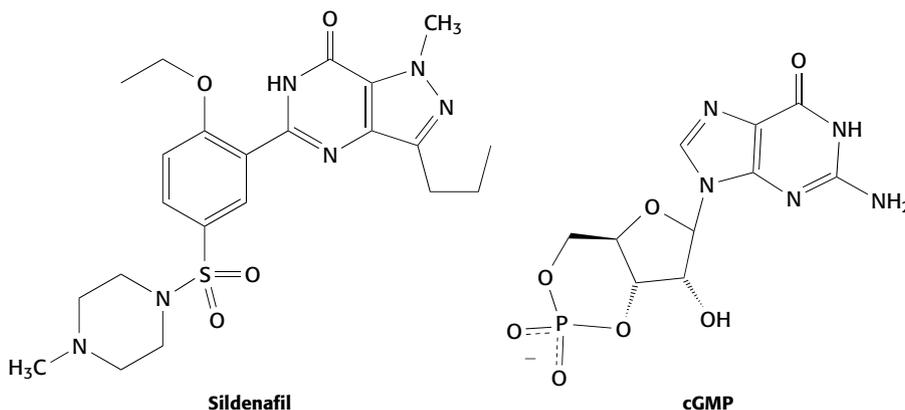
lung des Schocks bei Operationspatienten. Der französische Chirurg Henri Laborit stellte 1952 fest, dass seine Patienten bemerkenswert ruhig wurden, nachdem sie diese Verbindung eingenommen hatten. Diese Beobachtung ließ vermuten, dass Chlorpromazin für Psychiatriepatienten hilfreich sein könnte; tatsächlich wird der Arzneistoff seit vielen Jahren eingesetzt, um Patienten mit Schizophrenie und anderen Erkrankungen zu behandeln. Allerdings hat der Arzneistoff gravierende Nebenwirkungen und wurde daher weitgehend durch in jüngster Vergangenheit entwickelte Arzneistoffe abgelöst.

Chlorpromazin bindet an Rezeptoren des Neurotransmitters Dopamin und blockiert diese (Abb. 36.15). Dopamin-D₂-Rezeptoren sind das Ziel vieler anderer psychoaktiver Arzneistoffe. Bei der Suche nach Arzneistoffen mit geringeren Nebenwirkungen führt man Untersuchungen durch, um die Arzneistoffwirkung mit biochemischen Parametern wie Dissoziationskonstante und Konstanten der Bindungs- und Freisetzungsraten in Beziehung zu setzen.

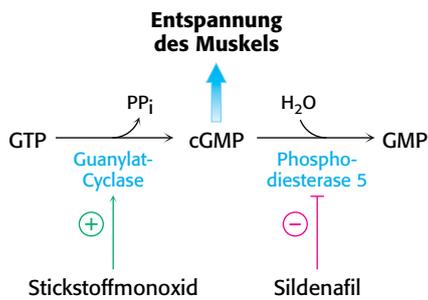


36.15 Ziele von Chlorpromazin. Diese Aufnahme einer Positronenemissionstomographie zeigt die Verteilung der Dopamin-D₂-Rezeptoren im Gehirn. Die farbigen Balken rechts zeigen die relative Verteilung der Rezeptoren. Weiße Bereiche weisen die höchste Konzentration auf, dunkelblaue Bereiche verfügen über keine Rezeptoren. Diese Stellen werden durch die Behandlung mit Chlorpromazin blockiert. (Aus Trichard C et al (1998) *Am J Psychiatry* 155: 505–508; Nachdruck mit freundlicher Genehmigung von Copyright Clearance Center Inc.)

Sildenafil (Viagra) ist ein Beispiel für einen Arzneistoff aus neuerer Zeit, den man durch eine wachsame Beobachtung entdeckt hat. Man entwickelte diese Verbindung als Inhibitor der Phosphodiesterase 5, ein Enzym, das die Hydrolyse von cGMP zu GMP katalysiert (Abb. 36.16). Ursprünglich beabsichtigte man mit der Verbindung Bluthochdruck und Angina pectoris zu behandeln, da cGMP eine zentrale Rolle bei der Entspannung der glatten Muskelzellen in den Blutgefäßen spielt (Abb. 36.17). Durch Inhibition der Phosphodiesterase erwartete man eine Erhöhung der cGMP-Konzentration, da dadurch der Abbauweg von cGMP blockiert wird. Im Zuge der frühen klinischen Erprobung in Wales berichteten manche Männer von ungewöhnlichen Peniserektionen. Ob diese zufällige Beobachtung von einigen Männern auf die Verbindung oder auf andere Wirkungen zurückging, war unklar. Die Beobachtung war jedoch biochemisch nachvollziehbar, denn man hatte entdeckt, dass die Entspannung der glatten Muskulatur, die auf erhöhte cGMP-Spiegel zurückzuführen ist, eine Rolle bei der Erektion spielt. Die nachfolgend durchgeführten klinischen Studien, die auf eine Bewertung von Sildenafil bei Erektionsstörungen abzielten, erwiesen sich als erfolgreich. Dieser Bericht bezeugt, wie wichtig es ist, umfassende Informationen von den Teilnehmern klinischer Studien zu sammeln. In diesem Fall führten zufällige Beobachtungen zu einer neuen Behandlung von Erektionsstörungen und einem Arzneimittelmarkt mit einem Jahresumsatz in Milliardenhöhe.



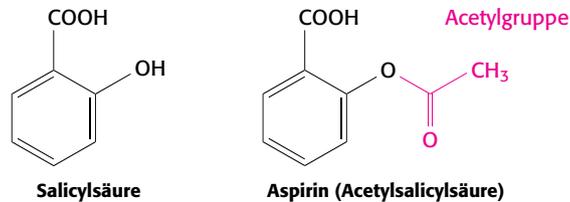
36.16 Sildenafil imitiert cGMP. Sildenafil wurde so konstruiert, dass es cGMP ähnelt, also dem Substrat der Phosphodiesterase 5.



36.17 Stoffwechselweg der Muskelrelaxation. Eine Zunahme des Stickstoffmonoxidspiegels stimuliert die Guanylat-Cyclase, die cGMP bildet. Die erhöhte cGMP-Konzentration fördert die Entspannung der glatten Muskeln. Die Phosphodiesterase 5 hydrolysiert cGMP, wodurch die cGMP-Konzentration absinkt. Wird die Phosphodiesterase 5 durch Sildenafil inhibiert, bleiben erhöhte cGMP-Spiegel bestehen.

Das Screening von Präparatbibliotheken kann Arzneistoffe oder Leitstrukturen für Arzneistoffe liefern

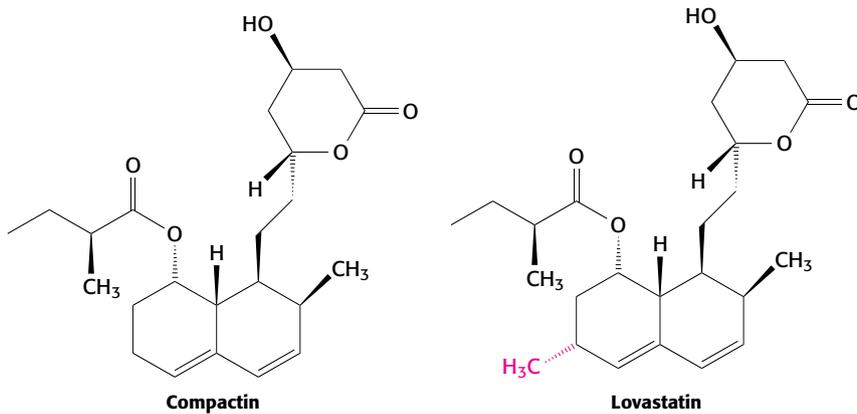
Kein Arzneistoff wird so weit verbreitet eingesetzt wie Acetylsalicylsäure (Aspirin). Schon zu Hippokrates' Zeiten (~400 v. Chr.) hatte man bemerkt, dass sich durch Anwendung von Extrakten aus der Rinde und den Blättern von Weiden Schmerzen lindern lassen. Im Jahre 1829 isolierte man aus Weidenrinde eine Mischung mit der Bezeichnung **Salicin**. Bei der anschließenden Analyse wurde Salicylsäure als wirksamer Bestandteil dieser Mischung identifiziert. Salicylsäure wurde früher zur Schmerzbehandlung eingesetzt, doch diese Verbindung reizte häufig den Magen. Daher suchten einige Forscher nach Mitteln und Wegen, um Salicylsäure zu neutralisieren. Der deutsche Chemiker Felix Hoffmann von der Firma Bayer entwickelte ein magenfreundlicheres Derivat, indem er die Salicylsäure mit einer Base und Acetylchlorid behandelte. Den Abkömmling, die Acetylsalicylsäure, nannte man **Aspirin**; das „a“ stand für Acetylchlorid, „spir“ für *Spiraea ulmaria* (Spierstrauch, eine Blütenpflanze, die ebenfalls Salicylsäure enthält), und „in“ war die übliche Endung für Arzneistoffe. Weltweit werden jährlich etwa 35 000 Tonnen Aspirin eingenommen; das entspricht beinahe dem Gewicht der *Titanic*.



Wie in Kapitel 12 besprochen, wird die Acetylgruppe von Aspirin auf die Seitenkette eines Serinrestes übertragen, der auf dem Weg zum aktiven Zentrum der Cyclooxygenase liegt, welche ein Bestandteil der Prostaglandin-H₂-Synthase ist (Abb. 12.25). In dieser Position blockiert die Acetylgruppe den Zugang zum aktiven Zentrum. Obwohl Aspirin an der gleichen Tasche des Enzyms bindet wie die Salicylsäure, steigert die Acetylgruppe von Aspirin dessen Wirksamkeit als Arzneistoff enorm. Der Bericht verdeutlicht, welchen Wert das Screening von Pflanzenextrakten und anderen Stoffen hat, von denen man glaubt, dass sie als wirksame Verbindungen medizinische Eigenschaften besitzen. Die große Zahl pflanzlicher Arznei- und Hausmittel ist eine Fundgrube für Hinweise auf neue Arzneistoffe.

Vor über 100 Jahren entdeckte man eine fettige gelbliche Substanz auf den Arterienwänden von Patienten, die an Gefäßerkrankungen verstorben waren. Die Anwesenheit dieser Substanz nannte man **Atherom**, von der griechischen Bezeichnung für Brei oder Grütze. Diese Substanz erwies sich als Cholesterin. Die Framingham-Herzstudie, die 1948 gestartet wurde, dokumentierte einen Zusammenhang zwischen dem hohen Cholesterinspiegel im Blut und einer hohen Sterberate aufgrund von Herzerkrankungen. Diese Beobachtung führte zu der Vorstellung, dass die Blockierung der Cholesterinsynthese den Cholesterinspiegel im Blut senken und demzufolge auch das Risiko einer Herzerkrankung verringern könnte. Der ursprüngliche Ansatz, einen späten Schritt des Cholesterinsyntheseweges zu blockieren, mussten die Wirkstoffforscher allerdings aufgeben, da sich Katarakte und andere Nebenwirkungen zeigten; Ursache dafür war die Ansammlung von unlöslichem Substrat des inhibierten Enzyms. Schließlich identifizierten die Forscher ein geeigneteres Zielmolekül – das Enzym HMG-CoA-Reduktase (Abschnitt 26.2). Dieses Enzym reagiert mit dem Substrat HMG-CoA (3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzym A), das von anderen Stoffwechselwegen verwendet werden kann und wasserlöslich ist.

Auf der Suche nach antibakteriellen Stoffen entdeckte man bei einem Screening von Verbindungen aus dem Kulturüberstand von *Penicillium citrinum* das vielversprechende Naturprodukt Compactin. In manchen, aber nicht allen Tierversuchen inhibierte Compactin die HMG-CoA-Reduktase und senkte den Cholesterinspiegel im Blut. 1982 entdeckte man im Kulturüberstand von *Aspergillus cereus* einen neuen Inhibitor der HMG-CoA-Reduktase. Diese Verbindung, heute als Lovastatin bezeichnet, hat eine sehr ähnliche Struktur wie Compactin, trägt aber eine zusätzliche Methylgruppe.



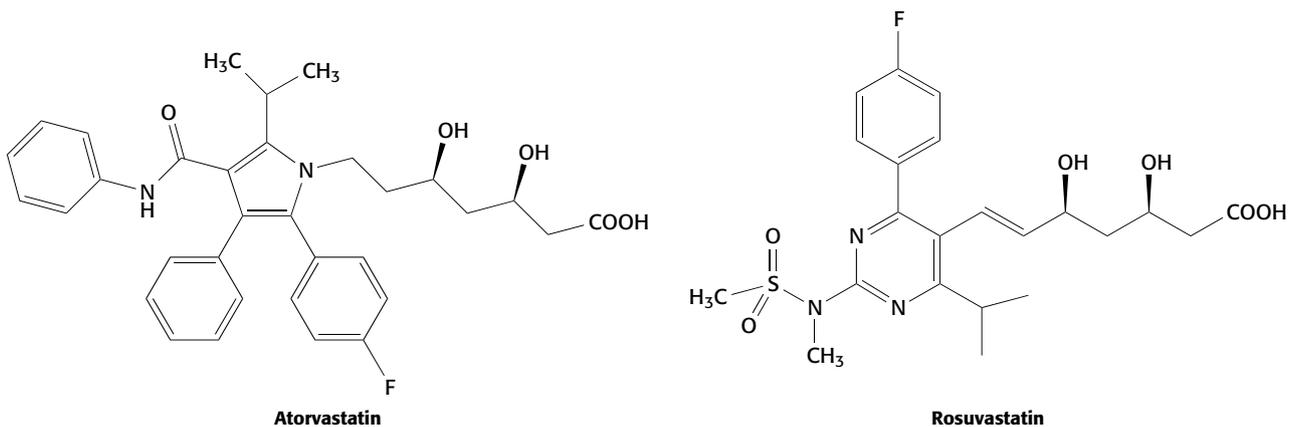
Bei klinischen Studien senkte Lovastatin den Serumcholesterinspiegel deutlich, begleitet von einigen wenigen Nebenwirkungen. Weitere Nebenwirkungen ließen sich durch Behandlung mit Mevalonat (dem Produkt der HMG-CoA-Reduktase) vermeiden; dies war ein Hinweis darauf, dass die Nebenwirkungen wahrscheinlich auf die sehr wirksame Blockierung der HMG-CoA-Reduktase zurückzuführen sind. Erwähnenswerte Nebenwirkungen sind Muskelschmerzen oder -schwäche (**Myopathie** genannt), deren genaue Ursache ist allerdings noch unklar ist. Nach vielen Untersuchungen genehmigte die US-amerikanische Behörde für die Zulassung von Lebensmitteln und Pharmazeutika (*Food and Drug Administration*, FDA) Lovastatin zur Behandlung von hohen Serumcholesterinspiegeln.

Für die Anwendung eines strukturverwandten Inhibitors der HMG-CoA-Reduktase konnte man später eine statistisch signifikante Abnahme von Todesfällen infolge koronarer Herzerkrankungen nachweisen. Dieser Befund bestätigte den Nutzen einer Senkung des Serumcholesterinspiegels. Wie weitergehende mechanistische Analysen enthüllten, senkt der Inhibitor der HMG-CoA-Reduktase nicht nur die Biosynthesegeschwindigkeit von Cholesterin, sondern leitet auch die Bildung von Rezeptoren für Lipoproteine geringer Dichte (*low density lipoprotein*, LDL) ein (Abschnitt 26.3). Zellen mit derartigen Rezeptoren beseitigen LDL-Partikel aus dem Blutstrom, die daher nicht zur Entstehung atheromatoser Plaques beitragen können.

Lovastatin und seine Verwandten sind natürliche Produkte oder Verbindungen, die von natürlichen Produkten abstammen. Der nächste Schritt war die Entwicklung von vollständig synthetischen Molekülen, welche die HMG-CoA-Reduktase noch stärker inhibieren (▣ Abb. 36.18). Diese Verbindungen sind bereits in niedriger Dosierung wirksam, wodurch Nebenwirkungen verringert werden.

Den ursprünglichen Inhibitor der HMG-CoA-Reduktase oder dessen Vorstufen fand man beim Screening von Bibliotheken natürlicher Produkte. In neuerer Zeit haben die Wirkstoffforscher große Bibliotheken sowohl natürlicher Produkte als auch rein synthetisch erzeugter Verbindungen durchsucht, die im Verlauf vieler Arzneistoffentwicklungs-

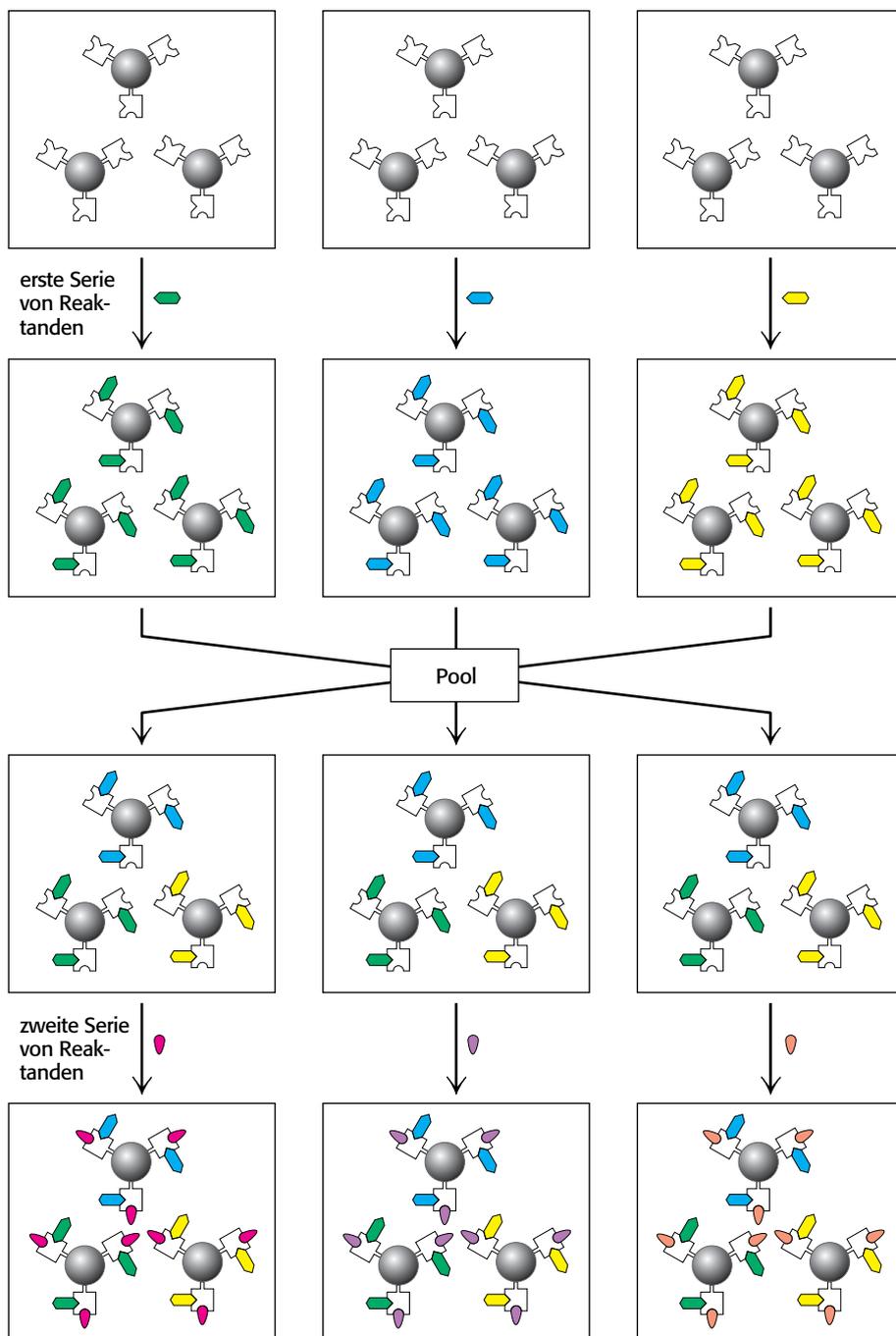
▣ **36.18 Synthetische Statine.** Atorvastatin (Sortis) und Rosuvastatin (Crestor) sind vollständig synthetische Arzneistoffe zur Inhibition der HMG-CoA-Reduktase.



programme erzeugt wurden. Unter geeigneten Bedingungen werden Hunderttausende oder sogar Millionen von Verbindungen mit diesen **Hochdurchsatz-Screenings** getestet. Die in diesen Bibliotheken enthaltenen Verbindungen werden für die Tests nacheinander synthetisiert. Bei einem alternativen Ansatz synthetisiert man viele strukturverwandte Verbindungen, die sich nur an einer oder wenigen Stellen unterscheiden. Dieser Ansatz wird häufig als **kombinatorische Chemie** bezeichnet. Hier können Verbindungen mit der gleichen chemischen Reaktion, aber mit einer Reihe unterschiedlicher Reaktanden synthetisiert werden. Konstruiert man beispielsweise ein molekulares Gerüst mit zwei reaktiven Stellen, wobei an der ersten Stelle 20 Reaktanden, an der zweiten Stelle 40 Reaktanden eingesetzt werden können, dann ist die Synthese von insgesamt $20 \times 40 = 800$ verschiedenen Verbindungen möglich.

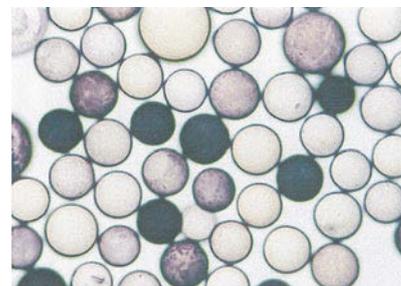
Eine Schlüsselmethode in der kombinatorischen Chemie ist die **Split-Pool-Synthese** (▣ Abb. 36.19). Diese Methode basiert auf Festphasensyntheseverfahren, die zuerst für

▣ **36.19 Split-Pool-Synthese.** Die Reaktionen werden an kleinen Kügelchen ausgeführt. Jede der Reaktionen mit der ersten Gruppe an Reaktanden erfolgt an einer getrennten Gruppe von Kügelchen. Danach vereinigt man die Kugeln, mischt sie und teilt sie auf. Nun wird der zweite Reaktandensatz zugefügt. Es werden viele verschiedene Verbindungen synthetisiert, aber die an eine einzelne Kugel gebundenen Verbindungen sind alle identisch.



die Synthese von Peptiden entwickelt wurden (Abschnitt 3.5). Man synthetisiert die Verbindungen an kleinen Kugeln. Kügelchen mit einem geeigneten **Startgerüst** werden in n Gruppen aufgeteilt (*split*), wobei n der Anzahl der unterschiedlichen Bausteine entspricht, die man an dieser nun zu synthetisierenden Position im Molekül einbauen möchte. Dann lässt man Reaktionen ablaufen, welche die Reaktanden an die erste Stelle fügen, und die Kügelchen werden mittels Filtration isoliert. Die n Gruppen von Kügelchen werden dann vereinigt (*pooled*), gemischt und in m Sätze aufgeteilt, wobei m der Anzahl der Reaktanden entspricht, die an der zweiten Stelle eingebaut werden. Dann laufen Reaktionen ab, bei denen diese m Reaktanden hinzugefügt werden, und die Kügelchen werden erneut isoliert. Wichtig ist, dass im Ergebnis jedes Kügelchen immer nur eine Molekülarart gebunden hat, obgleich die gesamte Bibliothek viele Verbindungen umfasst. Außerdem werden $n \times m$ Verbindungen produziert, obwohl nur $n + m$ Reaktionen ablaufen. Mit den zuvor genannten Zahlen für n und m erzeugen die $20 + 40 = 60$ Reaktionen $20 \times 40 = 800$ Verbindungen. In manchen Fällen können direkt mit den an den Kügelchen haftenden Molekülen Tests durchgeführt werden, um Verbindungen mit den gewünschten Eigenschaften zu finden (■ Abb. 36.20). Alternativ kann man jedes Kügelchen isolieren und die Verbindung abspalten, um freie Verbindungen zur Analyse herzustellen. Nachdem man eine interessante Verbindung identifiziert hat, müssen zahlreiche analytische Methoden angewendet werden, um zu klären, welche der $n \times m$ Verbindungen tatsächlich vorliegt.

Es sei bemerkt, dass das „Universum“ der arzneistoffähnlichen Verbindungen unermesslich ist. Schätzungsweise sind mehr als 10^{40} Verbindungen mit einer Molekülmasse von weniger als 750 möglich. Selbst mit „großen“ Bibliotheken mit Millionen von Verbindungen steht daher nur ein winziger Teil der chemischen Möglichkeiten zur Untersuchung zur Verfügung.

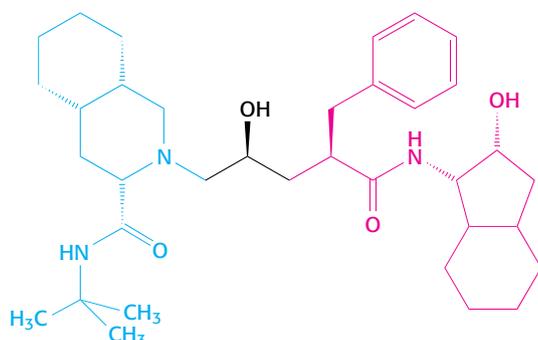


■ 36.20 Screening einer Bibliothek von synthetisierten Kohlenhydraten. Eine kleine kombinatorische Bibliothek von Kohlenhydraten, die an der Oberfläche von $130 \mu\text{m}$ großen Kügelchen synthetisiert wurde, wird nach Kohlenhydraten durchsucht, die von Erdnusslectin stark gebunden werden. Kügelchen, die solche Kohlenhydrate tragen, sind durch die Aktivität eines Enzyms, das mit dem Lectin verknüpft ist, dunkel gefärbt. (Aus Liang R et al (1997) *Proc Natl Acad Sci USA* 94: 10554–10559; © 2004 National Academy of Sciences, USA.)

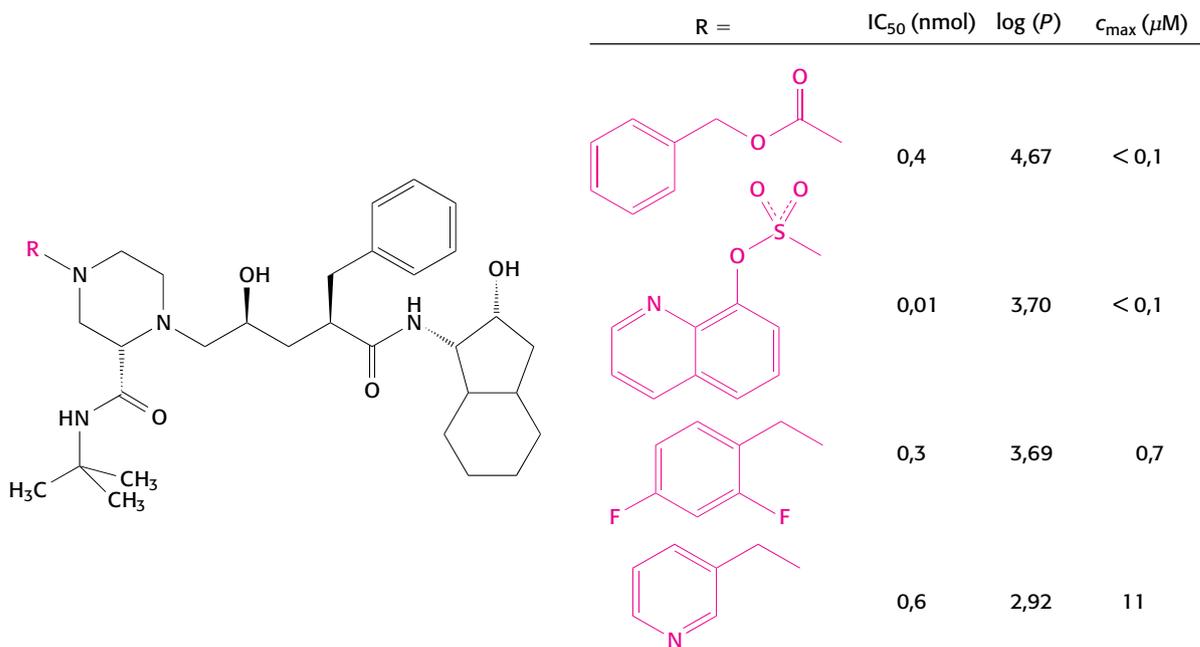
Anhand der dreidimensionalen Struktur von Zielmolekülen lassen sich Arzneistoffe gezielt konzipieren

Viele Arzneistoffe binden auf eine Weise an ihre Zielmoleküle, die an Emil Fischers Schlüssel-Schloss-Prinzip erinnert (■ Abb. 8.8). Daher müsste es möglich sein, einen Schlüssel zu konstruieren, wenn man nur ausreichend Informationen über die Gestalt und chemische Zusammensetzung des Schlosses besitzt. Im Idealfall würde man ein kleines Molekül konzipieren, das zum Zielprotein eine komplementäre Form und Elektronenstruktur besitzt, sodass es wirksam an den Zielort bindet. Obwohl wir dreidimensionale Strukturen rasch aufklären können, liegt das Erreichen dieses Ziels in der Zukunft. Stabile Verbindungen, welche die korrekte Gestalt und andere Eigenschaften besitzen, um exakt zu einer Bindungsstelle zu passen, von Grund auf neu zu entwerfen, ist schwierig, denn es lässt sich nur schwer vorhersagen, welche Struktur letztendlich am besten passen wird. Eine Vorhersage der Bindungsaffinität erfordert ein detailliertes Verständnis der Wechselwirkungen zwischen einer Verbindung und ihrem Bindungspartner *und* der Wechselwirkungen zwischen der Verbindung und dem Lösungsmittel, wenn sich die Verbindung frei in Lösung befindet.

Trotzdem hat sich die **strukturbasierte Arzneistoffkonzeption** (*structure based drug design*) als ein wirksames Werkzeug der Wirkstoffentwicklung erwiesen. Einer ihrer bedeutendsten Erfolge war die Entwicklung von Arzneistoffen, welche die Protease eines



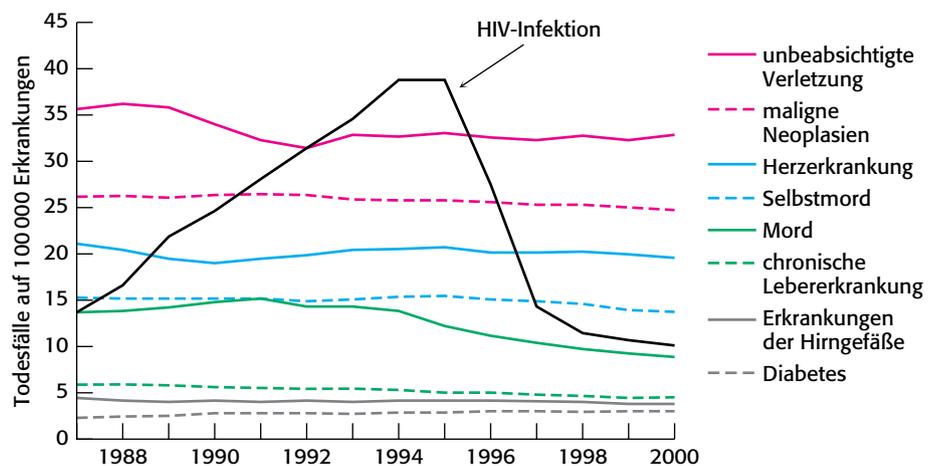
■ 36.21 Entwurf eines Inhibitors der HIV-Protease. Diese Verbindung wurde konzipiert, indem man einen Teil einer Verbindung mit guter Inhibitionsaktivität, aber schwacher Löslichkeit (rot dargestellt) mit einem Teil einer anderen Verbindung mit besserer Löslichkeit (blau dargestellt) kombinierte.

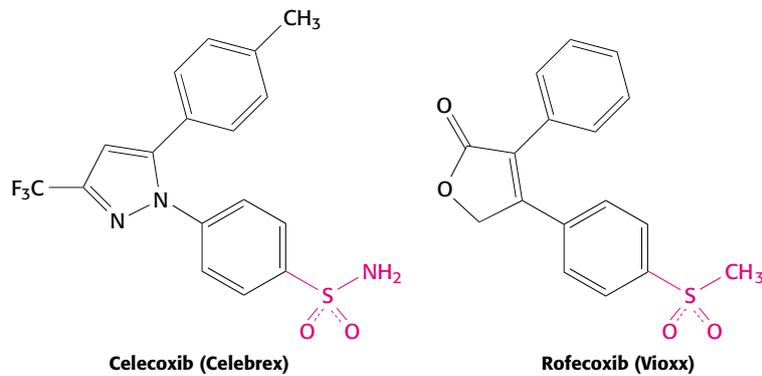


■ **36.22 Optimierung einer Verbindung.** Es werden vier Verbindungen nach ihren Eigenschaften bewertet: Dazu gehören IC₅₀, log (P) und c_{max} (die maximale Konzentration der vorhandenen Verbindung), die im Serum von Hunden gemessen wurden. Die ganz unten gezeigte Verbindung hat das schwächste Inhibitionsvermögen (mittels IC₅₀ bestimmt), aber die weitaus beste Bioverfügbarkeit (mittels c_{max} gemessen). Man wählte diese Verbindung zur Weiterentwicklung aus, und sie führte zum Arzneistoff Indinavir (Crixivan).

HI-Virus inhibieren. Betrachten wir die Entwicklung des Proteaseinhibitors Indinavir (Crixivan, S. 268): Man entdeckte zwei Serien vielversprechender Inhibitoren, die hohe Wirkung zeigten, aber schlecht löslich waren und eine niedrige Bioverfügbarkeit besaßen. Röntgenkristallographische Analysen und der Entwurf des Molekülmodells ließen vermuten, dass ein Hybridmolekül sowohl eine hohe Wirkung als auch eine verbesserte Bioverfügbarkeit besitzen könnte (■ Abb. 36.21). Die synthetisierte Hybridverbindung zeigte Verbesserungen, bedurfte aber einer weiteren Optimierung. Die Strukturdaten ließen ein Stadium vermuten, an dem Veränderungen toleriert werden könnten. Man erzeugte eine Reihe von Verbindungen und untersuchte sie (■ Abb. 36.22). Die wirksamste Verbindung zeigte eine mäßige Bioverfügbarkeit, aber eine andere Verbindung hatte eine gute Bioverfügbarkeit und eine akzeptable Wirkung. Die mittels oraler Gabe erreichbare maximale Serumkonzentration war signifikant höher als der Spiegel, der erforderlich ist, um die Virusreplikation zu unterdrücken. Dieser Arzneistoff wurde ebenso wie andere Proteaseinhi-

■ **36.23 Auswirkung der Arzneistoffentwicklung gegen HIV.** Die Sterberaten durch HIV-Infektionen (AIDS) offenbaren die enorme Wirkung von Inhibitoren der HIV-Protease und deren Nutzen in Verbindung mit Inhibitoren der Reversen Transkriptase von HIV. Gezeigt sind die Haupttodesursachen bei Personen im Alter von 24 bis 44 Jahren in den Vereinigten Staaten und die mit ihnen in Verbindung stehenden Sterberaten. (Nach Angaben der Centers for Disease Control.)





■ **36.24 COX2-spezifische Inhibitoren.** Diese Verbindungen besitzen hervortretende Stellen (rot markiert), die in eine Tasche im COX2-Isozym passen, aber mit dem COX1-Isozym räumlich kollidieren.

bitoren, die man etwa zur selben Zeit entwickelt hat, in Kombination mit anderen Arzneistoffen zur Behandlung von AIDS eingesetzt, und die Ergebnisse waren ermutigender als jemals zuvor (■ Abb. 36.23).

Wie bereits besprochen, zielt Aspirin auf die Cyclooxygenasestelle in der Prostaglandin-H₂-Synthase. Untersuchungen an Tieren lassen vermuten, dass Säugetiere nicht ein, sondern zwei verschiedene Cyclooxygenaseenzyme besitzen, die beide das Ziel von Aspirin sind. Das Enzym Cyclooxygenase 2 (COX2) wird in erster Linie im Rahmen einer Entzündungsreaktion exprimiert, wohingegen die Cyclooxygenase 1 (COX1) allgemeiner exprimiert wird. Diese Beobachtungen legen nahe, dass ein Inhibitor der Cyclooxygenase, der spezifisch für COX2 ist, in der Lage sein könnte, bei arthritischen Zuständen die Entzündungen zu verringern, ohne Nebenwirkungen auf den Magen oder anderer Art hervorzurufen, wie sie bei Aspirin vorkommen.

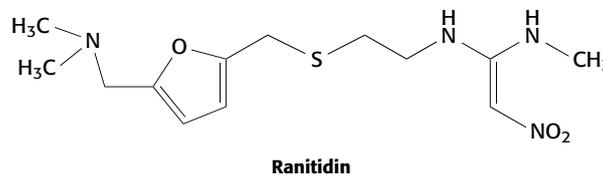
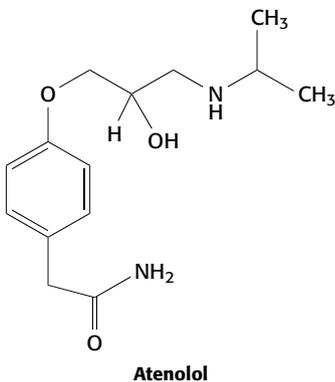
Aus cDNA-Klonierungsanalysen leitete man die Aminosäuresequenzen von COX1 und COX2 ab. Diese Sequenzen stimmen zu über 60 Prozent überein, was ein deutlicher Hinweis darauf ist, dass die Enzyme die gleiche Gesamtstruktur haben. Trotzdem gibt es einige Unterschiede zwischen den Aminosäureresten um die Aspirinbindungsstelle. Wie sich bei einer Röntgenstrukturanalyse zeigte, gibt es bei der COX2 eine Ausdehnung der Bindungstasche, die der COX1 fehlt. Dieser strukturelle Unterschied machte eine Strategie für den Entwurf eines COX2-spezifischen Inhibitors deutlich, und zwar die Synthese von Verbindungen mit einem hervortretenden Bereich, der in die Tasche des COX2-Enzyms passen würde. Man konzipierte und synthetisierte solche Verbindungen, verfeinerte sie weiter und produzierte auf diese Weise wirksame Arzneistoffe, bekannt als Celecoxib (Celebrex) und Rofecoxib (Vioxx) (■ Abb. 36.24). Vioxx wurde nachträglich vom Markt genommen, weil bei einigen Personen unerwünschte Nebenwirkungen auftraten. Diese scheinen auf die Inhibition der COX2 zurückzugehen, das beabsichtigte Ziel. Obwohl die Entwicklung dieser Arzneistoffe ein Triumph für die Arzneistoffkonzeption auf Grundlage der Struktur ist, machen diese Ergebnisse deutlich, dass die Inhibition eines wichtigen Enzyms zu komplexen physiologischen Reaktionen führen kann.

36.3 Genomanalysen sind für die Entdeckung von Arzneistoffen vielversprechend

Die vollständige Sequenzierung des Humangenoms oder anderer Genome treibt die Entwicklung neuer Arzneistoffe stark voran. Genomsequenzierungen und -analyseprojekte haben unser Wissen über die Proteine, die vom menschlichen Genom codiert werden, enorm erweitert. Diese neue Wissensquelle kann die frühen Phasen der Arzneistoffentwicklung stark beschleunigen oder sogar ermöglichen, dass Arzneistoffe maßgeschneidert für den einzelnen Patienten hergestellt werden.

Im Humanproteom lassen sich potenzielle Zielstrukturen identifizieren

Das menschliche Genom codiert schätzungsweise 25 000 Proteine, dabei sind die Variationen nicht mitgezählt, die durch alternatives Spleißen der mRNA und durch Veränderungen nach der Translation erzeugt werden. Viele dieser Proteine sind mögliche Zielstrukturen für Arzneistoffe, insbesondere jene, bei denen es sich um Enzyme oder Rezeptoren handelt und die bei Aktivierung oder Inhibition wichtige biologische Wirkungen haben. Einige große Proteinfamilien stellen besonders reiche Quellen für Zielmoleküle dar. Zum menschlichen Genom gehören beispielsweise mehr als 500 Proteinkinasen, die sich durch den Vergleich der abgeleiteten Aminosäuresequenzen erkennen lassen. Von vielen Kinasen weiß man, dass sie beim Voranschreiten verschiedener Krankheiten eine Rolle spielen. Beispielsweise trägt die Bcr-Abl-Kinase, eine dysregulierte Kinase, die bei einem bestimmten chromosomalen Defekt gebildet wird, nachweislich zu Leukämien bei und ist das Zielmolekül des Arzneistoffes Imatinib Mesylat (Glivec, Abschnitt 14.5). Einige der anderen Proteinkinasen spielen zweifelsfrei ebenso eine zentrale Rolle bei besonderen Krebserkrankungen. In ähnlicher Weise codiert das menschliche Genom annähernd 800 7TM-Rezeptoren (Abschnitt 14.1), wovon in etwa 350 Duftrezeptoren sind. Viele der verbleibenden 7TM-Rezeptoren sind potenzielle Ziele für Arzneistoffe. Manche von ihnen sind bereits Zielmoleküle von Arzneistoffen wie der β -Blocker Atenolol, der auf den β -adrenergen Rezeptor zielt, und das Medikament Ranitidin (Junizac) gegen Magengeschwüre. Letztere Verbindung ist ein Antagonist des Histamin- H_2 -Rezeptors, ein 7TM-Rezeptor, der an der Steuerung der Magensaftsekretion beteiligt ist.

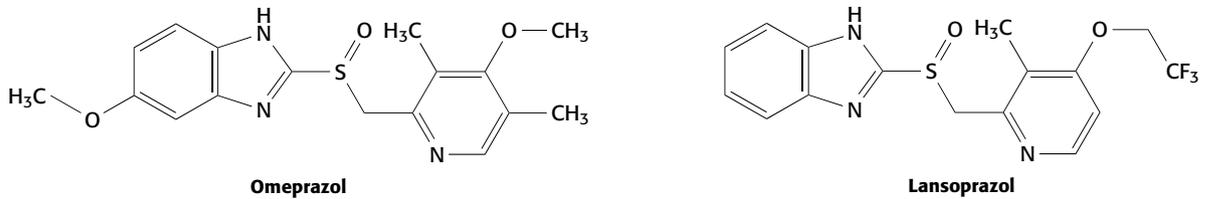


Durch Verwendung von Genominformationen lassen sich leichter neue Proteine identifizieren, die nicht Teil einer großen Familie sind, welche bereits Zielmoleküle für Arzneistoffe bietet. Es gibt eine Reihe von Wegen, Proteine zu identifizieren, die im Rahmen von Arzneistoffentwicklungsprogrammen als Zielmoleküle dienen könnten. Eine Möglichkeit ist, bei Zellen von kranken Organismen nach Veränderungen des Expressionsmusters, der Proteinlokalisierung oder der posttranslationalen Modifikation zu suchen. Untersuchungen von Geweben oder Zelltypen, in denen besondere Gene exprimiert werden, stellen einen weiteren Weg dar. Die Analyse des Humangenoms sollte die Anzahl der aktiv verfolgten Zielmoleküle für Arzneistoffe schätzungsweise um den Faktor zwei oder mehr erhöhen.

Potenzielle Zielmoleküle für Arzneistoffe können in Tiermodellen getestet werden

Inzwischen hat man die Genome einer Reihe von Modellorganismen sequenziert. Für die Arzneistoffentwicklung ist das Genom der Maus am bedeutendsten. Bemerkenswert ist, dass die Sequenzen von Maus- und Humangenom zu annähernd 85 Prozent übereinstimmen; mehr als 98 Prozent aller menschlichen Gene haben ein entsprechendes Gegenstück in der Maus. Untersuchungen an der Maus sind für Arzneistoffentwickler ein wichtiges Werkzeug – insbesondere die Zerstörung bestimmter Gene der Maus (*knock out*) (S. 169). Zeigt die Zerstörung eines Gens eine gewünschte Wirkung, dann ist das Genprodukt ein vielversprechendes Ziel für Arzneistoffe. Die Nützlichkeit dieses Ansatzes hat sich rückblickend gezeigt. Zerstört man zum Beispiel das Gen für die α -Untereinheit der H^+ - K^+ -ATPase, des Schlüsselenzyms für die Säuresekretion im Magen, so erhält man Mäuse mit weniger Magensäure. Bei solchen Mäusen beträgt der pH-Wert des Magens 6,9, und das unter Bedingungen, die bei den entsprechenden Wildtypen einen Magen-pH-Wert von 3,2

hervorrufen. Dieses Protein ist Ziel der Arzneistoffe Omeprazol (Omepr) und Lansoprazol (Agopton), die zur Behandlung der gastroösophagealen Refluxkrankheit eingesetzt werden.



In einem groß angelegten Projekt versucht man derzeit, Hunderte oder Tausende von Mausstämmen zu erzeugen, bei denen jeweils ein anderes Gen ausgeschaltet ist (sogenannte Knockout-Mäuse). Der Phänotyp dieser Mäuse ist ein guter Indikator dafür, ob ein Protein, das von dem deaktivierten Gen codiert wird, ein vielversprechendes Ziel für einen Arzneistoff darstellt. Durch diesen Ansatz können Arzneistoffentwickler potenzielle Ziele abschätzen, ohne vorher irgendeine Vorstellung von ihrer physiologischen Funktion zu haben.

Im Genom von Krankheitserregern lassen sich potenzielle Zielstrukturen identifizieren

Menschliche Proteine sind nicht die einzigen wichtigen Zielstrukturen für Arzneistoffe. Arzneistoffe wie Penicillin und Inhibitoren der HIV-Protease wirken auf Proteine innerhalb eines Pathogens. Nun hat man das Genom von Hunderten von Pathogenen sequenziert und kann in diesen Genomsequenzen nach möglichen Zielmolekülen suchen.

Zur Bekämpfung von Bakterien, die resistent gegen viele der vorhandenen Antibiotika geworden sind, werden neue Antibiotika benötigt. Bei einem Ansatz sucht man nach Proteinen, die für das Überleben der Zelle notwendig sind und die bei einer großen Reihe von Bakterien konserviert wurden. Von Arzneistoffen, die derartige Proteine inaktivieren, ist zu erwarten, dass es sich um Breitbandantibiotika handelt, die zur Behandlung bakterieller Infektionen einer Reihe verschiedener Bakterien nützlich sind. Ein solches Protein ist die Peptid-Deformylase, das Enzym, das vom Aminoende bakterieller Proteine direkt nach der Translation vorhandene Formylgruppen entfernt (■ Abb. 30.19).

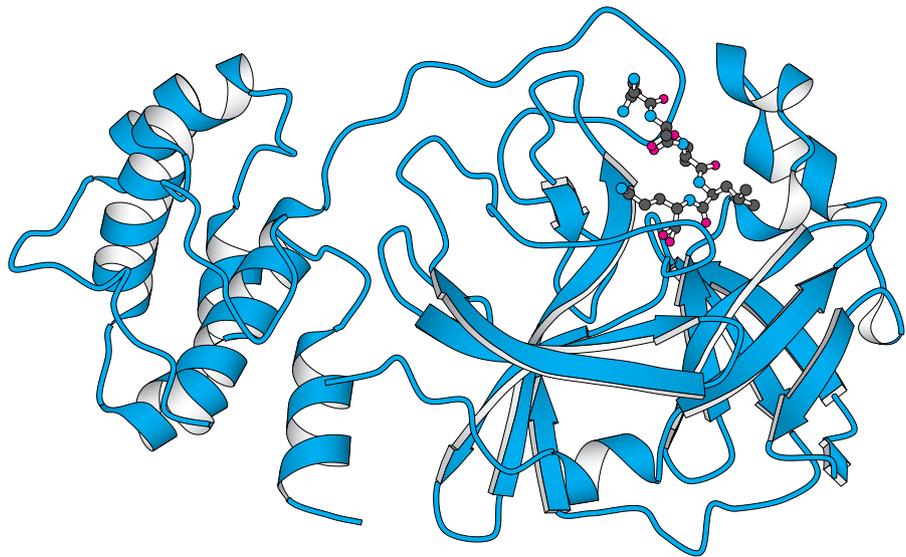
Andererseits kann es auch vorkommen, dass man einen Arzneistoff gegen einen spezifischen Erreger benötigt. Der Krankheitserreger, der für das Schwere Akute Respiratorische Syndrom (*severe acute respiratory syndrome*, SARS) verantwortlich ist, ist ein solches Beispiel aus neuerer Zeit. Innerhalb eines Monats, in dem man diese aufkommende Krankheit erkannte, hatten die Forscher das symptomverursachende Virus isoliert, und innerhalb von Wochen war sein Genom mit 29 751 Basen vollständig sequenziert. Diese Sequenz enthüllte ein Gen, das eine virale Protease codiert. Aus anderen Untersuchungen an Mitgliedern der Familie der Coronaviren, zu denen auch das SARS-Virus zählt, weiß man, dass diese Protease für die Virusreplikation unbedingt notwendig ist. Arzneistoffentwickler sind bereits dabei, nach spezifischen Inhibitoren dieser Protease zu suchen (■ Abb. 36.25).

Genetische Unterschiede beeinflussen die individuelle Reaktion auf Arzneistoffe

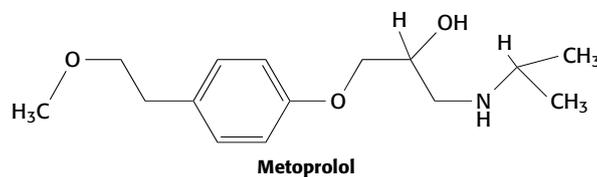
Wegen der genetischen Unterschiede zwischen den Individuen sind viele Arzneistoffe nicht bei jedem wirksam. Nichtreagierende Individuen können entweder leichte Abwandlungen des Arzneistoffzielstrukturen oder der Proteine besitzen, die am Arzneistofftransport oder -metabolismus beteiligt sind. Ziel der neu aufkommenden Pharmakogenetik und Pharmakogenomik ist es, Arzneistoffe zu konzipieren, die entweder bei allen Menschen einheitlich wirken oder für Personen mit bestimmten Genotypen maßgeschneidert sind.

36.25 Ein Zielmolekül für Arzneistoffe

taucht auf. Gezeigt ist die Struktur einer Protease aus dem Coronavirus, das SARS (Schweres Akutes Respiratorisches Syndrom) verursacht, gebunden an einen Inhibitor. Diese Struktur hat man in weniger als einem Jahr nach Identifikation des Virus bestimmt. (Zeichnung nach 1P9S.pdb.)

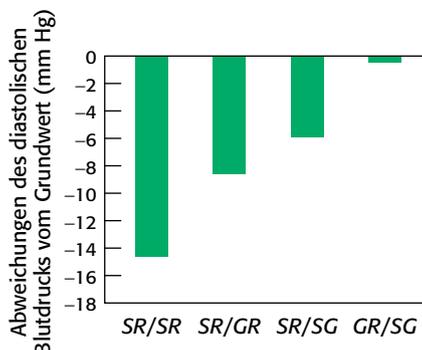


Arzneistoffe wie Metoprolol, die auf den β_1 -adrenergen Rezeptor zielen, sind bei der Behandlung von Bluthochdruck üblich. Diese Medikamente werden häufig als „Betablocker“ bezeichnet.

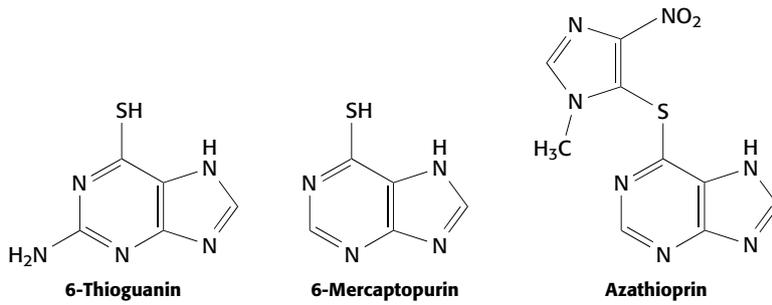


Doch reagieren manche Menschen darauf nicht wie gewünscht. Innerhalb der Bevölkerung der USA gibt es zwei Genvarianten, die den β_1 -adrenergen Rezeptor codieren. Beim am weitesten verbreiteten Allel befindet sich an der Position 49 ein Serin und an Position 389 ein Arginin. Bei manchen Menschen ersetzt jedoch Glycin eine dieser Aminosäuren. Bei Untersuchungen reagierten die Teilnehmer mit zwei Kopien des üblichen Allels gut auf Metoprolol: Ihr diastolischer Tagesblutdruck verringerte sich im Durchschnitt um $14,7 \pm 2,9$ mm Hg. Im Gegensatz dazu zeigten die Teilnehmer mit einer Allelvariante eine geringere Blutdruckabnahme, und bei den Teilnehmern mit zwei Allelvarianten hatte der Arzneistoff keine signifikante Wirkung (Abb. 36.26). Diese Beobachtungen weisen darauf hin, dass eine genetische Typisierung einzelner Menschen an diesen Positionen hilfreich sein kann. Es ließe sich dann vorhersagen, ob eine Behandlung mit Metoprolol oder anderen Betablockern wahrscheinlich wirksam ist oder nicht.

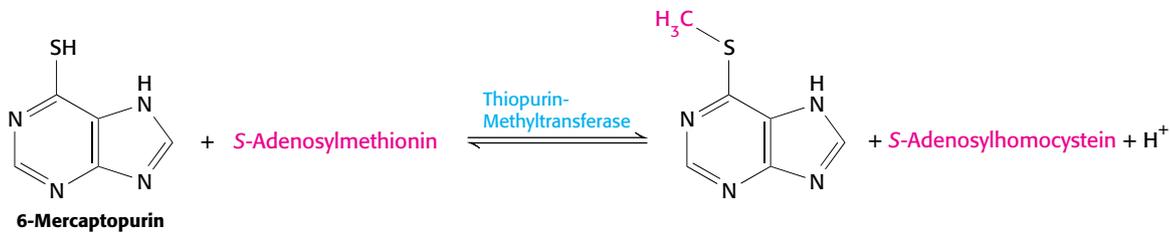
Angesichts der Bedeutung, welche die ADME- und die Toxizitätseigenschaften für die Bestimmung der Arzneistoffwirksamkeit haben, überrascht es nicht, dass Änderungen an Proteinen, die am Transport und Stoffwechsel von Arzneistoffen beteiligt sind, die Wirksamkeit eines Arzneistoffes verändern können. Ein wichtiges Beispiel ist die Verwendung von Thiopurinarnzneistoffen wie 6-Thioguanin, 6-Mercaptopurin und Azothioprin zur Behandlung von Krankheiten einschließlich Leukämie, Immunerkrankungen und entzündlichen Darmerkrankungen.



36.26 Beziehung zwischen Phänotyp und Genotyp. Durchschnittliche Veränderungen des diastolischen Blutdrucks nach Behandlung mit Metoprolol. Personen mit zwei Kopien des verbreitetsten Allels ($S_{49}R_{389}$) zeigten eine signifikante Abnahme des Blutdrucks. Personen mit einer Allelvariante (GR oder SG) wiesen nur eine mäßige Blutdruckabnahme auf, bei solchen mit zwei Allelvarianten (GR/SG) sank der Blutdruck nicht. (Aus Johnson JA et al (2003) *Clin Pharmacol Ther* 74: 44–52.)



Eine Minderheit der Patienten, die mit diesen Arzneistoffen behandelt werden, zeigt Zeichen von Vergiftungen bei einer Dosierung, die von den meisten Patienten gut getragen wird. Diese Unterschiede zwischen den Patienten sind auf seltene Variationen des Gens zurückzuführen, welches das xenobiotische Stoffwechsellenzym Thiopurin-Methyltransferase codiert, das an Schwefelatome eine Methylgruppe anfügt.



Die Enzymvariante ist weniger stabil. Bei unachtsamer Anwendung können sich bei Patienten mit diesen Enzymvarianten toxische Arzneistoffspiegel entwickeln. Die genetische Variabilität eines Enzyms, das an der Metabolisierung eines Arzneistoffes beteiligt ist, spielt bei der Bestimmung der unterschiedlichen Toleranz von verschiedenen Menschen gegenüber bestimmten Arzneistoffkonzentrationen eine große Rolle. Viele andere Enzyme des Arzneistoffmetabolismus und Arzneistofftransportproteine sind mit der Steuerung individueller Reaktionen auf spezifische Arzneistoffe in Verbindung gebracht worden. Die Identifizierung der genetischen Faktoren wird ein tieferes Verständnis dafür ermöglichen, warum manche Arzneistoffe bei einigen Personen gut wirken, bei anderen hingegen kaum. In Zukunft könnte ein Arzt als Unterstützung für die Planung des medikamentösen Therapieprogramms die Gene eines Patienten untersuchen.

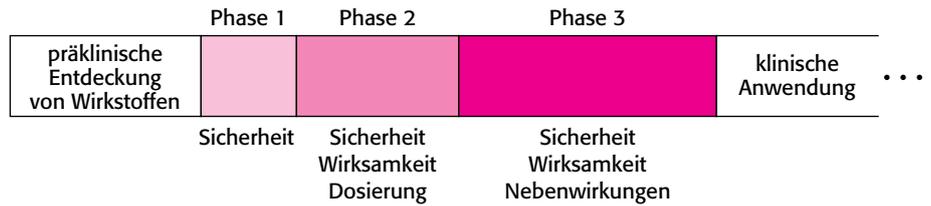
36.4 Die Entwicklung von Arzneistoffen erfolgt in mehreren Stufen

In den Vereinigten Staaten verlangt die Arzneimittelzulassungsbehörde FDA, dass für Arzneistoffkandidaten der Nachweis ihrer Wirksamkeit und Sicherheit erbracht wird, bevor sie im großen Maßstab beim Menschen zum Einsatz kommen. Diese Regelung trifft insbesondere auf Arzneistoffkandidaten zu, die von relativ gesunden Personen eingenommen werden sollen. Bei Kandidaten zur Behandlung schwer kranker Personen wie Menschen mit ernsthaften Krebsformen, bei denen die Prognose ohne wirksame Behandlung eindeutig ungünstig ist, werden Nebenwirkungen dagegen eher akzeptiert.

Klinische Studien sind zeitintensiv und kostspielig

In klinischen Studien werden die Wirksamkeit und die möglichen Nebenwirkungen eines Arzneistoffkandidaten getestet, bevor er von der FDA zur allgemeinen Verwendung zugelassen wird. Die Studien verlaufen in mindestens drei Phasen (■ Abb. 36.27). In

■ **36.27 Stufen von klinischen Studien.** Klinische Studien verlaufen in Stufen, welche die Sicherheit und Wirksamkeit in zunehmend größeren Gruppen untersuchen.



Phase 1 nimmt eine kleine Anzahl (gewöhnlich zwischen 10 und 100) gesunder Freiwilliger den Arzneistoff für eine erste Sicherheitsuntersuchung. Diesen Freiwilligen verabreicht man eine Reihe von Dosierungen und beobachtet sie im Hinblick auf Anzeichen einer Vergiftung. Die Wirksamkeit des Arzneistoffkandidaten wird nicht speziell bewertet.

In Phase 2 testet man die Wirksamkeit des Arzneistoffkandidaten an einer kleinen Zahl von Personen, die von diesem Arzneistoff profitieren können. Dadurch erhält man weitere Daten bezüglich der Sicherheit des Arzneistoffes. Dabei handelt es sich häufig um kontrollierte Studien oder um Doppelblindstudien. Bei kontrollierten Studien werden die Personen in zwei Gruppen aufgeteilt. Personen in der Behandlungsgruppe erhalten den zu testenden Arzneistoff, Personen in der Kontrollgruppe erhalten entweder ein Placebo – das heißt beispielsweise eine Behandlung mit Zuckerpillen, von denen man weiß, dass sie keinen spezifischen Einfluss haben – oder die beste verfügbare Standardbehandlung, wenn das Vorenthalten einer Behandlung ethisch nicht vertretbar wäre. Bei einer Doppelblindstudie wissen weder die Patienten noch die Forscher, welche Personen zur Behandlungsgruppe und welche zur Kontrollgruppe gehören. Eine solche Doppelblindstudie verhindert Voreingenommenheit im Verlauf der Untersuchung. Nach Abschluss der Studie wird die Zuordnung der Patienten zur Behandlungs- bzw. zur Kontrollgruppe bekannt gegeben, und man vergleicht die Ergebnisse der beiden Gruppen. In Phase-2-Studien wird häufig eine Reihe von Dosierungen untersucht, um beurteilen zu können, welche frei von ernsthaften Nebenwirkungen und welche wirksam zu sein scheinen.

Den Placeboeffekt – das heißt, eine Verbesserung der Beschwerden bei Probanden wahrzunehmen, die davon ausgehen, dass sie eine potenziell zuträgliche Behandlung erhalten haben – sollte man nicht unterschätzen. Bei einer Studie zur arthroskopischen Chirurgie bei Knieschmerzen beispielsweise zeigten sich bei denjenigen Testpersonen, denen man mithilfe von Videobändern und anderen Mitteln suggerierte, sie seien operiert worden, durchschnittlich im gleichen Maße Verbesserungen wie Personen, die tatsächlich operiert worden waren.

In Phase 3 führt man ähnliche Untersuchungen an einer größeren Personengruppe durch. Diese Phase dient dazu, die Wirkung des Arzneistoffkandidaten noch sicherer nachzuweisen und auch solche Nebenwirkungen zu entdecken, die nur bei einem kleinen Prozentsatz der behandelten Personen auftreten. An einer typischen Phase-3-Studie können Tausende von Personen teilnehmen.

Klinische Studien können außerordentlich kostspielig sein. Hunderte oder Tausende Patienten müssen zusammengestellt und während der Studiendauer beobachtet werden. An der Konzeptionierung und Durchführung solcher Studien sind zahlreiche Ärzte, Krankenschwestern, klinische Pharmakologen, Statistiker und andere beteiligt. Die Kosten können sich auf Beträge im dreistelligen Millionenbereich belaufen. Die ausführlichen Aufzeichnungen einschließlich der Dokumentation von allen unerwünschten Ereignissen müssen aufbewahrt werden. Die Daten werden gesammelt und bei der FDA eingereicht. Die Gesamtkosten für die Entwicklung eines neuen Arzneistoffes betragen gegenwärtig schätzungsweise 400 bis 800 Millionen US-Dollar.

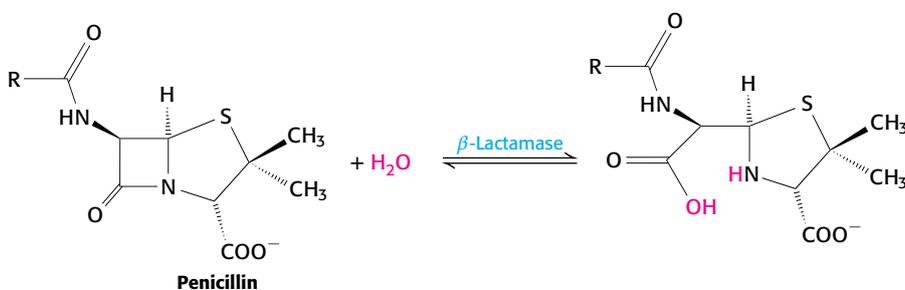
Schwierigkeiten können sogar noch auftreten, nachdem ein Arzneistoff zugelassen wurde. Wie an früherer Stelle erwähnt, wurde zum Beispiel Rofecoxib (Vioxx) vom Markt genommen, nachdem man in zusätzlichen klinischen Studien gravierende Nebenwirkungen am Herzen festgestellt hatte. Solche Ereignisse machen deutlich, wie wichtig es für jeden Anwender eines Arzneistoffes ist, die positive Wirkung gegen das mögliche Risiko abzuwägen.

Die Entwicklung einer Arzneistoffresistenz kann die Nützlichkeit von Arzneistoffen gegen infektiöse Erreger oder Krebs einschränken

Viele Arzneistoffe werden über lange Zeiträume eingesetzt, ohne dass es zu irgendeinem Wirksamkeitsverlust käme. In manchen Fällen jedoch, insbesondere bei der Behandlung von Krebs und Infektionskrankheiten, verlieren anfangs wirksame Verbindungen mit der Zeit ihre Effizienz. Mit anderen Worten: Die Krankheit wird gegenüber der Arzneistofftherapie resistent. Wie kommt es zu einer solchen Entwicklung? Infektionskrankheiten und Krebs besitzen ein gemeinsames Merkmal – nämlich, dass eine betroffene Person viele Zellen (oder Viren) besitzt, die mutieren und sich vermehren können. Diese Bedingungen bilden die Voraussetzung dafür, dass eine Evolution stattfinden kann. Ein einzelner Mikroorganismus oder eine Krebszelle kann zufällig eine genetische Veränderung tragen, die sie in Gegenwart des Arzneistoffes für das Wachstum und zur Vermehrung geeigneter werden lassen als den Rest der Population von Mikroorganismen oder Krebszellen. Diese Mikroorganismen oder Zellen sind teilungsaktiver als andere in ihrer Population, und sie neigen dazu, die Population zu dominieren. Wird der vom Arzneistoff ausgehende Selektionsdruck fortwährend ausgeübt, neigt die Population der Mikroorganismen oder Krebszellen dazu, immer resistenter gegenüber dem Arzneistoff zu werden. Eine Resistenz kann sich durch eine Reihe von Mechanismen entwickeln.

Die früher besprochenen Inhibitoren der HIV-Protease sind ein wichtiges Beispiel für die Entwicklung der Arzneistoffresistenz. Retroviren eignen sich sehr gut für diese Art der Entwicklung, weil die Reverse Transkriptase die Replikation ohne eine Korrekturlesefunktion ausführt. In einem Genom aus annähernd 9750 Basen tritt jeden Tag in jedem infizierten Menschen jede mögliche Punktmutation in einem Viruspartikel schätzungsweise mehr als 1000-mal auf. Außerdem gibt es viele Mehrfachmutationen. Die meisten davon haben entweder keine Wirkung oder sind für das Virus schädlich. Einige wenige mutierte Viren codieren jedoch Proteasen, die für die Inhibition durch den Arzneistoff weniger anfällig sind. In Anwesenheit eines Inhibitors der HIV-Protease vermehren sich diese Viren stärker als der Rest der Population. Im Laufe der Zeit werden die unempfindlicheren Viren in der Population dominieren und die Viruspopulation wird gegen den Arzneistoff resistent.

Krankheitserreger können durch völlig andere Mechanismen gegen Antibiotika tolerant werden. Manche Pathogene enthalten Enzyme, die spezifische Antibiotika inaktivieren oder abbauen. Beispielsweise sind viele Organismen gegen β -Lactame wie Penicillin resistent, weil sie β -Lactamasen besitzen. Diese Enzyme hydrolysieren den β -Lactamring und lassen den Arzneistoff unwirksam werden.



Viele dieser Enzyme sind auf Plasmiden codiert, kleinen ringförmigen DNA-Molekülen, die häufig in Bakterien enthalten sind. Viele Plasmide werden leicht von einem Bakterium auf ein anderes übertragen, wodurch die Eigenschaft der Antibiotikaresistenz weitergegeben wird. Damit unterstützt die Plasmidübertragung die Ausbreitung der Resistenz – eine große Herausforderung im Gesundheitswesen. Auf der anderen Seite sind Plasmide für den Einsatz in der Gentechnologie nutzbar (Abschnitt 5.2).

Im Verlauf einer Krebstherapie tritt recht häufig eine Arzneistoffresistenz auf. Krebszellen vermögen rasch zu wachsen, ohne die Beschränkungen, denen normale Zellen unterliegen. Viele Arzneistoffe, die zur Chemotherapie gegen Krebs eingesetzt werden,

inhibieren Vorgänge, die für dieses schnelle Zellwachstum nötig sind. In einzelnen Krebszellen können sich jedoch genetische Veränderungen ansammeln, welche die Wirkung der Arzneistoffe abschwächen. Diese veränderten Krebszellen wachsen viel schneller als andere und dominieren schließlich die Krebszellpopulation. Diese Fähigkeit zur schnellen Mutation ist für einen der größten Durchbrüche bei der Krebsbehandlung eine Herausforderung: die Entwicklung von Inhibitoren von Proteinen, die für Krebszellen bestimmter Leukämien spezifisch sind (Abschnitt 14.5). So konnten beispielsweise keine Tumore bei Patienten nachgewiesen werden, die mit Imatinib Mesylat behandelt wurden, das sich gegen die Bcr-Abl-Proteinkinase richtet. Unglücklicherweise kehren die Tumore bei vielen mit Imatinib Mesylat behandelten Patienten nach ein paar Jahren zurück. In vielen dieser Fälle haben Mutationen das Bcr-Abl-Protein verändert, und dieses wird nicht mehr durch die in der Therapie verwendete Konzentration von Imatinib Mesylat inhibiert.

Krebspatienten nehmen im Verlauf der Chemotherapie häufig mehrere Arzneistoffe zugleich, und in vielen Fällen werden die Krebszellen gleichzeitig gegen viele oder alle Arzneistoffe resistent. Diese Mehrfachresistenz kann auf die Teilung von Krebszellen zurückgehen, die eine Reihe von ABC-Transporterproteinen überexprimieren, welche die Arzneistoffe aus der Zelle pumpen (Abschnitt 13.2). Damit können Krebszellen Arzneistoffresistenzen entwickeln, indem sie normale menschliche Proteine überexprimieren oder indem sie Proteine verändern, die für den Krebsphänotyp verantwortlich sind.

Zusammenfassung

36.1 Die Entwicklung von Arzneistoffen ist eine große Herausforderung

Die meisten Arzneistoffe wirken, indem sie an Enzyme oder Rezeptoren binden und deren Aktivität verändern. Um wirksam zu sein, müssen die Arzneistoffe an diese Zielstrukturen mit hoher Affinität und Spezifität binden. Dennoch ergeben die meisten Verbindungen mit der gewünschten Affinität und Spezifität keine geeigneten Arzneistoffe. Meist werden die Substanzen schlecht resorbiert oder schnell vom Körper ausgeschieden, oder sie werden durch Stoffwechselwege verändert, die auf fremde Verbindungen abzielen. In der Folge erreichen diese Verbindungen bei oraler Aufnahme ihr Zielmolekül nicht in erforderlicher Konzentration über einen ausreichend langen Zeitraum. Die Eigenschaften eines Arzneistoffes bezüglich Resorption, Verteilung, Metabolismus und Ausscheidung bezeichnet man als ADME-Eigenschaften. Die orale Bioverfügbarkeit ist ein Maß für die Fähigkeit des Arzneistoffes, resorbiert zu werden; sie ist das Verhältnis des Konzentrationsmaximums einer oral verabreichten Verbindung zum Konzentrationsmaximum der gleichen, direkt injizierten Dosis. Die Struktur einer Verbindung kann deren Bioverfügbarkeit auf komplexe Weise beeinflussen. Die Lipinski-Regeln sind nützliche, verallgemeinernde Richtlinien. Zum Metabolismus der Arzneistoffe gehören die Oxidation durch Cytochrom- P_{450} -Enzyme, (Phase-I-Metabolismus) und die Konjugation mit Glutathion, Glucuronsäure und Sulfat (Phase-II-Metabolismus). Eine Verbindung ist unter Umständen auch aufgrund ihrer toxischen Eigenschaften kein nützlicher Arzneistoff. Diese können darauf zurückgehen, dass sie das Zielmolekül zu wirksam verändert oder dass sie nicht nur an das Zielmolekül, sondern auch an andere Proteine bindet. Leber und Niere spielen eine zentrale Rolle beim Metabolismus und der Ausscheidung von Arzneistoffen.

36.2 Arzneistoffkandidaten können durch einen glücklichen Zufall oder ein Screening gefunden oder gezielt konzipiert werden

Viele Arzneistoffe hat man durch einen glücklichen Zufall, das heißt durch zufällige Beobachtungen entdeckt. Das Antibiotikum Penicillin wird von einem Schimmelpilz gebildet, der zufällig

eine Kulturschale kontaminierte und dabei die benachbarten Bakterien tötete. Bei Arzneistoffen wie Chlorpromazin und Sildenafil beobachtete man, dass sie positive Auswirkungen auf die menschliche Physiologie hatten, die sich völlig von den erwarteten Veränderungen unterschieden. Die cholesterinsenkenden Arzneistoffe, die Statine, hat man entwickelt, nachdem man eine große Sammlung von Verbindungen auf potenziell interessante Wirkungen geprüft hatte. Methoden der kombinatorischen Chemie wurden entwickelt, um Sammlungen von chemisch verwandten und dennoch unterschiedlichen Verbindungen für ein Screening zu erzeugen. In manchen Fällen steht die dreidimensionale Struktur eines Arzneistoffziel­moleküls zur Verfügung und kann eingesetzt werden, um leistungsfähige und spezifische Inhibitoren zu konzipieren. Beispiele für auf diese Weise entwickelte Arzneistoffe sind die Inhibitoren der HIV-Protease und der Cyclooxygenase 2, Indinavir beziehungsweise Celecoxib.

36.3 Genomanalysen sind für die Entdeckung von Arzneistoffen vielversprechend

Das Humangenom codiert für schätzungsweise 25 000 Proteine, und zählt man die Abkömmlinge hinzu, die auf alternatives Spleißen der mRNA und posttranslationale Modifikation zurückgehen, sind es weit mehr. Die Genomsequenzen kann man nach potenziellen Ziel­molekülen für Arzneistoffe absuchen. Große Proteinfamilien, von denen bekannt ist, dass sie an physiologischen Schlüsselvorgängen beteiligt sind wie die Proteinkinasen und die 7TM-Rezeptoren, lieferten jeweils mehrere Ziel­moleküle, für die man Arzneistoffe entwickelt hat. Auch die Genome von Modellorganismen sind für die Wirkstoffforschung nützlich. Mausstämme, bei denen bestimmte Gene zerstört worden sind, waren für die Bestätigung bestimmter Ziel­moleküle von Nutzen. Die Genome von Bakterien, Viren und Parasiten codieren viele potenzielle Zielstrukturen, die man dank ihrer wichtigen Funktionen in den Organismen und ihrer Unterschiede zu den menschlichen Proteinen verwenden kann, wodurch die Wahrscheinlichkeit von Nebenwirkungen verringert wird. Genetische Unterschiede zwischen einzelnen Menschen können analysiert und mit unterschiedlichen Reaktionen auf Arzneistoffe in Beziehung gesetzt werden; dies ist möglicherweise sowohl für die klinische Behandlung als auch für die Arzneistoffentwicklung hilfreich.

36.4 Die Entwicklung von Arzneistoffen erfolgt in mehreren Stufen

Bevor man Menschen Verbindungen als Arzneimittel verabreichen kann, müssen sie ausgedehnten Sicherheits- und Wirksamkeitsprüfungen unterzogen werden. Klinische Studien werden in mehreren Stufen durchgeführt: Zuerst testet man auf Sicherheit, dann auf Sicherheit und Wirksamkeit innerhalb einer kleinen Personengruppe und schließlich auf Sicherheit und Wirksamkeit in einer größeren Population, um selten vorkommende unerwünschte Nebenwirkungen aufzudecken. Aufgrund der Kosten, die hauptsächlich mit klinischen Studien verbunden sind, schätzt man die Entwicklungskosten für ein neues Medikament in den USA auf 800 Millionen US-Dollar. Komplikationen können selbst dann noch auftreten, nachdem ein Arzneistoff zur Anwendung zugelassen wurde. Bei Infektionskrankheiten und Krebs entwickeln die Patienten häufig eine Resistenz gegen einen Arzneistoff, nachdem ihnen dieser über einen langen Zeitraum verabreicht wurde. Grund dafür ist, dass Varianten des krankmachenden Agens entstehen, die weniger empfindlich für den Arzneistoff sind und sich auch bei Anwesenheit des Arzneistoffes vermehren.

Schlüsselbegriffe

Ligand (S. 1050)
 Dissoziationskonstante (K_d) (S. 1050)
 Nebenwirkungen (S. 1051)
 Inhibitionskonstante (K_i) (S. 1051)
 Cheng-Prusoff-Gleichung (S. 1051)
 ADME (S. 1052)
 orale Bioverfügbarkeit (S. 1052)
 Lipinski-Regeln (S. 1052)
 Kompartiment (S. 1053)
 Blut-Hirn-Schranke (S. 1054)
 xenobiotische Verbindungen (S. 1054)
 Arzneistoffmetabolismus (S. 1054)
 Oxidation (S. 1054)

Konjugation (S. 1054)
 Phase-I-Transformation (S. 1055)
 Phase-II-Transformation (S. 1055)
 erster Stoffwechselschritt (S. 1056)
 Glomerulus (S. 1056)
 enterohepatischer Kreislauf (S. 1056)
 therapeutischer Index (S. 1057)
 Atherom (S. 1060)
 Myopathie (S. 1061)
 Hochdurchsatz-Screening (S. 1062)
 kombinatorische Chemie (S. 1062)
 Split-Pool-Synthese (S. 1062)
 strukturbasierte Arzneistoffkonzeption (S. 1063)

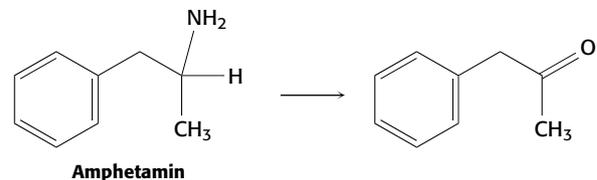
Aufgaben

- Wege zur Entdeckung.** Beschreiben Sie für jeden der nachfolgenden Arzneistoffe, ob dessen physiologische Wirkungen vor oder erst nach Identifizierung des Zielmoleküls bekannt waren.
 - Penicillin
 - Sildenafil (Viagra)
 - Rofecoxib (Vioxx)
 - Atorvastatin (Sortis)
 - Aspirin
 - Indinavir (Crixivan)
- Lipinski-Regeln.** Welche der folgenden Verbindungen erfüllen alle Lipinski-Regeln? (Die $\log(P)$ -Werte sind in den Klammern angegeben.)
 - Atenolol (0,23)
 - Sildenafil (3,18)
 - Indinavir (2,78)
- Berechnen der Log-Tabellen.** Es wurden beträchtliche Anstrengungen unternommen, um Computerprogramme zu entwickeln, welche die $\log(P)$ -Werte vollständig auf der Grundlage der chemischen Struktur abschätzen können. Warum wären solche Programme hilfreich?
- Ein Körnchen Vorbeugung.** Man hat eine Gesetzgebung vorgeschlagen, die es erfordern würde, dass Paracetamoltabletsen *N*-Acetylcystein zugegeben wird. Was würde dieser Zusatz bewirken?
- Ablauf klinischer Studien.** Nennen Sie die Unterschiede zwischen klinischen Studien in Phase 1 und Phase 2, und zwar bezüglich Anzahl der beteiligten Testpersonen, deren Gesundheitszustand und Zielen der Studie.
- Wechselwirkungen zwischen Arzneistoffen.** In diesem Kapitel wurde erwähnt, dass Coumadin ein sehr gefährlicher Arzneistoff sein kann, weil ein Zuviel unkontrollierte Blutungen verursachen kann. Personen, die Coumadin nehmen, müssen vorsichtig sein, wenn sie zusätzlich andere Arzneimittel einnehmen, besonders solche, die an Albumin binden. Schlagen Sie für diese Wechselwirkung zwischen den Arzneimitteln einen Mechanismus vor.
- Ungünstige Kombination.** Erklären Sie, warum Arzneistoffe, die P_{450} -Enzyme inhibieren, besonders gefährlich werden können, wenn man sie in Kombination mit anderen Medikamenten einnimmt.
- Mechanistisch gesprochen.** Nennen Sie einen Vorteil eines nichtkompetitiven Inhibitors als potenzieller Arzneistoff gegenüber einem kompetitiven Inhibitor.
- Eine helfende Hand.** Angenommen, Sie hätten einen Arzneistoff entwickelt, der in der Lage ist, den ABC-Transporter MDR zu inhibieren. Schlagen Sie eine potenzielle Anwendungsmöglichkeit für diesen Arzneistoff in der Chemotherapie gegen Krebs vor.
- Finden Sie eine Zielstruktur.** Trypanosomen sind einzellige Parasiten und Erreger der Schlafkrankheit. Während eines Stadiums ihres Lebenszyklus leben diese Organismen im Blut und beziehen ihre gesamte Energie aus der Glykolyse, die in einem spezialisierten Organ, dem Glykosom, innerhalb des Parasiten stattfindet. Machen Sie Vorschläge für potenzielle Zielmoleküle zur Behandlung der Schlafkrankheit. Welche möglichen Schwierigkeiten sind mit Ihrem Ansatz verknüpft?

- Wissen ist Macht.** Inwiefern könnten genomische Informationen für eine effektive Anwendung von Imatinib Mesylat (Glivec) in der Chemotherapie bei Krebs hilfreich sein?
- Viele Zielobjekte, gleiches Ziel.** Sildenafil übt seine physiologischen Wirkungen aus, indem es die intrazelluläre Konzentration von cGMP erhöht, was zu einer Entspannung der Muskulatur führt. Überlegen Sie sich anhand des Schemas in [Abbildung 36.17](#) eine andere Möglichkeit, den cGMP-Gehalt mithilfe eines kleinen Moleküls zu erhöhen.

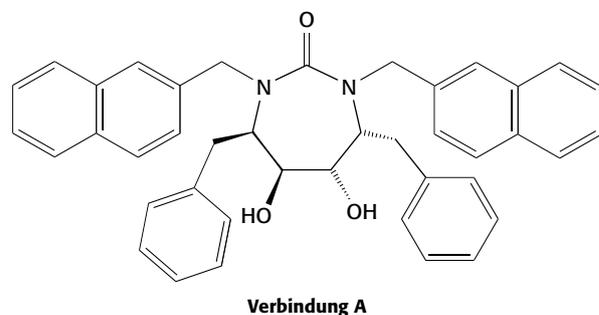
Mechanistische Aufgabe

- Variationen eines Themas.** Der Amphetaminstoffwechsel durch Cytochrom- P_{450} -Enzyme hat die hier gezeigte Umwandlung zur Folge. Schlagen Sie einen Mechanismus vor und zeigen Sie jedes weitere zusätzliche Produkt auf.



Aufgabe zur Dateninterpretation

- Entwurf eines Inhibitors der HIV-Protease.** Verbindung A stammt aus einer Reihe von Verbindungen, die man als wirksame Inhibitoren der HIV-Protease konzipiert hat.



Verbindung A wurde mithilfe von zwei Tests geprüft: 1) direkte Inhibition der HIV-Protease *in vitro* und 2) Inhibition der viralen RNA-Synthese in HIV-infizierten Zellen als ein Maß für die Virusreplikation. Die Testergebnisse sind unten gezeigt. Die Aktivität der HIV-Protease wird mit einem Peptidsubstrat bei einer Konzentration gemessen, die seinem K_M -Wert entspricht.

Verbindung A (nM)	Aktivität der HIV-Protease- (willkürliche Einheiten)
0	11,2
0,2	9,9
0,4	7,4
0,6	5,6
0,8	4,8
1	4,0
2	2,2
10	0,9
100	0,2

Verbindung A (mM)	Produktion viraler RNA (willkürliche Einheiten)
0	760
1,0	740
2,0	380
3,0	280
4,0	180
5,0	100
10	30
50	20

Schätzen Sie die Werte für den K_i von Verbindung A im Proteaseaktivitätstest und für ihren IC_{50} im viralen RNA-Bildungstest.

Behandelt man Ratten mit der relativ hohen oralen Dosis von 20 mg kg^{-1} , so hat das eine maximale Konzentration von Verbindung A von $0,4 \mu\text{M}$ zur Folge. Erwarten Sie aufgrund dieses Wertes, dass Verbindung A wirksam die HIV-Replikation verhindert, wenn sie oral genommen wird?