



Arzneimittelforschung - Vom Zufall zum Entwurf

Hugo Kubinyi

E-Mail kubinyi@t-online.de
HomePage www.kubinyi.de



Basilus Besler
Hortus Eystettensis
Eichstätt, 1613

Meerzwiebel
(*Scilla alba* =
Urginea maritima)



Wirkstoffsuche - Frühe Ansätze

Volksmedizin (meist Pflanzen)

pro: tausende Jahre tradierter Erfahrung

con: schlecht reproduzierbar
(keine Standardisierung)

Wirkung am Menschen

pro: das "geeignete" Objekt

con: Toxizität



Klinische Studie zur Skorbutbehandlung (1747)

James Lind behandelte je zwei an Skorbut erkrankte Matrosen:

Gruppe 1: ein Viertel Apfelwein, täglich

Gruppe 2: 25 Tropfen Schwefelsäure + Schwefelsäure gurgeln, tgl.

Gruppe 3: 3 x 2 Löffel Essig + Essig gurgeln, täglich

Gruppe 4: eine halbe Pinte (ca. 1/4 L) Meerwasser, täglich

Gruppe 5: 2 Orangen und 1 Zitrone, täglich

(nur über 6 Tage, wegen begrenzter Vorräte)

Gruppe 6: täglich eine Kombination aus Knoblauch, Senfsamen, Meerrettich, Perubalsam, Myrrhengummi, Gerstensud und Weinstein.



nur die Matrosen der Gruppe 5
erholten sich: nach 6 Tagen konnten
sie wieder ihren Dienst antreten.

M. L. Podolsky, Cures out of Chaos,
Harwood Academic Publishers, 1997

Eine frühe klinische Studie - Kaffee oder Tee ?



Gustav III, schwedischer König im späten 18. Jhdt., wollte die schädliche Wirkung des Kaffeetrinkens mit einer "kontrollierten klinischen Studie" beweisen. Ein verurteilter Mörder musste lebenslang Kaffee trinken, ein anderer nur Tee. Überwacht wurde die Studie von zwei Ärzten.

Zuerst starb der eine Arzt.

Dann starb der andere Arzt.

Der König wurde 1792 ermordet (Guiseppe Verdi, "Un Ballo in Maschera", Ein Maskenball, 1859).

Der Teetrinker starb im Alter von 83 Jahren.

Der Kaffeetrinker überlebte alle - Alter unbekannt.

Trotzdem wurde 1794 das Kaffeetrinken in Schweden verboten, ein zweites Mal 1822.

An early clinical trial, *Ann. Int. Med.* **117**, 1, 30 (1992)

Zufallsentdeckungen von Wirkstoffen

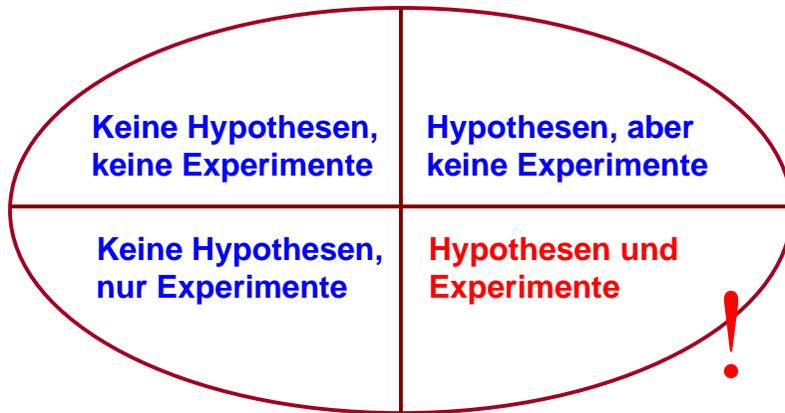
Acetanilid, Acetylsalicylsäure, Aminoglutethimid, Amphetamin, Chloralhydrat, Chlordiazepoxid, Chlorpromazin, Cinnarizin, Cisplatin, Clonidin, Cromoglycat, Cyclosporin, Dichlorisoprenalin, Dicumarol, Diethylstilbestrol, Diphenhydramin, Diphenoxylat, Disulfiram, Ether, Etomidat, Griseofulvin, Guanethidin, Haloperidol, Heparin, Imipramin, Iproniazid, Isoniazid, Lachgas, Levamisol, Lithiumcarbonat, Lysergid (LSD), Meprobamat, Merbaphen, Methaqualon, Mifepriston, Naftifin, Nalorphin, Nitroglycerin, Norethynodrel/Mestranol, Penicillin, Pethidin (Meperidin), Phenylbutazon, Phenolphthalein, Praziquantel, Prednison, Propafenon, Stickstoff-Lost, Sulfamidochrysoidin, Sulfonamide, Tamoxifen, Urethan, Valproinsäure, Warfarin.

Süßstoffe: Saccharin, Cyclamat und Aspartam

R. M. Roberts, Serendipity - Accidental Discoveries in Science, John Wiley & Sons, New York, 1989

H. Kubinyi, Chance Favors the Prepared Mind. From Serendipity to Rational Drug Design, *J. Receptor & Signal Transduction Research* **19**, 15-39 (1999).

Die vier möglichen Strategien der Forschung



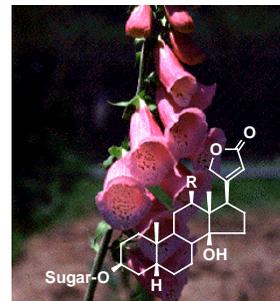
Rolf Zinkernagel (Nobelpreis Medizin 1996), Zürich, 1997

Wirkstoffsuche - klassische Strategien

Naturstoffe und deren Analoga

pro: hohe Quote aktiver Substanzen
große chemische Diversität

con: Verfügbarkeit oft problematisch
meist aufwendige Chemie



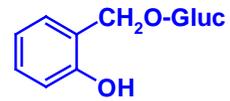
Animal experiments

pro: ADMET wird erfasst

con: zeitaufwändig und teuer
ethische Einwände

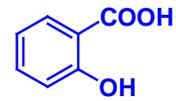


Signaturenlehre: „Die Natur hilft dem Menschen“



Salicin, ein Pro-Prodrug

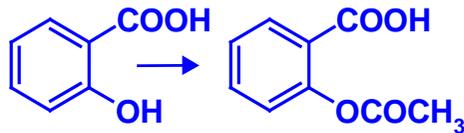
↓ Hydrolyse, Oxidation



Salicylsäure

Weide – Wurzeln im Wasser – Füße im Wasser - Erkältung

Aspirin[®], das Wundermittel
(Felix Hoffmann, 1897)



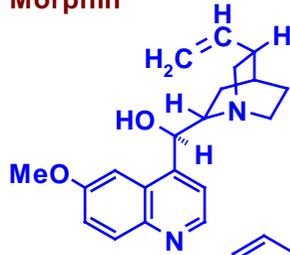
Leitstrukturen: Naturstoffe aus Pflanzen



Morphin



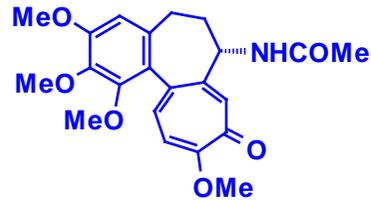
Coffein



Chinin

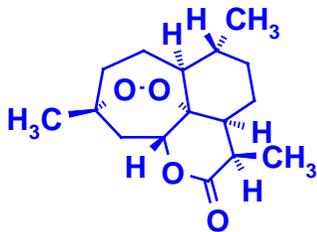


Ephedrin



Colchicin

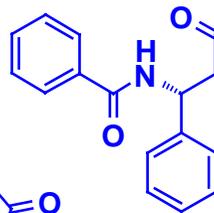
Leitstrukturen: Naturstoffe aus Pflanzen



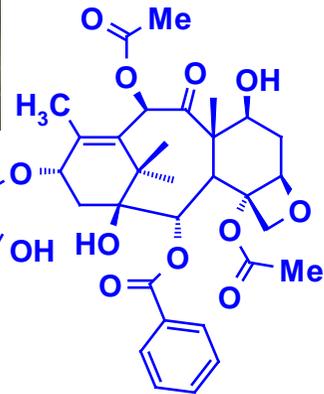
Artemisinin

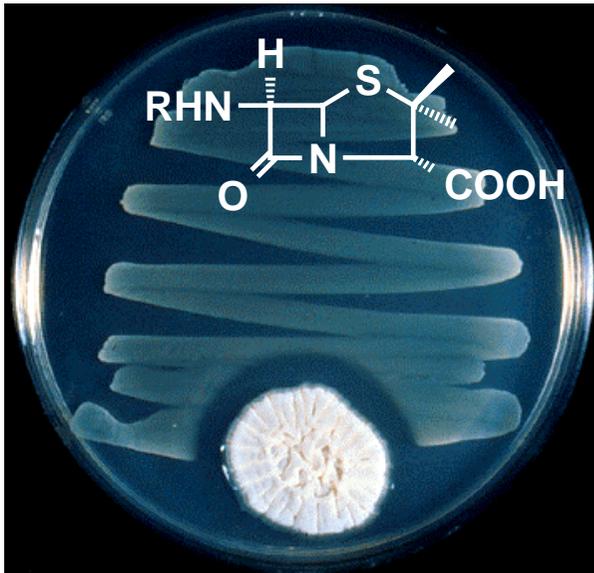


Huperzin A



Taxol





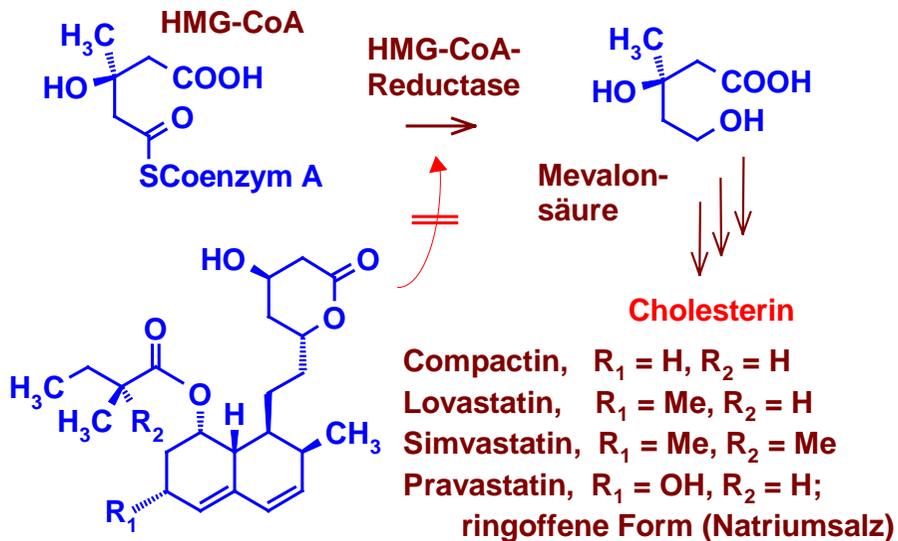
„Penicillin happened, it came out of the blue.“

A. Fleming, 1930

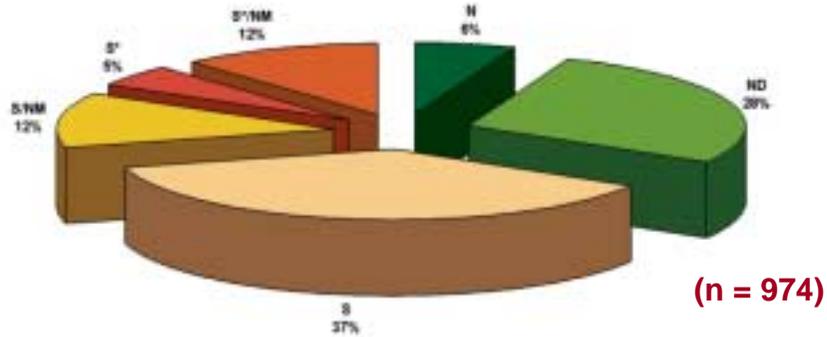
„Das Glück begünstigt den vorbereiteten Geist“

L. Pasteur, 1854

Leitstrukturen: Naturstoffe aus Mikroorganismen



Alle NCE's, 01/1981 - 06/2006, nach Herkunft (ohne Proteine und Impfstoffe)



N = Naturstoffe

ND = von Naturstoffen abgeleitet

S = Synthetika

NM = Naturstoff-Mimics

S* = Synthetika, aber Pharmakophor von Naturstoff abgeleitet

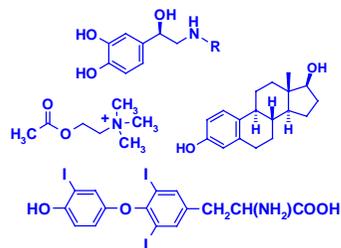
D. J. Newman und G. M. Cragg, J. Nat. Prod. 70, 461-477 (2007)

Wirkstoffforschung - Das goldene Zeitalter

Endogene Transmitter und Hormonee

pro: aktive Leitstrukturen
relevant für viele Erkrankungen

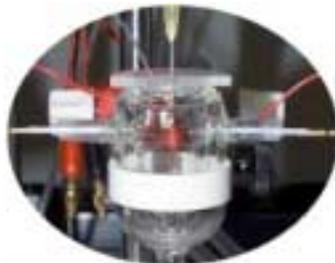
con: begrenzte Zahl von Leitstrukturen



Isolierte Organe als Testmodelle

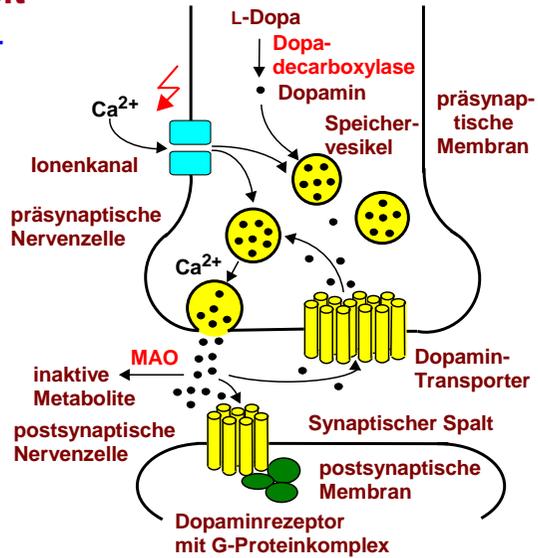
pro: erfasst Membranpermeabilität

con: zeitaufwendig und teuer
keine ADMET-Information
ethische Einwände



Parkinson-Krankheit

wird durch einen Dopamin-Mangel in bestimmten Gehirnarealen ausgelöst



Rationale Therapie der Parkinson-Krankheit

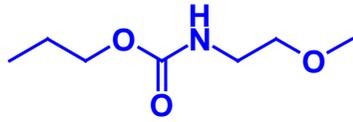
	gesund	krank
ACh	+	+
Dopamin	+	-

Therapie
ACh ↓ oder
Dopamin ↑

Probleme
Dopamin nicht bio-
verfügbar, periphere
NW, Abbau durch
MAO

orales L-DOPA,
peripherer DOPA-
Decarboxylase-
hemmer, zentraler
MAO-Blocker

Die Entwicklungsgeschichte des Omeprazols



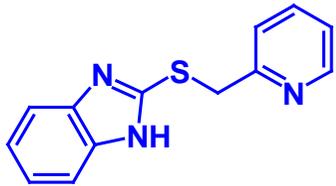
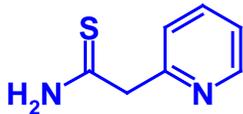
1966: Lokalanesthetika reduzieren Magensäuresekretion (Hässle)

1966-1972: Erste Leitstruktur

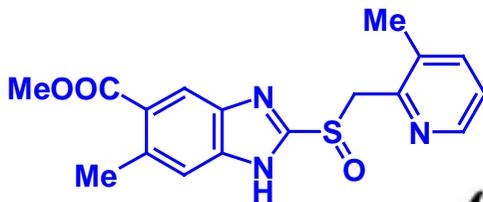
1972-1979: Neue Leitstruktur

Pyridylacetamid (Screening antiviraler Verbindungen)

aktive Analoge; Metabolit mit stärkerer antisekretorischer Wirkung



Die Entwicklungsgeschichte des Omeprazols



Picoprazol, 1976
präklinischer Kandidat

Tox-Studie:



Zuchthund
Fabian

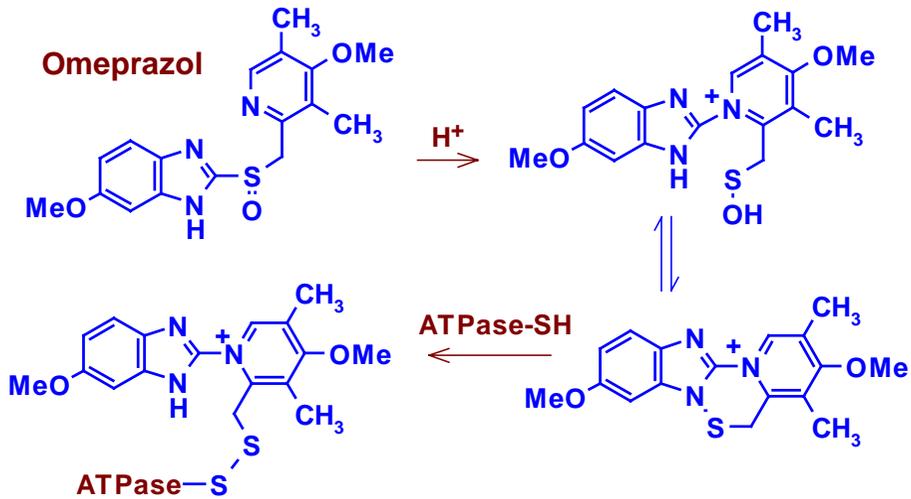
Vaskulitis



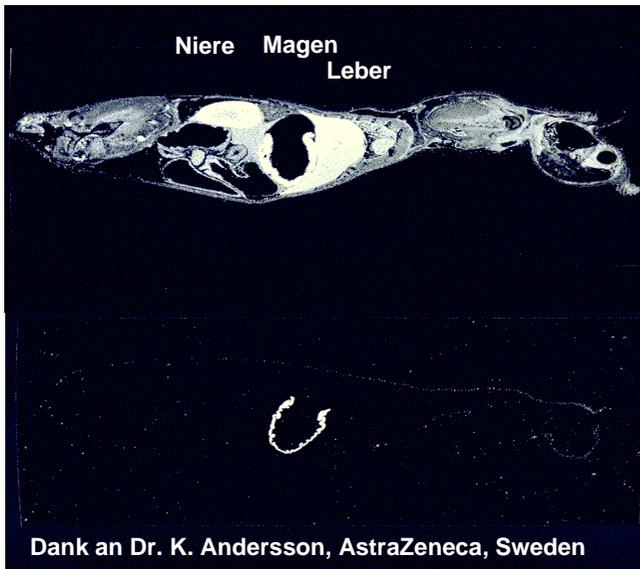
Picoprazol-Gruppe

Placebo-Gruppe

Wirkstoffaktivierung in säureproduzierenden Zellen - eine Zufallsentdeckung



Aktivierung von Omeprazol in den Parietalzellen



Verteilung von
radiomarkiertem
Omeprazol,
eine Minute nach
i.v.-Injektion, Ratte

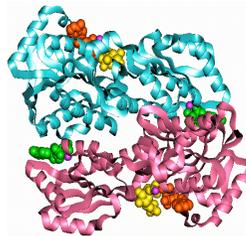
sechzehn Stunden
nach i.v.-Injektion,
Ratte

Wirkstoffsuche - "Rationale" Ansätze

Strukturbasierter und computergestützter Entwurf

pro: direkte, targetgerichtete Methode

con: nur Targets mit bekannter 3D-Struktur
nur Ligandenentwurf - kein ADMET
Risiko des Versagens



In vitro-Testmodelle

pro: sehr rasch (bis zu 100.000 / Tag)
targetgerichtet

con: keine ADMET
single target



A. Cressy Morrison

Man in a Chemical World
The Service of Chemical Industry

Ch. Scribner's Sons, NY, 1937

„Gestützt von der reinen
Wissenschaft erfüllt die
chemische Industrie die
Erfordernisse der
Menschheit“

Die Grippe

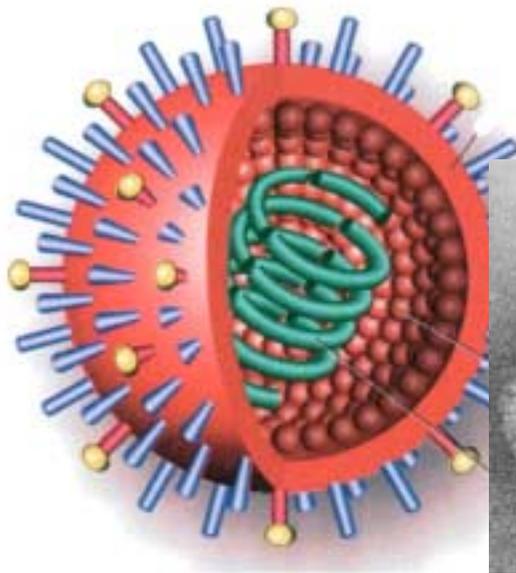
1918/19 tötete die „**Spanische Grippe**“ 20-40 Millionen Menschen. Besonders junge und sehr alte Menschen starben. Die Zahl der Toten dieser schwersten Grippe-Epidemie der Neuzeit ist zu vergleichen mit den 11 Millionen Toten des Ersten Weltkriegs.

Egon Schiele porträtierte seine Ehefrau einen Tag bevor sie an der Spanischen Grippe starb. Vier Tage später starb auch er im Alter von 28 Jahren.

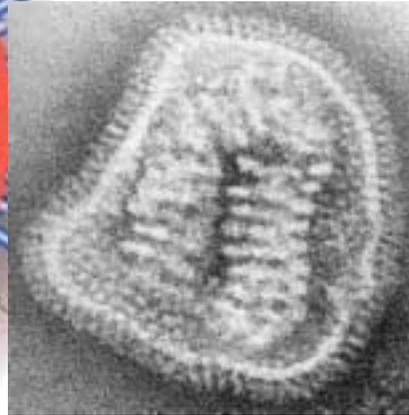


Kansas City, 1918

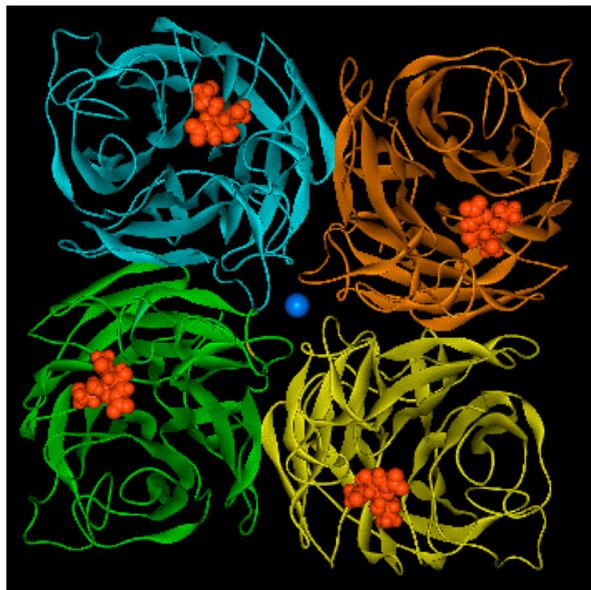




Influenza Virus
schematische Ansicht
und elektronenmikroskopische Aufnahme

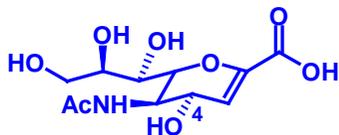


Hämagglutinin + Sialinsäure (grün)



Neuraminidase + DANA (rot)

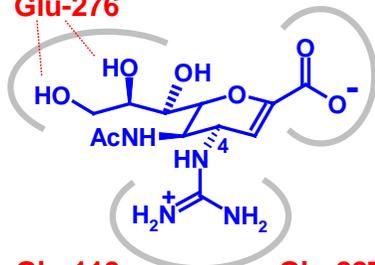
Entwurf von Neuraminidase-Inhibitoren



Neu5Ac2en

$K_i = 1\ 000\ \text{nM}$

Glu-276



Arg-371

Arg-292

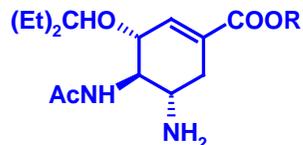
Arg-118

Glu-119

Glu-227

4-Guanidino-Neu5Ac2en, $K_i = 0,1-0,2\ \text{nM}$

Zanamivir (Relenza, Glaxo-Wellcome)



GS 4071, R = H

$IC_{50} = 1\ \text{nM}$

GS 4104, R = Et

Oseltamivir

(Tamiflu, Roche)

Wirkstoffsuche - Gegenwart und Zukunft

Kombinatorische Chemie, Bibliotheken

pro: generieren Vielfalt von Verbindungen

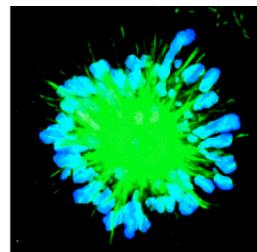
con: mangelnde chemische Diversität
chemie-gesteuerte Bibliotheken oft
ausserhalb des Wirkstoff-Raums



Chemische Biologie

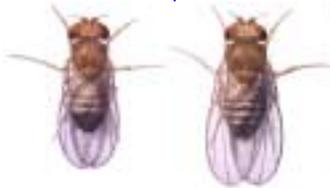
pro: rasches Screening in biologischen
Systemen, Membranpermeabilität

con: keine ADMET in zellulären Modellen
Target bleibt unbekannt



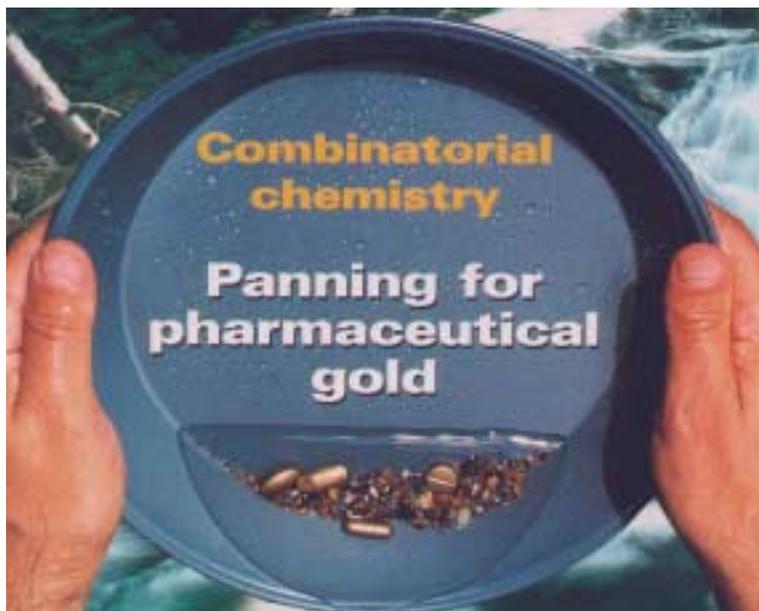
Klassische und Chemische Genetik

Vorwärts-genetik	Rückwärts-genetik	chemische Vorwärts-Genetik	chemische Rückwärts-genetik
setze Zufalls-mutation	zerstöre / blockiere bestimmtes Gen	teste Bibliothek in biologischem System	teste Bibliothek gegen ein Target
beobachte neuen Phänotyp	beobachte Phänotyp	beobachte neuen Phänotyp	beobachte Phänotyp
identifiziere das mutierte Gen		identifiziere das Target	

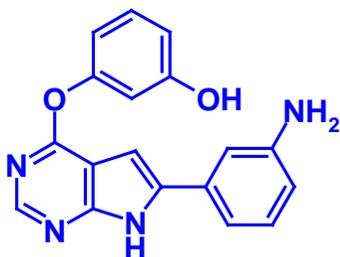


Klassische und Chemische Genetik

Vorwärts-genetik	Rückwärts-genetik	chemische Vorwärts-Genetik	chemische Rückwärts-genetik
setze Zufalls-mutation	zerstöre / blockiere bestimmtes Gen	teste Bibliothek in biologischem System	teste Bibliothek gegen ein Target
beobachte neuen Phänotyp	beobachte Phänotyp	beobachte neuen Phänotyp	beobachte Phänotyp
identifiziere das mutierte Gen		identifiziere das Target	
klassische Genetik	knock-outs, siRNA-Modelle	Tiermodelle, chemische Biologie	<i>in vitro</i> -Testmodelle, HTS, Chemogenomik

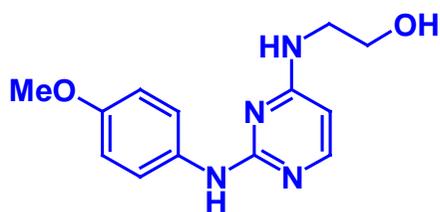


***In vitro*-Differenzierung embryonaler Stammzellen**



TWS 119 induziert die Bildung von Neuronen aus embryonalen Stammzellen über die Modulation von Glycogensynthasekinase 3 β (GSK 3 β)

S. Ding et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 100, 7632-7637 (2003)

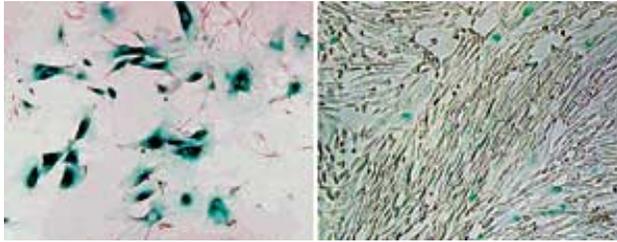


Cardiogenol C, aus einer 100.000-er Heterocyclenbibliothek, induziert die Bildung von Herzmuskelzellen aus embryonalen Stammzellen

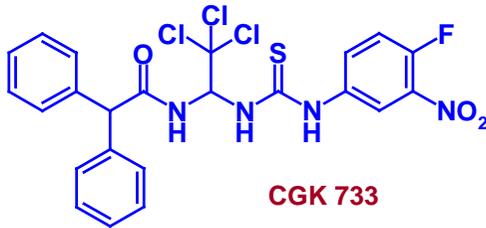
X. Wu et al., J. Am. Chem. Soc. 126, 1590-1591 (2004)

Revitalisierung alternder Zellen

alternde
Zellen



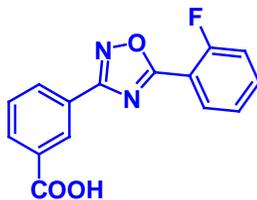
mit
CGK 733
behandelte
Zellen



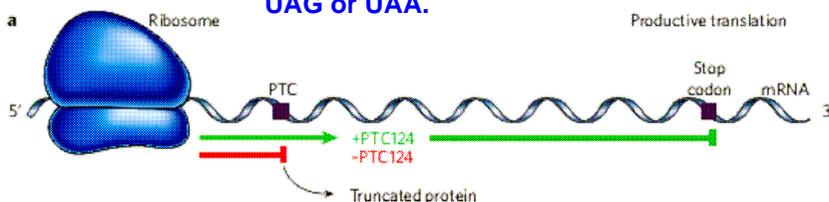
aus einer Bibliothek
von 20.000 Substanzen,
verlängert reversibel die
Lebensdauer alternder
Zellen um 25% (etwa
20 Zellteilungen)

J. Won et al., Nat. Chem. Biol. **2**, 369-374 (2006)

PTC124 behebt genetisch bedingte "Nonsense"- Mutationen



PTC124, aus einer Bibliothek von 800.000 kleinen Molekülen, verhindert die Bildung verkürzter Proteine - ist daher ein potentieller Wirkstoff zur Behandlung der Duchenne-Muskeldystrophie (zur Zeit in Phase II-Studien), cystischer Fibrose und einiger Tumorformen. Es "repariert" den Effekt von "Nonsense"-Mutationen zu den sogenannten "frühreifen Stopcodons" (PTC) UGA, UAG or UAA.



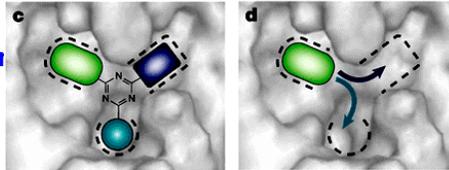
E. M. Welch et al., Nature **447** (May 03, 2007), pp. 87-91; Kommentar von A. Schmitz und M. Famulok, Nature **447** (03. Mai 2007), 42-43

Wirkstoffsuche - Gegenwart und Zukunft

Virtuelles Screening und fragmentbasierter Entwurf

pro: direkte, effektive Methoden
sparen Zeit und Ressourcen

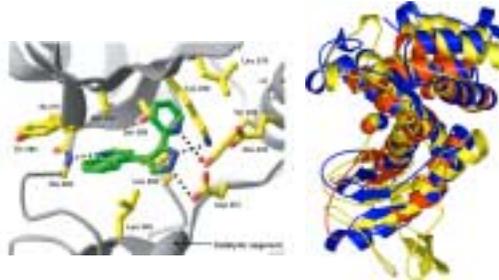
con: nur Ligandenentwurf
Risiko des Versagens



Chemogenomics

pro: mehrere Targets
rasche Information
zur Selektivität

con: keine ADMET-
Information



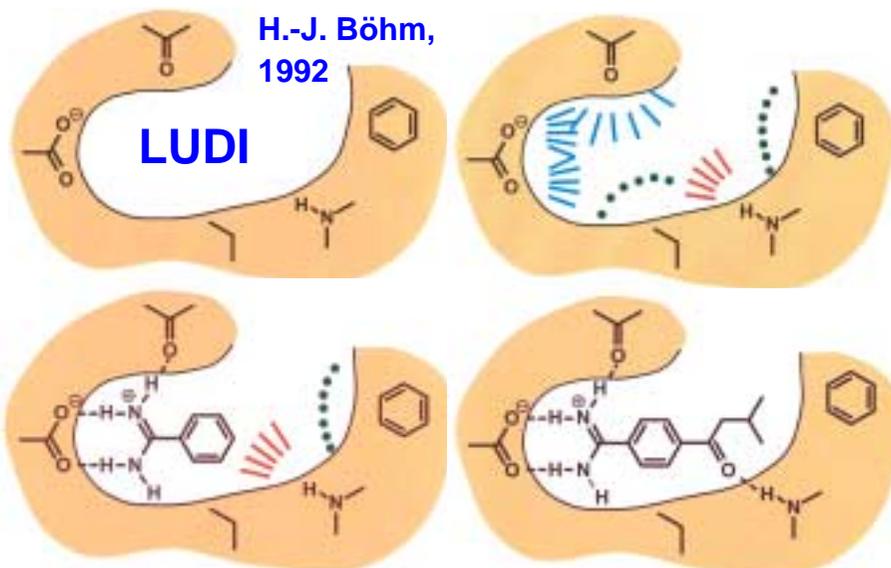
Wirkstoffforschung ist ...



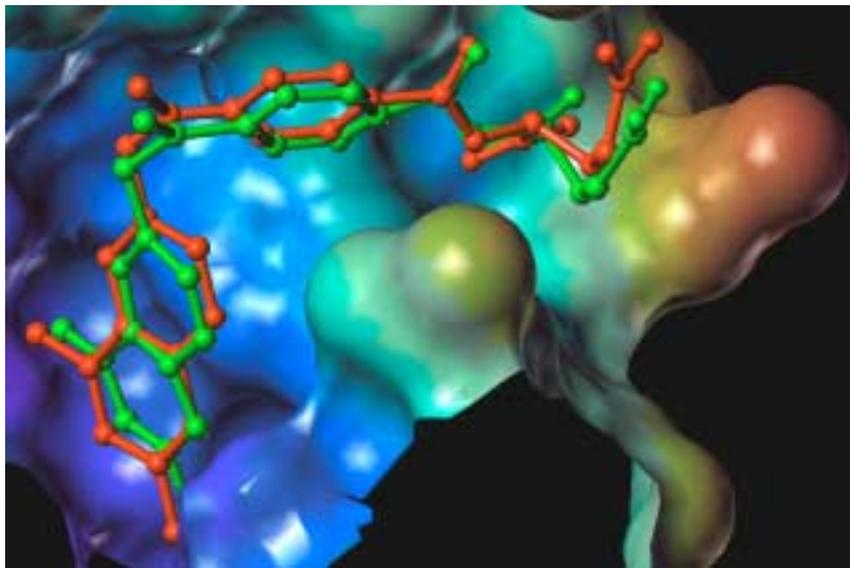
die Suche nach der Nadel im Heuhaufen

Virtuelles Screening reduziert die Grösse des Heuhaufens durch Selektion von

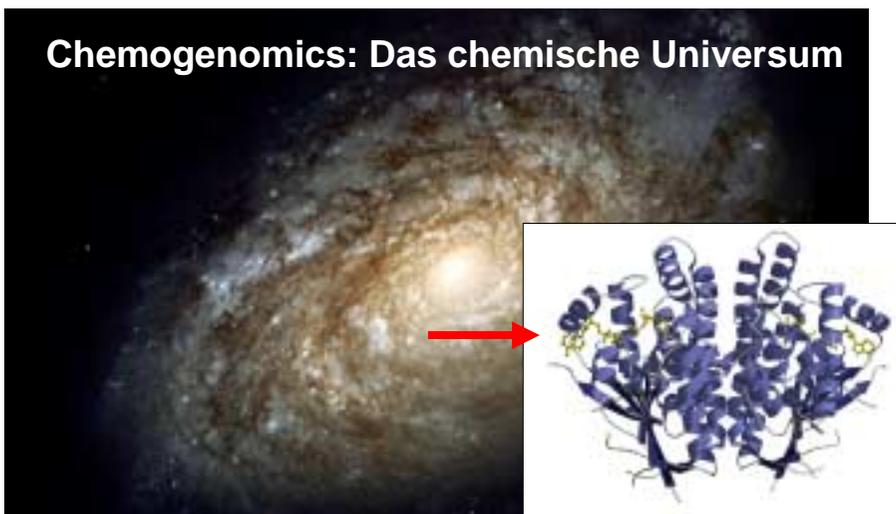
Verbindungen oder Bibliotheken mit
Leitstruktur-Eigenschaften oder
Wirkstoffcharakter oder
potentieller Bioverfügbarkeit oder
Ähnlichkeit zu einer Leitstruktur,
mit Regeln (z.B. Lipinski-Regeln),
neuronalen Netzen (z.B. Wirkstoffe),
Pharmakophoranalysen,
Ähnlichkeitsanalysen,
„Scaffold hopping“, oder
Docking und Scoring



Die Zukunft: Kombinatorischer Ligandenentwurf

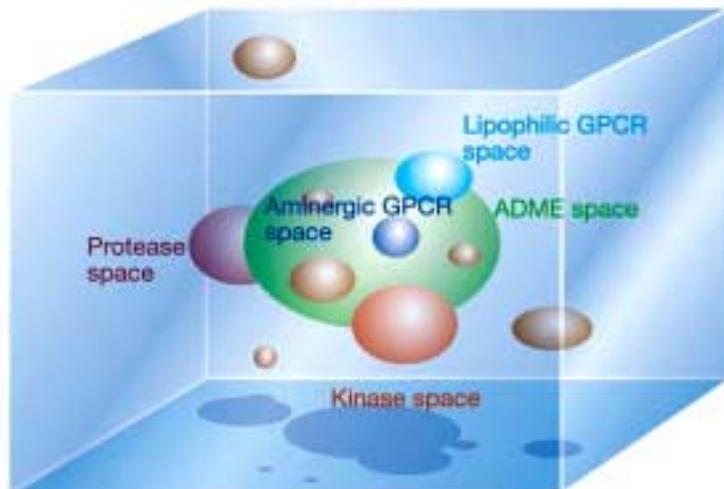


Chemogenomics: Das chemische Universum



..... getestet gegen das Targetuniversum

Die Medizinische Chemie im Raum der Chemie



C. Lipinski und A. Hopkins, *Nature* **432**, 855-861 (2004)

Chemogenomics: Optimierung der Selektivität

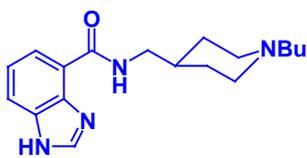


IC ₅₀ -Werte	R =	R =	R =
	α-H n = 1	α-H n = 0	β-H n = 0
NEP 24.11	1,1 nM	11,5 nM	2 820 nM
ACE	5,5 nM	16 nM	11,5 nM

W. A. Slucharchyk et al., *Bioorg Med. Chem. Lett.* **7**, 753-758 (1995)



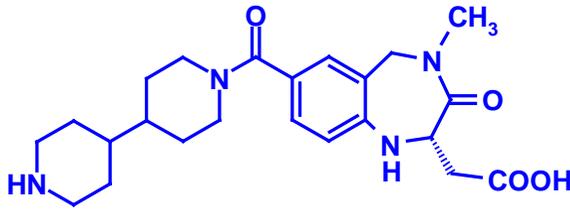
K_i (5-HT₃) = 3,7 nM
 K_i (5-HT₄) > 1.000 nM



K_i (5-HT₃) > 10.000 nM
 K_i (5-HT₄) = 13,7 nM

M. L. Lopez-Rodriguez et al., *J. Comput.-Aided Mol. Design* **11**, 589-599 (1997)

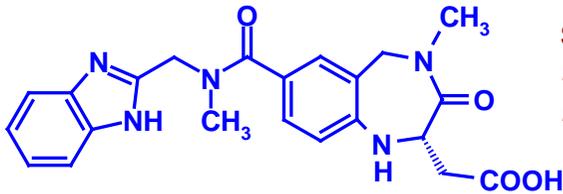
Hochselektive Integrinrezeptor-Liganden



SB 214 857

$K_i \alpha 2\beta 3 = 2,5 \text{ nM}$

$K_i \alpha v\beta 3 = 10.340 \text{ nM}$

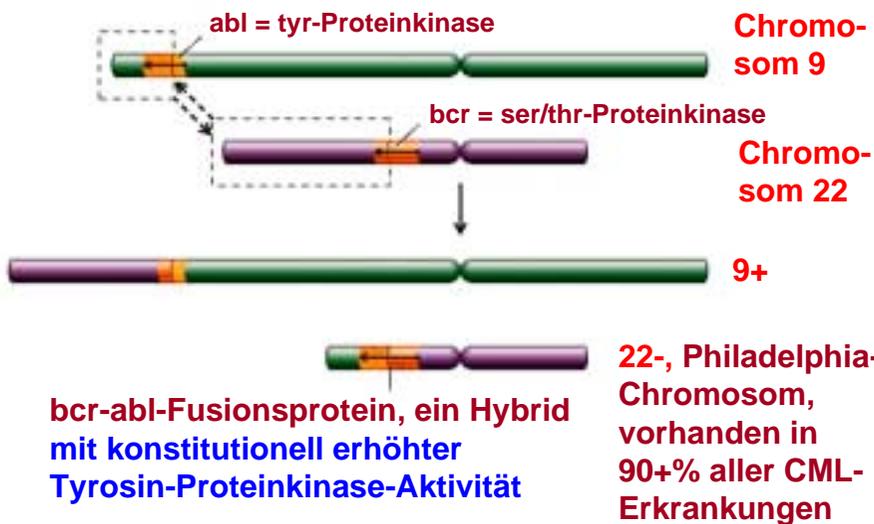


SB 223 245

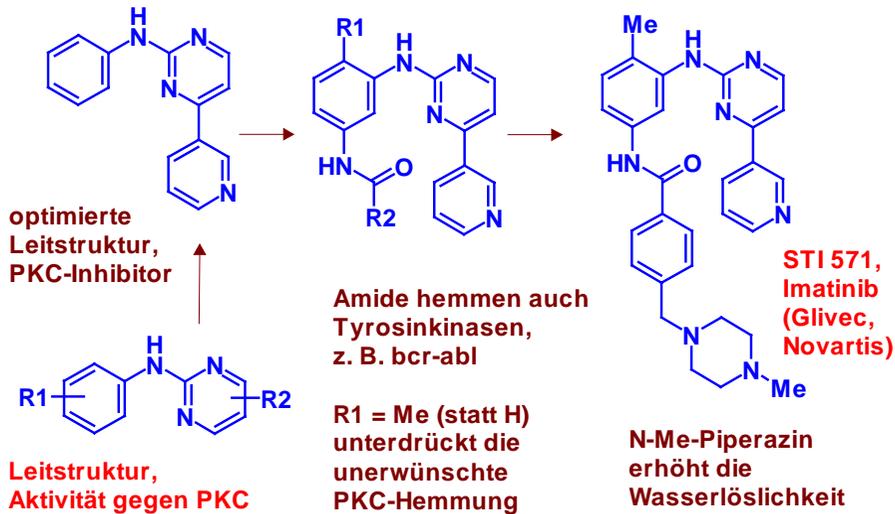
$K_i \alpha 2\beta 3 = 30.000 \text{ nM}$

$K_i \alpha v\beta 3 = 2 \text{ nM}$

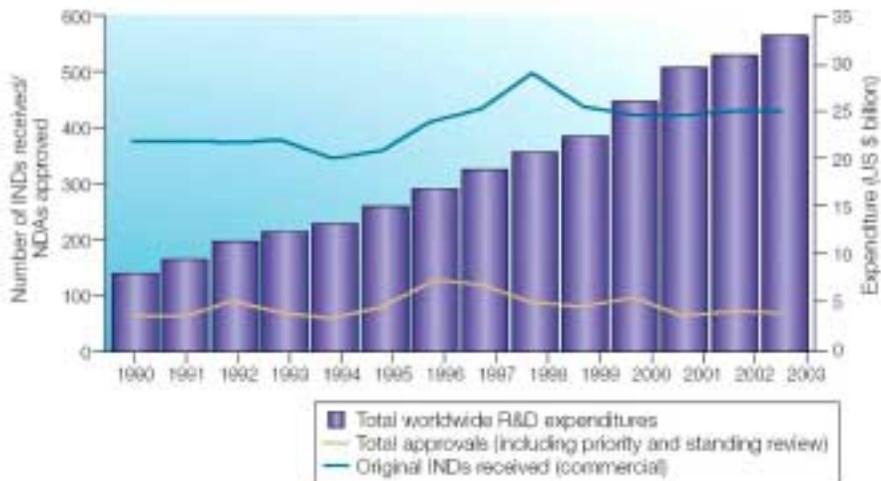
Chromosomale Translokation bei CML



Entwicklung von STI 571 (Imatinib, Glivec®)



Die "Produktivitätslücke" der Pharma-Industrie



T.T.Ashburn und K.B. Thor, Nature Rev. Drug Discov. 3, 673-683 (2004)

Erfolg in der Pharmaforschung

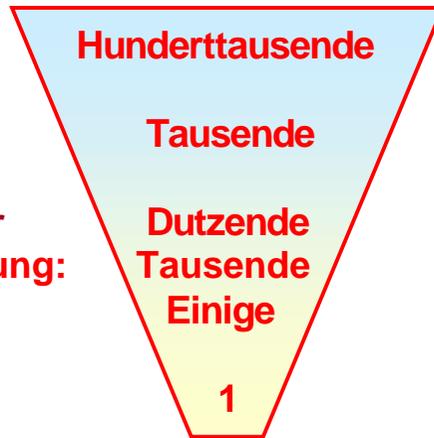
→ Eine Verbindung

ist kein Hit

→ ist keine Leitstruktur
Optimierung:

ist kein Kandidat

ist kein Arzneimittel



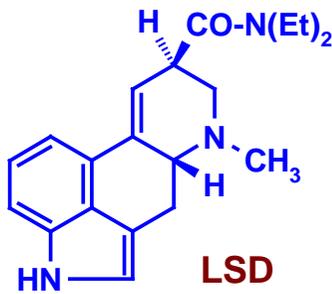
Alle Dinge sind Gift
und nichts ohn Gift;
allein die Dosis macht,
daß ein Ding kein Gift ist.

Kochsalz, Fette,
Alkohol ...

...
Corticosteroide

...
Thalidomid
Phenacetin
Terfenadin
Phen-phen
Cerivastatin ...

Akute Toxizität von Lysergsäurediethylamid bei Tieren und minimal tolerierte Dosis beim Menschen



Spezies	LD ₅₀ in mg/kg
Maus	50-60
Ratte	16,5
Kaninchen	0,3
Elefant	« 0,06
Mensch	» 0,003

Klinische Prüfung - der typische Proband



gesunde Freiwillige, Alter 18-55 Jahre, beiderlei Geschlecht (aber keine Frauen im gebärfähigen Alter), Normalgewicht Nichtraucher, Nichttrinker, Standardernährung, Einnahme des Arzneimittels mit 150 ml Wasser, keine anderen Arzneimittel, Fruchtsäfte oder Drogen.

Patienten



plus andere Erkrankung(en)



Die Vergangenheit

Voltaire (1694-1778):

**Ärzte verordnen
Arzneimittel, über die sie
wenig wissen,
um Krankheiten zu heilen,
von denen sie noch
weniger wissen,
an Patienten, von denen sie
überhaupt nichts wissen.**

Voltaire-Büste; J. A. Houdon

Die Zukunft: Pharmakogenetik - Neue Möglichkeiten der individuellen Therapie

Genotypisierung der Arzneimittel-Targets und der metabolischen Enzyme ermöglicht eine

- **Kostenreduktion** bei der Arzneimittelentwicklung, bedingt durch bessere Planung der klinischen Studien
- **Auswahl des „besten Arzneimittels“** für den Patienten
- **individuelle Dosierung** (Varianz der Target-Antwort, reduzierter oder erhöhter Metabolismus)
- **weniger toxische Nebenwirkungen**
- **weniger unerwartete Arzneimittelwechselwirkungen**