

Af post.doc. Martin Juhl, post.doc. Jens Nolsøe og professor David Tanner

Naturens medicin

- *lægemidler via organisk kemi*

Biologisk aktive naturstoffer har i tidens løb reddet millioner af menneskeliv. Mange af disse naturstoffer er imidlertid vanskelige at skaffe i tilstrækkelige mængder fra selve naturen. Dette kapitel gennemgår, hvordan man kemisk kan fremstille vigtige naturstoffer i så store mængder, at man kan udvikle lægemidler. Yderligere vises eksempler på brug af kemisk syntese til fremstilling af andre stoffer, der minder om naturstofferne, men som kan have en endnu bedre lægemiddelprofil såsom større biologisk aktivitet, bedre evne til at optages i kroppen, eller er nemmere at fremstille syntetisk.

Naturens egne forbindelser

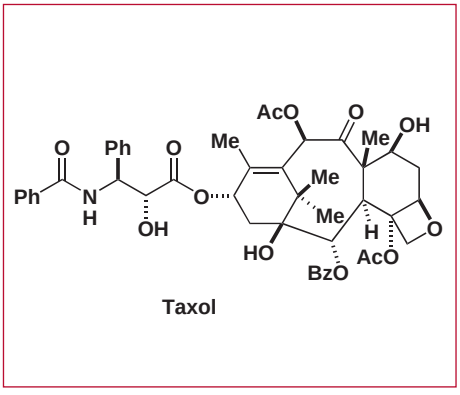
Millioner års evolution har gjort mennesker, dyr og planter i stand til at optimere den biologiske funktion af naturstoffer. Talrige biologisk aktive stoffer er således blevet fundet i træer, svampe, urter og jord. Sådanne naturstoffer kan have en funktion som giftstof mod uønskede bakterier og vira, eller de kan modvirke sygdomme forårsaget af en fejl i det biologiske maskineri såsom kræft, knogleskørhed eller blodpropper. Nogle af de mest bemærkelsesværdige anticancer naturstoffer er paclitaxel (taxol®), discodermolide, spongistatin, halichondrin B og epothilone. Inden for antibiotikaforskningen findes der ligeledes et stort antal lægemidler, der stammer fra naturstoffer heriblandt penicillin, tetracycline, erythromycin, og vancomycin.

Biologisk aktive naturstoffer er fortsat vores vigtigste kilde til nye lægemidler, som det har været tilfældet siden menneskehedens oprindelse. En bemærkelsesværdig statistik viser, at 61 % af alle nye kemiske lægemidler, der blev introduceret på medicinalmarkedet fra 1981 til 2002, enten direkte er et naturstof, eller har sin direkte oprindelse fra naturstoffer.

Anticancer naturstoffer

Kræft er kendetegnet ved en sygelig forandring i arvematerialet, der fører til en uhæmmet vækst af celler i et organ. Typisk vil der ske en spredning til det tilstødende væv og med tiden videre til andre organer (dannelse af såkaldte metastaser). Hvis tilstanden forløber uden behandling, vil det angrebne individ til sidst dø

af sygdommen. En tidligere betegnelse for kræft var krebs (på latin *cancer*), en betegnelse der opstod, fordi enkelte svulsttyper havde en krebselignende form. På et cellulært niveau opstår kræft som konsekvens af en ubalance i de mekanismer, der styrer den enkelte celles livscyklus. I løbet af en cyklus deler cellen sig, og dens komponenter fornyes. Når cellen til sidst har udspillet sin rolle, er den programmeret til at gå til grunde. Kroppens billioner af celler er således normalt reguleret, så der er balance mellem at fremme og at hæmme cellernes vækst. Hvis der sker en spontan fejl i replikkationen af arvematerialet (DNA), kan cellerne dele sig ukontrolleret, og derved opstår kræft. Cellerne indgår imidlertid også i et fællesskab, hvor de danner forskellige enheder med hinanden, og disse enheder reguleres ved udveksling af molekyler. Dermed er der også risiko for ukontrolleret cellevækst som følge af ydre faktorer. Klassiske eksempler er tobaksrøg, UV- og radioaktiv stråling, kemikalier samt forurening, der alt sammen kan påvirke celleenhedernes struktur og regulering. Kræft kan altså opstå både som følge af fejl i vores arvemateriale og efter indflydelse fra miljøet.



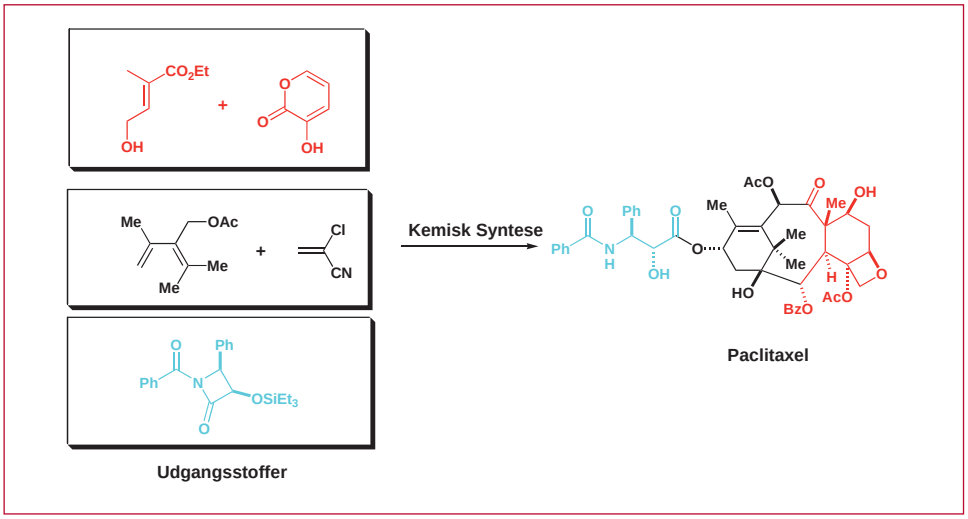
Taxol

Figur 1.

Paclitaxel (Taxol®)

Paclitaxel (det aktive stof i taxol®) er uden tvivl det naturstof, der har haft den største positive effekt i kampen mod kræft. Det er det vigtigste og mest brugte medicinalstof til lunge-, bryst- og ovariekræft i verden, men det var meget tæt på, at paclitaxel aldrig var blevet til det fantastiske lægemiddel, vi kender i dag.

Historien om paclitaxel startede den 21. august 1962, da et hold af botanikere i staten Washington i USA indsamlede nogle prøver fra taxtræet *Taxus Brevifolia*. Prøverne skulle testes af nogle forskere ledet af Dr. Monroe Wall, og gruppens laboratorietests viste snart, at noget i taxtræets bark og stamme havde en positiv effekt over for flere forskellige former for kræft. Der skulle imidlertid gå yderligere ni år, før man havde afsløret, hvordan det aktive stof i taxtræet så ud, dels fordi stoffet har en meget kompliceret kemisk struktur (figur 1), og dels fordi Dr. Wall's laboratorium havde andre projekter kørende samtidigt. Forskergruppen arbejdede også med et andet anticancermiddel, colchicin, der har en inhibitorisk (hæmmende) effekt på dannelsen af mikrotubuler. Mikrotubuler kan anskues som små tråde, der under celledeling er med til at trække arvematerialet (kromosomerne) fra hinanden, så hver af de nye celler får et helt sæt af arvematerialet. Det vil sige, at mikrotubulerne er en essentiel del af cellens maskineri ved deling, og i kræftbehandlingen i 1960'erne og 1970'erne var det almindeligt at bruge stoffer, som forhindrede dannelsen af netop mikrotubuler. Ved at smide grus (små organiske molekyler såsom colchicin) i celledelingsmaskineriet kunne man sætte en dæmper på den ukontrollerede celledeling i kræftsvulsterne. De almindelige celler bliver selvfølgelig også påvirket af disse molekyler, men idet kræftceller deler sig meget hurtigere end almindelige celler, bliver de påvirket relativt meget mere end almindelige celler.



Figur 2. Nicolaou's totalsyntese af paclitaxel.

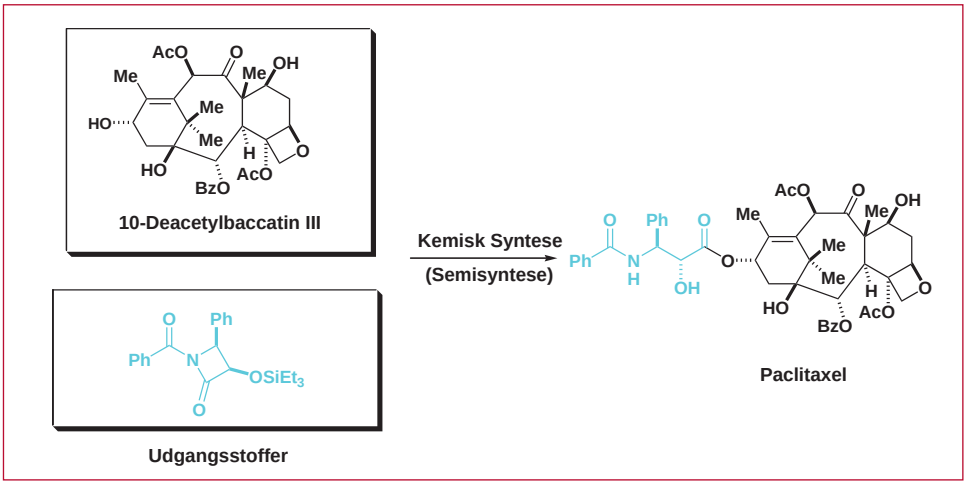
I 1980 påviste en forskningsgruppe ledet af Dr. Susan Horwitz, at paclitaxel ikke virkede ligesom alle de andre kendte anticancer-lægemidler ved at forhindre dannelsen af mikrotubuler. Derimod fremmede paclitaxel polymeriseringen af mikrotubuler, hvilket bevirkede, at mikrotubulerne blev alt for lange og derved forhindrede den ukontrollerede celledeling i kræftceller.

Efter Dr. Susan Horwitz' opdagelse af paclitaxel's nye virkemåde som anticancermiddel kom der fornyet interesse for forskningen omkring paclitaxel. En af de største hindringer for paclitaxel-forskningen var, at det var utrolig svært at få fat i stoffet. I taxtræet findes kun mikroskopiske mængder af paclitaxel. For at behandle en enkelt patient skal man bruge seks store, over 100 år gamle taxtræer, og taxtræet er et af de langsomstvoksende træer i verden. Det var derfor ikke en bæredygtig metode at udvinde naturlig paclitaxel fra taxtræet.
En alternativ metode til at få fat i stoffet er at fremstille paclitaxel ved kemisk syntese i laboratoriet, en proces kaldet totalsyntese. Mange af de førende forskningsgrupper inden for totalsyntese begyndte tidligt at forske i at fremstille paclitaxel kemisk, og dette lykkedes i 1994, hvor en amerikansk forskningsgruppe ledet af professor K. C. Nicolaou fra Scripps institutet i San Diego publicerede den første syntetiske rute til paclitaxel (figur 2).

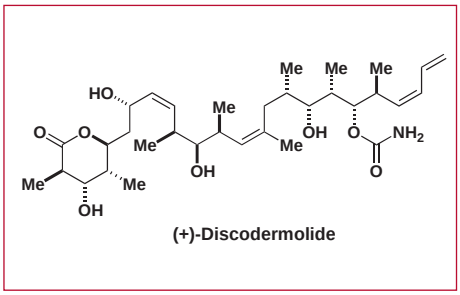
Det har sidenhen vist sig, at der i nålene fra det europæiske taxtræ *Taxus baccata* findes et stof ved navn 10-deacetylbaccatin III, der i kemisk struktur minder om paclitaxel (figur 3). Stoffet kan isoleres fra nålene i relativt store mængder og har den fordel, at man, ved blot at høste nålene, ikke behøver at dræbe hele træet. 10-deacetylbaccatin III kan via kemisk syntese laves om til paclitaxel og er idag den foretrukne vej til fremstilling af lægemidlet. Denne proces kaldes semisyntese (figur 3).

Discodermolide

I 1990 beskrev kemikeren Dr. Sarath Gunasekera og biologen Dr. Ross Longley fra Harbor Branch Oceanographic Institution (HBOI) den kemiske struktur af anticancernaturstoffet discodermolide navngivet efter marinsvampen *discodermia dissoluta*, som stoffet blev isoleret fra (figur 4).

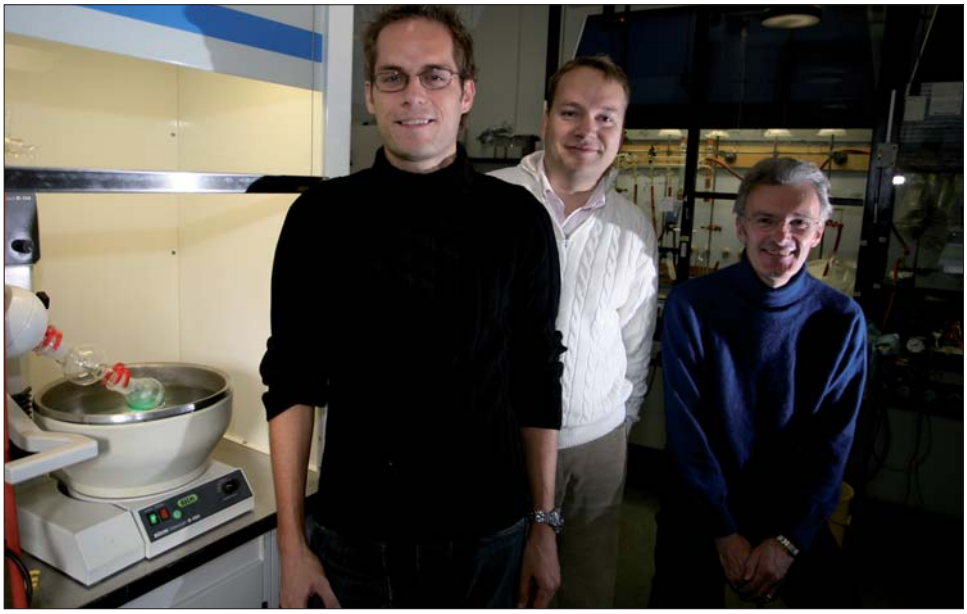


Figur 3. Semisyntese af paclitaxel, idag den fortrukne rute til paclitaxel.



Figur 4. Kemisk struktur af anticancerstoffet discodermolide.

Marinsvampen *Discodermia dissoluta* lever i det caraibiske hav, hvor de første marinsvampe blev høstet af de to forskere i henholdsvis 1985 og 1987. Sammenlagt isolerede de 434 g af marinsvampen som gav 7 mg rent discodermolide. Blot 0,002 % af marinsvampen består af det aktive stof discodermolide, som er lysfølsomt og derfor kun kan findes i marinsvampe, der lever dybere end 33 m under havets overflade. Biologiske test viste, at discodermolide var aktivt overfor P388 murine leukæmiceller samt havde en positiv virkning over for immunforsvaret (dette indvirker på gigt og Chron's sygdom). Derfor havde man brug for mere af stoffet, og i 1998 blev der sammenlagt høstet 20 kg af *Discodermia dissoluta*. To kg blev samlet ved Bell Channel Buoy, Grand Bahama Island på en dybde af 147 m, hvilket gav 12 mg discodermolide. Omkring 4 kg marinsvamp blev fundet 157 m under havets overflade ved Lucaya, Grand Bahama Island og gav 35 mg aktivt naturstof. Som det fremgår, var det en meget dyr, langsommelig og ikke særlig udbytterig proces at få fat på discodermolide ved at høste marinsvampen *discodermia dissoluta*. Selvom biologerne som høstede svampene, nok ikke klagede over at få lov at dykke i det cairibiske hav. Efter anstrengelserne i det caraibiske hav havde man dog skaffet nok naturstof til at lave yderligere biologiske test. Af disse test fremgik, at discodermolide havde en endnu mere interessant biologisk anticancereffekt end selv det dengang bedste anticancermiddel på markedet, nemlig paclitaxel. Naturstoffet var ikke bare mere aktivt, det virkede også på multiresistente kræftsvulster. I lyset af disse meget interessante egenskaber, var der flere kemiske forskningsgrupper rundt om i verden, som gik i gang med at udarbejde en kemisk syntese af naturstoffet. Den første totalsyntese af discodermolide udførtes af professor S. Schreiber fra Harvard University, og i dag har mindst seks forskellige forskningsgrupper færdiggjort totalsyntesen af naturstof-



Kapitlets forfattere er fra venstre post.doc. Martin Juhl, post.doc. Jens Nolsøe og professor David Tanner.

fet. I 1998 besluttede medicinalfirmaet Novartis at købe rettighederne til discodermolide fra HBOI, hvor stoffet oprindeligt var blevet fundet. Herefter valgte Novartis at lave et samarbejde med to af de forskningsgrupper, som havde færdiggjort totalsyntesen af discodermolide. Med udgangspunkt i de to synteseruter designede Novatis' forskninggruppe en ny totalsyntese af discodermolide, der var mere egnet til storskalakemi. Resultatet af Novartis forskningsarbejde ses i figur 5. Ud fra simple og billige udgangsstoffer kunne de nu fremstille discodermolide helt op til 60 g's skala, og naturstoffet er nu i klinisk fase 1 studier (se Box 1).

Spongistatin

Naturstoffet spongistatin er blevet kaldt det hidtil mest aktive stof overfor kræft. Spongistatin blev oprindeligt fundet i marinsvampen *Hyrtius altum*. Biologer indsamlede 13 tons af denne marinsvamp, hvilket dog kun resulterede i 35 mg af det aktive naturstof. Manglen på tilstrækkelige mængder af det biologisk aktive stof har hidtil været den største hindring for spongistatins videre udvikling til et potentielt lægemiddel. Den første kemiske fremstilling af en af spongistatin-formerne blev foretaget af professor David Evans forskninggruppe på Harvard University. Gruppen publicerede i 1997 totalsyntesen af spongistatin 2, hvor de beskrev hvilke udgangsstoffer der blev brugt til den kemiske syntese og hvordan de havde sammensat disse byggesten for til sidst at ende op med det ønskede naturstof. Denne syntese er vist i figur 6. Siden har flere andre forskningsgrupper færdiggjort diverse totalsynteser af spongistatin 1. Professor Amos B. Smith fra University of Pennsylvania har for nyligt syntetiseret 80 mg af stoffet, hvilket er mere end alt kemisk fremstillet samt isoleret stof fra naturen tilsammen, og han har planer om at opskalere syntesen yderligere. Der er derfor håb om, at man via kemisk syntese i nær fremtid vil kunne fremstille tilstrækkelige mængder af stoffet til at gennemgå både den prækliniske fase samt de efterfølgende test i klinisk fase 1,

Fra naturen til kommercielt lægemiddel

Isolation
Et naturstof isoleres og den kemiske struktur karakteriseres.

Test
Det nye naturstof testes vha. forskellige biologiske forsøg.

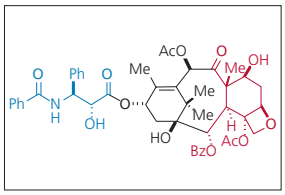
Produktion
I produktionsfasen laves det nye molekyle i større mængder vha. Totalsyntese, semisyntese el. fermentering. Dette udføres for at have rigelige mængder af det nye naturstof til brug i de videre studier.

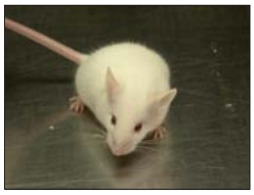
Præklinisk fase
Inden det nye lægemiddel testes i mennesker, testes det på dyr, og kun efter lovende resultater i dyr føres lægemidlet videre i processen.

Fase 1
I denne fase testes det nye lægemiddel i mennesker, dvs. en gruppe frivillige på 10-100 personer. Formålet med denne test er at se på eventuelle bivirkninger af stoffet.

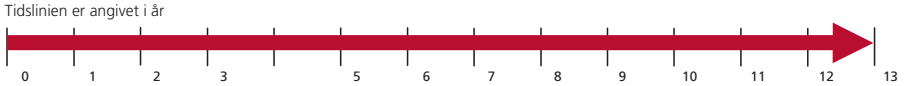
Fase 2
I fase 2 afprøves lægemidlet på et større antal fri-villige, 30-300 personer, med den relevante sygdom, der søges et lægemiddel imod for at se de reelle virkninger af stoffet som lægemiddel. Derudover testes stadig for bivirkninger i kroppen.

Fase 3
I fase 3 afprøves lægemidlet på 1.000 til 4.000 per-soner. Her tester man typisk sit nye lægemiddel op imod et andet kendt lægemiddel på markedet. Herefter er det nye lægemiddel klar til at blive markedsført.



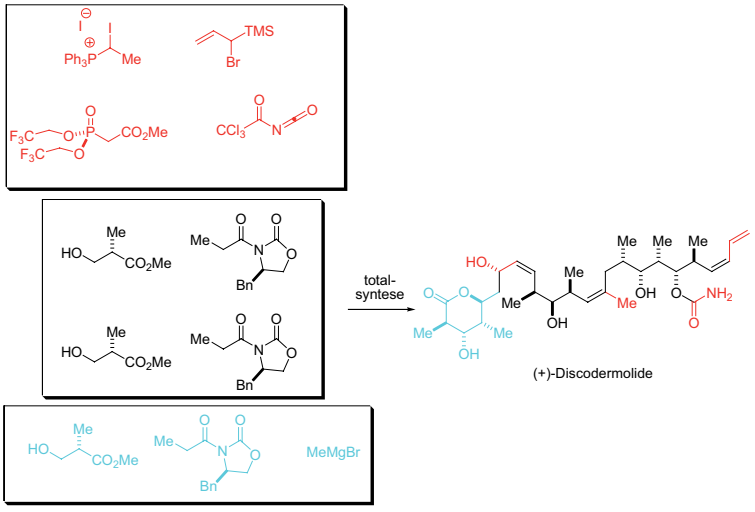




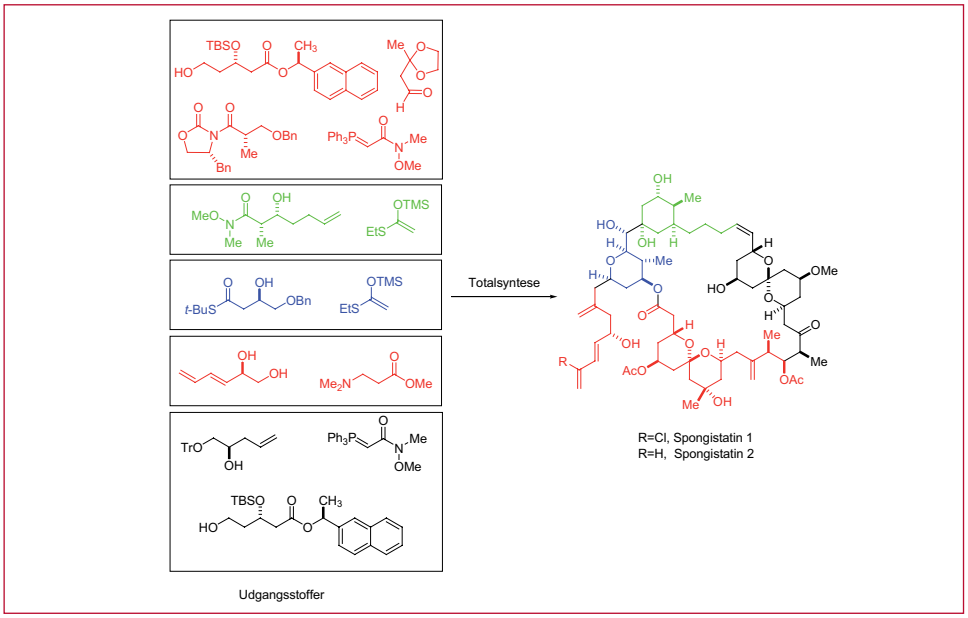


Typisk går der 10 til 13 år fra isolation til markedsføring af et nyt lægemiddel. Her vises en oversigt over de mange forskellige trin en ny lægemiddelkandidat skal igennem fra isolationsfasen til fase 3, hvorefter det nye lægemiddel er klar til at blive introduceret på markedet. Tidslinien giver et overblik over rækkefølgen af de forskellige trin i processen, men man skal ikke tage tidslinien helt bogstaveligt, idet de forskellige trin varierer meget i tidsforbrug. Efter fase 3 skal lægemidlet endeligt godkendes af de respektive instanser. (foto af mus: Kirstine Juhl)

Boks 1.



Figur 5. Totalsyntesen af discodermolide lavet i samarbejde mellem professor Paterson, professor Smith og Novartis.



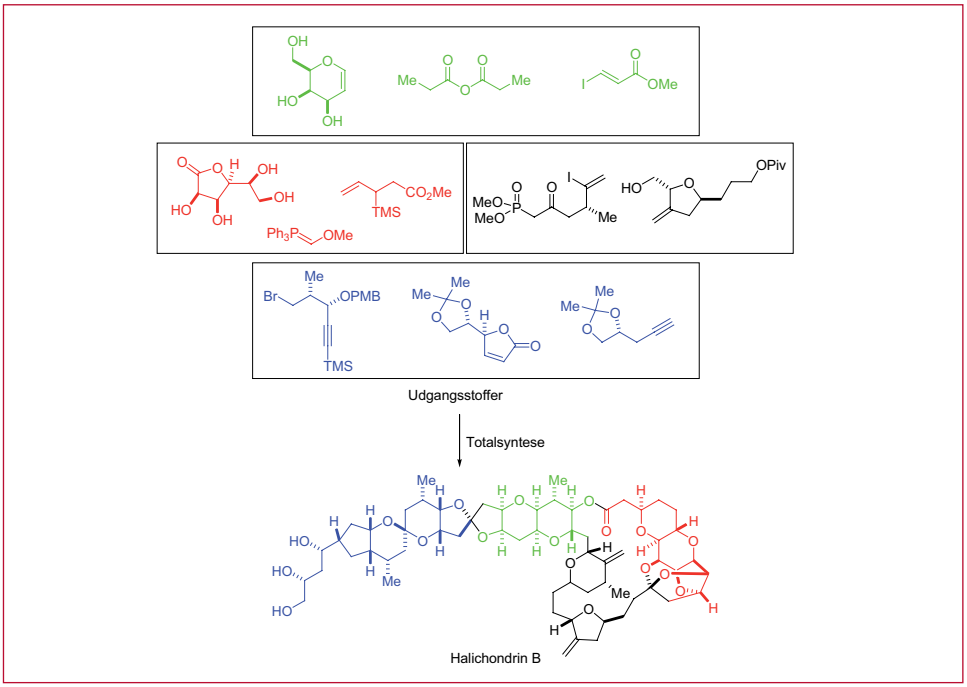
Figur 6. Første totalsyntese af et medlem af spongistatin familien.

2 og 3 (se Boks 1). Hvis stoffet klarer sig igennem den kliniske fase, og derfor vil være klar til at komme på markedet som et lægemiddel, vil kemikerne have en stor udfordring i at designe en syntetisk rute, der er tilstrækkelig effektiv til at møde den sandsynligvis meget store efterspørgsel.

Halichondrin B og analogen E7389

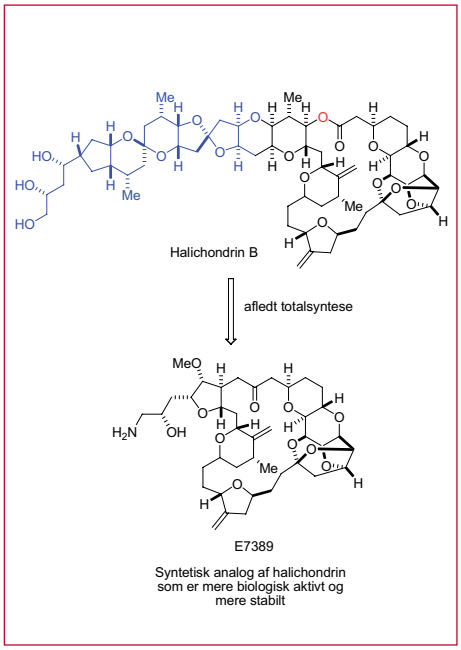
I 1986 fandt japanske forskere stoffet Halichondrin B i meget små mængder i marinsvampen *Halichondria okadai*. Lige som de tidligere nævnte naturstoffer er også Halichondrin B et særdeles aktivt anticancerstof. Efter flere rapporter omhandlende halichondrin B's lovende resultater fra både *in vitro* forsøg (forsøg på celler udenfor større levende organismer) såvel som *in vivo* forsøg (forsøg i dyr eller mennesker), besluttede det nationale amerikanske kræftforskningsinstitut (NCI) i 1992 at vælge halichondrin B blandt mange andre kandidater til præklinisk testning. Medvirkende til beslutningen var også, at professor Y. Kishi fra Harvard University samme år publicerede totalsyntesen af netop Halichondrin B. Syntese af dette stof er særligt betydningsfuld, fordi det, ud over den begrænsede mængde til stede i marinsvampen *Halichondria okadai*, er meget vanskeligt at isolere Halichondrin B i en renhedsgrad, der er acceptabel for præklinisk testning. Ydermere indeholder marinsvampeekstrakterne det meget giftige naturstof okadaic acid. Med den syntetiske rute kunne man nu skaffe nok naturstof til at foretage de prækliniske test med den nødvendige renhed.

Men selv med en syntetisk rute til halichondrin B var forsyningsproblemerne med stoffet ikke løst, idet stoffets kemiske struktur simpelthen var for kompliceret til, at man kan fremstille det i tilpas store mængder til at føre det videre i den kliniske fase 1, 2 og 3. Projektet blev dog genoplivet i 1998, da et samarbejde mellem professor Kishi og medicinalfirmaet Eisai, der havde købt rettighederne af Harvard University til den syntetiske rute, bar frugt. De havde fundet ud af, at det kun var den ventre halvdel



Figur 7. Første og eneste totalsyntese af halichondrin B.

af molekylet, der var nødvendig for at opnå den ønskede biologiske aktivitet. De fremstillede et nyt stof ud fra denne opdagelse kaldet E7389. Dette er et fuldt ud syntetisk stof, der ikke findes i naturen, men blot er inspireret af halichondrin B. E7389 har vist sig at være mere aktivt og mere stabilt end den oprindelige naturform. Den øgede stabilitet skyldes blandt andet, at laktonen (cyklisk ester, markeret med rødt i figur 8) i halichondrin B er substitueret ud med en meget mere stabil keton i E7389. Derudover betyder forsimplingen af den kemiske struktur, at syntesen af E7389 er mere overkommelig end for halichondrin B. Det skal dog nævnes, at den kemiske fremstilling af E7389 stadig er mere kompleks end for noget andet lægemiddel, der findes på markedet. At forskerne undervejs i totalsyntesen laver og tester nye fuldt ud syntetiske stoffer, der ikke findes i naturen, men er inspireret af naturstoffet, kaldes afledt totalsyntese.



Figur 8. E7389 er en syntetisk analog af halichondrin B, der er i klinisk fase 2 henmod at blive et lægemiddel.

Anticancermidler fra havet

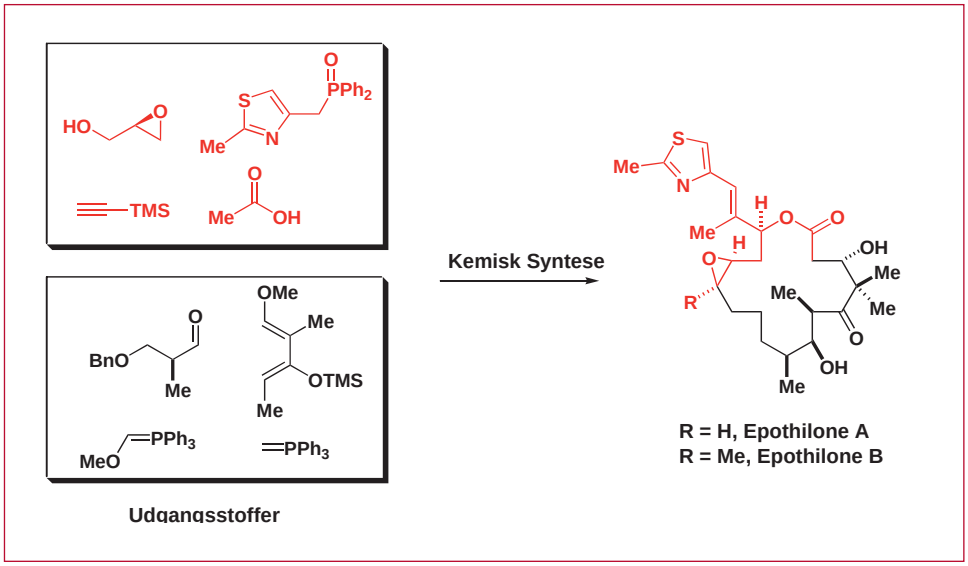
Det er ikke en ren tilfældighed, at der i de sidste årtier er fundet mange biologisk aktive stoffer i marinsvampe. Man har således optegnelser helt tilbage fra år 2700 f.kr., der beviser, at datidens egyptere var klar over potentialet i at udnytte biologiske aktive stoffer fra havet. Man ved ligeledes, at grækerne i år 200 f.kr. anvendte ekstrakter fra havsnegle til medicinske formål. Disse historiske vidnesbyrd kombineret med generelle observationer af at dyr der lever i havet (især invertebrater og hajer) meget sjældent udvikler kræft, gør det fornuftigt at igangsætte en systematisk undersøgelse af havets organismer med henblik på at finde nye anticancernaturstoffer.



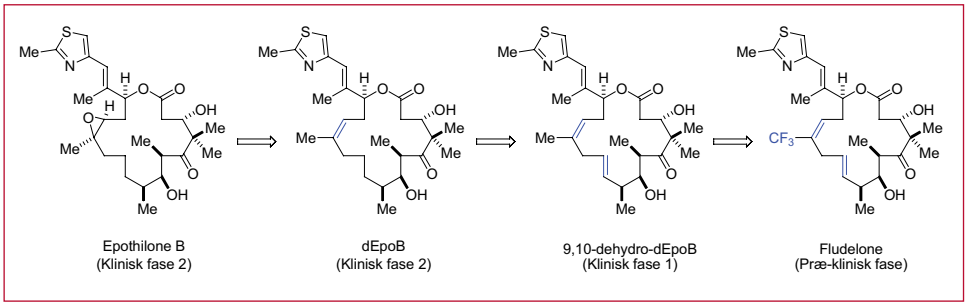
Epothilone A og B

Flere interessante naturstoffer blev i 1986 fundet i bakterien *Sorengium cellulosum* af Gesellschaft för Biotechnologische Forschung (GBF) i Tyskland. Bakterien stammer fra jordprøver indsamlet tæt ved Zambesifloden i det sydlige Afrika. Efter at strukturen blev opklaret, indså man, at stofferne indeholdte et epoxid, en thiazol og en lakton, og inspireret af disse funktionelle grupper navngav man naturstofferne epo-thi-lon A og B. Som udgangspunkt viste naturstofferne sig kun at have svampedræbende og cytotoksiske (celledræbende) egenskaber overfor pattedyr. Dette bevirkede, at GBF i 1994 ikke forlængede deres patent på naturstoffet, men uheldigvis for dem kom der virkelig lovende resultater frem året efter. En pensioneret amerikansk botaniker Dr. John E. Peterson, havde doneret sine planter og bakteriekulturer til Merck, Sharp og Dohme, som genfandt epothilon A og B. De amerikaniserede navnet ved at ændre det til epothilone A og B. Forskellen mellem epothilone A og B er, at epothilone B har en methylgruppe mere end epothilone A, og denne methylgruppe er lokaliseret ved epoxidet. Denne meget lille detalje har stor betydning for aktiviteten. Det viste sig, at begge naturstoffer virkede exceptionelt godt mod diverse kræftformer i stil med paclitaxel, men på mange områder var epothilonerne overlegne. De var eksempelvis mere biologisk aktive end paclitaxel. Især epothilone B som var 10 gange så aktiv som epothilone A. Derudover var den kemiske struktur af epothilonerne noget mere simple end paclitaxel, hvilket øgede chancerne for, at man kunne gennemføre en fuldt ud syntetisk fremstilling af stoffet i industriel skala til både klinisk testning samt som basis for en leveringsrute, hvis det på et tidspunkt blev til et lægemiddel. Yderligere virkede epothilonerne på paclitaxel-resistente kræftceller, som ikke viste tegn på at opbygge resistens mod epothilonerne. At epothilonerne virkede mod paclitaxel-resistente kræftceller overraskede særligt, idet man havde fundet, at epothilone A og B netop virkede ved at stabilisere mikrotubulerne (jf. paclitaxel) i stil med paclitaxel's virkemåde.

I 1995 blev det offentliggjort, at epothilone A og B viste exceptionelle farmakologiske egenskaber og virkede i stil med det bedstsæl-



Figur 9. Oversigt over den første totalsyntese af naturstoffet epothilone A.



Figur 10. Inspiret af epothilone B har man kemisk fremstillet analoger, som minder om naturstoffet, men som rationelt er ændret specifikke steder for at opnå et potentielt bedre lægemiddel.

gende anticancermiddel på markedet Taxol® (paclitaxel), samt på mange områder var dette stof overlegent. Derpå voksede interessen for epothilonerne markant, og allerede i 1996 havde den første forskningsgruppe designet og udført en fuldstændig kemisk fremstilling af Epothilone A. Det efterfølgende år (1997) havde flere forskningsgrupper nu både lavet Epothilone A og B. Den første forskningsgruppe, der færdiggjorde en totalsyntese af stoffet, var ledet af professor Samuel Danishefsky fra Columbia University i New York, og en oversigt over gruppens syntese kan ses i figur 9.

Som det var tilfældet med halichondrin B, har man også udnyttet potentialet i den organiske kemi til fulde med henblik på kemisk fremstilling af analoger, der minder om epothilone B, men hvis kemiske struktur er ændret for at opnå et bedre lægemiddel. I figur 10 ses tre analoger syntetiseret ud fra rationelt at modificere den kemiske struktur for at opnå bedre stabilitet, mindre cytotoksiske egenskaber og øget aktivitet over for kræftceller *in vivo*.

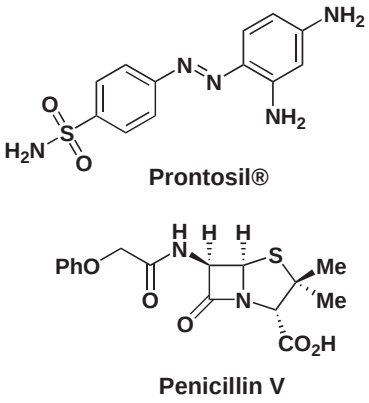
Antibiotiske naturstoffer

Infektionssygdomme forårsaget af mikroorganismer som virus, bakterier, visse svampe og amøber samt orme er et voldsomt globalt sundhedsproblem, der særligt rammer verdens fattigste lande. I den vestlige verden har vi gennem de sidste 150 år derimod oplevet markant nedgang i antallet af sygdomme, der skyldes infektioner. En forbedring af levevilkår og bedre hygiejne spiller naturligvis en væsentlig rolle, men udviklingen er i høj grad også en konsekvens af den gennemgribende omvæltning, som naturvidenskaben har oplevet i løbet af den samme periode. Pionerer inden for mikrobiologien som bl.a. Louis Pasteur (1822-1895) og Robert Koch (1843-1910) fik samtiden til at erkende, at der findes en levende verden usynlig for det blotte øje, der er mere farlig og truende end junglens utæmmede natur.

I nogle tilfælde skulle der enkle virkemidler



til for at holde den usynlige trussel fra livet. Lægerne Ignác Semmelweiz (1818-1865) og Joseph Lister (1827-1912) indførte antiseptiske procedurer, der henholdsvis involverede klorkalkvand og med stor succes. Da disse remedier imidlertid kun har en forebyggende effekt, var man stadig totalt hjælpeløse over for almindeligt forekommende infektionssygdomme som lungebetændelse og blodforgiftning. I midten af 1930'erne lancerede den tyske læge Gerhardt Domagk (1895-1964) sulfapræparatet Prontosil® (et sulfanilamid) til behandling af bakterieinfektioner, der kan forårsage de ovenfornævnte sygdomme (figur 11). Dette revolutionerede behandlingen af infektioner. Anvendelsesområdet var dog ikke specielt bredt, og de aggressive tilfælde kunne endnu ikke bekæmpes. Det egentlige gennembrud kom derfor først, da bakteriologen Alexander Fleming (1881-1955) identificerede den bakteriedræbende skimmelsvamp *Penicillium notatum*, og lægen Howard Florey (1898-1968) sammen med kemikeren Ernst Chain (1906-1979) efterfølgende isolerede den aktive forbindelse penicillin (figur 11).



Figur 11. De første antibiotika.

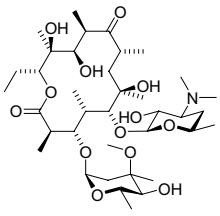
Antibiotika og deres virkemåde

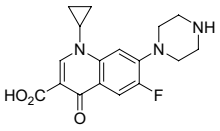
Hæmning af cellevægsdannelse
Denne type antibiotika virker ved at binde sig til specifikke enzymer, der deltager i dannelsen af cellevæggens skelet når bakterien formerer sig ved celledeling. Blandt de antibiotika der hæmmer cellevægsdannelse hører f.eks. penicillin og vancomycin.

Ødelæggelse af cellevæggen
Denne type antibiotika virker ved at binde sig til fedtstoffer der forefindes i cellemembranen og derved griber ind i dens stabilitet. Bakterien går dermed til grunde ved at cellemembranen bliver gennemtrængelig (lysis). F.eks. er polymyxin et sådan antibiotika.

Hæmning af proteinsyntese
Denne type antibiotika virker ved at binde sig til **ribosomerne**. Proteiner bliver dannet af ribosomerne, der er et katalytiske aggregat bestående af to domæner: Det store (50S) og det lille (30S) domæne. Ved at hæmme en af de to domæner i bakteriens ribosomer hindres den i at dele sig. F.eks. hæmmer tetracyklin og erythromycin hhv. 30S- og 50S-domænet.

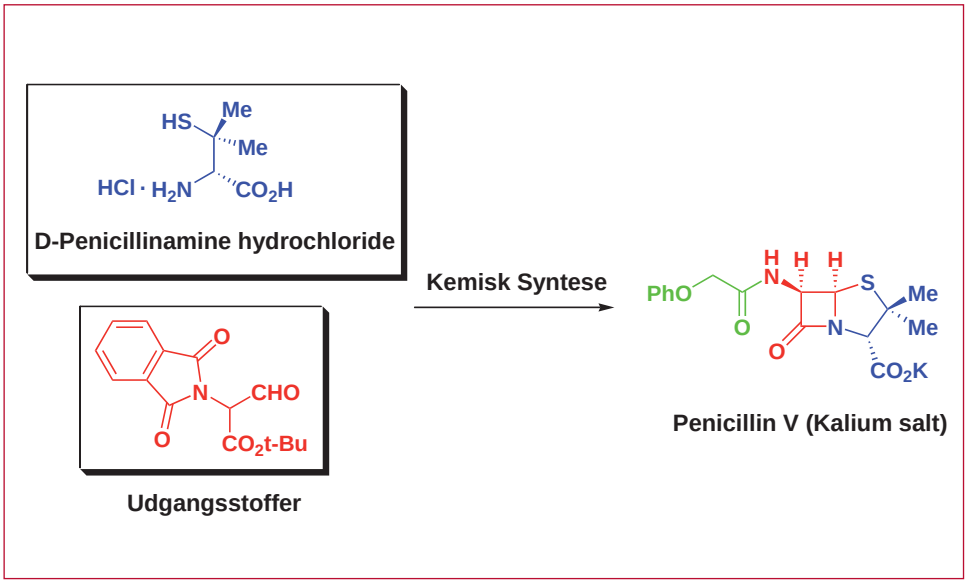
Hæmning af nukleinsyresyntese
Denne type antibiotika kan virke på tre måder: 1) Ved at hæmme syntese og udnyttelse af folinsyre, der er et B-vitamin. 2) Ved at hæmme dannelsen af RNA. 3) Ved at hæmme dannelsen af DNA. F.eks. hæmmer prontosil® syntese af folinsyre, mens rifampicin hæmmer RNA-syntese og ciprofloxacin hæmmer DNA-syntese.


Erythromycin


Ciprofloxacin

Antibiotika virker ved selektivt at angribe bakterier uden at skade patientens egne celler. Årsagen til denne selektivitet beror på at antibiotika går ind og påvirker bakteriens stofskifteprocesser eller angriber dens strukturelle opbygning. På et cellulært niveau er disse karakteristika enten fraværende hos patienten eller også er de væsensforskellige fra bakteriens.

Boks 2.

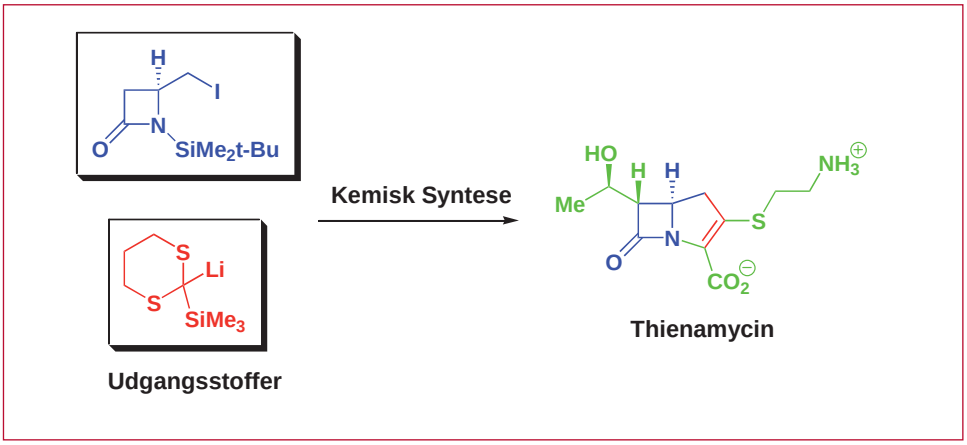


Figur 12. Sheehans syntese af penicillin V.

Penicillin V

Betydningen af penicillinets opdagelse kan næppe overvurderes, hverken i en samfundsmæssig eller en videnskabelig sammenhæng. Ansporet af dets helbredende effekt blev det hidtil mest ambitiøse syntetiske program søsat i jagten på at lave analoger (efterligninger) med nye egenskaber. Penicillin er i sig selv ikke en særlig robust forbindelse, idet stoffet hverken tåler syre eller base, hvorfor det ikke kan administreres oralt, da det således kommer i kontakt med mavens sure miljø. I stedet må det injiceres direkte i blodbanen.

Imidlertid er det også penicillins ustabile natur, der giver dets antibiotiske virkning. I kemisk sammenhæng skyldes penicillins ustabile natur, at den indeholder en meget reaktiv fireleddet ring (se figur 11), som er et cyklisk amid, og betegnes et β-laktam. Ringen kendetegner penicillinet som stofklasse. På grund af β-laktamets reaktive natur blev det anset som en umulig opgave at frembringe og bearbejde denne klasse af antibiotika ved kemisk manipulation. Da kemikeren John Sheehan (1915-1992) i 1957 kunne annoncere, at det var lykkedes at fremstille penicillin syntetisk, var det derfor en sensation, der åbnede verdens øjne for, hvad organisk kemi formåede (figur 12). Med de uvurderlige erfaringer der nu blev stillet til rådighed for den farmaceutiske industri, var man i stand til at fremstille en række analoger med et modificeret aktivitetsspektrum og som var mere stabile så de kunne tages oralt. Historien illustrerer derfor nogle centrale aspekter ved syntese af naturstoffer – nemlig at tilvejebringe nye metoder og/eller at øge forståelsen for den aktuelle forbindelses kemiske natur. I syntesen af penicillin udviklede Sheehan og hans forskningsgruppe således en helt ny metode for, at kunne danne den kritiske β-laktam ring, der hverken involverede brug af syre eller base. Det skal her bemærkes, at ingen af de angivne udgangsstoffer var tilgængelige og derfor også måtte syntetiseres.



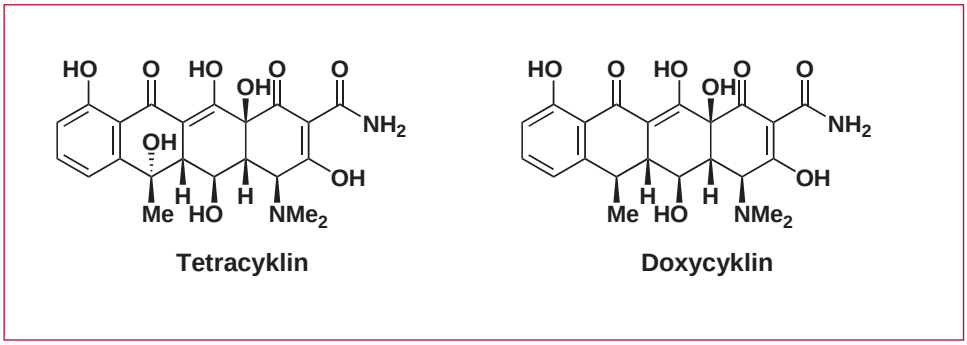
Figur 13. Mercks totalsyntese af thienamycin.

Thienamycin

I 1979 afslørede forskere tilknyttet den farmaceutiske virksomhed Merck et nyt antibiotikum med navnet thienamycin. Forbindelsen var blevet isoleret fra et gæringsmedium, hvori jordbakterien *Streptomyces cattleya* voksede. I modsætning til penicillin V, der kun er virksom over for Gram-positive bakterier, er thienamycin både virksomt over for Gram-positive og Gram-negative bakterier. Det betegnes derfor som et bredspektret antibiotikum. Selvom thienamycin også indeholder penicillinets β-laktam ring, er der tale om en ny klasse af forbindelser idet den fem-leddede ring i de to tilfælde er væsensligt forskellige. De to ringe, der forefindes i thienamycin, danner tilsammen et såkaldt karbapenem og er særdeles følsom overfor pH-værdier over 8. På grund af thienamycins labile natur, var det derfor ikke mulig at udnytte Sheehans metode, hvor β-laktam ringen bliver konstrueret helt til sidst i syntesen. I stedet valgte man at føje den fem-leddede ring til en allerede eksisterende β-laktam ring, der blev fremstillet til formålet (figur 13).

Doxycyklin

Både med hensyn på struktur og virkemåde er antibiotiske naturstoffer særdeles varierede. Således indeholder stoffet tetracyklin ingen af de strukturelle karakteristika, der tidligere er blevet omtalt under penicillin V og thienamycin. Virkemåden er da heller ikke den samme. Groft set kan man inddele antibiotika i to kategorier, hvor den ene betegnes baktericider (bakteriedræbende), og den anden betegnes bakteriostatika (bakteriehæmmende). Penicillin V og thienamycin tilhører begge baktericiderne, mens tetracyklin er et bakteriostatika. I 1955 patenterede den farmaceutiske virksomhed Pfizer tetracyklin, som man havde isoleret fra kulturer tilhørende bakteriegruppen *Streptomyces* (bl.a. *Streptomyces aureofaciens*). I lighed med thienamycin er tetracyklin virksomt over for både Gram-positive og Gram-negative bakterier. Tetracyklin er kun det første medlem af en større klasse naturligt forekommende antibiotika (figur 14). Denne klasse betegnes kollektivt som tetracykliner, fordi forbindelserne indeholder fire sammenføjede ringe (dannet fra de græske ord *tetra*, for fire og *kyklos*, for ringe). Til tetracyklinerne hører også



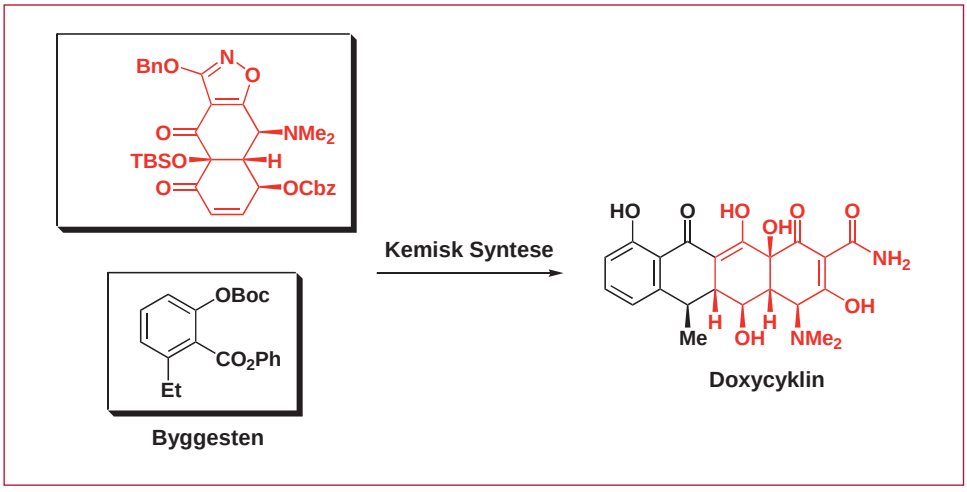
Figur 14. Tetracyklin og alternativet Doxycyklin er medlemmer af en stor klasse af naturligt forekommende antibiotika.

Doxycyklin, som har vist sig at være særdeles effektiv overfor en lang række infektionssygdomme, der ellers behandles med penicillin. Doxycyklin er derfor et vigtig alternativ, når patienten reagerer allergisk overfor penicillin. Doxycyklin er imidlertid også et værdifuldt antibiotika ved profylaktisk (forebyggende) behandling af miltbrand og malaria.

I 2005 rapporterede en amerikansk forskningsgruppe ledet af profssor A.G. Myers fra Harvard Universitety en ny måde til at fremstille både naturlige og syntetiske tetracykliner. Nøglen til Myers fremgangsmåde var at præfabrikere en central byggesten, som kunne bruges i samtlige synteser (figur 15). Dette illustrerer en vigtig indfaldsvinkel i totalsyntese – ved at identificere nogle gennemgående strukturelle mønstre er det måske mulig at omfavne flere forbindelser inden for en stofklasse og således spare tid. Denne type strategi kaldes også for divergent syntese (forgrenet syntese).

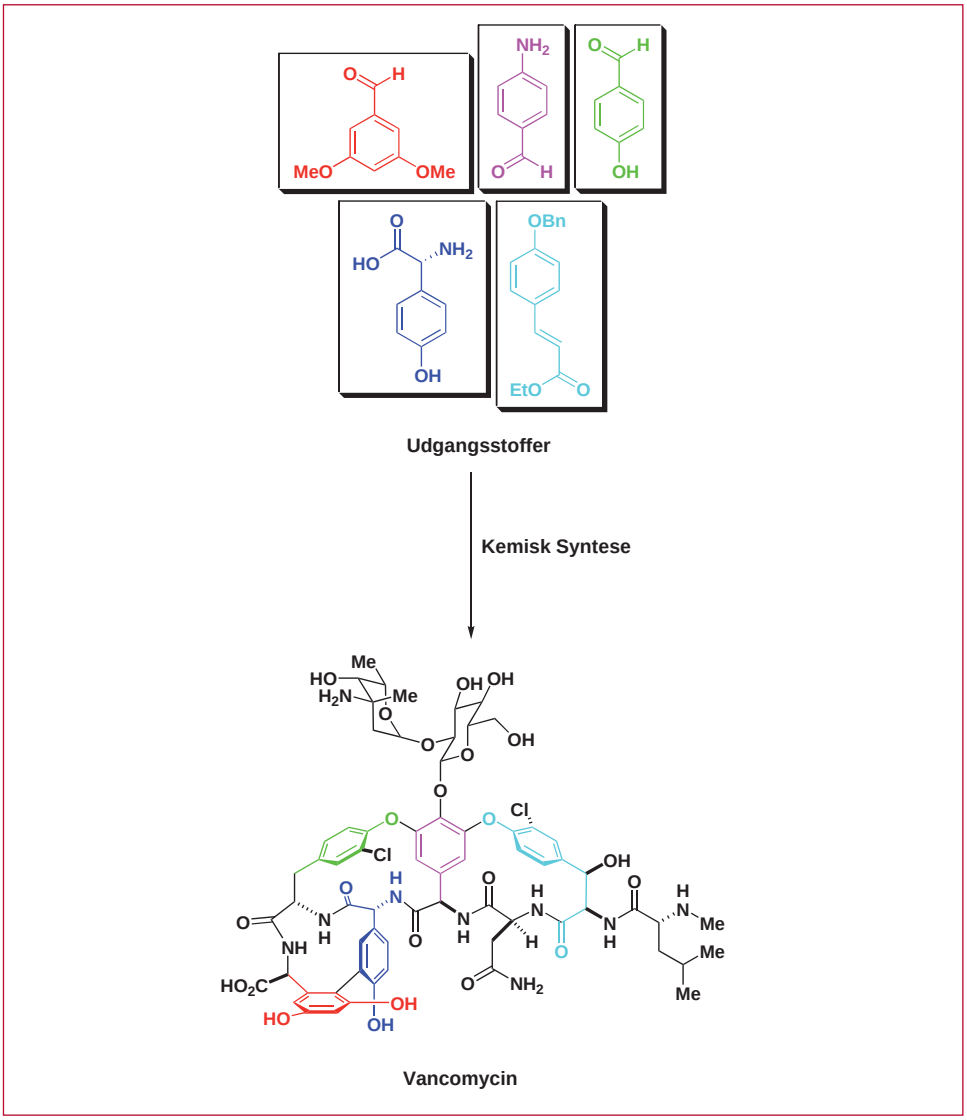
Vancomycin

En af de største helsemæssige udfordringer i det 21. århundrede er den tiltagende resistens mod almindeligt tilgængelige antibiotika. Re-



Figur 15. Myers totalsyntese af doxycyklin.

sistens er et problem, der ikke mindst forårsages af bakteriers generelt høje vækstrate. Bakterier formerer sig ved simpel celledeling og i enkelte tilfælde sker dette i løbet af nogle få minutter (f.eks. *Escherichia coli*). Gennem spontane mutationer i den hurtigt voksende population, vil der fra tid til anden opstå en bakterie, der er specielt tilpasset et fjendtlig miljø. Dette fjendtlige miljø kan f.eks. være kropsvæsker, der indeholder et antibiotikum. Mens de øvrige bakterier bukker under, vil mutanten overleve og nemt kunne mangfoldiggøre sig således, at der opstår en ny stamme af livskraftige bakterier. Sådanne bakterier kaldes for "superbugs". Når antibiotika benyttes unødvendigt og ukritisk, øges risikoen for at resistente stammer opstår. Dette er desværre allerede en realitet og "superbugs", der er modstandsdygtige overfor specifikke antibiotika, volder derfor i stigende grad bekymring.

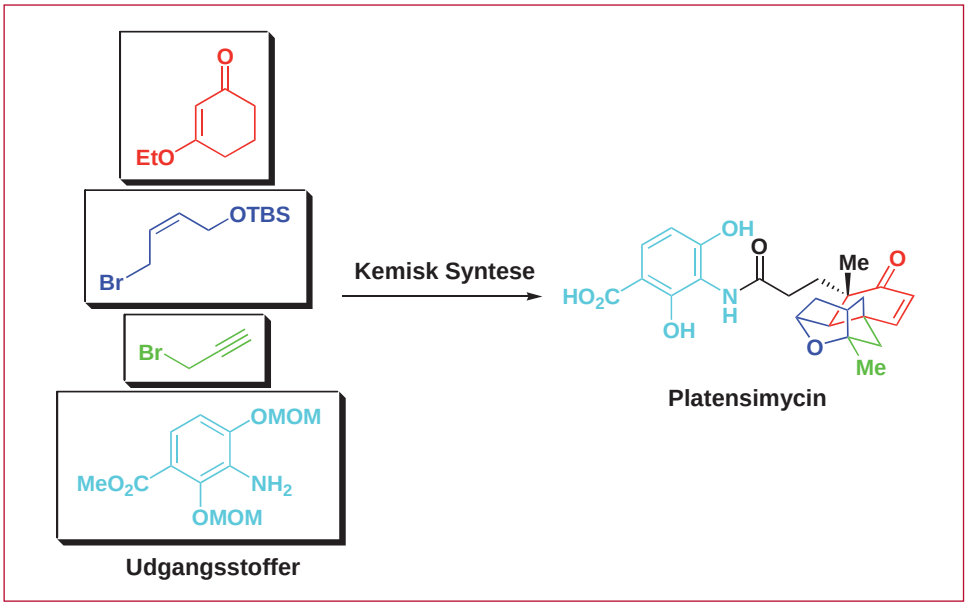


Figur 16. Nicolaous totalsyntese af vancomycin.

Allerede i 1956 bekendtgjorde forskere fra den farmaceutiske virksomhed Eli Lilly fundet af et nyt antibiotikum, hvis egenskaber skulle vise sig at være afgørende i kampen mod særlig aggressive bakteriestammer. Forbindelsen blev isoleret fra den anaerobe svamp *Amycolatopsis orientalis* og fik i første omgang det prosaiske navn O5865. Det blev imidlertid snart ændret til vancomycin (af engelsk "to vanquish", at besejre) på grund af forbindelsens ganske enestående aktivitet over for Gram-positive bakterier. Vancomycin er det antibiotikum, der benyttes, når alle andre muligheder er udtømte (figur 16). Vancomycin er en meget kompleks forbindelse, og der er et behov for at supplere arsenalet af antibiotika med mere effektive analoger (afledede forbindelser). Derfor har det været af stor betydning at gennemføre totalsyntese for at øge forståelsen. Som den første kunne professor K.C. Nicolaou's gruppe i 1999 annoncere syntesen af vancomycin. Nøglen til at fremstille en så udfordrende forbindelse lå i at identificere de strukturelle byggesten, der skulle indgå i syntesen. Problemet blev dermed reduceret til at fremstille disse byggesten og siden samle dem til en komplet konstruktion (figur 16). Denne type strategi kaldes også for konvergent syntese (knudepunkts syntese).

Platensimycin

Til trods for vancomycins mange dyder er dette antibiotikum også ved at sakke bagud i kampen mod de resistente bakterier. FN's sundhedsorganisation World Health Organisation (WHO) har opfordret til mådehold, når det gælder anvendelsen af vancomycin, men alligevel er problemet med resistens dukket op. Dette gælder specielt de såkaldte "hospitalsbakterier" (bl.a. *Stahylococcus aureus*), som har udviklet en multiresistens, og dermed ikke længere reagerer på behandling med de gængse antibiotika. Som følge af multiresistens ledes der nu intensivt efter nye alternativer til behandling af infektioner, der har udviklet sig i en livstruende retning. Så sent som i maj 2006 kunne forskere fra den farmaceutiske virksomhed Merck rapportere opdagelsen af et nyt an-



Figur 17. Nicolaous totalsyntese af platensimycin.

tibiotikum med en hidtil uovertruffen aktivitet over for bl.a. vancomycin-resistente bakterier (f.eks. Enterococcus faecalis). Dette nye bredspektrede antibiotikum fik navnet platensimycin for at indikere at forbindelsen var blevet isoleret fra bakteriekulturer ved dyrkning af *Streptomyces platensis*. Som noget helt usædvanligt kunne forskningsgruppen under professor K.C. Nicolaou allerede fire måneder senere publicere den første totalsyntese af platensimycin (figur 17). Syntesens smarte design gør det mulig at fremstille nye analoger (afledede forbindelser) med måske endnu større slagkraft.

Fremtidens medicin

Anvendelsen af naturstoffer som en inspirationskilde til opdagelse af nye medikamenter har en historisk berettigelse, da mange vigtige lægemidler jo lige netop er isoleret fra naturen. Endvidere har anvendelsen af naturstoffer også en biokemisk berettigelse, da mange organismers position i økosystemet har nødvendiggjort en evolutionær udvikling af kemiske forsvarsmekanismer for at overleve. Til sidst har anvendelsen af naturstoffer en kemisk berettigelse, da disse kan anses som prototyper for design af nye lægemidler. I mange tilfælde er kemisk syntese da også den eneste måde hvormed man kan tilvejebringe tilstrækkelige mængder af et givet naturstof, så det direkte eller indirekte kan finde sin anvendelse som et kommercielt lægemiddel.

Historien om platensimycin illustrerer, at totalsyntese af naturstoffer er en særdeles dynamisk disciplin, der til stadighed er i stand til at løse nye udfordringer. I samspil med lægevidenskaben er totalsyntese nøglen til at øge forståelsen for medicins virkemåde. I dette kapitel har vi demonstreret, at organisk kemi er en basal videnskab, og at kunsten at fremstille nye forbindelser syntetisk, det være sig naturstoffer eller forbindelser fra tegnebrættet, er selve fundamentet for hele lægemiddelindustrien. Med andre ord – "Lægemidler er små molekyler, der fremstilles af den organiske kemiker". Set i bakspejlet er anvendelsen af naturstoffer den væsentligste kilde til udviklingen af moderne lægemidler. I hænderne på den kreative forsker er organisk syntese også et uundværligt instrument til at løse de sundhedsmæssige udfordringer, som menneskeheden i fremtiden stilles overfor.

Forfattere



Post.doc. Martin Juhl



Post.doc. Jens Nolsøe



Professor David Tanner