

# **Die Natur als Vorbild Isolierung neuer Arzneimittel aus natürlichen Quellen**

**Professor Dr. Eberhard Ehlers  
Hofheim/D  
Goethe-Universität Frankfurt am Main**

**14.Stuttgarter Chemietage  
Institut Dr. Flad  
Stuttgart, 1.Oktober 2009**

---

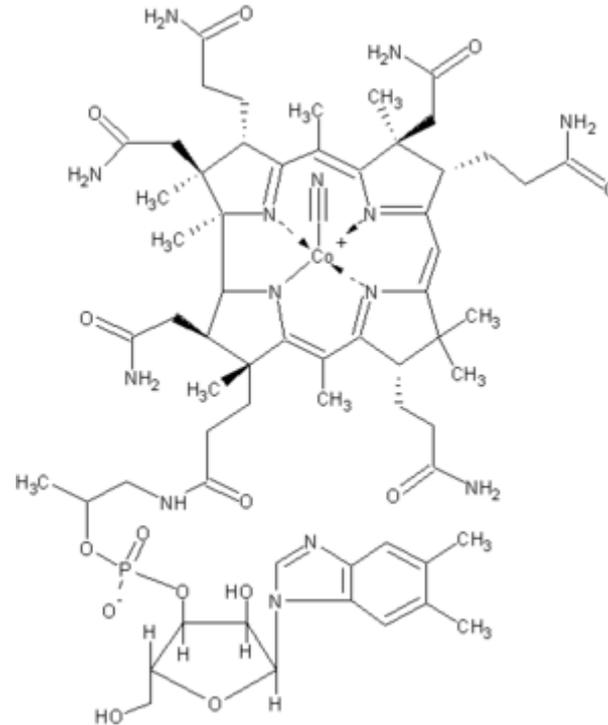
# Gliederung

---

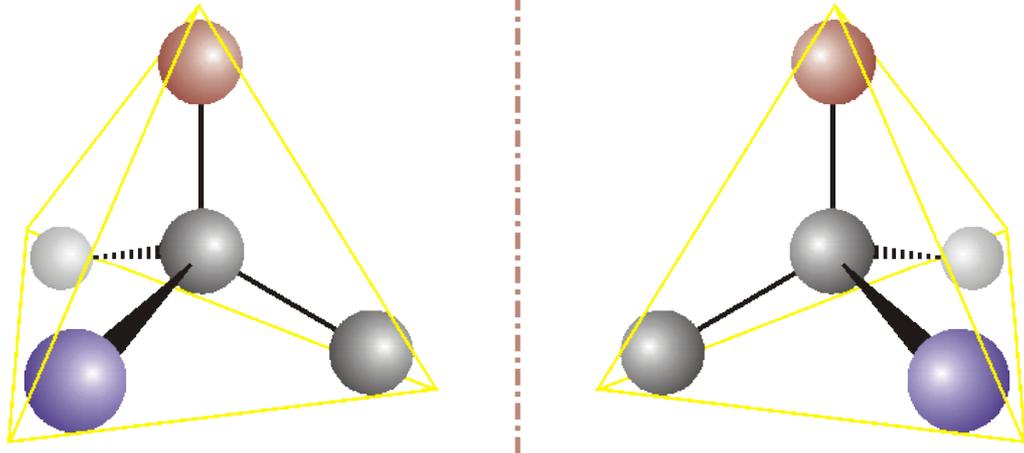
- **Einleitung**
  - **Die Zelle als „chemische Fabrik“**
  - **Wirkstoffe aus Pflanzen**
  - **Wirkstoffe aus Pilzen**
  - **Wirkstoffe aus tierischen Zellen**
  - **Biotechnologische Herstellung von Wirkstoffen**
  - **Gentechnische Herstellung von Humaninsulin**
  - **Grundlegende Aspekte zur Isolierung von Biopharmazeutika**
  - **Chromatographie, eine Schlüsseltechnologie des „Downstream Processing“**
  - **Schlussbemerkungen**
-

# Vitamin B12

## Juwel eines Wirkstoffmoleküls



# Chiralität (Händigkeit)

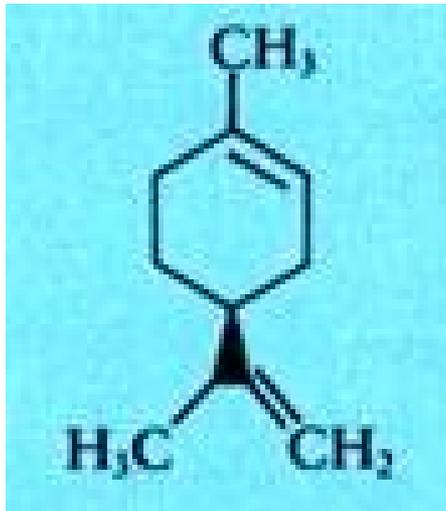


Zwei Raumstrukturen (Stereoisomere), die sich wie Bild zu Spiegelbild verhalten, nennt man **Enantiomere** (oder chirale Moleküle).

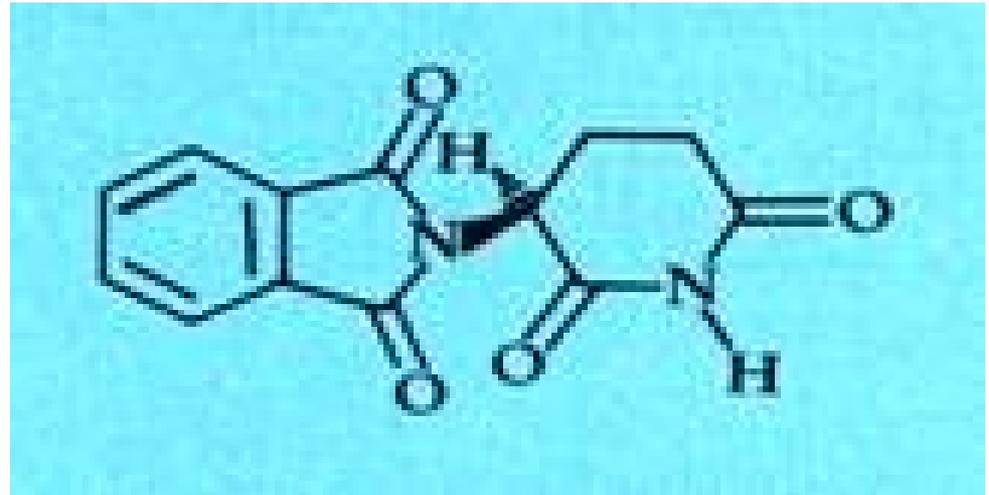
Enantiomere (optische Antipoden) zeigen gleiche Reaktivitäten gegenüber achiralen Partnern, reagieren aber unterschiedlich mit chiralen Reagenzien oder in chiraler Umgebung.

# Wirkung optischer Antipoden

---



**Geruch:** **Limonen**  
**S-Form:** Zitronen  
**R-Form:** Orangen

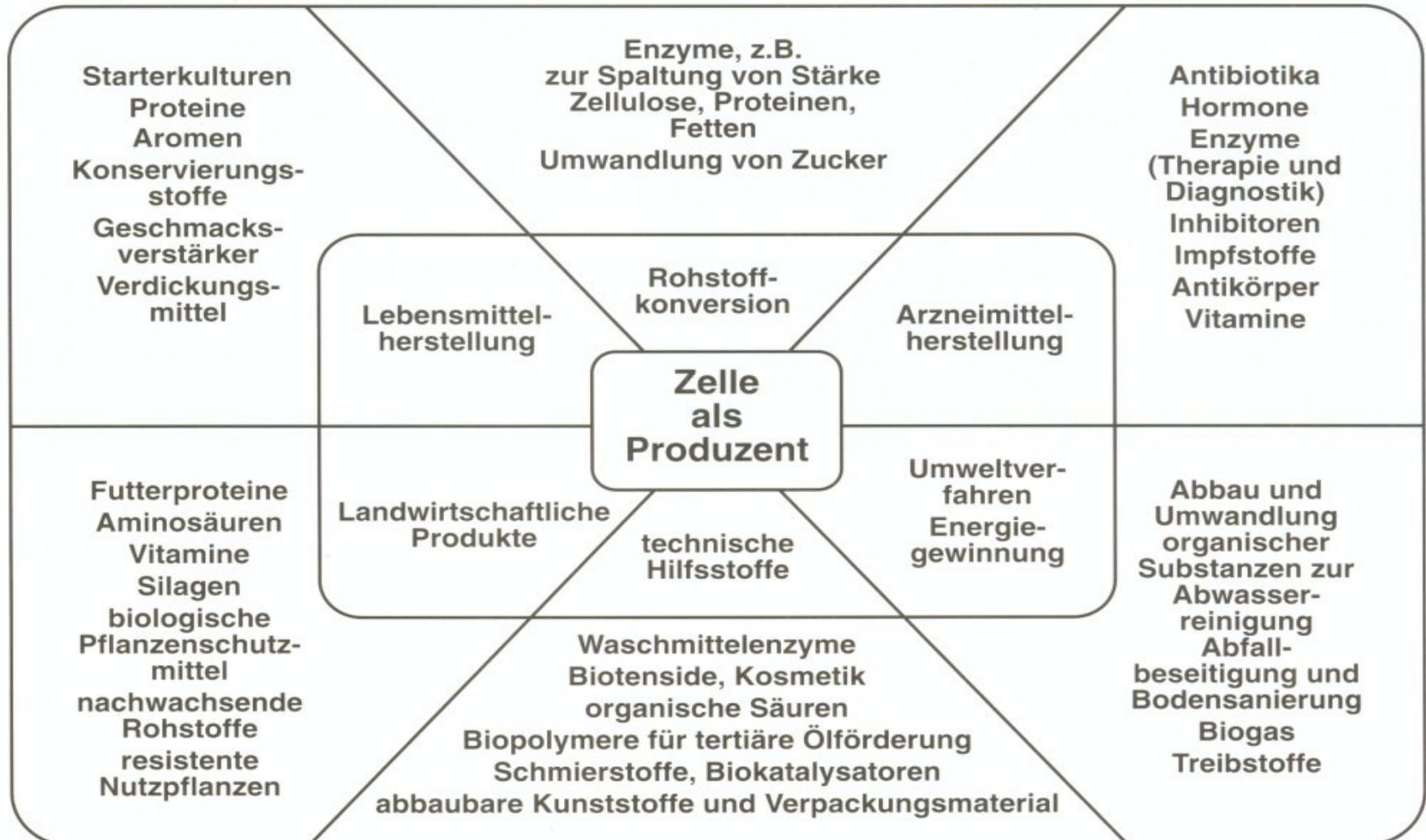


**Wirkung:** **Thalidomid** (Contergan®)  
**S-Form:** sedativ  
**R-Form:** teratogen

**Geschmack:** S-Aminosäure bitter, R-Aminosäure süß

---

# Die Zelle als „chemische Fabrik“



# Arten von Zellen

---

Eine **Zelle** ist die elementare Einheit aller **Lebewesen**. Die Zelle stellt ein strukturell abgrenzbares, eigenständiges und selbst erhaltendes System dar. Zellen können Nährstoffe aufnehmen und diese in Energie und/oder Stoffwechselprodukte umwandeln.

Man unterscheidet **prokaryotische** und **eukaryotische Zellen**.

**Prokaryotische Zellen** besitzen keinen echten Zellkern und weisen eine einfache innere Organisation auf. Zu den Prokaryoten gehören zum Beispiel **Bakterien**.

**Eukaryotische Zellen** besitzen einen Zellkern mit einer Kernhülle um die in Chromosomen organisierte DNA. **Tierische** und **pflanzliche Zellen** sowie **Pilz-Zellen** gehören zu den eukaryotischen Zelltypen.

---

# Arzneipflanzen

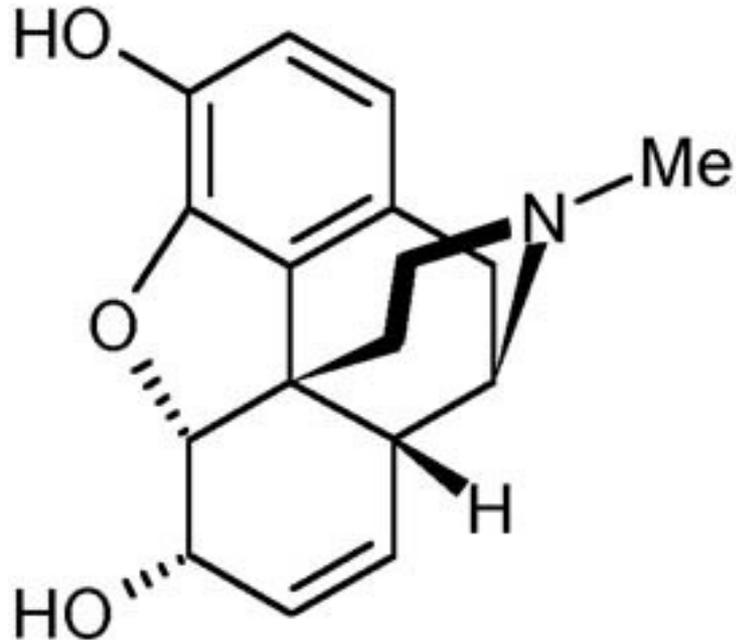
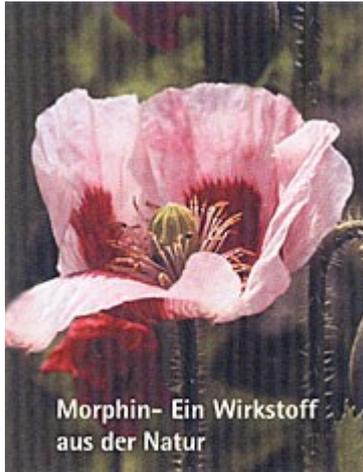


## Hildegard von Bingen (1098-1179)

- **„Naturkunde“** beschrieben wird das Wirken von mehr als 500 Pflanzen und Tieren
- **„Causae et Curae“** berichtet über die Ursachen und die Behandlung von Krankheiten

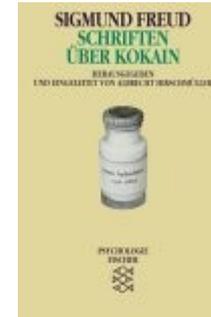
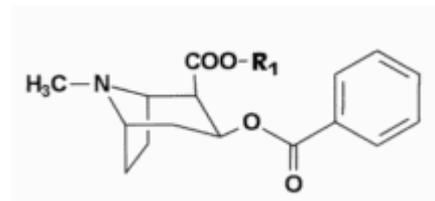


# Wirkstoffe aus Pflanzen



**Morphin** das Hauptalkaloid des Opiums – aus dem Milchsaft des **Schlafmohns** gewonnen - ist eines der stärksten Schmerzmittel und Leitsubstanz für die Entwicklung neuer **Analgetika**.

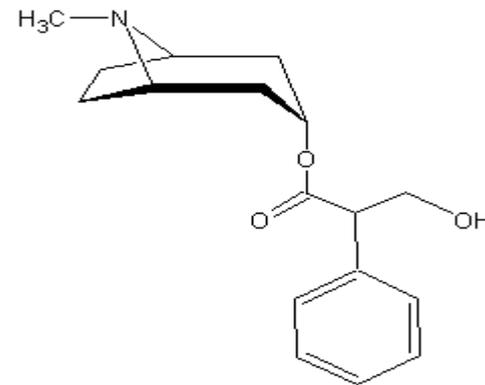
# Wirkstoffe aus Pflanzen



**Cocain** („Koks“ – „Schnee“) - aus den Blättern des **Coca-Strauches** isoliert - vertreibt Hunger und erzeugt euphorische Gefühle. Nach Cannabis liegt der Cocain-Konsum derzeit auf Platz 2 in Europa.

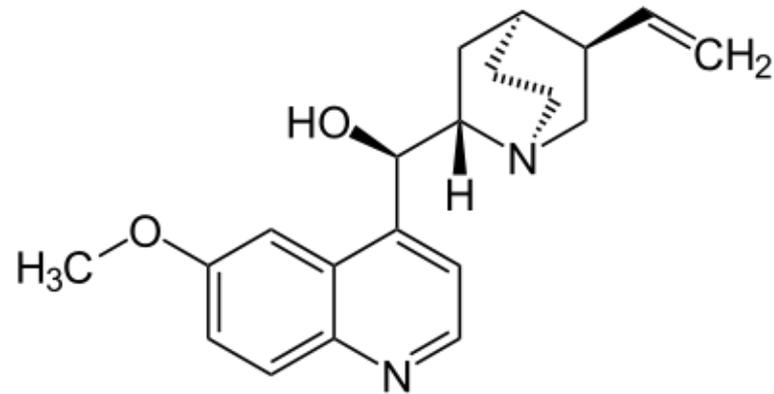
Physiologisch wirkt Cocain (**Methylbenzoylecgonin**) vor allem auf die Nerven, betäubt die Ganglien und macht sie unempfindlich gegenüber Reizen. Einsatz in der Medizin zur **Lokalanästhesie!**

# Wirkstoffe aus Pflanzen



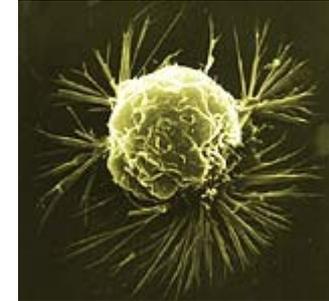
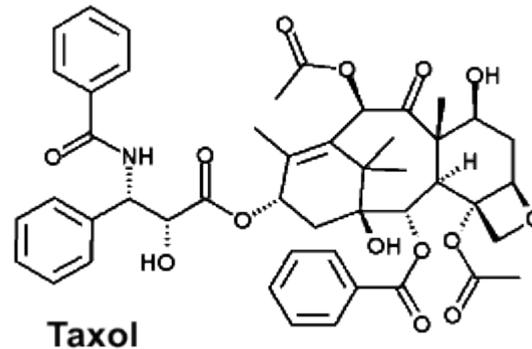
**Belladonna** (die **Tollkirsche**) ist ein Nachtschattengewächs, das in Europa, Asien und Nordafrika gedeiht. Die Pflanze beinhaltet den Wirkstoff **Atropin**, das die Pupillen erweitert.

# Wirkstoffe aus Pflanzen



**China-Alkaloide** werden aus der Rinde subtropischer Bäume der Gattungen *Cinchona* und *Remijia* isoliert. Das wichtigste Alkaloid ist **Chinin**, ein immer noch bedeutsames Chemotherapeutikum gegen **Malaria**.

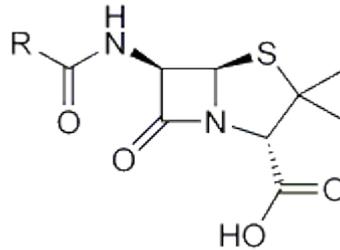
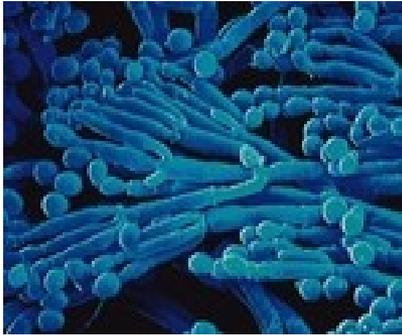
# Wirkstoffe aus Pflanzen



Diterpenoide **Taxane** sind Inhaltsstoffe der Pazifischen **Eibe**. Taxol kann aus der Rinde von *Taxus brevifolia* isoliert oder durch Partialsynthese aus den in den Nadeln von *Taxus bacchata* enthaltenen **Baccatin III** gewonnen werden.

**Taxol** (Paclitaxel) oder **Docetaxel** (Taxotere®) werden als Zytostatika zur Behandlung fortgeschrittener (metastasierender) Mamma- und Ovarialkarzinome eingesetzt.

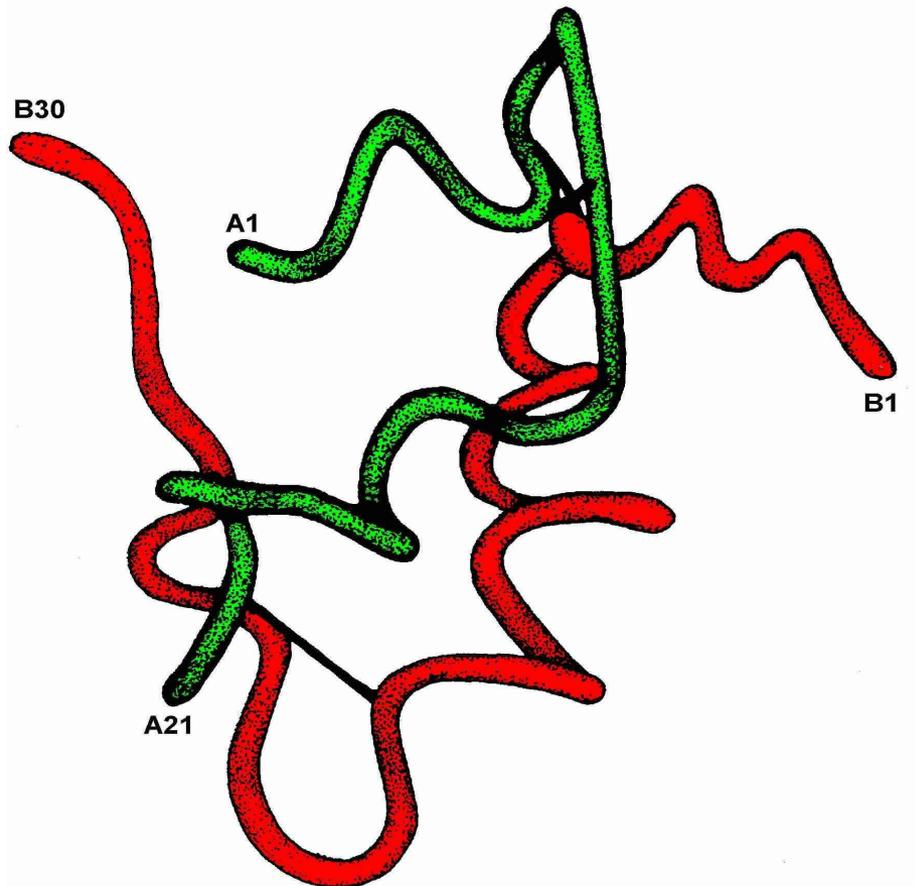
## Wirkstoffe aus Pilzen



***Penicillium chrysogenum*** ist ein wichtiger Antibiotika-Produzent. 1928 wurde das erste medizinisch nutzbare Antibiotikum „**Penicillin**“ von **Alexander Fleming** aus diesem Schimmelpilz isoliert und nach ihm benannt.

**Antibiotika** sind niedermolekulare Stoffwechselprodukte (**Sekundärmetabolite**) von Pilzen (oder Bakterien), die das Wachstum anderer Mikroorganismen hemmen (bakteriostatische Wirkung) oder diese abtöten (bakterizide Wirkung).

# Wirkstoffe aus tierischen Zellen: Insulin



## Humaninsulin

Proteohormon aus dem Pankreas

51 Aminosäuren

**A-Kette:**

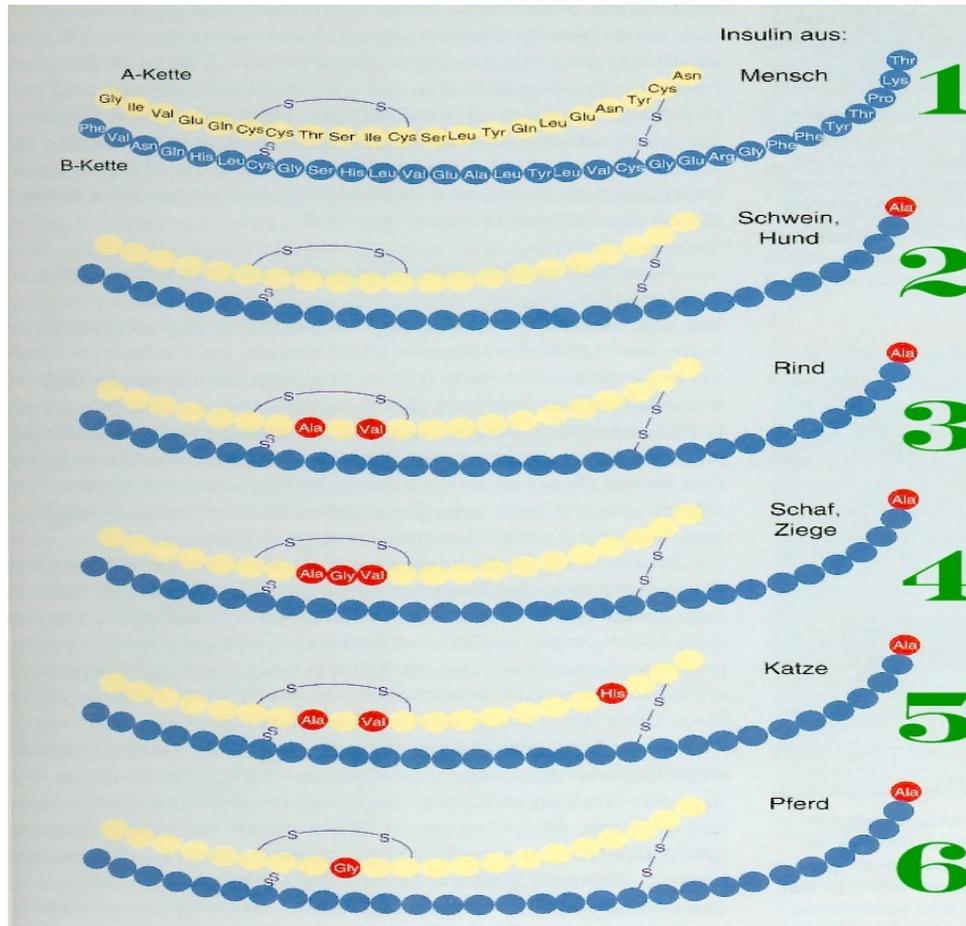
21 Aminosäuren

**B-Kette**

30 Aminosäuren

**3 Disulfidbrücken**

# Wirkstoffe aus tierischen Zellen: Insulin



1: **Humaninsulin**

2: **Schwein, Hund**

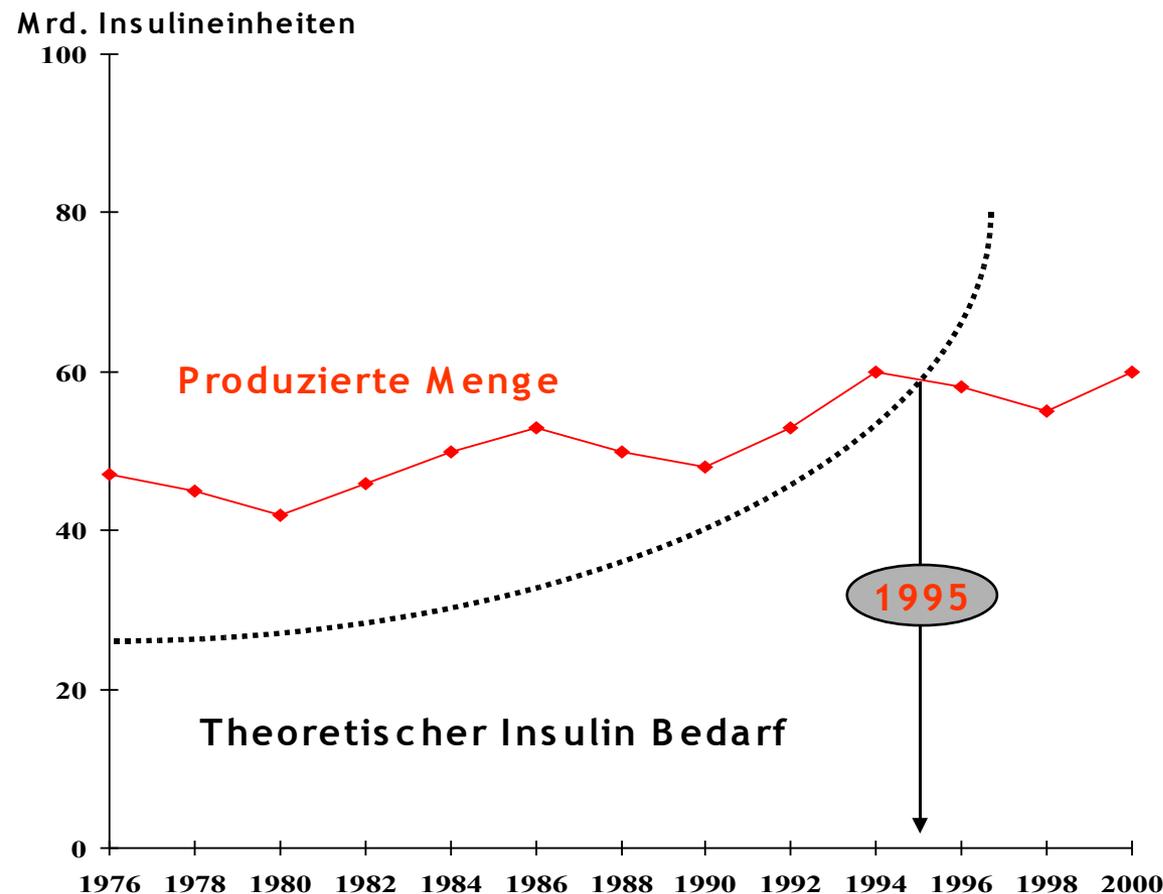
3: **Rind**

4: **Schaf, Ziege**

5: **Katze**

6: **Pferd**

## Insulin: Bedarfsentwicklung (Quelle: NIH)



Etwa **6%** der Weltbevölkerung sind Diabetiker. Ein gesunder Mensch produziert etwa **2 mg** Insulin pro Tag.

Ein Typ I-Diabetiker benötigt **1,5 mg** Insulin pro Tag. Eine Schweinepankreasdrüse liefert den Bedarf für **10 Tage**.

# Insulin-Herstellung

---

- **Etwa 6-8 Tonnen Humaninsulin werden weltweit pro Jahr benötigt. Bedarf steigend!**
- **Eine chemische Totalsynthese ist zu aufwendig und teuer und würde auch die benötigten Mengen nicht bereitstellen können.**
- ◆ **Die gentechnische Herstellung von Humaninsulin ist die einzig mögliche, ökologisch und ökonomisch sinnvolle Alternative.**

**Die gentechnische Herstellung von Humaninsulin ist eine Erfolgsgeschichte!**

---

# Definition der Gentechnik (I)

---

## Was ist Gentechnik nicht?

- **Klassische Züchtungsverfahren**
  - **Extrakorporale Befruchtung**
  - **Übertragung von Embryonen auf Leihmütter**
  - **Zellbiologische Verfahren**
    - Herstellung tierischer Hybride (z.B. **Schiege** = Schaf + Ziege)
    - Herstellung pflanzlicher Hybride (z.B. **Nektarine**)
    - Klonieren von Organismen (z.B. **Stecklinge, Ableger**)
    - Embryoteilung und Embryonutzung bei Nutztieren
-

## Definition der Gentechnik (II)

---

### Was ist Gentechnik?

⇒ Neukombination von Nucleinsäuren!

⇒ DNA wird im Laufe des Prozesses isoliert und gezielt verändert!

- **Herstellung von Proteinen** für medizinische und technische Anwendungen
  - Herstellung transgener Pflanzen und Tiere
  - Gendiagnostik
  - Gentherapie
-

# Ein isolierter DNA-Strang



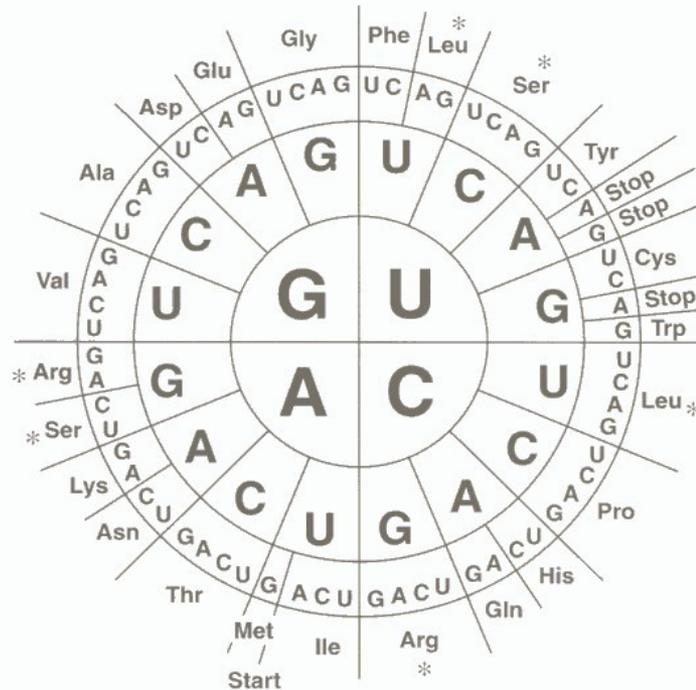
Die **DNA**, ein Polymer von **Desoxynucleotiden**, bestehend aus

- einer Purin- oder Pyrimidin-Base,
- einer N-glykosidisch verknüpften Desoxyribose,
- einem esterartig gebundenen Phosphatrest,

ist das Zielmolekül aller gentechnischen Methoden.

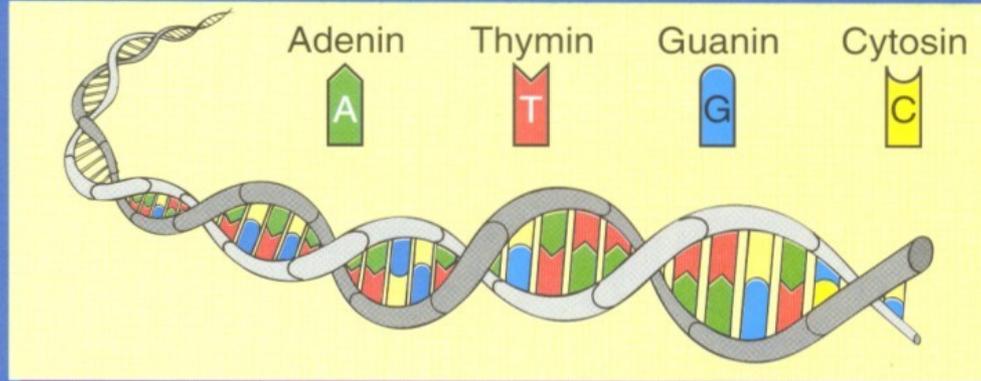
DNA liegt **doppelsträngig** vor.

# Der genetische Code



# Von der DNA zum Protein

## DNA-Struktur

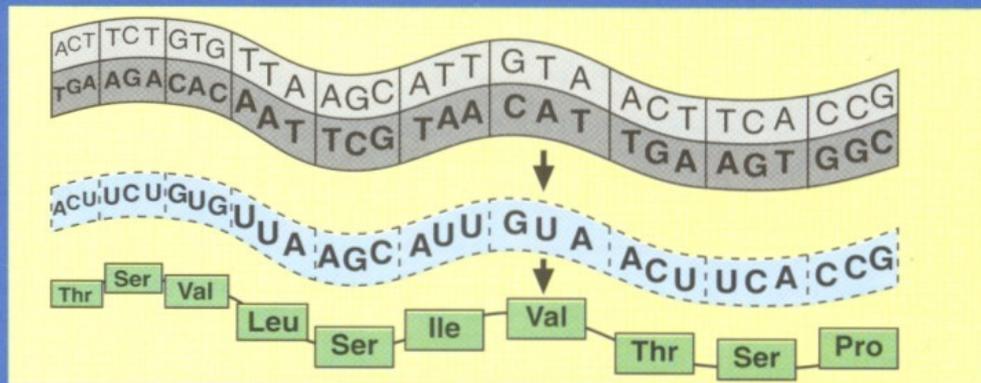


Nucleotid-Bausteine

codogener Strang

DNA-Helix  
nicht codogener Strang

## Vom Gen zum Protein



nicht codogener Strang

DNA

codogener Strang

mRNA

Protein

# Der biotechnologische Prozess

---

**Upstream  
Processing**



**Downstream  
Processing**

---

# Gentechnische Herstellung von Humaninsulin

---

Es existieren drei Ansätze zur gentechnischen Herstellung von Humaninsulin:

1. Expression der beiden Insulin-Ketten in unterschiedlichen *E.coli*-Stämmen

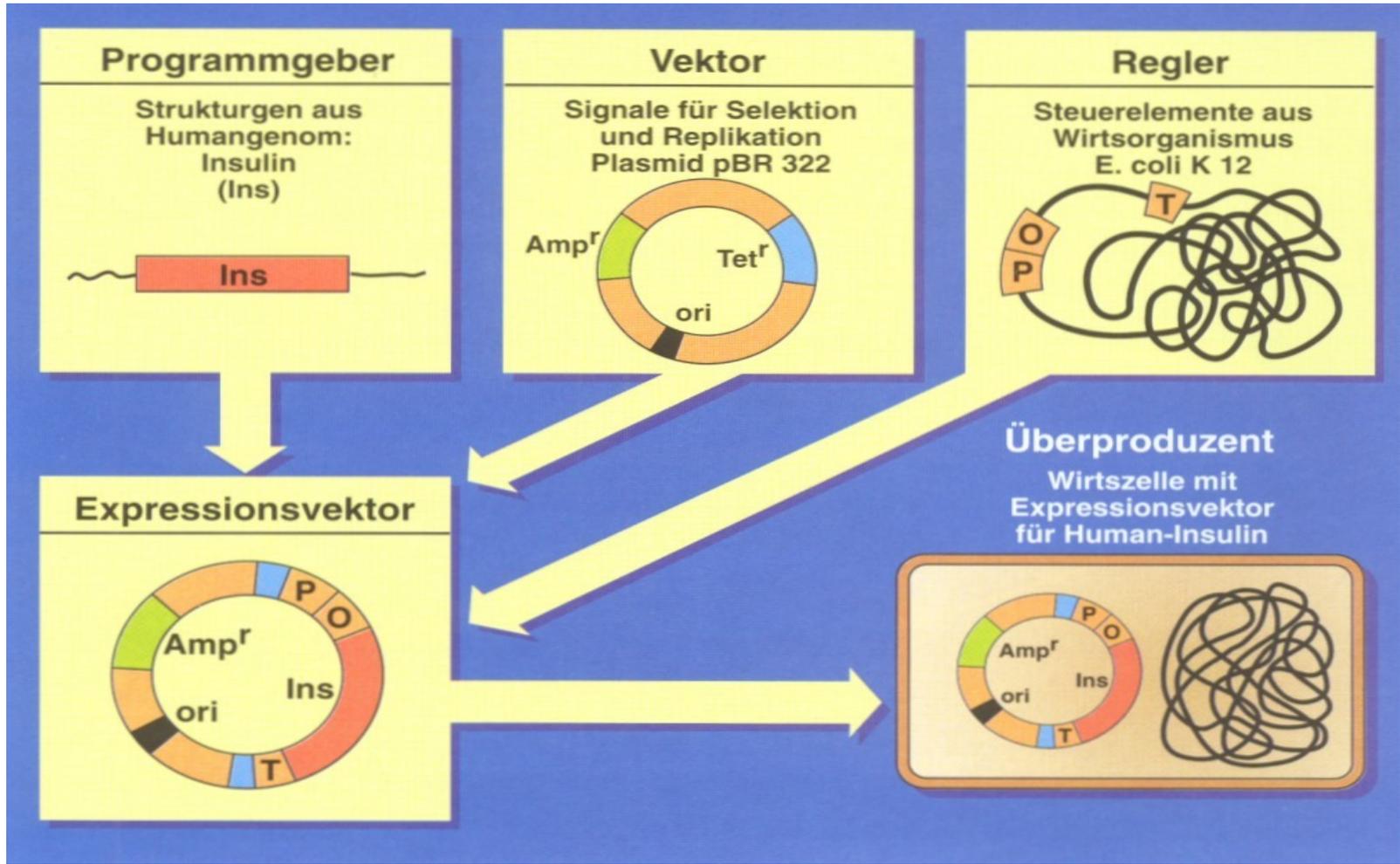
2. Expression von Proinsulin in *E.coli*  
(in Anlehnung an die Biosynthese)

Zielmolekül ist das **Prä-Proinsulin**, das aus einem Signal-Peptid, der B-Kette, dem C-Peptid und der A-Kette besteht.

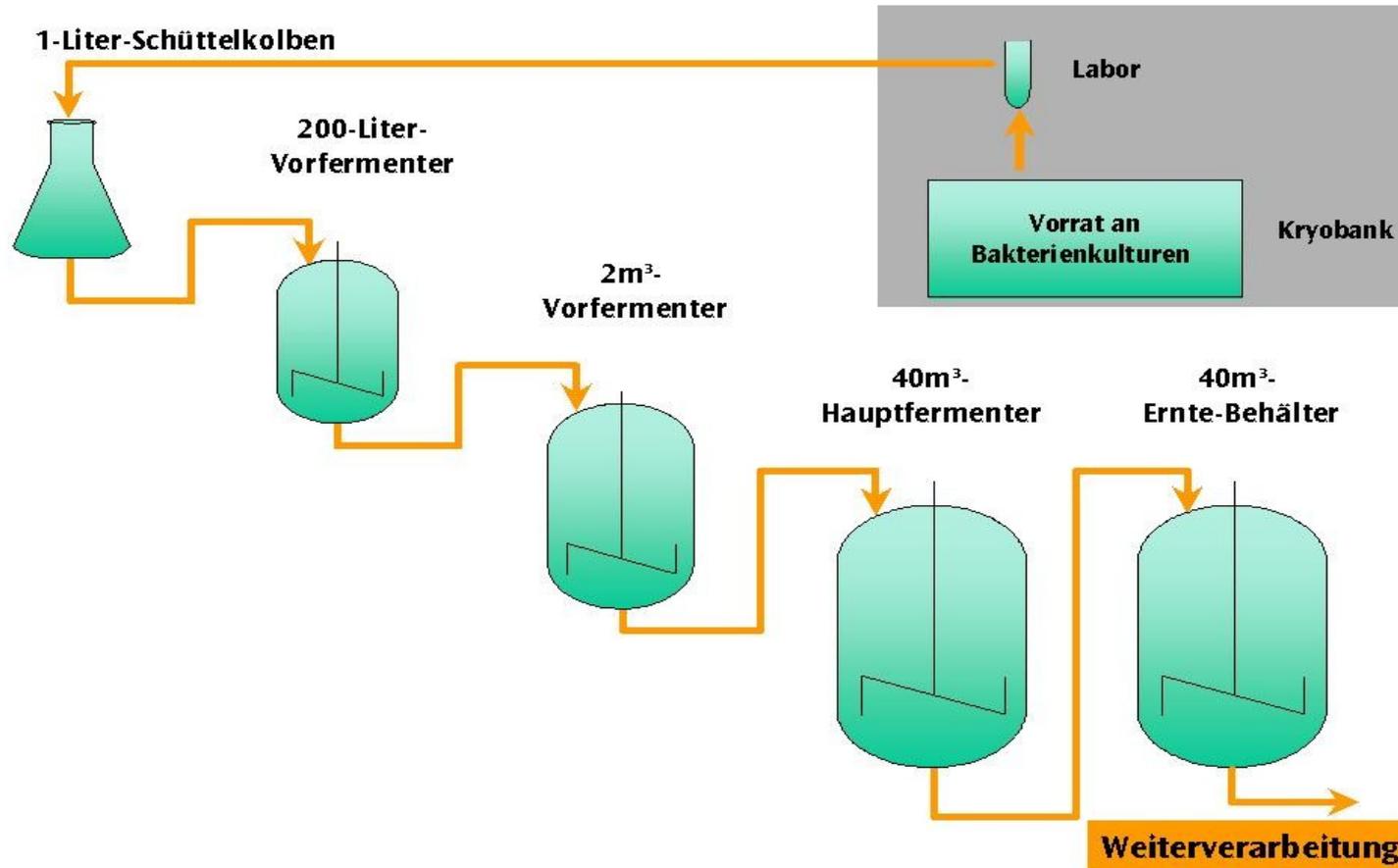
3. Expression von Mini-Proinsulin in *Sacharomyces cerevisiae*

---

# Expressionsvektor für Humaninsulin

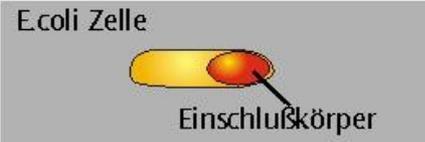


# Der Fermentationsprozess



# Die Basisreinigung

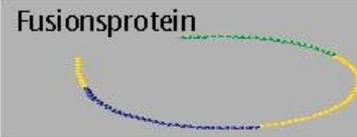
Isolation der Zellen



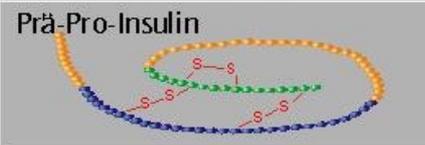
Zellaufspaltung im Homogenisator



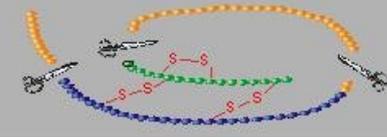
Isolation und Reinigung des Fusionsproteins



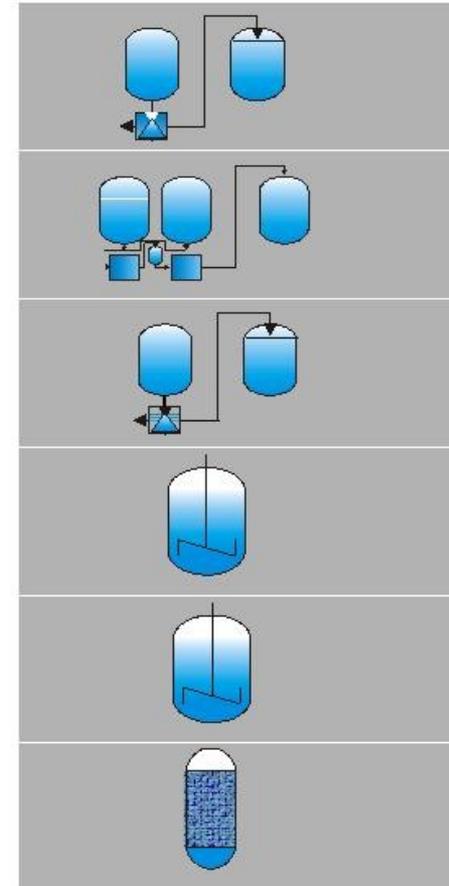
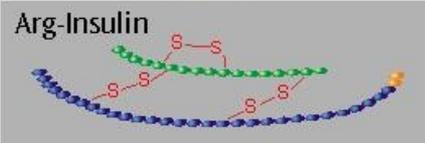
Faltung



Enzymatische Spaltung



Vorreinigung und Konzentration durch Adsorption



# Die Hochreinigung

Chromatographische  
Reinigung

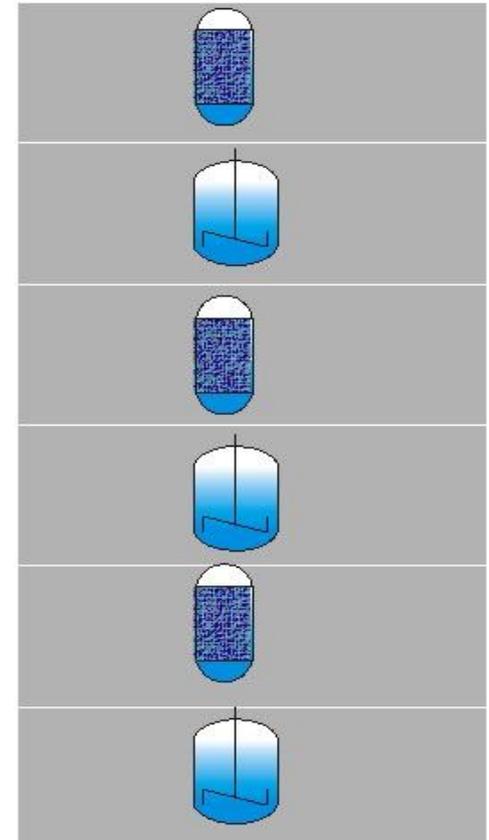
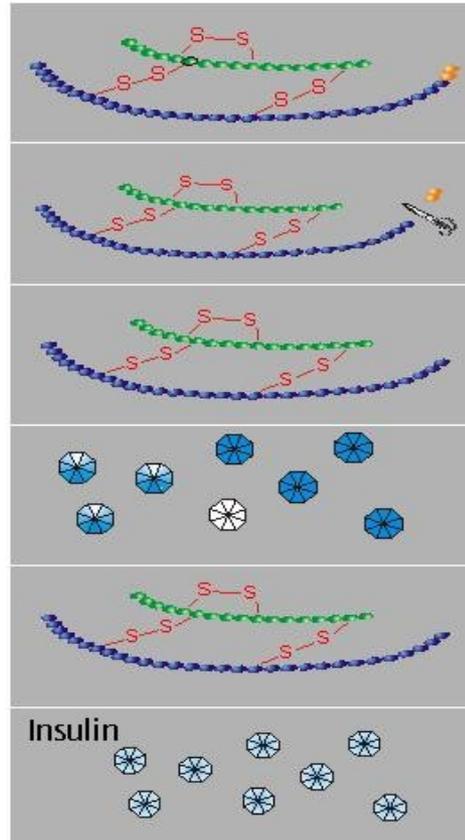
Enzymatische Spaltung

Chromatographische  
Reinigung

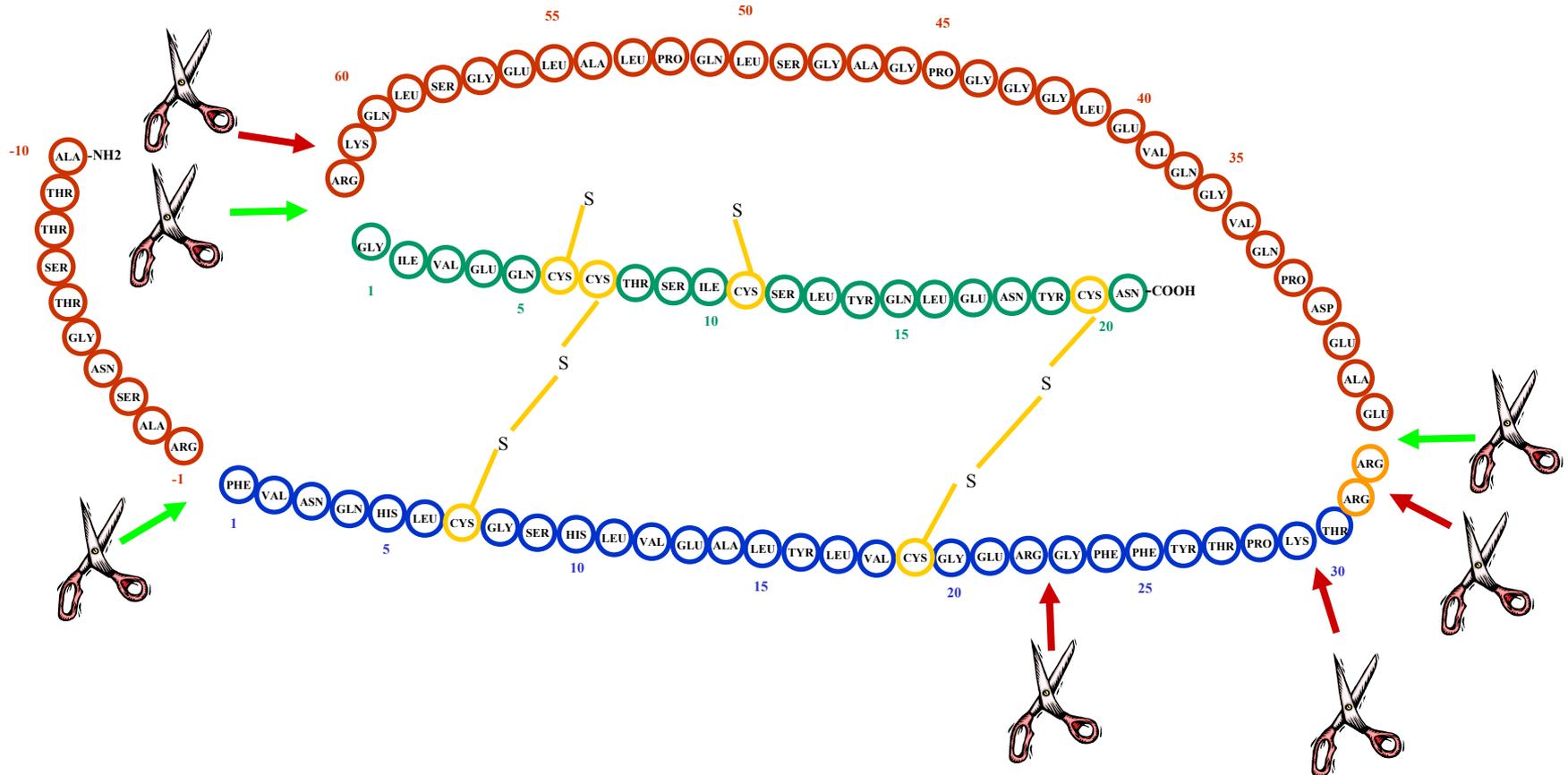
Kristallisation

Letzte chromatographische  
Reinigung

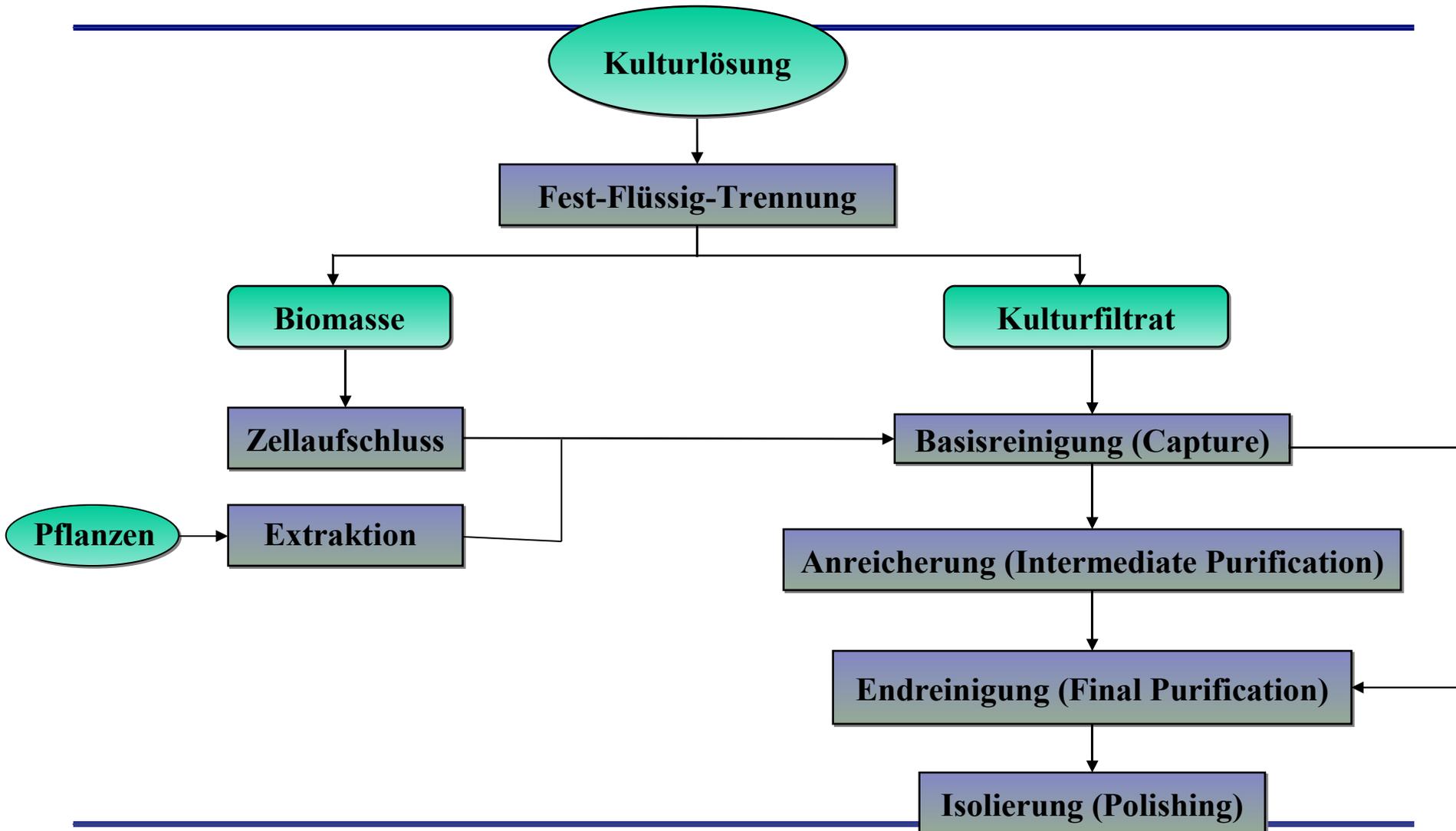
Kristallisation,  
Rekristallisation,  
Lyophilisierung



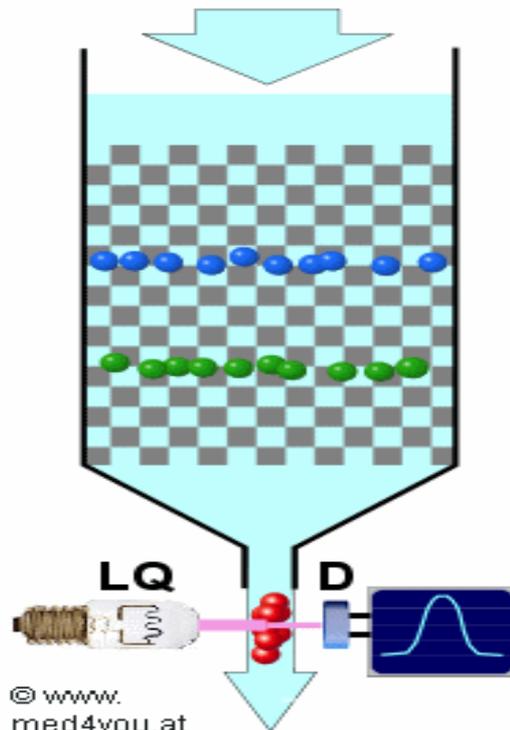
# Trypsin-Spaltung von Prä- Proinsulin



# Verallgemeinertes Schema zur Isolierung von Biopharmazeutika



# Chromatographie



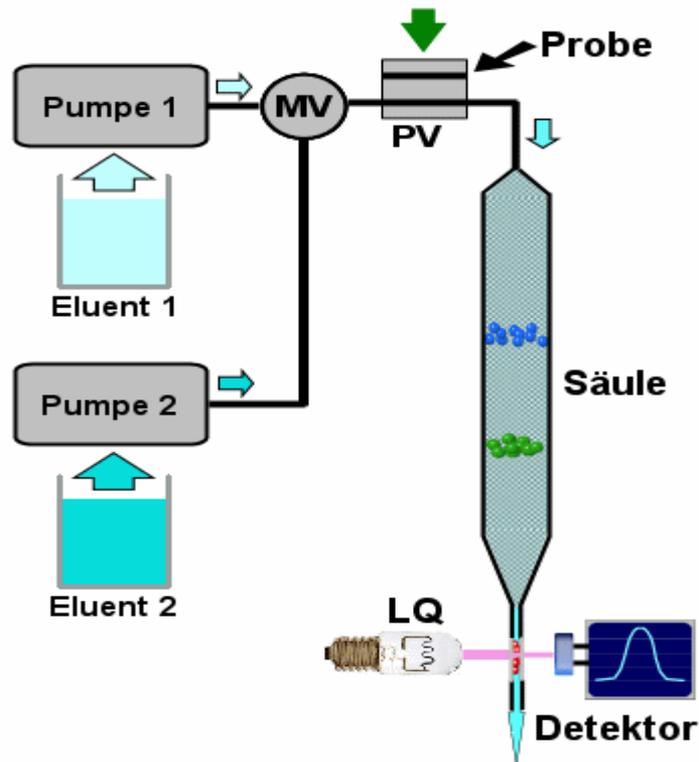
**Chromatographie** ist ein physikalisches Verfahren zur analytischen und präparativen Trennung gelöster oder gasförmiger Stoffe.

Grundprinzip aller chromatographischen Verfahren ist das unterschiedliche Verhalten von Stoffen bei **Phasenübergängen** zwischen einer **mobilen Phase** und einer **stationären Phase**.

Verteilung, Adsorption, Ionenaustausch und Siebeffekte (Größenausschluss) sind die wichtigsten **Trennmechanismen**.

Bei der **Säulenchromatographie** ist die stationäre Phase als senkrecht angeordnetes Trennbett angeordnet.

# Chromatographie-Anlage



© www.med4you.at

Je nach der Zusammensetzung der **mobilen Phase** unterscheidet man:

- **isokratische Elution**, bei der die Zusammensetzung der mobilen Phase konstant gehalten wird.
- **Gradientenelution**, bei der die Zusammensetzung der mobilen nach einem bestimmten Programm verändert wird.
  - **Stufengradient**
  - **linearer Gradient**

## Scale up-Fähigkeit chromatographischer Prozesse



Ein wichtiges Kriterium chromatographischer Verfahren ist die **Scale up**-Fähigkeit von Laborparametern über eine Pilot-Anlage (Technikum) bis in den Produktionsmaßstab.

Umgekehrt können Prozessparameter in **Scale down**-Experimenten leicht optimiert und verbessert werden.

# Verfahrensoptimierung

---

- **Aufgabe:** ein Trennproblem lösen
- **Ziel:** profitabler industrieller Prozess

## ◆ Auswahl der stationären Phase

- optimale Säulendimensionen
- optimale Trägerstabilität
- optimale Kapazität (Beladung)
- optimale Partikelgröße

## ◆ Auswahl der mobilen Phase

- optimale Elutionstechnik (isokratische Elution, Gradientenelution)
- optimale Fraktionierung (realisierbare Schnittkriterien)

**Integrierte Prozessoptimierung** (bei mehrstufigen Prozessen)

---

## Schlussbemerkung (1)

---

### „Die Zelle eine chemische Fabrik“

In der **Biotechnik** werden **natürliche** Syntheseleistungen von selektionierten und optimierten Mikroorganismen, tierischen und pflanzlichen Zellen zur **industriellen** Gewinnung von Stoffen genutzt. Diese biologischen Synthesen verlaufen im Allgemeinen mit hoher Effizienz.

Ein weiterer Zweig der Biotechnik ist die Gewinnung von **Enzymen (Biokatalysatoren)** zur schonenden und selektiven Modifizierung von Stoffen.

---

## Schlussbemerkung (2)

---

Die industrielle Produktion von Stoffen mit Hilfe von Organismen oder deren Enzymen (in isolierter und immobilisierter Form oder in Form ganzer Zellen/Mikroorganismen) wird auch als

„**Weiß**e Biotechnologie“ (Industrial Biotechnology)

bezeichnet.

Sie bietet die Möglichkeit neue Stoffe (Aminosäuren, Vitamine, pharmazeutische Wirkstoffe, Bioethanol, Biogas, Feinchemikalien usw.) aus *ökonomischer* und *ökologischer* Sicht *nachhaltig* zu gewinnen. Die Verfahren der **Biokatalyse** und **Fermentationstechnologie** sind hoch *innovativ*.

---

## Schlussbemerkung (3)

---

Die biotechnologische Herstellung von Diagnostika, Therapeutika und Impfstoffen wird manchmal auch als

„**Rote Biotechnologie**“ (Healthcare Biotechnology)

bezeichnet. Ihr kommt eine **Schlüsselrolle** im Bereich **Gesundheit** zu!

Die

„**Grüne Biotechnologie**“ (Plant Biotechnology)

beschäftigt sich mit der industriellen Gewinnung von natürlichen Pflanzenschutzmitteln, Saatgut und Futtermitteln. Sie wird derzeit in der Bevölkerung kontrovers diskutiert.

---

## Schlussbemerkung (4)

---

In der **Gentechnik** werden ebenfalls Produkte durch lebende Organismen gewonnen. Im Unterschied zur Biotechnik wird aber im Laufe des Verfahrens **DNA isoliert und mutiert**, d.h. gezielt verändert.

Die **modifizierte DNA** wird wieder in einen Organismus integriert, um dadurch eine **neue**, aber gewünschte **Eigenschaft** des Organismus für eine Syntheseleistung nutzen zu können

**Die Gentechnik erweitert daher die Möglichkeiten und Chancen der Biotechnik und gibt der „Natur als Vorbild“ ein neues Gesicht. Sie eröffnet neue Chancen der Wirkstoffproduktion.**

---

**Vielen Dank für Ihre  
Aufmerksamkeit!  
Fragen?**

**Ich danke den Firmen Sanofi-Aventis und med4you  
für die Überlassung einiger Abbildungen!**

---