

Den magiske kugle

Visionen om fremstillingen af det perfekte lægemiddel – en slags magisk kugle, der selv opsøger sit mål – er en stor udfordring for lægemiddelforskningen.

Ved at inddrage ekspertise fra mange fagområder kan visionen måske blive til virkelighed.

Af Ole G. Mouritsen
& Robert Madsen

■ Den tyske kemiker Paul Ehrlich (1854-1915) betegnes ofte som medicinalkemiens fader. Han fik Nobelprisen i 1908 som grundlægger af immunologien, og han blev i sin samtid bedst kendt for at have fremstillet det første effektive lægemiddel mod syfilis. Han er ophavsmand til visionen om *den magiske kugle* – det perfekte lægemiddel, der selv opsøger sit mål for at uskadeliggøre det.

Det er ofte et kendetegn ved store videnskabsmænd, at de formår at tænke på tværs af traditionelle fagskel og have mod til at gå op mod tidens strømninger og konventionelle tankegange.

Paul Ehrlich var ud af en stolt tysk tradition af farvestofkemikere, der producerede farvestoffer til tekstilindustrien. I sine forsøg med at udnytte farvestoffer til at farve mikroorganismer til identifikation af sygdomsfremkaldende bakterier i mikroskopet, observerede Ehrlich, at visse kemiske stoffer farvede nogle celler og ikke andre, eller at stofferne farvede



Det perfekte lægemiddel – en pille med en slags magisk kugle, der selv opsøger sit mål – er en stor udfordring for lægemiddelforskningen.

bestemte dele af cellens indre. Det var en nyttig observation, men det geniale var, at Ehrlich kunne se, at denne form for kemisk specificitet (affinitet)

måtte have fundamentale konsekvenser.

Den blev grundlaget for hans banebrydende ideer og teorier inden for det fagområde, som

vi nu kalder immunologien. Den var nøglen til at bruge kemien til sygdomsbekæmpelse, og den affødte hans vision om den magiske kugle.

En vision får fornyet styrke

At bruge kemiske stoffer til medicinsk behandling tager vi i dag for en selvfølge, men det var det ikke på Ehrlichs tid, hvor den traditionelle metode til at behandle f.eks. infektionssygdomme var serumterapi, dvs. med ekstrakter fra blod. Det var således et paradigmeskift at bringe kemien ind i billedet og foreslå behandling af sygdomme med *kemoterapi*, et udtryk, som Ehrlich skulle have været den første til at bruge.

Affinitetsbegrebet inden for immunologien, kombineret med ideerne om kemisk fremstilling af lægemidler, førte Ehrlich til visionen om den magiske kugle, et begreb, som nu er uløseligt forbundet med hans navn. Visionen indebærer kunstig fremstilling af et aktivt lægemiddelstof, der ved passende formulering føres frem i kroppen og helt af sig selv finder frem til det syge sted og dér, og kun dér, ødelægger syge eller fremmede celler uden at skade kroppens egne, raske celler.

Begrebet den magiske kugle har i dag fået fornyet styrke, fordi vi nu i langt højere grad forstår kroppens og cellernes biologi, fordi vi har fået avancerede kemiske syntesemetoder til rådighed, og fordi vi begynder at forstå, hvorledes vi kan konstruere og formulere magiske kugler ved hjælp af bl.a. nanoteknologiske principper, så lægemiddelstoffet kan føres frem til det rette sted. Men en afgørende betingelse for succes i moderne lægemiddelforskning er et tæt grundvidenskabeligt samarbejde mellem mange forskellige fagdiscipliner: kemi, farmaci, cellebiologi, medicin, biofysik og materialforskning.

Kroppens barrierer

Siden renæssancelægen Paracelsus' dage (1493-1541) har det været velkendt, at et lægemiddel skal doceres i passende mængder. Hvis der er for lidt, virker det ikke, og hvis der er for meget, er det giftigt. Man taler om et *terapeutisk vindue*. Det helt centrale i udviklingen af effektive lægemiddelstoffer og formuleringer er at kende dette

vindue og forsøge at gøre det så bredt som muligt. Jo snævrere det terapeutiske vindue er, jo større er faren for, at medicinen har uønskede bivirkninger eller er virkningsløs.

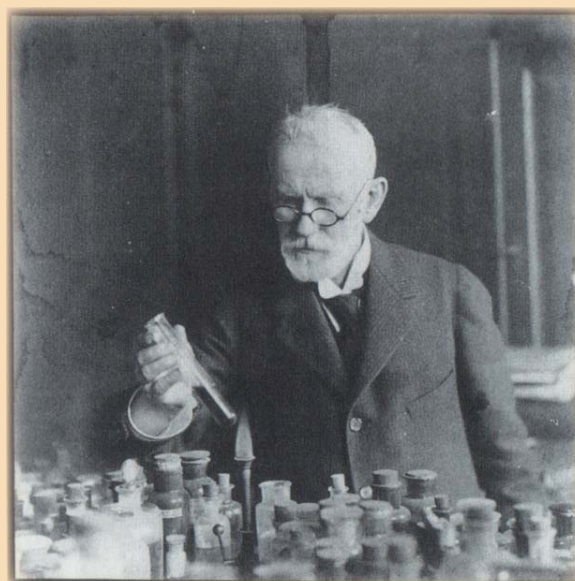
Vanskelighederne med at fremstille nye og effektive lægemidler med et fornuftigt terapeutisk vindue er enorme, og det kræver stor indsigt i cellebiologi, farmakologi og kemisk syntese. Men det er langt fra nok at kunne syntetisere et aktivt kemisk stof, som er designet til at påvirke en særlig del af en celle og dens funktioner. Problemet er at få lægemidlet frem til det sted, hvor det skal virke. Vejen til virkningsstedet er nemlig ofte fyldt med barrierer.

Det er der imidlertid en god grund til. Kroppen og dens celler er designet til at kunne holde fremmede og eventuelt skadelige stoffer ude. Hertil har evolutionen udstyret vores organer med en række barrierer: f.eks. huden, epitellag i luftveje, mave og tarm samt blod-hjernebarrieren. Desuden er den enkelte celle beskyttet af en cellevæg, og cellens organeller, specielt cellekernen med dens værdifulde last af vores genom, er indkapslet af særlige membraner, som ofte kun er gennemtrængelige for specielle stoffer ved hjælp af aktive transportproteiner.

For at nå sit mål skal et lægemiddelstof altså kunne passere alle disse barrierer og nå frem til målet i tilstrækkelig høj koncentration og desuden afleveres med en passende hastighed for at være effektiv. Meget kan gå galt undervejs. Lægemidlet kan blive kemisk nedbrudt, opfanget af immunforsvaret, blive bundet andre steder på vej mod målet eller fejle sit mål, fordi det aktiveres for langsomt eller for hurtigt.

Udfordringerne

For at kunne møde alle disse udfordringer kræves der ekspertise fra mange fagdiscipliner. Farmakologer og cellebiologer skal identificere, helst på molekylært niveau, det mål (target), som lægemidlet skal binde sig til. Kemikere skal syntetisere specifikke kemiske

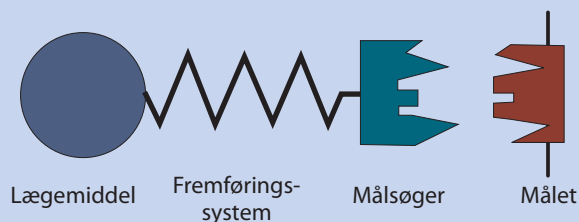


Paul Ehrlich

Paul Ehrlich (1854-1915) tysk læge og bakteriolog, fra 1899 forstander for Institut für experimentelle Therapie i Frankfurt am Main. Ehrlich indførte flere nye metoder til farvning af bl.a. hvide blodlegemer (leukocytter) og bakterier. Han var pioner inden for immunologi, idet han introducerede en sidekædetheori til forklaring af antistofdannelse; ifølge denne kunne særlige sidekæder på cellernes overflade som receptorer fange toksinmolekyler og medvirke til det, han kaldte antitoksindannelse. Han udviklede lægemidlet salvarsan til behandling af syfilis og udmøntede betegnelsen kemoterapi for kemisk behandling af infektion; begrebet bruges efterhånden snarere i forbindelse med kræftbehandling. For deres indsats inden for immunitetsforskning modtog Ehrlich og Ilja Metjnikov nobelprisen i medicin i 1908.

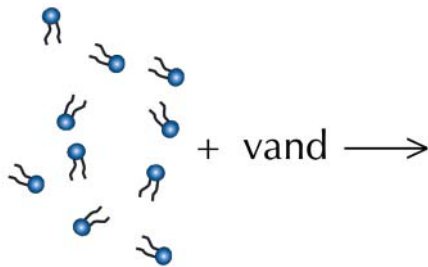
Kilde: Den Store Danske.

Den magiske kugle



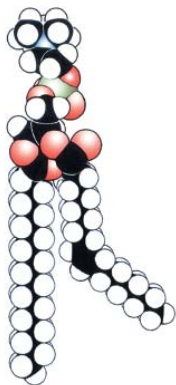
Ideelt set skal en magisk kugle til lægemiddelfremføring bestå af et lægemiddelstof, et fremføringssystem og en målsøger, som selektivt kan finde og påvirke målet. For at kunne bevæge sig inde i kroppen, for eksempel i blodkredsløbet, skal en sådan "kugle" være meget lille, meget mindre end en celle, men noget større end et enkelt molekyle. Det er derfor helt oplagt at benytte nanoteknologiske principper ved konstruktionen af den magiske kugle. Det er også oplagt af den grund, at levende systemer fra naturens side er designet til at fungere netop på en skala fra nogle få nanometer til nogle få hundrede nanometer. Det er i dette område, alle vigtige cellulære funktioner udspiller sig.

Liposomer - en mulig magisk kugle



Et liposom dannes spontant ved selvorganisering ud fra *lipidmolekyler*, som blandes med vand. Et lipidmolekyle er et såkaldt *amfifilt* molekyle – dvs. det består af et hydrofilt (vandelskende) hoved og en hydrofob (vandhadende) hale af to fedtsyre kæder. Liposomer kan nemt fremstilles i forskellige størrelser.

For eksempel kan man lave små liposomer, der kun er 20nm



Et lipidmolekyle.

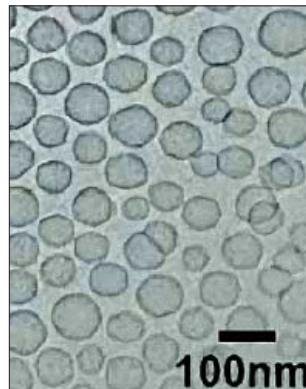
stoffer, der selektivt kan binde sig til målet- (for eksempel en receptor) på baggrund af en molekylær forståelse af, hvori bindingen består, og hvad dens konsekvenser er, f.eks. i form af signalkaskader og påvirkning af cellens maskineri. Farmaceuter skal formulere det aktive lægemiddelstof, så det kan administreres i kroppen, f.eks. gennem munden, ved injektion i blodbanen, i næsen eller ved inhalation. Medicinere skal anvende lægemidlet på patienten og bestemme dets effekt, giftighed og eventuelle bivirkninger.

i diameter, eller kæmpestore liposomer, som er helt op til 100µm i diameter, dvs. meget større end en celle. Typisk vil man bruge liposomer, der er 100nm i diameter, til fremføring af lægemidler. Fordi de er dannet ved hjælp af et selvorganiseringsprincip, er liposomerne selvhelende og kan reparere sig selv.

Hvis der for eksempel går hul på et liposom, vil hullet straks af sig selv blive lappet, fordi lipidmolekyler flyder ind og lukker hullet. Denne egenskab er meget anderledes, end hvad vi kender fra hverdagens hårde materialer, for eksempel beton, metaller og halvledere. Bløde materialer som liposomer kan reparere sig selv inden for visse rammer, og alle naturens levende systemer benytter sig af denne egenskab.

Liposomer kan fremstilles af mange forskellige slags lipider, som har forskellige egenskaber med hensyn til stabilitet, barriereegenskaber, fleksibilitet og evne til at binde proteiner på deres overflade. For eksempel kan man

benytte kolesterol til at gøre liposomerne mere stabile og stive, og man kan benytte lipider med hovedgrupper, som har elektrisk ladning, hvis man ønsker at binde ladede molekyler til deres overflade.



Vandig opløsning af små liposomer, der er 100nm i diameter. Liposomer af denne størrelse benyttes til indkapsling og fremføring af for eksempel anticancermedicin.

Til disse mange traditionelle ekspertiser er der i de senere år kommet et behov for at bruge flere specialer. Dette behov er især tydeliggjort af det faktum, at vi efterhånden har fået mange nye og meget effektive lægemiddelstoffer, men de fleste kommer aldrig patienterne til gode, fordi de ikke kan formuleres eller føres frem i kroppen på en effektiv måde. Farmacien er i højere grad end medicinalkemien blevet en flaskehals for at bringe ny medicin på markedet.

Farmacien har traditionelt og på fornem vis erkendt kom-

pleksiteten af problemstillingen og hentet viden fra mange grundlæggende fagdiscipliner, især fysisk kemi, materiallære og materialteknologi, og i de senere år også molekylær biofysik, nanoteknologi, molekylærbiologi og systembiologi.

Til farmaciens udfordringer skal føjes, at de molekylære virkningsmekanismer i mange tilfælde kun er ringe kendt eller forstået. Der har i mange år været fokus på bindingen af specifikke ligander til specifikke receptorer, f.eks. forankret i cellens membraner. Dette fokus



Foto: Colourbox

Der bliver i disse år gjort store anstrengelser på at skabe fornyelse i lægemiddelforskningen.

er blevet forstærket af kendskabet til det humane genom, som har vist sig at kode for proteiner, hvoraf mindst 30% er membranbundne. Men selv om en meget stor del af de kendte lægemiddelstoffer har deres virkning på cellemembraner, er det langt fra altid tilfældet, at virkningen alene er ved binding til proteiner. Mange aktive lægemiddelstoffer har en sekundær virkning ved binding til cellemembranens fedtmolekyler (lipider), som derved ændrer egenskaber, der igen kobler til aktive membranbundne proteiner, f.eks. ionkanaler. I nogle tilfælde er virkningen ovenikøbet primært på lipiderne. Det er tankevækkende, at mange af vores mest effektive lægemidler er fundet ved et tilfælde, og at de i nogle situationer har vist sig at have bedre indikation for andre tilstande, end dem de benyttes til. For eksempel har det vist sig, at nogle psykofarmaka er effektive som antibiotika eller anticancermidler eller kan modvirke cancercellers resistens mod kemoterapeutiske stoffer.

Mere tværvidenskab

Der bliver i disse år gjort store anstrengelser for at skabe fornyelse i lægemiddelforskningen ved at samle tværfaglig ekspertise, som sammen søger at løse nogle af de grundvidenskabelige problemer, der knytter sig

til effektiv fremføring af både nye og gamle lægemiddelstoffer. Visionen om den magiske kugle er spillevende.

Vi har nu adgang til en lang række nye metoder og teknologier. Vi kan i stor detalje og helt ned på nanoskopisk niveau designe og karakterisere farmaceutiske formuleringer, emulsioner, partikulære polymersystemer, transport over og binding til membraner, osv. Vi kan endda i nogle tilfælde måle bindingen mellem enkelte molekyler af lægemiddelstof og receptor. Vi kan med avancerede billeddannelsesteknikker følge et lægemiddelstofs transport over kroppens barrierer og rundt inde i kroppen. Vi kan biokemisk analysere meget små stofmængder af celler og væv. Endelig har vi teoretiske redskaber til at beregne og simulere lægemidlers binding til proteiner og membraner.

Grundvidenskaben er derfor godt rustet til i samarbejde med medicinere at fremstille fremtidens lægemidler og nå nærmere visionen om den magiske kugle.

Et eksempel på dette er udviklingen af en ny slags liposomer til fremføring af anticancerstoffer.

Liposomer som magiske kugler

Nogle fedtstofmolekyler (lipider) har den egenskab, at de spontant kan danne små kugleformede kapsler. Denne egenskab kan vi udnytte til at konstruere en magisk kugle. Disse kapsler kaldes liposomer og blev opdaget af den engelske blodforsker Alec Bangham i 1961. De består af et dobbeltlag af fedtstofmolekyler. Liposomerne kan lades med lægemidler, som holdes forseglet inde i kapslen, indtil de frigøres af en passende udløsningsmekanisme. Hvis liposomerne på overfladen dækkes af et lag af vandopløselige polymerer, kan de effektivt invadere kroppens immunsystem og bære lægemiddelstoffet frem til de syge celler uden at skade de raske.

Ved at udnytte specielle biofysiske egenskaber af liposomerne på den ene side og særlige fysiologiske og biokemiske egenska-

ber af f.eks. cancerceller på den anden side, er det muligt på en intelligent måde at målrette liposomerne til de syge celler og med en særlig mekanisme åbne liposomerne netop dér og kun dér, hvor lægemidlet skal virke.

Liposomer med polymerer på overfladen kan cirkulere i blodet i timevis uden at lække lægemiddel og uden at blive nedbrudt af immunforsvaret i nævneværdig grad. De har en særlig evne til at ophobes i tumorer, som har et forgrenet og temmelig åbent netværk af blodkar og samtidig et formindsket lymfedræn. Disse liposomers målsøgning bygger derfor på et passivt princip. Det er også muligt at tilføje en aktiv målsøgningsmekanisme ved at binde specielle kemiske grupper til liposomets overflade. En magisk egenskab ved liposomerne er altså, at de helt af sig selv finder frem til og ophobes på det syge sted. Spørgsmålet er så, om stofferne kan komme ud af liposomerne og ind i cancercellerne. Hertil kræves en udløsningsmekanisme.

Magi i liposomerne

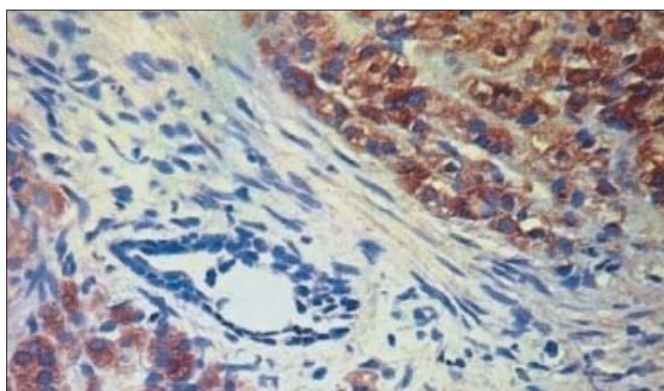
Vi kan konstruere liposomerne, så de selektivt åbnes af et særligt enzym, en fosfolipase, der viser sig at være opkoncentreret i mange slags cancervæv, f.eks. i en prostatacancer. Liposomer, som er gjort særligt følsomme overfor nedbrydning af fosfolipaser under de omstændigheder, som hersker i en tumor, er blevet kaldt *LiPlasomer*. LiPlasomerne har meget af den magi i sig, som Paul Ehrlich forestillede sig med sin magiske kugle. De holder det giftige lægemiddelstof indkapslet, indtil LiPlasomerne helt af sig selv når det syge væv, hvor de selektivt frigør lægemiddelstoffet. Bivirkningerne ved medicinen er derfor begrænset, og der er minimale skader på de raske celler.

LiPlasomer af denne type har netop gennemgået fase 1 af et klinisk studie på kræftpatienter. Studiet viser, at patienterne tåler meget høje doser af liposomer med indkapslet cisplatin, som er et af de mest benyttede og effektive anticancerstoffer.



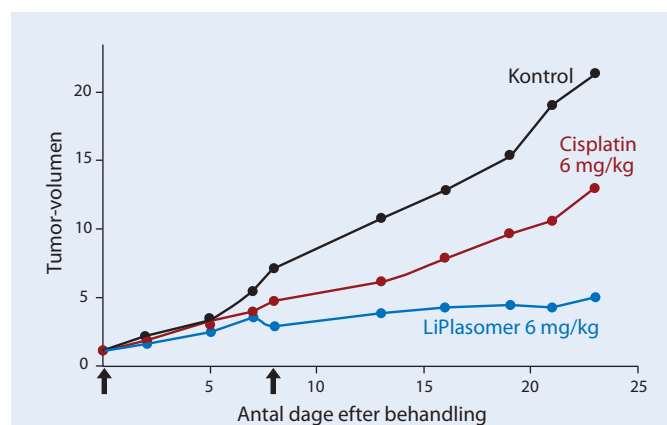
Foto: Colourbox

Behandling af kræft er et muligt område for "den magiske kugle".



Kilde: Graff et al., Clin. Cancer Res. 7, 3857 (2001).

Farvning af væv fra en prostata, som har en tumor. I det mørke område er der høj koncentration af fosfolipaser. Man kan benytte fosfolipaserne i tumoren til at åbne liposomer, der er ladet med anticancerstoffer. Liposomerne kan konstrueres, så de er ultrafølsomme over for lipaserner i tumoren. På den måde kan enzymet bruges til aktivt og selektivt at åbne liposomerne dér og kun dér.

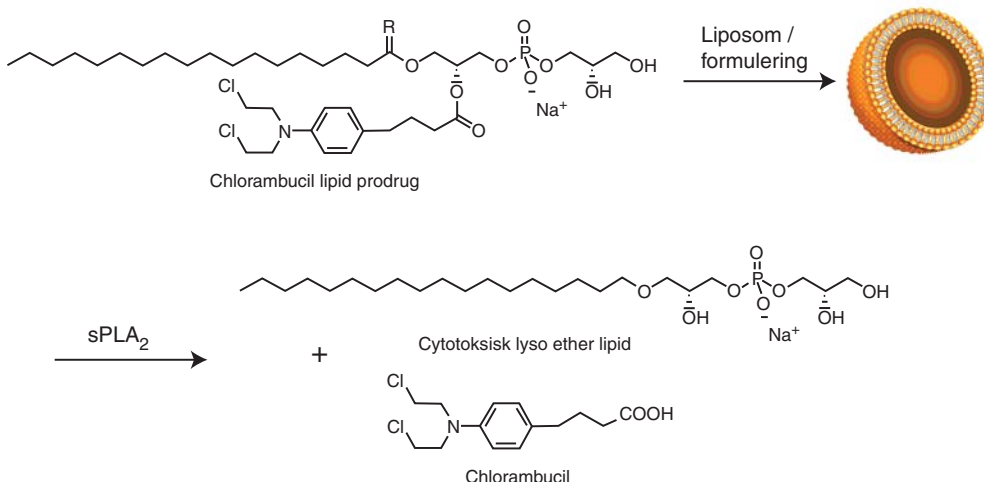


Bekæmpelse af en human brystcancer i en musemodel ved hjælp af særlige liposomer, de såkaldte LiPlasomer, hvori der er indkapslet anticancerstoffet cisplatin.

Liposomerne er konstrueret, så de er følsomme overfor nedbrydning af en speciel fosfolipase, som findes i høj koncentration i tumoren. Figuren viser, at mus, som er behandlet med disse liposomer, klarer sig meget bedre end mus i kontrolgruppen og de mus, som har fået en traditionel behandling med cisplatin. Det sidste er overraskende. Det skyldes, at der ved den enzymatiske nedbrydning af LiPlasomerne frigøres hydrolyseprodukter, lysolipider og frie fedtsyrer, som medvirker til at nedbryde cancercellens membran.

Sådan virker LiPlasomerne

En særlig type af enzymer, fosfolipaser, kan klippe lipidmolekyler i stykker. Derved dannes lysolipider og frie fedtsyrer. Fosfolipaser kan dermed åbne op for et liposom, så det indkapslede lægemiddelstof trænger ud. Liposomet kan konstrueres af lipider, der i strukturen indeholder et aktivt lægemiddelstof (i det viste eksempel chlorambucil). Liposomet har vist sig at være aktivt på cellekulturer af brystcancer og coloncancer. Lysolipider kan også selv være et aktivt stof. I det viste eksempel er det et etherlipid, som ødelægger cancercellernes membraner. Det viste system er derfor effektivt et såkaldt dobbelt "prodrug".



Mere magi i LiPlasomer

Det har overraskende vist sig, at LiPlasomer er endnu mere magiske. De virker bedre end det uindkapslede lægemiddelstof. Grunden hertil er formodentlig, at der ved den enzymatiske nedbrydning af lipiderne i liposomet frigøres lysolipider og frie fedtsyrer, som har den virkning, at de forøger membranens gennemtrængelighed. Når disse stoffer integreres i cancercellens membran, medvirker de til at nedbryde cellens barriere og lade det aktive stof trænge ind i cellen, hvor det skal virke på cellekernens DNA.

Men magien ophører ikke hermed. Den grundvidenskabelige indsigt i den enzymatiske udløsningsmekanisme foreslår nu umiddelbart, at det er en god idé fra starten at danne liposomet af særlige lipider, der ikke i sig selv er aktive lægemiddelstoffer, men kan omformes til at være det, når de nedbrydes af enzymet. Lipiderne bliver derved "prodrugs", som først omdannes til lægemidler der, hvor de skal bruges.

Vi har i de sidste par år arbejdet på dette helt nye koncept. Princippet består i at udvikle nye kemiske syntet

semetoder til at bygge aktive lægemiddelstoffer ind i lipiderne. Det er en stor udfordring til kemikerne. Dernæst undersøges det ved biofysiske teknikker, om de nye lipider kan danne stabile liposomer. Herefter skal man afklare, om fosfolipaserne kan nedbryde liposomet. Hvis det er tilfældet, er det næste trin at formulere liposomerne til forsøg på kulturer af cancerceller. Og hvis liposomerne viser sig at være virksomme på cellekulturerne, kan man derefter planlægge forsøg på dyremodeller. Herfra er der stadig et stykke vej til forsøg på mennesker.

Vi er nu nået dertil, at vi kan vise, at konceptet med disse nye liposomer i princippet virker, og vi har fundet et par lægemiddelstoffer, der opfylder betingelserne med hensyn til liposomdannelse, enzymatisk nedbrydelighed og en interessant effektivitet på cellekulturer. Den kommende tid skal vise, om vi med de nye liposomer er kommet nærmere til Ehrlichs vision om den magiske kugle. ■

Om forfatterne



Ole G. Mouritsen er dr. scient. og professor i biofysik ved Institut for Fysik og Kemi, Syddansk Universitet. Han er leder af Danmarks Grundforskningsfonds Center for Biomembranphysik. Tlf.: 6550 3528 E-mail: ogm@memphys.sdu.dk



Robert Madsen er ph.d. og professor i organisk kemi ved Kemisk Institut, Danmarks Tekniske Universitet. Tlf.: 4525 2151 E-mail: rm@kemi.dtu.dk

Deltagere i projektet

Projektet om lipid-baserede prodrugs er støttet af Det Strategiske Forskningsråds NABIT program og udført som et samarbejde mellem organiske kemikere (Palle J. Pedersen, Mads H. Clausen, Robert Madsen, Thomas Andresen, Kemisk Institut, DTU), biofysikere (Ahmad Arouri og Ole G. Mouritsen, Institut for Fysik og Kemi, SDU), modeleringskemikere (Arun K. Subramanian og Günther H. Peters, Kemisk Institut, DTU) og prækliniske cellebiologer (Sidsel K. Adolph og Mogens W. Madsen, LiPlasome Pharma A/S).

Videre læsning

Andresen, T. L., Jensen, S. S. & Jørgensen, K. 2005: *Advanced strategies in liposomal cancer therapy: problems and prospects of active and tumor specific drug release*, Prog. Lip. Res. 44, 68-97.

Jørgensen K., Davidsen J. & Mouritsen O. G. 2002: *Biophysical mechanisms of phospholipase A2 activation and their use in liposome-based drug delivery*. FEBS Lett. 531, 23-27.

Pedersen, P. J., Christensen, M. S., Ruysschaert, T., Linderoth, L., Andresen, T. L., Melander, F., Mouritsen, O. G., Madsen, R. & Clausen, M. H. 2009: *Synthesis and biophysical characterization of chlorambucil anticancer ether lipid prodrugs*, J. Med. Chem. 52, 3408-3415.

www.magiskekugle.sdu.dk