

7 Bedeutende Zielstrukturen

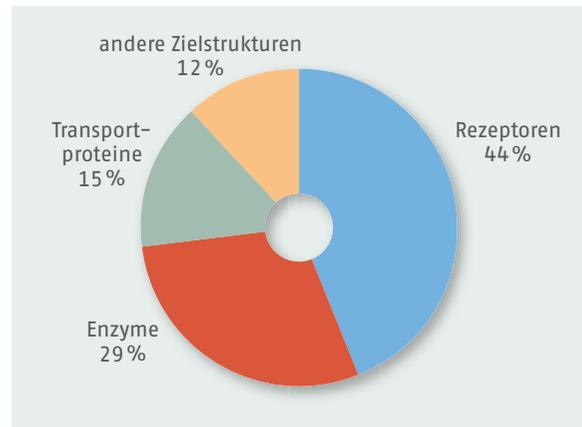
Die Störung von Körpersäften (Humoralpathologie, Viersäftelehre) galt seit der Antike als Erklärungsmodell für die Entstehung von Krankheiten. Dieses Modell wurde erst im 19. Jahrhundert durch die Zellularpathologie abgelöst. Dass ein Organismus und seine Organe aus Zellen aufgebaut sind, wurde zwar schon im 17. Jahrhundert bei Pflanzen entdeckt, aber erst 1838 durch Theodor Schwann auch auf Tiere ausgeweitet. Auf Grundlage dieser Erkenntnisse führte Rudolph Virchow im Jahr 1858 die Zellularpathologie ein: Krankheiten entstehen aufgrund einer Störung von Zellen und Zellfunktionen und Arzneistoffe wirken, indem sie diese Störungen beeinflussen. Paul Ehrlich und John Newport Langely waren es schließlich, die an der Schwelle vom 19. in das 20. Jahrhundert postulierten, dass Wirkstoffe eine chemische Bindung mit bestimmten Strukturen in oder auf einer Zelle eingehen, den sogenannten Rezeptoren.

■ **DEFINITION** Ein Target (Zielstruktur) ist eine molekulare biologische Struktur, d.h. ein Biomolekül oder ein Teil eines Biomoleküls, mit dem ein Wirkstoff in Wechselwirkung tritt. Durch diese Interaktion wird der biologische Effekt, also die Wirkung des Stoffs, verursacht.

Die Zahl der von der FDA zugelassenen Arzneistoffe beträgt ca. 1600. Aber wie viele Zielstrukturen (Drug Targets) von Arzneistoffen gibt es überhaupt? Wie viele nutzen wir mit unserem vorhandenen Arzneimittelschatz und wie groß ist die maximal mögliche Zahl an pharmakologisch sinnvollen Targets?

Berechnungen hierzu sind nicht ganz einfach. Selbst die Anzahl an Zielstrukturen der zugelassenen Arzneistoffe ist nicht exakt bekannt und variiert, je nach Publikation zu diesem Thema, sehr stark. Das liegt zum einen daran, dass der Begriff der Zielstruktur unterschiedlich ausgelegt wird. So werden in manchen Fällen ganze Enzymkomplexe als Target bezeichnet, in anderen Fällen eine einzelne Domäne eines Proteins. Zum anderen gibt es eine Unschärfe in der Zahl der Targets pro Arzneistoff: Für einige Stoffe ist bis heute noch kein Target gefunden worden, für andere Substanzen hingegen werden mehrere Targets angegeben. Hier fällt die Unterscheidung zwischen therapeutisch relevantem und sog. Off-Target nicht immer leicht. Unter Berücksichtigung dieser Schwierigkeiten erscheinen uns Schätzungen sinnvoll, die von ca. 700 humanen und ca. 200 pathogenen Zielstrukturen, die derzeit adressiert werden, ausgehen.

Noch anspruchsvoller ist eine Abschätzung der maximalen Zahl an Targets, die pharmakologisch relevant sein könnten. Hier wird von einer ca. 5- bis 10-fach höheren Zahl ausgegangen, also von mehreren tausend. Die Chancen, auf neue Targets zu stoßen und diese mit (neuen) Wirkstoffen zu adressieren, bleiben also – zu-

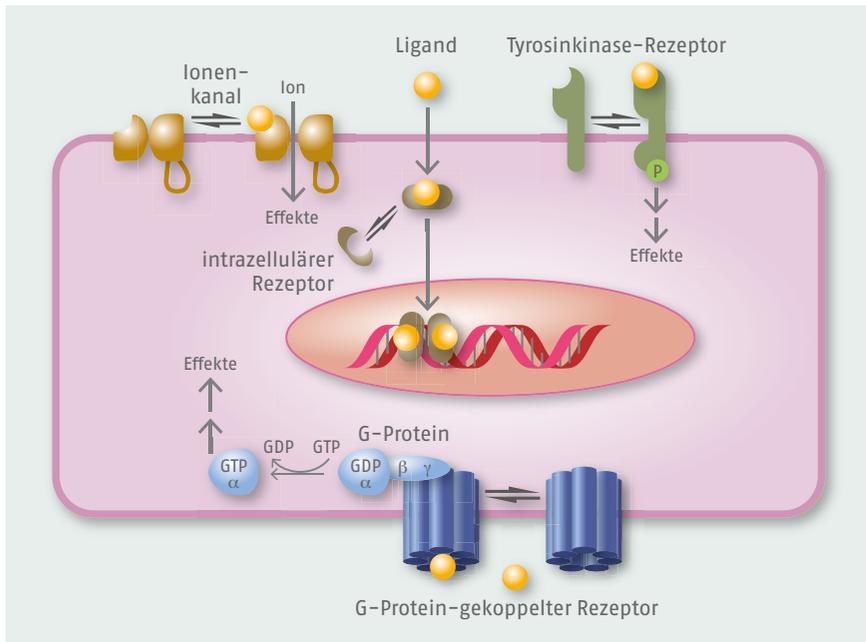


● Abb. 7.1 Humane Zielstrukturen für Arzneistoffe

mindest theoretisch – recht groß. Der Forschungs- und finanzielle Aufwand, diese zu entdecken und daraus Arzneimittel zu entwickeln, wird allerdings zunehmend größer.

Humane Zielstrukturen für Arzneistoffe lassen sich in verschiedene Klassen einteilen (● Abb. 7.1): **Rezeptoren** werden am häufigsten von Arzneistoffen adressiert, es folgen **Enzyme** und **Transportproteine**. Aber auch das **Zytoskelett** und die **DNA** stellen wichtige Targetklassen dar, denn hier finden sich besonders viele Naturstoffe, die mit diesen interagieren.

Ferner gibt es noch die nicht-humanen, d.h. die mikrobiellen und parasitären Zielstrukturen, die wir uns als Antiinfektiva zunutze machen (► Kap. 11). Auch hier sind Naturstoffe besonders stark vertreten.



● **Abb. 7.2** Rezeptortypen. Unterschieden wird zwischen Membranrezeptoren und intrazellulären Rezeptoren. Zu den Membranrezeptoren gehören zum Beispiel die G-Protein-gekoppelten Rezeptoren, die Liganden-gesteuerten Ionenkanäle und die Tyrosinkinase-Rezeptoren. Bei den intrazellulären Rezeptoren muss ein Molekül erst die Zellmembran überwinden, um als Ligand wirken zu können.

7.1 Humane Zielstrukturen für Naturstoffe

7.1.1 Rezeptoren

Der Begriff Rezeptor leitet sich vom lateinischen Wort *recipere* ab, was empfangen bedeutet. Rezeptoren sind Proteinkomplexe, die als „Empfänger“ für Signalmoleküle (Liganden) dienen. Durch Bindung der Liganden werden Signalprozesse ausgelöst, der Rezeptor dient also als „Umschaltstation“. Rezeptoren können sowohl auf der Oberfläche einer Zelle, als auch im Zellinneren (Zytosol, Nucleus) lokalisiert sein, sie können membrangebunden oder frei (löslich) vorkommen (● Abb. 7.2).

Membranrezeptoren werden in metabotrope und ionotrope Rezeptoren eingeteilt. Metabotrope Rezeptoren aktivieren nach Ligandenbindung ein G-Protein (G-Protein-gekoppelte Rezeptoren) oder die rezeptoreigene Tyrosinkinase (Tyrosinkinase-Rezeptoren). Ionotrope Rezeptoren sind Ionenkanäle, bei denen sich durch Ligandenbindung die Öffnungswahrscheinlichkeit des Kanals verändert. Im Rahmen dieses Buches werden ionotrope Rezeptoren den Transportproteinen zugeordnet.

Die wichtigste Gruppe der **intrazellulären Rezeptoren** sind die nukleären Rezeptoren. Ihre Liganden müssen erst die Zellmembran überwinden, um an sie binden zu können. Kernrezeptoren funktionieren meist über die Bindung der aktivierten Rezeptoren an die DNA, an der der Rezeptor als Transkriptionsfaktor fungiert und die Expression bestimmter Gene steuert.

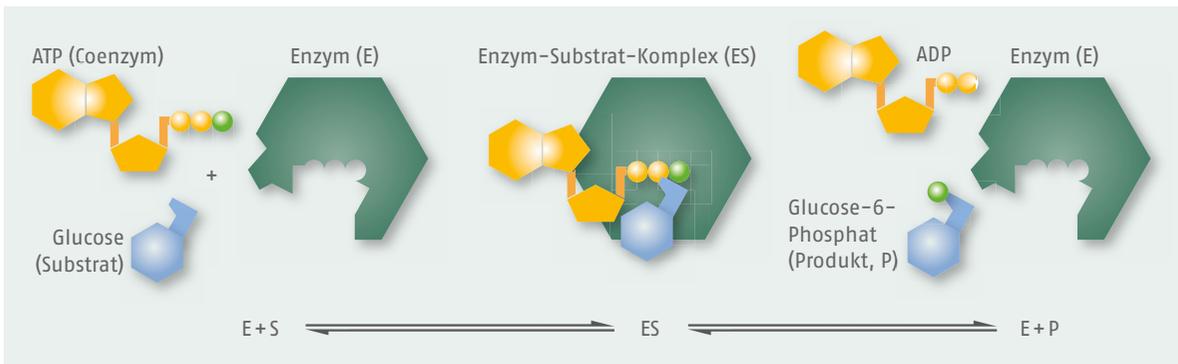
Eine Übersicht über Naturstoffe mit Rezeptoren als Targets befindet sich in ■ Tab. 7.1.

7.1.2 Enzyme

Ohne Enzyme (griechisch für „in Hefe“) wäre kein Leben möglich, denn sie sind für alle Prozesse, die im Körper ablaufen, von zentraler Bedeutung. Enzyme sind **Katalysatoren**, d. h. sie beschleunigen die Einstellung eines (bio)chemischen Reaktionsgleichgewichts ohne Einfluss auf die Gleichgewichtslage zu nehmen. Sowohl die Hin- als auch die Rückreaktion werden erleichtert. Dies wird durch Absenken der Aktivierungsenergie erreicht.

Enzyme können löslich vorkommen (z. B. Enzyme der Glykolyse), als Multienzymkomplexe (z. B. Fettsäuresynthase) oder auch gebunden an Biomembranen (z. B. Enzyme der Atmungskette). Viele Enzyme benötigen für die katalytische Reaktion (● Abb. 7.3) das Vorhandensein niedermolekularer Substanzen, sogenannte **Cofaktoren**. Diese können Metallionen (z. B. Mg^{2+} , Zn^{2+} , etc.) oder nichtproteinartige organische Verbindungen (Coenzyme) sein. Die Mehrzahl der Coenzyme leitet sich von Vitaminen ab (z. B. Folsäure, Niacin, Cobalamin, Thiamin, etc.).

Die Mehrzahl der Enzyme gehört zur Stoffklasse der Proteine, ist also aus Aminosäuren aufgebaut. Allerdings sind auch Nukleinsäure-Ketten, insbesondere RNA-Moleküle (Ribozyme), in der Lage, enzymatisch zu wirken. Als wichtiges Beispiel seien hier die Ribosomen erwähnt, die große Komplexe aus Proteinen (ca. $\frac{1}{3}$) und RNA-Molekülen (ca. $\frac{2}{3}$) darstellen. Die RNA ist für die katalytische Aktivität des Ribosoms verantwortlich. Prokaryotische Ribosomen unterscheiden sich von den eukaryotischen und stellen daher eine sehr wichtige Targetstruktur für Antibiotika dar.



● **Abb. 7.3** Enzymatische Reaktion am Beispiel der Phosphorylierung von Glucose

Die große Zahl an Enzymen (im Menschen mehrere tausend) lässt sich in nur sechs verschiedene **Klassen** einteilen. Diese systematische Einteilung basiert auf der grundsätzlichen Art der katalysierten Reaktion (● Abb. 7.4):

- Oxidoreduktasen katalysieren Redoxreaktionen,
- Transferasen übertragen funktionelle Gruppen zwischen zwei Substraten,
- Hydrolasen brechen kovalente Bindungen hydrolytisch auf,
- Lyasen spalten Bindungen nichthydrolytisch und ohne ATP-Verbrauch,
- Isomerasen katalysieren die Umwandlung isomerer Formen eines Substrats und
- Ligasen die Bildung kovalenter Bindungen unter ATP-Verbrauch.

Enzyme sind an allen Stoffwechsel- und Signalwegen beteiligt. Dementsprechend kann eine Vielzahl an

(patho)physiologischen Zuständen durch Arzneistoffe, die Enzyme als Targets besitzen, beeinflusst werden, z. B. Entzündungsprozesse (COX, LOX), die Blutgerinnung (Vitamin-K-Epoxid-Reduktase), Depressionen (MAO) und viele mehr.

Die **Aktivität** eines Enzyms wird auf unterschiedlichen Ebenen reguliert: Die Menge an vorhandenem Enzym kann beispielsweise über die Aktivierung oder Blockade der Genexpression gesteuert werden (Enzyminduktion, Enzymrepression). Ein praxisrelevantes Beispiel für einen Naturstoff, der als Induktor für das Cytochrom-P450-Isoenzym CYP3A4 wirkt und somit pharmakokinetische Interaktionen erzeugen kann, ist das im Johanniskraut enthaltene Phloroglucinderivat Hyperforin. Bei längerfristiger Anwendung erhöhen Johanniskrautextrakte die Menge an CYP3A4 in der Leber, was dazu führen kann, dass Arzneistoffe, die über CYP3A4 metabolisiert werden, ihre Wirksamkeit verlieren. Neben der vorhandenen Enzymmenge beein-

■ **Tab. 7.1** Wichtige Naturstoffe, die Rezeptoren als Targets besitzen

Rezeptortyp	Subtyp	Naturstoff
G-Protein-gekoppelte Rezeptoren	Muskarinische Acetylcholinrezeptoren	Pilocarpin, Hyoscyamin
	Adenosinrezeptoren	Coffein, Theophyllin
	Adrenorezeptoren	Ergotamin
	Cannabinoidrezeptoren	Tetrahydrocannabinol
	Dopaminrezeptoren	Apomorphin, Ergotamin
	Opioidrezeptoren	Morphin
	Serotoninrezeptoren	Psilocybin
	Bitterrezeptoren	Amarogentin
	Thrombinrezeptoren	Himbacin
	Prostaglandinrezeptoren	Prostaglandine
Nukleäre Rezeptoren	Farnesoid-X-Rezeptor (FXR)	Ursodesoxycholsäure
	PPAR γ	Amorfrutin

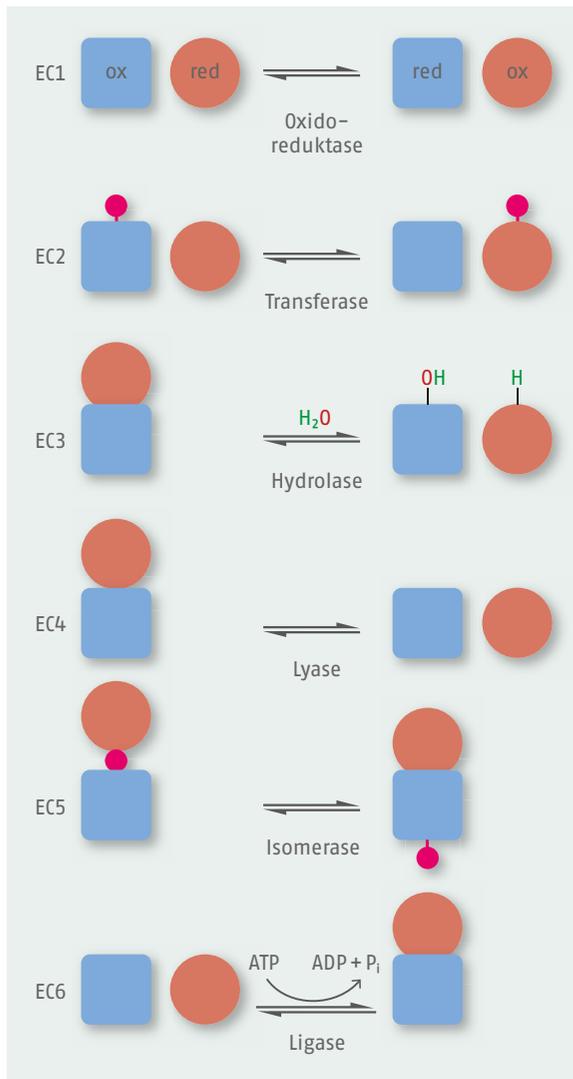


Abb. 7.4 Enzymklassen

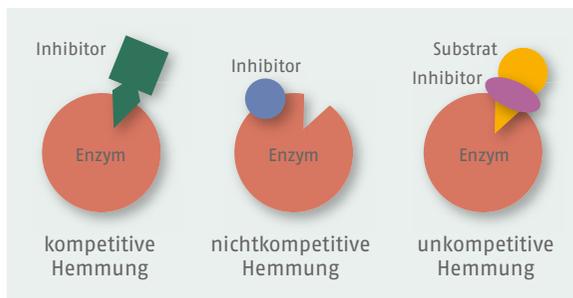


Abb. 7.5 Arten der reversiblen Enzymhemmung

flusst auch der pH-Wert und die Temperatur die enzymatische Aktivität.

Die pharmazeutisch wichtigste Einflussnahme auf die Enzymaktivität erfolgt mittels **Inhibitoren**, nur sehr wenige Wirkstoffe (z. B. Nitrate und Fibrinolytika) sind Enzym-**Aktivatoren**. Die meisten Stoffe führen zu einer **reversiblen Hemmung**, die sich in verschiedene Arten unterteilen lässt (Abb. 7.5):

- **Kompetitive Hemmung (Verdrängungshemmung):** Der Inhibitor kann wieder vom Enzym verdrängt oder abgespalten werden. Er konkurriert mit dem Substrat um die Bindungsstelle im katalytischen Zentrum, kann aber nicht umgesetzt werden. Steigende Substratkonzentration kann die Hemmung aufheben.
- **Nichtkompetitive oder allosterische Hemmung:** Die Bindung des Inhibitors an das Enzym erfolgt nicht im aktiven Zentrum, sondern an einer anderen Stelle des Enzyms (allosterisches Zentrum). Die räumliche Struktur des Enzyms wird dadurch so verändert, dass das Substrat im aktiven Zentrum nur erschwert oder gar nicht mehr binden kann. Ein Substratüberschuss hat bei dieser Art der Hemmung keinen Effekt.
- **Unkompetitive Hemmung:** Der Inhibitor bindet nicht an das freie Enzym, sondern nur an das Enzym, das bereits Substrat gebunden hat. Die Bindung erfolgt also ausschließlich an den Enzym-Substrat-Komplex, die Bindungsstelle für den Inhibitor wird erst durch die Substratbindung an das Enzym erzeugt. Bei steigenden Substratkonzentrationen nimmt folglich die Hemmung zu.

Die **irreversible Hemmung** (Inaktivierung) eines Enzyms bedeutet, dass der Inhibitor sich nicht mehr von dem Enzym löst und es dauerhaft hemmt. Dieses Prinzip ist bisher nur bei sehr wenigen Arzneistoffen anzutreffen, findet allerdings in der aktuellen Arzneimittelforschung große Aufmerksamkeit. Zwei interessante Beispiele für die irreversible Hemmung von Enzymen durch Naturstoffe bzw. -derivate sind:

- **Penicillin-Antibiotika** hemmen die bakterielle Glykopeptidtranspeptidase. Dieses Enzym ist für die Quervernetzung der Peptidoglykan-Ketten der Bakterienzellwand verantwortlich. Penicilline wirken als Übergangszustand-Analogen und blockieren die Transpeptidase durch Ausbildung einer kovalenten Bindung im katalytischen Zentrum. Durch die Inhibierung des Enzyms wird der Aufbau der Bakterienzellwand unterbrochen.
- **Acetylsalicylsäure (NSAID)** hemmt die Thrombozytenaggregation und wirkt analgetisch und antiphlogistisch durch Acetylierung des Serinrests 530 im katalytischen Zentrum der COX. Die Enzyme werden dadurch inaktiviert.

Eine Übersicht über Naturstoffe mit Enzymen als Targets befindet sich in Tab. 7.2.

■ **Tab. 7.2** Wichtige Naturstoffe, die Enzyme als Targets besitzen

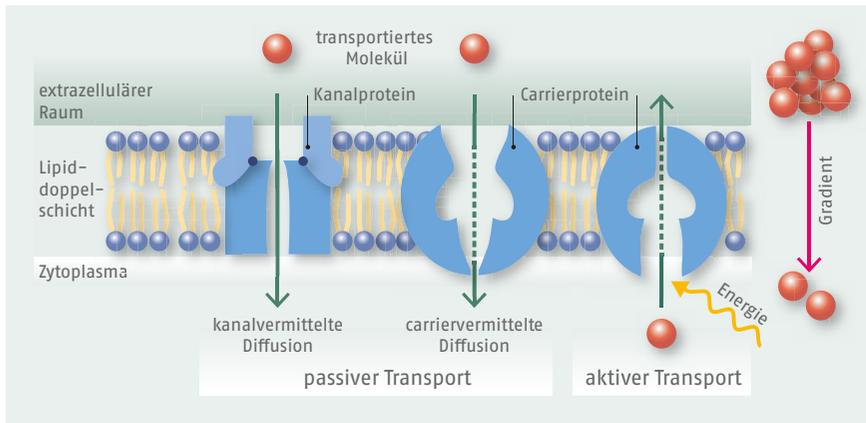
Enzymklasse	Enzym	Naturstoffe
EC 1 Oxidoreduktasen	Vitamin-K-Epoxid-Reduktase	Dicumarol
	HMG-CoA-Reduktase	Mevastatin, Lovastatin
	NADH-Dehydrogenase	Galegin
	Inosinmonophosphat-Dehydrogenase	Mycophenolsäure
	Testosteron-5 α -Reduktase	β -Sitosterol, β -Sigmasterol
	Monoaminoxidasen (MAO)	Harmalin
	11 β -Hydroxycorticoid-Dehydrogenase	Glycyrrhizin
EC 2 Transferasen	Serin-Palmitoyl-Transferase	Myriocin
	Kinasen (Phosphotransferasen)	Roscovitin, Flavopiridol
EC 3 Hydrolasen	Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE)	<i>bradykinin potentiating peptide</i> _{5A} (BPP _{5A})
	Acetylcholin-Esterase (AChE)	Physostigmin, Galantamin
	α -Glucosidase	Acarbose
	Phosphatasen	Ciclosporin, Tacrolimus
	<i>Retinoblastoma binding protein 9</i> (serin hydrolase) (RBBP9)	Emetin
	Lipase	Lipstatin
EC 4 Lyasen	Adenylatcyclase (AC)	Forskolin
EC 5 Isomerasen	Topoisomerase I	Camptothecin
	Topoisomerase II	Doxorubicin
EC 6 Ligasen	Acetyl-CoA-Carboxylase (ACC)	Soraphen A

7.1.3 Transportproteine

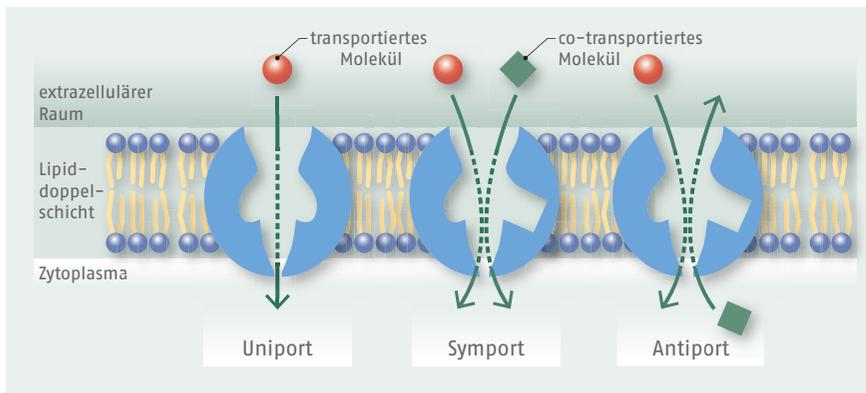
Biomembranen grenzen Zellen nach außen hin ab und ermöglichen innerhalb der Zelle eine Kompartimentierung. Sie bestehen aus einer Lipiddoppelschicht, die hauptsächlich aus Phospholipiden, Sphingolipiden und Cholesterol gebildet wird. Nur Gase, sehr lipophile Substanzen und kleine unpolare Moleküle können Biomembranen durch einfache Diffusion überwinden. Für alle anderen Substanzen sind spezifische Transportmechanismen, sog. **Transportproteine**, nötig, um einen Stoffaustausch über die Membran hinweg zu ermöglichen. Vor allem Konzentrations- und Ladungsgradienten spielen für den Transport und damit auch für die Funktion dieser Proteine eine große Rolle.

Der Membrantransport kann sehr anschaulich in passiven und aktiven Transport unterteilt werden (● Abb. 7.6).

Beim **passiven Transport** folgen die zu transportierenden Moleküle passiv einem Gradienten. Der Durchtritt durch die Membran wird dabei entweder durch Kanalproteine oder Carrier-Proteine ermöglicht. Kanalproteine sind im offenen Zustand wie ein Tunnel, der die Membran durchspannt und durch den Substanzen einem Gradienten folgend diffundieren. Kleine polare und geladene Moleküle und Ionen können so transportiert werden. Meist ist ein Signal zur Öffnung des Kanals nötig, z. B. ein Ligand, der an den Kanal bindet, oder eine Änderung des Membranpotenzials. Carrier-Proteine besitzen eine Bindungsstelle für das Transportmaterial und setzen nach Konformationsän-



● **Abb. 7.6** Aktiver und passiver Transport



● **Abb. 7.7** Uniport, Symport und Antiport

derung das gebundene Molekül auf der anderen Membranseite wieder frei. Es werden drei verschiedene Carrier unterschieden (● Abb. 7.7):

- Uniporter können nur ein Molekül transportieren,
- Symporter transportieren zwei verschiedene Moleküle in die gleiche Richtung,
- Antiporter transportieren zwei verschiedene Moleküle, allerdings in die entgegengesetzte Richtung.

Der **aktive Transport** bedingt die Zufuhr von Energie und ermöglicht so den Transport entgegen eines Konzentrations- oder elektrischen Gradienten. Transport-ATPasen bedienen sich des ATPs als Energiequelle. Es kann aber auch die potenzielle Energie eines Teilchens (Gradient) genutzt werden, um ein zweites Teilchen entgegen dessen Gradienten zu transportieren (Sym- oder Antiport).

7.1.4 Zytoskelett

Das Zytoskelett (griech. *kytos* – Zelle) ist ein aus Proteinen aufgebautes Netzwerk im Zytoplasma jeder Zelle und besteht aus dynamisch sich auf- und abbauenden fadenförmigen Strukturen (Filamenten). Es ist verantwortlich für die mechanische Stabilisierung der Zelle und ihre äußere Form, für aktive Bewegungen der Zelle als Ganzes sowie für Bewegungen und Transporte innerhalb der Zelle.

In der eukaryotischen Zelle werden drei Klassen von Zytoskelettfilamenten unterschieden: Aktinfilamente, Intermediärfilamente und Mikrotubuli (● Abb. 7.8). Sie werden von unterschiedlichen Proteinen bzw. Proteinklassen gebildet, haben spezifische Begleitproteine und beteiligen sich jeweils in spezifischer Weise an den generellen Aufgaben des Zytoskeletts.

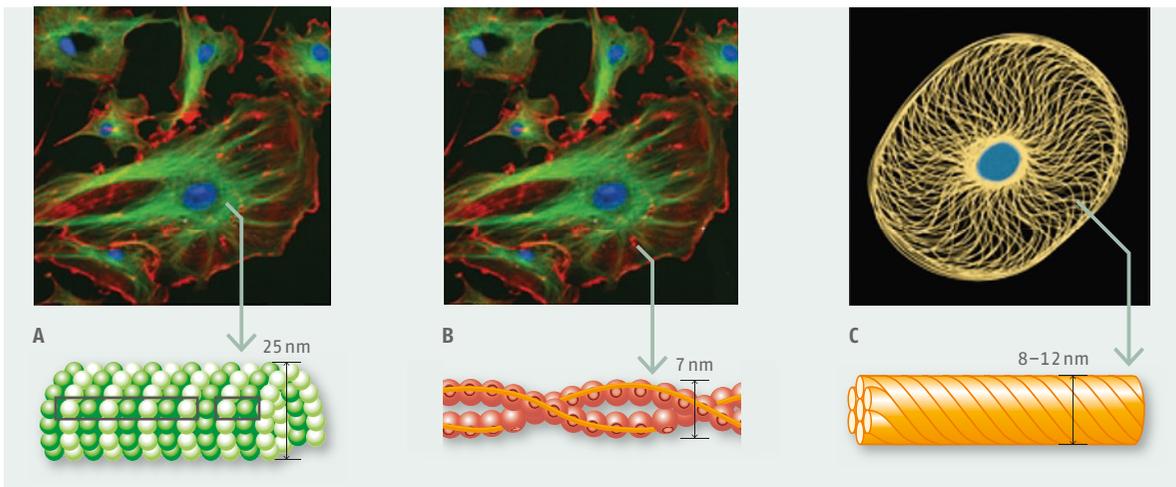
Prokaryotische Zellen besitzen ebenfalls ein zytoplasmatisches Netzwerk aus Proteinen, die als homolog bzw. analog zu den Proteinen der drei eukaryotischen Proteinklassen angesehen werden. Als Tubulin-Homolog wurde beispielsweise FtsZ gefunden, als Aktin-Homolog MreB.

Interessanterweise stellt das eukaryotische Zytoskelett bedeutende Zielstrukturen für eine große Zahl von Naturstoffen dar.

Tubulin, Mikrotubuli

Auffälligste Bestandteile des Zytoskeletts sind die Mikrotubuli, Hohlzylinder mit einem Durchmesser von 25 nm, die sich aus dem Protein Tubulin zusammensetzen. Mikrotubuli haben drei Hauptfunktionen:

- Organisation des Zytoskeletts,
- Organellenbewegung und -positionierung,
- Zellteilung (Ausbildung des Spindelapparats).



● **Abb. 7.8** Zytoskelett einer Säugetierzelle. A Mikrotubuli, B Aktinfilamente, C Intermediärfilamente

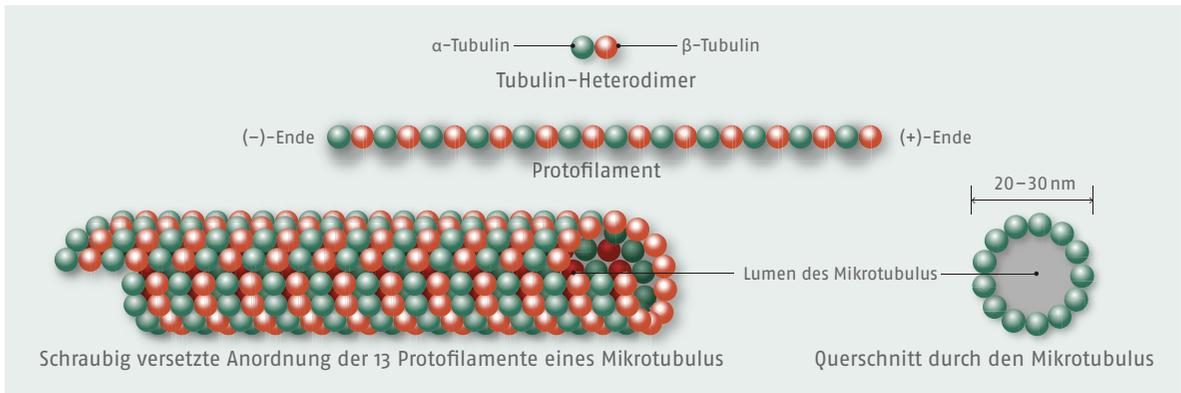
Etwas detaillierter betrachtet bestehen Mikrotubuli aus den sphärischen Monomeren α - und β -Tubulin. Sie kommen wiederum in verschiedenen Isoformen vor, zeigen Zelltyp-spezifische Expression und können unterschiedliche posttranslationale Modifikationen aufweisen wie Phosphorylierungen, Acetylierungen oder Palmitoylierungen. Durch Kopf-Schwanz-Anordnung von Tubulin-Heterodimeren bilden sich Protofilamente aus, die sich zu röhrenartigen Strukturen anordnen und Mikrotubuli genannt werden. Mikrotubuli sind polarisiert: Am (+)-Ende finden sich nur β -Tubulin-Einheiten, am (-)-Ende nur α -Tubulin-Einheiten (● Abb. 7.9).

Das (-)-Ende ist am *microtubule-organizing center* (MTOC) verankert, das aus einer dritten Form von Tubulin, dem γ -Tubulin besteht und sich in der Nähe des Zellkerns und des Golgi-Apparats befindet. Das (+)-Ende zieht sich bis zur Peripherie der Zelle und ist extrem dynamisch, was bedeutet, dass in diesem Bereich ein ständiger Auf- und Abbau der Mikrotubuli abläuft.

Die Hydrolyse von GTP dient als Energiebereitstellung und ist ein essenzieller Vorgang bei diesen dynamischen Prozessen. Mikrotubuli-assoziierte Proteine, aber auch Mikrotubuli bindende Arzneistoffe können die Mikrotubulidynamik entscheidend beeinflussen.

■ **Tab. 7.3** Wichtige Naturstoffe, die Transportproteine als Targets besitzen

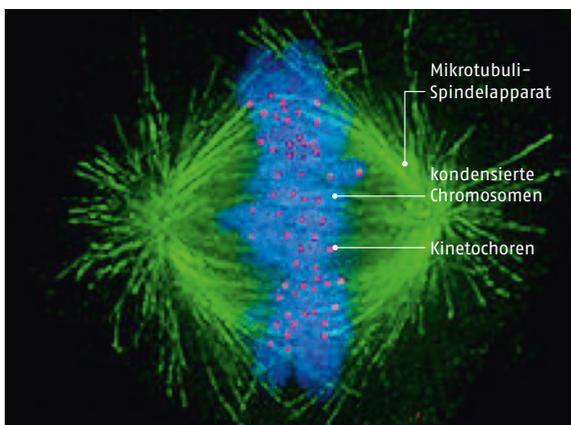
Transportprotein-Klasse	Transportprotein	Naturstoff
Transporter (Carrier)	Glucose-Transporter SGLT1, SGLT2	Phlorizin
	Monoamin-Transporter SERT, DAT, NET	Cocain
	Monoamin-Transporter VMAT2	Reserpin
Ionenpumpen	SERCA (Ca^{2+} -ATPase)	Thapsigargin
	v-ATPase (Protonen)	Archazolid
	Na^+/K^+ -ATPase	Digitoxin
Ionenkanäle	Ryanodinrezeptor (Ca^{2+} -Kanal)	Ryanodin
	Chloridkanäle	Oligomere Procyanidine (OPCs) bzw. Crofelemer, Ginkgolid B
	Spannungsabhängige Natriumkanäle	Ajmalin, Tetrodotoxin
	TRPM8	Menthol
	TRPV1	Capsaicin
	Nicotinischer Acetylcholinrezeptor	Tubocurarin, Galantamin



● **Abb. 7.9** Aufbau des Mikrotubuli-Systems

Die Mikrotubulidynamik spielt wiederum eine große Rolle beim Prozess der Mitose. Während Mikrotubuli in der Interphase der Zelle eine netzartige Struktur einnehmen, organisieren sich diese beim Eintritt der Zelle in die Mitose als mitotische Spindel und sind verantwortlich für die Trennung der Schwesterchromatiden (● Abb. 7.10).

Mikrotubuli haben neben ihrer Rolle in der Mitose noch weitere bedeutende Funktionen: Mikrotubuli sind beispielsweise sehr wichtig für den intrazellulären Vesikeltransport, also für Endo- und Exozytoseprozesse. Hierbei ist eine Reihe von Mikrotubuli-assoziierten Proteinen wie die Motorproteine Kinesin und Dynein von großer Bedeutung. Mikrotubuli sind damit an Prozessen wie Phagozytose, Sekretion von Zytokinen, Modulation von Signalmolekülen bis hin zur Hemmung von Transkriptionsfaktoren beteiligt. Neuere Arbeiten zeigen, dass Mikrotubuli eine essenzielle Rolle bei der Assemblierung und Aktivierung des Inflammasoms spielen und damit auch eine zentrale Zielstruktur entzündlicher Prozesse darstellen.



● **Abb. 7.10** Organisation des Spindelapparats durch Mikrotubuli. Grün: Mikrotubuli-Spindelapparat, blau: kondensierte Chromosomen, rot: Kinetochoren. Quelle: Wikimedia Commons, File: Kinetochorf.jpg

■ **DEFINITION** Das Inflammasom wird in myeloiden Zellen exprimiert, ist ein wichtiger Bestandteil des angeborenen Immunsystems und stellt einen Multiproteinkomplex aus Caspase-1, Caspase-5, NLRP (*nucleotide-binding domain, leucine-rich repeat-containing protein*) und anderen dar. Nach Aktivierung dieses Komplexes, bei der Mikrotubuli eine Rolle spielen, kommt es zur Freisetzung von proinflammatorischen Zytokinen, vor allem IL-1 β .

Tubulin bindende Naturstoffe

Es gibt eine Reihe von Naturstoffen, die Tubulin bzw. Mikrotubuli binden und sich in ihrem Bindungsmodus wie auch in ihren Effekten auf die Mikrotubulidynamik unterscheiden (■ Tab. 7.4). Fett gedruckte Stoffe werden bei den Stoffprofilen ausführlich besprochen.

Mikrofilamente (Aktin)

Aktin ist das am häufigsten in Säugerzellen vorkommende Protein. Es hat die Fähigkeit sich in langen und flexiblen Polymeren, den Aktinfilamenten (auch als Mikrofilamente bezeichnet) anzuordnen.

Aktinfilamente haben vier wesentliche Aufgaben:

1. Sie tragen zur **Stabilität** und damit zur Form von Zellen bei. Dazu bildet Aktin ein dichtes, rigides Netz unterhalb der Plasmamembran und in Membranausstülpungen (z. B. Mikrovilli, Pseudopodien, Synapsen) sowie bei bestimmten Zellkontakten (z. B. *adherens junctions*, *tight junctions*).
2. Das Aktinnetz trägt zur **Verankerung von Membran und Transportproteinen** bei. Transmembranproteine, z. B. Kanäle, Rezeptoren oder Zelladhäsionsproteine, sind direkt oder indirekt mit dem kortikalen Aktinnetzwerk assoziiert und werden mit anderen funktionell zusammengehörigen Proteinen in räumlicher Nähe und an der richtigen Stelle gehalten. Entlang des Aktinnetzes erfolgt auch der Kurzstreckentransport von Vesikeln zur Membran durch

▣ **Tab. 7.4** Auswahl von Tubulin bindenden Naturstoffen

Naturstoff	Eigenschaften	Quelle
Vincristin, Vinblastin	Depolymerisierend	<i>Catharanthus roseus</i>
Colchicin	Depolymerisierend	<i>Colchicum autumnale</i>
Combretastatin	Depolymerisierend	<i>Combretum caffrum</i>
Discodermolid	Stabilisierend	Mariner Schwamm: <i>Discodermia dissoluta</i>
Epothilon	Stabilisierend	<i>Sorangium cellulosum</i>
Halichondrin	Tubulin sequestrierend, Aufbau wird gehemmt	Mariner Schwamm: <i>Halichondria okadaï</i>
Noscapin	Depolymerisierend	<i>Papaver somniferum</i>
Tubulysin/Pretubulysin	Depolymerisierend	<i>Angiococcus disciformis</i>
Paclitaxel	Stabilisierend	<i>Taxus brevifolia</i>
Podophyllotoxin	Depolymerisierend	<i>Podophyllum peltatum</i>
Maytansinoide	Depolymerisierend	<i>Maytenus serrata</i> , <i>Colubrina texensis</i> , <i>Trewia nudiflora</i>
Dolastatine	Depolymerisierend	Marine Cyanobakterien, <i>Symploca</i> sp.
2-Methoxyestradiol	Depolymerisierend	Endogener Metabolit (Mensch)
Taccalonolides	Stabilisierend	<i>Tacca chantrieri</i>
Disorazol	Depolymerisierend	<i>Sorangium cellulosum</i>

Myosine, einer weiteren Klasse von Motorproteinen, die mit Dynein bzw. Kinesin auf den Mikrotubuli kommunizieren. Dabei kann es beispielsweise zum Austausch der Fracht kommen.

3. Aktinfilamente regulieren die **Beweglichkeit von Zellen**. Zellmotilität bedarf zweier geordneter Prozesse: eine in Bewegungsrichtung laufende Aktinpolymerisierung und Ausbildung von Zellauswüchsen wie Filopodien oder Lamellipodien, die die Zellumgebung erkunden sollen, und der Aktin-Myosin-Interaktion in kontraktile Aktinfasern, die durch die Zelle verlaufen und wichtig für die Verankerung der Zelle auf ihrer Unterlage sind.
4. Aktinfilamente sind der Prototyp kontraktile Strukturen. **Kontraktion** aller Arten von Muskulatur und damit jede Bewegung des Körpers gründet auf einer Aktin-Myosin-Interaktion, die hochgeordnet unter Mitwirkung einer großen Anzahl anderer Proteine abläuft.

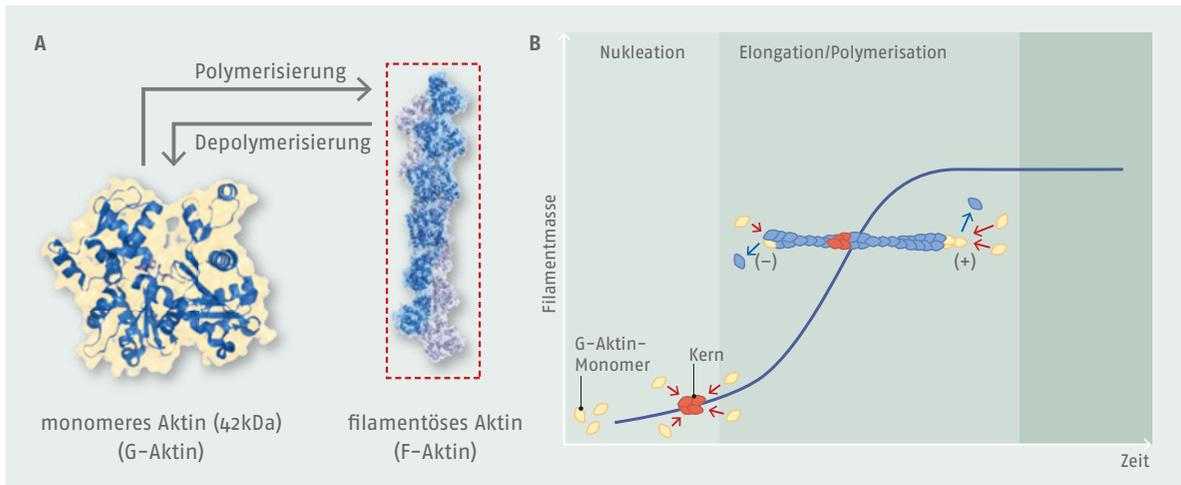
Voraussetzung für all diese Funktionen ist eine strikte Regulation der räumlichen und zeitlichen Organisation des Aktinzytoskeletts. Dabei sind eine Reihe von weiteren Proteinen, die mit Aktin assoziieren (Aktin bindende Proteine z. B. Cap-Proteine, Profilin, Arp2/3, Co-

filin, ADF u. a.), von großer Bedeutung. Die Struktur von Aktin ist unter den Säugetieren sehr konserviert: Die monomere Form (G-Aktin) besteht aus vier Unter-einheiten. ATP und Mg^{2+} binden zwischen zwei Unter-einheiten. ATP kann zu ADP und P_i hydrolysiert werden.

Unter physiologischen Bedingungen kann G-Aktin zu einem langen doppelsträngigen helikalen Polymer assemblieren (F-Aktin) (● Abb. 7.11, A). Die Aktin-Polymerisation läuft mit *head-to-tail*-Interaktionen sehr geordnet ab und führt zu einer Polarität des Filaments (● Abb. 7.11, B).

Initial kommt es bei physiologischer Ionenstärke zur spontanen Zusammenlagerung von drei Aktin-Monomeren (Nukleation). Verlängert wird dann von beiden Seiten, jedoch asymmetrisch, was mit der Hydrolyse des ATP und der Rekrutierung von neuem ATP-Aktin verbunden ist. Dieser Prozess wird durch Aktin bindende Stoffe häufig gestört.

Aktin bindende Naturstoffe können daher zahlreiche Zellprozesse und -funktionen wie Zellstabilität, Migration oder Adhäsion beeinflussen und spielen vor allem als chemische Werkzeuge in der Zellbiologie eine wichtige Rolle (▣ Tab. 7.5).



● **Abb. 7.11** A Struktur und B Dynamik des Aktinzytoskeletts

Im Gegensatz zu Tubulin bindenden Substanzen haben Stoffe, die das Aktinzytoskelett beeinflussen, noch keinen Eingang in die klinische Anwendung gefunden. Als ein wesentlicher Grund wird ihre hohe Toxizität genannt.

Ähnlich wie bei Tubulin bindenden Naturstoffen lassen sich auch Aktin bindende Stoffe in zwei grundsätzliche Klassen einteilen: Aktin hyperpolymerisierende und Aktin depolymerisierende Substanzen.

7.1.5 DNA und assoziierte Proteine

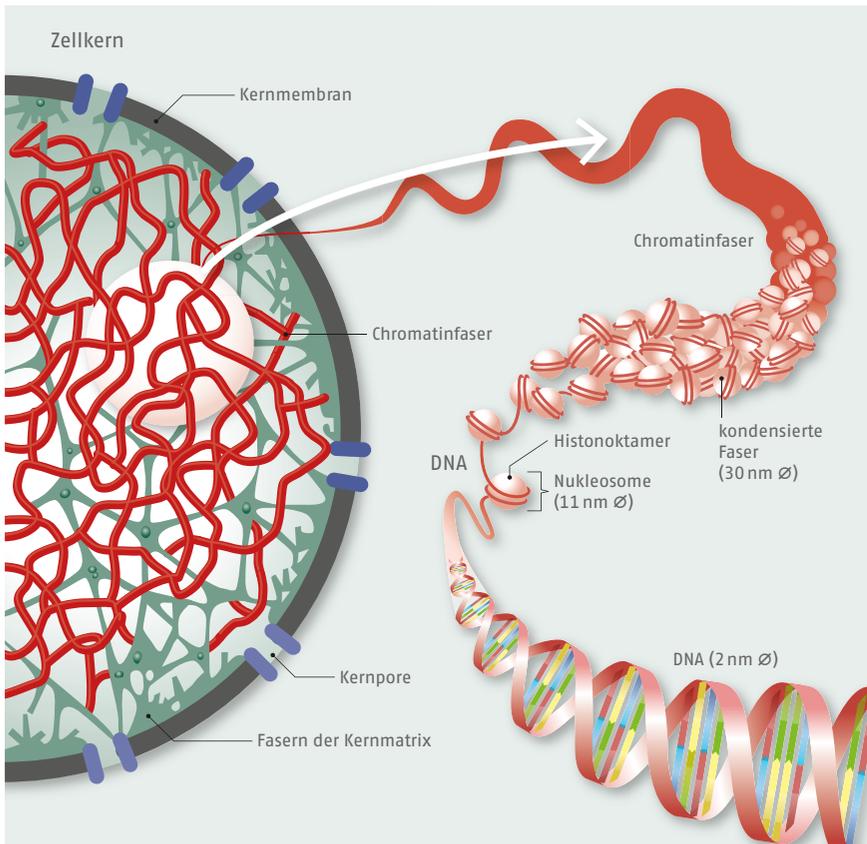
DNA und assoziierte Proteine (Chromatin) sind eine häufige und bedeutende Zielstruktur für Naturstoffe. In Säugetierzellen ist die DNA in Form von Chromatinfäden (Chromosomen) organisiert. Ein einzelnes Chromosom enthält jeweils einen langen, kontinuierlichen DNA-Doppelstrang. Die DNA-Stränge müssen kondensiert werden, um in den Zellkern zu passen. Dazu interagiert die DNA mit einer Reihe von Proteinen

(häufig Histone) und bildet Nukleoprotein-Komplexe, die **Chromatin** genannt werden. Die Chromatinstruktur reguliert die Zugänglichkeit des Genoms und damit Prozesse wie DNA-Replikation und DNA-Repair sowie die Transkription. ● Abb. 7.12 zeigt die Organisation von Chromatin. Chromatin kann unterschiedlich dicht gepackt sein: Ein stark verdichtetes Chromatin im Zellkern wird als Heterochromatin bezeichnet und weist nahezu keine transkriptionelle Aktivität auf. Weniger dicht gepacktes Chromatin (Euchromatin) ist der transkriptionsaktive, genreiche Anteil des Chromatins.

Es gibt eine Reihe von Naturstoffen, die an DNA binden bzw. die Chromatinorganisation beeinflussen oder mit DNA assoziierten Proteinen interagieren. Diese werden häufig in phänotypischen Screenings entdeckt und besitzen vielfach antitumorales Potenzial, da sie den Teilungsprozess der Zelle beeinflussen.

■ **Tab. 7.5** Auswahl von Naturstoffen, die an das Aktinzytoskelett binden

Naturstoff	Eigenschaften	Vorkommen
Latrunculin A	Depolymerisierend	Schwamm: <i>Negombata magnifica</i> (► Kap. 10.4.9)
Cytochalasin B	Depolymerisierend	Verschiedene Pilze
Jasplakinolid	Polymerisierend	Mariner Schwamm: <i>Jaspis johnstoni</i>
Phalloidin	Polymerisierend	Pilz: <i>Amanita phalloides</i>
Doliculid	Polymerisierend	Seehase: <i>Dolabella auricularia</i>
Bistramid	Depolymerisierend	Seescheide: <i>Lissoclinum bistratum</i>
Rhizopodin	Depolymerisierend	Myxobacterium: <i>Myxococcus stipitatus</i>
Chondramid	Polymerisierend	Myxobacterium: <i>Chondromyces crocatus</i>
Miurenamid	Polymerisierend	Myxobacterium: <i>Paraliomyxa miuraensis</i>



● **Abb. 7.12** Organisation von DNA bzw. Chromatin

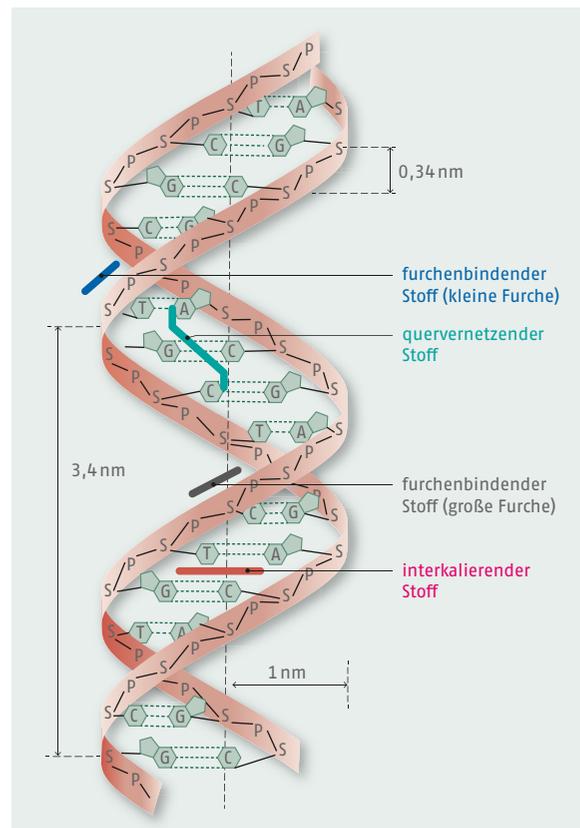
DNA als Zielstruktur

Die Bindung eines Stoffes an DNA kann interkalierenden Charakter haben, d. h. ein planarer Stoff lagert sich zwischen die Basenpaare (Ethidiumbromid). Stoffe können in die kleine Furche der DNA binden wie beispielsweise der Naturstoff Bleomycin. Bindung von Stoffen wie Mitomycin C kann nach einer Interkalation ein Crosslinking von Basen unterschiedlicher Stränge zur Folge haben (● Abb. 7.13). Es gibt Stoffe, die mehrere Bindungsmodi eingehen können. Die in der Klinik als antitumorale oder antibakteriell verwendeten Anthrazykline (Doxorubicin, Daunorubicin) haben beispielsweise sowohl interkalierende wie auch Furchenbindende Eigenschaften.

Die Bindung solcher Stoffe an DNA kann zu Strangbrüchen, zur Induktion von DNA-Reparatur-Reaktionswegen oder auch zu Interaktionen mit DNA bindenden Enzymen (z. B. Gyrase, Topoisomerasen, Transkriptionsfaktoren) und schließlich zur Apoptose-Induktion führen.

Bemerkenswert ist, dass Stoffe wie Doxorubicin, die für ihre global DNA schädigenden Eigenschaften bekannt sind, auch über die Bindung an definierte DNA-Strukturen sehr spezifische transkriptionelle Effekte ausüben können.

Eine Übersicht über an DNA bindende Naturstoffe befindet sich in □ Tab. 7.6.



● **Abb. 7.13** Stoff-DNA-Interaktionen. A Adenin, C Cytosin, G Guanin, T Thymin, P Phosphat, S Desoxyribose