



Potchefstroomse Universiteit
vir Christelike Hoër Onderwys

**WETENSKAPLIKE BYDRAES
REEKS H: INOUGURELE REDE NR. 170**

CHIRALITEIT IN GENEESMIDDELS

Prof JC Breytenbach

Inougurele rede gehou op 5 Oktober 2001

**Publikasiebeheer Komitee
Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys
Potchefstroom
2520**

Die Universiteit is nie vir menings in die publikasie aanspreeklik nie.

Navrae in verband met *Wetenskaplike Bydraes* moet gerig word aan:

Die Publikasiebeheer Komitee
Potchefstroomse Universiteit vir Christelike Hoër Onderwys
2520 POTCHEFSTROOM

Kopiereg © 2002 PU vir CHO

ISBN 1-86822-415-5

Chiraliteit in geneesmiddels

Intreerede: Prof JC Breytenbach
5 Oktober 2001

Geagte mnr die Visekanselier, geagte mnr die Viserektor, geagte mnr die Dekaan, geagte dames en here personeel, geagte dames en here.

Daar is talle baie interessante onderwerpe in die medisinale chemie waaroor 'n mens op 'n aand soos hierdie kan gesels, maar ek het besluit op chiraliteit in die geneesmiddels omdat dit 'n akuele en interessante onderwerp is en omdat dit verband hou met die werk wat ons hier doen.

Die inhoud van my lesing, dames en here, sien as volg daar uit:

1. Die ontdekking van geneesmiddels
2. Chiraliteit
3. Eie navorsing
4. Die toekoms

1. Die ontdekking van geneesmiddels

Dit is so dat die mens sedert sy ontstaan op aarde baie van sy tyd en energie spandeer het in sy stryd teen siekte. As primitiewe grotbewoner het hy inderwaarheid alles wat hy in die hande kon kry, gebruik in sy pogings om beserings en siektes te behandel. Hy het modder en grond gebruik, die as van sy vuur, dele van plante en dele van diere en op hierdie manier, deur te probeer en te leer, 'n databasis opgebou van wat werk, en wat werk nie. Hierdie kennis is van die een geslag na die volgende oorgedra. Die oudste geskrewe rekord van medisyne wat ons het, is 'n Sumeriese kleitablet wat gedateer word uit die jaar 2000 vC Sumerië was deel van die destydse Babilon waar die huidige Iran en Irak is. Op sulke kleitablette is voorskrifte geskryf van hoe om medisyne te maak. Dit was meestal maar konkoksies waarin verskeie bestanddele bymeekaargegooi is met die hoop dit sal help.



Sumeriese kleitablet

Die Egiptenare het 'n redelike gevorderde beskawing gehad en ons weet dat hulle oor die kundigheid beskik het om liggame te balsem wat tot vandag toe nog bewaar gebly het. Van hierdie resepte is opgeteken in onder andere die Papirus van Ebers (vernoem na die ontdekker van hierdie papirusvelle).



Papirus van Ebers

Die Papirus van Ebers word gedateer na 600 vC en dit bevat nie minder nie as 800 voorskrifte vir die maak van medisyne. Saam daarmee is die rituele beskryf wat tydens die gebruik van die medisyne uitgevoer moes word, want die Egiptenare het geglo dat siektes deur bose geeste, duiwels en demone veroorsaak word. Indien 'n mens dus van die siekte ontslae wil raak, moet jy ook van die bose geeste ontslae raak. Behalwe dat die siek persoon die medisyne moes gebruik deur dit te drink, aan te smeer, of wat ookal, moes die geneser, en soms ook die siek persoon en alle omstanders, sekere rituele uitvoer om van die bose gees uit te dryf en genesing te bewerkstellig.

Die Grieke het 'n groot bydrae tot die moderne wetenskap en ook tot ons moderne kennis van geneeskunde, van medisyne en van geneesmiddels gelewer. Hulle was rasionele denkers en het geglo dat deur net logies te dink, 'n mens tot alle kennis kan kom, tot alle kennis van die natuur en die werklikheid, en van medisyne.

Hippokrates het grootliks die siening van die Egiptenare, en van ander samelewings van daardie tyd, dat siekte 'n bonatuurlike oorsaak het, verwerp. Hy het, soos die ander Grieke van daardie tyd, geglo dat daar vier tipes liggaamsvog in die menslike liggaam is, naamlik bloed, slym, swart gal en geel gal (soos wat hulle ook geglo het dat die aarde uit vier elemente, naamlik grond, water, lug en vuur bestaan). In 'n gesonde liggaam is hierdie vier tipes liggaamsvog in balans, het hulle geglo, en het gesê dat siekte 'n toestand is waartydens hierdie balans versteur word. As 'n mens dan 'n siek persoon wil gesondmaak, moet jy die balans herstel. As iemand dus te veel swart gal het (en hy 'n bietjie swartgally is!), dan moet mens iets kry om die swart gal minder te maak, om daardie balans reg te stel.



Hippokrates (460 – 377 vC)



Theophrastus Paracelsus.
Er soll die Menschenheit durch die Natur zu der Erkenntnis der Arznei führen.

Theophrastus Paracelsus
 1493 - 1541

In die middeleeue het Paracelsus die Griekse siening van die vier liggaamstowwe verwerp. Hy kry die krediet dat hy die eerste persoon was wat gesê het dat daar in medisyne, die konkoksies van daardie tyd, iets is wat werk. Dit bevat 'n bestanddeel wat 'n helende invloed uitoefen. In medisyne is daar dus 'n geneesmiddel of 'n aktiewe bestanddeel. Dit het die wetenskap nog ongeveer 300 jaar geneem om ondersteunende getuienis vir hierdie teorie van Paracelsus te bekom toe die jong Duitse apteker, Frederick Sertürner (1783 – 1841), in 1805 'n aktiewe bestanddeel uit opium geïsoleer het wat later morfien genoem is. Sertürner het daardie ekstrak sommer op homself en op sy vriende getoets en aangetoon dat dit die aktiewe bestanddeel van opium bevat. Die struktuur van morfien is eers ongeveer 150 jaar later deur die Britse Nobelpryswenner, Sir Robert Robinson, opgeklaar.

Die moderne era van medisyne en geneesmiddels is ingelei deur Paul Ehrlich. As mediese student het hy in sy oom se tekstiel fabriek in Duitsland gewerk en het waargeneem dat sekere van die kleurstawwe sekere tipes materiaal kleur, maar nie ander tipes materiaal nie. En ander kleurstawwe kleur weer die ander tipes materiaal. Hy het geredeneer dat 'n stof net gekleur kan word as die kleurstof daaraan bind. Hy het gesien dat sekere kleurstawwe wol en sy kleur, wat ons vandag weet proteïene is, en ander weer kleur katoen, wat ons weet sellulose is. Hy het toe gewonder of daar nie iewers so 'n "kleurstof" is wat selektief aan mikro-organismes sal bind en hulle sodoende sal dood of hulle groei sal vertraag, sonder om die gasheerselle te affekteer nie. Hy het sy teorie getoets deur al die kleurstawwe wat in die fabriek was, in Petri-bakkies op mikro-organismes te toets.

Soos dit maar dikwels met navorsing gaan, het die meeste van die toetse niks opgelewer soos wat hy gehoop het nie. Die meeste verbindings het geen aktiwiteit gehad nie en die aktiwiteit wat wel waargeneem is, was maar laag. Toe word die dogtertjie van 'n werknemer van die fabriek ernstig siek met 'n infeksie, en nadat die dokters alles gedoen het wat hulle kon en sy steeds sieker en sieker geword het, probeer hulle ten einde laaste een van die stowwe wat in die toetse op mikro-organismes die beste gelyk het. Sy het wonderbaarlik herstel en op hierdie manier het Paul Ehrlich sulfoonamiede aan die wêreld bekendgestel. Tydens die Eerste Wêreldoorlog was sulfoonamiede die middel van keuse teen infeksies en dit word vandag nog wyd gebruik. Vir sy ontdekking het Paul Ehrlich in 1908 die Nobelprys vir fisiologie en geneeskunde ontvang.



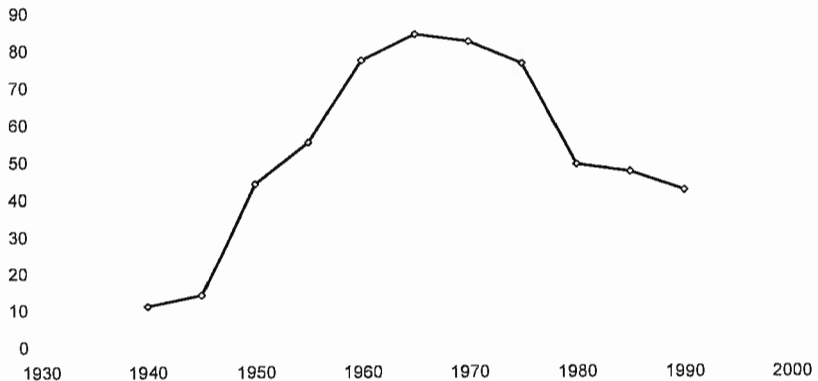
Paul Ehrlich
1854 - 1915



Alexander Fleming
1881 - 1955

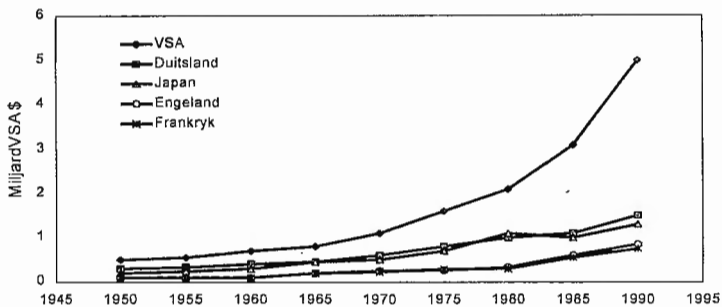
Die enigste ander ontdekking wat ek wil noem, is dié van Sir Alexander Fleming, wat penisillien in 1929 ontdek het. Dit is 'n interessante verhaal waarvan daar 'n hele paar verskillende variasies bestaan, want Fleming se laboratoriumrekords was blykbaar nie so goed nie. Hoe dit ookal sy, dit was 'n deurbraak en geweldige belangrike ontdekking waarvoor Fleming die Nobelprys vir fisiologie en geneeskunde in 1945 ontvang het - aan die einde van die Tweede Wêreldoorlog. Tydens die Tweede Wêreldoorlog en vandag nog is die penisilliene van die handigste wapens in ons stryd teen infeksies.

Die dae wat enkelinge groot bydraes tot die ontdekking van geneesmiddels kon lewer, is egter verby. Geneesmiddels word deesdae ontdek en ontwikkel deur multinasionale maatskappye wat oor die nodige navorsingskapasiteit en finansiële bronne beskik. Die meegaande grafiek (Figuur 1) gee die aantal nuwe molekulêre entiteite wat per jaar oor die aangetone periode van 50 jaar deur maatskappye vir kliniese proewe oorweeg is. Dit toon 'n opbloei in die sestiger- en sewentigerjare met 'n piek van omtrent 80 nuwe entiteite wat per jaar die stadium van kliniese proewe binnegegaan het. Daarna was daar 'n redelike afname. 'n Mens kan spekulêr oor die redes waarom die aantal nuwe chemiese entiteite die afgelope twee of drie dekades minder is as tevore. Ek dink daar is grootliks drie redes daarvoor. Die eerste is dat die chemie in die sestiger- en sewentigerjare volwassenheid bereik het en op die kruin was wat sy bydra tot medisinale verbindings betref. Die ontwikkeling in die chemie was op so 'n stadium dat dit baie nuwe verbindings kon lewer en op die mark beskikbaar kon stel.



Figuur 1: Nuwe molekule entiteite bekendgestel

Die tweede faktor wat bygedra het tot die afname in die aantal verbindings wat op die mark geplaas is, is die koste verbonde aan die ontwikkeling daarvan. Figuur 2 toon die bedrag wat per jaar deur die vyf grootste lande, die VSA, Duitsland, Japan, Engeland en Frankryk, aan navorsing en ontwikkeling van nuwe geneesmiddels gespandeer is. Die aantal entiteite word minder, maar die koste meer. Dit word al duurder en al moeiliker om nuwe geneesmiddels op die mark te bring. Suid-Afrika figureer glad nie eers onder die eerste 50 ontwikkelaars van nuwe geneesmiddels nie. Om die waarheid te sê, van al die geneesmiddels wat tans in die wêreld gebruik word, is daar nie 'n enkele een wat van SA af kom nie (boererate en kruiemiddels uitgesluit) en ek dink die kans dat een uit SA gaan kom, geweldig klein is (die WNNR het onlangs regte vir 'n eetlusdemper uit die Hoodia-plant aan Pfizer verkoop).



Figuur 2: Bedrag gespandeer aan navorsing en ontwikkeling

Die derde rede is moontlik die strenger wetgewing wat na die ramp met talidomied in die vroeë sestigerjare in Duitsland ingestel is en wat van farmaseutiese vervaardigers vereis om aan te toon dat 'n middel effektief en veilig is voordat dit bemark kan word.

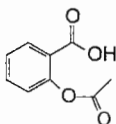
2. Chiraliteit

Chiraliteit is daardie eienskap wat veroorsaak dat 'n voorwerp en sy spieëlbeeld nie opmekaarplaasbaar is nie. Sommige voorwerpe pas op hulle spieëlbeelde, ander nie. Voorwerpe wat nie op hulle spieëlbeelde pas nie, is chiraal. Die woord chiraliteit kom van die Griekse woord "cheir" wat hand beteken. Die spieëlbeeld van 'n linkerhand is 'n regterhand, maar die twee pas nie op mekaar nie, is nie identies nie en is dus twee verskillende voorwerpe, wat wel 'n sekere baie nou verwantskap het.

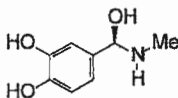
Sommige molekules pas op hulle spieëlbeelde en is dus achiraal, soos byvoorbeeld aspirien. Ander molekules pas nie op hulle spieëlbeelde nie en is chiraal, soos byvoorbeeld adrenalinen (kyk Figuur 3). Chirale molekules bestaan dus altyd as ten minste een paar, naamlik die verbinding en sy spieëlbeeld. Sulke verbindings noem ons enantiomere en volgens die Cahn-Ingold-Prelogstelsel van nomenklatuur word die een isomeer (R) genoem en die ander een (S). Die rede vir die bestaan van enantiomere lê natuurlik daarin dat die vier ligande van die sp^3 -verbasterde koolstofatoom na die hoeke van 'n tetraheder projekteer (Figuur 3).



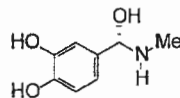
tetrahedriese
koolstofatoom



aspirien



(R)-adrenalinen



(S)-adrenalinen

Figuur 3.

Enantiomere het in achirale omgewings identiese chemiese en fisiese eienskappe en is moeilik van mekaar onderskeibaar en ook moeilik skeibaar. Hulle biologiese aktiwiteit (farmakologiese werking) kan egter verskil: in sommige gevalle is dit identies, in sommige gevalle het hulle dieselfde type aktiwiteit, maar verskillende mate van aktiwiteit en in sommige gevalle het hulle uiteenlopende of selfs teenoorgestelde tipes werking. So is (R)-adrenalinen ongeveer 15 keer so aktief as β -agonis as wat die (S)-enantiomeer is, D-limoneen ruik na suurlemoen terwyl die L-isomeer bykans reukloos is, (R)-talidomied is 'n sedgeermiddel en anti-emetikum wat tydens swangerskap teen oggendnaarheid gebruik kan word, terwyl (S)-talidomied die teratogeen is wat veroorsaak het dat talle babas in die sestigerjare sonder ledemate gebore is.

3. Eie navorsing: Suiwer enantiomere

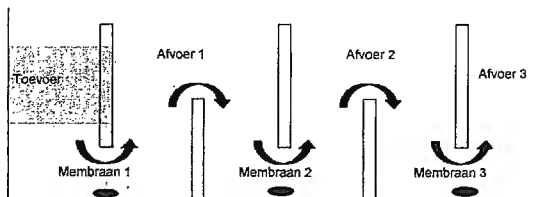
Dit is dus in baie gevalle belangrik om die regte enantiomeer (die een met die gewenste aktiwiteit, genoem die eutomeer) in suiwer vorm te verkry en te gebruik. Opties suiwer enantiomere kan op een van twee maniere verkry word, naamlik (1) stereoselektiewe sintese of (2) die resolusie van rasemate ('n rasemaat is 'n 50/50-mengsel van enantiomere wat gewoonlik deur nie-stereoselektiewe sintese gekry word).

Kom ons kyk eerstens na die resolusie van rasemate. Chemie se ander naam is skeikunde wat die wetenskap van skei is om 'n suiwer stof te lewer waarvan die eienskappe bestudeer kan word. Gewoonlik word stowwe op grond van verskille in fisiese eienskappe (grootte, kleur, tekstuur, oplosbaarhede, kook- en smeltpunte, ens.) van mekaar geskei. Maar dit kan nie met enantiomere gedoen word nie, want hulle fisiese eienskappe is identies (met die uitsondering van die rigting van rotasie van vlakgepolariseerde lig).

Skeiding van enantiomere is, hoewel moeilik, tog moontlik en daar is vier maniere. Eerstens 'n meganiese skeiding wat in die uitsonderlike gevalle gedoen kan word as die rasemaat in twee afsonderlike kristalvorms kristalliseer. Tweedens kan chirale chromatografie gedoen word deur óf chirale mobiele fase óf chirale stasionêre fase te gebruik. Derdens kan enantiomere na diastereomere omgeskakel word wat nie meer spieëlbeelde van mekaar is nie en op konvensionele maniere geskei kan word. Die oorspronklike verbinding word dan deur 'n terugreaksie herwin.

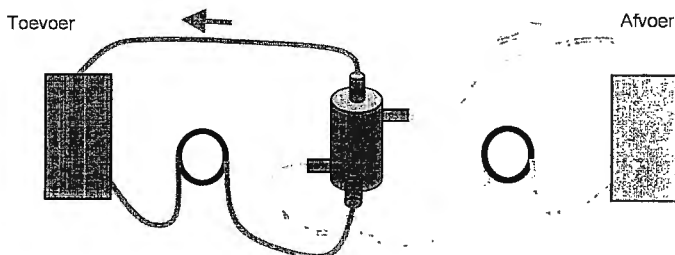
'n Vierde metode is deur gebruik van chirale membraamsisteme. Dit kan vir resoluie of vir stereoselektiewe sintese gebruik word. As 'n mens die regte chirale membraamsisteam kan ontwerp, kan opties suiwer enantiomere daarmee geproduseer word en dit is waar ons navorsing inkom, naamlik om sulke chirale membraamsisteme te bestudeer. Ons werk in 'n program van die SST (*Separation Science and Technology*) in die fokusarea Skeidingstechnologie aan die PUK.

'n Membraan kan beskou word as enige struktuur of proses wat die beweging van molekules beheer. Een so 'n stelsel was 'n eenvoudige vloeistofmembraan (Figuur 4) wat Jeanette Lotter tydens haar MSc-studie ontwikkel het, en wat in wese bestaan het uit twee onmengbare vloeistowwe (water en etielasetaat) in 'n reeks aaneengeskeelde selle. In die waterfase was 'n chirale selektor (siklodekstrien), en sy het aangetoon dat 'n verryking van die een enantiomeer van die geneesmiddel chloortalidoon bo die ander een verkry kan word as dit deur die stelsel beweeg. Die beste skeidingsfaktor wat in hierdie stelsel verkry is, was $\alpha = 1,48$ wat goed vergelyk met die skeidingsfaktor van 1,52 van chirale chromatografie. Hierdie proses is as 'n SA patent gepatenteer.



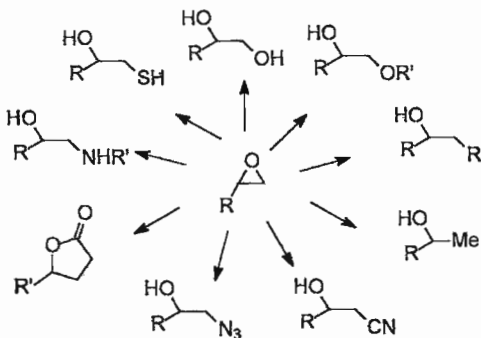
Figuur 4: Vloeistofmembraan

'n Ander proses, wat deur Henning Krieg in sy PhD-studie ontwikkel is, gebruik 'n geïmpregneerde keramiekmembraan (Figuur 5) vir die resoluie van chloortalidoon. Die keramiekmembraan is 'n hol silindriese struktuur waarvan die wande ook met siklodekstrien bedek is. Die toevoerfase bevat die rasemaat en word met 'n pomp deur die stelsel gestuur. Die een isomeer beweeg vinniger deur die membraan na die afvoerfase en so word 'n verryking van die een isomeer verkry. Hier is 'n skeidingsfaktor van 1,2 behaal, wat ook bruikbaar is en ook hierdie proses is gepatenteer.



Figuur 5: Geïmpregneerde keramiekmembraanstelsel

'n Meer ekonomiese manier om suiwer enantiomere te verkry, is om deur stereoselektiewe sintese slegs die verlangde enantiomeer (eutomeer) te sintetiseer. Dit kan gedoen word deur opties suiwer chirale reagentse of stereoselektiewe katalisatore te gebruik. Die gisversameling van die Vrystaatse Universiteit bevat etlike duisende gisspesies en dit is gevind dat van hierdie giste epoksiedhidrolases bevat wat die hidrolise van epoksiede na diole stereoselektief kataliseer. Die reaksie kan gebruik word om verbindings soos in Figuur 6 te berei waarvan verskei voorloper sies in die sintese van 'n hele aantal geneesmiddel. Prof Martie Smit en dr Adri Botes van die Dept Biochemie en Mikrobiologie aan die UV het heelwat werk hierop gedoen en ons bestudeer tans die inkorporering van hierdie tipe reaksies in reaktore.



Figuur 6: Omskakeling van epoksiede

Ons het van hierdie reaksies in 'n paar tipes reaktore uitgevoer en ons ondersoek op die oomblik metodes om die proses te verbeter.

4. Die toekoms

Hoe lyk die toekoms vir geneesmiddelontwerp en geneesmiddelontwikkeling? In 'n spesiale uitgawe van Time Magazine in Januarie vanjaar word die volgende voorspel: "The drugs of the future will be based on DNA". Soos uself, mnr die Visekanselier, verlede maand in 'n lesing by die PUK Forum gesê het, is die menslike genoom, d.w.s. die totale DNA-beeld van die mens, so te sê opgeklaar. Nou voorspel Time dat nuwe medisyne gebaseer sal wees op DNA. DNA is natuurlik ook chiraal en al die prosesse wat die beheer, is chiraal. Volgens die artikel is ons nou in die situasie van "drug design in the fast lane", waar die DNA-inligting wat nou bekend is, met behulp van rekenaars ontleed word, dat die inligting oor segmente van DNA wat 'n rol speel in siektetoestande, vir proteïensintese of wat ensieme aktiveer of deaktiveer, gebruik kan word om aktiewe geneesmiddels te ontwerp. Of dit wel so sal gebeur, sal net die tyd ons leer.

5. Afsluiting

Ek wil ter afsluiting terugkom na chiraliteit. Ons het nou gekyk wat chiraliteit is en die invloed wat dit op geneesmiddels het, maar 'n sentrale vraag in die wetenskapsfilosofie is hoekom daar iets soos chiraliteit is en waar dit vandaan kom? Ons het gesien dat die chirale koolstofaatom, vanweë sy tetrahedriese aard, chiraliteit in sekere verbindings induseer, maar hoekom is daar iets soos chiraliteit in die natuur? Hoekom is dit so dat alle lewende wesens chiraal is? Is chiraliteit 'n voorvereiste vir lewe of is dit die gevolg daarvan? Talle voorwerpe in die natuur is chiraal. Atome en selfs subatomiese deeltjies is chiraal. Alle lewende wesens is chiraal. Die plante, diere, mikro-organismes, die mens is chiraal. Die aarde is