



Gezielte Anreicherung von Wirkstoffen am Knochen am Beispiel von allosterischen FPPS-Inhibitoren

Wolfgang Jahnke,* Guido Bold, Andreas L. Marzinzik, Silvio Ofner, Xavier Pellé, Simona Cotesta, Emmanuelle Bourgier, Sylvie Lehmann, Chrystelle Henry, René Hemmig, Frédéric Stauffer, J. Constanze D. Hartwieg, Jonathan R. Green und Jean-Michel Rondeau

Abstract: Die Wirksamkeit und Verträglichkeit eines Medikaments kann verbessert werden, indem dieses gezielt an den gewünschten Wirkungsort gebracht wird. Bisphosphonate sind Prototypen derartiger Medikamente; allerdings ist ihre Affinität zum Knochen eher zu stark und lässt sich nicht modulieren, ohne die Aktivität auf das Enzym Farnesylypyrophosphat-Synthase (FPPS) zu verlieren. Eine Konsequenz der hohen Knochenaffinität ist außerdem eine niedrige und stark variable orale Bioverfügbarkeit. Wir beschreiben hier Inhibitoren von FPPS mit einem Monophosphonat als Knochenanker, der eine moderate Affinität zum Knochen verleiht, die überdies noch moduliert werden kann. Über einen NMR-basierten Knochenbindungstest wurde ein Zusammenhang von Struktur und Knochenaffinität etabliert. Das Konzept, Wirkstoffe durch Anhängen einer Monophosphonatgruppe und ohne Verlust der oralen Bioverfügbarkeit gezielt zum Knochen zu bringen, kann weitreichende Anwendungsmöglichkeiten auch für andere Wirkstoffe haben.

Stickstoffhaltige Bisphosphonate (N-BPs) wie Zoledronat (**1**, ZOL) und Pamidronat (**3**; Schema 1) sind weitverbreitete Medikamente, um Knochenverlust bei Krankheiten wie Osteoporose, Morbus Paget oder Knochenmetastasen einzudämmen.^[1] Ihre hohe Wirksamkeit und Verträglichkeit kommt unter anderem daher, dass Bisphosphonate eine hohe Affinität zu Knochensubstanz haben. Dies führt zu einer Akkumulation von Bisphosphonaten an Knochen, wo sie Osteoklasten spezifisch hemmen, indem sie das Enzym Farnesylypyrophosphat-Synthase (FPPS) inhibieren.^[1] FPPS katalysiert die Bildung von Geranylpyrophosphat (GPP) und Farnesylypyrophosphat (FPP) aus Isopentenylpyrophosphat (IPP) und Dimethylallylpyrophosphat (DMAPP) im Mevalonatweg der Lipidsynthese (siehe Schema S1 in den Hintergrundinformationen). Kristallographische Studien haben gezeigt, dass Bisphosphonate Mimetika von DMAPP sind, wobei die Bisphosphonatgruppe die Pyrophosphatgruppe der Substrate ersetzt und an die drei Magnesiumatome im aktiven Zentrum von FPPS bindet.^[2,3]

Die Bindung von Bisphosphonaten an Knochen ist sehr schnell und stark, die Assoziationsraten liegen im Bereich von Minuten und Dissoziationsraten im Bereich von Jahren.^[4] Auch dadurch sind FPPS-Inhibitoren vom Bisphosphonat-Typ im allgemeinen sehr wirksam und verträglich. Trotzdem wären FPPS-Inhibitoren ohne oder mit nur moderater Knochenaffinität von therapeutischem Interesse: Für die Behandlung von Krankheiten, die den Knochen nicht betreffen, zum Beispiel Brustkrebs,^[5a,b] Multiples Myelom,^[5c] Progerie^[5d] und parasitäre Infektionskrankheiten^[5e] wären lipophile FPPS-Inhibitoren ohne jegliche Knochenbindung sehr interessant. Andererseits könnten verbesserte Knochenmedikamente von FPPS-Inhibitoren mit schwächerer und kontrollierbarer Knochenaffinität profitieren. Potenziell könnten solche neuen FPPS-Inhibitoren im Vergleich zu Bisphosphonaten vorteilhaft sein, weil sie besser bioverfügbar sind, sich gleichmäßiger im Skelett verteilen und unerwünschte Nebenwirkungen wie Kiefer-Osteonekrose reduzieren können.^[6]

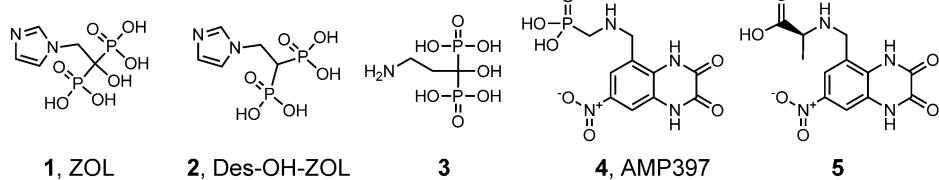
In Bisphosphonaten ist das Pharmakophor für FPPS-Inhibition identisch mit dem für Knochenbindung, sodass potente Bisphosphonate mit signifikant schwächerer Knochenaffinität trotz enormer Anstrengungen noch nicht gefunden werden konnten.^[7,8] Die von uns kürzlich identifizierten allosterischen FPPS-Inhibitoren, die keine Bisphosphonate sind und an eine andere Stelle am Enzym binden,^[9] zeigen keinerlei Knochenaffinität und könnten deshalb für die Behandlung von Krankheiten, die mit FPPS im Zusammenhang stehen aber nicht den Knochen betreffen, von Interesse sein. Im Hinblick auf die verbesserte Behandlung von Knochenkrankheiten berichten wir hier über die Ergebnisse von Untersuchungen, in denen wir eine Monophosphonatgruppe als Knochenanker an allosterische FPPS-Inhibitoren angehängt haben. Mittels des von uns entwickelten, NMR-basierten Knochenbindungstests^[10] zeigen wir, dass die Knochenaffinität von solchen Substanzen, im Unterschied zu Bisphosphonaten, regelbar und auf den gewünschten Wert einstellbar ist, ohne die FPPS-Inhibition systematisch zu schwächen. Einen Wirkstoff gezielt an seinen Wirkungsort zu bringen, ist ein attraktives Konzept, um die Wirksamkeit zu erhöhen und Nebenwirkungen zu reduzieren. Diese Arbeit beschreibt eine praktische Anwendung dieses Konzepts, das auch auf andere Wirkstoffe, die zum Knochen gebracht werden sollen, anwendbar ist.^[10,11]

Unsere Arbeiten wurden durch die unerwartete Beobachtung inspiriert, dass AMP397 (**4**, Bucampanel; Schema 1), ein Wirkstoff, der sich einst in der klinischen Prüfungsphase II für die Behandlung von Epilepsie befand, mit moderater

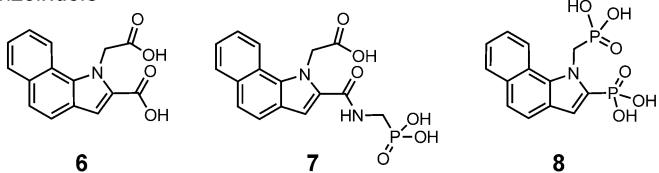
[*] Dr. W. Jahnke, Dr. G. Bold, Dr. A. L. Marzinzik, Dr. S. Ofner, X. Pellé, Dr. S. Cotesta, E. Bourgier, S. Lehmann, C. Henry, R. Hemmig, Dr. F. Stauffer, Dr. J. C. D. Hartwieg, Dr. J. R. Green, Dr. J.-M. Rondeau Novartis Institutes for BioMedical Research Center for Proteomic Chemistry and Oncology Research 4002 Basel (Schweiz)
E-Mail: wolfgang.jahnke@novartis.com

Hintergrundinformationen zu diesem Beitrag sind im WWW unter <http://dx.doi.org/10.1002/ange.201507064> zu finden.

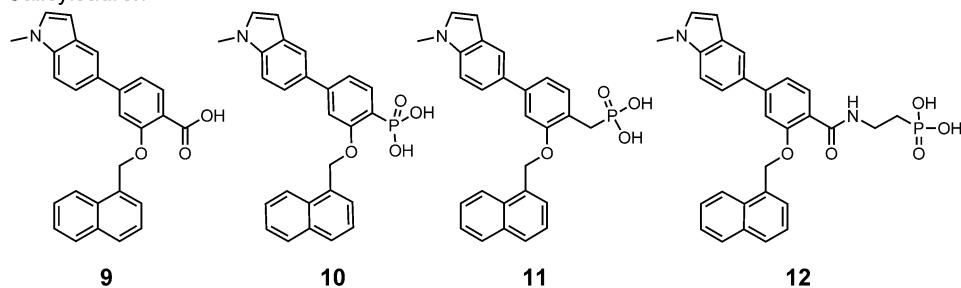
Referenzverbindungen



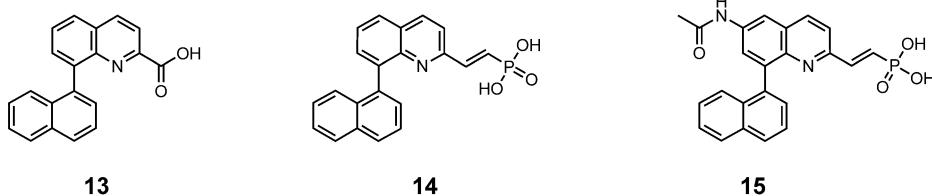
Benzoindole



Salicylsäuren



Chinoline



Schema 1. Strukturen der in diesem Manuskript diskutierten Verbindungen.

Affinität an Knochen bindet, wie autoradioluminographische Ganzkörperuntersuchungen zeigen (siehe Abbildung S1) und unser NMR-Knochenbindungstest bestätigt (Abbildung 1). AMP397 ist ein Monophosphonat, es zeigt aber gute orale Bioverfügbarkeit (22% in Mäusen und ungefähr 50% im Menschen).^[12] Zudem hat AMP397 präklinische und klinische Wirksamkeit als Antiepileptikum gezeigt, was belegt, dass es biologische Membranen und sogar die Blut-Hirn-Schranke überwinden kann. Zusätzlich zu AMP397 zeigen auch andere Monophosphonate, beispielsweise das Antibiotikum Fosfomycin, in der klinischen Anwendung orale Bioverfügbarkeit. Daraus folgt, dass Knochenaffinität mit oraler Bioverfügbarkeit und Membranpermeabilität in Einklang zu bringen ist und dass eine Monophosphonatfunktion als Knochenanker nützlich sein könnte.

Als erstes untersuchten wir die Knochenaffinität von AMP397 (**4**) und seines Carbonsäurederivats **5** im Vergleich zu dem Bisphosphonat ZOL (**1**) und dessen Dehydroxyderivat **2**. Der NMR-basierte Knochenbindungstest kann die Bindung an Knochenmehl oder direkt an Hydroxyapatit (HAP), den mineralischen Hauptbestandteil des Knochens, untersuchen.^[10] Für diese Studie wählten wir HAP, da beide Varian-

ten sehr ähnliche Werte liefern, aber HAP homogener und der Test dadurch besser reproduzierbar ist. Der Test kann entweder als direkter Bindungstest oder als Kompetitionstest erfolgen, aus dem dann relative Affinitäten ermittelt werden können.^[10,13] Abbildung 1 A zeigt die Bindung von AMP397 an HAP im direkten Bindungstest (siehe die Hintergrundinformationen für eine Beschreibung der Experimente). Dagegen zeigt **5**, ein AMP397-Derivat mit einer Carbonsäure- anstelle der Monophosphonatgruppe, keinerlei Anzeichen einer Bindung an HAP. Somit ist die Monophosphonatgruppe entscheidend für die Bindung an HAP (Abbildung 1 B). Wird der Test in Gegenwart von ZOL (**1**) und mit einer begrenzenden Menge von HAP im kompetitiven Format ausgeführt, zeigt AMP397 keine Bindung mehr (Abbildung 1 C), was eine mindestens 10-fach schwächere Bindung an HAP im Vergleich zu ZOL anzeigt. Im Test mit dem ZOL-Analogen **2** zeigt AMP397 im kompetitiven Format allerdings schwache Bindung und nur 8-fach schwächere HAP-Affinität als **2** (Abbildung 1 D). Da **2** seinerseits 2.3-fach schwächer an HAP bindet als ZOL,^[10] wissen wir, dass die Affinität von AMP397 an HAP etwa 18-fach schwächer ist als die von ZOL oder anderen 1-Hydroxy-Bisphosphonaten. Trotz dieser reduzierten Knochenbindung kann die Anreicherung von AMP397 am Knochen mittels autoradioluminographischer Ganzkörperuntersuchung auch 72 Stunden nach der Gabe von AMP397 noch detektiert werden (siehe Abbildung S1).

In einem zweiten Schritt entwickelten wir eine Strategie, um eine Monophosphonatgruppe an einen allosterischen FPPS-Inhibitor wie das Benzoindolderivat **6** anzuhängen. Aufgrund der verfügbaren Kristallstrukturen^[9] sahen wir drei Möglichkeiten: 1) einen direkten Austausch der Carbonsäure gegen eine Phosphonsäuregruppe, 2) das gleiche Vorgehen, aber unter Einführung eines Abstandhalters, und 3) Anbringen einer Phosphonatgruppe an einer anderen, nicht an Proteinkontakten beteiligten Stelle. Wir verfolgten nur die ersten beiden Optionen, weil die dritte Option das Molekulargewicht und die negative Gesamtladung des Moleküls unnötig erhöhen würde. Abbildung 2 veranschaulicht diese Optionen im Kontext der Kristallstruktur des Komplexes von FPPS mit **6**.

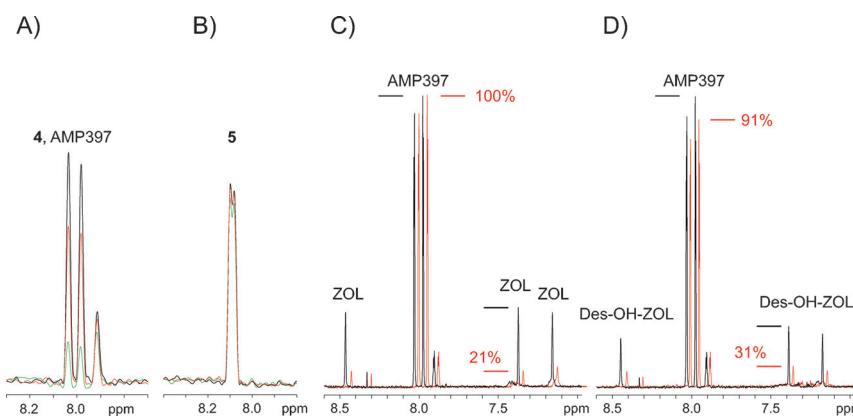


Abbildung 1. Quantifizierung und Charakterisierung der Knochenaffinität von AMP397 (4) im NMR-basierten Knochenbindungstest.^[10] A) Im direkten Bindungstest mit zunehmender Menge an HAP (grünes und rotes Spektrum) zeigt sich die Bindung von AMP397 an HAP. B) Ein Austausch der Phosphonsäure- gegen eine Carbonsäuregruppe führt zum Verlust der Bindung an HAP. C) Der Bindungstest im Kompetitionsformat zeigt keine HAP-Bindung von AMP397 in Gegenwart von ZOL. Die Bindung von AMP397 an HAP ist deshalb mindestens 10-fach schwächer als die von ZOL. D) Im Kompetitionsformat mit 2, dem Dehydroxyderivat von ZOL, das 2.3-fach schwächer an HAP bindet als ZOL,^[10] sind 9% von AMP397 und 69% von 2 an HAP gebunden. Die HAP-Affinität von AMP397 ist deshalb rund 8-fach schwächer als 2, und 18-fach schwächer als ZOL (1). Siehe Schema 1 für die Strukturformeln von 1, 2, 4 und 5.

Wir synthetisierten daraufhin 7, das leicht zugängliche 2-Phosphonomethylcarbamoyl-Derivat von 6, und testeten seine FPPS-Inhibition und HAP-Affinität. Verbindung 7 inhibierte die FPPS-Aktivität nur wenig schlechter ($IC_{50} = 0.4 \mu\text{M}$) als die Ausgangssubstanz 6 ($IC_{50} = 0.2 \mu\text{M}$), zeigte aber eine signifikante Affinität zu HAP (siehe Abbildung S2 C). Ermutigt durch dieses Ergebnis erkundeten wir die allgemeine Anwendung dieses Prinzips, indem wir zwei andere kürzlich identifizierte Chemotypen von allosterischen FPPS-Inhibitoren^[9b,14] modifizierten. In der Serie der Salicylsäuren war 10, das Monophosphonatderivat von 9, weniger aktiv ($IC_{50} = 0.52 \mu\text{M}$) als die Ursprungssubstanz ($IC_{50} = 0.021 \mu\text{M}$), es zeigte aber noch immer submikromolare Aktivität gegen FPPS. In der Serie der Chinoline hingegen war das Vinylphosphonat 14 ($IC_{50} = 0.04 \mu\text{M}$) deutlich potenter als das Ausgangscarboxylat 13 ($IC_{50} = 1 \mu\text{M}$). Für jede der drei Leitstrukturserien konnten wir also Monophosphonate mit submikromolarer Aktivität identifizieren (Schema 1).

Kristallstrukturen der Komplexe von FPPS mit 7, 13 und 15, eines nahen Verwandten von 14, bestätigten für die Phosphonatderivate einen sehr ähnlichen Bindungsmodus wie für die entsprechenden Carbonsäuren und erklärten die beobachteten Auswirkungen auf ihre Potenz. In der Benzoindolserie ist die Phosphonatgruppe zum Lösungsmittel exponiert und weiter (4.7–5.1 Å) von der Aminogruppe der Lys57-Seitenkette entfernt als im entsprechenden Carboxylat (4.0–4.3 Å), was die geringfügig niedrigere Aktivität erklärt (Abbildung 2 C). In der Chinolinserie zeigt die Vinylphosphonatgruppe in Richtung der Bindungsstelle des β-Phosphats von IPP und geht verschiedene Wasserstoffbrücken mit der BC-Schleife des Enzyms sowie starke elektrostatische Wechselwirkungen mit Arg60 und Arg113 ein, was zur signifikant verbesserten Aktivität beiträgt (siehe Abbildung 2 D und Abbildung S4). Wie die Kristallstrukturen zeigen,^[9b] sind die Bindungsmodi der Chinolin- und Salicylsäure-

rederivate ähnlich, und die Carbonsäuregruppen zeigen in dieselbe Richtung. Im Vergleich zu den Benzoindolderivaten hat ihre Umwandlung in Phosphonate deshalb potenziell mehr Einfluss auf die inhibitorische Potenz der Verbindungen, wie hier mit 9/10 und 13/14 gezeigt wurde. Alles in allem kann die allosterische Bindungstasche in FPPS Monophosphonate als Liganden mit hoher Affinität aufnehmen, wie kürzlich auch von Tsantrizos und Kollegen gezeigt wurde.^[15]

Eine tiefergehende Untersuchung der Struktur-Wirkungs-Beziehungen von Phosphonsäurederivaten als allosterische FPPS-Inhibitoren wäre notwendig, um diese Serie weiter zu optimieren, aber ein solides Verständnis der Struktur-Wirkungs-Beziehungen für Knochenbindung ist gleichermaßen wichtig, wenn ein Monophosphonat als Knochenanker verwendet werden soll, und wir werden uns auf Letzteres konzentrieren. Abbildung 3 zeigt Resultate des NMR-basierten Knochenbindungstests für eine Reihe von Salicylsäurederivaten (9–12, vorletzte Reihe in Schema 1). Die Ursprungssubstanz, die Carbonsäure 9, hat keine messbare Affinität

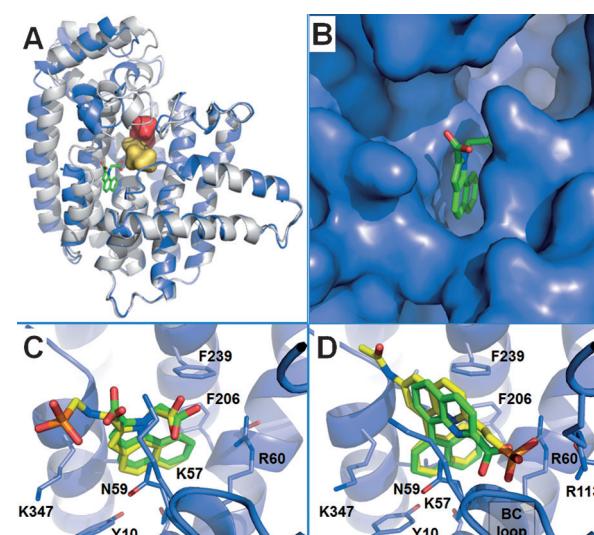


Abbildung 2. Kristallstruktur des binären Komplexes von FPPS mit dem allosterischen Inhibitor 6.^[9] A) Ansicht einer FPPS-Untereinheit mit 6 in grün, in dem die Lage der allosterischen Bindungsstelle im Vergleich zur DMAPP/ZOL-Bindungsstelle (rot) und IPP-Bindungsstelle (gelb) sichtbar ist. Das Enzym nimmt im Komplex mit 6 eine andere Gesamtkonformation an (offene Konformation, blaues Band) als im Komplex mit ZOL und IPP (geschlossene Konformation, graues Band). B) Detailansicht der allosterischen Bindungsstelle mit Darstellung der Proteinoberfläche, die die Zugänglichkeit der Carbonsäuregruppe in Position 2 des Benzoindolrings veranschaulicht. C) Detailansicht des Komplexes von FPPS mit 7 (gelb), eines Monophosphonatderivats von 6, mit Überlagerung von 6 (grün). D) Detailansicht des FPPS-Komplexes mit 15 (gelb), eines Monophosphonatderivats von 13, mit Überlagerung von 13 (grün).

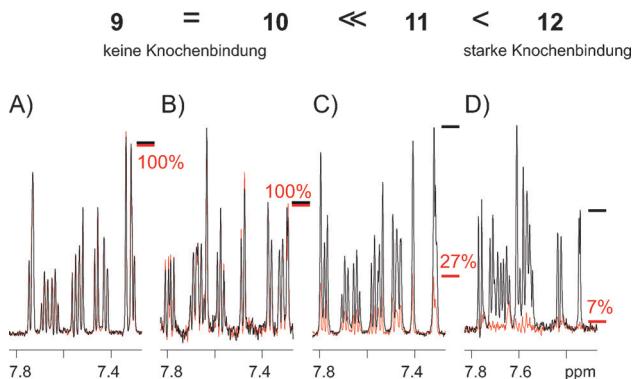


Abbildung 3. Messung der Affinität zu HAP von Salicylsäurederivaten im direkten NMR-basierten Knochenbindungstest.^[10] Der ursprüngliche allosterische FPPS-Inhibitor **9** zeigt keine Binding an HAP (A), und auch nicht **10**, in dem die Carboxylgruppe direkt durch eine Phosphonatgruppe ersetzt wurde (B). Durch Verlängerung des Linkers zwischen aromatischem Ring und Phosphonatgruppe wird selbige jedoch beweglicher, und die Affinität zum Knochen wird erhöht (C,D). Die Strukturformeln von **9–12** sind in der vorletzten Reihe von Schema 1 abgebildet.

zu HAP (Abbildung 3 A), was unserer Beobachtung mit dem Carbonsäurederivat **5** von AMP397 entspricht. Wird eine Phosphonatgruppe anstelle der Carboxylgruppe direkt an das aromatische Ringsystem angehängt (**10**, Abbildung 3B) ist noch immer keine Knochenbindung detektierbar. Nach Einführung einer Methylengruppe als Abstandhalter (**11**, Abbildung 3C) ist Knochenbindung aber klar zu erkennen. Diese wird noch verstärkt, wenn der Linker zum Phosphonat länger und damit flexibler gemacht wird (**12**, Abbildung 3D). Eine qualitativ ähnliche Struktur-Wirkungs-Beziehung wird mit den Benzoindolderivaten **6**, **7** und **8** gesehen (siehe Abbildung S2). Diese Daten zeigen, dass die bloße Einführung einer Phosphonatgruppe für Knochenaffinität noch nicht ausreichend ist, aber auch, dass die Knochenaffinität durch Variation des Linkers modulierbar ist und dass Flexibilität für HAP-Affinität notwendig ist: Schon eine einzige Methylengruppe scheint genügend Flexibilität für die HAP-Bindung zu verleihen, aber die Bindung kann durch längere (zwei- oder dreiatomige) Linker verstärkt werden. Das Vinylphosphonat **14** bindet interessanterweise nicht an HAP, was die Notwendigkeit der Flexibilität weiter unterstreicht. Es scheint also möglich zu sein, den gewünschten Grad an Knochenaffinität einzustellen, indem die Länge und Art des Linkers zur Phosphonsäuregruppe verändert wird.

Für AMP397 (**4**) sind präklinische In-vivo-Daten verfügbar, die mittels autoradioluminographischer Ganzkörperuntersuchungen die Akkumulation dieser Substanz am Skelett nach 72 Stunden zeigen (Abbildung S1). Es ist nun interessant, die relativen HAP-Affinitäten unserer allosterischen FPPS-Inhibitoren verglichen mit AMP397 zu messen. Dazu wurden **11** und **12**, die Salicylsäurederivate mit der besten HAP-Affinität, im NMR-basierten Knochenbindungstest im kompetitiven Format gegen AMP397 (**4**) getestet. Abbildung 4A zeigt, dass **11** und **4** eine fast identische Affinität zu HAP aufweisen (52 % gebundenes **11**, 56 % gebundenes **4**). Dagegen bindet **12**, was auch im direkten Format stärkere HAP-Bindung als **11** zeigt (Abbildung 3C und D), mit deut-

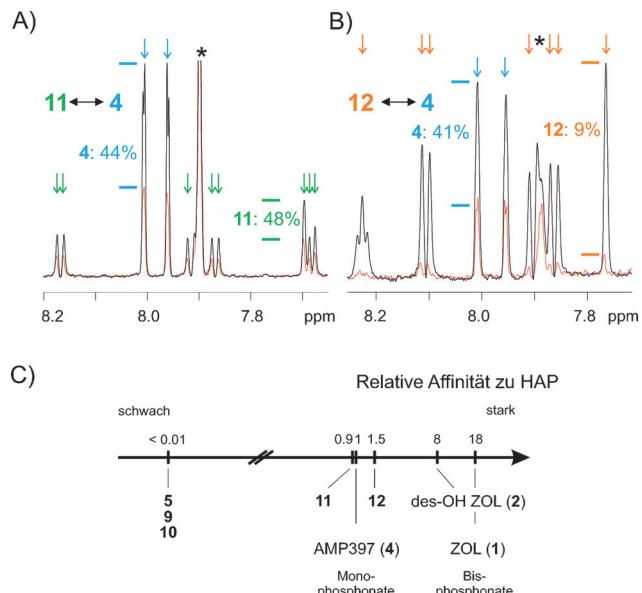


Abbildung 4. A,B) Bestimmung der relativen HAP-Affinitäten von **11** (A, grün) bzw. **12** (B, orange) im Kompetitionsformat mit AMP397 (4, blau). Die Resonanzen von **4**, **11** und **12** werden durch entsprechend gefärbte Pfeile angezeigt. Der Stern markiert eine Verunreinigung. C) Relativen HAP-Affinitäten der in diesem Manuscript diskutierten Substanzen auf einer logarithmischen Skala.

lich höherer Affinität an HAP als **4** (Abbildung 4B: 91 % gebundenes **12**, 51 % gebundenes **4**). Dieses Resultat ist entscheidend, weil es In-vitro-HAP-Aktivitäten und In-vivo-Knochenakkumulation korreliert und für Verbindungen wie **11** und **12** eine Anreicherung am Knochen vorhersagt.

Abbildung 4C fasst die Ergebnisse zusammen und zeigt die relative HAP-Affinität der hier diskutierten Substanzen. Man sieht, dass Monophosphonate wie **11**, **12** oder AMP397 (**4**) eine moderate HAP-Affinität aufweisen, die deutlich schwächer ist als die von Bisphosphonaten wie ZOL (**1**).

Wir haben hier einen rationalen Ansatz beschrieben, wie man Wirkstoffe mit dem gewünschten Grad an Knochenbindung ausstatten kann. Man muss dazu nur eine Phosphonatgruppe im Abstand von 1–3 Atomen an den Wirkstoff anhängen. Wie mit den Benzoindolderivaten gezeigt, kann dies an jeder gewünschten Position geschehen, sofern sie nicht die Bindung ans Enzym stört. Die Ergebnisse mit den Chinolinderivaten zeigen, dass man in günstigen Fällen die inhibitorische Aktivität der Substanzen sogar steigern kann. Der NMR-basierte Knochenbindungstest ist außerordentlich nützlich, um Knochenaffinität in der Optimierungsphase schnell und zuverlässig zu messen. Während eine detaillierte Analyse der Struktur-Wirkungs-Beziehung für Knochenaffinität noch aussteht, zeigen unsere Daten, dass Knochenbindung relativ einfach zu erreichen ist, sofern der verwendete Linker genügend lang und flexibel ist. Allerdings führt nicht jede Phosphonatgruppe zu Knochenbindung, und es gibt auch keine Berichte von Knochenaffinität von phosphat- oder phosphonathaltigen Prodrugs oder Metaboliten. Trotzdem haben Medizinalchemiker eine Vielzahl von Möglichkeiten, den gewünschten Grad an Knochenaffinität einzustellen und gleichzeitig die inhibitorische Potenz, die physikochemischen

und die pharmakologischen Eigenschaften des Wirkstoffes beizubehalten.

Die klinischen Substanzen AMP397 und Fosfomycin zeigen beispielhaft, dass Monophosphonate gleichzeitig an Knochen binden und oral bioverfügbar sein können. Die vorgeschlagene Strategie, eine Phosphonatgruppe als Knochenanker anzuhängen, kann von Nutzen sein, um die Wirksamkeit und Verträglichkeit von Medikamenten zu erhöhen, die den Knochenabbau hemmen oder den Knochenaufbau fördern, zum Beispiel Inhibitoren von c-Src,^[16,17] Cathepsin K^[18], „Colony-stimulating-factor-1“-Rezeptor (CSF-1R), selektiven Androgenrezeptormodulatoren (SARMs), selektiven Östrogenrezeptormodulatoren (SERMs) oder Prostaglandin-E2-Konjugaten.^[19] Die klinische Entwicklung solcher Wirkstoffe ist schwierig, weil die entsprechenden Enzyme nicht nur in knochen aufbauenden oder knochen abbauenden Zellen wie Osteoklasten oder Osteoblasten vorkommen, sondern im gesamten Körper, was zu unerwünschten Nebenwirkungen führen kann. Solche Wirkstoffe gezielt zum Knochen zu bringen, hat das Potenzial, Verträglichkeit und Wirksamkeit zu steigern, während Zellgängigkeit und orale Bioverfügbarkeit beibehalten werden. Wir hoffen, dass dieser Ansatz dazu beitragen wird, verträglichere und wirksamere Medikamente zur Behandlung von Knochenkrankheiten zu entwickeln.

Danksagung

Wir danken Dr. Yves Auberson, Novartis, für Diskussionen über AMP397 und A. Schweizer für die autoradioluminographischen Ganzkörperuntersuchungen mit AMP397. Wir danken auch Thomas Roddy und Steven J. Stout für biochemische Daten, Martin Geiser, André Strauss und Sébastien Rieffel für Proteinklonierung und -expression und Michael Wright, Martin Gunzenhauser, Marjorie Bourrel, Mathilde Schindler, Werner Beck, Andrey Quantinet, Ursula Dürler, Mario Madörin und Aurelio Maissen für Synthesearbeiten. Die Koordinaten der Kristallstrukturen wurden bei der RCSB-Proteinbank deponiert (www.rcsb.org: 5DGM (FPPS + 7), 5DGN (FPPS + 13) und 5DGS (FPPS + 15)).

Stichwörter: AMP397 (Becampanel) · Knochenanker · NMR-Spektroskopie · Wirkstoffentwicklung · Wirkstofftransport

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 14575–14579
Angew. Chem. **2015**, *127*, 14783–14787

- [1] a) R. G. G. Russell, *Bone* **2011**, *49*, 2–19; b) M. J. Rogers, J. C. Crockett, F. P. Coxon, J. Monkkonen, *Bone* **2011**, *49*, 34–41; c) J. E. Dunford, *Curr. Pharm. Des.* **2010**, *16*, 2961–2969.
- [2] J.-M. Rondeau, F. Bitsch, E. Bourgier, M. Geiser, R. Hemmig, M. Kroemer, S. Lehmann, P. Ramage, S. Rieffel, A. Strauss, J. R. Green, W. Jahnke, *ChemMedChem* **2006**, *1*, 267–273.
- [3] K. L. Kavanagh, K. Guo, J. E. Dunford, X. Wu, S. Knapp, F. H. Ebetino, M. J. Rogers, R. G. Russell, U. Oppermann, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2006**, *103*, 7829–7834.
- [4] S. Cremers, S. Papapoulos, *Bone* **2011**, *49*, 42–49.
- [5] a) P. Clézardin, I. Benzaïd, P. I. Croucher, *Bone* **2011**, *49*, 66–70; b) M. Gnant, P. Clézardin, *Cancer Treat. Rev.* **2012**, *38*, 407–415;

- c) N. Giuliani, B. Dalla Palma, M. Bolzoni, *Clin. Rev. Bone Min. Metab.* **2013**, *11*, 113–121; d) I. Varela, S. Pereira, A. P. Ugalde, C. L. Navarro, M. F. Suárez, P. Cau, J. Cadíñanos, F. G. Osorio, N. Foray, J. Cobo, F. de Carlos, N. Lévy, J. M. P. Freije, C. López-Otín, *Nat. Med.* **2008**, *14*, 767–772; e) R. Docampo, S. N. Moreno, *Curr. Drug Targets Infect. Disord.* **2001**, *1*, 51–61.
- [6] S. Paulo, A. M. Abrantes, M. Laranjo, L. Carvalho, A. Serra, M. F. Botelho, M. M. Ferreira, *Oncol. Rev.* **2014**, *8*, 254–259.
- [7] J. E. Dunford, A. A. Kwaasi, M. J. Rogers, B. L. Barnett, F. H. Ebetino, R. G. G. Russell, U. Oppermann, K. L. Kavanagh, *J. Med. Chem.* **2008**, *51*, 2187–2195.
- [8] M. S. Marma, Z. Xia, C. Stewart, F. Coxon, J. E. Dunford, R. Baron, B. A. Kashemirov, F. H. Ebetino, J. T. Triffitt, R. G. G. Russell, C. E. McKenna, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 5967–5975.
- [9] a) W. Jahnke, J. M. Rondeau, S. Cotesta, A. Marzinzik, X. Pelle, M. Geiser, A. Strauss, M. Gotte, F. Bitsch, R. Hemmig, C. Henry, S. Lehmann, J. F. Glickman, T. P. Roddy, S. J. Stout, J. R. Green, *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 660–666; b) A. L. Marzinzik, R. Amstutz, G. Bold, E. Bourgier, S. Cotesta, J. F. Glickman, M. Götte, C. Henry, S. Lehmann, J. C. D. Hartwig, S. Ofner, X. Pellé, T. P. Roddy, J.-M. Rondeau, F. Stauffer, S. J. Stout, A. Widmer, J. Zimmermann, T. Zoller, W. Jahnke, *ChemMedChem* **2015**, DOI: 10.1002/cmdc.201500338.
- [10] W. Jahnke, C. Henry, *ChemMedChem* **2010**, *5*, 770–776.
- [11] S. Zhang, G. Gangal, H. Uludag, *Chem. Soc. Rev.* **2007**, *36*, 507–531.
- [12] a) Y. P. Auberson, P. Acklin, S. Bischoff, R. Moretti, S. Ofner, M. Schmutz, S. J. Veenstra, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1999**, *9*, 249–254; b) Y. P. Auberson, Book of Abstracts **2000**, 219th ACS National Meeting, San Francisco, CA, March 26–30, **2000**; c) H. Mattes, D. Carcache, H. O. Kalkman, M. Koller, *J. Med. Chem.* **2010**, *53*, 5367–5382; d) Y. P. Auberson, *21st International Symposium on Medicinal Chemistry*, **2010**, Brüssel, Belgien, 9. September **2010**.
- [13] X. Zhang, A. Sanger, R. Hemmig, W. Jahnke, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 6691–6694; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 6819–6822.
- [14] a) R. Amstutz, G. Bold, S. Cotesta, W. Jahnke, A. Marzinzik, J. C. D. Hartwig, S. Ofner, F. Stauffer, J. Zimmermann, WO2009106586, **2009**; b) S. Cotesta, J. F. Glickman, W. Jahnke, A. Marzinzik, S. Ofner, J.-M. Rondeau, T. Zoller, WO2010043584, **2010**.
- [15] J. W. De Schutter, J. Park, C. Y. Leung, P. Gormley, Y.-S. Lin, Z. Hu, A. M. Berghuis, J. Poirier, Y. S. Tsantrizos, *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 5764–5776.
- [16] W. Shakespeare, M. Yang, R. Bohacek, F. Cerasoli, K. Stebbins, R. Sundaramoorthi, M. Azimioara, C. Vu, S. Pradeepan, C. Metcalf III, C. Haraldson, T. Merry, D. Dalgarno, S. Narula, M. Hatada, X. Lu, M. R. van Schravendijk, S. Adams, S. Violette, J. Smith, W. Guan, C. Bartlett, J. Herson, J. Iuliucci, M. Weigele, T. Sawyer, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2000**, *97*, 9373–9378.
- [17] Y. Wang, C. A. Metcalf III, W. C. Shakespeare, R. Sundaramoorthi, T. P. Keenan, R. S. Bohacek, M. R. van Schravendijk, S. M. Violette, S. S. Narula, D. C. Dalgarno, C. Haraldson, J. Keats, S. Liou, U. Mani, S. Pradeepan, M. Ram, S. Adams, M. Weigele, T. K. Sawyer, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3067–3070.
- [18] J. A. Eisman, H. G. Bone, D. J. Hosking, M. R. McClung, I. R. Reid, R. Rizzoli, H. Resch, N. Verbrugge, C. M. Hustad, C. DaSilva, R. Petrovic, A. C. Santora, B. A. Ince, A. Lombardi, *J. Bone Miner. Res.* **2011**, *26*, 242.
- [19] L. Gil, Y. Han, E. E. Opas, G. A. Rodan, R. Ruel, J. G. Seedor, P. C. Tyler, R. N. Young, *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 901–919.

Eingegangen am 30. Juli 2015

Online veröffentlicht am 12. Oktober 2015