

## Mikrobe des Jahres 2014

# Biologisch aktive Naturstoffe aus Cyanobakterien der Gattung *Nostoc*

TIMO H. J. NIEDERMEYER  
INTERFAKULTÄRES INSTITUT FÜR MIKROBIOLOGIE UND INFEKTIONSMEZDIN,  
UNIVERSITÄT TÜBINGEN

Secondary metabolites from many organisms have been studied extensively in the past, and indispensable drug substances have been approved that are based on these compounds. Microalgae have long been neglected by natural product scientists. In recent years, however, cyanobacteria have been recognized as prolific producers of potent bioactive metabolites. This review takes a closer look at some of the natural products that have been isolated from the genus *Nostoc*.

10.1007/s12268-014-0420-7  
© Springer-Verlag 2014

■ Naturstoffe stellen häufig neuartige chemische Strukturen mit hoher Diversität dar. Deshalb haben sie eine große Bedeutung für die Entwicklung neuer, innovativer Arzneistoffe. Etwa ein Drittel der zwischen 1981 und 2010 weltweit neu zugelassenen Arzneistoffe waren Naturstoffe, Partialsynthetika oder von Naturstoffen abgeleitete Synthetika. Der Anteil der von Naturstoffen abgeleiteten Antinfektiva (etwa 60 Prozent) und Zytostatika (etwa 45 Prozent) liegt sogar deutlich darüber [1]. Ungefähr ein Viertel der naturstoffbasierten Wirkstoffchemotypen basieren auf Leitstrukturen, die aus Mikroorganismen iso-

liert wurden [2]. Hier standen in der Vergangenheit insbesondere Pilze und Actinomyceten im Mittelpunkt der Untersuchungen, denen wir eine Vielzahl von antibiotischen Stoffgruppen wie die Penicilline und Cephalosporine oder Aminoglykoside, Makrolide und Glykopeptide verdanken. Aber auch immunsuppressiv oder antitumoral wirkende Sekundärmetaboliten aus Mikroorganismen sind bereits erfolgreich in die Klinik eingeführt worden und machen ganze Bereiche der modernen Medizin, wie beispielsweise die Transplantationsmedizin, erst möglich.



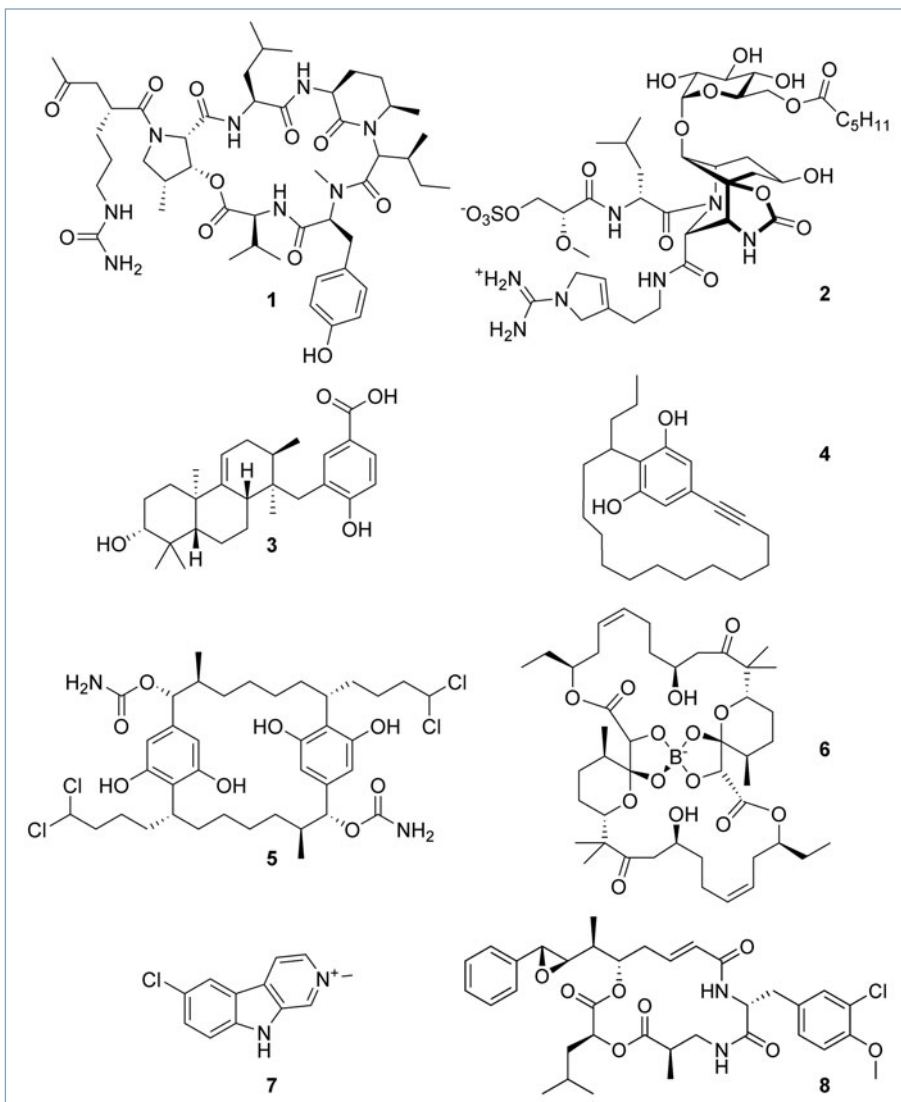
◀ **Abb. 1:** Filamente von *Nostoc caeruleum*. Cyanobakterien der Sektion IV, zu der auch *Nostoc* gehört, bilden unverzweigte Filamente aus, die stickstofffixierende Heterocysten enthalten können (Foto freundlicherweise zur Verfügung gestellt von Cyano Biotech GmbH).

### Cyanobakterien – leistungsfähige Produzenten von Naturstoffen

Eine in diesem Zusammenhang bisher noch wenig beachtete Mikroorganismengruppe sind die Cyanobakterien. Diese besiedeln die Erde seit über drei Milliarden Jahren und gehören damit zu den ältesten bekannten Organismen [3]. In diesem langen Zeitraum konnten sie sich an beinahe alle Habitate erfolgreich anpassen; dementsprechend sind die morphologisch und physiologisch diversen Cyanobakterien ubiquitär anzutreffen. Cyanobakterien waren bis in die 1980er-Jahre hinein eher berühmt-berüchtigt für die von ihnen gebildeten Toxine, wie z. B. Microcystine, Anatoxine oder Saxitoxine. In den letzten Jahren sind sie allerdings verstärkt in den Fokus Leitstruktur-suchender Naturstoffchemiker gelangt, da sie sich durch eine reiche Vielfalt an Naturstoffen auszeichnen, die häufig durch Polyketidsynthasen und nicht-ribosomale Peptidsynthetasen produziert werden. Die daraus resultierenden Verbindungen weisen oft interessante biologische Aktivitäten auf, deshalb sind Cyanobakterien heute in der Forschung als reichhaltige Quelle biologisch aktiver Naturstoffe anerkannt [4]. Die verstärkten Forschungsanstrengungen haben 2011 zur Zulassung des Wirkstoffs Brentuximab Vedotin gegen einige Leukämie-Arten geführt. Dieser Wirkstoff ist das erste Analogon eines cyanobakteriellen Naturstoffs, das auf den Markt gelangt ist. Er basiert auf der Verbindung Dolastatin 10, die von Cyanobakterien der Gattungen *Symploca* gebildet wird.

### *Nostoc* als Naturstoffproduzent

*Nostoc* ist ein filamentöses Cyanobakterium (**Abb. 1**). Das Genom von *Nostoc punctiforme* PCC 73102 umfasst beinahe zehn Millionen Basenpaare. Damit ist es ein außerordentlich großes bakterielles Genom, und ein verhältnismäßig großer Teil davon scheint der Biosynthese von Sekundärmetaboliten gewidmet zu sein [5]. Die Gattung *Nostoc* gehört zu den chemisch besser untersuchten Cyanobakteriengattungen, etwa zehn Prozent (rund 150)



▲ **Abb. 2:** Beispiele für einige von *Nostoc* gebildete Naturstoffe mit ausgeprägter biologischer Aktivität: (1) Insulapeptolide A, (2) Banyaside B, (3) Noscomine, (4) Nostocycline A, (5) Carbamidocyclophane A, (6) Borophycin, (7) Nostocarbolin und (8) Cryptophycin-1.

der bisher bekannten cyanobakteriellen Naturstoffe stammen von *Nostoc*.

Unter den aus *Nostoc* isolierten Naturstoffen finden sich zahlreiche Enzyminhibitoren, wie die Elastase hemmenden Microviridine und Insulapeptolide sowie die Trypsin und Thrombin hemmen (**Abb. 2**). Auch einige antibakterielle Metaboliten, wie Noscomin, Nostocycline A, die Nostopeptide und Carbamidocyclophane, die sich auch durch antimykobakterielle Aktivität auszeichnen, wurden aus *Nostoc* isoliert. Nostocyclophane, Nostotrebin 6 und Borophycin sind Beispiele für zytotoxische Substanzen aus *Nostoc*. Nostocarbolin hemmt das Enzym Butyrylcholinesterase und war einige Zeit als mögliche Leitstruktur gegen die Alzheimer-Krankheit in der Diskussion. Derivate der

Substanz zeigten auch Aktivität gegen den Malariaerreger *Plasmodium falciparum*. Die beiden am besten untersuchten Substanzen sind jedoch das antivirale Cyanovirin-N sowie die zytotoxischen Cryptophycine.

### Cyanovirin-N – ein antivirales Lektin

Cyanovirin-N ist ein Lektin, das aus 101 Aminosäuren besteht und aus *Nostoc ellipsosporum* isoliert wurde [6]. Es kann mit hoher Affinität an Glykoproteine, die in verschiedenen Virushüllen vorhanden sind, binden und dadurch beispielsweise als Fusionsinhibitor die Infektion von Zellen durch HI-Viren verhindern. Auch gegen andere Viren wie Influenza A und B oder RSV (*respiratory syncytial virus*) ist Cyanovirin-N aktiv [7]. Die Substanz wirkt bereits in nanomolaren Kon-

zentrationen und ist selbst bei 1.000-fach höheren Konzentrationen nicht direkt zytotoxisch für menschliche Zellen. Da Cyanovirin-N heterolog in *Escherichia coli* exprimierbar ist und dadurch verhältnismäßig einfach gewonnen werden kann, wurde es als vielversprechende Leitstruktur für Wirkstoffe gegen HIV-Infektionen diskutiert und optimiert [8]. Die Entwicklung geriet jedoch ins Stocken, da es einige Sicherheitsbedenken gegen den Einsatz der Substanz gibt [9].

### Cryptophycin – der potenteste Hemmstoff der Mikrotubuli-Dynamik

Die Cryptophycine sind zyklische Depsipeptide; mehr als 25 natürliche Strukturvarianten der Hauptverbindung Cryptophycin-1 (**Abb. 2**) sind bekannt. Ende der 1980er-Jahre führte das pharmazeutische Unternehmen Merck, Sharp & Dohme (MSD) in den USA ein Screening-Programm durch, in dem Wirkstoffe gegen den häufigsten Erreger invasiver Pilzinfektionen, die Hefe *Cryptococcus*, gesucht wurden. Einer der potentesten in diesem Screening gefundenen Stoffe, isoliert aus *Nostoc spec.*, erhielt den Namen Cryptophycin [10]. Die Substanz erwies sich jedoch bei weiterführenden Tests als zu toxisch für den Einsatz bei *Cryptococcus*-Infektionen, deshalb wurde die weitere Entwicklung eingestellt und die Verbindung fallengelassen. Einige Jahre später reisolierten Forscher der University of Hawaii in Manoa die Substanz aus einem anderen *Nostoc*-Stamm, diesmal weil der *Nostoc*-Extrakt bei einem Screening auf zytotoxische Aktivität gegen Krebszellen aufgefallen war [11]. Es stellte sich heraus, dass Cryptophycin-1 bereits in pikomolaren Konzentrationen zum Zelltod führen kann. Ähnlich wie die etablierten Wirkstoffe Vinblastin oder Paclitaxel binden die Cryptophycine an Tubulin, weisen aber eine eigene Bindungsstelle auf. Durch diese Bindung an Tubulin stören sie die korrekte Ausbildung des Spindelapparats während der Mitose und blockieren damit den Zellzyklus in der G2/M-Phase mit einer bis zu 1.000-fach stärkeren Aktivität als die genannten etablierten Wirkstoffe. Cryptophycin-1 ist damit der potenteste Suppressor der Mikrotubuli-Dynamik, der aktuell bekannt ist [12]. Weiterhin ist Cryptophycin-1 kein Substrat des P-Glykoproteins, ein Effluxtransporter, der Krebszellen resistent gegen verschiedene Wirkstoffe machen kann. Damit ist die Substanz auch gegen *multidrug*-resistente Tumorzellen noch wirksam.

Aufgrund der hohen Potenz und des ausichtsreichen Wirkprofils wurde eine Viel-

zahl von Strukturvarianten synthetisiert und getestet. Die Firma Eli Lilly testete das Derivat Cryptophycin-52 gegen verschiedene Tumorarten und brachte es bis in die Phase II klinischer Studien. Dann jedoch wurde die Entwicklung eingestellt – eine sehr begrenzte Wirksamkeit, starke neurotoxische Nebenwirkungen und die damals hohen Produktionskosten des Wirkstoffs mögen zu dieser Entscheidung beigetragen haben [13]. Vor einiger Zeit nahm die Firma Sanofi die Entwicklung der Substanzklasse wieder auf, und es wurde untersucht, ob sich Cryptophycin als Bestandteil von Antikörper-Wirkstoff-Konjugaten einsetzen lässt [14]. Es gelangte jedoch bisher noch kein auf den Cryptophycinen basierender Wirkstoff auf den Markt.

### Medikamente der Zukunft

Aus der Cyanobakteriengattung *Nostoc* wurde bereits eine Vielzahl strukturell interessanter und potent bioaktiver Verbindungen isoliert. Auf der Basis des biogenetischen Potenzials sowie aufgrund des aktuell zunehmenden Interesses an Leitstrukturen aus Cyanobakterien ist zu erwarten, dass die Gattung auch weiterhin in Screening-Programmen auffallen wird und auch in Zukunft interessante neuartige Verbindungen aus ihr isoliert werden. ■

### Literatur

- [1] Newman DJ, Cragg GM (2012) Natural products as sources of new drugs over the 30 years from 1981 to 2010. *J Nat Prod* 75:311–335
- [2] Sneider W (1996) Drug Prototypes and their Exploitation. Wiley, Chichester
- [3] Schopf JW, Packer BM (1987) Early Archean (3.3-billion to 3.5-billion-year-old) microfossils from Warrawoona Group, Australia. *Science* 237:70–73
- [4] Niedermeyer T, Brönstrup M (2012) Natural-product drug discovery from microalgae. In: Posten C, Walter C (Hrsg) *Microalgal Biotechnology*:

- Integration and Economy*. De Gruyter, Berlin, S. 169–200
- [5] Kalaitzis JA, Lauro FM, Neilan BA (2009) Mining cyanobacterial genomes for genes encoding complex biosynthetic pathways. *Nat Prod Rep* 26:1447–1465
- [6] Boyd MR, Gustafson KR, McMahon JB et al. (1997) Discovery of cyanovirin-N, a novel human immunodeficiency virus-inactivating protein that binds viral surface envelope glycoprotein gp120: potential applications to microbicide development. *Antimicrob Agents Chemother* 41:1521–1530
- [7] O'Keefe BR, Smee DF, Turpin JA et al. (2003) Potent anti-influenza activity of cyanovirin-N and interactions with viral hemagglutinin. *Antimicrob Agents Chemother* 47:2518–2525
- [8] Patsalo V, Raleigh DP, Green DF (2011) Rational and computational design of stabilized variants of cyanovirin-N that retain affinity and specificity for glycan ligands. *Biochemistry* 50:10698–10712
- [9] Huskens D, Vermeire K, Vandemeulebroucke E et al. (2008) Safety concerns for the potential use of cyanovirin-N as a microbicidal anti-HIV agent. *Int J Biochem Cell Biol* 40:2802–2814
- [10] Schwartz E, Hirsch CF, Sesin DF et al. (1990) Pharmaceuticals from cultured algae. *J Ind Microbiol* 5:113–124
- [11] Trimurtulu G, Ohtani I, Patterson GML et al. (1994) Total structures of cryptophycins, potent antitumor depsipeptides from the blue-green alga *Nostoc* sp. strain GSV 224. *J Am Chem Soc* 116:4729–4737
- [12] Panda D, Himes RH, Moore RE et al. (1997) Mechanism of action of the unusually potent microtubule inhibitor cryptophycin 1. *Cancer* 36:12948–12953
- [13] Rohr J (2006) Cryptophycin anticancer drugs revisited. *ACS Chem Biol* 1:747–750
- [14] Bouchard H, Brun M-P, Commerçon A et al. (2010) Novel Conjugates, Preparations Thereof, and Therapeutic Use Thereof. Patent WO/2011/001052

Teile des Textes sind bereits in Literaturstelle [4] veröffentlicht.

### Korrespondenzadresse:

Prof. Dr. Timo H. J. Niedermeyer  
 Interfakultäres Institut für Mikrobiologie  
 und Infektionsmedizin  
 Eberhard Karls Universität Tübingen  
 Auf der Morgenstelle 28  
 D-72076 Tübingen  
 Tel.: 07071-29-72079  
 Fax: 07071-29-5999  
 timo.niedermeyer@uni-tuebingen.de

### AUTOR



#### Timo Niedermeyer

Pharmaziestudium an der FU Berlin. 2002 Approbation als Apotheker. 2006 Promotion am Institut für Pharmazeutische Biologie der Universität Greifswald. 2007 Fachchemiker für Analytik und Spektroskopie. 2004–2008 wissenschaftlicher Mitarbeiter der Riemser Arzneimittel AG, Greifswald. 2008–2013 Leiter der Naturstoff-Forschung und -Entwicklung der Cyano Biotech GmbH, Berlin. Seit 2013 Juniorprofessor (Antiinfektive Naturstoffe) im Deutschen Zentrum für Infektionsforschung (DZIF), Standort Tübingen. Tätigkeit im wissenschaftlichen Beirat der Cyano Biotech GmbH.