

1 Einleitung

Krebserkrankungen sind mit erschreckenden 216010 Todesfällen, alleine in Deutschland für das Jahr 2008, die zweithäufigste krankheitsbedingte Todesursache nach Krankheiten des Herz-Kreislaufsystems in den entwickelten Ländern.² Dies äußerte sich auch in einem Umsatz von über 1.1 Mrd. € für antineoplastische Medikamente im Jahr 2010 in Deutschland.³ Nahezu alle forschenden Pharmaunternehmen engagieren sich im Bereich der Onkologie, besonders weil sie davon ausgehen, dass auf Grund des demographischen Wandels und veränderter Lebensgewohnheiten, Krebs in naher Zukunft die häufigste krankheitsbedingte Todesursache in Deutschland sein kann.⁴

Obwohl es bereits frühere Therapieansätze mit Pflanzenextrakten und Ähnlichem gab, dürfen als erste anwendbare klar definierte Krebswirkstoffe wohl die Stickstoff-Lost Derivate angesehen werden, die sich ursprünglich vom Kampfgas des I. und II. Weltkriegs ableiten.⁵

So wurde bei der Zerstörung des amerikanischen Frachtschiffes „John Harvey“ am 2. Dezember 1943 ungewollt eine große Menge Senfgas (Bis(2-chlorethyl)sulfid (**1a**)) im Hafen der italienischen Stadt Bari freigesetzt (Abb. 1). In den darauf folgenden Untersuchungen der Opfer wurde auf Grund der deutlich andersartigen Freisetzung als im I. Weltkrieg die spezifische lymphotoxische Wirkung des Kampfstoffes erkannt. Durch weitere Studien konnte diese auf eine Alkylierung der DNA zurückgeführt werden.⁶ Aus dem Senfgas das den ursprünglichen Kampfstoff darstellte wurden Stickstoff-Lost Derivate wie Chlormethin (**1b**) entwickelt, da diese in Form der Hydrochloride leichter zu Lagern und zu Dosieren sind.



Abbildung 1 Das als Kampfgas verwendete Bis(2-chlorethyl)sulfid (**1a**) und Chlormethin (**1b**).

Anfang der 60er Jahre folgte dann mit der eher zufällig entdeckten cytostatischen Wirkung des, bereits 1845 beschriebenen, cis-Platins durch *Barnett Rosenberg*⁷ ein weiterer Wirkstoff aus der Gruppe der DNA-Alkylantien.

Obwohl beide Wirkstoffe gemeinsam mit vielen Anderen nach wie vor eingesetzt werden, zeigen sie den großen Nachteil einer nur unzureichenden Differenzierung zwischen malignem und gesundem Gewebe. Diese beruht in beiden Fällen nur auf einer unterschiedlichen Proliferationsrate und so werden bei einer Therapie auch gesunde Gewebearten z.B. im Bereich der Haarfollikel oder des Gastrointestinaltraktes geschädigt. Die daraus folgenden schweren Nebenwirkungen sind für den Patienten nicht nur äußerst unangenehm sondern machen teilweise einen Abbruch der Therapie nötig.

Um dieses Problem zu überwinden werden im Arbeitskreis von *L. F. Tietze* seit Jahren reversibel detoxifizierbare Zytostatika (Prodrugs) hergestellt, die *in vitro* Selektivitäten von bis zu einer Million zeigen.⁸ Bei diesem Ansatz wird die Selektivität durch Gabe des Prodrugs mit anschließender Applikation eines Antikörper-Enzym Konjugates erreicht. Der monoklonale Antikörper des Konjugates kann selektiv an Tumorzellen binden und aktiviert so das Prodrug nur im Tumorgewebe mit möglichst geringer Beeinträchtigung des gesunden Gewebes.

Auf Grundlage der entwickelten Pharmakophore wurde in der vorliegenden Arbeit das Konzept photoaktivierbarer Prodrugs verfolgt. Hierbei kann auf das Antikörper-Enzym Konjugat verzichtet werden, da die Freisetzung des Toxins durch Bestrahlung mit Licht erfolgt. Der Einsatz kann in Verbindung mit einer Laserresektion geschehen, so dass auch Krebszellen zerstört werden, die vom Laser nicht erreicht wurden. Auch eine Monotherapie bei der die Selektivität über die sehr exakte räumliche Applikation des Laserlichtes erreicht wird erscheint möglich.

Im Folgenden ist dieses kurz umrissene Konzept näher erläutert und die Synthese, photochemische Eigenschaften sowie die biologische Evaluation der Prodrugs werden aufgezeigt.

2 Tumorentstehung und Tumorwachstum

Die Ursachen für die Cancerogenese (Krebsentstehung) sind in ihrer Gesamtheit zu vielfältig als dass sie bis dato komplett verstanden wären. Im menschlichen Genom liegen ca. 900 „Krebsgene“ vor, die sich in Proto-Onkogene (Proliferation fördernd) und Anti-Onkogene (Tumorsuppressorgene) unterscheiden lassen.⁹ Die Produkte dieser beiden Gengruppen, Proto-Onkoproteine und Anti-Onkoproteine stehen in gesundem Gewebe in einem feinen Gleichgewicht. Es lässt sich somit leicht folgern, dass eine Störung dieses Gleichgewichtes die Tumorentstehung begünstigt.

Das unkontrollierte Wachstum von Tumorzellen ist darauf zurückzuführen, dass die für die Proliferation zuständigen Signale permanent aktiv sind und die Apoptose, ein programmierter Zelltod, der aktiv von der Zelle durchgeführt wird, nicht eintreten kann.¹⁰

Es gibt verschiedenste Einflussfaktoren, die zu einer Störung des Gleichgewichtes zwischen Proto-Onkogenen und Anti-Onkogenen führen können. Dies geschieht meist durch eine Mutation der Proto-Onkogene zu den dominanten Onkogenen. Einerseits sind hier Umwelteinflüsse wie UV- oder radioaktive Strahlung zu nennen.¹¹ So führt α -Strahlung zu gefährlichen Doppelstrangbrüchen, wobei die Auswirkungen von UV-Strahlung von deren Wellenlänge abhängen. Während UV-A Licht (315 – 380 nm) in seiner Schädigung sehr begrenzt ist, führen UV-B (280 – 315 nm) und UV-C (< 280 nm) Licht zu Basenmodifikationen und Ausbildung von Pyrimidin-Dimeren.¹² Auch die Exposition verschiedener chemischer Substanzen wie polyzyklische Aromaten, Asbest, Nitrosamine und viele weitere können zur Tumorentstehung beitragen.¹³ Außerdem können chronische Entzündungen¹⁴ oder der Einbau viraler Gene¹⁵ ins menschliche Genom die Cancerogenese einleiten.

Bis es nach Schädigung der DNA zur Tumorbildung, kommt vergehen in der Regel mehrere Jahre. Im Allgemeinen bedarf es zweier Carcinogene, dem Initiator und dem Promotor.¹⁶ So haben Studien an Mäusen gezeigt, dass eine Gabe von Dimethylbenzanthrazen gefolgt von der Reizung der Haut mit Crotonöl zur Bildung von Tumoren führt. Hingegen zeigen beide Substanzen einzeln oder in umgekehrter Reihenfolge keine Tumorbildung.

Normalerweise ist mehr als eine Mutation für eine maligne Transformation notwendig, da sich eine Krebserkrankung meist nur nach Akkumulation von weiteren somatischen Mutationen manifestiert.¹⁷ Diese können entweder durch Fehler bei der Replikation der DNA oder durch eine Beschädigung der DNA geschehen. Mögliche Faktoren für eine Beschädigung wurden bereits beschrieben, wobei die erstgenannte Ursache dazu führt, dass Menschen eines höheren Lebensalters besonders von Krebserkrankungen betroffen sind.

Nur 0.1 bis 10 % aller Patienten (abhängig von der Krebsart) besitzen angeborene Mutationen. Diese relativ geringe Zahl ist damit zu begründen, dass normalerweise noch ein Wild-Typ Allel des nicht betroffenen Elternteils vorhanden ist. Es bedarf also einer somatischen Mutation dieses „backup“ Allels, um die ungehemmte Proliferation der Zelle zu verursachen. Man geht davon aus, dass drei bis sieben Mutationen für die Entstehung von Krebs notwendig sind, wobei solide Tumoren (d. h. solche von festen Organen wie Darm, Hirn oder Brust etc.) scheinbar eine größere Anzahl benötigen als flüssige Tumoren (Leukämien und Lymphome).

D. Hanahan und *R. A. Weinberg* lieferten in ihrem höchst zitierten Artikel im Jahr 2000 sechs erworbene Kennzeichen, in denen sich alle Krebszellen gleichen.¹⁸ Die *Autarkie bei Wachstumssignalen* beschreibt die Beobachtung, dass normale Zellen nur durch ein mitogenes Wachstumssignal von der Ruhephase in eine Proliferationsphase übergehen können, wohingegen Tumorzellen viele ihrer Wachstumssignale selbst bilden. Weiterhin sind Tumorzellen *unempfindlich gegenüber antiproliferativen Signalen*, die normale Zellen in die G₀-Phase oder die postmitotische Phase versetzen. Auch sind Tumorzellen *resistent gegenüber Apoptose-Signalen*. Die Apoptose wird in normalen Zellen durch ein komplexes Zusammenspiel von Sensoren und Effektoren ausgelöst. Da Tumorzellen hingegen überexprimierte Onkogene besitzen sind sie einer Apoptose kaum zugänglich. Die drei bereits erwähnten Kennzeichen zeigen die Entkopplung einer Tumorzelle von Signalen durch ihre Umgebung. Jedoch besitzen nahezu alle Säugetierzellen ein intrinsisches, zellautonomes Programm, das ihre Multiplikation beschränkt. Dieses Programm scheint in Tumorzellen gestört zu sein, so dass sie ein *unbegrenztes replikatives Potential* besitzen und makroskopische Tumoren entstehen können. Die *fortwährende Angiogenese* beschreibt das Vermögen von Tumorzellen, Blutgefäße selbst auszubilden. So besitzen Zellen einer abnormal

proliferierenden Läsion anfänglich einen Mangel an angiogenischen Möglichkeiten, während *in vivo* Studien die Notwendigkeit der Angiogenese für ein explosionsartiges Wachstum zeigten. Es wird davon ausgegangen, dass die Angiogenese in frühen bis mittleren Stadien der Cancerogenese durch einen „angiogenen switch“ eingeleitet wird, der das Gleichgewicht zwischen Angiogenese-Induktoren und ausgleichenden Inhibitoren verändert. Als sechstes Merkmal ist die Fähigkeit zur Ausbildung von *Metastasen* zu nennen. Diese sind für 90% der Todesfälle durch Krebs verantwortlich. Die genauen Mechanismen der Metastasierung und des Eindringens in anderes Gewebe sind äußerst komplex und nur teilweise verstanden. Die Möglichkeit zur Metastasierung und Invasion ist auch der Unterschied zwischen malignen und benignen Tumoren. Während erstere normalerweise nach einiger Zeit Metastasen ausbilden, tun dies benigne Tumore nicht.

Die Entstehung eines Tumors lässt sich in mehrere Phasen unterteilen.¹⁹ In der ersten, der *Initiierungsphase* geschieht die Schädigung der DNA, die an alle Tochterzellen weitergegeben wird. Eine zelluläre Veränderung ist hier noch nicht sichtbar. Die darauf folgende *Promotionsphase* kann mehrere Jahre oder gar Jahrzehnte dauern. Hier kommt es zu einer starken Vermehrung der Krebszellen. Gegen Ende dieser Phase werden die Veränderungen mikroskopisch, etwa in Kernveränderungen, sichtbar. In der *Progressionsphase* wird der Tumor klinisch manifest. Handelt es sich um einen bösartigen (malignen) Tumor so kommt es zu Invasion und Metastasierung also dem Eindringen in andere Gewebe und der Ausbildung von Tochtergeschwülsten.

3 Konzepte der Tumortherapie

Da Krebserkrankungen in ihrem Erscheinungsbild sehr vielfältig sind wurden zahlreiche individuelle Therapiemöglichkeiten entwickelt. Die meisten heute verwendeten Therapien stellen Kombinationen verschiedener Ansätze dar.

Im Allgemein lassen sich drei Therapieansätze nennen. Bei soliden und gut zugänglichen Tumoren ist häufig eine *chirurgische Entfernung* des entarteten Gewebes das Mittel der Wahl. Sie wird normalerweise mit dem Skalpell oder mit einem Operationslaser durchgeführt. Bei einer *Strahlentherapie*, die oft auch vor oder nach einer chirurgischen Entfernung des Tumors oder einer *Chemotherapie* eingesetzt wird, werden üblicherweise Röntgenstrahlung oder radioaktive Isotope verwendet. Die Chemotherapie wird meist angewendet wenn Tumoren schwer zugänglich sind, oder sich bereits Metastasen gebildet haben bzw. die Gefahr der Metastasierung sehr hoch ist.

3.1 Chemotherapie

Während bei lokalisierten Tumoren die chirurgische Entfernung oder Strahlentherapie im Vordergrund steht, ist bei disseminierten (streuenden) Tumoren, bei Metastasen und bei ausgedehnten Rezidiven (z. B. durch unvollständige Entfernung eines Tumors) die Chemotherapie das Mittel der Wahl.²⁰ Man unterscheidet zwischen zytostatisch wirksamen Medikamenten, die die Vermehrung der Zellen verhindern und zytotoxisch wirksamen Medikamenten, die das Absterben der Zellen bewirken.

Im Allgemeinen gilt, dass sich schnell wachsende Tumoren besonders gut chemotherapeutisch behandeln lassen. So beträgt die Volumenverdopplungszeit eines Hodenkarzinoms nur 5 – 6 Tage und die Heilungsrate bei der Chemotherapie liegt bei 90%. Hingegen wächst ein Bronchialkarzinom mit 90 Tagen Volumenverdopplungszeit wesentlich langsamer, was sich auch in der deutlich niedrigeren Heilungsrate von kleiner 5% widerspiegelt.²⁰

Der Zellzyklus aller eukaryoten Zellen lässt sich in mehrere Phasen unterteilen und so gibt es auch verschiedene Angriffspunkte für Chemotherapeutika (Abb. 2). Der Beginn des Lebenszyklus ist die Mitose (Zellteilung).

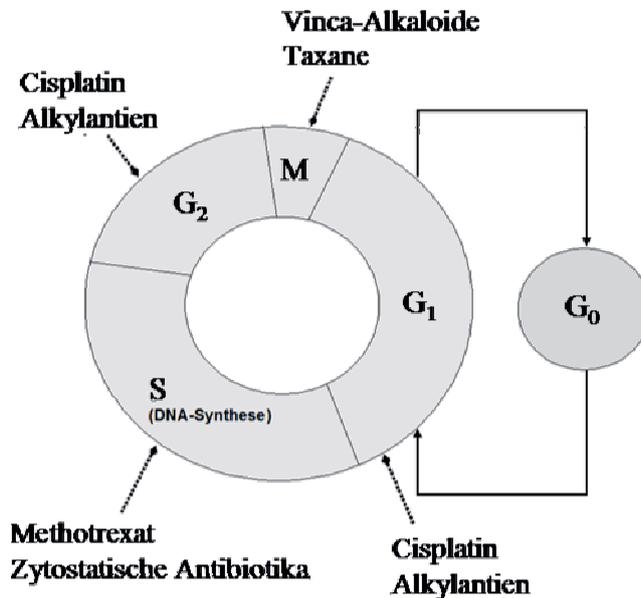


Abbildung 2 Der Zellzyklus eukaryotischer Zellen.

Nach erfolgter Mitose treten proliferierende Zellen in die zeitlich längste G₁-Phase ein. Hier werden Ribonucleinsäuren und Proteine gebildet, die Zelle wächst und bestimmte Zytoplasmastrukturen differenzieren aus. Darauf folgt die S-Phase in der durch Neubildung der DNA der Chromosomensatz verdoppelt und so die Zellteilung vorbereitet wird. Es schließt sich die oft recht kurze postsynthetische G₂-Phase an während der die Replikation geprüft wird und etwaige Fehler korrigiert werden. Hier liegen die Chromosomen bereits in Form von Chromatiden vor. Die eigentliche Zellteilung erfolgt dann in der M-Phase (Mitose-Phase). Hier wird der doppelte Chromosomensatz getrennt und die Zelle in zwei Tochterzellen geteilt.

Von den insgesamt vorhandenen Zellen befindet sich nur ein kleiner Teil in der Proliferation. Der Rest befindet sich in der G₀-Phase und somit in Ruhe. Durch noch nicht bekannte Stimuli gehen Zellen reversibel von der G₁-Phase in die G₀-Phase über. Bei Tumorzellen zeigt sich ein deutlich unterschiedliches Bild, während sich bei soliden Tumoren ca. 90% in der G₀-Phase befinden sind es bei malignen Systemerkrankungen nur etwa 10% der Zellen.

Chemotherapeutika lassen sich, entsprechend ihren Wirkmechanismen in zwei Gruppen, *phasenspezifische* und *phasenunspezifische* unterteilen. Zu den phasenspezifischen Chemotherapeutika gehören die meisten Antimetabolite, Topoisomerase-Hemmstoffe und Mitosehemmstoffe. Im Folgenden werden diese exemplarisch am Beispiel von Methotrexat sowie der Vinca-Alkaloide und Taxane verdeutlicht.

Methotrexat (**2**) (Abb. 3) wirkt als Folsäure-Antagonist spezifisch in der S-Phase. Es unterscheidet sich von der Folsäure (**3**) durch eine 4-NH₂-Gruppe und eine Methylgruppe am N-10-Atom. Dadurch bindet es 10⁵-fach stärker als das natürliche Substrat Dihydrofolat an das katalytische Zentrum der Dihydrofolat-Reduktase.²⁰

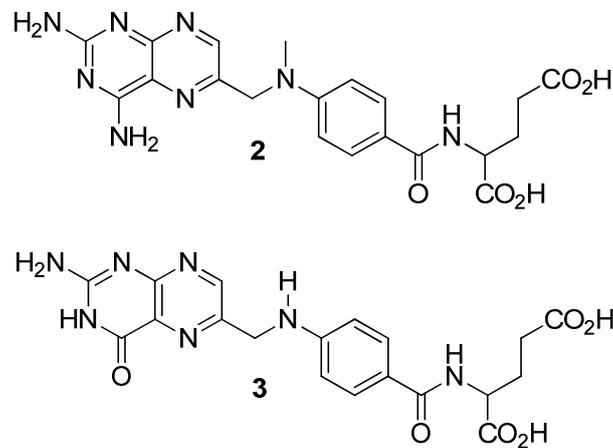


Abbildung 3 Das Chemotherapeutikum Methotrexat (**2**) (oben) und Folsäure (**3**) (unten).

Methotrexat hemmt die Dihydrofolat-Reduktase und damit die Reduktion von Dihydrofolat zu Tetrahydrofolat. Dieses wird benötigt um den C₁-Stoffwechsel, der für die Thymidin-, Purin-, Methionin- und Serinsynthese entscheidend ist, aufrecht zu erhalten. Somit wird die Synthese von Nucleotiden und Nucleinsäuren gehemmt. Tumorzellen sind hierbei stärker betroffen als normale Zellen, da ihre Proliferationsrate wie bereits oben erwähnt höher ist.

Die Vinca-Alkaloide Vinblastin (**4**), Vincristin (**5**) und Vindesin (Abb. 4, Vindesin nicht abgebildet) sind Mitosehemmstoffe, die an Tubulin binden, dessen Polymerisation zu Mikrotubuli und damit die Ausbildung des Spindelapparates verhindern. Im Gegensatz dazu führen Taxane wie Paclitaxel (**6**) und Docetaxel (**7**) (Abb. 4) zu einer Stabilisierung der Mikrotubuli und verhindert so die

Depolymerisation. Der dynamische Umbau des mikrotubulären Apparates ist jedoch essentiell für seine Funktion. Somit wirken die Taxane und die Vinca-Alkaloide als Mitosehemmstoffe in der M-Phase.

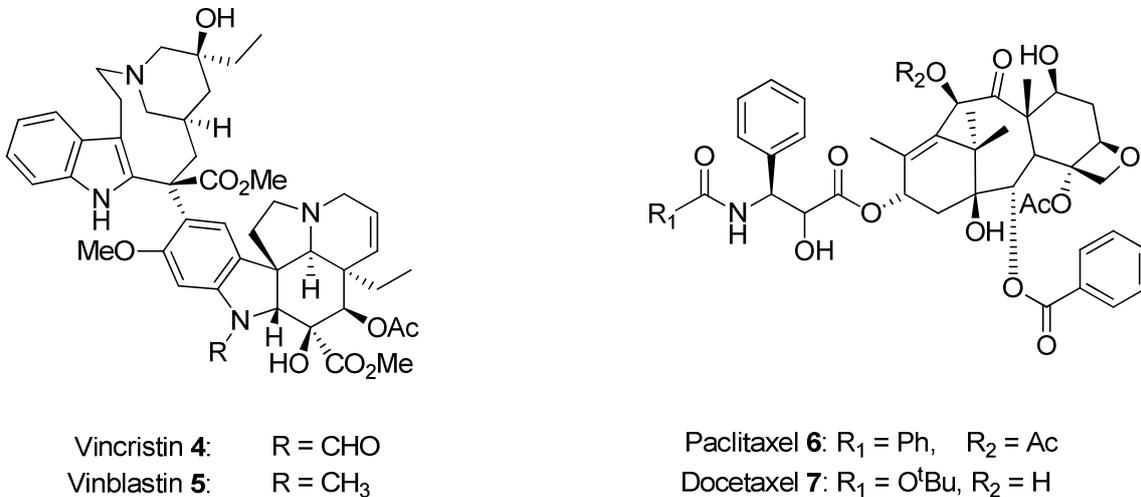
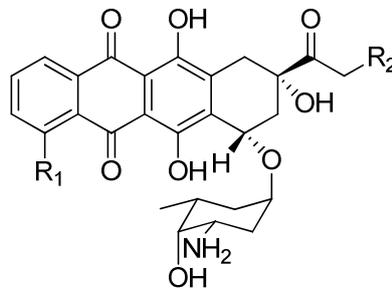


Abbildung 4 Die Vinca-Alkaloide Vincristin (**4**) und Vinblastin (**5**) sowie die Taxane Paclitaxel (**6**) und Docetaxel (**7**) als Beispiele für Mitosegifte.

Zur Gruppe der phasenunspezifischen Chemotherapeutika gehören vor allem *zytostatische Antibiotika* und *Alkylantien*. Die Wirkmechanismen der zytostatischen Antibiotika sind, ebenso wie die Strukturen dieser Wirkstoffklasse, sehr divers.



Daunorubicin **8**: R₁ = OMe, R₂ = H
 Doxorubicin **9**: R₁ = OMe, R₂ = OH

Abbildung 5 Die Anthracycline Daunorubicin (**8**) und Doxorubicin (**9**) aus Actinobakterien der Gattung *Streptomyces spp.*

So wirken Anthracycline wie Daunorubicin (**8**) und Doxorubicin (**9**) (Abb. 5) durch Interkalation in die DNA, Hemmung der Topoisomerase II, Biotransformation zu freien Radikalen und Erhöhung der Membranfluidität. Die Gruppe der Alkylantien ist sehr breit und beinhaltet historisch betrachtet die ältesten Zytostatika. Die Stickstoff-

Lost Derivate leiten sich vom Gelbkreuzkampfstoff Bis(2-chlorethyl)sulfid (**1a**) ab. Das prominenteste Beispiel ist Cyclophosphamid (**10**) (Abb. 6), ein Prodrug das unter Autoinduktion von CYP2B6 in der Leber zu 4-Hydroxy-Cyclophosphamid (**11**) hydroxiliert wird. Unter nicht-enzymatischer Abspaltung von Acrolein entstehen die am stärksten alkylierende Verbindung *N,N*-Bis-(2-chloroethyl)-phosphorsäurediamid (**14**) und als weiterer schwach zytotoxischer Metabolit das Carboxyphosphamid **15** wohingegen 4-Oxo-Cyclophosphamid (**12**) unwirksam ist. Auf Grund der urotoxischen Nebenwirkung durch Acrolein wird Cyclophosphamid meist in Kombination mit Mesna (Natrium-2-mercaptoethansulfonat) eingesetzt.

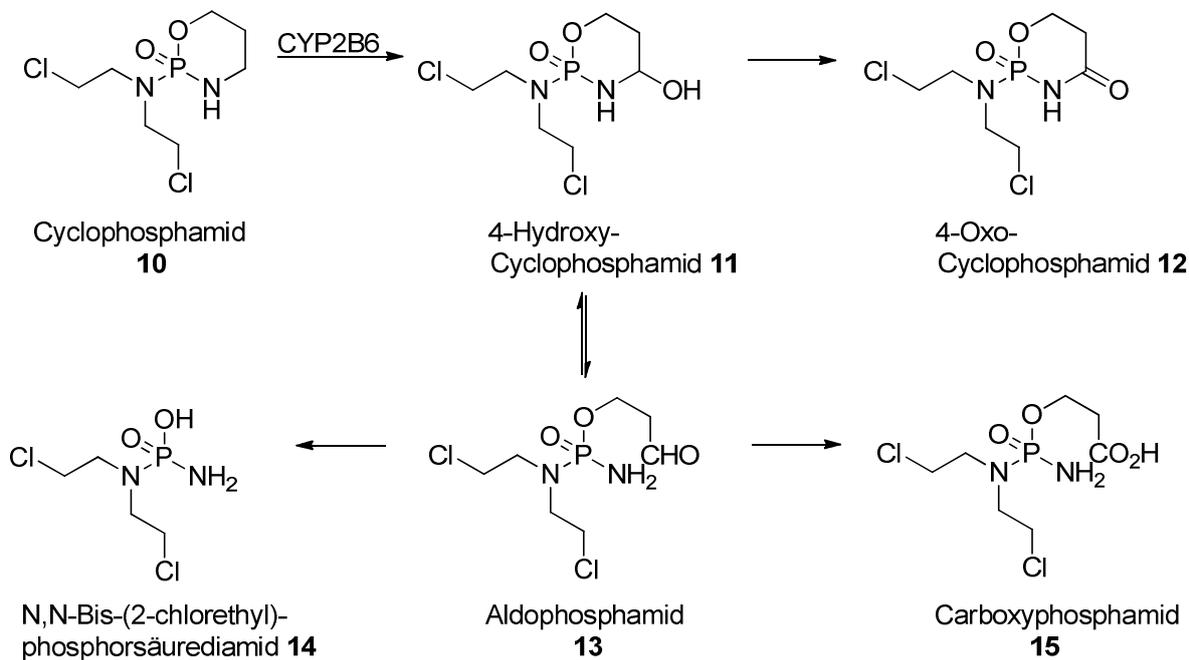


Abbildung 6 Metabolische Aktivierung von Cyclophosphamid (**10**).

Auch Metallkomplexe, besonders des Platins zählen zu den Alkylantien. Die am häufigsten eingesetzten sind Cisplatin, Carboplatin und Oxaliplatin. Die Wirkungsweise beruht hier auf einer Bildung von Intra- oder Interstrangvernetzungen der DNA wobei die Alkylierung, wie bei den Lost-Derivaten, am Guanin-*N*-7 Atom erfolgt.

Die Wirkung der Alkylantien ist größtenteils phasenunspezifisch und auch nicht auf einen genauen Angriffspunkt beschränkt. Die Reaktion erfolgt neben Proteinen bevorzugt mit DNA-Strängen. Da die Auswirkungen bei mikroskopischer

Untersuchung dem Effekt ionisierender Strahlung ähneln spricht man auch von Radiomimetika.

3.2 Selektive Krebstherapien mit reversibel detoxifizierten Wirkstoffen (Prodrugs)

Wie bereits oben erwähnt, zeigen nahezu alle konventionellen Chemotherapeutika den großen Nachteil einer unzureichenden Differenzierung zwischen gesundem und Krebsgewebe. Deshalb wird schon seit längerem versucht die Selektivität durch Umwandlung des eigentlichen Wirkstoffes (Drug) in eine reversibel detoxifizierte Vorstufe (Prodrug) zu erhöhen (Abb. 7). Die Aktivierung des Prodrugs geschieht dann nur am Ort des Tumors und so wird gesundes Gewebe im Idealfall nicht geschädigt.

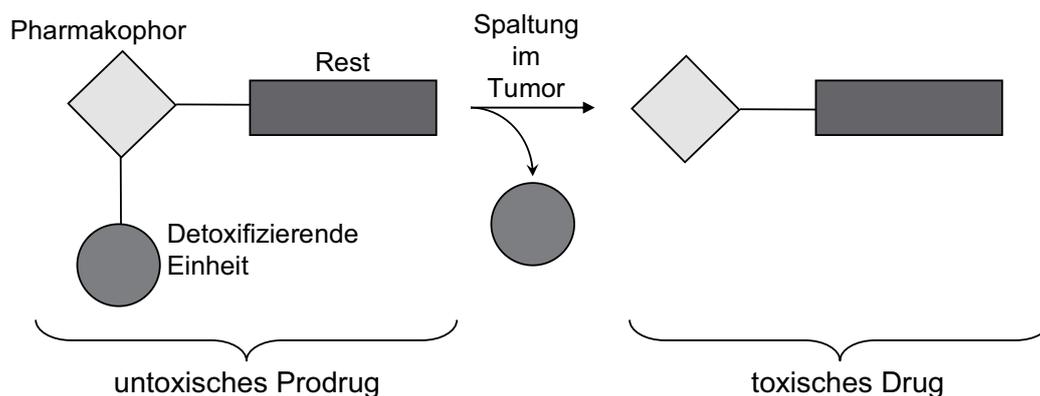


Abbildung 7 Das Konzept reversibel detoxifizierter Prodrugs.

Schon 1926 erkannte Otto Warburg, dass sich in Tumorgewebe eine deutlich erhöhte Milchsäurekonzentration nachweisen lässt obwohl ausreichend Sauerstoff für die normale Verbrennung in den Mitochondrien vorhanden wäre.²¹ Die Ursache hierfür ist eine erhöhte anaerobe Glykolyserate, die durch die gesteigerte anabolische und mitotische Aktivität verursacht wird. Weil das vaskuläre und lymphatische System eines Tumors nicht in dem Maße ausgebildet ist wie bei normalen Zellen folgt ein deutlich langsamerer Abtransport des gebildeten Lactats. Somit wird der pH-Wert

abgesenkt. Darüber hinaus wurde von *Rajewski et al.* bei *in vivo*-Studien gezeigt, dass die Glykolyserate der malignen Zellen durch die extrazelluläre Glukosekonzentration beeinflusst werden kann.²² So konnte bei Ratten welchen der TV1 A Tumor transplantiert wurde, durch Infusion von Glukose der pH-Wert des Tumors auf bis zu 6.2 verringert werden und liegt somit ca. 1.2 Einheiten niedriger als der des normalen Gewebes.

Auf diesen Erkenntnissen aufbauend, entwickelte *L. F. Tietze* das Konzept der säurelabilen acetalischen Prodrugs.²³ Diese werden erst im Tumorgewebe auf Grund des niedrigeren pH-Wertes zum aktiven Toxin hydrolysiert und schädigen im Idealfall das gesunde Gewebe nicht. So wurde das Prodrug BE-1 (**16**) dargestellt, das sich ähnlich verhält wie das oben bereits beschriebene Cyclophosphamid (Abb. 8).

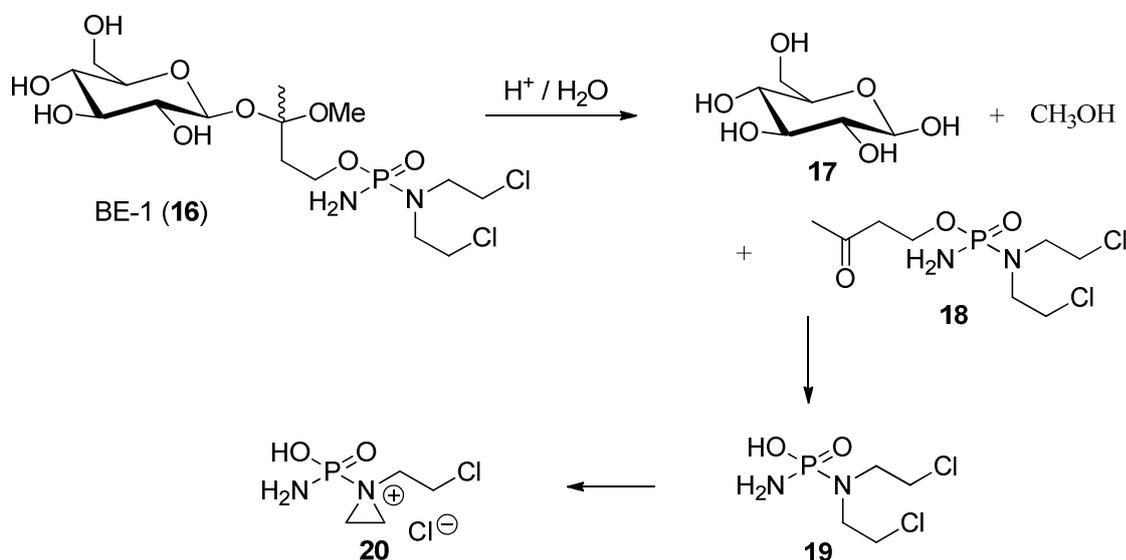


Abbildung 8 Säurekatalysierte Aktivierung des acetalischen Prodrugs BE-1 (**16**).

In saurem Medium hydrolysiert das Prodrug unter Abspaltung von Glukose (**17**) und Methanol zum Keton **18**. Ähnlich wie bei Cyclophosphamid entsteht aus dem Keton durch Metabolisierung über die Friedmannsäure **19** das Aziridiniumion **20** als eigentliche alkylierende Spezies. BE-1 (**16**) ist bei physiologischem pH-Wert von 7.2 und einer Konzentration von $10 \mu\text{g/mL}$ nahezu untoxisch wobei sich bei $\text{pH} = 6.2$ die Überlebensrate von Mammacarcinomzellen (M1R) der Marshallratte *in vitro* um den Faktor $5 \cdot 10^4$ verringerte.

Das ADEPT-Konzept (Antibody-Directed-Enzyme-Prodrug-Therapy) wurde erstmals von K. D. Bagshawe beschrieben.²⁴ Hier wird ein Antikörper-Enzym-Konjugat genutzt um das relativ untoxische Prodrug direkt am Tumor zu aktivieren und so eine hohe Selektivität zu erreichen (Abb. 9). Es handelt sich also um eine binäre Therapie, die aus zwei Schritten besteht. Zunächst wird eine gewisse Menge des Konjugates appliziert das sich über das Blut im gesamten Körper verteilt. Das Konjugat bindet an spezifische Antigene des Tumors wobei überschüssiges Konjugat abgebaut oder ausgeschieden wird. Anschließend muss die Clearance-Zeit abgewartet werden um alles Konjugat, das nicht am Tumor gebunden ist, auszuspülen da sonst die Selektivität der Therapie drastisch gesenkt würde. Danach erfolgt die Applikation des Prodrugs, das sich im ganzen Organismus verteilt aber im Idealfall nur am Tumor aktiviert wird. Das freigesetzte Drug penetriert die Zellmembran der Tumorzellen und entfaltet so seine zytotoxische Wirkung während das Enzym an der Außenseite des Tumors weiterhin aktiv bleibt und weiteres Prodrug aktivieren kann.

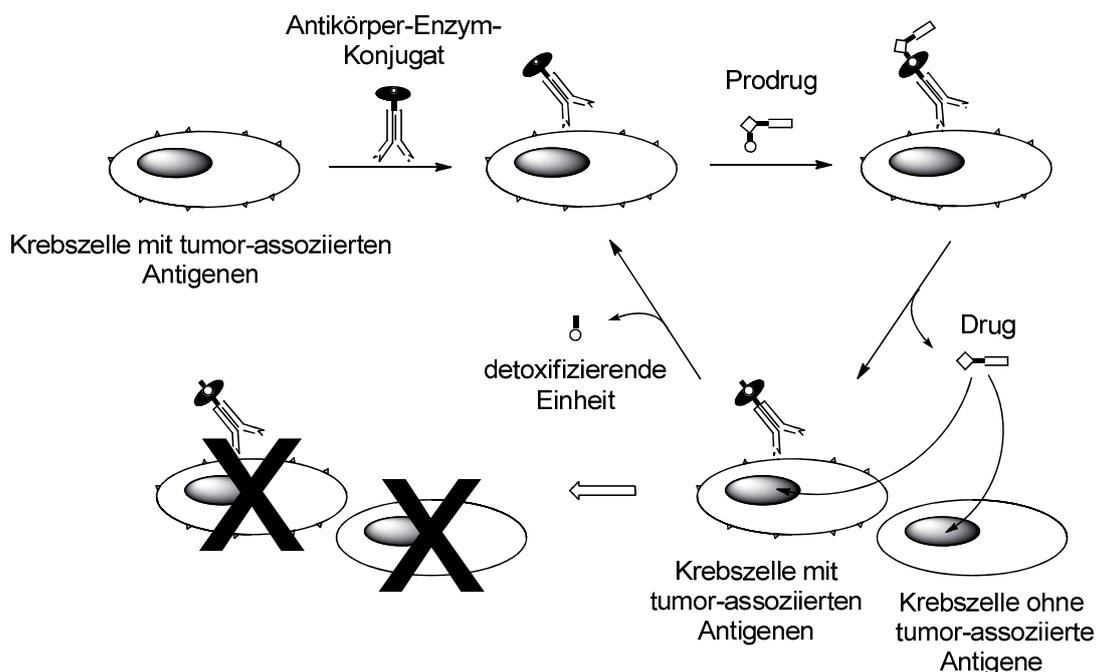


Abbildung 9 Schematische Darstellung des ADEPT-Konzepts.

Das Drug kann sich außerdem durch Diffusion im Tumorgewebe verteilen und so auch Zellen erreichen an die kein Antikörper-Enzym-Konjugat gebunden ist. Dies hat den großen Vorteil, dass auch Tumorzellen abgetötet werden, die über keine tumor-assoziierten Antigene verfügen.

Eine Abspaltung der detoxifizierenden Einheit durch körpereigene Enzymsysteme darf im Rahmen dieses Ansatzes nicht erfolgen, da sonst die Selektivität verringert oder aufgehoben würde. Somit ergeben sich, als für eine Anwendung in der ADEP-Therapie geeignete Enzyme, Peptidasen wie Carboxypeptidase G2²⁵, alkalische Phosphatase²⁶, β -Glucuronidase²⁷, Galactosidase²⁸, Nitroreduktasen²⁹ und β -Lactamase³⁰.

Als Qualitätsmaßstab für die Selektivität eines Prodrugs gilt der QIC₅₀-Wert (IC₅₀ (Prodrug)/ IC₅₀ (Prodrug in Anwesenheit des Enzyms)). Dieser Quotient sollte möglichst hoch sein, so dass ein hoher IC₅₀ des Prodrugs aus dessen geringer Toxizität resultiert, während durch das Enzym ein äußerst potentes Drug mit niedrigem IC₅₀-Wert freigesetzt wird. Als Mindestanforderung wurde ein QIC₅₀-Wert > 1000 und ein IC₅₀-Wert des Drugs < 10 nM festgelegt.^{6e}

Ein Nachteil des ADEPT Ansatzes ist der Bedarf des Anti-Körper-Enzym-Konjugates bei dessen Untersuchungen sich teilweise eine immunogene Wirkung zeigte. Weiterhin ist es in einer therapeutischen Anwendung sehr teuer. Deshalb werden verschiedene Ansätze für eine Prodrug-Monotherapie verfolgt. Eine Möglichkeit ist es das Vorliegen von in Tumoren überexprimierten Enzymen zu nutzen. Ein solches Beispiel ist die β -D-Glucuronidase, die in nekrotischen Bereichen von Tumorgeweben in erhöhter Konzentration nachgewiesen werden konnte.³¹

Ein weiterer sehr interessanter Ansatz ist die Verwendung photoaktivierbarer Prodrugs da hier außer dem Prodrug nur eine, meist leicht verfügbare, Lichtquelle benötigt wird (siehe Kap. 6.3).