

# Allgemeiner Teil

## 1 Einleitung

Die Krankheit Krebs spielte als Todesursache früherer Generationen nur eine geringe Rolle. In heutiger Zeit tritt sie allerdings als Alterskrankheit aufgrund der verbesserten Lebensbedingungen und medizinischen Versorgung verstärkt in Erscheinung. Im Zuge einer ständig gestiegenen durchschnittlichen Lebenserwartung in den westlichen Industrienationen ist auch die Anzahl von Degenerationserkrankungen, die eine längere Entwicklungsphase benötigen, stetig angewachsen. Hierzu gehören neben anderen die etwa 200 Krebsarten, die bisher beim Menschen bekannt sind. Diese "Vielfalt" hängt damit zusammen, dass im Prinzip jede Körperzelle mutieren und damit den Prozess des ungehemmten Zellwachstums auslösen kann. Wesentliche Risikofaktoren hat die Industrialisierung mit sich gebracht, zu denen cancerogene Chemikalien sowie der Abbau der Ozonschicht und damit verbunden die verstärkte Exposition von UV-Strahlung gehören. Zu den vermeidbaren Risikofaktoren zählen der Tabakrauch und eine ungesunde Ernährungsweise, die zusammen für über die Hälfte aller Krebserkrankungen verantwortlich gemacht werden. Die genetischen Faktoren spielen im Vergleich dazu nur eine untergeordnete Rolle.

Die Konsequenz ist, dass Krebs heute hinter den Herz-Kreislaufkrankungen die zweithäufigste Todesursache darstellt. Im Jahr 2002 starben in Deutschland 393 778 Menschen an Krankheiten des Kreislaufsystems im Vergleich zu 215 441 Todesfällen aufgrund von malignen Tumoren.<sup>1</sup>

Bei der Behandlung von Krebs gehören regelmäßige Untersuchungen im Rahmen der Frühdiagnostik und die Vermeidung von Risikofaktoren zu den eigenverantwortlichen Beiträgen, während in der wissenschaftlichen Forschung die Entwicklung angemessener Therapien im Vordergrund steht. Dabei spielt die Chemotherapie – neben der Chirurgie und der Strahlentherapie – eine wichtige Rolle, da sie im fortge-

schriftlichen Stadium der Erkrankung häufig die einzig erfolgversprechende Therapieform darstellt und ein hohes Entwicklungspotential beinhaltet. Bei Anwendung der zur Zeit zur Verfügung stehenden Chemotherapeutika müssen oft allerdings gravierende Nebenwirkungen in Kauf genommen werden. Diese Nebenwirkungen sind auf eine nicht ausreichende Differenzierung zwischen malignem und gesundem Gewebe zurückzuführen, da im Wesentlichen nur die gesteigerte Proliferationsrate von Krebszellen ausgenutzt wird.

Zum Beitrag, den die synthetische organische Chemie zur Krebsbehandlung liefern kann, gehört die chemische Modifikation von beispielsweise antitumorwirksamen Naturstoffen, um ihre Selektivität oder ihre Wirksamkeit zu erhöhen. Hierzu sind im Arbeitskreis von *L. F. Tietze* bereits vielversprechende Therapieansätze entwickelt worden.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Entwicklung neuer Zytostatika, die über niedermolekulare Peptid-Liganden einen selektiven Zugang zu Krebszellen ermöglichen sollen.

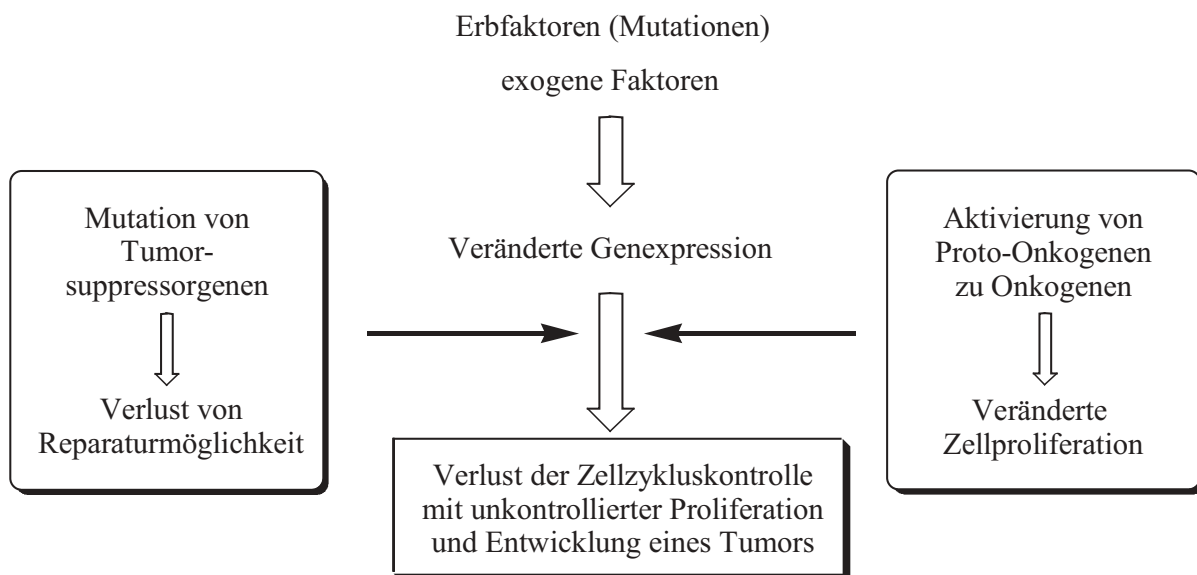
## 2 Medizinische Grundlagen der Cancerogenese

Der exakte molekulare bzw. genetische Mechanismus der Entstehung von Krebs ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Sicher ist, dass der Ausgangspunkt durch Veränderungen in einer einzigen Körperzelle markiert wird. Bevor dies aber zur eigentlichen Cancerogenese, also der unkontrollierten Neubildung von Körperzellen (Neoplasie) führt, müssen in der Folge noch weitere Mutationsereignisse auftreten, die hauptsächlich die Kontrollgene für ungehemmtes Zellwachstum betreffen.<sup>2</sup> Die Ursache solcher Mutationen kann zum einen in der genetischen Prädisposition (endogene Noxen) gesucht werden, die allerdings für nur etwa fünf Prozent der Erkrankungen verantwortlich ist. Den weitaus größeren Teil machen Umwelteinflüsse (exogene Noxen), energiereiche Strahlung,<sup>3</sup> chemische Stoffe (zum Beispiel Asbest, Benzol, Tabakrauch), aber auch eine falsche Ernährungsweise aus. Daneben gelten Krankheitserreger wie Viren (biologische Noxen) für die Entstehung bestimmter Krebsarten als Hauptrisikofaktoren. Zwischen der Einwirkung von Cancerogenen und dem Auftreten einer Krebserkrankung liegt eine Latenzzeit, die beim Menschen Jahre bis Jahrzehnte betragen kann.

Vermehrung, Wachstum, Differenzierung und Tod von Zellen sind genetisch geregelt. Die Funktion der Gene, die diese Vorgänge steuern, wird im Organismus durch übergeordnete, extrazelluläre Kontrollmechanismen reguliert. Über die interzelluläre Kommunikation ist sichergestellt, dass sich gleichartige Zellen in einem Gewebe gleich verhalten und eine funktionelle Einheit bilden. Während die Zellzahl im Entwicklungsstadium stetig zunimmt, bleibt sie nach der Differenzierung auf ihre jeweilige Funktion beim Erwachsenen weitgehend konstant. Untergang und Neubildung (etwa 50 Millionen Zellen pro Sekunde) von Zellen stehen dann im Gleichgewicht. Im Gegensatz zu normalen Zellen erreichen Krebszellen nicht den Endzustand der Differenzierung. Sie vermehren sich unkontrolliert unter Umgehung von körpereigenen Regelmechanismen.

Prinzipiell ist ein Tumor – neben seinem histologischen Erscheinungsbild – durch die Wachstumsgeschwindigkeit und die Wachstumsautonomie charakterisiert. Benigne Tumoren wachsen am Ort ihrer Entstehung als kompakter Zellverband, verdrängen zwar das umliegende Gewebe, zerstören es aber nicht und bilden keine Tochtergeschwülste (Metastasen). Im Gegensatz dazu wachsen maligne Tumoren unkontrolliert, brechen in Organe und Gefäße ein (Invasivität), zerstören diese (Destruktion) und können an anderen Stellen des Organismus Metastasen bilden.<sup>4</sup> Zur makroskopischen Einteilung unterscheidet man Tumoren gemäß der TNM-Klassifizierung<sup>5</sup> (T = Tumor, N = Nodus/Knoten, M = Metastasen) nach ihrer Abstammung vom jeweiligen Muttergewebe, dem Grad ihrer Ausdehnung (Staging) und dem histologisch ermittelten Differenzierungsgrad (Grading). Gutartige Zellwucherungen erhalten allgemein die Endung –om und maligne Entartungen entsprechend –karzinom. Die Endung –sarkom gilt für epitheliale Tumoren, wenn sie dem Bindegewebe entstammen.

Im Normalfall dirigieren Gene den Lebenszyklus einer Zelle, wobei die sog. Proto-Onkogene das Zellwachstum fördern und die Tumorsuppressorgene hemmend wirken.<sup>6</sup>



**Abbildung 1.** Genetische Grundlagen der Cancerogenese.

Die Umwandlung von Proto-Onkogenen zu Onkogenen durch Mutationen bzw. deren gesteigerte Expression führt zur verstärkten Aktivität der entsprechenden (Onko)-Proteine.<sup>7</sup> Die derart veränderten Wachstumsfaktoren können im Gegensatz zu den

physiologischen Proteinen ein Dauersignal zur Zellteilung bewirken und damit der Apoptose entgegenwirken. Darüber hinaus nimmt man an, dass durch mutagene Substanzen die Tumorsuppressorgene, zu denen unter anderem das p53-Gen zählt, inaktiviert werden können (Abbildung 1).<sup>8</sup> Die durch p53 kontrollierten Faktoren hemmen den Eintritt von Zellen in die S-Phase des Zellzyklus (Phase der DNA-Synthese) und ermöglichen dadurch eine DNA-Reparatur. Außerdem wird im Fall irreparabler DNA-Schäden durch p53 auch der programmierte Zelltod eingeleitet. Ein durch Mutation verursachter Funktionsverlust derartiger Tumorsuppressorgene fördert also ebenfalls die Zellproliferation. Mutierte p53-Gene wurden inzwischen bei der Hälfte aller menschlichen Tumorarten entdeckt. Die Frage, welche Mutation für die maligne Transformation verantwortlich ist, ist nicht generell zu beantworten. Angesichts der mehrfachen Kontroll- und Steuerungsmechanismen des Zellstoffwechsels muss in einer Zelle mehr als eine Mutation erfolgen, damit sich ein manifester Tumor entwickelt.

### 3 Konzepte der Therapie maligner Entartungen

Therapeutische Maßnahmen beim manifesten Krebs beschränken sich auf eine Vernichtung oder Wachstumshemmung von Tumorzellen. Die drei Säulen der klassischen Tumorthherapie sind sinnbildlich durch die drei "S" (Stahl, Strahl und (S)Chemotherapie) repräsentiert. Bei soliden, klar umgrenzten Tumoren stellt eine operative Entfernung des entarteten Gewebes die Methode mit den besten Heilungschancen und geringsten Nebenwirkungen dar. Ist der Tumor schwer zugänglich oder betrifft er lebenswichtige Strukturen wie zum Beispiel Hirnstrukturen, kann eine Strahlenbehandlung angebracht sein, die zudem für den Gesamtorganismus weniger belastend ist als ein operativer Eingriff. In einem fortgeschrittenen Krankheitsstadium, in dem es bereits zu Metastasenbildung gekommen ist, bleibt jedoch meist nur eine Chemotherapie als letzte Möglichkeit, wobei beträchtliche Nebenwirkungen durch mangelnde Differenzierung zwischen benignem und malignem Gewebe in Kauf genommen werden müssen. Da das Ziel von Chemotherapeutika stark

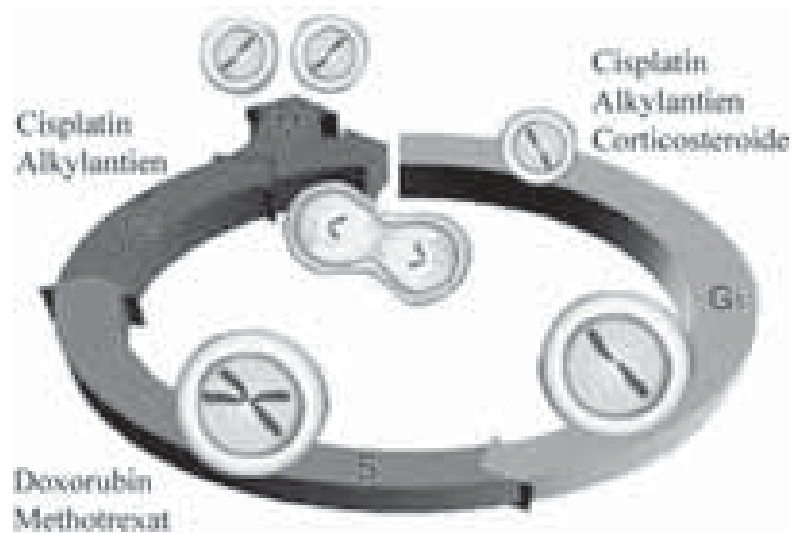
proliferierende Zellen sind, zeigen sich Schäden typischerweise an sich ständig regenerierenden Geweben wie zum Beispiel dem Knochenmark (Aplastie), der Schleimhaut (Mukositis) und Haarzellen (Alopezie). Als Ergänzung dieser drei Ansätze zur Krebsbekämpfung kann heute die Immuntherapie als vierte Säule angesehen werden, die auf der Ausnutzung tumorspezifischer Antigene beruht.<sup>9</sup>

### 3.1 Chemotherapie

Der Begriff Chemotherapie bezeichnet in der Krebsbehandlung die Applikation von toxischen Substanzen (Zytostatika), die in den Stoffwechsel und die Teilung von Zellen eingreifen und dadurch zum Zelltod oder zumindest zu einer Proliferationshemmung führen. Anhand der Wirkmechanismen der in der Tumorthherapie eingesetzten Zytostatika erfolgt eine Einteilung dieser in verschiedene Klassen, je nach deren Angriffspunkt in den Zellzyklus. Man unterscheidet dabei Alkylantien, Antimetabolite, Topoisomerase-Hemmstoffe, Mitose-Hemmstoffe und zytotoxisch wirksame Antibiotika.

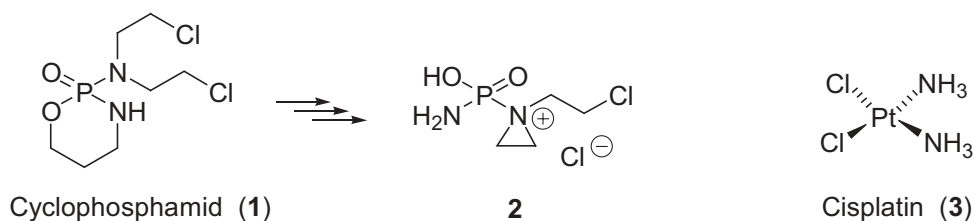
Alle eukaryontischen Zellen durchlaufen einen identischen Zellzyklus (Abbildung 2).<sup>4</sup> Der Teilungszyklus gliedert sich dabei in die eigentliche Mitosephase M und die drei Interphasen  $G_1$ , S und  $G_2$ . In der postmitotischen und präsynthetischen  $G_1$ -Phase (G = gap: Unterbrechung) werden hauptsächlich für die Zellteilung benötigte RNA und Proteine synthetisiert, während in der relativ kurzen S-Phase (Synthesephase) durch Neubildung der DNA der Chromosomensatz verdoppelt und damit die Zellteilung vorbereitet wird. An die S-Phase schließt sich die postsynthetische Wachstumsphase ( $G_2$ -Phase) an. In ihr liegen die Chromosomen bereits in Form von Chromatiden vor. Bei der folgenden Mitosephase (M) werden die Chromatiden mit Hilfe von Mikrotubuli getrennt und auf die Tochterzellen verteilt. Nach Trennung der Tochterzellen ist der Zyklus beendet. Ein Teil der Zellen geht in die stabile Ruhephase ( $G_0$ ) über, während der andere Teil wieder in den Zyklus eintritt. Differenziert sich eine Zelle und wird zur Dauergewebszelle, tritt sie in die stabile Ruhephase ( $G_0$ ) über und teilt sich nicht mehr. In dieser Phase ist die Zelle für Zytostatika in der Regel nicht zugänglich. Der Zellzyklus wird erst wieder aufgenommen, wenn die Zelle externe Signale empfängt, wie zum Beispiel den Kontaktverlust mit der

Nachbarzelle. Da sich maligne Entartungen jedoch durch eine gesteigerte Proliferationsrate auszeichnen, befinden sich teilweise nur 10 % der Tumorzellen in Ruhe. Das macht sie für Chemotherapeutika leichter zugänglich.



**Abbildung 2.** Der Zellzyklus mit Angriffspunkten verschiedener Chemotherapeutika.

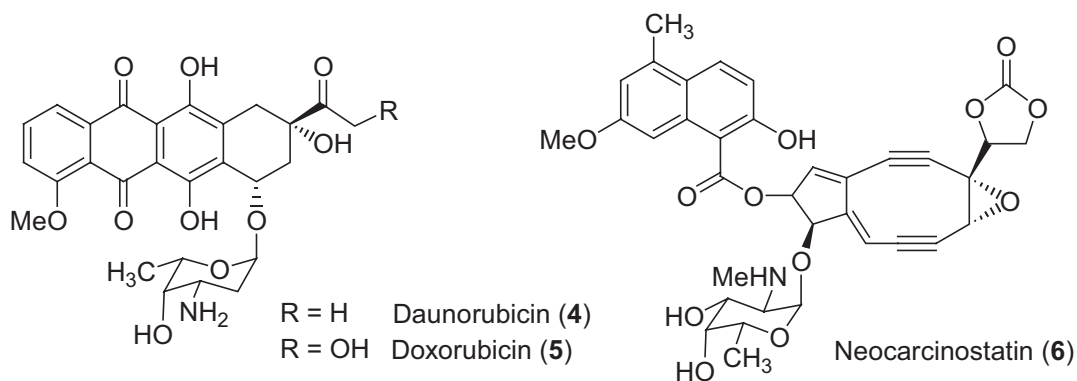
Die bedeutsamste Gruppe der Chemotherapeutika stellen die in der Regel phasenun-spezifisch wirkenden DNA-Alkylantien dar. Hierzu gehören Verbindungen unterschiedlicher chemischer Struktur, deren gemeinsames Kennzeichen hochreaktive elektrophile Alkylgruppen sind. Diese reagieren mit *N*-, *O*- oder *S*-haltigen Nucleophilen in Proteinen und insbesondere in Nucleinsäuren. Die Folge davon sind Quervernetzungen der DNA, abnorme Basenpaarungen und Strangbrüche, die schließlich zum Tod der Zelle führen. Zu dieser Gruppe gehören die schon früh entwickelten Stickstoff-Lost-Derivate wie das Cyclophosphamid (**1**),<sup>10</sup> das als sog. Prodrug erst durch Metabolisierung in den eigentlichen Wirkstoff **2** überführt wird. Ein weiterer wichtiger Vertreter der Alkylantien ist das Cisplatin (**3**) (Abbildung 3).<sup>11</sup>



**Abbildung 3.** Beispiele für DNA-Alkylantien.

Eine weitere Gruppe von hochwirksamen Alkylantien stellen die aus *Streptomyces zelensis* isolierten Antibiotika (+)-CC-1065 (**19**) oder die Duocarmycine dar (siehe Kapitel 4).

Aus anderen Streptomyceten-Stämmen konnten weitere zytostatisch wirksame Antibiotika isoliert werden, deren Zytotoxizität auf ganz anderen Mechanismen beruht. Hierzu gehören beispielsweise die phasenspezifisch in der S-Phase wirkenden Anthracycline Daunorubicin (**4**) und Doxorubicin (**5**), deren planares aromatisches Grundgerüst gut in die Basenpaare der DNA-Doppelhelix interkalieren kann.<sup>12</sup> Der damit verbundene Anstieg der Ganghöhe und die Verformung des Zuckerphosphatrückgrates machen eine Bindung der Transkriptionenzyme unmöglich, so dass sich die Zelle nicht mehr replizieren kann. Weitere Wirkmechanismen, die meist in Kombination mit der Interkalation auftreten, sind die Hemmung der Topoisomerase II, sowie die Induktion von DNA-Strangbrüchen durch Bildung von Radikalen wie bei den Endiin-Antibiotika, zu denen beispielsweise das Neocarcinostatin (**6**) zählt.<sup>13</sup> Bei diesen kommt es im Verlauf einer radikalischen *Bergman-Cycloaromatisierung* der Endiin-Einheit zu einer H-Abstraktion aus dem DNA-Zuckerphosphatrückgrat und somit schließlich zum Strangbruch (Abbildung 4).<sup>14</sup>



**Abbildung 4.** Beispiele für zytostatisch wirksame Antibiotika.

Eine weitere wichtige Gruppe von Chemotherapeutika sind die Mitosehemmstoffe, die vornehmlich in die Mitosephase des Zellzyklus eingreifen. Es handelt sich hierbei meist um Naturstoffe wie zum Beispiel die *Vinca*-Alkaloide Vincristin und Vinblastin, die an die  $\beta$ -Einheit des Tubulindimers binden und dadurch den Aufbau des Spindelapparates verhindern.<sup>15</sup> Das aus Eiben isolierte Taxol<sup>®</sup> (**7**)<sup>16</sup> oder auch