



Anna Meschkov (Autor)

Fluoreszierende, metallbasierte Nanosysteme zum gezielten Wirkstofftransport



<https://cuvillier.de/de/shop/publications/8200>

Copyright:

Cuvillier Verlag, Inhaberin Annette Jentsch-Cuvillier, Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen, Germany

Telefon: +49 (0)551 54724-0, E-Mail: info@cuvillier.de, Website: <https://cuvillier.de>

1. Zusammenfassung

Seit Jahrzehnten steht die Tumorthherapie im Mittelpunkt der modernen medizinischen Forschung. Trotz der vielfältigen Neuentwicklungen und des enormen Fortschritts im Bereich der Pharmakologie ist die Behandlung onkologischer Erkrankungen noch immer mit vielerlei Schwierigkeiten verbunden. Neben den bekannten Komplikationen und Nebenwirkungen der Chemotherapie kommt es nicht selten zu einer Mehrfachresistenz der Tumorzellen gegen die verabreichten Therapeutika. Die schlechte Wasserlöslichkeit einiger Wirkstoffe verringert außerdem ihre Bioverfügbarkeit und wirkt sich folglich negativ auf die Verträglichkeit sowie die Wirksamkeit der Behandlung aus. Ein Teil der zahlreichen Probleme der konventionellen Krebsbehandlung lässt sich durch den Einsatz der Nanotechnologie für medizinische Zwecke angehen. In der Nanomedizin finden nanopartikuläre Systeme vornehmlich für den gezielten Transport von therapeutisch aktiven Wirkstoffen Einsatz. Durch die spezifische Anreicherung der Wirkstoffe im betroffenen Organ können die Nebenwirkungen der herkömmlichen Chemotherapeutika stark verringert werden, da sich die Wirkung des Therapeutikums erst im Tumorgewebe entfaltet und die gesunden Zellen somit nicht angegriffen werden. Auch die Mehrfachresistenz der Zellen kann durch die Feinjustierung der therapeutischen Dosis überwunden werden. Im Rahmen dieser Arbeit wurden $\text{ZrO}(\text{mdp})_{0,5}(\text{HPO}_4)_{0,5}$ Nanocontainer zum Transport von lipophilen Wirkstoffen evaluiert. Mithilfe des wasserunlöslichen Fluoreszenzfarbstoffs Lumogen Rot ($\text{LR}@\text{ZrO}(\text{mdp})_{0,5}(\text{HPO}_4)_{0,5}$ Nanopartikel) konnte die zelluläre Anreicherung der Nanocontainer visualisiert sowie der Zellaufnahmemechanismus aufgeklärt werden. In den toxikologischen Studien wiesen die Nanocontainer eine hervorragende Biokompatibilität sowohl *in vitro* als auch *in vivo* auf. Durch die Verkapselung der lipophilen Zytostatika Paclitaxel ($\text{PTX}@\text{ZrO}(\text{mdp})_{0,5}(\text{HPO}_4)_{0,5}$ Nanopartikel) und Irinotecan ($\text{ITC}@\text{ZrO}(\text{mdp})_{0,5}(\text{HPO}_4)_{0,5}$ Nanopartikel) konnte die zelluläre Aufnahme dieser Wirkstoffe deutlich begünstigt werden. Die verkapselten Wirkstoffe zeigten eine erhöhte tumorwachstumshemmende Aktivität *in vitro* sowie eine signifikante Herabsetzung der systemischen Toxizität *in vivo*.

Als ein weiterer therapeutischer Ansatz wurden in dieser Arbeit lichtaktivierbare $\text{Gd}_4^{3+}[\text{AIPCS}_4]_3^{4-}$, $[\text{Gd}(\text{OH})]^{2+}[(\text{PMX})_{0,74}(\text{AIPCS}_4)_{0,13}]^{2-}$ und $[\text{Gd}(\text{OH})]^{2+}[(\text{PMX})_{0,70}(\text{TTPS}_4)_{0,15}]^{2-}$ Nanopartikel vorgestellt und hinsichtlich der potenziellen Anwendung in der photodynamischen Therapie analysiert. Derartige Nanopartikel entfalten ihre zytotoxische Wirkung erst nach einer Photoinduktion, wodurch das Tumorgewebe hochselektiv und minimal invasiv angegriffen werden kann. Dies resultiert unmittelbar in einer Verminderung der Nebenwirkungen im gesunden Gewebe, weswegen die photodynamische Tumorthherapie zu den besonders vielversprechenden und gleichzeitig auch schonenden Krebsbehandlungsmethoden zählt. Für die $\text{Gd}_4^{3+}[\text{AIPCS}_4]_3^{4-}$ Nanopartikel mit



Aluminium(III)chlorophthalocyanintetrasulfonsäure als Photosensibilisator wurde eine hohe Biokompatibilität unter Lichtausschluss sowie starker zytotoxischer und tumorwachstumshemmender Effekt nach der Bestrahlung *in vitro* nachgewiesen. Auch *in vivo* zeigten diese Nanopartikel eine hochselektive phototoxische Wirkung, die sich präzise lokalisieren ließ. Weiterhin wurde das Zytostatikum Pemetrexed als eine chemotherapeutische Komponente in die Nanopartikel inkorporiert, was einen multimodalen Angriff auf das Tumorgewebe ermöglichte. In diesem Ansatz wurde neben Aluminium(III)-chlorophthalocyanintetrasulfonsäure ($[\text{Gd}(\text{OH})]^{2+}[(\text{PMX})_{0,74}(\text{AIPCS}_4)_{0,13}]^{2-}$ Nanopartikel) auch Tetrakis(4-sulfonatophenyl)porphyrin ($[\text{Gd}(\text{OH})]^{2+}[(\text{PMX})_{0,70}(\text{TPPS}_4)_{0,15}]^{2-}$ Nanopartikel) als ein weiterer Photosensibilisator verwendet.

Eine große Herausforderung bei der Evaluierung neuer potenzieller Wirkstoffe stellt die Übertragbarkeit der experimentellen Modelle auf die klinische Anwendung dar. Die in den präklinischen Untersuchungen weitgehend verwendeten, zweidimensionalen Zellkulturen lassen das Verhalten der Substanzen in einem komplexeren Organismus oft nur bedingt vorhersagen. Um eine gründlichere Vorstellung über die Wirkung der beschriebenen Nanopartikel zu verschaffen, wurden im Rahmen dieser Arbeit die Neuentwicklungen aus dem Bereich der Geweberekonstruktion (*tissue engineering*) umfangreich eingesetzt. Die vorgestellten Substanzen wurden in verschiedenen dreidimensionalen Zellkulturmodellen getestet, die unterschiedliche Ansätze – von den multizellulären Tumorsphäroiden und Hydrogel-Kokulturen bis hin zu den vaskularisierten *Organ-on-Chip*-Systemen – umfassten. Die durch diese fortgeschrittenen Zellkulturmodelle erhaltenen Erkenntnisse wurden anschließend auf einen lebendigen Organismus angewandt, indem die Nanopartikel in einem Zebrafischmodell untersucht wurden. Die *in vivo* Studien erlaubten einen Einblick in die systemische Toxizität, die Biodistribution und die allgemeine Verträglichkeit der Nanopartikel und schlossen hiermit die ersten Voruntersuchungen hinsichtlich der potenziellen therapeutischen Anwendung der beschriebenen nanoskaligen Wirkstoffe im Rahmen dieses Projekts ab. Im Hinblick auf die Zulassung der Substanzen für den Einsatz am Patienten sind weiterführende Analysen notwendig, welche die Funktionsweise sowie etwaige Nebenwirkungen der hier evaluierten Nanosysteme tiefergehend aufklären.

2. Einleitung

2.1 Krebsentstehung und konventionelle Behandlungsmethoden

Zusammen mit Herz-Kreislauf- und Atemwegserkrankungen zählt Krebs zu den häufigsten Todesursachen in Deutschland. Im Jahr 2017 erlag rund ein Viertel aller Verstorbenen einer Krebserkrankung.¹ Trotz der sich stets weiter entwickelnden medizinischen Forschung bleiben bei der Optimierung der Krebstherapie noch zahlreiche Fragen offen.

Mit einer dauerhaften Heilung von etwa 50 % der Betroffenen ist Krebs immer noch eine lebensbedrohliche Krankheit, bei der im Organismus bösartige Tumoren entstehen. Aufgrund der fehlerhaften Signaltransduktion versagen bei den betroffenen Geweben die Steuerungsmechanismen der normalen Zellproliferation bzw. Differenzierung.^{2,3} Tumorzellen verfügen über die Fähigkeit, sich autonom mit Wachstumsfaktoren zu versorgen.⁴ Die erhöhte Telomerase-Aktivität in Tumorzellen resultiert wiederum in einer Stabilisierung der Telomerenlänge ihrer Chromosomen. Dadurch sterben die Tumorzellen im Gegensatz zu gesunden Zellen nicht nach einer bestimmten Anzahl an Teilungen ab.⁵ Das bekannteste Beispiel hierfür sind die HeLa-Zellen, die 1951 dem Zervixkarzinom der Patientin Henrietta Lacks entnommen wurden. Diese werden bis heute kultiviert und sind eine der beliebtesten Modellzelllinien in der Krebsforschung.⁶

Die Entstehung von Krebs basiert häufig auf Mutationen in Genen, die für Wachstumsfaktoren und Regulationsproteine des Zellzyklus kodieren.^{7,8} Diese Mutationen können spontan sein, oder durch äußere Einflüsse wie karzinogene Substanzen und Strahlung ausgelöst werden.⁹

¹¹ Beispielweise sind Mutationen in sogenannten Onkogenen eine häufige Ursache der Krebsentstehung. In der Regel liegen diese Gene, wie zum Beispiel *Ras* oder *Wnt*, in Form von Protoonkogenen vor und sind unter anderem in die Zellproliferation und die Signaltransduktion involviert. Mutationen in Onkogenen resultieren jedoch häufig in einer fehlerhaften Funktion des Zellzyklus und schließlich einer unkontrollierten Zellteilung.^{12,13}

Hingegen kodieren Tumorsuppressorgene für proliferationshemmende Proteine. Diese Proteine, wie beispielweise die am meisten erforschten *p53* und *BRCA1/BRCA2*, sind unter anderem auch an der DNA-Reparatur, Einleitung des programmierten Zelltods (Apoptose) sowie am Zellzyklusarrest beteiligt.¹⁴⁻¹⁶ Diese Prozesse sind zum einen dafür verantwortlich, dass Mutationen in den Zellen rechtzeitig erkannt und nach Möglichkeit repariert werden. Zum anderen verhindern diese die Proliferation der irreparabel mutierten Zellen. Falls eine Mutation im Tumorsuppressorgen vorliegt, teilen sich die geschädigten Zellen uneingeschränkt weiter und übertragen die persistenten Mutationen auf weitere Generationen.^{17,18} Für die Transformation einer gesunden Zelle in eine Tumorzelle sind mehrere Mutationen erforderlich. Dies führt dazu, dass Personen, die mutierte Allele eines Onkogens bzw. Tumorsuppressorgens geerbt haben, mit einer größeren Wahrscheinlichkeit an Krebs



erkranken, wodurch sich die genetische Veranlagung der Erkrankung erklärt.^{19,20} Darüber hinaus häufen sich Mutationen durch Umwelteinflüsse mit dem Alter an, weswegen ältere Menschen eine besondere Risikogruppe darstellen. Dies führt in der heute immer älter werdenden Gesellschaft zu einer erhöhten Anzahl an Krebserkrankungen. Das Risiko an Krebs zu erkranken wird auch durch Übergewicht, einen hohen Rotfleischkonsum, Alkoholkonsum und bestimmte Umwelteinflüsse, wie UV-Strahlung und kanzerogene Stoffe, die zum Beispiel reichlich in Tabakrauch enthalten sind, gesteigert.²¹⁻²⁴ Außerdem sind bestimmte Viren in der Lage, Krebs hervorzurufen. Beispiele hierfür sind manche Typen des humanen Papillomavirus (HPV), die mit der Entstehung von Gebärmutterhalskrebs in Verbindung gebracht werden.^{25,26} Weiterhin kann eine Infektion mit HTLV-1 (*human t-cell leukemia/lymphoma virus type 1*) die adulte T-Zell-Leukämie herbeiführen.^{27,28}

Während benigne Tumoren am Entstehungsort verbleiben, metastasieren maligne Tumoren in verschiedene Gewebe und Organe. Eine entscheidende Rolle bei der Tumorprogression spielt der Sauerstoffmangel (Hypoxie) im Gewebe eines primären Tumors. Die Hypoxie ruft die Freisetzung der Signalstoffe HIF-1 α und HIF-2 α (*hypoxia-inducible factors*) hervor, die mit Metastasierung und Angiogenese in Verbindung stehen.²⁹⁻³¹ Die induzierten Signalwege bewirken, dass die Tumorzellen Kontakt zu den Nachbarzellen und der extrazellulären Matrix verlieren, was es ihnen erlaubt, über Blut- und Lymphgefäße in andere Gewebe zu wandern.³² Zudem setzen die hypoxischen Tumorzellen weitere Wachstumsfaktoren frei, die zur Angiogenese, der Bildung von neuen Blutgefäßen, führen, wobei der Wachstumsfaktor VEGF (*vascular endothelial growth factor*) von besonderer Relevanz ist. Die neugebildeten Blutgefäße versorgen die Tumoren schließlich mit Sauerstoff und Nährstoffen, wobei deren erhöhte Permeabilität ebenfalls die Migration der Metastasen begünstigt.^{33,34}

Aufgrund der vielfältigen Komplikationen und hoher Letalität der onkologischen Erkrankungen werden stets neue Behandlungsmethoden entwickelt, welche die Mängel der herkömmlichen Verfahren überwinden und die Erfolgsquote der Krebstherapie steigern sollen. Tatsächlich sind die meisten heutzutage angewendeten Krebsbehandlungsmethoden mit vielerlei noch immer nicht behobenen Problemen verbunden. Hierbei wird zwischen invasiven (operative Entfernung) und nicht-invasiven Behandlungsmethoden unterschieden. Eine der klassischen, nicht-invasiven Methoden zur Bekämpfung eines örtlich begrenzten Tumors ist nach dem chirurgischen Entfernen beispielweise die Radiotherapie. Die kurzwellige elektromagnetische Strahlung bewirkt DNA-Schäden, die zum Tod der Zelle führen, allerdings kann die Behandlung dadurch erschwert werden, dass Tumorzellen oft DNA-Resistenzmechanismen entwickeln. Einige dieser Mechanismen sind auf die Hypoxie-induzierten Faktoren zurückzuführen, weshalb deren Hemmung die Wirkkraft der Behandlung signifikant verbessern kann.^{35,36} Ein weiteres Problem ist, dass die Strahlentherapie an sich aufgrund der induzierten DNA-Schäden höchst mutagen auch für das umliegende gesunde Gewebe ist.³⁷



Für die Behandlung von bösartigen, metastasierenden Tumoren wird in den meisten Fällen die Chemotherapie eingesetzt. Die hierfür verwendeten Wirkstoffe, Chemotherapeutika, zirkulieren über die Blutbahn im ganzen Körper und greifen die proliferierenden Zellen an. Nachteilig hierbei ist jedoch, dass auch gesunde, sich teilende Zellen angegriffen werden.³⁸ Dies führt zu den typischen Nebenwirkungen der meisten Chemotherapeutika, wie zum Beispiel Übelkeit, Haarausfall sowie Suppression des Immunsystems und der Blutzellneubildung. Die gängigsten für die Chemotherapie eingesetzten Wirkstoffe entfalten ihre therapeutische Wirkung über die DNA-Interkalation (Doxorubicin) und somit Schädigung von schnell proliferierenden Zellen, Beeinträchtigung der DNA-Replikation und -Transkription durch Hemmung der hierfür zuständigen Enzyme (Irinotecan) sowie den Eingriff in die Zellteilung unter anderem über die Stabilisierung der Mikrotubuli (Paclitaxel).³⁹⁻⁴¹ Diese zeigen allerdings alle die bekannten, langfristigen Nebenwirkungen von Chemotherapeutika wie Kardiotoxizität, Neutropenie, Thrombozytopenie und Hepatotoxizität.^{40,42,43} Um in Zukunft diese Nebenwirkungen zu vermeiden und gesundes, proliferierendes Gewebe zu schonen, wird nach neuen, gezielt steuerbaren Krebsbehandlungsmethoden geforscht. Diese neuartigen Methoden werden in den folgenden Einleitungskapiteln thematisiert.

2.2 Gezielter Wirkstofftransport für die Tumorthherapie

Ein Teil der zahlreichen Probleme der konventionellen Krebsbehandlung lässt sich durch den Einsatz der Nanotechnologie für medizinische Zwecke angehen. Die Nanotechnologie beschäftigt sich mit der Herstellung von Materialien und Produkten auf molekularer Skala. Die Entwicklung von nanopartikulären Systemen für unterschiedliche Anwendungsgebiete ist aufgrund der bemerkenswerten Eigenschaften der Nanopartikel von besonderem Interesse. Als Nanopartikel werden Teilchen bezeichnet, deren Größe unter 100 nm liegt. Diese verfügen über ein außergewöhnlich großes Oberfläche-zu-Volumen-Verhältnis und zeichnen sich hiermit je nach Material durch eine erhöhte katalytische Aktivität sowie chemische Reaktivität aus. Diese Besonderheiten der nanoskaligen Materialien werden in der Nanomedizin für den gezielten Transport von therapeutisch aktiven Wirkstoffen ausgenutzt.^{44,45}

Das Hauptziel des Forschungsgebiets, das sich mit dem gezielten Wirkstofftransport (*drug delivery*) befasst, ist die spezifische Anreicherung von therapeutisch aktiven Substanzen im betroffenen Organ oder Gewebe. Dadurch kann die notwendige Gesamtdosis eines Wirkstoffs deutlich geringer gehalten und die Bioverfügbarkeit erhöht werden. Im Falle der Krebstherapie können die Nebenwirkungen der herkömmlichen Chemotherapeutika stark verringert werden, da die Wirkung des Therapeutikums erst im Tumorgewebe entfaltet wird und die gesunden Zellen somit nicht angegriffen werden. Anhand des Mechanismus des gewebespezifischen Wirkstofftransports wird zwischen der passiven und aktiven Ansteuerung unterschieden.⁴⁶

Für die passive Ansteuerung wird die spezifische Mikroumgebung des Tumorgewebes genutzt, die im gesunden Gewebe nicht auftritt. Der Grund hierfür ist hauptsächlich das ausgeprägte Wachstumsverhalten und die verstärkte Bildung von neuen Blutgefäßen. Während der Angiogenese werden Wachstumsfaktoren (VEGF, PDGF und TGF- β), verschiedene Signalmoleküle (Stickstoffmonoxid, Prostaglandine) sowie Proteasen freigesetzt, die für die Auflösung der *Tight Junctions* und anderer zellulärer Kontakte sorgen.⁴⁷⁻⁵² Die Ausschüttung dieser Signalmoleküle sowie das schnelle und konstante Wachstum führen wiederum zur Ausbildung von Fenestrierungen im Endothel mit Größen zwischen 0,3 und 4,7 μm .^{53,54} Diese kleinen Öffnungen erleichtern die Versorgung des Tumorgewebes mit Nährstoffen.^{33,34} Zudem erlaubt die erhöhte Permeabilität der Blutgefäße eine ungestörte Migration der Tumorzellen mit der anschließenden Bildung von Metastasen.³⁴ Außerdem zeichnet sich das Tumorgewebe durch einen Mangel an Lymphdrainage sowie einen im Vergleich zu gesundem Gewebe niedrigeren pH-Wert (bis 5,7) aus.⁵⁵ Letzterer kommt durch die Bildung von Milchsäure in hypoxischen Bereichen des Tumors zustande. Durch diese besonderen Charakteristiken der Tumorumgebung lässt sich der sogenannte EPR-Effekt (*enhanced permeability and retention*) erklären, weswegen Makromoleküle und Nanopartikel bis zu einer Größe von ca. 100-150 nm verstärkt im Tumor angereichert und zurückgehalten werden (Abb. 1). Der EPR-Effekt ist der entscheidende Faktor für die passive Ansteuerung von Wirkstoffen.^{53,56,57} Allerdings können sich die passiv angesteuerten Medikamente unter Umständen auch in der Leber und der Milz anreichern, deren Blutgefäße eine ähnliche Durchlässigkeit aufweisen. Dies kann die Wirksamkeit der Behandlung beschränken und zu toxizitätsbedingten Nebenerscheinungen führen. Außerdem ist eine ähnliche Mikroumgebung auch bei entzündeten Geweben zu finden. Dies kann zwar für den gezielten Transport von antiinflammatorischen Wirkstoffen verwendet werden, andererseits kann dadurch die Selektivität der Krebsbehandlung beeinträchtigt werden.⁵³

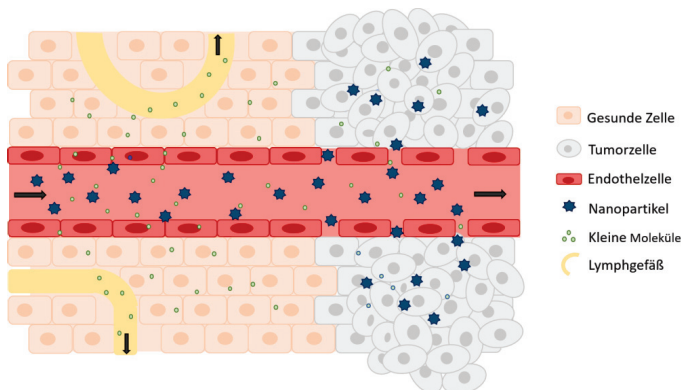


Abb. 1: Spezifische Anreicherung von Nanopartikeln im Tumorgewebe durch den EPR-Effekt.



Bei der aktiven Ansteuerung von Wirkstoffen wird die Überexpression von spezifischen Rezeptoren auf der Oberfläche der Tumorzellen ausgenutzt. Hierbei sind beispielsweise die Folsäure-Rezeptoren (FR), die bei 90 % der Eierstock- und Gebärmutterschleimhauttumoren mit einer überdurchschnittlichen Häufigkeit auf der Tumorzelloberfläche vorkommen, von besonderer Relevanz.⁵³ Der hohe Bedarf der sich schnell teilenden Tumorzellen an Folsäure lässt sich durch ihre signifikante Rolle bei der Synthese der Nukleinbasen erklären.⁵⁸ Durch das Anbringen von Folsäureresten auf der Nanopartikeloberfläche können diese direkt zu den Folsäure-Rezeptoren im Tumorgewebe gesteuert werden. Anschließend können die Nanopartikel direkt durch die FR-vermittelte Endozytose aufgenommen werden.^{53,59} Außerdem ist die Modifikation der Nanopartikeloberfläche mit Antikörpern gegen Wachstumsfaktoren wie EGF (*epidermal growth factor*) ein häufiger Ansatz für die aktive Tumoransteuerung.^{60,61}

Als nanoskalige Wirkstofftransporter dienen häufig Liposomen. Dies sind künstliche Vesikel, die aus einer Phospholipid-Doppelschicht bestehen und sich hervorragend zum Transport von hydrophilen Arzneimitteln eignen. Zudem können Liposomen auch zum Transport von hydrophoben Wirkstoffen eingesetzt werden, indem das Therapeutikum in die Phospholipidmembran eingebaut wird. Die hydrophile Oberfläche der Liposomen sorgt für eine verbesserte Bioverfügbarkeit der verkapselten Substanzen.⁶² Einige in Liposomen verkapselte Chemotherapeutika, wie zum Beispiel das liposomale Doxorubicin (Doxil[®], Myocet[®]), werden bereits klinisch zur Krebsbehandlung eingesetzt.^{63,64} Die Verkapselung in Liposomen soll die Nebenwirkungen der Wirkstoffe verringern, einen gezielten Transport ins Tumorgewebe über den EPR-Effekt begünstigen und die Zirkulationszeit vor einem metabolischen Abbau im Blutkreislauf verlängern.⁶⁵ Die nanopartikeläre Verpackung der Wirkstoffe ermöglicht außerdem eine Kombination verschiedener therapeutischer Ansätze.^{66,67} Aufgrund der Immunogenität vieler Lipide ist die intravenöse Verabreichung der in Liposomen verkapselten Wirkstoffe jedoch problematisch. Allerdings verhindert eine Modifizierung der Nanopartikeloberfläche mit Polyethylenglykol deren Opsonierung durch die Komplementfaktoren des Blutserums und setzt somit den Abbau der Nanopartikel durch Makrophagen herab.^{68,69}

Ein weiteres Problem, das sich durch die Verkapselung von Medikamenten in Nanopartikeln angehen lässt, ist die Mehrfachresistenz (*multidrug resistance*, MDR) der Tumorzellen gegenüber verschiedenen Chemotherapeutika. Dieses Phänomen beruht hauptsächlich auf der Überexpression von Effluxpumpen in der Zellmembran von Tumorzellen. Die bekanntesten Beispiele hierfür sind das P-Glykoprotein (P-gp) und die Proteine der MRP-Familie (*multidrug resistance associated protein*). Der verstärkte Wiederaustritt der aufgenommenen Therapeutika aus der Zelle beeinträchtigt die Pharmakokinetik, die Bioverfügbarkeit und die Effizienz der Behandlung. Durch die Verpackung in Nanopartikeln ist



es jedoch möglich, Chemotherapeutika mit MDR-Inhibitoren zu kombinieren.^{55,70,71} So wurde zum Beispiel gezeigt, dass die Verabreichung von in Liposomen verkapseltem Doxorubicin zusammen mit Verapamil (ein Inhibitor des P-gp) die Effizienz der Chemotherapie steigert.⁷² Außerdem werden die über Endozytose aufgenommenen Therapeutika oft als Prodrugs in modifizierter Form freigesetzt, die oftmals keine Liganden der Effluxpumpen sind und somit nicht ausgeschleust werden. Durch die kontrollierte Freisetzung der verkapselten Wirkstoffe aus verschiedenen Carriern kann die Mehrfachresistenz ebenfalls umgangen werden. Hierbei wird die Wirkstoffdosis so angepasst, dass sie die Beladungskapazität der Effluxpumpen übersteigt. Die Strategien hierzu umfassen Strukturen, die auf verschiedene Stimuli wie die Änderung des pH-Wertes, ein reduzierendes intrazelluläres Milieu sowie Licht, Magnetfeld oder Ultraschallwellen reagieren.⁵⁵ Am häufigsten wird hierbei die im Vergleich zu gesundem Gewebe saure Tumorumgebung sowie der niedrige pH-Wert im Inneren der Lysosomen (pH 4,5 - 5,5) ausgenutzt.^{55,73} Die Wirkstofffreisetzung kann in diesem Fall durch säurelabile Bindungen (z.B. Ester-, Hydrazon-, Acetal-, Ketalbindungen) oder durch protonierbare funktionelle Gruppen (Amino-, Imidazolyl- und Carboxylgruppen) erreicht werden.^{55,74,75} So kann zum Beispiel ein hydrophiler, physiologisch inerte Wirkstoff durch die Protonierung in eine hydrophobe Form übergehen und die Endosomenmembran zerstören.⁵⁵

Quervernetzte Polymere mit einer sehr hohen Wasserbindungskapazität, sogenannte Hydrogele, sind ebenfalls hervorragend als Transportsysteme für kontrollierte Wirkstofffreisetzung geeignet. Die physikalischen Eigenschaften der Hydrogele lassen sich durch die Anpassung der chemischen Zusammensetzung und des Polymerisationsgrads fein justieren. Durch eine präzise Einstellung der Netzwerkcharakteristiken wie der Stabilität unter physiologischen Bedingungen, der mechanischen Verformbarkeit sowie der Porengröße kann die Freisetzung des verpackten Medikamentes gesteuert werden.⁷⁶ Neben Hydrogelen und Liposomen werden unter anderem auch nanopartikuläre Wirkstofftransporter auf Basis von Mizellen, Dendrimeren, Quantenpunkten und Kohlenstoff-Nanoröhrchen entwickelt (Abb. 2).⁷⁷⁻

80

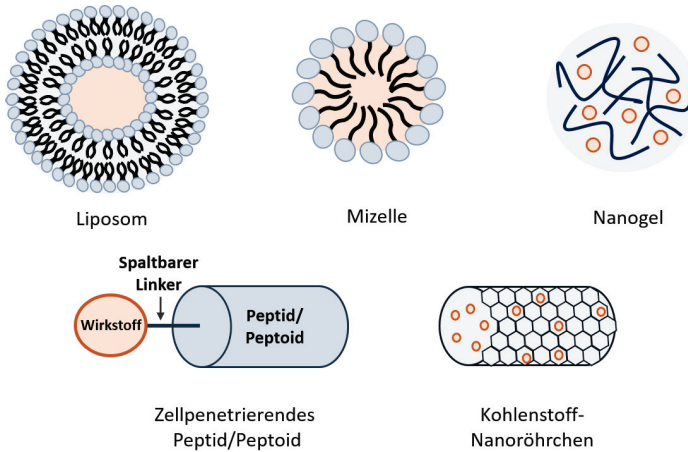


Abb. 2: Schematische Darstellung ausgewählter *drug delivery* Systeme.

Neben der Verpackung von Substanzen existieren noch weitere Methoden zum zell- oder gewebespezifischen Wirkstofftransport. Ein Beispiel hierfür sind die zellpenetrierenden Peptide (CPPs, *cell penetrating peptides*). Die CPPs können die Zellmembran direkt durchdringen und erleichtern somit die Aufnahme der kovalent gebundenen Moleküle.^{81,82} Sie können als Carrier für Moleküle eingesetzt werden, deren Molekulargewicht und Größe ihre eigenen um ein Vielfaches übersteigen.⁸³ Allerdings werden die CPPs rasch von den körpereigenen Proteasen und Peptidasen erkannt und abgebaut.⁸⁴ Die Biostabilität der Transporter kann durch einen Einsatz von Peptidomimetika, beispielweise den Peptoiden, gesteigert werden. Peptoide sind *N*-substituierte Oligoglycine, deren Struktur jener der Peptide ähnelt, wobei die Seitenketten im Gegensatz zu Peptiden vom α -Kohlenstoffatom auf das Stickstoffatom verschoben sind (Abb. 3). Dadurch wird der enzymatische Abbau der Peptoide verhindert, was deren Bioverfügbarkeit wesentlich verbessert.⁸⁵ Die Spezifität der zellulären Aufnahme der Peptoide lässt sich durch die Anpassung ihrer Eigenschaften wie der Hydrophilie und der Ladung steuern.⁸⁶ Daneben kann durch die Zyklisierung des Rückgrats die Stabilität der Peptoide noch zusätzlich erhöht werden.⁸⁷

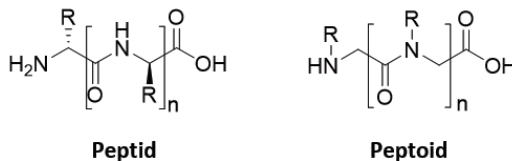


Abb. 3: Peptid- und Peptoidgrundstrukturen.



Nanoskalige Systeme können nicht nur als Transporter für bestimmte Wirkstoffe fungieren, sondern auch selbst ein therapeutisches Potenzial aufweisen. Ein Beispiel hierfür sind die sogenannten SPIONS (*superparamagnetic iron oxide nanoparticles*) – superparamagnetische Eisenoxid-Nanopartikel ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$, Fe_3O_4), die eine hyperthermale Wirkung im Tumorgewebe entfalten und somit zum Absterben der Tumorzellen führen.⁸⁸ Die für die Hyperthermie-basierte Tumorthherapie ebenfalls geeigneten Goldnanopartikel werden aufgrund der Fähigkeit von Gold, Röntgenstrahlen verstärkt zu absorbieren, auch als Radiosensitizer in der Strahlentherapie eingesetzt.⁸⁹ Nanopartikuläre Strukturen können wiederum für die photodynamische Krebstherapie eingesetzt werden.⁹⁰ Diese besonders milde Art der Krebstherapie wird im nächsten Einleitungskapitel ausführlich behandelt.

2.3 Photodynamische Therapie

Die photodynamische Tumorthherapie (PDT) zählt zu den besonders vielversprechenden und gleichzeitig auch schonenden Krebsbehandlungsmethoden.^{91,92} Hierbei handelt es sich um ein Zusammenspiel von drei notwendigen Komponenten: einem lichtsensitiven Wirkstoff (Photosensibilisator), lokal appliziertem Licht und im Gewebe vorhandenem Sauerstoff.⁹³ Da der Photosensibilisator erst nach der Bestrahlung eine zytotoxische Wirkung aufweist, kann das Tumorgewebe gezielt und minimal invasiv angegriffen werden, was wiederum eine Verminderung der Nebenwirkungen im gesunden Gewebe bedeutet.⁹⁴ Nach der Lichtaktivierung erfolgt ein Energietransfer vom Photosensibilisator auf den molekularen Sauerstoff, was zur Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies in der Zelle führt, welche zelluläre Strukturen schädigen. Die photodynamische Reaktion läuft folgendermaßen ab: das Photosensibilisator-Molekül im Singulettzustand wird zunächst durch Photonenabsorption vom energiearmen Grundzustand in einen kurzlebigen, angeregten Singulettzustand überführt. Das angeregte Molekül kann aus diesem energiereichen Zustand entweder unter Photonenabgabe zurück in den Grundzustand relaxieren, was für fluoreszenzbasierte Bildgebungsverfahren genutzt werden kann, oder über das *Intersystem Crossing* in einen relativ langlebigen Triplettzustand übergehen, der für die PDT interessant ist.^{90,95} Aus diesem Zustand kann der Energietransfer mit der anschließenden Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies nach zwei Mechanismen ablaufen: bei der Reaktion vom Typ I interagiert der Photosensibilisator im Triplettzustand mit zelleigenen Substraten wie der Zellmembran sowie Biomolekülen und es erfolgt ein Wasserstoffatom-Transfer (Elektrontransfer) unter Bildung von hochreaktiven Radikalen ($\cdot\text{OH}$, $\text{O}_2\cdot^-$) und Peroxiden.⁹⁶ Die Typ II Reaktion beruht auf dem Phänomen von Triplett-Triplett-Annihilierung und gleichzeitig auf der seltenen Eigenschaft des molekularen Sauerstoffs, dass dieser sich in seinem energetischen Grundzustand in einem Triplettzustand befindet.^{90,97} Das Photosensibilisator-Molekül im Triplettzustand kann die Energie daher direkt auf den Triplett-Sauerstoff