

## Marilena Manea: Zielgerichtete Chemotherapie gegen Krebs

**Krebs ist nach Herz-Kreislauf-Erkrankungen die zweithäufigste Todesursache in Deutschland. Weltweit starben im Jahr 2007 zirka 7,9 Mio. Menschen an Krebs – das sind 13 Prozent aller Todesfälle. Durch die älter werdende Gesellschaft wird die Zahl der Todesfälle durch Krebs ansteigen, die durchschnittliche Heilungsrate jedoch stagniert seit 20 Jahren. Deshalb ist die Entwicklung neuer therapeutischer Strategien zur Behandlung von Krebs von großem Interesse. An der Universität Konstanz beschäftigen sich Dr. Marilena Manea und ihre Nachwuchsgruppe unter anderem mit der Entwicklung sogenannter Biokonjugate für eine zielgerichtete Krebs-Chemotherapie. Ziel ist es, die Wirkung und Verträglichkeit bereits in der Klinik etablierter Chemotherapeutika zu verbessern.**



Dr. Marilena Manea von der Uni Konstanz beschäftigt sich mit der Entwicklung von Biokonjugaten für eine zielgerichtete Krebs-Chemotherapie.

© Michael Latz

Trotz der großen Bemühungen, neuartige Wirkstoffe für die Krebstherapie zu entwickeln, ist Chemotherapie immer noch die am häufigsten angewendete Behandlungsstrategie. Vor allem für metastasierende oder sehr große Tumoren ist eine Chemotherapie oft die einzige Therapieoption. Allerdings hat die konventionelle Chemotherapie viele Nachteile, wie zum Beispiel die unselektive Wirkung auf alle sich schnell teilenden Zellen, die zu Haarausfall, Übelkeit und Herzmuskelschäden führen kann. Des Weiteren werden klassische Zytostatika schnell metabolisiert, was jedoch die Gabe von höheren Dosen erfordert und wiederum die Nebenwirkungen verstärkt. Nicht selten werden Krebszellen im Verlauf einer Chemotherapie resistent, was wiederum die Gabe stärkerer Medikamente erfordert.

Durch die zielgerichtete Chemotherapie können diese Nachteile freier Zytostatika überwunden werden. Bei diesem Ansatz wird versucht, nur kranke Zellen zu schädigen, die gesunden jedoch zu verschonen und damit die Nebenwirkungen der Chemotherapie drastisch zu senken. "Für die zielgerichtete Chemotherapie werden Rezeptoren oder andere Zielmoleküle auf der Zelloberfläche benötigt, die nur auf Krebszellen exprimiert werden", erklärt Dr. Marilena Manea.

## Fokussierung auf Biokonjugate

Ein Beispiel für solche Moleküle sind die Rezeptoren für das Gonadotropin-Releasing-Hormon (GnRH), die auf vielen verschiedenen Krebstypen vermehrt vorkommen, während sie auf den gesunden Geweben kaum zu finden sind. "Aus diesem Grund können das GnRH-Peptid bzw. seine Analoga als Trägermolekül für Zytostatika verwendet werden", berichtet Dr. Manea. Durch die rezeptorvermittelte Aufnahme des Hybridwirkstoffs aus GnRH und Zytostatikum, eines sogenannten Biokonjugats, werden nur Krebszellen geschädigt, die den GnRH-Rezeptor exprimieren. Gesunde Zellen nehmen das Biokonjugat nicht auf und werden verschont. „Die Spezifität dieser Wirkstoffe führt zu einer höheren Konzentration des Zytostatikums im Tumor, dadurch wird die Effizienz der Chemotherapie bedeutend verbessert, während die Nebenwirkungen minimiert werden“, erläutert Marilena Manea. Die Biokonjugate müssen im Blutkreislauf generell stabil sein, jedoch nach der Aufnahme in die Krebszellen in den Lysosomen gespalten werden.

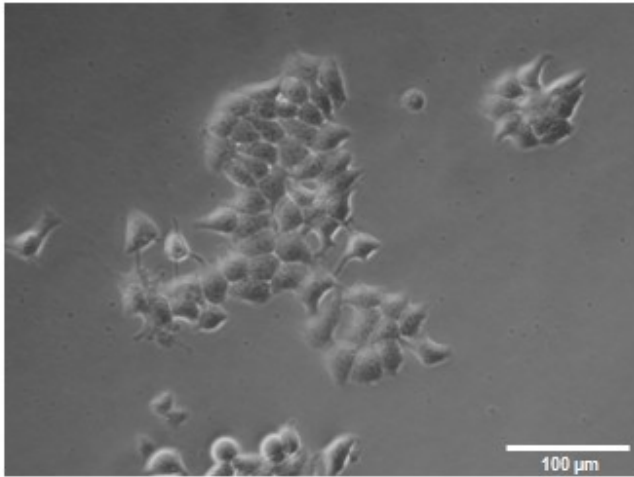
Seine physiologische Rolle hat das Peptidhormon GnRH in der Kontrolle der Reproduktion. Durch die Ausschüttung der gonadotropen Hormone LH (luteinizing hormone) und FSH (follicle stimulating hormone), wird die Sekretion von Sexsteroiden angeregt. „Dieser endokrine Effekt von GnRH und seinen Analoga ist jedoch in der Tumorthherapie nicht erwünscht, da Sexsteroiden häufig eine wachstumsfördernde Wirkung auf Tumoren, vor allem des reproduktiven Traktes haben“, konstatiert die Konstanzer Wissenschaftlerin. Deshalb konzentriert sich die Entwicklung neuer GnRH-Analoga auf eine Minimierung des hormonellen Effekts bei einer gleichzeitigen Erhöhung der Antitumoraktivität. Das vielversprechendste GnRH-Analogon wurde aus dem Meererneunauge (*Petromyzon marinus*) isoliert und heißt GnRH-III. „Es konnte gezeigt werden, dass dieses GnRH-Analogon an GnRH-Rezeptoren bindet und im Gegensatz zu humanem GnRH und dessen Analoga eine niedrigere endokrine Wirkung besitzt“, so Dr. Marilena Manea. Des Weiteren hat GnRH-III selbst einen antiproliferativen Effekt. Diese Eigenschaften zeigen die Überlegenheit des GnRH-III als Trägermolekül für die zielgerichtete Chemotherapie.

## Abspaltung des Biokonjugats im Blutkreislauf verhindern

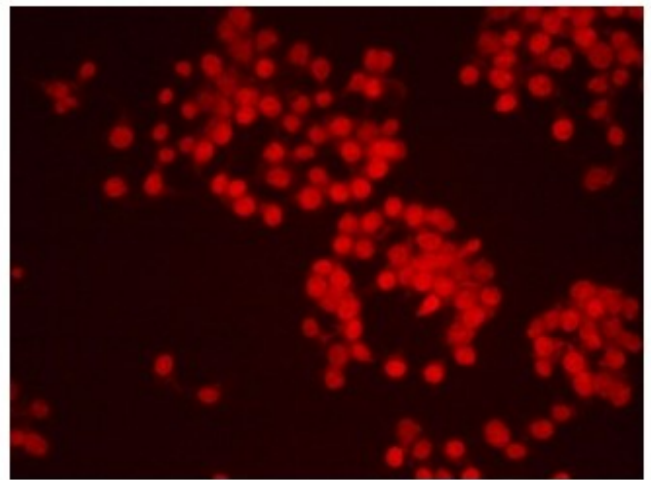
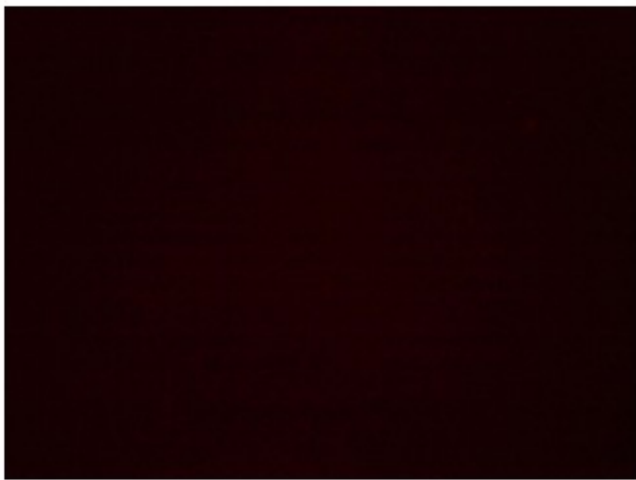
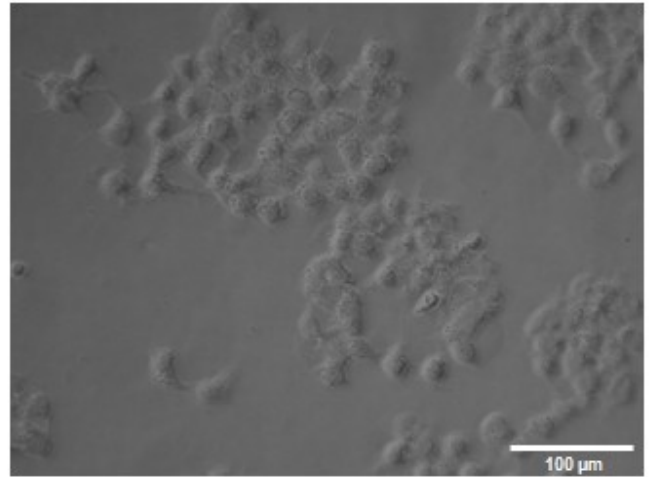
Zur Entwicklung von zielzellspezifischen Chemotherapeutika werden verschiedene Zytostatika (z.B. Daunorubicin, Doxorubicin, Methotrexat oder Camptothecin) an das GnRH-III-Molekül gekoppelt. „Nach der Bindung an den GnRH-Rezeptor werden die Biokonjugate internalisiert und erst dort, in den Lysosomen, weiter degradiert“, fasst die Forscherin zusammen. Dadurch wird eine verfrühte Abspaltung des Chemotherapeutikums verhindert. Entscheidend für die Wirksamkeit der Biokonjugate sind verschiedene Faktoren, wie zum Beispiel die Art des Zytostatikums oder die chemische Bindung zwischen GnRH-III und dem Zytostatikum. In ihren Studien untersuchen Dr. Marilena Manea und ihr Team unter anderem den Einfluss verschiedenener GnRH-III-Analoga, chemischer Bindungen zwischen Wirkstoff und GnRH-III sowie den Einsatz von unterschiedlichen Zytostatika auf die In-vitro-Stabilität und Zellaufnahme, sowie die Antikrebswirkung dieser modifizierten Biokonjugate.

Die Konstanzer Arbeitsgruppe synthetisiert die Biokonjugate hierbei durch eine Kombination von

Kontrolle



6 h mit dem Biokonjugat behandelt

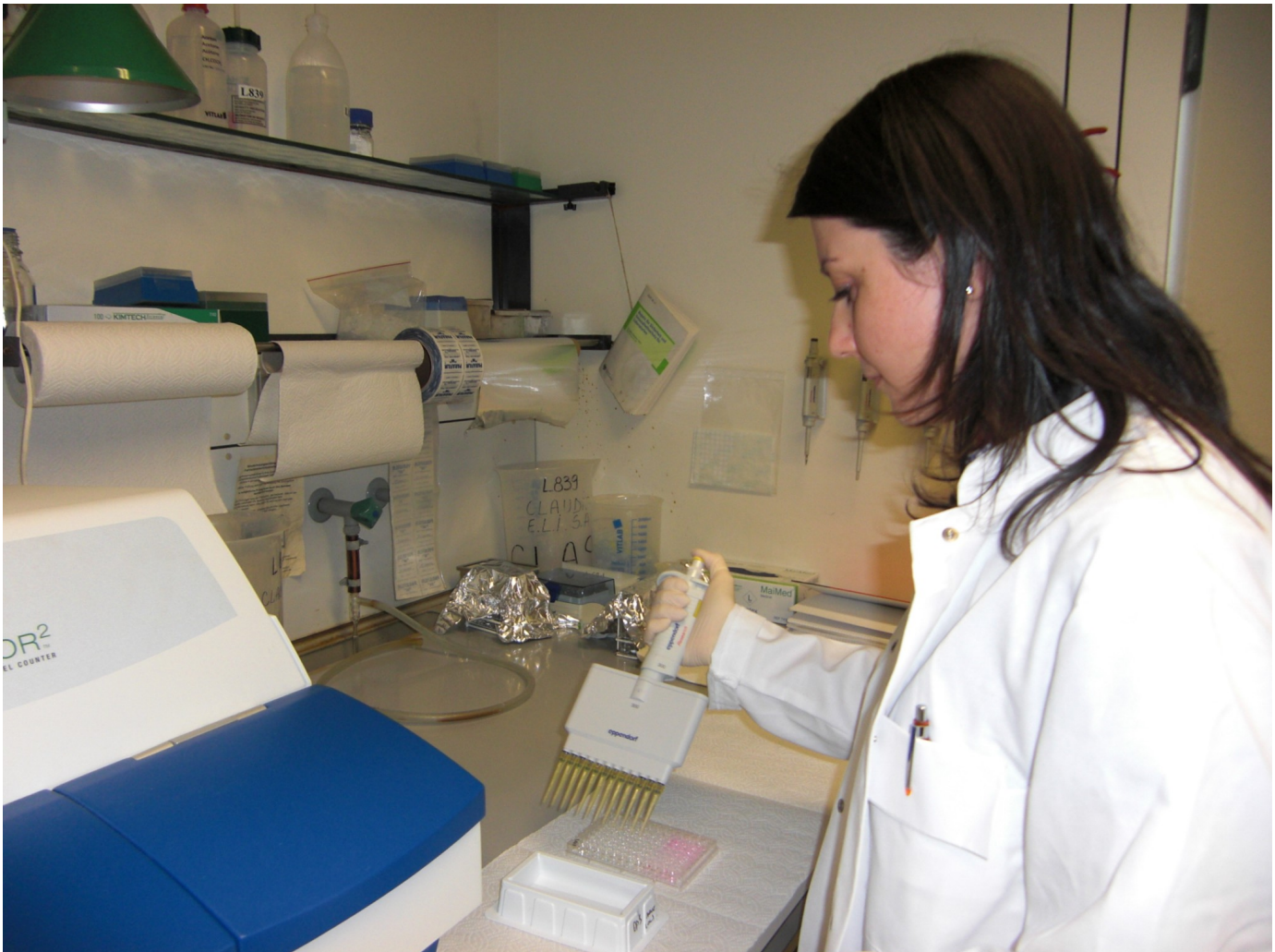


Direkte Detektion eines Anthracyclin-GnRH-III Biokonjugats in MCF-7 Brustkrebszellen mittels Fluoreszenzmikroskopie  
© Marilena Manea

Festphasenpeptidsynthese und verschiedenen Ligationsmethoden. Da es für die korrekte Bestimmung der Antikrebswirkung der Biokonjugate besonders wichtig ist, über deren Reinheit und molekulare Beschaffenheit Bescheid zu wissen, wird nach der Reinigung durch Hochdruckflüssigchromatographie und der massenspektrometrischen Analyse auch die Sekundärstruktur der Biokonjugate durch Zirkulardichroismus-Spektroskopie untersucht. Ein wichtiger Aspekt für die therapeutische Anwendung dieser Biokonjugate ist deren enzymatische Stabilität, unter anderem in humanem Serum, in lysosomalen Präparaten und von Verdauungsenzymen wie beispielsweise Cathepsin B. „So müssen die Wirkstoffe zum Beispiel im Blutkreislauf stabil sein – um nach einer intravenösen Gabe die frühzeitige Abspaltung des Zytostatikums und damit starke Nebenwirkungen zu verhindern“, so die Chemikerin. Bei einer oralen Gabe muss die Wirkung der verschiedenen Verdauungsenzyme in Magen und Darm auf die Biokonjugate berücksichtigt werden.

## Multifunktionelle Biokonjugate gefragt

Zur Untersuchung der Aufnahme („cellular uptake“) der synthetisierten Biokonjugate durch Krebszellen nehmen Dr. Manea und ihre Kollegen Durchflusszytometrie- und Fluoreszenzmikroskopie-Messungen vor. Es konnte hierbei gezeigt werden, dass alle Biokonjugate von den Zellen aufgenommen werden. „Die zytotoxische Aktivität der Wirkstoffe wurde an



Mithilfe von Durchflusszytometrie- und Fluoreszenzmikroskopie-Messungen untersucht Dr. Manea die Aufnahme der synthetisierten Biokonjugate durch Krebszellen.  
© Universität Konstanz

verschiedenen humanen Krebszelllinien, wie z.B. MCF-7 Brustkrebs, HT-29 Darmkrebs und LNCaP Prostatakrebs, durch den MTT-Test (MTT: 3-(4,5-Dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromid) untersucht“, sagt Marilena Manea. In ersten Tierversuchen an Mäusen, die ein Darmkarzinom tragen, konnte die Spezifität und Wirksamkeit von verschiedenen Biokonjugaten bereits erfolgreich in vivo demonstriert werden.

Ein weiterer Ansatz, um die Wirksamkeit der Biokonjugate zu erhöhen, ist die Entwicklung von Wirkstoffen, die mehr als nur ein Zytostatikum enthalten. „Da die Zahl der GnRH-Rezeptoren auf der Oberfläche von Krebszellen begrenzt ist, könnten multifunktionelle Biokonjugate die therapeutische Effizienz deutlich erhöhen“, bemerkt Dr. Marilena Manea. Solche komplexen Verbindungen, die zwei identische oder verschiedene Chemotherapeutika enthalten (z.B. Daunorubicin, Methotrexat) wurden bereits erfolgreich entwickelt und es konnte gezeigt werden, dass ihre Antikrebswirkung im Gegensatz zu den monofunktionellen Wirkstoffen deutlich erhöht ist.

Der Weg zu einem Wirkstoff gegen Krebs sei Marilena Manea zur Folge noch weit. Jedoch gäbe es bereits „vielversprechende Kandidaten“ und die Erkenntnisse ihrer Forschergruppe liefern eine „Grundlage für die weitere Entwicklung von Hybridwirkstoffen mit verbesserter Serumstabilität sowie erhöhter zytotoxischer Aktivität“.

Zur Person:

Marilena Manea studierte Chemie und Physik an der „Al.I.Cuza“ Universität in Iasi, Rumänien. Nach einem einjährigen Forschungsaufenthalt an der Uni Konstanz im Laboratorium für Analytische Chemie und Biopolymerstrukturanalyse promovierte sie 2006 zum Thema „Design, structural and immuno-analytical properties of antigenic polypeptides comprising a  $\beta$ -amyloid-plaque specific epitope“ und entwickelte dabei unter anderem kombinierte B- und T-Zell-Epitop-Peptid-Biokonjugate als neue Leitstrukturen für Vakzine zur aktiven Immunisierung gegen Alzheimer. Nach mehreren Forschungsaufenthalten an der Ungarischen Akademie der Wissenschaften ist sie seit Juni 2008 Fellow des Zukunftskollegs und Nachwuchsgruppenleiterin am Fachbereich Chemie der Uni Konstanz. Momentan beschäftigt sie sich hauptsächlich mit zielgerichteter Krebschemotherapie (insbesondere rezeptorvermittelte Chemotherapie), mit peptidbasierten Wirkstoffen für die Immuntherapie sowie Proteinstrukturanalysen.

---

## **Fachbeitrag**

14.02.2011

mst

BioLAGO

© BIOPRO Baden-Württemberg GmbH

---

## **Weitere Informationen**

Dr. Marilena Manea

Universität Konstanz

Zukunftskolleg und Fachbereich Chemie

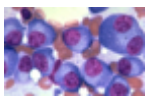
Analytische Chemie und Biopolymerstrukturanalyse

Tel.: +49(0)7531 / 88-2285

E-Mail: marilena.manea(at)uni-konstanz.de

---

## **Der Fachbeitrag ist Teil folgender Dossiers**



Krebstherapie und Krebsdiagnostik

# Universität Konstanz

