

1 Einleitung

1.1 Krebs

Bereits seit dem Mittelalter existieren Versuche, maligne Geschwülste mit Medikamenten zu behandeln. Zunächst kamen damals neben Arsen, Quecksilbersalzen und Schwefel auch pulverisierte Pflanzenteile von Hahnenfuß, Hundsfenchel und Schlangenzunge zum Einsatz. 1908 schlug dann Paul Ehrlich im Rahmen der beginnenden Erforschung der Entstehung und Bekämpfung von Krebserkrankungen Etylenimin als mögliches Therapeutikum vor.

In den Jahren 1940 bis 1950 begann die Entdeckung weiterer Zytostatika, unter anderem auf den Gebieten der N-Lost-Derivate, der Antimetabolite und der Hormone, aber auch auf dem Feld der pflanzlichen Wirkstoffe z. B. aus *Colchicum autumnale* und *Podophyllum peltatum* [1].

Bis heute nimmt die Krebsforschung einen hohen Stellenwert ein.

So findet aktuell ein Paradigmenwechsel in der Krebsforschung hinsichtlich der Entstehung von Krebszellen statt. Lange wurde geglaubt, dass ein Tumor aus einer Anhäufung gleichartiger, unbegrenzt teilungsfähiger, bösartiger Zellen besteht. Jedoch mehren sich die Hinweise darauf, dass möglicherweise Krebsstammzellen für das Entstehen von Krebs verantwortlich sein können [2].

Diese These wird gestützt durch die Beobachtungen von *Rubio et al.*, dass sich adulte Stammzellen bei einer *ex vivo*-Vervielfältigung spontan in Krebsstammzellen umgewandelt haben [3]. Außerdem konnte herausgefunden werden, dass bei einer Übertragung von humanen Brustkrebszellen mit verschiedenen Oberflächenmolekülen auf Mäuse nur eine kleine Population in der Lage war, dort einen Tumor auszubilden [4, 5].

Krebsstammzellen wurden bisher bei der akuten myeloischen Leukämie, bei Brustkrebs und dem Glioblastom nachgewiesen [6, 7].

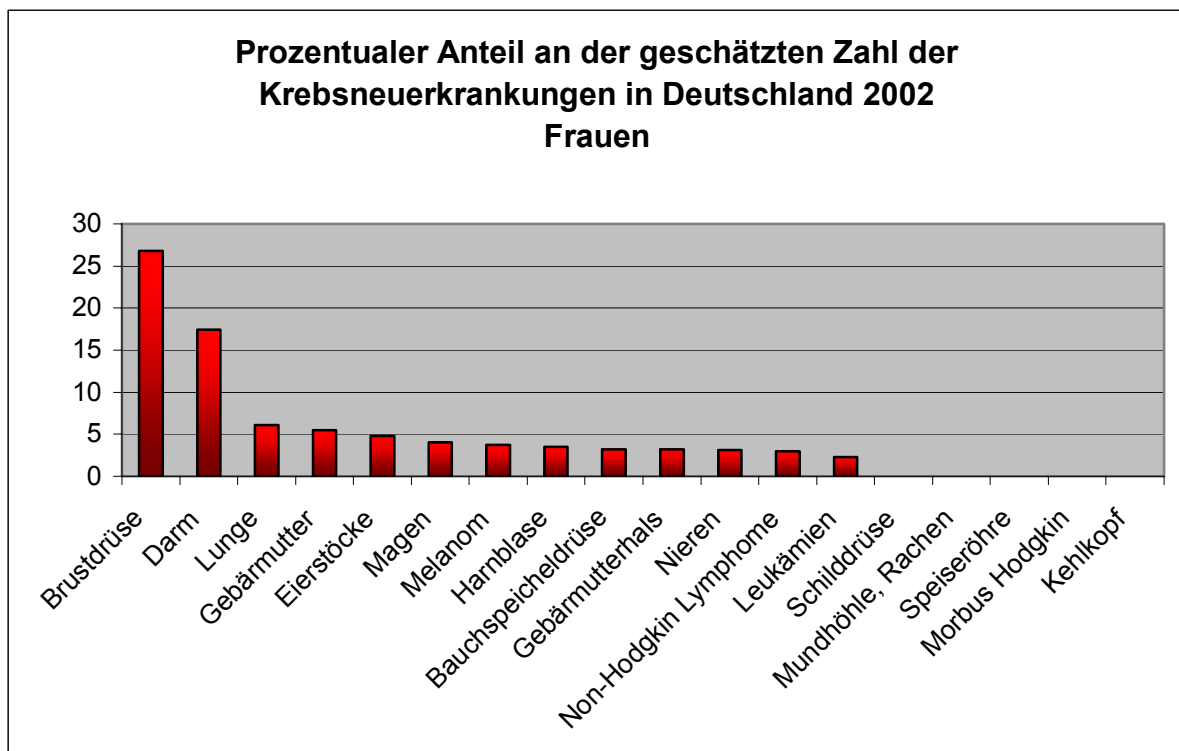
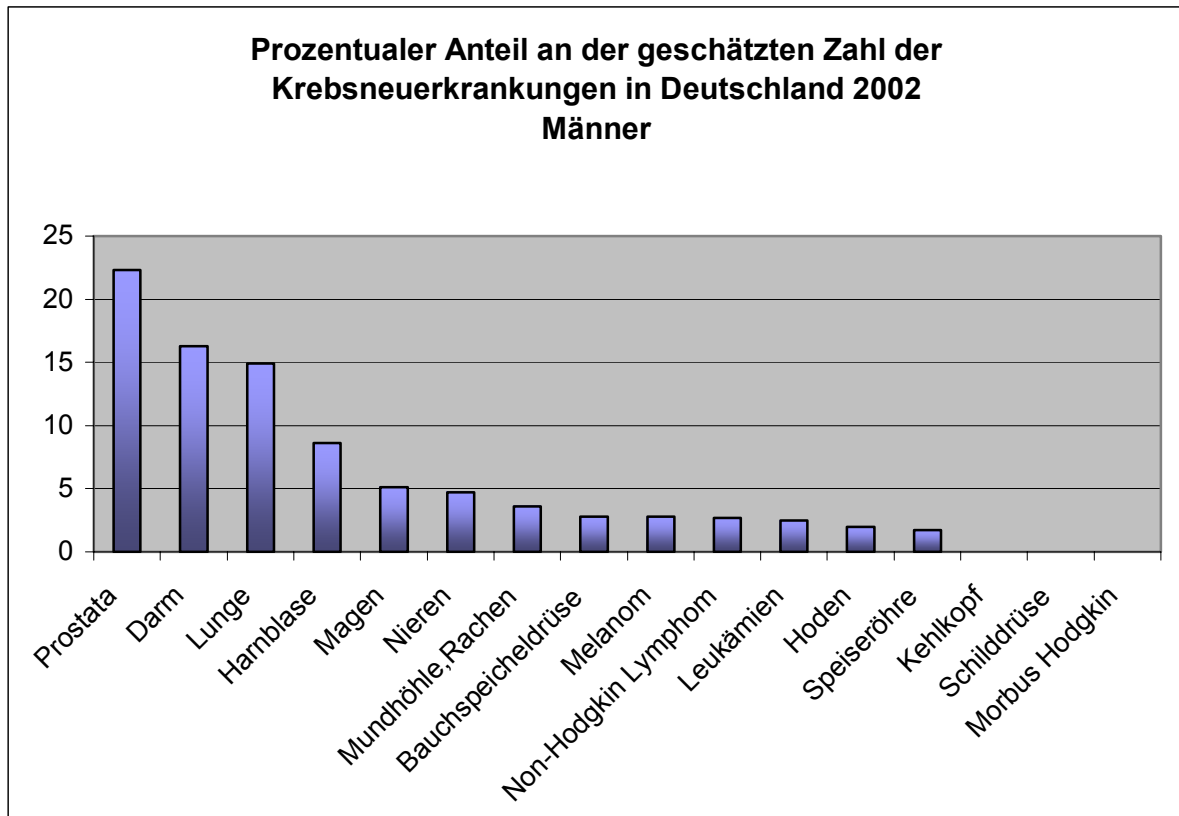
Bestätigen weitere Untersuchungen, dass sich Tumore aus Stammzellen bilden, wird die zukünftige Behandlung von Krebserkrankungen auf den spezifischen Angriff der Stammzellen abzielen und damit möglicherweise zur Heilung führen können.

Unter dem Begriff Krebs werden alle bösartigen Neubildungen von Körpergewebe zusammengefasst.

Nach den Herz-Kreislauferkrankungen stellen Krebserkrankungen in den industrialisierten Ländern die häufigste Todesursache dar. Allein in Deutschland erkranken jährlich etwa 420.000 Menschen an Krebs. Schätzungen zufolge wird die Zahl der Krebserkrankungen bis zum Jahr 2030 um 50 Prozent zunehmen, da die Meinung vorherrscht, dass die Menschen

immer älter werden. Krebs ist eine Erkrankung, von der insbesondere ältere Menschen betroffen sind. Das mittlere Erkrankungsalter liegt bei etwa 69 Jahren und das mittlere Sterbealter für Männer bei knapp 71 Jahren und für Frauen bei knapp 76 Jahren.

Die folgende **Tab. 1** zeigt den prozentualen Anteil an der geschätzten Zahl der Krebsneuerkrankungen 2002 in Deutschland, wobei insgesamt 218.250 Männer und 206.000 Frauen beobachtet wurden [8, 9].



Tab. 1: Prozentualer Anteil an der geschätzten Zahl der Krebsneuerkrankungen in Deutschland 2002 für Männer und Frauen

Krebskrankheiten entstehen in der Regel durch ein Zusammenspiel verschiedener Einflüsse, die das Erbgut verändern. Unter den vermeidbaren Faktoren nimmt das Rauchen eine

überragende Bedeutung ein. Aber auch falsche Ernährungsweisen, chronische Infektionen, zu hoher Alkoholkonsum, Expositionen am Arbeitsplatz und Umwelteinflüsse, z.B. UV-Strahlung und polyzyklische Kohlenwasserstoffe aus Auto- und Industrieabgasen, können für die Entstehung von Krebserkrankungen mit verantwortlich sein.

So vielfältig die Ursachen für Krebs sind, so vielgestaltig äußern sich auch die Krankheitsbilder. Mittlerweile sind mehr als 300 verschiedene Krebsarten bekannt [9].

Charakteristisch für Krebszellen ist ihr unkontrolliertes Wachstum, weil die gegenseitige Regulation im Zellverband außer Kraft gesetzt ist. Das Gleichgewicht zwischen Zellreplikation und Apoptose ist gestört.

Tumore werden in benigne, maligne und semimaligne unterteilt. Im Gegensatz zu benignen Tumoren, die langsam wachsende, noch differenzierte Zellen mit einer niedrigen Zellteilungsrate enthalten, wachsen maligne unkontrolliert, infiltrierend, destruierend und metastasierend und zeigen eine hohe Zellteilungsrate. Semimaligne Tumore nehmen eine Zwischenstellung zwischen benignen und malignen ein [10, 11].

Maligne Tumore lassen sich nach ihrem Ursprungsgewebe unterteilen, aus dem sie entstehen: Karzinome werden aus epithelialem Gewebe (Haut, Schleimhaut und Drüsen) gebildet und Sarkome aus mesenchymalem Binde-, Fett-, Knorpel-, Knochen-, Muskel-, und Lymphgewebe [12].

1.1.1 Proto-Onkogene und Onkogene

Es existiert bisher die Vorstellung, dass die Kanzerogenese - die Umwandlung einer normalen Zelle in eine Tumorzelle - mehrere Schritte durchläuft, wobei Proto-Onkogene (wachstumsregulierende Gene) in Onkogene (mutierte Gene) umgewandelt werden. Zu den Proto-Onkogenen zählen beispielsweise der EGFR (Epidermaler Wachstumsfaktor-Rezeptor), ABL (eine Tyrosinspezifische Proteinkinase), RAF (eine Serin-Threonin-Kinase), RAS (ein GTP-bindendes Protein), Myc und Fos (DNA-Bindungsproteine). Sie gehören zum normalen Zellbestand eukaryotischer Zellen und sind an der Regulation der Zellproliferation und Zelldifferenzierung beteiligt. Durch Punktmutationen, Chromosomen-Translokationen, Virusinfektionen oder den Verlust an Tumorsuppressorgenen (Anti-Onkogenen) erfolgt die Umwandlung in Onkogene, die die Zelle zu unkontrolliertem Wachstum anregen. So kann c-ErbB durch Mutation zu einem Onkogen werden, so dass in der Zelle ständig ein Wachstumssignal ausgelöst wird, ohne dass EGF als Ligand vorhanden ist.

Bei einer Überexpression von mindestens zwei Onkogenen bzw. einer bestimmten Zweierkombination (z.B. Myc und RAS als Paar) entsteht ein Tumor. Eine Onkogenaktivierung durch Mutation findet vor allem bei der RAS-Familie statt und äußert

sich beispielweise in der Ausbildung von akuter myeloischer Leukämie oder Lungenkrebs. Eine Chromosomen-Translokation, die zu einer gesteigerten Expression an Proto-Onkogenen führt, kann mit der Ausbildung von chronisch-myeloischer Leukämie (Philadelphia-Chromosom) verbunden sein, und eine Genamplifikation tritt häufig bei Mamma- und Zervixkarzinomen auf [12].

Bei einigen Krebsarten (z.B. Leukämie, Lymphomen) bestehen heutzutage gute Heilungsmöglichkeiten, jedoch kann bei Karzinomen und Sarkomen meist nur das Fortschreiten des Krankheitsverlaufes verzögert werden.

Bei der Therapie von Krebserkrankungen werden drei Formen unterschieden: die kurative Therapie, die auf eine Heilung abzielt, die adjuvante Therapie, bei der eine chemotherapeutische Behandlung unterstützend zu einer operativen oder Strahlentherapie eingesetzt wird, und die palliative Therapie, welche auf lebensverlängernde und lebensqualitätserhöhende Maßnahmen setzt [13].

Die Behandlung von Tumoren erfolgt nach dem Prinzip „Stahl, Strahl oder Chemie“, also durch operative Tumorentfernung, Behandlung mit ionisierenden Strahlen oder durch Pharmakotherapie. Häufig reichen jedoch die einzelnen Maßnahmen nicht aus, so dass multimodales Vorgehen sinnvoller ist. In den letzten Jahren hat sich die medikamentöse Tumorthherapie über die herkömmliche Chemotherapie, die darauf abzielt, das Wachstum schnell proliferierender Tumorzellen durch Blockade des Zellteilungszyklus stärker zu hemmen als das gesunder Zellen, hinaus erweitert.

Zunehmend gewinnt die Targeted Therapy an Bedeutung, bei der durch eine Antikörpertherapie maligner Tumore oder eine Hemmung der Signalerkennung in der Zelle ein zielgerichteter Angriff auf die Tumorzellen ermöglicht wird. Durch die Identifizierung der für die Tumorzelle wachstumrelevanten, intrazellulären Signaltransduktionswege bietet sich die Möglichkeit an, spezifische Signaltransduktionshemmer bei der Behandlung einzusetzen. Zu den Therapeutika der Targeted Therapy zählen beispielsweise Antikörper wie Trastuzumab (Herceptin[®], Roche, Grenzach-Wyhlen, 10/2000); Immunkonjugate wie Tiuxetan (Zevalin[®], Medac Schering Onkologie, München, 04/2004); Fusionsproteine wie Denileukin Diftox (Ontak[®], Dr. John Murphy of University Hospital in Boston in collaboration with Seragen, Inc. Later, Ligand Pharmaceuticals, Inc, 1998); Tyrosinkinaseinhibitoren wie Imatinib (Glivec[®], Novartis Nürnberg, 11/2001) und Proteasominhibitoren wie Bortezomib (Velcade[®], Janssen Cilag, 05/2004) [14-19].

1.2 Der EGF-Rezeptor

Eine gesunde eukaryotische Zelle erhält die Information zur Zellteilung durch Wachstumsfaktoren, die rezeptorvermittelt auf sie einwirken [20].

Zu den Wachstumsfaktoren zählen unter anderem der TGF (Transforming Growth Factor) und der EGF (Epidermal Growth Factor), der 1962 von *Cohen* erstmals aus der subaxillären Drüse der Maus isoliert wurde [21].

Der EGF ist in Epithel- und Endothelzellen lokalisiert, und der G-Protein gekoppelte EGF-Rezeptor (EGFR, Epidermal Growth Factor Receptor) gehört zu den Protein-Tyrosinkinase-Rezeptoren und reguliert Wachstum, Überleben, Proliferation und Differenzierung der Zellen [22].

Auch auf der Oberfläche von bestimmten Tumorzellen kann der EGFR lokalisiert sein, und es konnte seine Beteiligung am Tumorwachstum durch Signaltransduktion nachgewiesen werden.

Die EGF-Rezeptor-Familie umfasst den humanen EGFR-1 (HER-1), EGFR-2 (HER-2/neu), EGFR-3 (HER-3) und EGFR-4 (HER-4) sowie 11 Liganden (**Abb. 1**).

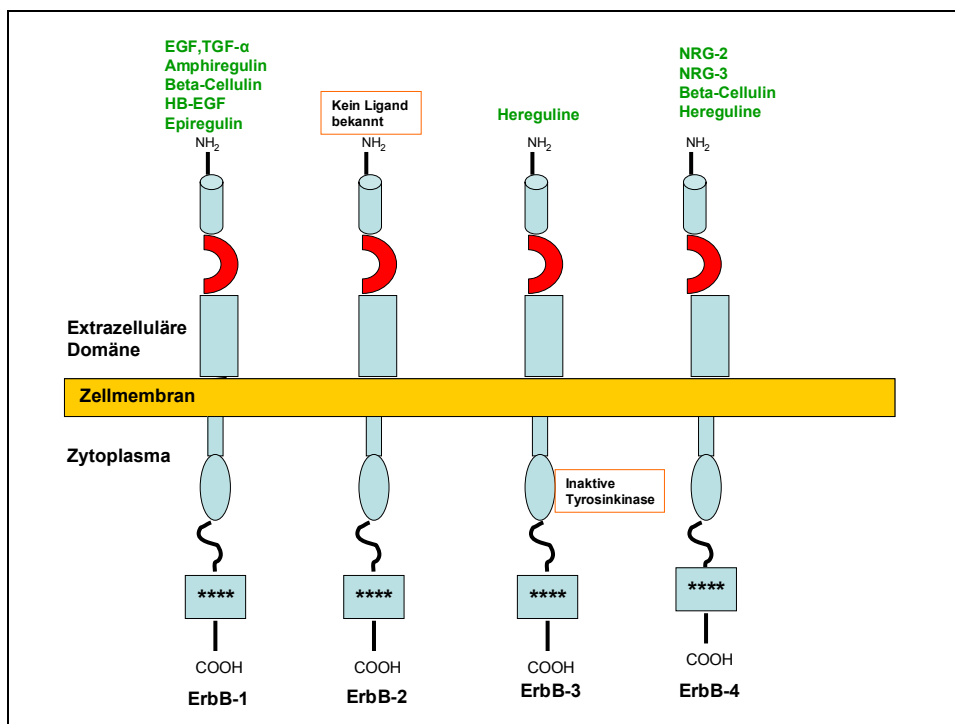


Abb. 1: Die EGFR (ErbB)-Familie mit ihren Liganden

Die einzelnen Rezeptoren werden jeweils verschlüsselt durch die Gene ErbB1, ErbB2, ErbB3 und ErbB4. Der HER-4 ist bisher wenig untersucht, der HER-3 besitzt eine inaktive

Tyrosinkinase-Domäne, und für den HER-2 sind keine Liganden bekannt. ErbB-3 enthält eine gestörte Kinase und kann daher nur inaktive Homodimere bilden. Die ErbB-2/ErbB-3 Heterodimere jedoch stellen die potenten und auch bedeutendsten Signalkomplexe dar und werden durch NRG-1 (Neuregulin-1) kontrolliert [23, 24].

HER-2 und HER-3 hetero-dimerisieren meistens mit einem anderen Familienmitglied, um eine Kinasen-Kaskade und nachfolgende (Downstream)-Signale zu erzeugen [25].

Exemplarisch ist ein Signalweg nach Rezeptordimerisierung durch Bindung eines Liganden dargestellt (**Abb. 2**).

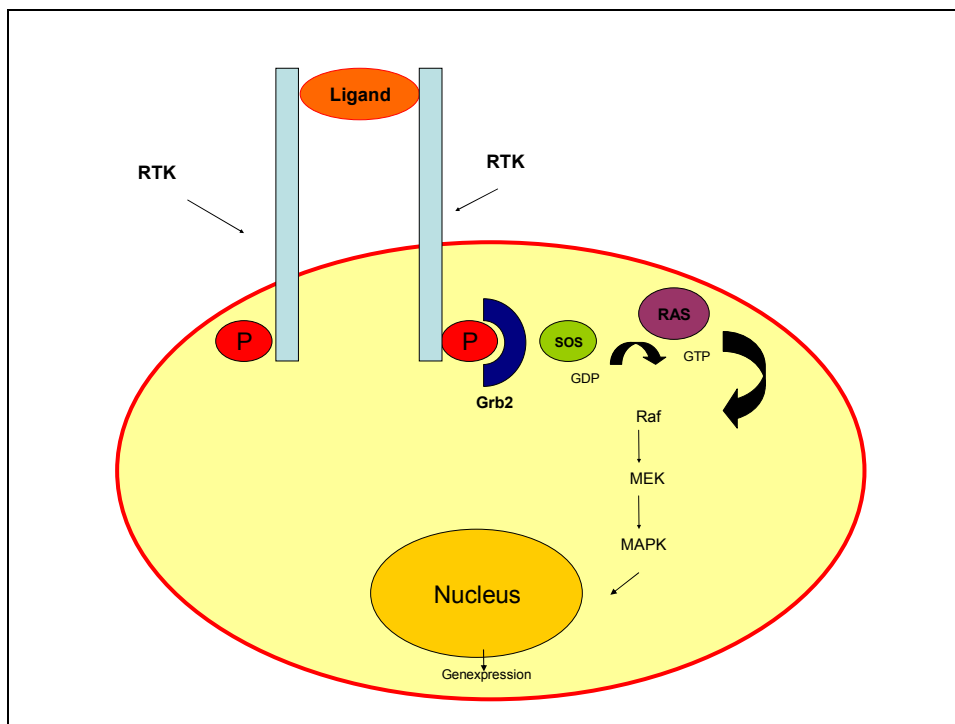


Abb. 2: Durch Ligandenbindung und nachfolgende Rezeptordimerisierung ausgelöster intrazellulärer Signalweg

Durch die Bindung verschiedener Liganden an die extrazelluläre Struktur der Tyrosinkinase-Rezeptoren erfolgt eine Ausbildung von Rezeptor-Dimeren und eine anschließende Phosphorylierung spezifischer Tyrosinketten.

Diese ausgelösten intrazellulären Signalwege können auch untereinander in einem „Cross-Talk“ kommunizieren.

Der EGFR ist in vielen epidermalen Krebsarten aufgrund von Genamplifikation überexprimiert [26, 27].

Anormales Signaling und unkontrollierte Aktivierung des EGFR spielen eine wichtige Rolle bei der Entstehung und der Entwicklung vieler Krebserkrankungen. Entartetes Zellwachstum,

vermittelt durch gestörte EGFR-Signalwege, kann mit der Ausbildung von Metastasen, einer Resistenzentwicklung gegenüber chemotherapeutischer Behandlung und einer insgesamt schlechten Prognose in Zusammenhang gebracht werden.

In der folgenden **Tab. 2** sind die prozentualen Anteile an EGF-Rezeptoren bei einzelnen Tumorarten aufgelistet.

Lokalisation des Primärtumors	prozentualer Anteil des Tumors, der EGFR exprimiert
Kopf und Nacken	80–100%
Kolorektal	25– 77%
Pankreas	30– 50%
Lunge	24– 89%
Ösophagus	43– 89%
Nieren	50– 90%
Prostata	65%
Blase	31– 48%
Zervix/Uterus	90%
Ovarien	35– 70%
Brust	14– 91%

Tab. 2: Prozentualer Anteil der EGFR-Exprimierung in soliden Tumoren

Daraus geht hervor, dass Tumore in Kopf, Nacken, Zervix, Uterus und Brust einen hohen Anteil an EGF-Rezeptoren aufweisen, wohingegen die Tumore des Pankreas und der Blase beispielsweise niedrigere Spiegel zeigen [28].

Insgesamt besitzt eine gesunde humane Körperzelle ca. 40-100 EGF-Rezeptoren, wohingegen maligne Zellen bis zu 2 Millionen EGF-Rezeptoren exprimieren können.

Ein erhöhter Spiegel an EGF-Rezeptoren ist ein wichtiges Merkmal für einen bereits fortgeschrittenen Krankheitsverlauf und eine insgesamt schlechte Prognose [29, 30].

1.2.1 Aufbau des EGF-Rezeptors

Aktuell sind insgesamt ca. 530 humane Proteinkinasen identifiziert [31].

Die Tyrosinkinasen stellen eine bedeutende Untergruppe der Proteinkinasen dar und sind Enzyme, welche die Übertragung von Phosphatgruppen von Adenosin-Triphosphat (ATP) auf bestimmte Zielproteine katalysieren. Dadurch können die hydroxygruppentragenden Aminosäuren Serin, Threonin und Tyrosin und selten auch das heterozyklische Histidin phosphoryliert werden. Durch die Übertragung von Phosphatgruppen auf Proteine wird ein wichtiger Regulationsmechanismus der zellulären Signaltransduktion aktiviert, durch den

Zellproliferation, Zelldifferenzierung, Zellmigration und Steuerung der Apoptose kontrolliert werden. Die Spezifität der Proteinkinasen für bestimmte Substratproteine ist abhängig von der Aminosäuresequenz an deren Bindungsstellen.

Die Tyrosinkinasen werden je nach ihrer Lokalisation in der Zelle in membranständige, zytoplasmatische und nukleäre Rezeptor-Tyrosinkinasen unterteilt. Membranständige Tyrosinkinasen bilden Rezeptoren für Wachstumsfaktoren, wie beispielsweise den EGF. Sie besitzen eine Polypeptidkette mit einem transmembranären Abschnitt. Am extrazellulären Ende dieses Rezeptors befindet sich die hochaffine Ligandenbindungsdomäne und am zytoplasmatischen Ende die Tyrosinkinasedomäne.

Zu den Nicht-Rezeptor Tyrosinkinasen, die im Zytoplasma lokalisiert sind, zählen die Src, Tec, JAK, Fes, ABL, FAK, Csk und Syke Familien.

Abb. 3 zeigt den schematischen Aufbau des EGF-Rezeptors.

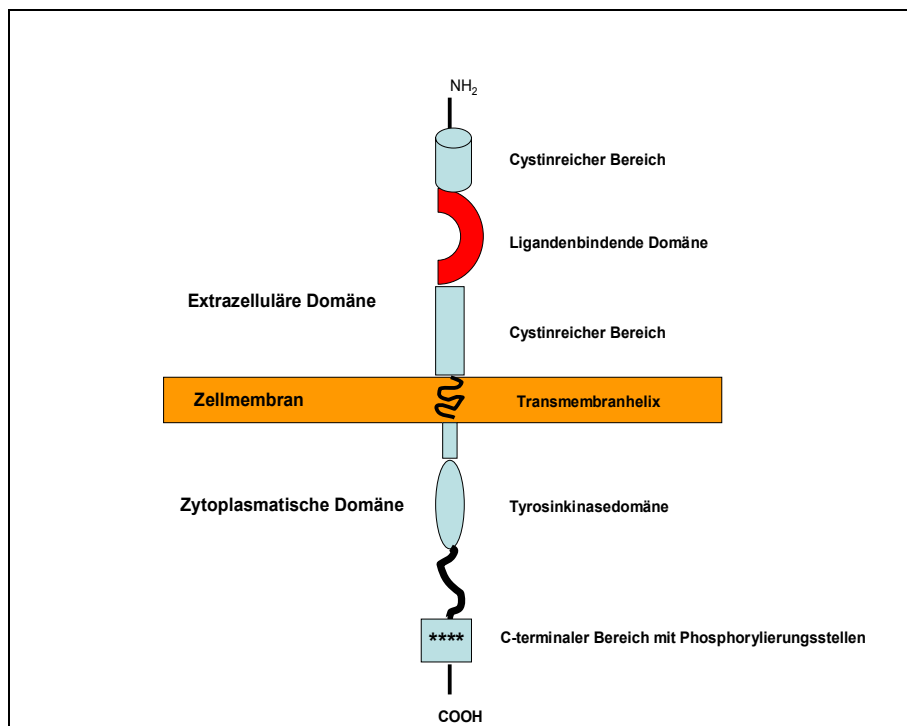


Abb. 3: Schematischer Aufbau des EGF-Rezeptors

Bei den Rezeptor-Tyrosinkinasen (RTK) handelt es sich um zellmembrangebundene Rezeptoren, die intrazellulär mit einer Tyrosinkinase verknüpft sind und an Wachstumsvorgängen in den Zellen beteiligt sind. Anhand der extrazellulären Domäne lässt sich eine Einteilung in drei verschiedene Typen vornehmen:

- EGF-Rezeptor-Typ: einkettig, besitzt eine Cystin-reiche extrazelluläre Domäne
- Insulinrezeptor-Typ: zwei α - und zwei β -Ketten, deren extrazellulären Teile durch Disulfidbrücken miteinander verknüpft sind
- NGF-Rezeptor-Typ: Antikörper-ähnliche extrazelluläre Domäne; die Kinasedomäne kann durch Insertionen unterbrochen sein.

Der jeweilige N-Terminus liegt extrazellulär und der C-Terminus intrazellulär vor [32].

Das menschliche Genom umfasst 90 Tyrosinkinasegene, von denen 58 Rezeptor-Tyrosinkinasen und 32 Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen sind, die sich weiter in 20 bzw. 10 Unterfamilien einteilen lassen [32, 33].

Der EGF-Rezeptor (**Abb. 4**) ist ein Glykoprotein, das aus einer Polypeptidkette (170 kDa) zusammengesetzt ist und EGF-Peptide (6,1 kDa) bindet. Er besteht aus einer extrazellulären Ligandenbindungsdomäne (622 Aminosäuren), einer einzelnen hydrophoben trans-membranären Region (23 hydrophobe Aminosäuren) und einer zytosomatischen intrinsischen Tyrosinkinase-Domäne (542 Aminosäuren) [20].

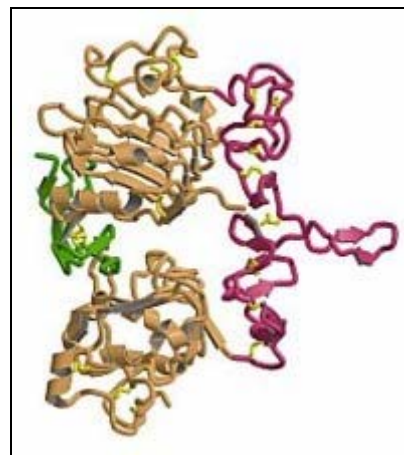


Abb. 4: Der EGFR als Polypeptidkette

Die Liganden der EGF-Rezeptoren lassen sich in zwei Klassen einteilen: die EGFR-ähnlichen Liganden, zu denen der EGF, Heparin binding EGF, Transforming Growth Factor- α (TGF- α), Betacellulin, Amphiregulin und Epiregulin gehören und zum anderen die Neureguline (NRG, auch Hereguline genannt) mit NRG1 α , NRG1 β , NRG2 α , NRG2 β , NRG3 und NRG4. Diese Liganden binden an EGFR-Monomere und fördern dadurch die Rezeptordimerisierung und -oligomerisierung.

Die Mitglieder der EGFR-Familie und deren Liganden haben bivalente Eigenschaften, das heißt, dass jeder Rezeptor zwei Liganden binden kann, und jeder Ligand kann auch an zwei Rezeptoren binden.

1.2.2 Durch den EGFR vermittelte Signalwege

Die Signalwege, basierend auf Tyrosinkinasen, sind in gesunden Zellen straff reguliert, aber in mutierten Zellen bestimmter Krebsarten, wie z.B. bei Lungenkrebs, ist diese Regulation aufgehoben [34, 35].

Durch die Bindung eines Liganden wird die Tyrosinkinase aktiviert, und nach der Rezeptordimerisierung werden die spezifischen Carboxy-terminalen Tyrosinreste autophosphoryliert [35].

Durch diesen phosphorylierten zytosolischen Teil werden Adapterproteine angezogen, die über ihre SH2-Domäne an den Rezeptor binden.

Mittlerweile ist eine Vielzahl an Signaltransduktionswegen, die durch EGFR-Aktivierung ausgelöst werden können, bekannt. Die vier wichtigsten sollen dargestellt und nachfolgend erläutert werden (**Abb. 5**).

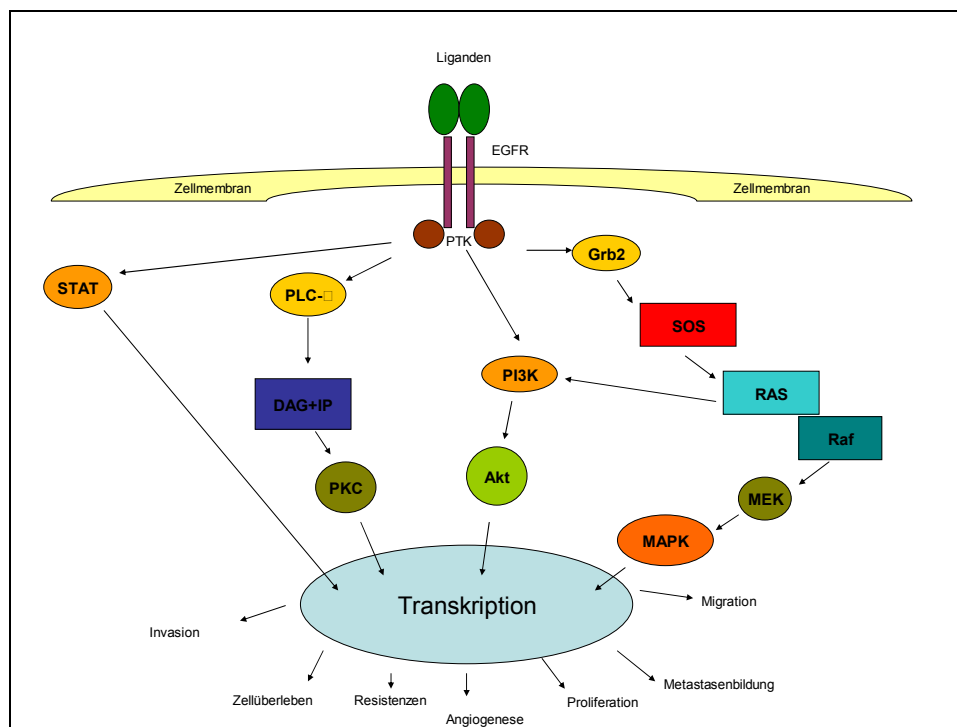


Abb. 5: EGFR-vermittelte Signaltransduktion

Die Phosphorylierung von Tyrosin schaltet eine Vielfalt von Signalproteinen ein, die eine endständige Amino-SH2 (= *src* homolog) oder Carboxy-Phosphotyrosinbindende Domäne (PTB) besitzen, um EGFR-Mitglieder zu binden.

Über die Phosphotyrosine werden Adapterproteine, wie Shc oder GRB2 (Growth Factor Receptor Binding Protein) mittels ihrer SH2- oder PTB-Domäne gebunden, welche sich dann

ihrerseits mit SOS (Son Of Sevenless) oder einem anderen Guanin Austausch Faktor (GEF, Guanin Nucleotide Exchange Factor) verbinden [36].

1. MAP-Kinase-Signaling

Nach Aktivierung des EGFR und Phosphorylierung der entsprechenden Adapterproteine wird schließlich das Guanin Nucleotid-bindende Protein RAS angeschaltet. RAS ist auf der zytoplasmatischen Seite der Plasmamembran verankert. Es liegt in der inaktiven Form vor, wenn es GDP gebunden hat und wird durch Umwandlung in GTP, z.B. durch die Bindung von SOS oder einem anderen GEF, aktiviert. Dadurch wird die Serin/Threonin Kinase RAF (auch MAPKKK, Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase) aktiviert. RAF wiederum stimuliert Mitglieder der MEK (auch: MAPKK, Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase), durch die dann anschließend die ERK (Extracellular Signal-Regulated Kinase, auch MAPK, Mitogen-Activated Protein Kinase) aktiviert wird. Dieser Raf/MEK/ERK-Signalweg ist der bisher am besten verstandene und stimuliert die Proliferation [37, 38].

2. Akt-Signaling

Die Aktivierung der Phosphatidylinositol-3-Kinase (PI3K) spielt aufgrund der fehlenden SH2-Bindungsdomäne des EGFR für PI3K im Vergleich zu anderen Rezeptor-Tyrosinkinasen nur eine untergeordnete Rolle.

Die PI3K phosphoryliert Phosphatidylinositol, wodurch die PDK (Phosphoinositide Dependent Kinase) und die Serin/Threonin-Kinase Akt aktiviert wird. Dieser PI3K/PDK/Akt-Signalweg verhindert die Apoptose.

Die PI3K kann neben der Aktivierung durch die zytoplasmatische Domäne des EGFR außerdem in einem anderen Signalweg durch RAS aktiviert werden.

3. Phospholipase-Signaling

Durch Aktivierung des EGF-Rezeptors wird die Phospholipase-C stimuliert, die sich daraufhin in Inositol-1,4,5-triphosphat (IP3) und Diacylglycerol (DAG) spaltet. DAG aktiviert anschließend die Proteinkinase C (PKC), wodurch es zu einem Anstieg der Transkription spezifischer Gene kommt [39].

4. STAT-Signaling

Ende der 1990er Jahre wurde eine neue Klasse der Nicht-Rezeptor-Tyrosinkinasen entdeckt, die Januskinasen (JAK), von denen vier Mitglieder existieren (JAK1, JAK2, JAK3 und TYK2) [40].

Nach erfolgter Aktivierung des Rezeptors, werden die JAK phosphoryliert, welche wiederum sogenannte STAT-Faktoren (Signal Transducers and Activators of Transcription) Tyrosin-phosphorylieren. Die STAT bilden Dimere aus, die in den Nukleus gelangen und dort die Transkription bestimmter Gene induzieren [41, 42].

1.3 Therapieansätze für die Behandlung von Krebserkrankungen

Da eine Fehlregulation der Tyrosinkinaseaktivität infolge von Mutation bei bestimmten Krebsarten zu einer gesteigerten Proliferation und einem Überleben der Krebszellen führen kann, bietet die Hemmung spezifischer Tyrosinkinasen einen sinnvollen Ansatzpunkt in der Therapie von Tumorerkrankungen.

Diese kann unterschiedliche Effekte zur Folge haben, da die biologischen Funktionen der Tyrosinkinasen unter anderem von dem Zelltyp abhängen, in dem sie exprimiert werden. So kann der Eingriff in die Tyrosinkinaseaktivität eine Hemmung der Tumorproliferation, der Chemotaxis und Zellmigration, der Angiogenese oder eine Apoptoseinduktion bewirken [32].

1.3.1 Proteinkinase-Inhibitoren als neue Therapiemöglichkeit

Die aktuelle Entwicklung neuer Arzneistoffe gegen Krebserkrankungen zielt darauf ab, durch einen direkten Angriff auf die bösartigen Zellen die bei Krebs außer Kontrolle geratenen molekularen Mechanismen des Zellwachstums bzw. der Apoptose gezielt zu beeinflussen.

Durch diese spezifische Wirkung sollen schwerwiegende Nebenwirkungen reduziert werden und damit eine bessere Verträglichkeit erreicht werden [32].

Die Hemmung von Tyrosinkinasen bietet einen sinnvollen und gezielten Therapieansatz, den Krebs zumindest in seinem Wachstum einzuschränken oder dieses möglicherweise ganz zu unterbinden.

Dabei gibt es verschiedene Möglichkeiten, die Aktivitäten der Tyrosinkinasen zu inhibieren (**Abb. 6**).

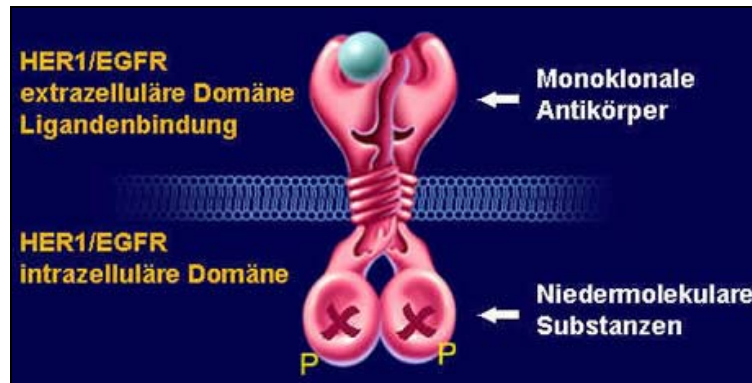


Abb. 6: Möglichkeiten der EGFR-Tyrosinkinase-Inhibition [42]

Antikörper können statt der Wachstumsfaktoren die extrazellulären Bindungsdomänen besetzen und somit bereits am Anfang der Signaltransduktionskaskade weitere Phosphorylierungsschritte unterbinden [43].

Die Einführung des humanisierten HER-2 spezifischen monoklonalen Antikörpers Trastuzumab (Herceptin®) zur Behandlung des metastasierenden HER-2-abhängigen Mammakarzinoms stellt eine innovative Behandlungsmöglichkeit auf dem Gebiet der spezifischen EGFR-TK-Inhibition dar und findet eine weltweite Anwendung. Zudem zeigt dieser Antikörper synergistische Eigenschaften in Kombination mit Cisplatin, Carboplatin, Taxanen, Vinorelbin, Gemcitabin und ionisierender Strahlung [44].

Als weiterer Antikörper ist der IgG1-Antikörper Cetuximab (Erbix®[®], Merck KGaA, Darmstadt), zu erwähnen, der 2006 in der Europäischen Union eine erweiterte Zulassung als Therapie für Kopf- und Halskarzinome erhalten hat [45].

Einen zweiten Ansatzpunkt der Tyrosinkinase-Inhibition bietet die Möglichkeit der Hemmung der intrazellulären ATP-Bindungsstelle durch die im Vergleich zu den großen Antikörpern kleinen oral applizierbaren Wirkstoffmoleküle (so genannte *small molecules*) [46].

Dabei sind an dieser Stelle die beiden neu zugelassenen EGFR-TK-Inhibitoren Sunitinib (Sutent®[®], Pfizer, Karlsruhe, 08/2006) und Sorafenib (Nexavar®[®], Bayer Vital, Leverkusen, 08/2006) zu erwähnen (**Abb. 7**).

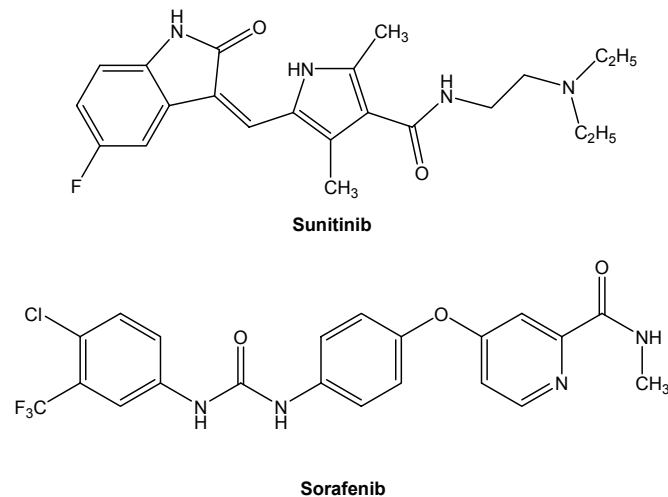


Abb. 7: Die neuen EGFR-TK-Inhibitoren Sunitinib (Sutent®) und Sorafenib (Nexavar®)

Beide greifen an verschiedenen Stellen in das Tumorwachstum und die Neubildung der Blutgefäße ein und werden daher als „Multi-Kinase-Inhibitoren“ bezeichnet. Durch die gleichzeitige Hemmung zahlreicher unterschiedlicher molekularer Zielstrukturen wird eine breitere Effektivität erreicht.

Sunitinib ist zur Therapie beim Nierenzellkarzinom und bei gastrointestinalen Tumoren zugelassen. Als ATP-kompetitiver Inhibitor hemmt es über Tyrosinkinasen die Rezeptoren verschiedener Wachstumsfaktoren, und zwar für VEGF1-3 (Vascular Endothelial Growth Factor), PDGF α und β (Platelet-Derived Growth Factor Receptor), den Stammzellfaktorrezeptor (c-kit), CSF-1 (Macrophagen-Colony-Stimulating Factor) und Flt-3 (Ems-like tyrosine kinase-3). Die daraus resultierende Inhibition der RTK-Autophosphorylierung oder der Liganden-stimulierten Zellproliferation hat sowohl eine antiangiogenetische als auch eine antiproliferative Wirkung zur Folge. Daher wird Sunitinib als dualer Tyrosinkinaseinhibitor bezeichnet. Aufgrund der vielfältigen Tyrosinkinaseinhibition besitzt Sunitinib ein großes Potential für die Therapie zahlreicher Tumorerkrankungen [47-49].

Sorafenib ist für die Therapie des Nierenzellkarzinoms zugelassen und bewirkt eine Proliferations- und Angiogenesehemmung durch Inhibition der RAF-Kinase, VEGFR-2 und 3, PDGFR- β , Flt-3 und c-kit. Es blockiert die ERK-1-Phosphorylierung, wodurch eine RAF-Kinasehemmung angenommen wird [50, 51].

Seit längerer Zeit sind die drei Anilinochinazoline Gefitinib (Iressa®, AstraZeneca, 2003), Erlotinib (Tarceva®, Hoffmann-La Roche AG, Grenzach-Wyhlen, 10/2005) und Lapatinib (Tykerb®, GlaxoSmithKline) als oral bioverfügbare EGFR-Inhibitoren auf dem Markt erhältlich (**Abb. 8**) [52].

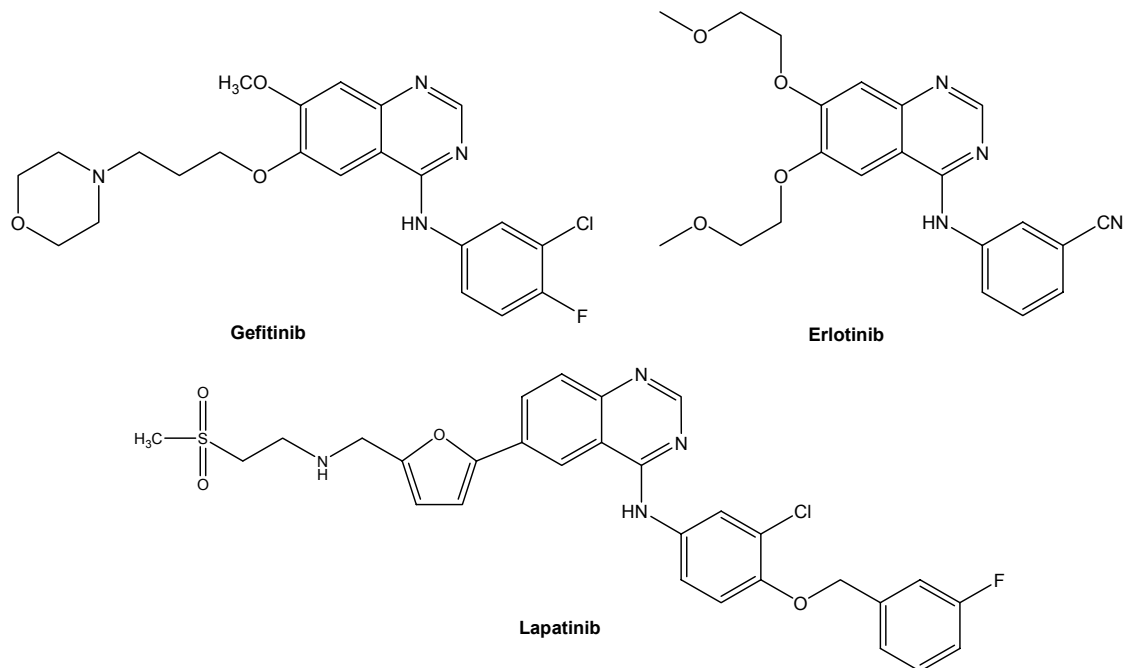


Abb. 8: Die drei Anilinochinazoline Gefitinib, Erlotinib und Lapatinib als EGFR-TK-Inhibitoren

Gefitinib (Iressa[®]) stellt einen oral bioverfügbaren, hochspezifischen und potenten Inhibitor der EGFR-Tyrosinkinase dar und ist in Japan, Australien, USA und der Schweiz zur Behandlung des nicht-kleinzelligen Bronchialkarzinoms und des Glioblastoms zugelassen [52, 53].

Aufgrund mehrerer schwerer unerwünschter Arzneimittelwirkungen in Japan und der Erkenntnis aus zwei Phase-III-Studien (INTACT), dass Gefitinib zu keiner Lebensverlängerung bei Patienten mit NSCLC bei gleichzeitiger Platin-Zytostatika-Behandlung führt, hat die FDA einen Iressa Access Plan geschaffen, durch den die Verteilung von Iressa begrenzt werden soll [54, 55].

Erlotinib (Tarceva[®]), ebenfalls ein Anilinochinazolin, erhielt im Oktober 2005 die Zulassung zur Behandlung von Patienten mit lokal fortgeschrittenem oder metastasiertem nicht-kleinzelligem EGFR-positivem Lungenkarzinom, wenn mindestens eine vorausgegangene Chemotherapie versagt hat [56-58].

Eine wichtige Errungenschaft in der Tyrosinkinase-Forschung ist die Entwicklung des dualen Tyrosinkinase-Inhibitors Lapatinib (Tykerb[®], GlaxoSmithKline, 10/2006, **Abb. 8**), der im März 2007 die Zulassung für die Behandlung von Patientinnen mit fortgeschrittenem oder metastasiertem HER-2 positivem Brustkrebs, der vorher ohne Erfolg mit Trastuzumab (Herceptin[®]) behandelt wurde, erhielt [59, 60].

Lapatinib blockiert sowohl die homodimere als auch die heterodimere Zusammenlagerung von EGFR-1 und HER-2 und stoppt damit das Tumorstadium. Dadurch kann von einer

effektiveren Signalhemmung ausgegangen werden, als es bei Substanzen der Fall ist, die sich nur gegen einen Rezeptor richten [61].

Bei allen bisher erwähnten EGFR-TK-Inhibitoren handelt es sich ausschließlich um synthetisch hergestellte Wirkstoffe.

Von grossem Interesse ist darüber hinaus, dass auch aus Naturstoffen EGFR-TK-Inhibitoren isoliert werden konnten. So zeigt z.B. das Genistein (4',5,7-Trihydroxyisoflavon), das in der Sojabohne vorherrschende Isoflavon, antineoplastische Wirkungen durch Hemmung der EGFR-Tyrosinkinase [62-65].

Es besitzt als hervorsteckende Strukturmerkmale eine phenyloge Salicyloylstruktur und eine vinyloge Ester-Struktur (**Abb. 9**).

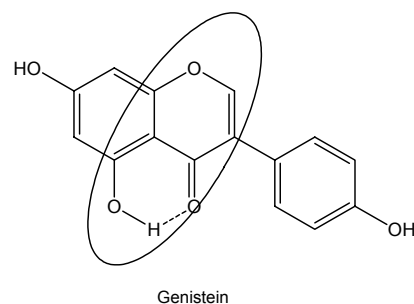


Abb. 9: Das Isoflavon Genistein mit phenyloger Salicyloylstruktur und vinyloger Ester-Struktur

Akiyama et al. entdeckten bereits 1987 eine *in-vitro* Hemmung von humanen Karzinom-A431-Zellen, die sehr viele EGF-Rezeptoren exprimieren, durch eine ATP-kompetitive Inhibition des Genisteins [66].

Im Jahr 1999 veröffentlichten *Traxler et al.* ein Bindungsmodell für ATP-kompetitive EGFR-TK-Inhibitoren. Dieses beschreibt die Ausbildung von Wasserstoffbrücken zwischen der Aminogruppe des Adenins und dem Amid-Sauerstoff des Glutamins 767 sowie zwischen dem N1 des Adenins und einem Proton der Amino-Gruppe des Methionins 769. Außerdem postulieren *Traxler et al.* eine „hydrophobe Tasche“ im Bereich des freien Elektronenpaars am N7 des ATP-Adenins und eine „Zuckertasche“, die von dem Ribose-Anteil des ATP besetzt wird [67, 68].

Die Anpassung von Genistein in das Traxler-Modell zeigt die **Abb. 10**.

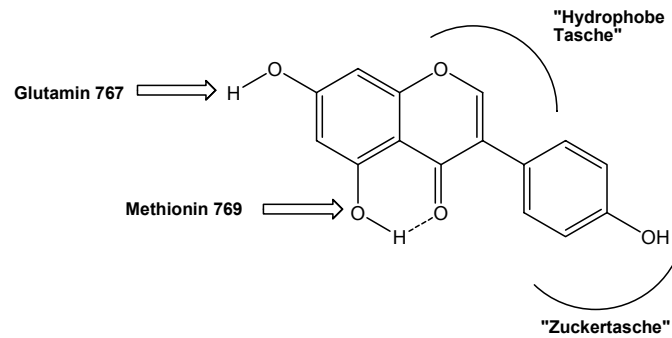


Abb. 10: Schematische Darstellung des EGFR-Bindungsmodells für Genistein nach *Traxler et al.*

Es werden Wasserstoffbrückenbindungen zwischen der 7-Hydroxygruppe des Genisteins und dem Glutamin 767 und zwischen der 5-Hydroxygruppe des Genisteins und dem Methionin 769 ausgebildet. Der 3-Phenylring besetzt die „Zuckertasche“.

Genistein besitzt im Unterschied zu den bisher auf dem Markt verfügbaren EGFR-TK-Inhibitoren statt der Chinazolin-Teilstruktur eine vinyloge Salicylsäureester-Struktur im Chromon-System.

Da zwischen der Salicylsäure und dem Chinazolin eine bioisostere Beziehung formuliert werden kann (**Abb. 11**), können beide Teilstrukturen in ein Bindungsmodell eingepasst und verglichen werden.

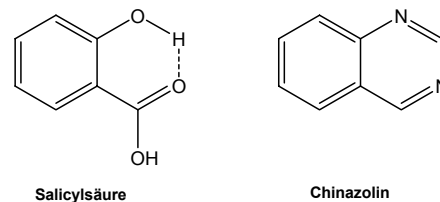


Abb. 11: Bioisostere Beziehung zwischen der Salicylsäure und dem Chinazolin

Im Jahr 2003 formulierten *Hou et al.* ein Rezeptorbindungsmodell für Anilinochinazoline, nach dem eine Wasserstoffbrücke zwischen dem N1 des Chinazolins und dem NH von Methionin 769 ausgebildet wird und das N3 des Chinazolins über ein Wassermolekül an die Hydroxygruppe von Threonin 766 bindet [69].

Ein neueres Bindungsmodell, welches sich aber auf das Traxler'sche bezieht, wird von der Firma Axxima beschrieben [31]. Durch die peptidische Verknüpfung der Aminosäuren des EGF-Rezeptors entsteht ein Backbone, die sogenannte Hinge Region. An diese kann das ATP über Wasserstoffbrücken binden (**Abb. 12**).

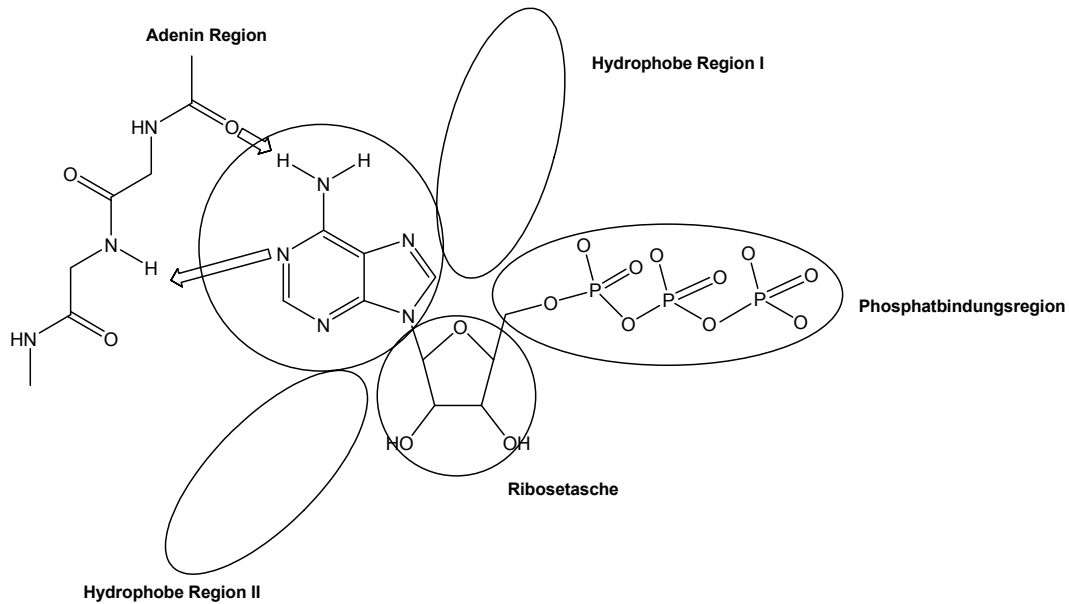


Abb.12: Schematische Darstellung der ATP-Bindung an den EGFR nach dem Axxima-Modell

Die beiden hydrophoben Regionen werden vom natürlichen Substrat ATP nicht besetzt, aber bestimmte Reste von ATP-kompetitiven Inhibitoren können sich dort einlagern.

Die verschiedenen Bindungsmodelle existieren weiterhin nebeneinander und sind Versuche, die EGFR-TK-inhibitorischen Aktivitäten anhand der Strukturen zu erklären. Aktuell besitzt wieder das Traxler'sche Modell eine wichtige Bedeutung für die Entwicklung potentieller Krebstherapeutika.

Nach diesen Modellen werden in neuerer Zeit sämtliche EGFR-TK-Inhibitoren konzipiert und nachfolgend synthetisiert. Trotz großer Anstrengungen im Rahmen der Synthesen wird man mit den erhaltenen Tyrosinkinase-Inhibitoren eine Heilung der Krebserkrankungen kausal wahrscheinlich nicht erzielen können, jedoch vielleicht eine Stabilisierung maligner Erkrankungen über einen längeren Zeitraum. Möglicherweise wird in Zukunft die Therapie von Krebserkrankungen vergleichbar sein mit der der HIV-Erkrankungen. Diese gelten zwar immer noch als unheilbar, aber durch den Einsatz neuer Wirkstoffe kann die Lebensqualität und die Überlebenszeit der Betroffenen deutlich erhöht werden.