

Durch rotes Licht aktivierbare multifunktionelle Agentien für die photodynamische Therapie**

Samantha L. H. Higgins und Karen J. Brewer*

Metallkomplexe · Photodynamische Therapie ·

Supramolekulare Chemie · Tumortherapeutika ·

Wirkstoff-Design

Die Suche nach einem Mittel gegen Krebs hat zur Entwicklung einer Vielzahl von Therapien geführt. Das generelle Problem ist, dass die Krebszellen selektiv zerstört werden müssen, damit möglichst wenige gesunde Zellen beeinträchtigt werden, um so sicherzustellen, dass der Patient überlebt. Als Standardbehandlungen von Krebs gelten die Chirurgie, die Chemotherapie und die Strahlentherapie. Eine Möglichkeit, die Nachteile der systemisch wirkenden Chemotherapie zu vermeiden, ist der Einsatz der photodynamischen Therapie (PDT).^[1] Bei ihr wird dem Patienten eine inaktive Form des Wirkstoffs zugeführt, und anschließend wird dieser durch Licht lokal, ausschließlich im Tumorgewebe, in seinen aktiven Zustand überführt.^[2,3] Da hier die Wirkstoffgabe lokal und nicht systemisch ist, können auch hochgiftige Verbindungen verwendet werden. Die Bedingungen für ideale PDT-Agenten sind: Sie absorbieren Licht im therapeutischen Fenster von 600–1000 nm (in diesem Bereich weist biologisches Gewebe keine Absorption auf), sie sind in der inaktiven Form nicht toxisch, aber in der aktiven Form hoch toxisch, und sie funktionieren im oftmals sauerstoffarmen Tumorgewebe.

Ein PDT-Agent der ersten Generation, das immer noch eingesetzt wird, ist Photofrin (**1**, Schema 1), bei dem es sich um eine Mischung aus substituierten Porphyrinoligomeren handelt.^[4] Das Zustandsdiagramm (Abbildung 1) zeigt die durch Licht ausgelöste Dynamik, die typisch für ein sauerstoffabhängiges Typ-II-PDT-Agent ist. Hier folgt auf die Anregung ein Energietransfer auf molekularen Sauerstoff im Gewebe, der daraufhin in Singuletsauerstoff, $^1\text{O}_2$, übergeht – eine reaktive Sauerstoffspezies (ROS). Die ROS sind hochgradig schädlich für eine Vielzahl an Biomolekülen, weisen sehr kurze Diffusionswege auf und führen zum Zelltod.

Die Entwicklung von Metallkomplexen als potenzielle PDT-Agenten ist ein sehr spannender Forschungsbereich, wobei sowohl das organische Gerüst als auch die darin eingebetteten Metallzentren variiert werden können, um die gewünschten Eigenschaften, oft auch multifunktionelle Ak-

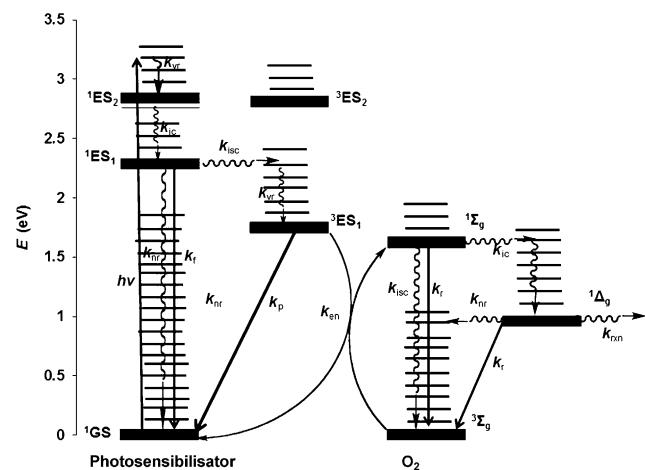


Abbildung 1. Zustandsdiagramm für den Wirkmechanismus von sauerstoffabhängigen photodynamischen Wirkstoffen mit den Geschwindigkeitskonstanten k für Fluoreszenz (f), Phosphoreszenz (p), strahlenden (r), nichtstrahlenden Zerfall (nr), interne Konversion (ic), Intersystem-Crossing (isc), Energietransfer (en) und Reaktion (rxn). Der Zustand $^1\Delta_g$ wird bei 1270 nm bzw. 0.97 V beobachtet, $^1\Sigma_g$ wird auf 1.6–1.8 V geschätzt, ist allerdings kurzlebig.

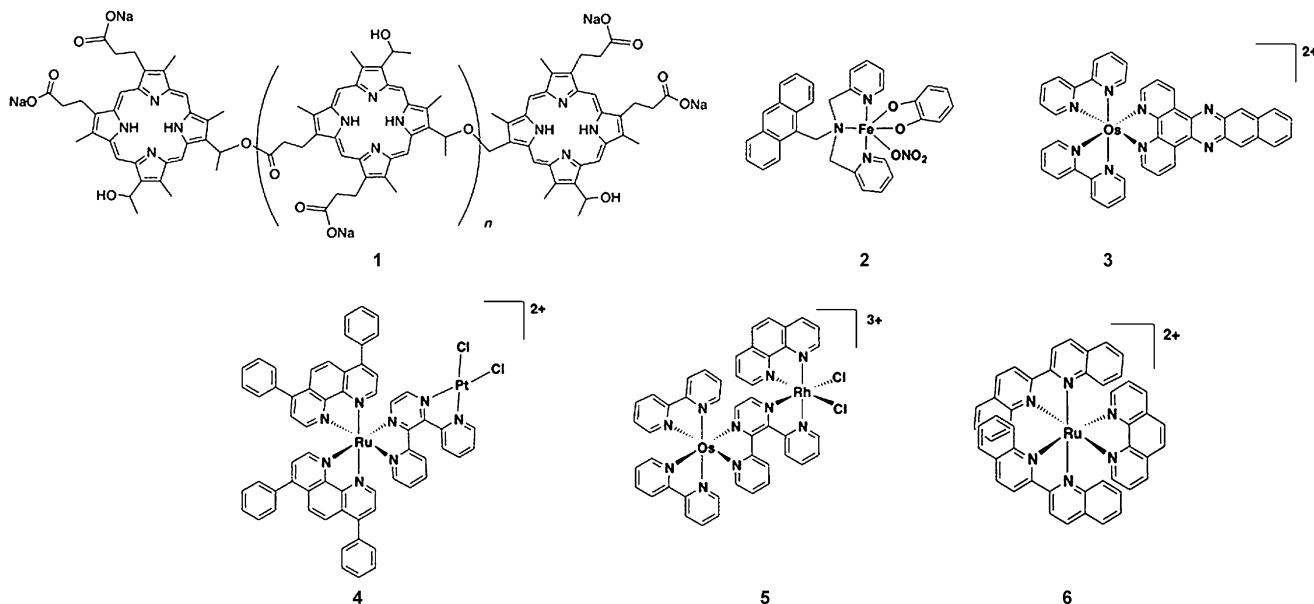
tivität, zu erhalten. Multifunktionelle Aktivität bedeutet, dass das System zwei Wirkmechanismen an der biologischen Zielstruktur aufweist, z.B., dass es an DNA bindet und diese dann lichtinduziert spaltet. In Metallkomplexen können wegen der ausgeprägten Spin-Bahn-Kopplung die Triplettszustände oft direkt optisch besetzt werden. Die Bedingung, Licht im energiearmen Bereich des therapeutischen Fensters zu absorbieren, führt häufig zu Metallkomplexen mit geringeren Halbwertszeiten des angeregten Zustands, als aufgrund der Bandlücke zu erwarten wäre. Die Entwicklung von Systemen, die mit rotem Licht angeregt werden können, wurde dadurch erheblich erschwert.

Jüngste Zugänge zu neuen potenziellen Wirkstoffen erwiesen sich als erfolgreich. Sie lieferten eine erhöhte Absorptivität für rotes Licht durch Spin-Bahn-Kopplung, die eine direkte Anregung vom Singulett- in den Tripletzustand erlaubt, Agentien für den gezielten Wirkstofftransport, die Verwendung atypischer angeregter Zustände sowie O_2 -unabhängige Typ-II-Systeme. Allerdings kann die Entwicklung vollständig neuer Wirkstoffkonzepte mit In-vitro-Methoden zu unerwarteten Problemen bei der Anwendung in vivo führen.

[*] S. L. H. Higgins, K. J. Brewer

Department of Chemistry, Virginia Tech
Blacksburg, VA 24061 (USA)
E-Mail: kbrewer@vt.edu
Homepage: <http://www.chem.vt.edu>

[**] Unsere Forschung im Bereich der photodynamischen Therapie wurde zum Teil von Thralase unterstützt.



Schema 1. Strukturformeln von Molekülen, die als PDT-Agentien geeignet sind. n für 1: 0–6.

ren, z.B. zu Metalltoxizität, falls Metallionen in toxischen Dosen aus dem Liganden freigesetzt werden.

Der Fe^{III} -Komplex **2** (Schema 1) ist in vielerlei Hinsicht einzigartig.^[5] Die Verwendung von Eisen in der PDT ist ungewöhnlich, führt aber möglicherweise zu einer geringeren Metalltoxizität, da der Komplex nach der Behandlung des Patienten ausgeschieden wird. Die geringe Stabilität von zweizähnig koordinierten Komplexen in vivo schränkt oftmals ihre Anwendung ein. Komplex **2** absorbiert im roten Spektralbereich, wobei ein ungewöhnlicher Ligand-Metall-Ladungstransfer (LMCT) mit einem molaren Extinktionskoeffizienten ε von $2400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ genutzt wird, der wegen des Catecholliganden zu 805 nm rotverschoben ist. Der Catecholligand sorgt für energetisch höher liegende Donororbitalen und verschiebt so die Anregung in das therapeutische Fenster. Sie ist vergleichbar mit der Absorption von Photofrin bei 620–650 nm und einem typischen ε -Wert von $3500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$. Übergänge, an denen Metallzentren beteiligt sind, sind oft breit, was größere integrierte Intensitäten bei der Anregung mit rotem Licht zur Folge hat, als anhand der ε -Werte für die Anregung durch eine einzelne Wellenlänge zu erwarten ist. Der Anthracenrest stellt den gezielten Wirkstofftransport zu DNA sicher und weist zugleich als emittierender Reporter die Anwesenheit des Komplexes im Zellkern von Zellen in Kultur nach.

Die Interaktion von **2** mit Plasmid-DNA wies auf eine photoinduzierte Spaltung hin, die über einen Elektronentransfermechanismus abläuft, der Hydroxylradikale freisetzt. Vorgeschlagen wurde die Abgabe des Wirkstoffs an die DNA im Zellkern und seine anschließende Anregung mit rotem Licht, was zur Bildung von ROS und zur Spaltung der DNA führt. Interkalierung könnte ein probates Mittel sein, um den Wirkstoff gezielt an die DNA zu lotsen und den Mechanismus des Zelltodes zu steuern. Das Design des multifunktionellen Agens **2**, das ein DNA-Spaltungsagens, einen möglichen DNA-Interkalator für den Wirkstofftransport und eine

emittierende Sonde, um dem Wirkstoff in vivo folgen zu können, vereint, ist ein neuer vielversprechender Ansatz bei der Entwicklung von PDT-Wirkstoffen. Durch den Anthracenrest konnte der Wirkstoff im Zellkern nachgewiesen und Belege für einen gerichteten Wirkstofftransport erhalten werden.

Neben dem Komplex **2** werden in der aktuellen Literatur nur einige wenige weitere durch rotes Licht aktivierbare Metallkomplexe beschrieben. Beim Komplex **3**, einem auf Os^{II} basierenden Molekül (Schema 1), ist wegen der Spin-Bahn-Kopplung die Singulett-Triplett-Anregung durch rotes Licht stärker. Die Spin-Bahn-Kopplung spielt bei Komplexen, die ein schweres Atom enthalten, eine wesentliche Rolle, da sie die Quantenzahlen der Spin- und Bahndrehimpulse mischt. Dies führt zu einer Lockerung der Spinauswahlregel und erlaubt einen Übergang zwischen Zuständen, die formal unterschiedliche Spinnmultiplizitäten haben, oder die Beobachtung von formal spinverbotenen Banden. In diesen Fällen findet die Anregung aus dem ^1GS des Photosensibilisators direkt in den ^3ES statt, ohne dass der höherenergetische ^1ES durchlaufen werden muss (GS: Grundzustand, ES: angeregter Zustand). Im System **3** wird direkt aus dem ^1GS ein $^3\text{MLCT}$ -Zustand besetzt (MLCT: Metall-Ligand-Ladungstransfer). Der Benzo[*h*]dipyrido[3,2-*a*:20,30-*c*]phenazin-Ligand stellt ein ausgedehntes π -System zur Verfügung, das in die DNA interkalieren und so multifunktionelle Interaktionen eingehen kann. Nach Anregung mit rotem Licht ($\lambda_{\text{irr}} \geq 650 \text{ nm}$, $\varepsilon = 3300 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) erzeugt der Komplex **3** $^1\text{O}_2$ und spaltet Plasmid-DNA.^[6]

Der $\text{Ru}^{\text{II}}\text{-Pt}^{\text{II}}$ -Komplex **4** (Schema 1) verwendet den *cis*- PtCl_2 -Rest, der auch in Cisplatin vorhanden ist, um den ROS-Erzeuger Ru^{II} an die Ziel-DNA zu führen und dort eine photoinduzierte Bindung an und Spaltung von DNA durch rotes Licht zu ermöglichen.^[7,8] Einen durch Anregung bei 520 nm erzeugten $^1\text{MLCT}$ -Zustand ($\varepsilon = 11400 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) an DNA zu binden ist einzigartig und resultiert in einer signifi-

kant höheren Absorptivität für sichtbares Licht, wenn man das Verfahren mit der klassischen nach Laporte verbotenen Ligandenfeldanregung vergleicht. Die Anregung von **4** mit rotem Licht (590–660 nm) wird durch die Spin-Bahn-Kopplung und die damit einhergehende direkte Besetzung des ³MLCT-Zustands ($\epsilon \approx 2500 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ermöglicht.

Der Komplex **5** (Schema 1), ein Os^{II}-Rh^{III}-Komplex, ist das einzige Agens, das sauerstoffunabhängig und nach Anregung mit rotem Licht DNA binden und spalten kann.^[9] Dieses System nutzt einen MMCT-Zustand (MMCT: Metall-Metall-Ladungstransfer) und einen Os^{II}-Chromophor, um eine photoinduzierte DNA-Bindung über Rh einzuleiten und so eine sauerstoffunabhängige DNA-Spaltung zu ermöglichen. Der ³MLCT-Zustand kann wegen der ausgeprägten Spin-Bahn-Kopplung in Os^{II}-Komplexen direkt besetzt werden ($\lambda = 750 \text{ nm}$, $\epsilon \approx 2900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$). Anschließend geht der ³MLCT-Zustand in den ³MMCT-Zustand mit formal oxidiertem Os und reduziertem Rh über, was zu einer DNA-Einzelstrangspaltung vom Typ „frank Cleavage“ führt. Bei dieser Spaltungsart muss die DNA anschließend nicht weiter aufgearbeitet werden. Ein kovalent an eine Cerasom bildende Einheit gekoppeltes neues konjugiertes Porphyrin mit Metallzentren, die zur Verbesserung der Absorption von rotem Licht dienen, ist ein weiteres multifunktionelles Agens.^[10] Cerasom ist ein teilweise mit Kieselgel überzogenes Liposom, das typischerweise als Transfektionsagens eingesetzt wird, in dieser Studie allerdings für den Wirkstofftransport bei der PDT verwendet wurde.

In Komplex **6** (Schema 1) wird in einem Ru-MLCT-Chromophor mit sterisch anspruchsvollen 2,2'-Bichinolin-Liganden durch direkte ¹GS-³MLCT-Anregung bei $\lambda > 650 \text{ nm}$ ($\epsilon(650 \text{ nm}) \approx 5 \times 10^{-2} \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ein energetisch niedrigerer ³LF-Zustand besetzt (LF: Ligandenfeld). Dieser Zustand begünstigt die Abspaltung von Liganden, die zu einem Aquakomplex führt, der an DNA binden kann.^[11] Dieser Ru-Komplex erwies sich als zytotoxisch bei humanen HL-60-Leukämiezellen.

Diese jüngsten Entwicklungen bieten eindeutige Kriterien für den Entwurf künftiger multifunktioneller Moleküle als Ausgangsmaterial für neue, hochreaktive PDT-Agentien, die mit rotem Licht angeregt werden können, DNA zielgenau und mit definierten Zelltötungsmechanismen ansteuern und einen sauerstoffunabhängigen Wirkmechanismus aufweisen. Die Entwicklung immer besserer Syntheseverfahren und Reinigungsmethoden ermöglicht den Aufbau komplexer multifunktioneller Strukturmotive. Außerdem liefern die erheblichen Verbesserungen bei den Analysentechniken die Basis für eine gründliche Untersuchung dieser strukturell komplexen Moleküle und ihrer Funktionen.

Eingegangen am 24. Juni 2012

Online veröffentlicht am 10. Oktober 2012

- [1] D. E. J. G. J. Dolmans, D. Fukumura, R. K. Jain, *Nat. Rev. Cancer* **2003**, *3*, 380–387.
- [2] P. Mroz, A. Yaroslavsky, G. B. Kharkwal, M. R. Hamblin, *Cancer* **2011**, *3*, 2516–2539.
- [3] P. Agostinis et al., *CA: Cancer J. Clin.* **2011**, *61*, 250–281.
- [4] O. Raab, *Z. Biol.* **1900**, *39*, 524–526.
- [5] U. Basu, I. Khan, A. Hussain, P. Kondaiah, A. R. Chakravarty, *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 2712–2715; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 2658–2661.
- [6] Y. Sun, L. E. Joyce, N. M. Dickson, C. Turro, *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 6759–6761.
- [7] S. Higgins, T. A. White, B. S. J. Winkel, K. J. Brewer, *Inorg. Chem.* **2011**, *50*, 463–470.
- [8] S. Higgins, A. J. Tucker, B. S. J. Winkel, K. J. Brewer, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 67–69.
- [9] J. Wang, S. Higgins, B. S. J. Winkel, K. J. Brewer, *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 9786–9788.
- [10] X. Liang, X. Li, X. Yue, Z. Dai, *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 11826–11831; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 11622–11627.
- [11] E. Wachter, D. K. Heidary, B. S. Howerton, S. Parkin, E. C. Glazer, *Chem. Commun.* **2012**, *48*, 9649–9651.