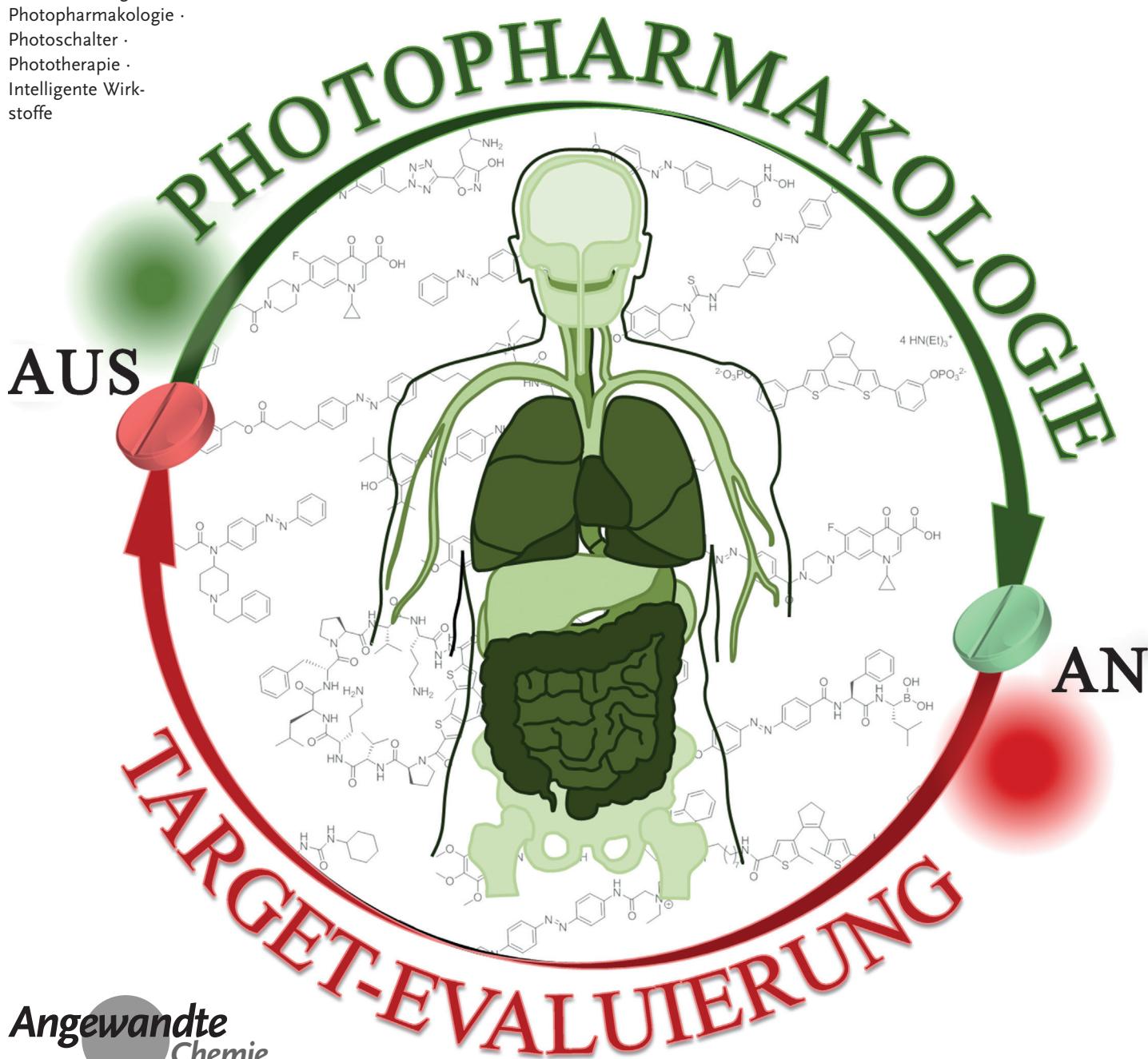


Neue Ziele für die Photopharmakologie

Michael M. Lerch[†], Mickel J. Hansen[†], Gooitzen M. van Dam, Wiktor Szymanski*
und Ben L. Feringa*

Stichwörter:

Lichtzuführung ·
Photopharmakologie ·
Photoschalter ·
Phototherapie ·
Intelligente Wirk-
stoffe



Das Feld der Photopharmakologie nutzt durch Licht schaltbare Moleküle, um Kontrolle über die Wirkung biologisch aktiver Verbindungen zu erlangen. Das Ziel ist es, die systemische Toxizität von Wirkstoffen wie auch die Herausbildung von Resistenzen zu vermindern und gleichzeitig eine extrem hohe Präzision in der Behandlung zu erreichen. Durch die Verwendung niedermolekularer Verbindungen stellt die Photopharmakologie eine valide Alternative zur Optogenetik dar. Wir präsentieren hier einen Überblick über die pharmakologischen Zielstrukturen in verschiedenen Organen sowie über Organsysteme im menschlichen Körper, die auf nicht-invasive Weise angesteuert werden können. Wir diskutieren die Perspektiven einer selektiven Lichtzuführung zu diesen Organen sowie die spezifischen Anforderungen lichtaktivierbarer Wirkstoffe. Über anwendungsorientierte Aspekte hinaus sind wir bestrebt, die Wirkstofftauglichkeit („druggability“) pharmazeutischer Zielstrukturen anhand aktueller Ergebnisse zu illustrieren. Ferner wollen wir aufzeigen, an welchen Stellen neue Ansätze erforscht werden müssen, damit die Umsetzung von „intelligentem“ Moleküldesign in der Photopharmakologie zur klinischen Anwendung gelingt.

1. Das Konzept der Photopharmakologie

Die Mehrzahl der derzeitigen medizinischen Behandlungen basiert auf der Verwendung biologisch aktiver chemischer Verbindungen. Diese Verbindungen rufen eine pharmakologische Antwort hervor, indem sie mit molekularen Zielstrukturen im menschlichen Körper wechselwirken, z.B. mit Enzymen, Rezeptoren, Ionenkanälen und Trägermolekülen.^[1] Entscheidend ist die Selektivität dieser Wechselwirkung; das Fehlen von Selektivität führt zum Auftreten potentiell schwerwiegender kurz-, mittel- oder langfristiger Nebenwirkungen im Körper und limitiert gleichzeitig die wirksame Dosis am Wirkort.^[2] Ein hohes Maß an Selektivität lässt sich auf verschiedene Weise erreichen: 1) durch die Vermeidung von Kreuzreaktionen bei der Ansteuerung von körperfremden Zielstrukturen, z.B. mit antimikrobiellen Substanzen;^[3] 2) durch die Auswahl von Zielstrukturen, die nur in bestimmten Organen vorkommen oder nur bei bestimmten Krankheitszuständen überexprimiert werden, um dadurch Off-Target-Effekte zu vermindern, beispielsweise bei manchen Krebschemotherapien wie der Immuntherapie;^[4] 3) durch lokale (topische) Verabreichung des Wirkstoffs, z.B. in der Ophthalmologie.^[5] In vielen Fällen ist es jedoch nicht möglich, Selektivität zu erreichen, weil die meisten pharmakologischen Zielstrukturen überall im Körper in gesundem wie erkranktem Gewebe konstitutiv exprimiert werden.^[4] Zum Beispiel wird der epidermale Wachstumfaktor (EGF-Rezeptor, EGFR) nicht nur in bösartigen Kopf- und Halstumoren überexprimiert, sondern kommt auch in normalen Epithelien vor,^[6] was einer erhöhten Dosierung eines therapeutischen Antikörpers wie Cetuximab Grenzen setzt. Daher sind Methoden von besonderem Interesse, die eine „ferngesteuerte“ Aktivierung von Wirkstoffen oder eine intrinsische Aktivierung nur am gewünschten

Aus dem Inhalt

1. Das Konzept der Photopharmakologie	11141
2. Anwendung von Licht in der Medizin: Chancen und Herausforderungen	11143
3. Photowirkstofftauglichkeit und Klassifizierung photopharmakologischer Zielstrukturen	11144
4. Klasse 1: oberflächliche Organstrukturen	11144
5. Klasse 2: intraluminale und angrenzende Organe	11148
6. Klasse 3: oberflächennahe Organe	11149
7. Klasse 4: tief sitzende Organe	11150
8. Klasse 5: lichtundurchlässige Organe	11152
9. Sonstige klinische Anwendungen	11155
10. Zusammenfassung und Ausblick	11159

[*] M. M. Lerch,^[+] M. J. Hansen,^[+] Dr. W. Szymanski, Prof. Dr. B. L. Feringa
Stratingh Institute for Chemistry, University of Groningen
Nijenborgh 4, 9747 AG Groningen (Niederlande)
M. J. Hansen,^[+] Prof. Dr. B. L. Feringa
Zernike Institute for Advanced Materials, University of Groningen
Nijenborgh 7, 9747 AG, Groningen (Niederlande)
Prof. Dr. G. M. van Dam
Department of Surgery, Nuclear Medicine and Molecular Imaging
and Intensive Care, University of Groningen, University Medical
Center Groningen
Hanzelplein 1, P.O. Box 30001, 9700 RB Groningen (Niederlande)
Dr. W. Szymanski, Prof. Dr. B. L. Feringa
Department of Radiology, University of Groningen
University Medical Center Groningen
Hanzelplein 1, P.O. Box 30001, 9700 RB Groningen (Niederlande)

[†] Diese Autoren haben zu gleichen Teilen zu diesem Aufsatz beigetragen.

 The ORCID-Identifikationsnummer der Autoren dieses Artikels findet sich unter: <http://dx.doi.org/10.1002/anie.201601931>.

Wirkort zu einer vorbestimmten Zeit, auf begrenztem Raum und ungeachtet der Verteilung der Zielstruktur ermöglichen.

Die Photopharmakologie^[7,8] (Abbildung 1a) zielt darauf ab, das Problem von Off-Target-Effekten und schwerer Nebenwirkungen durch Einbeziehung einer externen Modalität zur Steuerung der Arzneimittelwirkung zu lösen. Um dies zu erreichen, stützt sich die Photopharmakologie auf das Design, die Synthese, Untersuchung und Anwendung von Wirkstoffen, deren Aktivität durch Licht reguliert werden kann. Der Einsatz derartiger Wirkstoffe in der Behandlung von Krankheiten könnte systemische Nebenwirkungen und Folgewirkungen in der Umwelt durch die selektive Aktivierung der biologischen Aktivität/Toxizität verhindern. Die Aktivierung durch Licht lässt sich extrinsisch (von außerhalb des Körpers) oder intrinsisch (innerhalb des Körpers oder unmittelbar am Wirkort) mittels aktiverer fluoreszierender Verbindungen (z.B. FRET-Paare oder fluoreszenzgelöschte Sondenmoleküle) erreichen.

Eine photopharmakologische Substanz ist ein biologisch aktives Molekül, das mit einem Photoschalter, d.h. einer Gruppierung, deren Struktur sich bei Bestrahlung mit Licht



Michael M. Lerch studierte an der ETH Zürich, mit Forschungsaufenthalten an der University of Cambridge (Prof. Steven V. Ley) und am California Institute of Technology (Prof. Robert H. Grubbs). Er erhielt seinen M.Sc. 2014 im Fach Interdisziplinäre Naturwissenschaften und ist gegenwärtig Doktorand am Stratingh Institute for Chemistry in Groningen in der Arbeitsgruppe von Professor Ben L. Feringa. Seine Arbeiten befassen sich mit der Steuerung biologischer Systeme, einschließlich molekularer Motoren und Photoschalter, durch Licht.

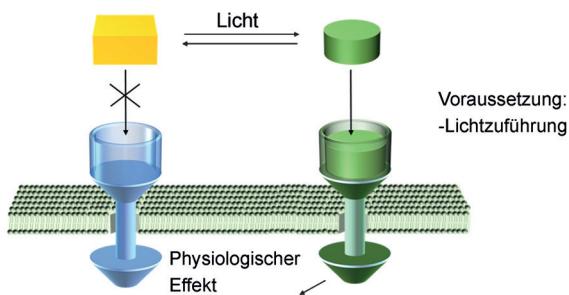


Mickel J. Hansen studierte Chemie an der University of Groningen und erwarb 2014 seinen M.Sc. mit einer Arbeit über photoschaltbare biologisch aktive Moleküle unter der Anleitung von Prof. Ben L. Feringa. Nach Forschungen bei G. Andrew Woolley an der University of Toronto über rotlichtresponsive Photoschalter begann er seine Promotion am Stratingh Institute for Chemistry bei Prof. Ben L. Feringa und Prof. Arnold J. M. Driessens. Seine Forschungen liegen auf den Gebieten der Photopharmakologie und Proteintranslokation.

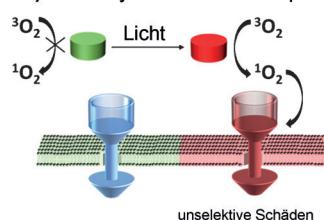


Gooitzen M. van Dam, gebürtig aus Harderwijk (Niederlande), studierte an der University of Groningen (M.D. 1992) und promovierte dort 1998. Im Rahmen eines Fulbright-Stipendiums forschte er an verschiedenen Institutionen in den USA, seit 2002 ist er Chirurg im Bereich Onkologie. Er ist Träger des Jorge Barrio Clinical Translation Award und des Erwin Schrödinger Award. Der Schwerpunkt seiner Forschungsgruppe ist die Entwicklung optischer und multimodaler Tracer.

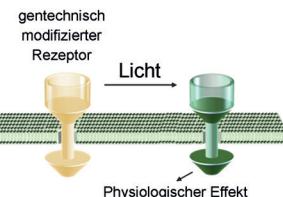
a) Photopharmakologie



b) Photodynamische Therapie



c) Optogenetik



Voraussetzungen:

- Lichtzuführung
- Anwesenheit von Sauerstoff

Voraussetzungen:

- Lichtzuführung
- Genmanipulation

Abbildung 1. Grundprinzipien und Voraussetzungen photokontrollierter Behandlungsmethoden, illustriert am Beispiel eines Zellmembranrezeptors. a) Die Photopharmakologie nutzt photoschaltbare Wirkstoffe (in diesem Fall einen Rezeptoragonisten), die sich für die Interaktion mit dem Rezeptor oder einem Enzym mittels Licht reversibel aktivieren lassen. b) Die photodynamische Therapie (PDT) nutzt Farbstoffe, die aus ihrem durch Licht angeregten Zustand relaxieren und dabei vorhandenen Triplet-Sauerstoff (${}^3\text{O}_2$) in hoch toxischen Singulett-Sauerstoff (${}^1\text{O}_2$) überführen. c) In der Optogenetik kommen gentechnisch hergestellte photoresponsive Ionenkanäle zum Einsatz, die bei Lichteinwirkung eine spezifische biologische Wirkung hervorrufen.



Wiktor Szymanski promovierte 2008 an der Warsaw University of Technology bei Prof. Ryszard Ostaszewski. Es folgten Forschungen an der University of Groningen bei Prof. Ben L. Feringa und Prof. Dick B. Janssen über Biotransformationen in der organischen Chemie und photoaktive Proteine, Peptid- und DNA-Biotkonjugate. 2014 wechselte er in das Department of Radiology, University Medical Center Groningen, wo er 2015 zum Assistant Professor berufen wurde und über molekularmedizinische Bildgebung arbeitet.



Ben L. Feringa promovierte 1978 an der University of Groningen bei Prof. Hans Wynberg und arbeitete anschließend in der Forschung bei Shell, bevor er 1988 eine Professur in Groningen antrat. Seit 2004 hat er die renommierte Jacobus H. van 't Hoff-Professur für molekulare Wissenschaften inne. Seine Forschungsinteressen umfassen die Stereochemie, organische Synthese, asymmetrische Katalyse, molekulare Schalter, Photopharmakologie, Selbstorganisation und Nanosysteme.

ändert, ausgestattet wird.^[9] Da die pharmakodynamischen und pharmakokinetischen Eigenschaften von Wirkstoffen in direkter Beziehung zu ihren Molekülstrukturen stehen, erlauben photoinduzierte Änderungen der Strukturen photopharmakologischer Substanzen oftmals die Regulierung ihrer therapeutischen Wirksamkeit durch Licht.

Auch wenn sie das Stadium der klinischen Entwicklung noch nicht erreicht hat, hat die Photopharmakologie das Potenzial, als eine privilegierte Methode für die medizinische Anwendung von Licht etabliert zu werden, da sie eine durch Licht kontrollierbare, reversible, selektive Ansteuerung von Zielstrukturen im menschlichen Körper durch niedermolekulare Verbindungen (Wirkstoffe) erlaubt, und zwar unabhängig vom Vorhandensein von Sauerstoff. Der photopharmakologische Ansatz, Licht für die medizinische Behandlung zu nutzen, ist durch ältere, gut etablierte Methoden inspiriert. Dazu gehören:

1. Die photodynamische Therapie (PDT, Abbildung 1b),^[10-12] bei der die lichtinduzierte Erzeugung von Singulett-Sauerstoff zur Gewebeablation eingesetzt wird. Da Singulett-Sauerstoff kurzlebig ist, beschränkt sich dessen toxische Wirkung auf ein kleines Volumen, sodass eine räumliche Selektivität dieser Therapieform gegeben ist.^[13] Obgleich die PDT darauf beschränkt ist, Schäden an Zellen hervorzurufen, hat sie zahlreiche klinisch-therapeutische Anwendungen gefunden und die Entwicklung medizinischer Lichtzuführungssysteme angeregt. Die Photopharmakologie, die Licht zur Steuerung bestimmter Wirkstoff-Zielstruktur-Wechselwirkungen einsetzen will, bietet die Aussicht auf selektivere Behandlungen, die sich das Instrumentarium und die Technik der PDT zunutzen machen.
2. Die Optogenetik ist ein wertvoller photophysiologischer Ansatz, der Licht einsetzt, um den Aktivitätszustand gentechnisch veränderter Ionenkanäle zu modulieren, die sich zumeist von lichtempfindlichen Rhodopsinen ableiten (Abbildung 1c).^[14-16] Zukünftig dürfte sich der Einsatz viraler Vektoren für das Gen-Editing menschlicher Nervenzellen zu einem mächtigen therapeutischen Werkzeug entwickeln, z.B. für die Behandlung der Parkinson-Krankheit. Zum heutigen Zeitpunkt ist die klinische Bedeutung der Optogenetik durch die Notwendigkeit komplexer genetischer Eingriffe limitiert, die in der Photopharmakologie nicht erforderlich sind.
3. Weitere Ansätze nutzen photoaktivierte Metallkomplexe,^[17] photoaktivierbare („caged“) biologisch aktive Verbindungen^[18] und photoaktivierte Moleküle wie das klinisch eingesetzte Psoralen.^[19]

Gegenwärtig befindet sich die Photopharmakologie im Stadium der Festlegung und Evaluierung molekularer Zielstrukturen, gestützt auf Ergebnisse von In-vitro-Studien zur Rezeptorbindung, Enzymhemmung und allgemeinen Cytotoxizität. Bedeutende Durchbrüche wurden unter anderem in der photokontrollierten Krebschemotherapie,^[20-24] der Neurologie,^[25-27] bei Diabetes^[28] und bei antimikrobiellen Substanzen^[29] erzielt. Künftige Meilensteine auf dem Weg zur klinischen Anwendung der Photopharmakologie werden unserer Meinung nach In-vivo-Tests und ausführliche Toxizi-

tätsstudien beinhalten. Von großer Wichtigkeit wird auch die Evaluierung photopharmakologischer Ansätze mittels molekularer Bildgebung sein, um die Verteilung photoaktivierter Wirkstoffe und deren lokale Wirkung im Gewebe zu untersuchen.^[30] Die Synergie von molekularer Bildgebung und Photopharmakologie wird sicher auch zur Entwicklung von Theranostika – eine Kombination von Diagnostik und Therapie – beitragen.^[31]

Das Ziel dieses Aufsatzes ist es, Leitlinien für zukünftige Entwicklungen in der Photopharmakologie bereitzustellen. Zu diesem Zweck führen wir das Konzept der Photowirkstofftauglichkeit („photodruggability“) ein und identifizieren mögliche Zielstrukturen für zukünftige photopharmakologische Behandlungen. Wir illustrieren unsere Ausführungen mit neueren Beispielen vor allem der letzten zwei Jahre. Bezuglich der Diskussion photopharmakologischer Prinzipien, des molekularen Designs photokontrollierter Wirkstoffe und grundlegender Eigenschaften molekularer Photoschalter verweisen wir den Leser auf aktuelle Übersichtsartikel.^[7,8]

2. Anwendung von Licht in der Medizin: Chancen und Herausforderungen

Die Photopharmakologie beruht auf der gezielten Zuführung von Licht zu Zielstrukturen im menschlichen Körper. Dies bildet die Grundlage ihrer Selektivität, da Licht sich mit hoher räumlich-zeitlicher Auflösung zuführen lässt. Darüber hinaus erlaubt die einfache Regulierung der Intensität und Wellenlänge des Lichts eine präzise Dosierung der Wirkstoffaktivität. Andererseits sind mit der Abhängigkeit von der Lichtzuführung an den Wirkort auch die größten Herausforderungen der Photopharmakologie verknüpft: Wie bringt man Photonen zu den Zielbereichen im Gewebe? Während die Durchlässigkeit von Körpergewebe für hochenergetische Strahlung (Gamma- und Röntgenphotonen) bestens bekannt ist und in der medizinischen Bildgebung ausgiebig genutzt wird, werden die niederenergetischen Photonen des UV/Vis-Wellenlängenbereichs vom Gewebe gestreut und von endogenen Chromophoren absorbiert.^[32] Sie tragen außerdem zur Photoschädigung von Zellen bei.^[33] Diese Vorgänge schränken die Eindringtiefe stark ein und sind für die toxische Wirkung von UV-Licht verantwortlich.

Mögliche Lösungen für diese Herausforderung lassen sich auf dem Gebiet der photodynamischen Therapie ausfindig machen (Abbildung 1b). Die PDT befasst sich seit ihrer Entstehung mit dem Problem der gezielten Lichtzuführung.^[34] Die Vielzahl erfolgreicher klinischer Anwendungen der PDT lässt die erfolgreiche Übertragung der Photopharmakologie in die Klinik realistisch erscheinen und kann deren Fortentwicklung auf zweierlei Weise unterstützen:

1. Neue Entwicklungen bei Lichtzuführungssystemen für die PDT könnten mit etabliertem medizinischen Equipment kombiniert und für die Verwendung in der Photopharmakologie modifiziert werden. Fortlaufende Verbesserungen in der PDT-Instrumentierung^[34] beinhalten neue Lichtquellen (Laser, LEDs), computerisierte Zuführungssysteme, Endoskope, faseroptische Instrumente und Lichtdiffusoren. Diese Entwicklungen zielen auf kosten-

effektive Lichtzuführungen mit präzise regulierbaren Dosen und Wellenlängen ab. Weiterführende Informationen zur Lichtzuführung in Körperegewebe, einschließlich neu verfügbarer Lichtquellen, strukturierter Belichtung, Mehrphotonenansätzen usw., finden sich in aktuellen Übersichtsartikeln.^[35–37]

2. Substanzen für die PDT werden im Allgemeinen so entworfen, dass sie durch Licht im Wellenlängenbereich 650–900 nm aktivierbar sind. Es ist bestens bekannt, dass Strahlung in diesem phototherapeutischen Nahinfrarot-Fenster^[34] die größte Eindringtiefe in Körperegewebe hat und nicht durch Absorption durch Hämoglobin ($\lambda < 650$ nm) und Wasser ($\lambda > 900$ nm) limitiert ist.^[38] Auf dieser Grundlage haben in jüngerer Zeit zahlreiche Arbeitsgruppen molekulare Photoschalter entworfen und synthetisiert. Als Molekülgerüst diente Azobenzol, das im oder nahe dem therapeutischen Fenster geschaltet werden kann. Bezuglich der Designprinzipien und Eigenschaften dieser Photoschalter verweisen wir auf die hervorragenden Übersichtsartikel der Gruppen von Hecht^[39] und Woolley.^[40] Weitere Entwicklungen auf diesem Gebiet werden mit Spannung erwartet, und es steht außer Zweifel, dass sie die Grundlage zukünftiger erfolgreicher photopharmakologischer Wirkstoffe bilden werden.

3. Photowirkstofftauglichkeit und Klassifizierung photopharmakologischer Zielstrukturen

Das hier eingeführte Konzept der Photowirkstofftauglichkeit ist analog der allgemeinen Wirkstofftauglichkeit (druggability),^[41] d. h. der Fähigkeit eines krankheitsassoziierten Rezeptors/Enzyms, durch einen Wirkstoff (für gewöhnlich eine niedermolekulare Verbindung) angesteuert zu werden, der mit hoher Affinität und unter Veränderung der Aktivität/Eigenschaften bindet. Photowirkstofftauglichkeit fällt unter diese Definition und engt sie durch folgende Aspekte weiter ein:

1. Die Zielstruktur sollte auf die lichtinduzierte Änderung der Struktur/Eigenschaften des photopharmazeutischen Wirkstoffs reagieren.
2. Für den Fall, dass die Photoaktivierung des Wirkstoffs im Patienten vorgesehen ist – um die Vorteile der räumlich-zeitlichen Kontrolle nutzen zu können –, muss die Zielstruktur mit einem lokalisierbaren Krankheitsgeschehen, wie einem soliden Tumor oder einem Entzündungsherd, in Zusammenhang stehen.
3. Die Zielstruktur sollte für Licht zugänglich sein.

Auf der Grundlage dieser Kriterien und in Anlehnung an die PDT schlagen wir folgende systematische Klassifizierung von Organen nach der Einfachheit ihrer Lichtzuführung vor:^[11,12,34]

- **Klasse 1:** leicht zugänglich: Haut,^[42] Augen (Ophthalmoskopie)^[43]
- **Klasse 2:** mittels Endoskopie zugänglich: Magen-Darm-Trakt,^[44] Mundhöhle und Schlund,^[45] Nebenhöhlen,^[46] Atemwege,^[47] Gebärmutterhals,^[48] Gallengänge,^[49] Harnblase^[50] usw.

- **Klasse 3:** durch die Haut ohne Einschnitte (oberflächlich unter der Haut gelegen): Schilddrüse, Hoden; oberflächlich gelegene Lymphknoten, Muskeln und Knochen.
- **Klasse 4:** mittels kleiner Einschnitte zugänglich: Bauchfell,^[51] einschließlich Bauchspeicheldrüse,^[52] Leber,^[53] Eierstöcke, Magen, Dünndarm, Nieren und Milz; außerdem die Prostata,^[54] die meisten Blutgefäße^[55] sowie Drüsen, Lymphknoten, Muskeln und Knochen.
- **Klasse 5:** mittels größerer Einschnitte oder intraoperativ zugänglich: Gehirn^[56] und Knochenmark.

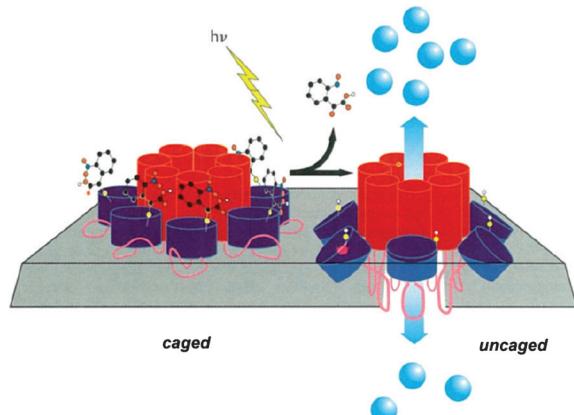
4. Klasse 1: oberflächliche Organstrukturen

Die für die Lichtzuführung am leichtesten zugänglichen Organe sind die Haut, Augen, Ohren, Mundhöhle, Magen-Darm-Trakt sowie die oberen und unteren Atemwege. Wir fokussieren uns im Folgenden auf aktuelle Entwicklungen bei der Photopharmakologie des Auges und der Haut. Die Menschheit ist von einer Vielzahl von Augenleiden betroffen, von der Makuladegeneration über bakterielle und virale Infektionen bis hin zu Autoimmunkrankheiten und Farbenblindheit. Die Verbesserung des Sehvermögens, und ultimativ dessen Wiederherstellung, ist ein attraktives Ziel für die Photopharmakologie, da die Augen für die Wechselwirkung mit Licht prädestiniert sind. Konzeptionell lässt sich die erhoffte Wiederherstellung von Lichtresponsivität durch Lichteinfall durch die Hornhaut und Iris erreichen. Das Sehvermögen ist stets mit neuronaler Signalgebung verknüpft, und die Pharmakologie der Wiederherstellung des Sehvermögens ist daher mit Agonisten, Antagonisten oder Blockern von Membrananälen befasst.

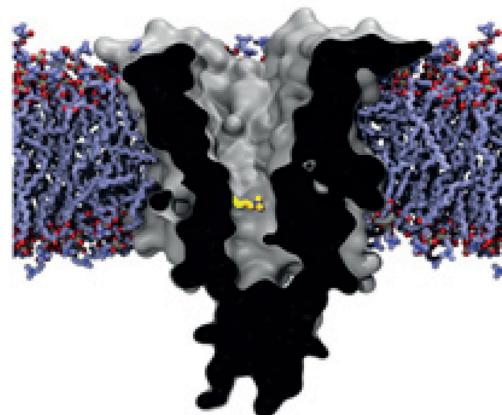
Membrananäle sind Transmembranproteine, die wichtig für die neuronale Kommunikation und die Erzeugung und Weiterleitung von Aktionspotentialen sind.^[57] Die Hauptklassen bilden die ionotropen (für Ionen permeabel) und die metabotropen Rezeptoren (Sekundärarbeiterstoffrezeptoren, z. B. G-Protein-gekoppelte Rezeptoren). Membrananäle reagieren auf spezifische Reize; Beispiele sind ligandensteuerte (kleine Moleküle, chemische Stimuli) und spannungsgesteuerte Ionenkanäle (Transmembranpotential), daneben gibt auch solche, die auf mechanischen Reiz oder Temperaturänderung reagieren. Die Grundlagen der Biologie und Chemie von Membrananalproteinen wurde eingehend untersucht.^[58–61] Neuere Forschungen stammen von Bayley und Mitarbeitern,^[62,63] mit Schwerpunkt auf den nanotechnologischen Anwendungen solcher Kanäle (z. B. Nanoporen-basierte Sequenzierung).^[64–66] Du Bois und Mitarbeiter^[67–69] führten wichtige Arbeiten zur Synthese von Neurotoxinen und deren Effekte auf Membranen durch. Bestimmte Kanalproteine, wie etwa Rhodopsin,^[70] reagieren von Natur aus auf Licht – eine Eigenschaft, die in der Optogenetik breit ausgenutzt wird (siehe Abbildung 1c).^[14,71–74]

Grundlegende Studien zum Konzept der gezielten Öffnung und Schließung („gating“) von Membrananälen durch die Einwirkung von Licht stammen von Bayley und Mitarbeitern^[62–66] (irreversible Aktivierung durch Photocaging) und unserer Gruppe^[75–78] (reversible Aktivierung durch Photoschaltung) und wurden durch die Gruppe von Trauner

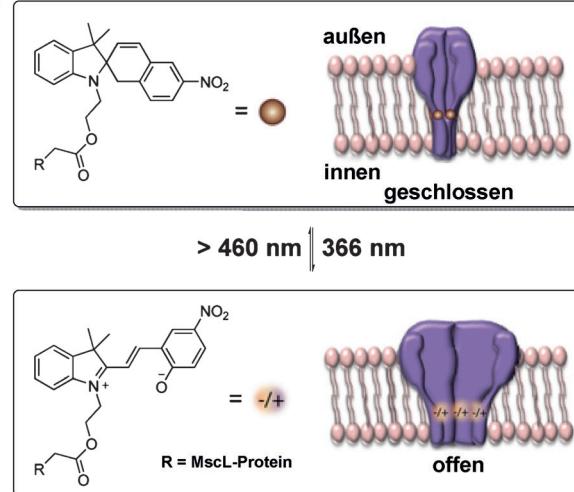
a)



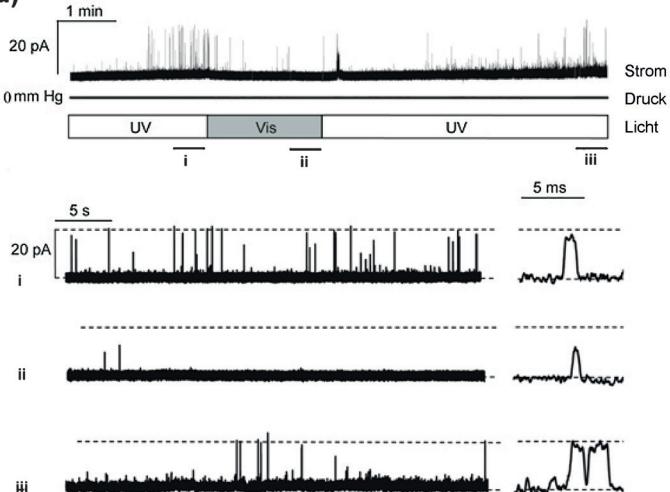
b)



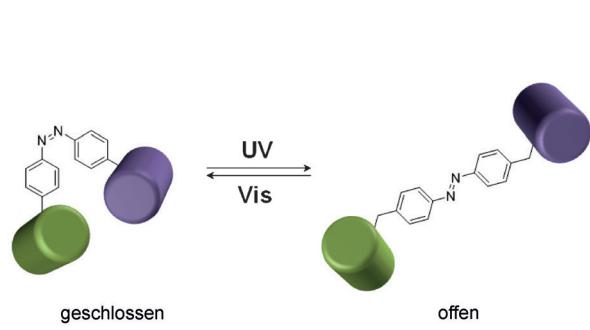
c)



d)



e)



f)

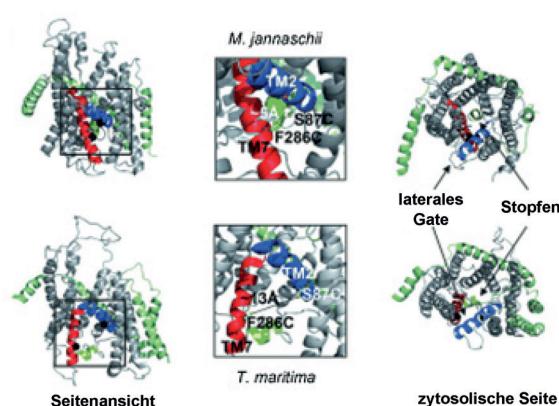


Abbildung 2. Steuerung des Öffnens und Schließen von Transmembranproteinen mittels Licht: a) Irreversible Steuerung des membranporenbildenden α -Hämolsin-Komplexes aus *Staphylococcus* mittels Licht: Photoaktivierung („uncaging“) eines modifizierten Cysteinrestes ermöglicht die Porenbildung.^[63] Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [63], Copyright 1995 Elsevier Inc. b) Reversible Steuerung des mechanosensitiven Ionenkanals MscL aus *E. coli*.^[75] Die Struktur des MscL-Kanals ist im Querschnitt gezeigt (die Stelle der Affinitätsmarkierung (G22C) mit dem Spiropyran-Photoschalter ist gelb hervorgehoben). Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [76], Copyright 2013 American Chemical Society. c) Allgemeine Übersicht über den mittels Licht gesteuerten Öffnungs- und Schließprozess: Die Bildung des (zwitterionischen) Merocyanin-Isomers führt zu einer lokalen Ladungssakkumulation und somit zur Öffnung des Kanals. Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [76], Copyright 2013 American Chemical Society. d) Elektrophysiologie des modifizierten MscL-Kanals: Wirkung der Bestrahlung auf die gemessenen elektrischen Ströme. UV-Licht führt zur Öffnung der Pore (i und iii), sichtbares Licht schließt den Kanal (ii). Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [75], Copyright 2005 AAAS. e) Reversibles Schließen und Öffnen des SecYEG-Kanals^[78] mittels Licht durch Einbau eines Azobenzol-Photoschalters. f) Strukturvergleich der SecYEG-Komplexe aus *Methanococcus jannaschii* (1RHZ.pdb, laterales Gate=geschlossen) und *Thermotoga maritima* (3DIN.pdb, laterales Gate=Zustand vor der Öffnung) in Seitenansicht und in Aufsicht von der cytosolischen Seite her. Das laterale Gate in Vergrößerung: TM2 (blau), TM7 (rot), Plug-Domäne (gelb), Positionen der Cysteinmutationen S87C und F286C in *E. coli* (schwarze Kreise). Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [78], Copyright 1999–2016 John Wiley & Sons, Inc.

fortgeführt.^[8,79,80] Bayley und Mitarbeiter überführten α -Hämolsin aus Staphylokokken durch Photocaging eines einzelnen Cysteinrestes in einen photoreaktiven Zustand (Abbildung 2 a). Die Fähigkeit des α -Hämolsins zur Porenbildung wird durch das Caging eingebüßt und durch Bestrahlung mit UV-Licht wiederhergestellt. In einer neueren optogenetischen Studien wurden Membrankanäle durch gentechnische Modifikation in einen lichtresponsiven Zustand überführt (siehe Abbildung 1 c).^[14,71–73]

2005 stellte unsere Arbeitsgruppe eine Methode zur Photosteuerung eines von einem Kanalprotein abgeleiteten Nanoventils vor (Abbildung 2 b–d).^[75] Ausgehend von dem gut charakterisierten, hoch leitfähigen, mechanosensitiven MscL-Kanal aus *Escherichia coli* verfolgten wir den Ansatz, diesen durch Modifizierung mit einem Spiropyran-Photoschalter in einen photoreaktiven Zustand zu überführen (Abbildung 2 b,c). Durch Austausch jeweils eines Glycins in den M1-Helices des pentameren Kanalkomplexes gegen Cysteine, die von Natur aus nicht im MscL-Protein vorhanden sind, erzeugten wir eine Stelle für die selektive Modifizierung im Inneren des Proteinkanals (Abbildung 2 b). Durch Reaktion des Cystein-derivatisierten MscL-Proteins mit einem Iodacetat-Photoschalter gelang die Synthese eines Spiropyran-modifizierten MscL-Derivats (Abbildung 2 c). Bei Bestrahlung mit UV-Licht geht der Spiropyran-Schalter von einem neutralen in einen geladenen Zustand über, der die Öffnung der MscL-Pore bewirkt. Patch-Clamp-Untersuchungen und Efflux-Experimente bewiesen die Öffnung des Ventils mittels Licht (Abbildung 2 d). Darüber hinaus wurde ein reversibles Öffnen und Schließen des MscL-Kanals beobachtet. Diese Studien waren ein erster Schritt auf dem Weg zur Steuerung von Kanalproteinen mittels Licht.

Eine neuere Arbeit von Driessens und Mitarbeitern^[78] befasste sich mit der Steuerung der Proteintranslokation durch den SecYEG-Komplex (Abbildung 2 e,f). Proteintranslokation durch die Membran wird in Bakterien vornehmlich durch diesen SecYEG-Membranproteinkanal im Zusammenspiel mit dem Motorprotein SecA erreicht. Durch Einbau eines Azobenzols in den lateralen Zugang von SecY, der die Hauptuntereinheit des SecYEG-Komplexes darstellt, entstand ein photoschaltbarer Proteintranslokationskanal (Abbildung 2 e,f). Um den Effekt der Isomerisierung des Azobenzol-derivatisierten SecY zu prüfen, wurde mit dem Präprotein proOmpA als Substrat eine In-vitro-Translokationsmessung durchgeführt. Das *trans*-Azobenzol/SecY-Konjugat zeigte dabei eine dem unkonjugierten SecY vergleichbare Effizienz. Nach der Umwandlung in das *cis*-Isomer ergab sich jedoch eine bis zu fünfzehnmal verminderte Translokation. Diese Studie lieferte die erste Methode zur direkten Steuerung eines Proteintranslokationskanals mittels Licht.

Flannery und Mitarbeiter untersuchten die Verwendung lichtresponsiver Proteine für die Wiederherstellung des Sehvermögens an Nagermodellen für erbliche Blindheit, mit dem Ziel, eine Methode zur Behandlung von *Retinitis pigmentosa* und altersbedingter Makuladegeneration zu finden (zweier zur Erblindung führender Erkrankungen, die durch das Absterben von Stäbchen- und Zapfen-Photorezeptoren verursacht werden).^[81] Die Autoren modifizierten einen lichtgesteuerten ionotropen Glutamatrezeptor (LiGluR) mit dem

Maleimid-Azobenzol-Glutamat-Anker **1**, den sie an ein gentechnisch eingeführtes Cystein im aktiven Zentrum kuppeln (Abbildung 3).^[82,83]

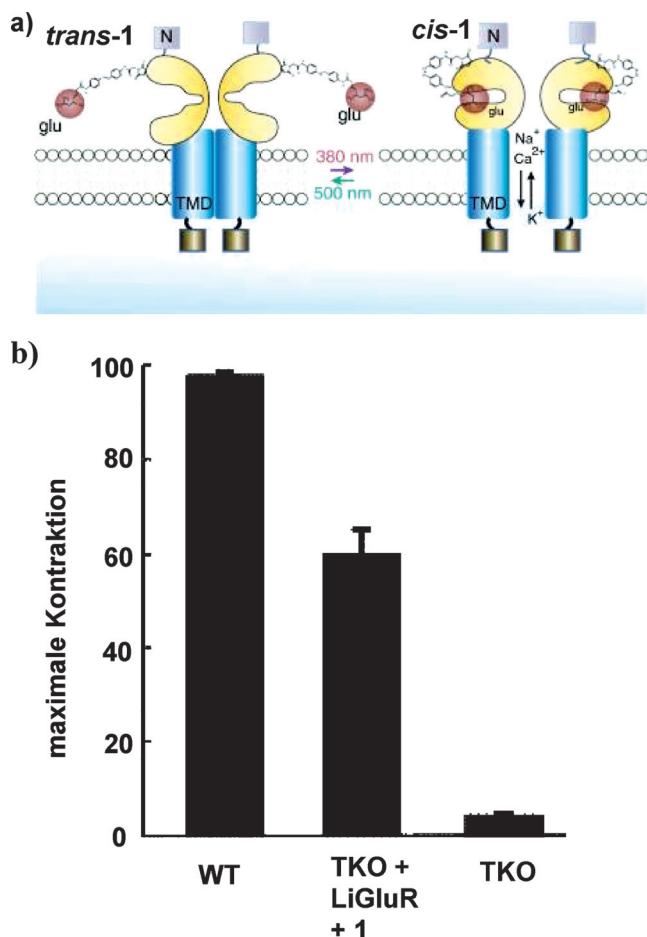
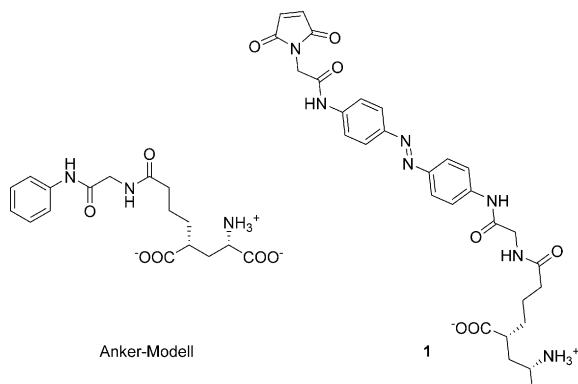


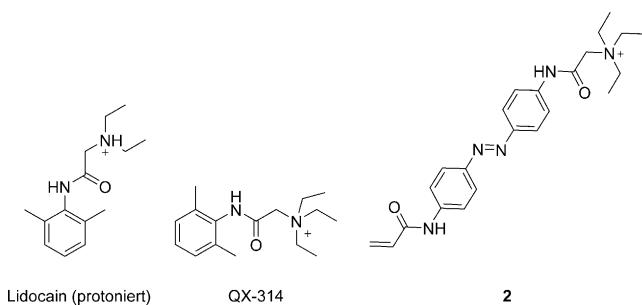
Abbildung 3. a) Schließen und Öffnen des LiGlu-Rezeptors infolge *cis-trans*-Isomerisierung des photoschaltbaren, verankerten Agonisten. Das Öffnen des LiGlu-Rezeptors nach Bestrahlung mit Licht der Wellenlänge 380 nm erlaubt den Einstrom von Kationen, der zur Depolarisation der Membran führt. b) Messung des Pupillenreflexes (Kontraktion) an Wildtypmäusen, TKO-Mäusen und TKO-Mäusen mit LiGluR und dem photoschaltbaren Agonisten. Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [81], 2016 American Society of Gene & Cell Therapy.

Der Anker **1** wurde von den Arbeitsgruppen von Trauner (2006)^[82] bzw. Isacoff (2007)^[83] als ein konstitutiv steuerbares Zwischenstück zur reversiblen Öffnung und Schließung des LiGluR vorgestellt. Adeno-assoziierte virale (AAV) Vektoren^[84] kamen zum Einsatz, um den LiGluR in retinale Ganglienzellen zu schleusen und so die funktionelle Verbindung zum primären Sehzentrum, den Pupillenreflex und das natürliche Lichtvermeidungsverhalten wiederherzustellen (Abbildung 3 b). In diesem Zusammenhang ist es von Bedeutung, dass die Lichtzuführung zum Auge durch die Undurchlässigkeit der Hornhaut für UV-Licht^[85] eingeschränkt wird. Deshalb wird bevorzugt ein rotverschobenes Analogon von **1** eingesetzt. Eine Rotverschiebung geht oft mit einer ver-



minderten thermischen Stabilität des *cis*-Isomers einher, was für Anwendungen zur Wiederherstellung der Sehkraft von Vorteil ist.

Ein ähnlicher Ansatz wurde von Kramer, Trauner und Mitarbeitern verfolgt, die über die photochemische Wiederherstellung der visuellen Reaktion bei blinden Mäusen berichteten.^[26] Zum Einsatz kam eine quartäre Acrylamid-Azobenzol-Ammoniumspezies (**2**), die 2008 als Photoschalter für K_v-Kanäle vorgestellt wurde, der die Steuerung der neuronalen Erregung ermöglicht.^[86,87] Das Molekülmodell von **2**



ist von der positiven Ladung des protonierten Lidocains inspiriert. Die Verabreichung erfolgte einfach durch Injektion des Photoschalters in den Glaskörper des Auges, ein operativer Eingriff war somit nicht nötig. Die Injektion von **2** führte zur Wiederherstellung der Lichtresponsivität in retinalen Ganglionzellen bei mutierten Mäusen, dehnen Stäbchen- und Zapfenzellen fehlten. Besonders hervorzuheben ist, dass die Reversibilität dieses Systems, zusammen mit der Langzeitwirkung der Lichtresponsivität, großes Potential für die Wiederherstellung der Sehfähigkeit besitzt. Nachteile dieses Systems sind die nötige Anwendung von hochintensivem UV-Licht, um Lichtresponsivität der retinalen Ganglionzellen auszulösen, die mögliche Toxizität der reaktiven Acrylamidgruppe und sowie die mangelnde Genauigkeit der intravitrealen Injektion, die eine schwankende Responsivität *in vivo* bedingt.^[26]

In einer Folgepublikation zeigten Kramer und Mitarbeiter^[88] einen Weg auf, um die meisten der oben beschriebenen Nachteile zu umgehen, und zwar durch Rotverschiebung der Absorptionswellenlänge des K_v-Photoschalters (Abbildung 4). Die Einführung einer Diethylaminogruppe, die als starker Elektronendonator fungiert, führte zur Verbindung **3**,

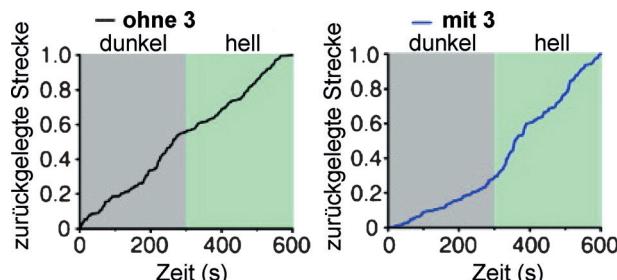
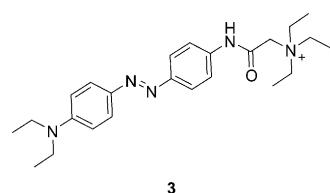


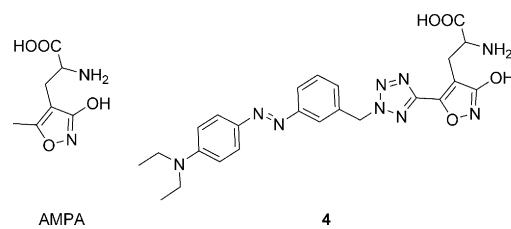
Abbildung 4. Zurückgelegte Strecke (kumulativ) einer rd1-Maus vor und nach Injektion der photoschaltbaren Verbindung **3**. Vor der Injektion war keine Wirkung der Bestrahlung erkennbar, nach der Injektion löste Licht das Zurücklegen einer größeren Strecke aus. Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [88], Copyright 2014 Elsevier Inc.

die durch Licht von 450–550 nm isomerisiert wird und im Dunkeln einer raschen Relaxation zum *trans*-Isomer unterliegt.^[89] Der deutliche Effekt des rotverschobenen photo-



schaltbaren K_v-Kanalblockers **3** wird nur an Netzhäuten mit degenerierten Photorezeptoren beobachtet, während bei Wildtypmäusen oder Dreifach-Knockout-Mäusen (TKO-Mäusen) an gesunden Netzhäuten kein Effekt zu beobachten war. Das impliziert, dass der Effekt auf eine selektive Interaktion von **3** mit von Zelltod betroffenen Regionen beschränkt ist.

Vor kurzem wurde ein weiteres Beispiel für die Wiederherstellung der Lichtresponsivität blinder Netzhäute (Retinæ) durch den Azobenzol-modifizierten AMPA-Rezeptoragonisten **4** vorgelegt.^[90] Dies ist das erste Beispiel für den



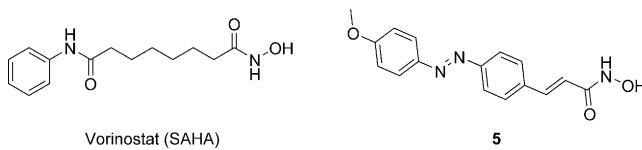
Einsatz eines photoschaltbaren Agonisten anstelle eines Blockers für die Wiederherstellung der Lichtresponsivität blinder Netzhäute. Die Molekülstruktur von **4** leitet sich von der synthetischen exzitatorischen Aminosäure AMPA (α -Amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolpropionsäure) ab, die zur Steuerung der neuronalen Aktivität von Hirnrinden schnitten eingesetzt wurde. Allerdings ist noch immer unbekannt, ob AMPA in geschädigten Netzhäuten ubiquitär exprimiert wird.^[91–93] Dies hätte nicht nur Auswirkungen für die Anwendbarkeit dieses Systems bei der Wiederherstellung des

Sehvermögens, sondern auch für alle anderen Ansätze der Netzhautmanipulation.

Zusammengefasst wurden in den vergangenen Jahren mehrere Arbeiten veröffentlicht, die das Potential der Photopharmakologie zur Wiederherstellung der visuellen Reaktion des Auges auf Licht aufzeigen. Eine Herausforderung bei der Verwendung von Photoliganden ist der Nachweis ihrer kovalenten Anbindung an die Zielstruktur;^[75,77] letzteres erfordert außerdem gentechnische Veränderungen, was für medizinische Anwendungen ungeeignet ist. Dennoch haben es diese Grundlagenstudien ermöglicht, die Photopharmakologie an das Gebiet der Ophthalmologie heranzuführen. Zu den wesentlichen Herausforderungen gehört die Entwicklung langsam diffundierender/abbaubarer niedermolekularer Verbindungen, die die Sehfähigkeit für längere Zeit wiederherstellen, sodass die Notwendigkeit wiederholter Injektionen in den Glaskörper entfällt. Darüber hinaus könnte eine Ansammlung mehrerer schaltbarer, kleiner Moleküle mit unterschiedlichen Absorptionsmaxima physiologische Responsivität auf unterschiedliche Farben vermitteln und damit das Forschungsgebiet dem Ziel eines anwendbaren System zur Heilung von Blindheit näher bringen.

Die Haut stellt ein anderes leicht erreichbares Ziel für photopharmakologische Behandlungen und Evaluationsstrategien dar, da sie das exponierteste und damit am leichtesten zugängliche Organ des Menschen ist. Wir haben photoschaltbare Histondesacetylase-Inhibitoren (HDAC-Inhibitoren)^[22] vorgestellt, die Anwendungen der Photopharmakologie bei Hautkrankheiten wie kutanem T-Zell-Lymphom, oberflächlich spreitendem Melanom usw. ermöglichen könnten.

Ausgehend von dem zugelassenen Wirkstoff Vorinostat (SAHA, Abbildung 5 a), der zur Behandlung von kutanem T-Zell-Lymphom eingesetzt wird, untersuchten wir den Einbau eines Azobenzol-Photoschalters, um das Molekül photoreaktiv zu machen (Abbildung 5 b).^[22] Für das Molekül HDAC2



wurde eine bis zu 39-fache Änderung der Aktivität bei Isomerisierung der Struktur gemessen (Abbildung 5 c,d). Die Wirkstärke war vergleichbar mit nativem SAHA, und es wurde eine stabile Photoschaltbarkeit beobachtet, ohne dass dabei eine Reduktion durch Glutathion unter physiologischen Bedingungen einherging. Auch in diesem Fall gilt jedoch, dass der nötige Einsatz von UV-Licht ein Hindernisgrund für die klinische Anwendung sein kann, weil es auf gesunde Zellen, insbesondere der Haut, toxisch wirkt. Der nächste Entwicklungsschritt wird daher der Einbau eines weiter im roten Bereich absorbierenden Photoschalters sein.^[39,40,94,95]

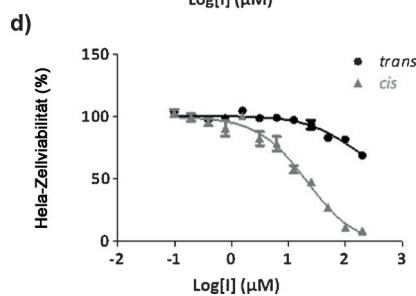
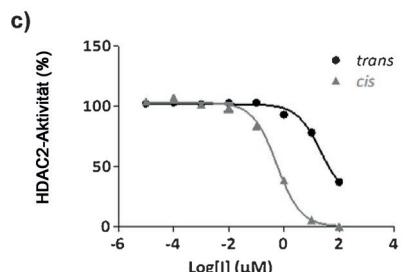
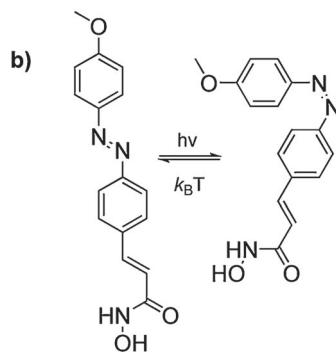
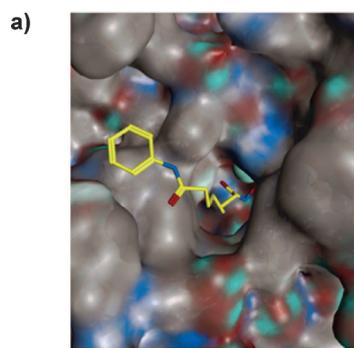


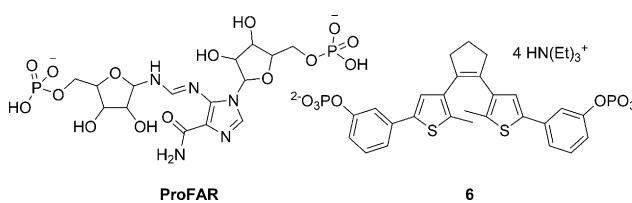
Abbildung 5. a) Ursprüngliche Bindungsstelle des Enzyms im Komplex mit SAHA. Die aliphatische Seitenkette schiebt sich in den enzymatischen Kanal ein, dabei bindet die Hydroxamsäure an das Zinkkation. b) Photoisomerisierung des photoschaltbaren SAHA-Derivats 5. c) IC₅₀-Werte für die Hemmung des HDAC2-Enzyms durch die *trans*- und *cis*-Formen des Inhibitors. d) Überlebensrate von HeLa-Zellen nach 16-stündiger Inkubation bei verschiedenen Konzentrationen der isomeren Formen des Inhibitors. Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [22], 2015 Wiley-VCH.

5. Klasse 2: intraluminale und angrenzende Organe

Die Organe der Klasse 2 sind endoskopisch zugänglich: Nebenhöhlen, Mundrachen, Magen-Darm-Trakt, Atemwege, Harnblase, Prostata und Gebärmutterhals. Aufgrund der

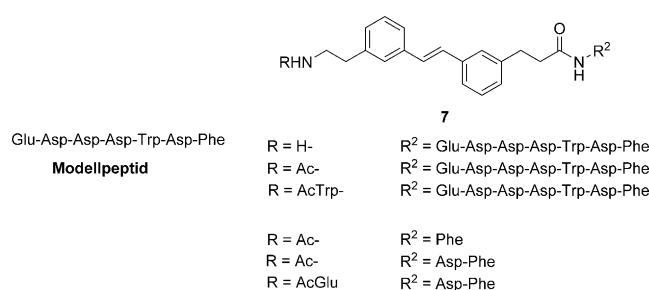
leichten Zugangs zu diesen Organen mittels Lichtquellen stellen lokalisierte Erkrankungen der Mundhöhle und der Atemwege sowie bestimmte Krebsformen (z.B. Tumoren der Blase, des Gebärmutterhalses und der Prostata, aber auch solche des Magen-Darm-Trakts) bevorzugte Zielstrukturen einer photopharmakologischen Behandlung und der begleitenden Überwachung durch Fluoreszenzbildgebungsverfahren dar.^[96]

König und Mitarbeiter berichteten über die Anwendung der Photopharmakologie bei Infektionskrankheiten der Atemwege an dem wichtigen Beispiel der Tuberkulose.^[97] Die Krankheit wird durch das pathogene Bakterium *Mycobacterium tuberculosis* verursacht. Phosphoribosylisomerase A (*mtPriA*),^[98] ein Enzym am Verzweigungspunkt der bakteriellen Biosynthesewege von Tryptophan und Histidin, wurde als Angriffspunkt ausgewählt.^[99] Die Gruppen von Sterner und König machten sich die Zweifachsymmetrie des *mtPriA*-Moleküls zunutze,^[100] um einen Satz *C*₂-symmetrischer Inhibitoren mit Diarylethen-Photoschalter^[101] und nicht schaltbarem ProFAR, einem Substrat von *mtPriA*, zu entwerfen. In-vitro-Tests ergaben niedrige mikromolare Inhibitionskonstanten (K_i ; $K_{m, \text{ProFAR}} = 8.6 \mu\text{M}$). Für das Molekül **6** wurde im Vergleich der offenen zur geschlossenen Form eine bis zu 10-fache Differenz gemessen. Die Verwendung von Diarylethen-



nen bietet den Vorteil einer schnellen Photoisomerisierung und des Auftretens von Bistabilität. In diesem Fall ist das stark inhibierende Isomer die offene Form, die man durch Bestrahlung mit sichtbarem Licht ($\lambda > 420 \text{ nm}$) erhält. Die Cyclisierung wird durch Licht von $\lambda = 320 \text{ nm}$ ausgelöst. Bistabilität ist nicht notwendigerweise ein Schlüsselfaktor für die Verwendung in der Photopharmakologie.^[8] Von Bedeutung ist, dass beim molekularen Design ein adaptiver Abstandhalter zwischen zwei entscheidend wichtigen funktionalen Gruppen zum Einsatz kommt, in diesem Fall ein Diarylethen, das die konformative Flexibilität des Moleküls moduliert. Dieser Ansatz steht im Kontrast zum Ansatz der „Azolisierung“.^[102]

Ein anderer Ansatz für eine mögliche Behandlung der Tuberkulose wurde von Gogoll und Mitarbeitern verfolgt,^[103] in diesem Fall war die Ribonukleotidreduktase aus *M. tuberculosis* (*mtRNR*) das Angriffsziel.^[104] Das Enzym besteht aus zwei Untereinheiten, die einen tetrameren Komplex bilden. Für die katalytische Aktivität des Enzyms ist die Interaktion beider Untereinheiten notwendig.^[105] Gogoll und Mitarbeiter entwarfen auf der Grundlage eines Modellpeptids eine Serie kurzer photoschaltbarer peptidomimetischer Inhibitoren. Dazu wurde an verschiedenen Positionen des Modellpeptids eine photoschaltbare Stilben-Einheit eingebaut, eine Serie von Peptidomimetika **7** mit zum Teil unter-



schiedlichen Längen zu erhalten.^[103] Bei den längeren Peptiden erwies sich das *E*-Isomer als aktiver, bei kürzeren war es umgekehrt. Interessanterweise waren sämtliche Verbindungen wirksamer als das Ausgangspeptid, wahrscheinlich aufgrund einer hydrophoben Wechselwirkung der Stilbenegruppe mit der Bindungstasche des Enzyms.^[106] Die Photoschaltung wurde mit Licht von $\lambda = 300 \text{ nm}$ und vergleichsweise langen Bestrahlungszeiten ($> 1 \text{ h}$) erreicht. Beide Faktoren könnten einem klinischen Einsatz entgegenstehen.

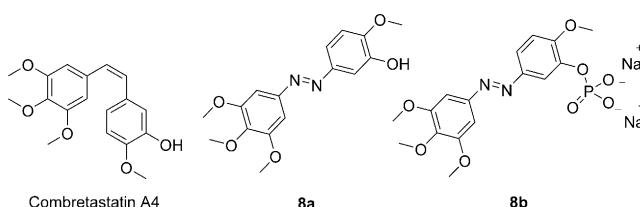
Organe der Klasse 2 bieten vielfältige Möglichkeiten für photopharmakologische Behandlungen, weil interessante Angriffsziele in Form von Infektionskrankheiten, Entzündungskrankheiten wie Morbus Crohn und maligne Tumore vorhanden sind. Die Tuberkulose ist eine sehr ernste Erkrankung, und die anfänglichen Forschungsbemühungen, die oben beschrieben sind, offenbaren das Potential der Photopharmakologie bei der Bekämpfung dieser Krankheit. Die Photowirkstofftauglichkeit von Organen der Klasse 2 ist hoch, da sie endoskopisch zugänglich sind, unter anderem auch für multispektrale Lichtquellen, die die Möglichkeit bieten, Photoisomerisierungsprozesse bei verschiedenen Wellenlängen auszulösen und so den photopharmakologischen Effekt an- und auszuschalten.

6. Klasse 3: oberflächennahe Organe

Organe der Klasse 3 sind mittels Bestrahlung mit Licht durch die Haut (perkutan) erreichbar, ohne dass dafür Einschnitte in die Haut notwendig sind. Ihre oberflächliche Lokalisation ermöglicht die Bestrahlung durch die Körperoberfläche. Die Penetrationstiefe des für die Schaltung des Wirkstoffs verwendeten Lichts muss jedoch in geeigneter Weise angepasst werden (siehe oben). Zu den Organen der Klasse 3 gehören Schilddrüsen, Hoden, Speicheldrüsen, Lymphgefäße und -knoten, Muskeln, Nerven, Arterien sowie Venen und Knochen.

Krebs^[107] bildet ein erstrangiges Ziel der Photopharmakologie, da viele Tumoren örtlich umgrenzt sind und existierende Therapien häufig mit schweren systemischen Nebenwirkungen behaftet sind, was für den Kranken eine immense zusätzliche Beschwerde bedeutet.^[2]

Die Dynamik der Mikrotubuli ist essentiell für intrazelluläre Transportvorgänge sowie für die Motilität und Proliferation von Zellen.^[108] Weiter wurden Mikrotubuli mit dem Phänomen der Antiangiogenese in Verbindung gebracht.^[109] Combretastatin A4 ist ein Mikrotubulushemmer mit einer Colchicin-Domäne, der direkt an Tubuline bindet und so



deren Polymerisation zu Mikrotubuli hemmt.^[108,110-114] Combretastatin-A4-Phosphat zeigt Wirkung gegen das anaplastische Schilddrüsenkarzinom.^[115]

Vor kurzem wurden drei voneinander unabhängige Studien zur Entwicklung von Combretastatin-A4-Analoga vorgelegt, die ein eindrucksvolles Beispiel für das Potenzial der Photopharmakologie in der Krebsbekämpfung darstellen.^[21,116,117] Thorn-Seshold, Trauner und Mitarbeiter führten eine Reihe biologischer Tests mit einer Anzahl von Combretastatin-A4-Analoga aus, darunter auch wasserlöslichen Wirkstoffvorstufen.^[21] Die erfolgversprechendste Verbindung **8a** zeigte eine ausgezeichnete Cytotoxizität der *cis*-Form, die eine bis zu 250-fach stärkere Wirkung als das *trans*-Isomer aufwies, das in Dunkelheit praktisch keine biologische Wirkung erkennen ließ (Abbildung 6a). Die Reaktion auf Licht erfolgt rasch, und der *cis*-Gehalt des Azobenzolgemischs korrelierte direkt mit der gemessenen Cytotoxizität, da nur die *cis*-Form an die Colchicin-Domäne des Tubulins bindet.

Wichtig ist, dass nur die Verbindung **8b** *in vitro* und in einer Reihe von Zelllinien eine Kontrolle über die Assoziation/Dissoziation der Mikrotubuli mit räumlich-zeitlicher Präzision und hoher Cytotoxizität ermöglichte (Abbildung 6b). In-vivo-Experimente wurden an *Caenorhabditis elegans* und am Musculus cremaster lebender Mäuse durchgeführt. Die lichtgesteuerte Dynamik der Tubulinpolymerisation ließ sich dabei in Echtzeit verfolgen.^[21]

Streu und Mitarbeiter berichteten ebenfalls über die Verbindung **8a** und legten In-vitro-Daten und solche aus einem HeLa-MTT-Assay vor, die eine erhöhte Cytotoxizität von **8a** nachwiesen, die in Gegenwart von Licht der von Combretastatin A4 vergleichbar war (Abbildung 7).^[116] Schließlich fanden Sheldon et al.,^[117] dass *cis*-**8a** sich mit Glutathion leicht reduzieren lässt, was sich bei biomedizinischen Anwendungen als ernstes Problem erweisen kann. Interessanterweise wurden unterschiedliche thermischen Stabilitäten des *cis*-Isomers im Vergleich zur Studie von Borowiak et al.^[21] beobachtet. Die biologischen Resultate bezüglich der Cytotoxizität von **8a** gegenüber menschlichen Nabelschnur-Endothelzellen und Adenokarzinom-Epithelzellen (MDA-MB-231) decken sich jedoch mit anderen publizierten Befunden.^[21,116]

7. Klasse 4: tiefsitzende Organe

Durch intraluminale Endoskopie lassen sich Organe wie die Bauchspeicheldrüse (Pankreas) und Gallengänge erreichen. Nach Einschnitt in die Körperdecke sind praktisch alle inneren Organe wie Leber, Pankreas, Milz, Dünnd- und Dickdarm, Harnblase, Nieren und Nebennieren zugänglich. Die Bauchspeicheldrüse hat in den vergangenen Jahren in-

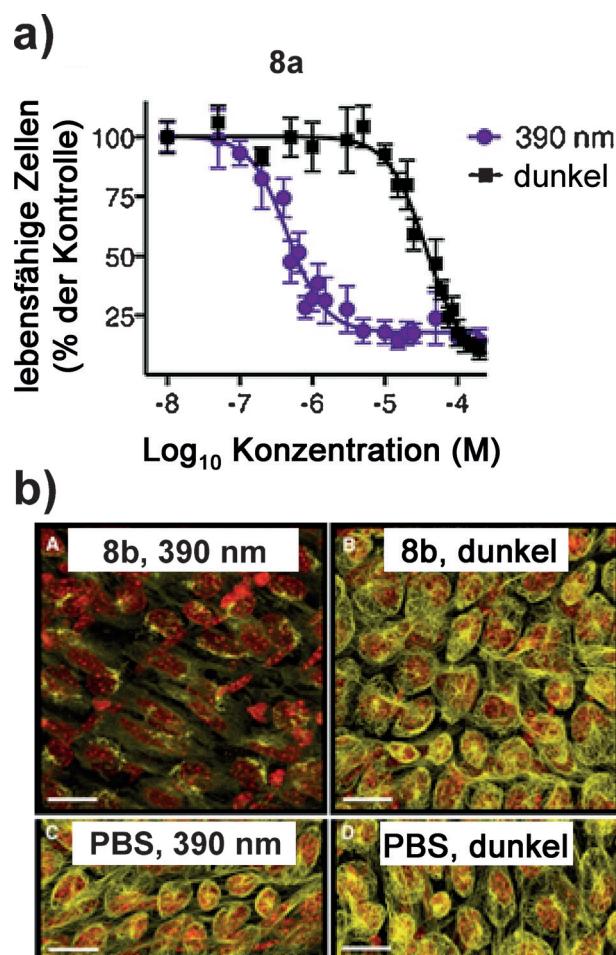
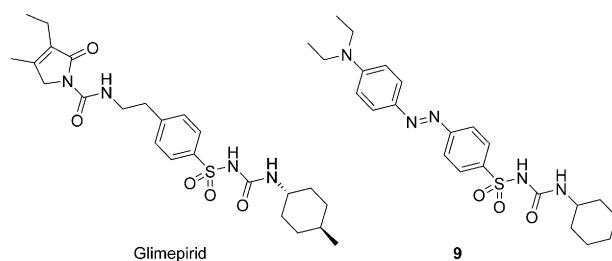


Abbildung 6. Photoschaltbare Hemmung der Mikrotubuluspolymerisation: a) Dosis-Antwort-Kurve der Viabilität von MDA-MB-231-Zellen in Gegenwart von **8a** im Dunkeln und mit UV-Licht (390 nm): **8a** ($EC_{50,\text{dark}} = 38 \mu\text{M}$; $EC_{50,390\text{nm}} = 0.5 \mu\text{M}$). b) In-vivo-Experiment, das das Aufbrechen der Mikrotubulusstruktur bei UV-Licht (390 nm) an Cremaster-Muskelgewebe der Maus zeigt (50 μM **8b**). A) **8b**, UV-Licht, B) **8b**, Dunkelheit, C) Puffer, UV-Licht, D) Puffer, Dunkelheit.^[21] Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [21], Copyright 2015 Elsevier Inc.

folge ihrer Beteiligung an der Zuckerkrankheit (Diabetes) vermehrte Aufmerksamkeit auf sich gezogen. Da ein großes Interesse an der zeitlich präzisen Steuerung des Insulinspiegels besteht, ist Diabetes mellitus eine ausgezeichnetes Ziel für die Photopharmakologie.

Photopharmakologie und Diabetesforschung wurden 2014 in einer Arbeit von Trauner und Mitarbeitern zusammengebracht.^[28] Durch Verabreichung des photoschaltbaren Sulfonylharnstoffderivats **9** ließ sich sowohl die Insulinfrei-



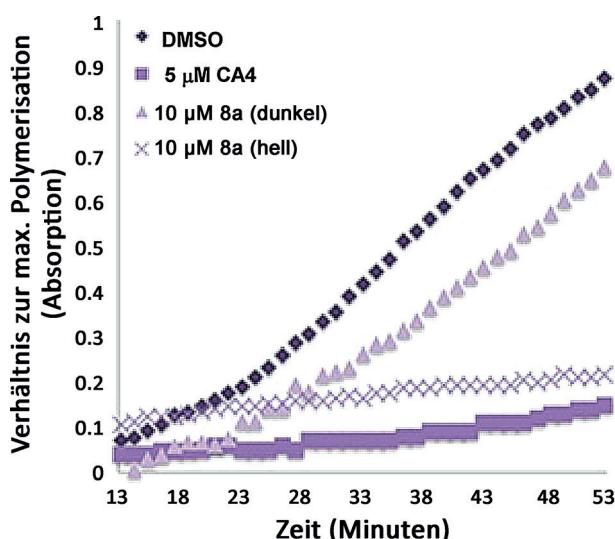


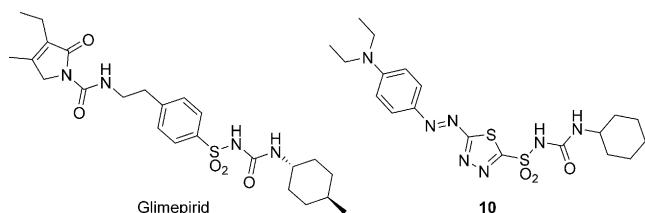
Abbildung 7. Hemmung der Tubulinpolymerisation durch **8a** *in vitro* (10 μ M) bei Dunkelheit und bei Lichtbestrahlung (400 nm).^[116] Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [116], Copyright 2015 American Chemical Society.

setzung als auch die Funktion der pankreatischen β -Zellen durch UV-Licht steuern (Abbildung 8). Das photoreaktive Sulfonylharnstoffderivat **9** leitet sich von Glimepirid^[118] ab, einem bekannten Stimulator der Insulinfreisetzung durch die pankreatischen β -Zellen, der hierdurch eine blutzuckersenkende Wirkung hat. Es ist bekannt, dass Sulfonylharnstoffderivate durch Einwirkung auf ATP-sensitive K^+ -Ionenkanäle die Insulinfreisetzung auslösen. Das Hauptproblem sowohl beim Insulin wie bei Sulfonylharnstoffderivaten ist die

Gefahr einer Hypoglykämie, also eines länger andauernden, gefährlich niedrigen Blutzuckerspiegels infolge einer langfristigen überschießenden Insulinsekretion.

Der größte Vorteil des vorgestellten Konzepts ist das möglicherweise verminderte Risiko einer Hypoglykämie und kardiovaskulärer Folgeerkrankungen durch verbesserte Steuerung der Insulinsekretion mit kurzfristigem Spitzenbedarf sowie der Vermeidung exzessiver Insulinkonzentrationen. Schwächen des gegenwärtigen Systems sind der nötige Einsatz kurzweligen Lichts (400 nm), mangelhafte thermische Stabilität und geringe Wirkstärke (17.6 μ M im Vergleich zu 8.3 nm bei Glimepirid) sowie eine geringe Aktivitätsdifferenz von *trans*- und *cis*-Isomer. Eine bistabile Schaltung mit längerwelligem Licht, in Kombination mit einem stärkeren Wirkstärkeunterschied der Isomere und einer allgemein höheren Wirkstärke würden diese elegante Machbarkeitsstudie der klinischen Anwendung näherbringen.

Eine neuere Arbeit von Hodson und Trauner behandelte einige der genannten Probleme.^[119] Der Einbau eines heterocyclischen Azobenzolderivats in das Ausgangsmolekül führte zu Verbindung **10** mit einer Rotverschiebung des Absorptionspektrums ($\lambda_{\text{max}} = 500$ nm). Im Vergleich zu Glimepirid war



jedoch ein Abfall der Wirkstärke um das $>10^5$ -fache zu verzeichnen, was die Grenzen dieses Molekuldesigns aufzeigt. Trotz dieses Nachteils ließen sich auch mit den geringen Mengen des *cis*-Isomers, die durch die Bestrahlung erzeugt werden konnten, evozierte Ca^{2+} -Konzentrationen beobachten, was die Fähigkeit zur reversiblen Steuerung pankreatischer β -Zellen mittels Licht belegt.

In einer neueren Arbeit beschreiben Trauner und Mitarbeiter einen Inkretin-Schalter, über den sich die Insulinsekretion mittels Licht steuern lässt (Abbildung 9).^[120] Wie in den vorangegangenen Beispielen wurden auch hier die pankreatischen β -Zellen behandelt, in diesem Fall mit einem Derivat des Glukagen-artigen Peptid-1 (**11**), das eine räumliche Kontrolle der Ca^{2+} -Menge erlaubt. Bemerkenswerter-

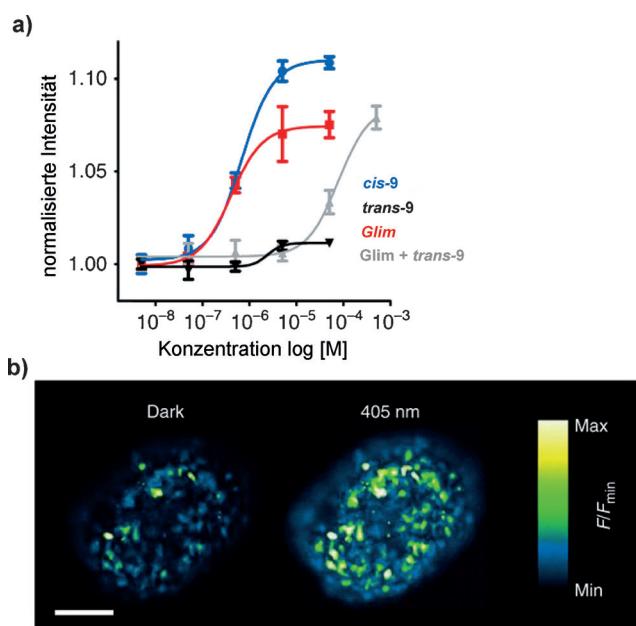
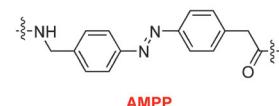


Abbildung 8. a) Konzentrations-Antwort-Kurven für die Ca^{2+} -Stimulation mit *cis*-9, *trans*-9 und Glimepirid. b) Mit **9** behandelte „Inseln“ in β -Zellen zeigen nach Isomerisierung durch Bestrahlung bei 405 nm eine starke Zunahme an cytosolischem Ca^{2+} . Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [28], 2014 Macmillan Publishers Limited.



Lira



11

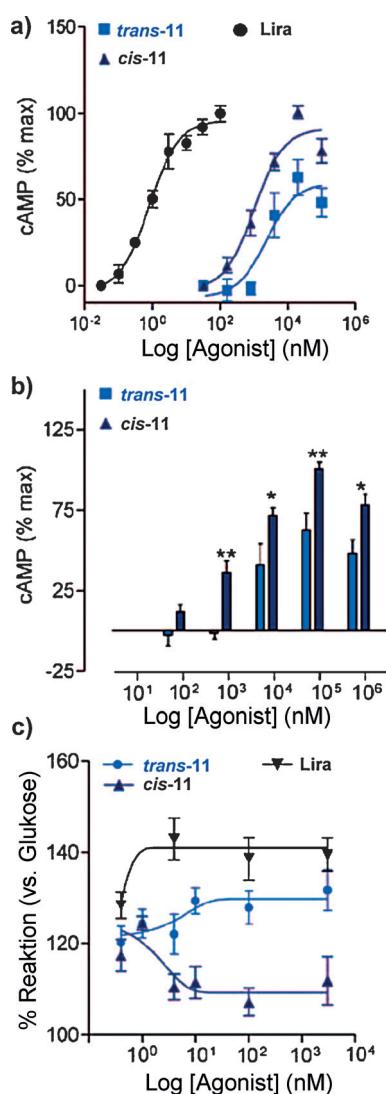


Abbildung 9. a) Durch Photoschaltung ausgelöste cAMP-Antworten; das *cis*-Isomer bewirkt eine höhere Aktivität. b) Ionenflüsse in pankreatischen β -Zellen; erkennbar ist eine erhöhte cytosolische Ca^{2+} -Konzentration im Fall von *trans*-11 (blaues Licht) im Vergleich zu *cis*-11 (UV-Licht). c) Das Ca^{2+} -Signal offenbart unterschiedliche Aktivitäten der *cis*- und *trans*-Isomere von LirAzo bei Konzentrationen über 10¹ nM. Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [120], Copyright 1999–2016 John Wiley & Sons, Inc.

weise verstärkte das *trans*-Isomer den Calcium-Einstrom, wohingegen das *cis*-Isomer die Bildung von cAMP induzierte (Abbildung 9). Diese Befunde zeigen die Möglichkeit auf, durch Isomerisierung mittels Licht zwischen zwei verschiedenen physiologischen Prozessen (Calcium-Einstrom und cAMP-Bildung) hin- und herzuschalten.

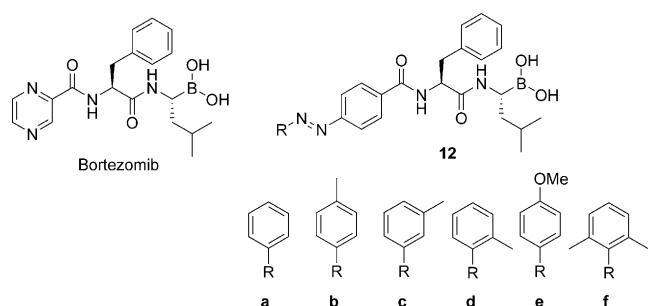
Wie bei früheren Ansätzen ist auch dieses System dadurch limitiert, dass die *trans*-*cis*-Isomerisierung durch UV-Licht ausgelöst werden muss. Diesem Nachteil steht die Bistabilität des Systems entgegen, die den Einsatz einer ungefährlichen Vorbestrahlung erlauben könnte, um einen zusätzlichen Kontrollparameter für die Funktion des bioaktiven Moleküls vor der Aufnahme in den Körper einzubringen.

Zusammengefasst wurde bei der Erforschung einer photokontrollierten Insulinfreisetzung eindrucksvolle Anstrengungen unternommen. Der schlechte Zugang zu pankreatischen β -Zellen sollte weitere Forschungen über die Anwendung von Licht verschiedener Wellenlänge und bessere Zuführungssysteme stimulieren. Ungeachtet dieser Nachteile könnte es für die Diabetesforschung von großem Vorteil sein, eine räumlich-zeitliche Kontrolle über die Funktion von β -Zellen zu erlangen.

8. Klasse 5: lichtundurchlässige Organe

Zu den Organen der Klasse 5 gehören das Knochenmark und das Gehirn. Wegen der sehr geringen Lichtdurchlässigkeit des umgebenden Knochens ist hier die Lichtzuführung am schwierigsten.

Das Knochenmark ist an der Blutbildung (Hämatopoiese) beteiligt, und Knochenmarkserkrankungen haben deshalb oft einen sehr gravierenden Verlauf. Beim multiplen Myelom kommt es zur Proliferation und Akkumulation maligner Plasmazellklone im Knochenmark.^[121] Die Behandlung ist schwierig, und die verfügbaren Wirkstoffe ziehen gesunde Gewebe in Mitleidenschaft.^[122] Eine lokale Wirkstoffaktivierung durch Licht könnte daher von Vorteil sein. Das Chemotherapeutikum Bortezomib^[123,124] (ein Proteasomhemmer)

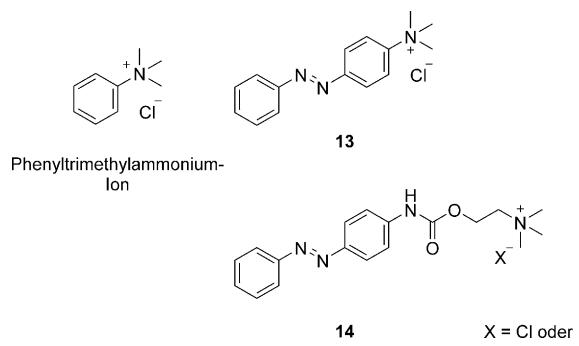


hat sich als wirksam gegen multiples Myelom und Mantelzell-Lymphom erwiesen. Die photoreaktiven Varianten **12a–f**, die von unserer Arbeitsgruppe vorgestellt wurden, stellen die ersten Beispiele für photoschaltbare Antikrebswirkstoffe dar.^[20] Sie wurden an RAJI-Zelllysaten erprobt, und ihre Toxizität wurde an HeLa-Zellen ermittelt. Die photoschaltbaren Verbindungen offenbarten Aktivitätsunterschiede um den Faktor 2–3 sowie unterschiedliche Selektivitäten für verschiedene aktive Bereiche des Proteasoms. Sie zeigten außerdem Aktivität in MTT-Cytotoxizitätstests an HeLa-Zellen. Die Verwendung von UV-Licht ist mit Blick auf einen klinischen Einsatz ein Nachteil, insbesondere im Knochenmark. Außerdem wäre eine größere Aktivitätsdifferenz der beiden Isomere höchst willkommen.

Das Gehirn ist das bei weitem komplexeste Organ des menschlichen Körpers. Zahlreiche Funktionsbereiche sind noch unzureichend verstanden, darunter das Gedächtnis. Membrankanäle sind für die Hirnphysiologie von zentraler Bedeutung, ein Ansteuern dieser Kanäle ist jedoch schwierig. Die Lichtzuführung in das Gehirn ist stets mit invasiver

Chirurgie verbunden und wurde in jüngster Zeit im Zusammenhang der Optogenetik vermehrt erforscht.^[71–74] In diesen Studien wurden Möglichkeiten der Lichtzuführung in das Gehirn von Modellorganismen wie Mäusen etabliert.

Die Heilung neurodegenerativer Krankheiten wie Morbus Alzheimer und Morbus Parkinson ist ein bedeutendes Ziel der Gesundheitsfürsorge. Acetylcholinesterase (AChE) hydrolysiert Acetylcholin (ACh), einen Neurotransmitter, der nikotinische und muskarinische Acetylcholinrezeptoren stimuliert.^[125] Hemmung von AChE wurde auch mit Krankheiten wie Myasthenia gravis und Glaukom in Zusammenhang gebracht.^[125] Erlanger und Mitarbeiter berichteten Ende der 60er Jahre in bahnbrechenden Arbeiten^[126–129] über die Steuerung der AChE-Aktivität mittels Licht und Azobenzol-basierten Inhibitoren. Basierend auf dem bekannten AChE-Hemmer Phenyltrimethylammonium^[130] wurden die Verbindungen **13** und **14** entwickelt. Beide



Photoisomere von **13** und **14** erwiesen sich als AChE-Inhibitoren, und die Aktivitätsunterschiede waren gering, wobei die *trans*-Isomere wirksamer waren. Die photochemische Kontrolle von **14** ($X = I$) mittels Sonnenlicht wurde nachgewiesen, und das Membranpotential von Zellen des elektrischen Organs des Zitteraals wurde mit **14** ($X = Cl$) moduliert. Diese anfänglichen Konzeptstudien hatten einen immensen Einfluss auf das Gebiet und dessen spätere Fokussierung, z. B. auf die Steuerung von Membrankanälen^[8, 63, 75, 131] und Enzymen^[132] mittels Licht. Erwähnenswert ist, dass Erlanger und Mitarbeiter nennen den löslichen auch verankerte Photoschalter erstmals beschrieben und schon 1980 Azobenzol als photoschaltbare Ankermoleküle verwendeten, um einen nikotinischen Acetylcholinrezeptor mittels Licht zu schalten.^[133]

Der Wirkstoff Tacrin^[134, 135] ist ein AChE-Hemmer, der zur Behandlung von Morbus Alzheimer (MA) eingesetzt wird.^[136] Ein Problem von Tacrin ist allerdings dessen dosisabhängige Lebertoxizität. Auf der Grundlage von Tacrin entwickelten Decker, König und Mitarbeiter einen photoschaltbaren AChE-Hemmer auf Diarylethenbasis.^[137] Die Verbindung **15** enthält zwei Tacrin-Einheiten an den Enden flexibler Zwischenstücke und ermöglicht es, die mit Morbus Alzheimer einhergehende β -Amyloid-Aggregation mittels Licht zu steuern.^[138, 139] Dabei handelt es sich um eine nicht-cholinerge Wirkung, an der möglicherweise die periphere anionische Stelle (PAS) beteiligt ist.^[139, 140]

Der Inhibitor selbst zeigt eine nanomolare AChE-Hemmung (Abbildung 10a). Zwischen der offenkettigen und der

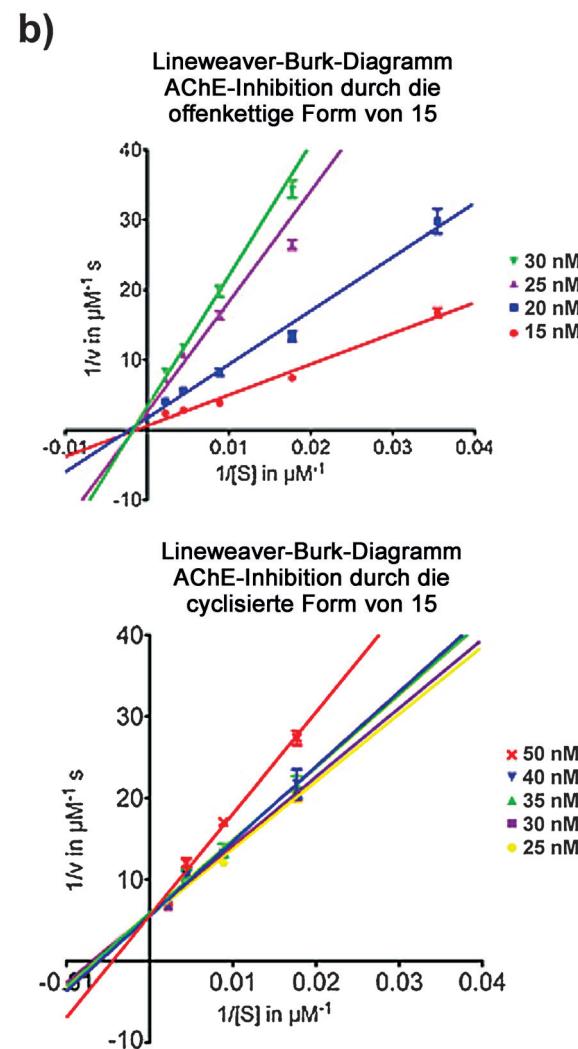
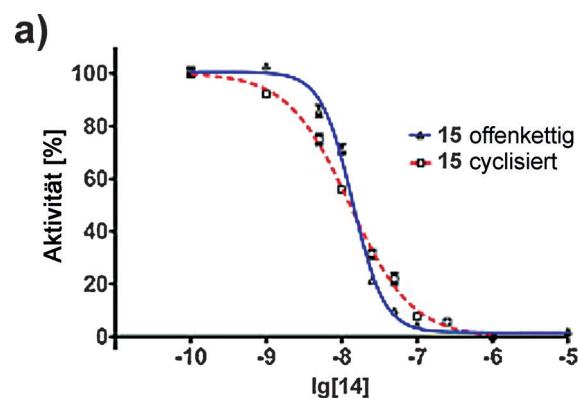
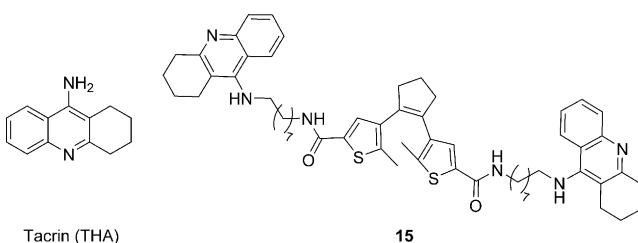
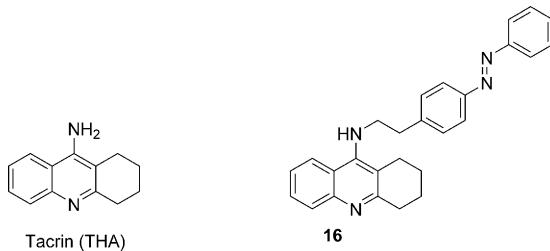


Abbildung 10. Photoschaltung der biologischen Aktivität von AChE-Inhibitoren: a) Dosis-Antwort-Kurve der Wirkung beider Photoisomere von **15** auf Zitteraal-AChE. Photoisomere (offenkettig, blaue durchgehende Linie; cyclisiert, rote gestrichelte Linie). Unterschiedliche Hill-Koeffizienten sind klar erkennbar (offenkettig: $n_H = 2.1$; cyclisiert: $n_H = 1.0$), während der IC_{50} -Wert in etwa gleich bleibt. b) Die offenkettige Form wirkt als nicht-kompetitiver Inhibitor, die cyclisierte Form wirkt als kompetitiver Inhibitor der AChE, wie aus dem Lineweaver-Burk-Diagramm ablesbar ist.^[137] Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [137], Copyright 2014 American Chemical Society.



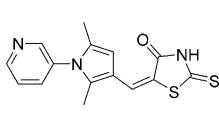
cyclischen Form beobachtet man nur eine geringfügige Differenz der Hemmwirkung. Der Inhibitionsmodus scheint jedoch deutlich verschieden zu sein, wie aus den unterschiedlichen Hill-Steigungen abzulesen ist (Abbildung 10). Bedeutsam ist, dass die offenkettige Form von **15** ein starker Inhibitor der β -Amyloid-Aggregation ist,^[138,139] während die cyclische Form eine viel geringere Hemmwirkung zeigt.

Kürzlich wurde ein weiterer Inhibitor, **16**, auf Grundlage von Tacrin vorgestellt, der eine freie Azobenzol-Photoschalteneinheit enthält.^[27] Verbindung **16** ist in der *cis*-Form aktiv und zeigt in Enzymassays und an Luftröhrengewebepräparaten der Maus (Trachea-Tensometrie-Test) AChE-hemmende Wirkung.^[141]



TrpA1^[142, 143] wird in Sinnesnervenzellen exprimiert, und die pharmakologische Beeinflussung des Moleküls könnte zu Fortschritten in der Schmerztherapie, der Spinaltraumattherapie und bei chronischen Entzündungen führen (Abbildung 11). Peterson und Mitarbeiter^[144] verfolgten einen ungewöhnlichen photopharmakologischen Ansatz: Anstelle eines rationalen Designs eines Photoschaltermoleküls auf Grundlage von Struktur-Aktivitäts-Studien und Strukturdaten^[7,8] war die in diesem Fall gewählte Strategie ein verhaltensbiologisches Screening von 10000 Verbindungen auf Photoresponsivität in Embryonen des Zebrafärblings (*Danio rerio*). Mit diesem Verfahren wurde die photoaktive, von Rhodanin abgeleitete Verbindung **17** identifiziert. Die Akti-

vierung von TrpA1-Kanälen gelang in hTrpA1 exprimierenden HEK293T-Zellen und in unmodifizierten Sinnesnervenzellen aus Dorsalwurzelganglien der Maus.



17 Bedeutsam ist, dass in Tieren mit
durchtrenntem Rückenmark eine
Bestrahlung zu Muskelkontraktionen
in den gelähmten Körperteilen führte (Abbildung 11b). Mit
17 behandelte Zebrafärblinge wurde durch Laserbestrahlung
bei 405 nm zu Kontraktionen der Rückenflosse veranlasst.
Die lokale Stimulation von Körperteilen resultierte in deren

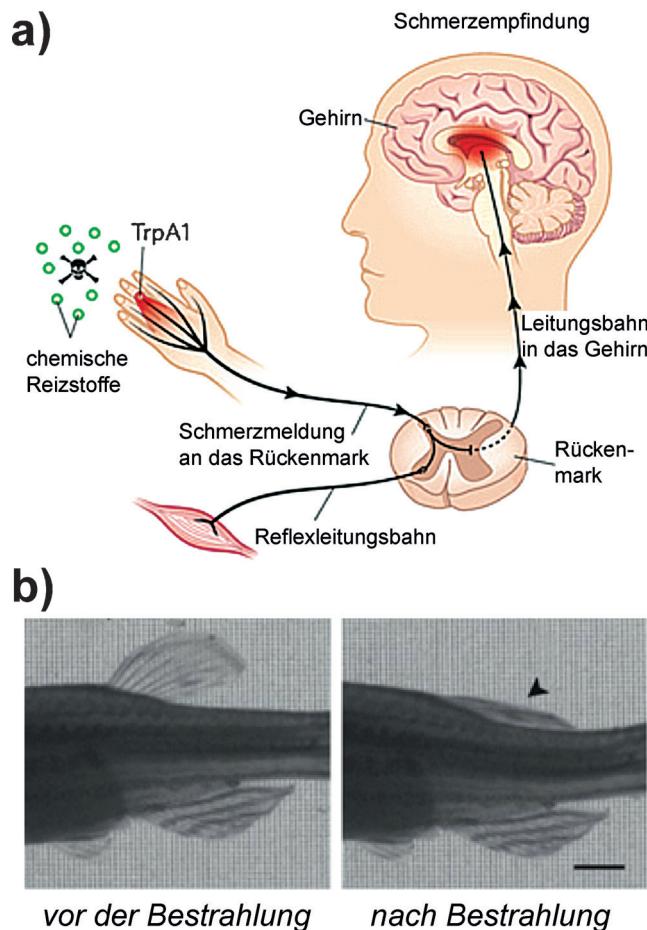


Abbildung 11. Lichtgesteuerte Aktivierung von TrpA1: a) Schematische Darstellung der TrpA1-Aktivierung durch noxische Reize, der eine Signalfortleitung zum Rückenmark (motorische Reflexe) und zum Gehirn (Schmerzempfindung) folgt.^[145] Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [145], 2013 Macmillan Publishers Limited. b) Wirkung der Bestrahlung spinalisierter Zebrabärblinge (behandelt mit 17) auf die motorische Erregung: Photostimulation der Rückenflosse (Maßstabsbalken 2.5 mm).^[144] Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [144], 2013 Macmillan Publishers Limited.

Bewegung, und diese Ergebnisse wurden mit der Aktivierung der spinalen Reflexbögen erklärt.

Trotz der potentiellen Promiskuität der Rhodanin-Substruktur sind die vorgelegten experimentellen Ergebnisse interessant und zeigen auf, dass phänotyp- und/oder verhaltensbasierte Screenings auch bei photopharmakologischen Anwendungen erfolgreich sein können.

Hervorzuheben ist ferner, dass die Arbeitsgruppen von Driessen, Feringa, König, Trauner, Isacoff und Kramer unlängst richtungsweisende Arbeiten zur Photopharmakologie von Membrananälen und Rezeptoren vorgelegt haben.^[8, 75, 78, 131] Wir verweisen an dieser Stelle auf aktuelle Übersichtsartikel zu diesen Studien.^[8, 76, 80, 131]

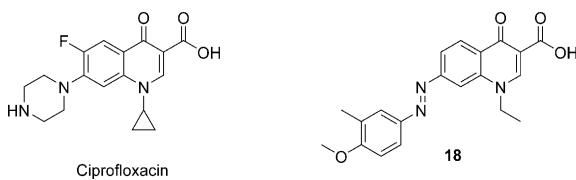
Zusammengefasst konnten bei der Photopharmakologie des Gehirns immense Fortschritte verzeichnet werden, trotz der Unzugänglichkeit des Gehirns für ein einfache, direkte Bestrahlung mit Licht. Ein Teil dieser Entwicklungen ist sicher den spektakulären Resultaten der Optogenetik zu verdanken.^[73] deren Techniken sich auf die Photopharmako-

logie mit ihrer Anwendung kleiner, reaktiver Moleküle übertragen lassen. Das Fallbeispiel der Optogenetik zeigt in eleganter Weise, wie unterschiedliche Forschungsfelder sich wechselseitig bef rachten können. Die Optogenetik hat Verfahren für die Lichtzuführung zum Gehirn hervorgebracht, im Gegenzug fand die Photopharmakologie Mittel und Wege, um Neuronen ohne gentechnische Eingriffe in einen photo-reaktiven Zustand zu versetzen.

9. Sonstige klinische Anwendungen

Diese Klasse umfasst nichtklassifizierbare Zielstrukturen im Zusammenhang mit Organen. Darunter fallen Methoden zur Bekämpfung von Schmerzen,^[146] Infektionen, Entzündungen und anderen neoplastischen, metabolischen und neurologischen Krankheitszuständen. Infektionen werden am häufigsten durch systemische Antibiotikagabe behandelt. Die Anreicherung von Antibiotika im Körper bedingt jedoch nicht nur eine Wirkung auf das Pathogen, sondern auf praktisch alle ebenfalls im Körper befindlichen Bakterien (z. B. die Mikrobiome des Verdauungskanals und der Atemwege), was der Herausbildung von Resistzenzen durch Selektion Vorschub leisten kann. Darüber hinaus stellt die Freisetzung von Antibiotika in die Umwelt durch den flächendeckenden Einsatz dieser Wirkstoffe (Lebensmittelindustrie, Nutztierhaltung, Krankenhäuser)^[147, 148] eine erhebliche Bedrohung dar, und multiresistente Bakterien befinden sich in rascher Ausbreitung. Aus diesen Gründen wäre eine Wirkstoffaktivierung am Infektionsort mit anschließender Desaktivierung nach erfolgter Therapie von großem Vorteil.

Unsere Arbeitsgruppe befasste sich mit der Synthese und biologischen Evaluierung von photoschaltbaren Antibiotika.^[29] Ciprofloxacin ist ein zur Behandlung bakterieller Infektionen häufig genutztes Antibiotikum, dessen Einsatzspektrum reicht von Harnwegsinfektionen bis zu bakterieller Hirnhautentzündung reicht.^[149] Die antibakterielle Wirkung beruht auf der Bindung von Ciprofloxacin an die DNA-Gyrase, wodurch die DNA-Replikation blockiert wird.^[150]



Durch Austausch des Piperazingruppe des Ciprofloxacinmoleküls gegen einen Azobenzol-Photoschalter lässt sich die Wirkung der Verbindung **18** durch Bestrahlung mit UV-Licht selektiv an- und ausschalten (Abbildung 12a). Die Verbindung zeigt Wirkung gegen *Escherichia coli* (Gram-negativ) und *Micrococcus luteus* (Gram-positiv). Bei Bestrahlung mit Licht von 365 nm wurde die Aktivität von **18** (gegenüber *M. luteus*) achtfach erhöht. Im Unterschied zu den oben beschriebenen Anwendungen ist hier der Einsatz von UV-Licht kein Problem, da die Bestrahlung vor der Verabreichung außerhalb des Körpers erfolgen kann. Die thermische De-

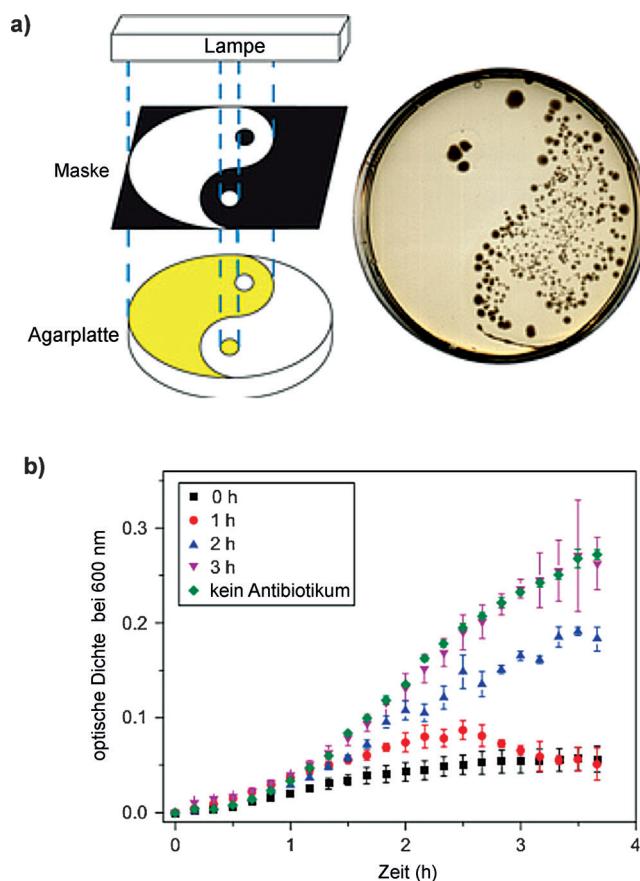


Abbildung 12. Optische Steuerung antibakterieller Aktivität. a) Verteilung von Bakterienkolonien infolge einer photoaktivierten cytotoxischen Wirkung auf *E. coli*. Bakterielles Wachstum erfolgte lediglich in den abgedeckten Bereichen, nicht jedoch in den dem Licht ausgesetzten Bereichen. b) Autoinaktivierung des photoschaltbaren Antibiotikums **18**. Die thermische *cis-trans*-Relaxation beendet die antibakterielle Wirkung nach 2–3 h. Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [29], 2013 Macmillan Publishers Limited.

aktivierung (Abbildung 12b) verhindert die Anreicherung aktiver Antibiotika in der Umwelt. Um eine bessere räumliche Kontrolle bei der lokalen Behandlung von Infektionen zu erreichen und einer Resistenzentwicklung *in vivo* vorzubeugen, wären durch rotes Licht schaltbare Antibiotika höchst wünschenswert.

Ein neuerer Ansatz^[151] basiert auf der Modifizierung des weitflächig eingesetzten Antibiotikums Gramicidin S durch Einbau eines Diarylethen-Photoschalters. Bei Bestrahlung mit UV-Licht, das eine Elektrocyclisierung des Diarylethens bewirkt, beobachtet man eine drastische Abnahme (16-fach) der antimikrobiellen Aktivität von **19** gegenüber *Staphylococcus aureus*. Der Rückgang der Aktivität wurde auf einen insgesamten Rückgang der Amphiphilie dieses membranolytischen Moleküls zurückgeführt. Beim Diarylethen-Ringschluss wird die cyclische Ringstruktur sterisch fixiert und ist daher weniger in der Lage, an die amphiphile Grenzfläche des bakteriellen Membran zu binden und sich an diese anzupassen (Abbildung 13).

Die Verbindung **19** kann mit sichtbarem Licht ($\lambda = 530$ nm) aktiviert werden. Um allerdings die Reversibilität

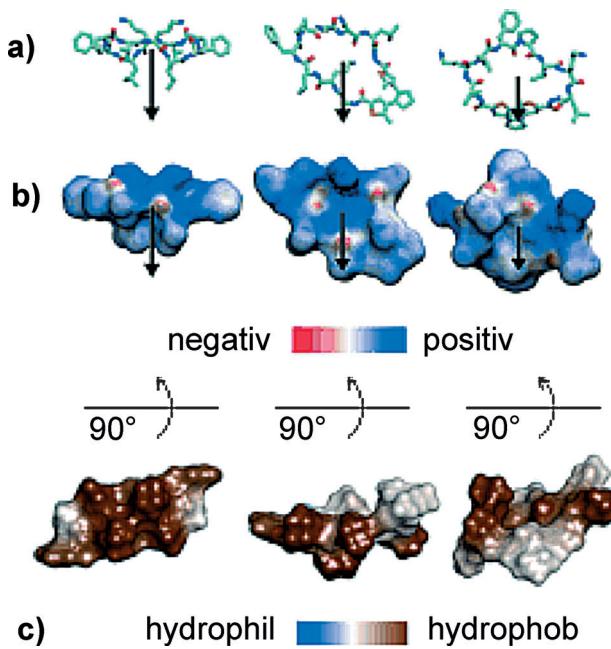
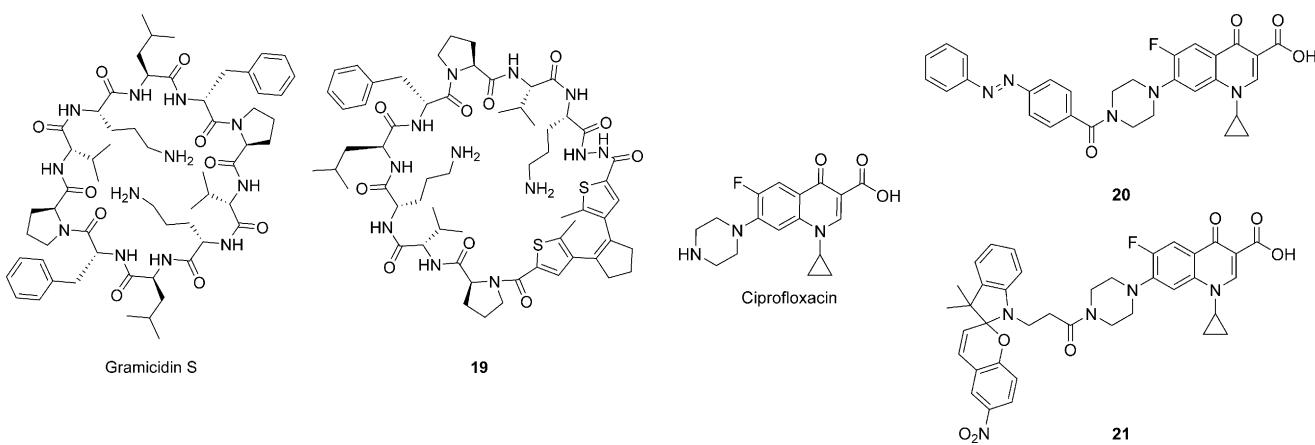


Abbildung 13. MD-Simulationen von Gramidicin S (links) und dem photoschaltbaren Derivat **19** in der offenen (Mitte) und der geschlossenen Form (rechts). a) Seitenansicht mit relativen Längen der Hydrophobievektoren (Pfeile). b) Lösungsmittelexponierte Oberflächen der Moleküle, mit einem signifikanten Unterschied zwischen der offenkettigen und geschlossenen Form. c) Kyte-Doolittle-Hydrophobiekarten, die eine starke Änderung der Hydrophobie infolge der Photocyclisierung erkennen lassen. Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [151], Copyright 1999–2016 John Wiley & Sons, Inc.

des Schaltprozesses nutzen zu können und den Wirkstoff außerhalb seines Wirkortes zu inaktivieren, war eine längere Bestrahlung (> 20 min) mit hoch toxischem Licht (256 nm) nötig, was einen möglichen Nachteil dieses Formats darstellt. [**]

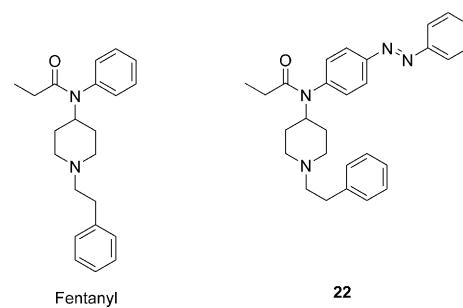
Aufbauend auf früheren Veröffentlichungen unserer Gruppe haben wir eine Methoden entwickelt, um Photoschalter in nur einem Schritt in bioaktive Moleküle einzubauen.^[152] Mit diesem Ansatz wurde ein existierender Wirkstoff mit Azobenzol oder Spiropyran derivatisiert. Ausgehend von Ciprofloxacin wurde die Piperazingruppe durch Kupplung mit einem Photoschalter in einem Schritt modifiziert. Ein Aktivitätsunterschied wurde mit **21** bei *Escherichia coli*

und mit **20** bei *Micrococcus luteus* beobachtet. Darüber hinaus wurde gegenüber dem ursprünglichen Ciprofloxacin bei **20** eine 50-fach gesteigerte Wirkung gefunden. Trotz der geringen Veränderung der Aktivität bei Isomerisierung und der Erfordernis von UV-Licht stellt dieser Ansatz ein Musterbeispiel für eine einfache Strategie zur Überführung bioaktiver Moleküle in photoschaltbare Derivate dar.

Schmerzforschung stellt ein zentrales Thema der Medizin dar.^[153,154] Der Einsatz der Photopharmakologie in der Anästhesie bringt die Vorteile einer hochgradig lokalen Wirkung des Pharmakons aufgrund der räumlich-zeitlich gesteuerten Lichtzuführung mit sich. Anästhetika sind oft nichtselektiv, haben lange Verweilzeiten und sind nicht selten suchauslösend.^[155] Die Photopharmakologie könnte derartige Nebenwirkungen verhindern, da das Anästhetikum, selbst bei hoher Dosierung, nur lokal aktiviert würde.

Fentanyl ist ein synthetisches Opioid, das verbreitet in Form in Pflastern eingesetzt wird.^[156,157] Es ist ein potenter Agonist des μ -Opioidrezeptors (MOR),^[158] der zur Familie der G-Protein-gekoppelten Rezeptoren (GPCRs) gehört. Man findet sie vornehmlich im Verdauungstrakt, Gehirn und Rückenmark.^[159–161]

Die Gruppen um Gorostiza und Trauner entwickelten 2014 das allgemeine Konzept photoschaltbarer GPCRs.^[159,162] Ausgehend von Fentanyl wurde die Verbindung **22** entwickelt. *Trans*-**22** zeigte in mit hMOR und GIRK1&2 transfi-



[**] Wir bitten zu beachten, dass nach der Veröffentlichung in *Angewandte Chemie* Early View in den Absätzen 4 und 5 von Abschnitt 9 textliche Änderungen vorgenommen wurden. Die Redaktion.

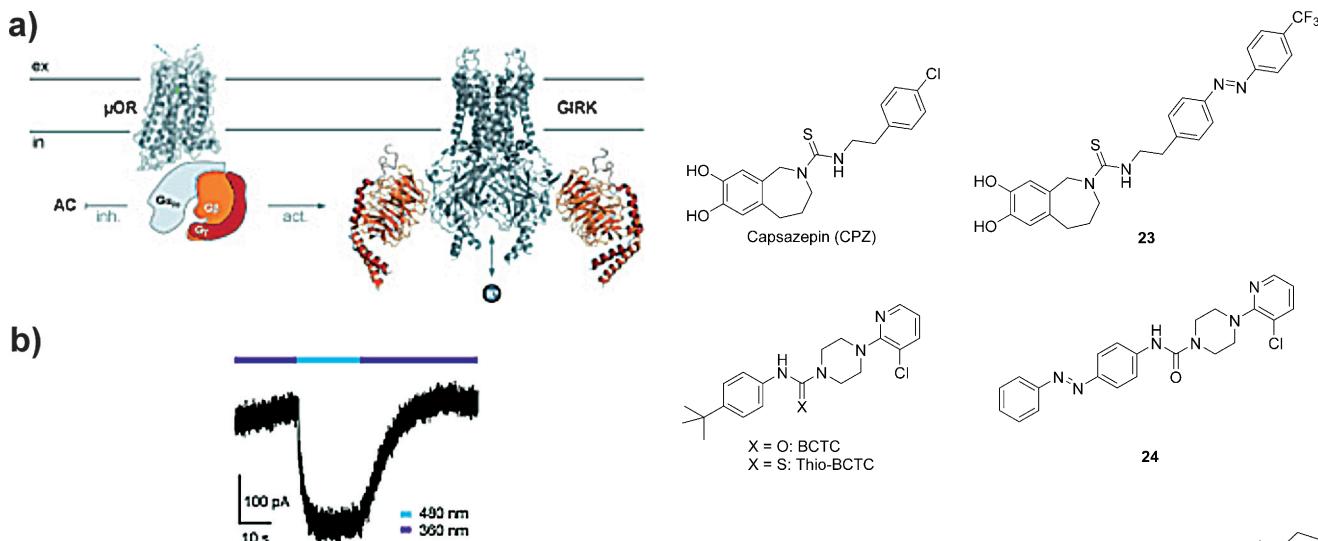


Abbildung 14. Photoschaltbare MOR-Agonisten: a) Prinzip des experimentellen Systems: Aktivierung des MOR führt zur indirekten Aktivierung von GIRK1&2, die einen messbaren K^+ -Einstrom nach sich zieht. b) **22** (25 μ M) löst durch MOR-Aktivierung einen einwärts gerichteten K^+ -Strom aus, wenn es bei 480 nm in seine *trans*-Isoform umgewandelt wird.^[159] Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [159], Copyright 1999–2016 John Wiley & Sons, Inc.

zierten HEK293t-Zellen in elektrophysiologischen Messungen eine höhere Aktivität in der Blockierung des MOR-Kanals (Abbildung 14). GIRK1&2 sind Kaliumkanäle und MOR-Effektoren, die für den elektrophysiologisch erfassten Effekt verantwortlich sind.^[163] Bestrahlung bei 420–480 nm führt somit zu einem MOR-vermittelten K^+ -Einstrom durch die GIRK-Ionenkanäle. Die *cis*-Form von **22** war inaktiv, was eine mögliche Anwendung limitieren würde, da der Wirkstoff nur durch direkte Bestrahlung selektiv abgeschaltet werden kann.

Das Konzept wurde nachfolgend auf zwei weitere photoschaltbare Anästhetika angewendet,^[164] die auf den Vanilloidrezeptor 1 (TrpV1) wirken. Dieser Kanal-Rezeptor reagiert auf eine Vielzahl noxischer Reize^[165,166] und erlaubt bei Aktivierung den Durchtritt von Ca^{2+} , aber auch anderer Kationen (Na^+ , K^+).^[167] Ein oft verwendeter Agonist von TrpV1 ist das Vanilloid Capsaicin (CAP).^[168] Zwei potente Antagonisten der TrpV1-Wirkung sind Capsazepin (CPZ)^[169,170] und Thio-BCTC,^[171,172] deren photoschaltbare Derivate **23** und **24** synthetisiert und getestet wurden. Die Verbindung **23** zeigt in TrpV1-transfizierten HEK-Zellen einen modalitätsselektiven Antagonismus: *cis*-**23** hemmt CAP-induzierte TrpV1-Ströme, *trans*-**23** hemmt TrpV1 beim spannungsgesteuerten Öffnen/Schließen des Kanals. Der von BCTC abgeleitete Wirkstoff **24** ist ein Antagonist spannungsaktivierter TrpV1-Ströme, zeigt jedoch keine Modalitätsselektivität.

Um das Bild zu vervollständigen, wurde ein photoschaltbarer Agonist des TrpV1 entwickelt. Das Derivat **25**, ein „Azolog“ von CAP, aktiviert die Schmerzempfindung, wobei es sich photoschaltbare Fettsäuren zunutze macht (Abbildung 15).^[173] *Cis*-**25** aktiviert die TrpV1-Signalgebung. Eine geringe Hintergrundaktivität wurde allerdings auch mit dem

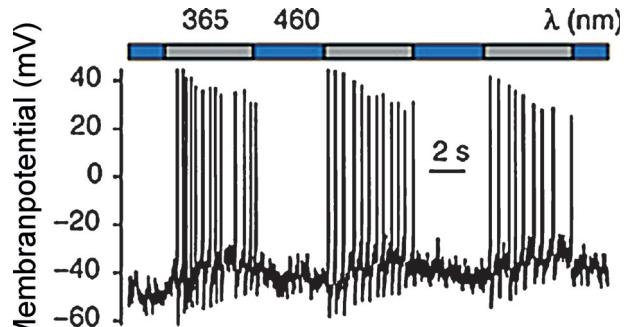
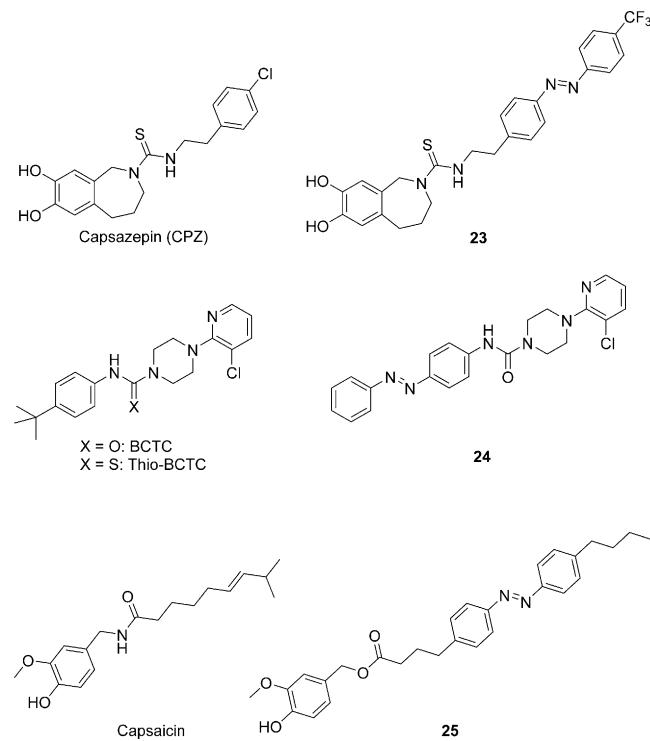
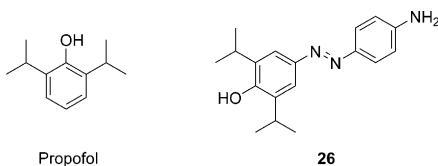


Abbildung 15. Photoschaltung der elektrophysiologischen Aktivität von wt-DRG-Neuronen: Applikation von **25** (200 nM) ruft in wt-DRG-Neuronen Aktionspotentiale hervor, wenn die Membran im Patch-Clamp-Experiment bei 0 pA gehalten wird.^[173] Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [173], 2015 Macmillan Publishers Limited.

trans-Isomer beobachtet. Eine reversible lichtgesteuerte Aktivierung von TrpV1-Rezeptoren wurde in HEK293T-Zellen (die TrpV1-YVP exprimieren) und C-Faser-Nozizeptoren gefunden.

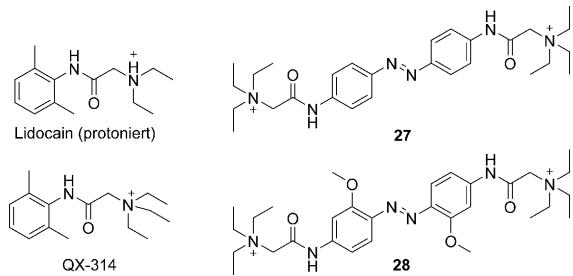
In Wildtyp-Nervenzellen aus Dorsalwurzelganglien der Maus erwies sich **25** als selektiv für TrpV1-exprimierende Neuronen. Darüber hinaus wurde für **25** auch eine entzündungsbedingte Sensibilisierung von TrpV1 (TrpV1-vermittelte Hyperalgesie) gefunden.

Ein drittes Angriffsziel der Schmerzempfindung und von Anästhetika sind $GABA_A$ -Rezeptoren, die eine inhibitorische Wirkung auf das postsynaptische Neuron haben und einen Chloridioneneinstrom erzeugen, der zur Hyperpolarisation der Zelle führt.^[174] Das Anästhetikum Propofol^[175] ist ein allosterischer Potenziator von $GABA_A$ -Rezeptoren und findet verbreitet Anwendung als intravenöses Anästhetikum.



Ein photoschaltbarer Wirkstoff auf Propofolbasis ist die Verbindung **26**.^[176] *Trans*-**26** zeigte potenzierende Wirkung auf $\alpha_1\beta_2\gamma_2$ -GABA_A-Rezeptoren, die in *Xenopus*-Oocyten oder HEK-Zellen exprimiert wurden, *cis*-**26** ist hingegen inaktiv.^[176] Die Verbindung **26** reagiert schnell auf Licht, und das *cis*-Isomer besitzt eine kurze thermische Halbwertszeit (Sekunden in wässriger Pufferlösung). In-vivo-Experimente mit Albinokaulquappen von *Xenopus laevis* offenbarten bei den Tieren einen Verlust des Aufrichtereflexes, ein Hinweis auf den anästhetischen Effekt von **26**.^[177]

Spannungsgesteuerte Natrium- und Kaliumionenkanäle reagieren auf Änderungen des elektrischen Transmembranpotentials und sind für die Auslösung und Weiterleitung von Aktionspotentialen von entscheidender Bedeutung.^[61] Sie können durch Kanalblocker mit einem quartären Ammoniumion als Strukturmotiv (z.B. protoniertes Lidocain^[155] und QX-314) inhibiert werden.^[178] Da Wirkstoffe auf Basis quar-



tärer Ammoniumionen nicht membrangängig sind, müssen sie mittels geeigneter Transmembrantransporter (z.B. TrpV1)^[178] in die Zelle gelangen und dann die Kanäle intrazellär blockieren. Derartige Importkanäle werden von noxischen Reizen (siehe oben) aktiviert. Bei länger andauernder Aktivierung öffnen sie sich für größere Ionen.^[61,155,179,180] Auf der Grundlage dieses Wirkmechanismus wurde von Trauner, Kramer und Mitarbeitern ein photoschaltbares schmerzselektives Anästhetikum entwickelt.^[155] *Trans*-**27** blockiert bei Injektion durch eine Patch-Clamp-Elektrode in verschiedenen Zelllinien K_v-, Na_v- und spannungsgesteuerte Ca²⁺-Kanäle (Abbildung 16). *Cis*-**27** ist inaktiv. Die *trans-cis*-Isomerisierung führt also zu einer Aufhebung der Blockade der Kanalpore und stellt die neuronale Erregbarkeit wieder her. HEK-293-Zellen, die den Shaker-K_v-Kanal und TrpV1 exprimieren, waren zu CAP-induzierter Aufnahme von **27** in der Lage. Die Aufnahme ließ sich durch TrpV1-Blocker (in diesem Fall BCTC) verhindern. Mithilfe dieses Prinzips der Wirkstoffaufnahme und Photoinhibition konnte in Mäusen eine anästhetische Wirkung hervorgerufen werden. Der nozifensive Blinzelreflex (Haartest nach Frey)^[181] war bei den Tieren signifikant vermindert, wenn **27** und CAP auf die Hornhaut koappliziert wurden (Abbildung 16). Die Um-

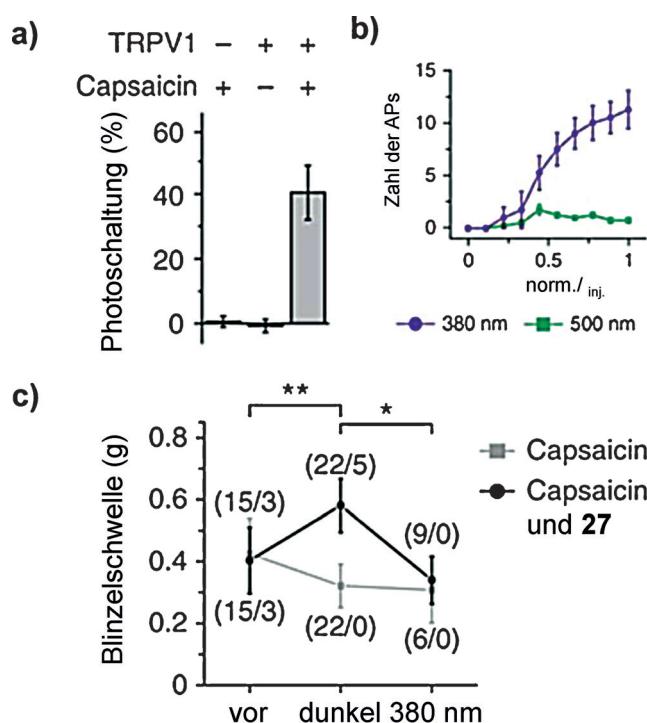


Abbildung 16. Kanalblocker auf Basis quartärer Ammoniumionen:
a) Photoschaltung von K⁺-Strömen durch Blockade der Shaker-K⁺-Kanäle in Zellen mit oder ohne TrpV1 nach Verabreichung von **25** (1 μ M) und Capsaicin (1 μ M). b) Unterschiedliche Aktionspotentiale in dissozierten Hippocampusneuronen der Ratte durch inkrementelle Injektion von 100 μ M **27** bei Bestrahlung mit Licht von 380 oder 500 nm: Quantifizierung der Anzahl ausgelöster Aktionspotentiale. c) Ergebnisse des Haartests nach Frey zur Auslösung der nozifiven Blinzelreaktion bei der Ratte, wenn in Gegenwart und bei Fehlen von **27** Druck auf die Hornhaut des Auges ausgeübt wird. Das Auge wurde mit Capsaicin (10 μ M) und **27** (20 μ M) oder nur mit Capsaicin behandelt. Die normalisierte Blinzelsschwelle unterschied sich um das etwa 5-fache, und der Effekt ließ sich durch Bestrahlung mit UV-Licht (380 nm) umkehren. In Klammern angegeben sind die Anzahl der Ratten und die Anzahl der Ratten, die auf die maximal ausgeühte Kraft (1 g) nicht reagierten.^[155] Mit freundlicher Genehmigung aus Lit. [155], 2012 Macmillan Publishers Limited.

schaltung in das inaktive *cis*-**27** mittels Licht führte zur Wiederherstellung des Blinzelreflexes.

Um die Photoumschaltung von **27** zu erreichen, ist UV-Licht notwendig, was einen Nachteil für photopharmakologische Anwendungen darstellt. Eine rotverschobene Variante, **28**,^[182] mit leicht verminderter Aktivität wurde daher entwickelt. Aufgrund der Methoxygruppen in 2,2'-Stellung lässt sich die Verbindung durch blaues Licht der Wellenlänge 420 nm (weniger schädlich) umschalten. Shaker-IR (K_v) kann in HEK293-Zellen reversibel blockiert werden, ebenso Na_v in Neuroblastomzellen der Maus (NG108-15-Zellen). Gleichermaßen gilt für Na_v- und K_v-Kanäle kortikaler Pyramidenzellen der Maus (Hirnschnittpräparat). Es sei nochmals darauf hingewiesen, dass in allen Fällen *trans*-**28** die aktive Form war.

Zusammengefasst wurden in den vergangenen Jahren bemerkenswerte Beispiele für die reversible Steuerung der Nozizeption mittels Licht vorgelegt. Photoschaltbare Anästhetika oder Analgetika bieten der Photopharmakologie in-

teressante Möglichkeiten mit zahlreichen potenziellen Anwendungen.

10. Zusammenfassung und Ausblick

Die Photopharmakologie hat in den vergangenen zehn Jahren eine sehr rasche Entwicklung genommen. Forscher aus der Chemie, Medizin, Pharmazie und Molekularbiologie haben das klinische Potenzial dieses Ansatzes erkannt und viele neue, erstaunliche Anwendungen vorgestellt. Wir haben hier eine kritische Übersicht über die verschiedenen pharmakologischen Ziele (d.h. Krankheiten/Organe) im menschlichen Körper, die Aussichten auf eine gezielte Lichtzuführung zu diesen Organen und deren spezifische Anforderungen an das Moleküldesign photoaktivierbarer Wirkstoffe gegeben und mögliche Lösungen aufgezeigt. Wir sind der Überzeugung, dass in diesem frühen Entwicklungsstadium des Gebiets eine Perspektive mit einem Fokus auf medizinische Anwendungen höchst gerechtfertigt erscheint, um die weitere Erforschung medizinisch relevanter Angriffsziele anzuregen. Unsere Übersicht soll ebenso als Ausgangspunkt und Anregung für Chemiker dienen, sich diesem spannenden Forschungsfeld mit seiner Perspektive, „intelligentes“ Moleküldesign letztlich in die klinische Anwendung umzusetzen, zuzuwenden. Unserer Meinung nach werden die folgenden Aspekte von zentraler Bedeutung für die erfolgreiche Fortentwicklung des Gebiets sein:

1. Evaluation von Angriffszielen: Der photopharmakologische Ansatz sollte immer auf lokalisierte Krankheiten/Krankheitsherde abzielen, die eine leichte Lichtzuführung erlauben. Die reversible Aktivierung durch Licht ist damit nicht nur ein Merkmal der Therapieform, sondern sollte dem Wirkstoff einen Mehrwert verleihen (z.B. durch Verminderung der Gefahr der Resistenzentwicklung, geringere Nebenwirkungen, verbesserte Kontrolle über die Aktivität, präzise Zielansteuerung usw.)
2. Optische Eigenschaften: Ein wesentliches Ziel der Photopharmakologie ist es, die Absorptionsbanden der photoschaltbaren Wirkstoffe im optischen Fenster zwischen 650 nm und 900 nm zu platzieren (siehe unten). Die Verwendung rotverschobener Azobenzolderivate im Spektralbereich bis $\lambda = 450$ nm ($n-\pi^*$ -Übergangs) reicht nicht aus, um die reaktiven Wirkstoffe in der Klinik zu etablieren.
3. Stabilität und Toxizität der Photoschalter: Die Entwicklung neuer, durch Licht steuerbarer Wirkstoffe muss von Untersuchungen ihrer zellulären Stabilität und Toxizität begleitet werden. Insbesondere für die Azobenzole steht diesbezüglich bereits eine reichhaltige Literatur zur Verfügung,^[7] die den Effekt struktureller Merkmale auf die Stabilität der Verbindungen unter reduzierenden Bedingungen beschreibt und auch die Toxizität der Photoschaltermoleküle und ihrer Abbauprodukte berücksichtigt. Studien vergleichbaren Umfangs sind für andere Photoschaltermoleküle ebenfalls notwendig, um die Zulässigkeit ihrer Anwendung in der Photopharmakologie sicherzustellen.
4. Lichtzuführung: Gegenwärtig gehen wir bei photopharmakologischen Behandlungen von einer externen Lichtzuführung aus. Man sollte jedoch auch die Möglichkeit interner, also intrakorporaler Lichtquellen wie etwa lumineszente chemische Verbindungen in Betracht ziehen. Dies hätte mehrere Vorteile. Erstens ließen sich damit die Probleme der Durchdringung der Haut und anderer Gewebe mit Licht umgehen, da das Licht unmittelbar am Wirkort erzeugt würde. Zweitens ließe sich damit eine zusätzliche Selektivitätsebene schaffen, falls die Lichtquelle gezielt an den Krankheitsherd herangeführt werden könnte. Schließlich könnte auf diese Weise die Photopharmakologie theranostisch eingesetzt werden, indem molekulare Bildgebung (Diagnostik) und gezielte Wirkstoffaktivierung (Therapie) kombiniert würden. Alternativ dazu könnten Methoden der photochemischen Aufwärtskonversion Ansätze für tiefer eindringende Nah-IR-Bestrahlungen bieten. Für derartige Zwecke lässt sich eine Kombination der Photopharmakologie mit der optischen Bildgebung vorstellen, bei der lumineszente Verbindungen zur Lokalisation von Krankheitsherden eingesetzt werden. Eine weitere Möglichkeit ist der Einsatz radioaktiver Tracer aus der Positronenemissionstomographie (PET) für die Aktivierung photoresponsive Wirkstoffe mittels Cernekov-Protonen.^[183] Allerdings ist noch viel Forschungsarbeit nötig, um herauszufinden, ob der dadurch verfügbare Photonenfluss eine ausreichende Effizienz für die Photoschaltung von Wirkstoffen erreichen kann. Erste Versuche mit Licht aus der Luciferase-Reaktion zur Photoschaltung von MRI-Kontrastmitteln auf Spiropyranbasis^[184] sind vielversprechend hinsichtlich der Anwendung interner, exogener Lichtzuführungssysteme zur lokalen Wirkstoffaktivierung.
5. Kreuzreakтивität: Es ist wichtig, sich zu vergegenwärtigen, dass die Isomere eines photoschaltbaren Wirkstoffs nicht einfach an- und abgeschaltete Formen sind, vielmehr können sie unterschiedliche biologische Wirkungen auf völlig verschiedene Angriffsziele im Körper ausüben.^[120,137] Diese unterschiedliche Funktion kann in bestimmten Fällen wünschenswert sein, oft ist sie aber problematisch zu werten. Forscher sollten diesen Aspekten stets bedenken, wenn zu einem In-vivo-Experiment übergegangen wird.
6. Phänotyp-Screening: Bislang hat sich die Photopharmakologie weitestgehend auf Methoden des rationalen Wirkstoffdesigns beschränkt, das einen bekannten Wirkstoff oder eine andere biologisch aktive Verbindung als Ausgangspunkt nutzt und sich auf Studien der Struktur-Wirkungs-Beziehung stützt. Ergänzend dazu könnten Phänotyp-Screenings mit photoschaltbaren Wirkstoffen – dargelegt am Beispiel der Verbindung **17** (Abbildung 11)^[144] – der Photopharmakologie neue Impulse hinsichtlich Angriffszielen und Methoden geben.
7. Synthesemethoden und mechanistische Studien: Die Photopharmakologie hängt entscheidend davon ab, dass Synthesemethoden für Photoschaltermoleküle verfügbar sind, und es besteht ein großer Bedarf an der Entwicklung robuster, schnell synthetisierbarer Chromophore.

8. Rettungsprotokolle: Thorn-Seshold und Mitarbeiter^[21] haben Methoden entwickelt, bei denen die „anschaltende“ Bestrahlung auf einen definierten Bereich beschränkt ist, der von einem Ring „ausschaltender“ Impulse umgeben ist. Der Ansatz erwies sich als erfolgreich (keine beobachtbare Wirkstoffaktivität nach Ausschaltung) und könnte eingesetzt werden, um spezifische Gewebebereiche zu schützen. Die Voraussetzung für diese Technik sind schnell reagierende Photoschaltermoleküle, die sich mit sichtbarem Licht in niedrigen Dosen in einem Zeitraum von Millisekunden schalten lassen.

Ziel dieser kritischen Übersicht war es, einen Ausblick auf mögliche klinische Anwendungen photopharmakologischer Therapien sowie Hinweise für eine realistische Auswahl molekularer Angriffsziele zu geben. Fortschritte auf dem Gebiet der Photopharmakologie erfordern die Expertise unterschiedlicher Disziplinen. Der Weg vom molekularen Design biologisch aktiver Verbindungen mit eingebauten Photoschaltern bis zu ihrer klinischen Anwendung ist lang und beschwerlich, dürfte aber mit innovativen Ansätzen für den Eingriff in komplexe biologische Stoffwechselwege und lebensbedrohende Krankheitsprozesse belohnt werden.

Danksagung

Wir danken NanoNext, der Nederlandse Organisatie voor Wetenschappelijk Onderzoek (NWO-CW, Top Grant für B.L.F. und VIDI Grant 723.014.001 für W.S.), der Koninklijke Nederlandse Akademie van Wetenschappen (KNAW) (KNAW), dem Ministry of Education, Culture and Science (024.001.035), dem European Research Council (Advanced Investigator Grant 227897 für B.L.F.) und der Schweizerischen Studienstiftung (Stipendium für M.M.L.).

Zitierweise: *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 10978–10999
Angew. Chem. **2016**, *128*, 11140–11163

- [1] H. P. Rang, J. M. Ritter, R. J. Flower, J. Henderson, *Rang & Dale's Pharmacology*, Churchill Livingstone, London, **2015**.
- [2] I. R. Edwards, J. K. Aronson, *Lancet* **2000**, *356*, 1255–1259.
- [3] K. Lewis, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2013**, *12*, 371–387.
- [4] D. Hanahan, R. A. Weinberg, *Cell* **2011**, *144*, 646–674.
- [5] R. Gaudana, H. K. Ananthula, A. Parenky, A. K. Mitra, *AAPS J.* **2010**, *12*, 348–360.
- [6] D. E. Gerber, *Am. Fam. Physician* **2008**, *77*, 311–319.
- [7] W. A. Velema, W. Szymanski, B. L. Feringa, *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 2178–2191.
- [8] J. Broichhagen, J. A. Frank, D. Trauner, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 1947–1960.
- [9] W. Szymanski, J. M. Beirle, H. A. V. Kistemaker, W. A. Velema, B. L. Feringa, *Chem. Rev.* **2013**, *113*, 6114–6178.
- [10] T. J. Dougherty, C. J. Gomer, B. W. Henderson, G. Jori, D. Kessel, M. Korbelik, J. Moan, Q. Peng, *JNCI J. Natl. Cancer Inst.* **1998**, *90*, 889–905.
- [11] Z. Huang, *Technol. Cancer Res. Treat.* **2005**, *4*, 283–293.
- [12] P. Agostinis, K. Berg, K. A. Cengel, T. H. Foster, A. W. Girotti, S. O. Gollnick, S. M. Hahn, M. R. Hamblin, A. Juzeniene, D. Kessel, et al., *Ca-Cancer J. Clin.* **2011**, *61*, 250–281.
- [13] O. Tour, R. M. Meijer, D. A. Zacharias, S. R. Adams, R. Y. Tsien, *Nat. Biotechnol.* **2003**, *21*, 1505–1508.
- [14] L. Feno, O. Yizhar, K. Deisseroth, *Annu. Rev. Neurosci.* **2011**, *34*, 389–412.
- [15] B. V. Zemelman, N. Nesnas, G. A. Lee, G. Miesenböck, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 1352–1357.
- [16] B. V. Zemelman, G. A. Lee, M. Ng, G. Miesenböck, *Neuron* **2002**, *33*, 15–22.
- [17] N. A. Smith, P. J. Sadler, *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. A* **2013**, *371*, 20120519.
- [18] C. Brieke, F. Rohrbach, A. Gottschalk, G. Mayer, A. Heckel, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 8446–8476; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 8572–8604.
- [19] R. S. Stern, *N. Engl. J. Med.* **2007**, *357*, 682–690.
- [20] M. J. Hansen, W. A. Velema, G. de Bruin, H. S. Overkleef, W. Szymanski, B. L. Feringa, *ChemBioChem* **2014**, *15*, 2053–2057.
- [21] M. Borowiak, W. Nahaboo, M. Reynders, K. Nekolla, P. Jalnotin, J. Hasserodt, M. Rehberg, M. Delattre, S. Zahler, A. Vollmar, et al., *Cell* **2015**, *162*, 403–411.
- [22] W. Szymanski, M. E. Ourailidou, W. A. Velema, F. J. Dekker, B. L. Feringa, *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 16517–16524.
- [23] C. Falenczyk, M. Schiedel, B. Karaman, T. Rumpf, N. Kuzmanovic, M. Grøtli, W. Sippl, M. Jung, B. König, *Chem. Sci.* **2014**, *5*, 4794–4799.
- [24] R. Ferreira, J. R. Nilsson, C. Solano, J. Andréasson, M. Grøtli, *Sci. Rep.* **2015**, *5*, 9769.
- [25] M. Banghart, K. Borges, E. Isacoff, D. Trauner, R. H. Kramer, *Nat. Neurosci.* **2004**, *7*, 1381–1386.
- [26] A. Polosukhina, J. Litt, I. Tochitsky, J. Nemargut, Y. Sychev, I. De Kouchkovsky, T. Huang, K. Borges, D. Trauner, R. N. Van Gelder, et al., *Neuron* **2012**, *75*, 271–282.
- [27] J. Broichhagen, I. Jurastow, K. Iwan, W. Kummer, D. Trauner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 7657–7660; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 7788–7792.
- [28] J. Broichhagen, M. Schönberger, S. C. Cork, J. A. Frank, P. Marchetti, M. Bugliani, A. M. J. Shapiro, S. Trapp, G. A. Rutter, D. J. Hodson, et al., *Nat. Commun.* **2014**, *5*, 5116.
- [29] W. A. Velema, J. P. van der Berg, M. J. Hansen, W. Szymanski, A. J. M. Driessens, B. L. Feringa, *Nat. Chem.* **2013**, *5*, 924–928.
- [30] A. Taruttis, G. M. van Dam, V. Ntzachristos, *Cancer Res.* **2015**, *75*, 1548–1559.
- [31] S. S. Kelkar, T. M. Reineke, *Bioconjugate Chem.* **2011**, *22*, 1879–1903.
- [32] K. Kalka, H. Merk, H. Mukhtar, *J. Am. Acad. Dermatol.* **2000**, *42*, 389–413.
- [33] D. E. Brash, J. A. Rudolph, J. A. Simon, A. Lin, G. J. McKenna, H. P. Baden, A. J. Halperin, J. Pontén, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1991**, *88*, 10124–10128.
- [34] I. Yoon, J. Z. Li, Y. K. Shim, *Clin. Endosc.* **2013**, *46*, 7–23.
- [35] A. Mazhar, D. J. Cuccia, S. Gioux, A. J. Durkin, J. V. Frangioni, B. J. Tromberg, *J. Biomed. Opt.* **2010**, *15*, 010506.
- [36] J. Liu, *Front. Optoelectron.* **2015**, *8*, 141–151.
- [37] S. Pei, A. C. Inamadar, K. A. Adya, M. M. Tsoukas, *Indian Dermatol. Online J.* **2015**, *6*, 145–157.
- [38] R. Weissleder, V. Ntzachristos, *Nat. Med.* **2003**, *9*, 123–128.
- [39] D. Bléger, S. Hecht, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 11338–11349; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 11494–11506.
- [40] M. Dong, A. Babalhavaei, S. Samanta, A. A. Beharry, G. A. Woolley, *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 2662–2670.
- [41] J. Owens, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2007**, *6*, 187.
- [42] B. Zhao, Y.-Y. He, *Expert Rev. Anticancer Ther.* **2010**, *10*, 1797–1809.
- [43] N. M. Bessler, *Retina* **2004**, *24*, 512–520.
- [44] A. Nanashima, T. Nagayasu, *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 3434–3440.
- [45] S. Sobaniec, P. Bernaczyk, J. Pietruski, M. Cholewa, A. Skurska, E. Dolińska, E. Duraj, G. Tokajuk, A. Paniczko, E. Olszewska, et al., *Lasers/Medical Sci.* **2013**, *28*, 311–316.
- [46] K. J. Lorenz, H. Maier, F. Wilde, *J. Otol. Rhinol.* **2014**, *3*, 5.

- [47] I. I. Simone, J. S. Friedberg, E. Glatstein, J. P. Stevenson, D. H. Sterman, S. M. Hahn, K. A. Cengel, *J. Thorac. Dis.* **2011**, *4*, 63–75.
- [48] P. Soergel, X. Wang, H. Stepp, H. Hertel, P. Hillemanns, *Lasers Surg. Med.* **2008**, *40*, 611–615.
- [49] T. H. Baron, *Clin. Gastroenterol. Hepatol.* **2008**, *6*, 266–267.
- [50] G. Bozzini, P. Colin, N. Betrouni, P. Nevoux, A. Ouzzane, P. Puech, A. Villers, S. Mordon, *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2012**, *9*, 261–273.
- [51] K. A. Cengel, E. Glatstein, S. M. Hahn, *Cancer Treat. Res.* **2007**, *134*, 493–514.
- [52] S. G. Bown, A. Z. Rogowska, D. E. Whitelaw, W. R. Lees, L. B. Lovat, P. Ripley, L. Jones, P. Wyld, A. Gillams, A. W. R. Hatfield, *Gut* **2002**, *50*, 549–557.
- [53] T. J. Vogl, K. Eichler, M. G. Mack, S. Zangos, C. Herzog, A. Thalhammer, K. Engelmann, *Eur. Radiol.* **2004**, *14*, 1063–1073.
- [54] T. R. Nathan, D. E. Whitelaw, S. C. Chang, W. R. Lees, P. M. Ripley, H. Payne, L. Jones, M. C. Parkinson, M. Emberton, A. R. Gillams, et al., *J. Urol.* **2002**, *168*, 1427–1432.
- [55] D. J. Kerejakes, A. M. Szyniszewski, D. Wahr, H. C. Herrmann, D. I. Simon, C. Rogers, P. Kramer, W. Shear, A. C. Yeung, K. A. Shunk, et al., *Circulation* **2003**, *108*, 1310–1315.
- [56] B. J. Quirk, G. Brandal, S. Donlon, J. C. Vera, T. S. Mang, A. B. Foy, S. M. Lew, A. W. Girotti, S. Jugal, P. S. LaViolette, et al., *Photodiagn. Photodyn. Ther.* **2015**, *12*, 530–544.
- [57] L. K. K. Irwin, B. Levitan, *The Neuron: Cell and Molecular Biology*, Oxford University Press, New York, **2015**.
- [58] D. Lemoine, R. Jiang, A. Taly, T. Chataigneau, A. Specht, T. Grutter, *Chem. Rev.* **2012**, *112*, 6285–6318.
- [59] P. Kumar, D. Kumar, S. K. Jha, N. K. Jha, R. K. Ambasta, *Adv. Protein Chem. Struct. Biol.* **2015**, *97*–136.
- [60] B. P. Bean, *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, *8*, 451–465.
- [61] B. Hille, *Ion Channels of Excitable Membranes*, Sinauer Associates, Sunderland, **2001**.
- [62] D. Rodriguez-Larrea, H. Bayley, *Nat. Nanotechnol.* **2013**, *8*, 288–295.
- [63] C. Chang, B. Niblack, B. Walker, H. Bayley, *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 391–400.
- [64] L. Harrington, S. Cheley, L. T. Alexander, S. Knapp, H. Bayley, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2013**, *110*, 4417–4426.
- [65] S. Huang, M. Romero-Ruiz, O. K. Castell, H. Bayley, M. I. Wallace, *Nat. Nanotechnol.* **2015**, *10*, 986–991.
- [66] H. Bayley, *Clin. Chem.* **2015**, *61*, 25–31.
- [67] A. P. Thottumkara, W. H. Parsons, J. Du Bois, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 5760–5784; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 5868–5894.
- [68] L. S. Eberlin, J. V. Mulcahy, A. Tzabazis, J. Zhang, H. Liu, M. M. Logan, H. J. Roberts, G. K. Lee, D. C. Yeomans, J. Du Bois, et al., *J. Am. Chem. Soc.* **2014**, *136*, 6401–6405.
- [69] J. R. Walker, P. A. Novick, W. H. Parsons, M. McGregor, J. Zablocki, V. S. Pande, J. Du Bois, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2012**, *109*, 18102–18107.
- [70] K. Palczewski, *Annu. Rev. Biochem.* **2006**, *75*, 743–767.
- [71] F. Zhang, A. M. Aravanis, A. Adamantidis, L. de Lecea, K. Deisseroth, *Nat. Rev. Neurosci.* **2007**, *8*, 577–581.
- [72] K. Deisseroth, *Nat. Methods* **2011**, *8*, 26–29.
- [73] K. Deisseroth, *Nat. Neurosci.* **2015**, *18*, 1213–1225.
- [74] A. Kianianmomeni, A. Hallmann, *Trends Biochem. Sci.* **2015**, *40*, 624–627.
- [75] A. Koçer, M. Walko, W. Meijberg, B. L. Feringa, *Science* **2005**, *309*, 755–758.
- [76] W. Szymański, D. Yilmaz, A. Koçer, B. L. Feringa, *Acc. Chem. Res.* **2013**, *46*, 2910–2923.
- [77] A. Koçer, M. Walko, B. L. Feringa, *Nat. Protoc.* **2007**, *2*, 1426–1437.
- [78] F. Bonardi, G. London, N. Nouwen, B. L. Feringa, A. J. M. Driessens, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 7234–7238; *Angew. Chem.* **2010**, *122*, 7392–7396.
- [79] J. Broichhagen, D. Trauner, *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2014**, *21*, 121–127.
- [80] R. H. Kramer, D. L. Fortin, D. Trauner, *Curr. Opin. Neurobiol.* **2009**, *19*, 544–552.
- [81] N. Caporale, K. D. Kolstad, T. Lee, I. Tochitsky, D. Dalkara, D. Trauner, R. Kramer, Y. Dan, E. Y. Isacoff, J. G. Flannery, *Mol. Ther.* **2011**, *19*, 1212–1219.
- [82] M. Volgraf, P. Gorostiza, R. Numano, R. H. Kramer, E. Y. Isacoff, D. Trauner, *Nat. Chem. Biol.* **2006**, *2*, 47–52.
- [83] P. Gorostiza, M. Volgraf, R. Numano, S. Szobota, D. Trauner, E. Y. Isacoff, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2007**, *104*, 10865–10870.
- [84] B. J. Carter, *Curr. Opin. Biotechnol.* **1992**, *3*, 533–539.
- [85] E. M. Beems, J. A. Van Best, *Exp. Eye Res.* **1990**, *50*, 393–395.
- [86] M. Banghart, A. Mourot, D. Fortin, J. Yao, R. Kramer, D. Trauner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2009**, *48*, 9097–9101; *Angew. Chem.* **2009**, *121*, 9261–9265.
- [87] D. L. Fortin, M. R. Banghart, T. W. Dunn, K. Borges, D. A. Wagenaar, Q. Gaudry, M. H. Karakossian, T. S. Otis, W. B. Kristan, D. Trauner, et al., *Nat. Methods* **2008**, *5*, 331–338.
- [88] I. Tochitsky, A. Polosukhina, V. E. Degtyar, N. Gallerani, C. M. Smith, A. Friedman, R. N. Van Gelder, D. Trauner, D. Kaufer, R. H. Kramer, *Neuron* **2014**, *81*, 800–813.
- [89] A. Mourot, M. A. Kienzler, M. R. Banghart, T. Fehrentz, F. M. E. Huber, M. Stein, R. H. Kramer, D. Trauner, *ACS Chem. Neurosci.* **2011**, *2*, 536–543.
- [90] L. Laprell, K. Hüll, P. Stawski, C. Schön, S. Michalakis, M. Biel, M. P. Sumser, D. Trauner, *ACS Chem. Neurosci.* **2016**, *7*, 15–20.
- [91] F. A. Dunn, *J. Neurosci.* **2015**, *35*, 2423–2431.
- [92] M. Lin, *Infect. Immun.* **2002**, *70*, 889–898.
- [93] J. Chua, E. L. Fletcher, M. Kalloniatis, *J. Comp. Neurol.* **2009**, *514*, 473–491.
- [94] S. Samanta, A. Babalhavaeji, M. Dong, G. A. Woolley, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 14127–14130; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 14377–14380.
- [95] D. Bléger, J. Schwarz, A. M. Brouwer, S. Hecht, *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 20597–20600.
- [96] J. J. Tjalma, P. B. Garcia-Allende, E. Hartmans, A. G. T. van Scheltinga, W. Boersma-van Ek, J. Glatz, M. Koch, Y. J. van Herwaarden, T. M. Bisseling, I. D. Nagtegaal, et al., *Nucl. Med.* **2015**, *57*, 480–485.
- [97] S. D. Lawn, A. I. Zumla, *Lancet* **2011**, *378*, 57–72.
- [98] F. Barona-Gómez, D. A. Hodgson, *EMBO Rep.* **2003**, *4*, 296–300.
- [99] B. Reisinger, N. Kuzmanovic, P. Löffler, R. Merkl, B. König, R. Sternner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 595–598; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 606–609.
- [100] A. V. Due, J. Kuper, A. Geerlof, J. P. von Kries, M. Wilmanns, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2011**, *108*, 3554–3559.
- [101] M. Irie, *Chem. Rev.* **2000**, *100*, 1685–1716.
- [102] M. Schoenberger, A. Damijonaitis, Z. Zhang, D. Nagel, D. Trauner, *ACS Chem. Neurosci.* **2014**, *5*, 514–518.
- [103] C. Karlsson, M. Blom, M. Johansson, A. M. Jansson, E. Scifo, A. Karlén, T. Govender, A. Gogoll, *Org. Biomol. Chem.* **2015**, *13*, 2612–2621.
- [104] P. Reichard, *Science* **1993**, *260*, 1773–1777.
- [105] S. S. Dawes, D. F. Warner, L. Tsenova, J. Timm, J. D. McKinney, G. Kaplan, H. Rubin, V. Mizrahi, *Infect. Immun.* **2003**, *71*, 6124–6131.
- [106] J. Nurbo, A. K. Roos, D. Muthas, E. Wahlström, D. J. Ericsson, T. Lundstedt, T. Unge, A. Karlén, *J. Pept. Sci.* **2007**, *13*, 822–832.
- [107] *World Cancer Report* (Hrsg.: B. W. Stewart, C. P. Wild), WHO Press, **2014**.

- [108] B. Bhattacharyya, D. Panda, S. Gupta, M. Banerjee, *Med. Res. Rev.* **2008**, *28*, 155–183.
- [109] G. M. Tozer, C. Kanthou, C. S. Parkins, S. A. Hill, *Int. J. Exp. Pathol.* **2002**, *83*, 21–38.
- [110] C. Dumontet, M. A. Jordan, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2010**, *9*, 790–803.
- [111] J. R. Peterson, T. J. Mitchison, *Chem. Biol.* **2002**, *9*, 1275–1285.
- [112] J. Griggs, R. Hesketh, G. A. Smith, K. M. Brindle, J. C. Metcalfe, G. A. Thomas, E. D. Williams, *Br. J. Cancer* **2001**, *84*, 832–835.
- [113] G. R. Pettit, G. M. Cragg, D. L. Herald, J. M. Schmidt, P. Lohavanijaya, *Can. J. Chem.* **1982**, *60*, 1374–1376.
- [114] G. R. Pettit, M. R. Rhodes, D. L. Herald, E. Hamel, J. M. Schmidt, R. K. Pettit, *J. Med. Chem.* **2005**, *48*, 4087–4099.
- [115] C. J. Mooney, G. Nagaiah, P. Fu, J. K. Wasman, M. M. Cooney, P. S. Savvides, J. A. Bokar, A. Dowlati, D. Wang, S. S. Agarwala, et al., *Thyroid* **2009**, *19*, 233–240.
- [116] A. J. Engdahl, E. A. Torres, S. E. Lock, T. B. Engdahl, P. S. Mertz, C. N. Streu, *Org. Lett.* **2015**, *17*, 4546–4549.
- [117] J. E. Sheldon, M. M. Dcona, C. E. Lyons, J. C. Hackett, M. C. T. Hartman, *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 40–49.
- [118] T. Hamaguchi, T. Hirose, H. Asakawa, Y. Itoh, K. Kamado, K. Tokunaga, K. Tomita, H. Masuda, N. Watanabe, M. Namba, *Diabetes Res. Clin. Pract.* **2004**, *S129–S132*.
- [119] J. Broichhagen, J. A. Frank, N. R. Johnston, R. K. Mitchell, K. Šmid, P. Marchetti, M. Bugliani, G. A. Rutter, D. Trauner, D. J. Hodson, *Chem. Commun.* **2015**, *51*, 6018–6021.
- [120] J. Broichhagen, T. Podewin, H. Meyer-Berg, Y. von Ohlen, N. R. Johnston, B. J. Jones, S. R. Bloom, G. A. Rutter, A. Hoffmann-Röder, D. J. Hodson, et al., *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 15565–15569; *Angew. Chem.* **2015**, *127*, 15786–15790.
- [121] C. Röllig, S. Knop, M. Bornhäuser, *Lancet* **2015**, *385*, 2197–2208.
- [122] S. Arastu-Kapur, J. L. Anderl, M. Kraus, F. Parlati, K. D. Shenk, S. J. Lee, T. Muchamuel, M. K. Bennett, C. Driessen, A. J. Ball, et al., *Clin. Cancer Res.* **2011**, *17*, 2734–2743.
- [123] A. F. Kisseelev, A. L. Goldberg, *Chem. Biol.* **2001**, *8*, 739–758.
- [124] A. F. Kisseelev, W. A. van der Linden, H. S. Overkleft, *Chem. Biol.* **2012**, *19*, 99–115.
- [125] C. B. Millard, C. A. Broomfield, *J. Neurochem.* **2002**, *64*, 1909–1918.
- [126] J. Bieth, N. Wassermann, S. M. Vratsanos, B. F. Erlanger, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1970**, *66*, 850–854.
- [127] J. Bieth, S. M. Vratsanos, N. H. Wassermann, A. G. Cooper, B. F. Erlanger, *Biochemistry* **1973**, *12*, 3023–3027.
- [128] J. Bieth, S. M. Vratsanos, N. Wassermann, B. F. Erlanger, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1969**, *64*, 1103–1106.
- [129] W. J. Deal, B. F. Erlanger, D. Nachmansohn, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1969**, *64*, 1230–1234.
- [130] I. B. Wilson, J. Alexander, *J. Biol. Chem.* **1962**, *237*, 1323–1326.
- [131] T. Fehrentz, M. Schönberger, D. Trauner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 12156–12182; *Angew. Chem.* **2011**, *123*, 12362–12390.
- [132] I. Willner, S. Rubin, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1996**, *35*, 367–385; *Angew. Chem.* **1996**, *108*, 419–439.
- [133] H. A. Lester, M. E. Krouse, M. M. Nass, N. H. Wassermann, B. F. Erlanger, *J. Gen. Physiol.* **1980**, *75*, 207–232.
- [134] S. E. Freeman, R. M. Dawson, *Prog. Neurobiol.* **1991**, *36*, 257–277.
- [135] V. Tumiatti, *Curr. Med. Chem.* **2016**, *17*, 1825–1838.
- [136] C. Ballard, S. Gauthier, A. Corbett, C. Brayne, D. Aarsland, E. Jones, *Lancet* **2011**, *377*, 1019–1031.
- [137] X. Chen, S. Wehle, N. Kuzmanovic, B. Merget, U. Holzgrabe, B. König, C. A. Sottriffer, M. Decker, *ACS Chem. Neurosci.* **2014**, *5*, 377–389.
- [138] M. Bartolini, C. Bertucci, V. Cavrini, V. Andrisano, *Biochem. Pharmacol.* **2003**, *65*, 407–416.
- [139] F. J. Carvajal, N. C. Inestrosa, *Front. Mol. Neurosci.* **2011**, *4*, 19.
- [140] M.-S. García-Ayllón, D. H. Small, J. Avila, J. Sáez-Valero, *Front. Mol. Neurosci.* **2011**, *4*, 22.
- [141] R. F. Carlyle, *Br. J. Pharmacol. Chemother.* **1964**, *22*, 126–136.
- [142] K. Y. Kwan, A. J. Allchorne, M. A. Vollrath, A. P. Christensen, D.-S. Zhang, C. J. Woolf, D. P. Corey, *Neuron* **2006**, *50*, 277–289.
- [143] S. D. Brain, *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **2011**, *1245*, 36–37.
- [144] D. Kokel, C. Y. J. Cheung, R. Mills, J. Coutinho-Budd, L. Huang, V. Setola, J. Sprague, S. Jin, Y. N. Jin, X.-P. Huang, et al., *Nat. Chem. Biol.* **2013**, *9*, 257–263.
- [145] O. Fajardo, R. W. Friedrich, *Nat. Chem. Biol.* **2013**, *9*, 219–220.
- [146] B. J. Wainger, E. D. Buttermore, J. T. Oliveira, C. Mellin, S. Lee, W. A. Saber, A. J. Wang, J. K. Ichida, I. M. Chiu, L. Barrett, et al., *Nat. Neurosci.* **2015**, *18*, 17–24.
- [147] J. L. Martínez, *Science* **2008**, *321*, 365–367.
- [148] J. Carlet, P. Collignon, D. Goldmann, H. Goossens, I. C. Gysens, S. Harbarth, V. Jarlier, S. B. Levy, B. N'Doye, D. Pittet, et al., *Lancet* **2011**, *378*, 369–371.
- [149] L. A. Mitscher, *Chem. Rev.* **2005**, *105*, 559–592.
- [150] K. Drlica, X. Zhao, *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **1997**, *61*, 377–392.
- [151] O. Babii, S. Afonin, M. Berditsch, S. Reißer, P. K. Mykhailiuk, V. S. Kubyshkin, T. Steinbrecher, A. S. Ulrich, I. V. Komarov, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 3392–3395; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 3460–3463.
- [152] W. A. Velema, M. J. Hansen, M. M. Lerch, A. J. M. Driessen, W. Szymanski, B. L. Feringa, *Bioconjugate Chem.* **2015**, *26*, 2592–2597.
- [153] D. Julius, A. I. Basbaum, *Nature* **2001**, *413*, 203–210.
- [154] A. I. Basbaum, D. M. Bautista, G. Scherrer, D. Julius, *Cell* **2009**, *139*, 267–284.
- [155] A. Mourot, T. Fehrentz, Y. Le Feuvre, C. M. Smith, C. Herold, D. Dalkara, F. Nagy, D. Trauner, R. H. Kramer, *Nat. Methods* **2012**, *9*, 396–402.
- [156] W. Jeal, P. Benfield, *Drugs* **1997**, *53*, 109–138.
- [157] R. B. R. Muijsers, A. J. Wagstaff, *Drugs* **2001**, *61*, 2289–2307.
- [158] M. Connor, M. J. Christie, *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* **1999**, *26*, 493–499.
- [159] M. Schönberger, D. Trauner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 3264–3267; *Angew. Chem.* **2014**, *126*, 3329–3332.
- [160] M. C. Lagerström, H. B. Schiöth, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2008**, *7*, 339–357.
- [161] R. Lappano, M. Maggiolini, *Nat. Rev. Drug Discovery* **2011**, *10*, 47–60.
- [162] S. Pittolo, X. Gómez-Santacana, K. Eckelt, X. Rovira, J. Dalton, C. Goudet, J.-P. Pin, A. Llobet, J. Giraldo, A. Llebaria, et al., *Nat. Chem. Biol.* **2014**, *10*, 813–815.
- [163] E. A. Johnson, *Mol. Pharmacol.* **2006**, *70*, 676–685.
- [164] M. Stein, A. Breit, T. Fehrentz, T. Gudermann, D. Trauner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2013**, *52*, 9845–9848; *Angew. Chem.* **2013**, *125*, 10028–10032.
- [165] K. Venkatachalam, C. Montell, *Annu. Rev. Biochem.* **2007**, *76*, 387–417.
- [166] L.-J. Wu, T.-B. Sweet, D. E. Clapham, *Pharmacol. Rev.* **2010**, *62*, 381–404.
- [167] C. Benham, J. Davis, A. Randall, *Neuropharmacology* **2002**, *42*, 873–888.
- [168] M. J. Caterina, M. A. Schumacher, M. Tominaga, T. A. Rosen, J. D. Levine, D. Julius, *Nature* **1997**, *389*, 816–824.
- [169] C. S. J. Walpole, S. Bevan, G. Bovermann, J. J. Boelsterli, R. Breckenridge, J. W. Davies, G. A. Hughes, I. James, L. Oberer, *J. Med. Chem.* **1994**, *37*, 1942–1954.
- [170] M. Berglund, M. F. Dalence-Guzmán, S. Skogvall, O. Sterner, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 2529–2540.

- [171] Q. Sun, L. Tafesse, K. Islam, X. Zhou, S. F. Victory, C. Zhang, M. Hachicha, L. A. Schmid, A. Patel, Y. Rotshteyn, et al., *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2003**, *13*, 3611–3616.
- [172] H.-J. Behrendt, T. Germann, C. Gillen, H. Hatt, R. Jostock, *Br. J. Pharmacol.* **2004**, *141*, 737–745.
- [173] J. A. Frank, M. Moroni, R. Moshourab, M. Sumser, G. R. Lewin, D. Trauner, *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 7118.
- [174] W. Sieghart, *Pharmacol. Rev.* **1995**, *47*, 181–234.
- [175] C. Vanlersberghe, F. Camu, *Handb. Exp. Pharmacol.* **2008**, *182*, 227–252.
- [176] M. Stein, S. J. Middendorp, V. Carta, E. Pejo, D. E. Raines, S. A. Forman, E. Sigel, D. Trauner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 10500–10504; *Angew. Chem.* **2012**, *124*, 10652–10656.
- [177] D. S. Stewart, P. Y. Savechenkov, Z. Dostalova, D. C. Chiara, R. Ge, D. E. Raines, J. B. Cohen, S. A. Forman, K. S. Bruzik, K. W. Miller, *J. Med. Chem.* **2011**, *54*, 8124–8135.
- [178] A. M. Binshtok, B. P. Bean, C. J. Woolf, *Nature* **2007**, *449*, 607–610.
- [179] M.-K. Chung, A. D. Güler, M. J. Caterina, *Nat. Neurosci.* **2008**, *11*, 555–564.
- [180] A. Scholz, *Br. J. Anaesth.* **2002**, *89*, 52–61.
- [181] F. de Castro, I. Silos-Santiago, M. L. de Armentia, M. Barbacid, C. Belmonte, *Eur. J. Neurosci.* **1998**, *10*, 146–152.
- [182] T. Fehrentz, C. A. Kuttruff, F. M. E. Huber, M. A. Kienzler, P. Mayer, D. Trauner, *ChemBioChem* **2012**, *13*, 1746–1749.
- [183] D. L. J. Thorek, R. Robertson, W. A. Bacchus, J. Hahn, J. Rothberg, B. J. Beattie, J. Grimm, *Am. J. Nucl. Med. Mol. Imaging* **2012**, *2*, 163–173.
- [184] K. Kruttwig, D. R. Yankelevich, C. Brueggemann, C. Tu, N. L'etoile, A. Knoesen, A. Y. Louie, *Molecules* **2012**, *17*, 6605–6624.

Eingegangen am 24. Februar 2016,
veränderte Fassung am 29. März 2016
Online veröffentlicht am 4. Juli 2016
Übersetzt von Dr. Thomas Lazar, Paderborn