

Entwicklung eines Aufschlussprotokolls für Borane

Dorothee Iffland^{1,2}, Christian Schütz¹, Nicolas H. Bings², Gabriele Hampel¹, Tobias L. Ross¹

¹Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Institut für Kernchemie, Deutschland; ²Johannes Gutenberg-Universität Mainz, Institut für Anorganische und Analytische Chemie

Ein wichtiges Anliegen der BNCT ist die effiziente Aufnahme von Bor in Tumorzellen. Diese kann durch effektives Targeting erreicht werden. Der Folatrezeptor (FR) ist ein in der Onkologie anerkanntes Target und erlaubt ein effektives und hochselektives Targeting. Zusätzlich toleriert der FR relativ große Strukturen und transportiert diese über Endozytose in die Tumorzelle [1]. Ein neues Folsäure-Derivat, das den Bor-Cluster $\text{Na}_2\text{B}_{10}\text{C}_2\text{H}_{11}\text{SH}$ (BSH) trägt, ist in unserer Arbeitsgruppe entwickelt worden, um die Boranreicherung in Tumorzellen durch spezifisches FR-Targeting noch weiter zu erhöhen. Die selektive Überexpression des FR auf vielen humanen Karzinomen ermöglicht eine spezifische und hohe Aufnahme eines BSH-Folates in Tumorzellen. In *in-vitro* Zellversuchen soll die Evaluierung und Validierung des FR-Targetings, die Aufnahme und die Transportkinetik untersucht werden. Die Effektivität des neu entwickelten borhaltigen Folsäure-Derivats wird mit Hilfe des ICP-MS (*inductively coupled plasma mass spectrometry*) und ICP-OES (*inductively coupled plasma optical emission spectrometry*) untersucht. Für diese Analyse müssen die Zellproben jedoch vorher in gelöster, homogener Form überführt werden, was durch einen mikrowellenassistierten Aufschluss geschieht. Da Borane sehr stabil sind, muss zuerst eine geeignete Aufschlussmethode entwickelt werden, welche die Probe nicht nur verflüssigt, sondern auch die Boranstruktur zerstört. Hierzu wurden verschiedene *nido*-Carbaborane (*nido*-CB, Zucker-CB) und BSH, welches eine *closo* Boranstruktur aufweist, mit verschiedenen Aufschlussmethoden behandelt und mittels ICP-MS analysiert. Zusätzlich wurde Borphenylalanin (BPA), welches mit BSH das zurzeit einzige zur BNCT zugelassene Borpharmakon ist, ebenfalls mit den drei getesteten Aufschlussmethoden untersucht. Die Strukturformeln der verschiedenen Borverbindungen sind in Abbildung 1 dargestellt. Es wurde von jeder Substanz eine 2.0 g/L Stammlösung hergestellt, diese mit den drei verschiedenen Methoden aufgeschlossen und die Wiederfindungsrate relativ zu Borsäure ermittelt.

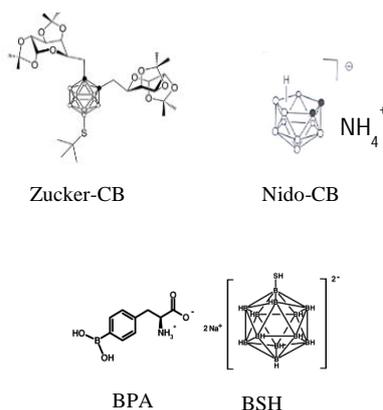


Abbildung 1: Strukturformeln der verwendeten Borverbindungen

Für den mikrowellenassistierten Aufschluss 1 wurden 0,2 mL der verschiedenen Stammlösungen zu je 4 mL H_2O , 2 mL H_2O_2 (35%) und 4 mL HNO_3 (70%) gegeben und für 2,5 min. bei 75°C , danach für 5,5 min. bei 130°C und für 16 min. bei 200°C mikrowellenassistiert in geschlossenen PTFE-Gefäßen aufgeschlossen.

Für den zweiten mikrowellenassistierten Aufschluss wurden ebenfalls 0,2 mL der Stammlösungen zu je 2,5 mL H_3PO_4 (85%) und 7,5 mL HNO_3 (70%) gegeben und für 5 min. bei 140°C , für 15 min bei 200°C und anschließend bei 20 min. bei 240°C ebenfalls in geschlossenen PTFE-Gefäßen aufgeschlossen [2].

Im Falle des dritten untersuchten Aufschlusses wurden 0,2 mL der verschiedenen Stammlösungen mit je 1 mL HNO_3 (70%) und 1 mL H_2O_2 (35%) versetzt und für 2 h bei Raumtemperatur behandelt.

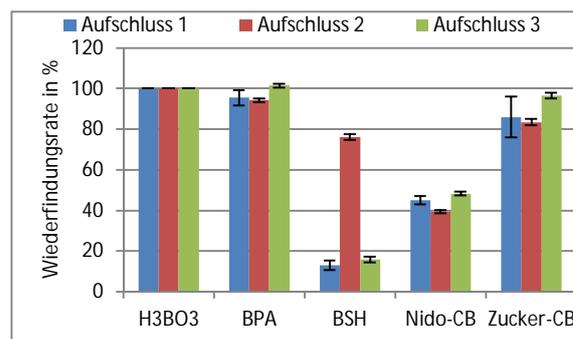


Abbildung 2: Vergleich der Wiederfindungsrate im Vergleich zu H_3BO_3 nach verschiedenen Aufschlussmethoden

In Abbildung 2 zeigen sich sowohl für das BSH, als auch das *nido*-CB geringe Wiederfindungsraten. Beim *nido*-CB ist keine der getesteten drei Aufschlussvarianten geeignet. Im Falle des BSH scheint nur der Aufschluss 2 annähernd geeignet zu sein, jedoch sind auch hier weniger als 80% der ursprünglichen Bormenge nachweisbar. Es ist deshalb nötig, weitere Aufschlussmöglichkeiten zu testen, um so eine verlässliche Methode für die richtige und präzise Bestimmung von Bor in biologischen Proben zu erarbeiten. Vor allem ist es essentiell, eine Methode zu finden, die universal und unabhängig von der jeweiligen chemischen Form des Bors anwendbar ist.

Referenzen

- [1] T.L. Ross et al., *Bioconjugate Chem.* 19, 2462-2470 (2008).
- [2] D. E. Morrison et al., *J. Biol. Inorg. Chem.* 15, 1305-1318 (2010).

Acknowledgments

Die Autoren danken der Boehringer Ingelheim Stiftung und dem Forschungsschwerpunkt Arzneistoff-Membrantransport und -Targeting (SAMT) für die finanzielle Unterstützung.