

Darstellung verschiedener Nitrophenyl-Dithiarsinanyl-Strukturen zur Markierung rekombinanter Proteine für die Gentherapie

J. Brockmann¹, S. Maus¹, U. Haberkorn², F. Rösch¹

¹Institut für Kernchemie, Universität Mainz, ²Universitätsklinikum, Universität Heidelberg

Die Behandlung maligner Tumore auf gentherapeutischer Basis stellt einen neuen innovativen Ansatz in der Onkologie dar. Über gentherapeutische Ansätze werden in vivo Targetmoleküle generiert, die anschließend endokrin mit geeigneten Tracern detektiert und kombiniert werden können [1]. In diesem Zusammenhang ist ein rekombinantes Protein (GFP: green fluorescent protein) mit 4 Cystein-Gruppen, eingebaut in die quarternäre Struktur des Proteins, bekannt, das selektiv Arsenverbindungen aufzunehmen vermag [2]. Erste Untersuchungen erfolgten mit Fluoreszenzmarkern (Abb.1), die nach Substitution der Mercaptogruppen durch die Cysteine selektiv an das Protein gebunden wurden.

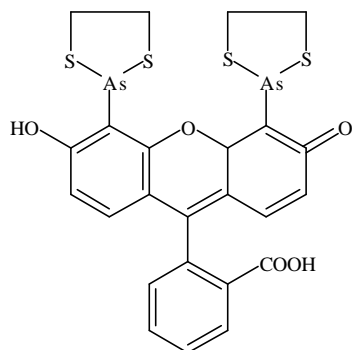


Abb.1: FLASH-EDT₂

In Zusammenarbeit mit dem Universitätsklinikum Heidelberg wurde versucht, diese Leitstruktur durch radioaktiv markierte Nitrophenyldithiarsinanyl-Strukturen (Abb.2) zu ersetzen und anschließend die Bindungsaffinität in genetisch modifizierten Zell-Linien zu untersuchen.

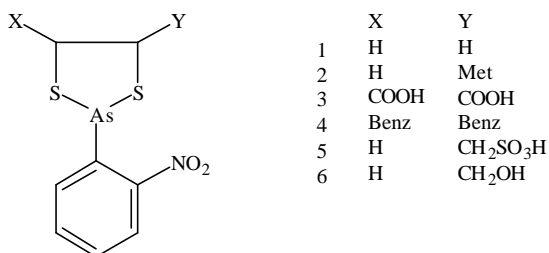
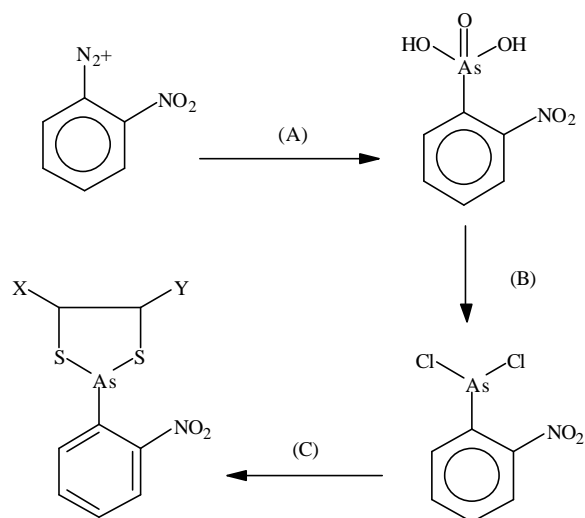


Abb.2: Nitrophenyldithi-[⁷⁶As]arsinanyl-Derivate

Zur radioaktiven Markierung wurde ⁷⁶As verwendet, hergestellt am TRIGA Mark II Kernreaktor des Institutes für Kernchemie, Universität Mainz, durch (n,γ)-Bestrahlung von As₂O₃.

Für die Darstellung der Dithiarsenanyl-Verbindungen wurde das Nitrophenylarsensäurechlorid [3] eingesetzt mit anschließender Umsetzung verschiedener Dithiole zu den entsprechenden Dithiarsinanylverbindungen.



Das Gesamtreaktionsschema ist in Abb.3 zusammengefasst.

Abb.3: Reaktionsschema von Nitrophenyldithiarsenanyl-Verbindungen

(A): [⁷⁶As]As₂O₃; 0.1 M NaHCO₃; pH 9; 30 min; 15°C

(B): SO₂ / HCl; 60-70°C; 6-8 min

(C): Pyridin/CHCl₃; 25-40°C; 3 h

1: Dimercaptoethan; 2: Dimercaptopropan

3: Dimercaptobernsteinsäure; 4: Bimercaptobenzol

5: Dimercaptopropionsulfonsäure; 6: Dimercaptopropanol

Im Reaktionsschritt (A) wurde die Nitrophenyl-[⁷⁶As]-arsensäure mit Ausbeuten von 80% dargestellt [4]. Die Umsetzung erfolgte in 0.1 M NaHCO₃-Lösung, pH 9, unter Verwendung eines Cu²⁺-Katalysators. Die anschließende Reduktion mit SO₂ in konz. HCl zum Nitrophenyl-[⁷⁶As]-arsensäurechlorid erfolgte quantitativ. Nach Extraktion in Chloroform konnte das Produkt mit Ausbeuten von 75-85% isoliert werden.

Die Umsetzung zu den einzelnen Nitrophenyldithi-[⁷⁶As]-arsinanylverbindungen wurde in Chloroform mit einem 1,2-fachen Überschuß Pyridin/Dimercaptoverbindung durchgeführt. Nach 3 h wurde das Lösemittel im Vakuum entfernt und mit n-Hexan umkristallisiert. Die Ausbeuten der Produkte 1-6 lagen im Bereich von 30-90%.

Die radioaktiven Produkte wurden anschließend an das Universitätsklinikum Heidelberg abgegeben und an regulären und genetisch modifizierten Zell-Linien untersucht. Die Auswertung dieser Ergebnisse steht noch aus.

[1] U.Haberkorn, A.Altmann, I.Morr, C.Germann, F.Oberdorfer, G.vanKaick; *J.Nucl.Med.* 38: 1048 (1997)

[2] A.Griffin, S.R.Adams, R.Y.Tsien; *Science* 281: 269 (1998)

[3] H.Kropf, *Houben-Weyl* Band 8 (1978)

[4] A.Schmidt, J.Brockmann, F.Rösch, Jahresbericht 1998, S.41