

Synthese von nca 5-[2-(2-nitrophenyl)-1,3,2-dithi-[⁷⁴As]arsinan-4-yl]-pentanyl-D-Phe¹-Octreotid

A. Schmidt, J. Brockmann, F. Rösch

Institut für Kernchemie, Johannes Gutenberg-Universität, Fritz-Straßmann-Weg 2, 55128 Mainz

Einleitung: Die Darstellung makroskopisch arsenmarkierter Radiopharmaka wurde durch Verwendung von [⁷⁶As]Arsonsäure über die Bartreaktion gezeigt [1]. Ziel war es nun, die unter Trägerzusatz gewonnenen Erkenntnisse auf das no-carrier-added- (nca)-System zu übertragen. Zur Evaluierung des nca-Systems wurde ⁷⁴As verwendet, welches aufgrund seiner längeren Halbwertszeit von 17.7 d eine einfachere Handhabung erlaubt. Als erste Zielverbindung sollte ein nca [⁷⁴As]arsen-markiertes Octreotidderivat, das 5-[2-(2-nitrophenyl)-1,3,2-dithi-[⁷⁴As]arsinan-4-yl]-pentanyl-D-Phe¹-Octreotid (Abb.1), dargestellt werden.

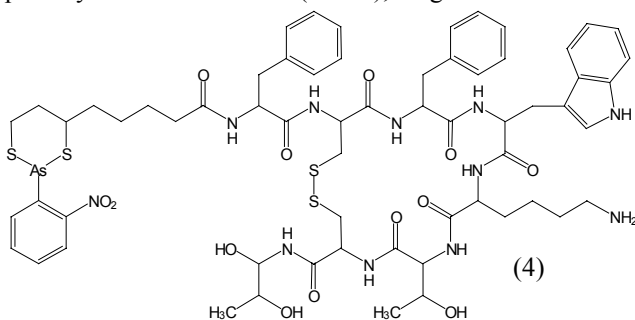


Abb.1: 5-[2-(2-nitrophenyl)-1,3,2-dithi-[⁷⁴As]arsinan-4-yl]-pentanyl-D-Phe¹-Octreotid (⁷⁴As-NAP-Octreotid)

Methodik: ⁷⁴As wurde durch Bestrahlung von Ge-Metall am Forschungszentrum Karlsruhe über die nat-Ge(p,n)^{70,72,73,74,76}As-Reaktion dargestellt. Nach dem Lösen des Ge-Metalls in HNO₃/HCl erfolgte eine Destillation zur Abtrennung des nca ⁷⁴As im HCl-Gas-Strom [2].

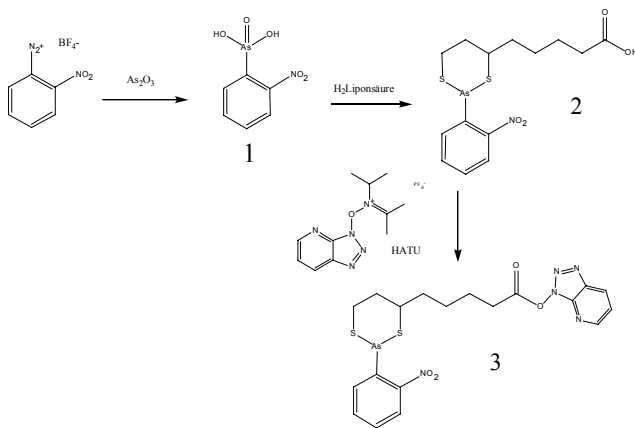


Abb.2: Syntheschema einer prosthetischen Gruppe zur Markierung mit Arsenisotopen

Radioaktives Arsen wird durch Darstellung von 2-Nitrophenylarsonsäure (1) als Markierungsvorläufer bereit gestellt. Durch Insertion in einen Schwefel-Heterozyklus wird das Arsen in der dreiwertigen Form stabilisiert (2). Durch die Verwendung der bifunktionellen Einheit Liponsäure wird durch Bildung eines Aktivesters eine reaktive, prosthetische Gruppe (3) zur Markierung von potentiellen Pharmaka dargestellt. Diese erlaubt durch Reaktion mit Amin-Funktionen unter Bildung von biologisch stabilen Amiden einen ersten Markierungsansatz.

Synthese von [⁷⁴As]Arsonsäure (1): ⁷⁴As (1 MBq) aus der Targetaufarbeitung wird in 0.1 M NaHCO₃ vorgelegt. 0.265 mg p-NO₂-Phenyl-Diazonium-Salz werden hinzu gegeben. Nach 15 Minuten Reaktionszeit wird mit konz. HCl auf pH 3 abgepuffert und über eine RP-18 Kartusche von freiem Arsen abgetrennt. Die ⁷⁴As-Arsonsäure wird mit MeOH eluiert und vom Lösemittel befreit.

Synthese von 2-(2-Nitrophenyl)-[1,3,2]dithi-[⁷⁴As]arsinan-4-yl]-pentansäure (2): Die ⁷⁴As-Arsonsäure wird mit 1 ml Wasser aufgenommen und zu einer Lösung aus 1 ml Dihydroliponsäure in Ethanol (2 mg/ml; M) gegeben. Nach 30 min Reaktionszeit wird mittels HPLC ausgeschnitten. Die Produktfraktion wird mit Wasser (1/20) verdünnt und auf einer RP-Kartusche fixiert. Nach Waschen mit Wasser wird mit MeOH eluiert und vom Lösemittel befreit.

Aktivierung von 2-(2-Nitrophenyl)-[1,3,2]dithi-[⁷⁴As]arsinan-4-yl]-pentansäure mit HATU (3): (3) wird mit 100 µl DMSO aufgenommen und mit 14 µl Diisopropylethylamin und 38 mg HATU in 100 µl DMSO versetzt. Man lässt 15 Minuten reagieren, verdünnt mit Wasser (1/10) und gereinigt über RP-18-Kartusche. Das Produkt wird mit AcCN eluiert und vom Lösemittel befreit. Anschließend wird mit 50 µl DMF aufgenommen.

Kopplung von 2-(2-Nitrophenyl)-[1,3,2]dithi-[⁷⁴As]arsinan-4-yl]-pentansäure an Octreotid (4): 100 µg ε-Boc-Lys⁵-Octreotid wurden in 500 µl DMF und 15 µl Diisopropylethylamin vorgelegt. Zu dieser Lösung wurden 25 µl (3) gegeben und 1 h bei RT gerührt. Anschließend wurde mit 2 ml H₂O verdünnt und mit einer C-18 Kartusche extrahiert. Das Produkt wird mit AcCN eluiert, vom Lösemittel befreit und 2 Minuten mit 100 µl konz. TFA versetzt. Anschließend wird die TFA im N₂-Strom entfernt und mit AcCN aufgenommen. Die Reaktionslösung wird per HPLC untersucht, ausgeschnitten, mit Wasser verdünnt und auf einer C-18 Kartusche fixiert. Anschließend wird mit AcCN eluiert und vom Lösemittel befreit. Ausbeute: 35%.

Ergebnisse: Die trägerfreie Kopplung von 2-(2-Nitrophenyl)-[1,3,2]dithiarsinan-4-yl]-pentansäure an das Modellpeptid Octreotid konnte unter den gewählten Bedingungen erfolgreich durchgeführt werden. Damit ist demonstriert, dass der vorgeschlagene Syntheseweg der Kopplung von trägerfreien Radioarsonsäuren an Substanzen über die Carboxylfunktion der Liponsäureeinheit prinzipiell erfolgreich ist. Darüber hinaus konnte durch die Bestimmung der *in vitro*-Affinität der Bindung des Konjugates an die verschiedenen Subtypen des Somatostatinrezeptors gezeigt werden, dass das As-markierte Peptid seine hohe Rezeptoraffinität erhalten hatte.

[1] J.Brockmann et.al.; J. Labelled Cpd. Radiopharm. 42, Suppl.1 (1999) 303-305

[2] A.F.Novgorodov et.al.; J. Labelled Cpd. Radiopharm. 44, Suppl.1 (2001) 778-780