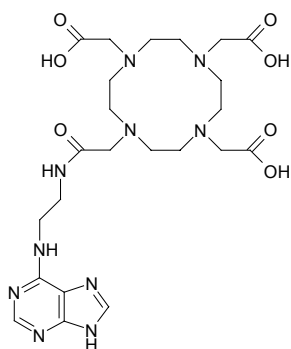


Markierung von DOTA-Adenin mit trägerfreien metallischen dreiwertigen Radioisotopen

T. August, F. Rösch
 Institut für Kernchemie, Universität Mainz, 55128 Mainz

In der Behandlung von Tumorerkrankungen gewinnt die Endoradiotherapie (ERT) zunehmend an Bedeutung. Ein Beispiel für ein Somatostatinrezeptor-affines Octreotid-Derivat ist das ^{90}Y -DOTATOC. Dieses Radiotherapeutikum bindet hochspezifisch an die membranständigen Somatostatinrezeptoren der Tumorzelle. Die β -Energie liegt im MeV-Bereich, wodurch Partikelreichweiten von einigen Millimetern resultieren. So ist speziell bei der Therapie sehr kleiner Tumore das den Tumor umgebende gesunde Gewebe einer Strahlenschädigung ausgesetzt. Unter diesem Aspekt sind Auger-Elektronen-Emitter von Interesse. Ein therapeutischer Effekt kommt allerdings nur dann zustande, wenn das Radiotherapeutikum nach der erfolgten Rezeptorkopplung in die Tumorzelle internalisiert und der Auger-Elektronen-Emitter zum Zellkern transportiert wird. Die Nucleobasen Adenin, Guanin, Cytosin und Thymin können intrazellulär zum Zellkern transportiert werden. Auch stark strukturmodifizierte Nucleobasen, wie z. B. einige Antimetaboliten und Chemotherapeutika, können noch zum Zellkern transportiert werden. Ziel dieser Arbeit war dazu vorab die Synthese von DOTA-Adenin und dessen Markierung mit geeigneten Radiometallen. Hier kann geklärt werden, inwiefern die Aufnahme in die Zelle bzw. der Transport in den Zellkern durch die Erweiterung des Purins um einen Chelatliganden beeinträchtigt sind.



DOTA-Adenin:
 4,7-Bis-carboxymethyl-10-((2-(9H-purin-6-ylamino)-ethyl-carbamoyl)-methyl)-1,4,7,10-tetraaza-cyclododec-1-yl)-essigsäure, wurde in einer vierstufigen Synthese mit einer Ausbeute von 30% dargestellt. Im letzten Schritt wurden 20 mg (0.02 mmol) 4,7-bis-tert-butyoxy-carbonyl-methyl-

10-((2-(9-(tetrahydro-pyran-2-yl)-9H-purin-6-ylamino)-ethylcarbamoyl)-methyl)-1,4,7,10-tetra-aza-cyclododec-1-yl)-essigsäure-tert-butylester in TFA (95%) gelöst und für 18 h bei RT zur Reaktion gebracht. TFA wurde i. Vak. entfernt, der Rückstand mit 2 ml Wasser aufgenommen und anschließend gefriergetrocknet.

radioaktive Markierung: Zur Markierung wurden jeweils 0.1 m Stammlösungen von Ammoniumacetat und Natriumcitrat verwendet. Im 500 μl -Reactivial wurden zu 0.5 μl der DOTA-Adenin-Stammlösung (1 mg/ml) in 100 μl 0.1 m NH_4OAc -Puffer unter Rühren 1 μl der ^{90}Y , ^{111}In , ^{177}Lu und ^{168}Tm -Stammlösungen zugegeben. Das verschlossene Reactivial wurde im Wasserbad bei 100 $^\circ\text{C}$ für 1 h erhitzt. Zu definierten Zeitpunkten wurden 5 μl Proben entnommen, auf eine Kieselgel-Platte aufgebracht und in 0.1 m Natriumcitrat-Puffer entwickelt. Die getrockneten Radio-DC wurden am Instant Imager ausgewertet (Abb.1). Unter den gewählten Bedingungen lief die freie, nicht vom DOTA-Adenin komplexierte Aktivität mit der Laufmittelfront, das markierte ^{90}Y -DOTA-Adenin verblieb als Startspot.

Abb.2 zeigt, dass die radioaktiven Markierungen mit den trägerfreien Nukliden ^{90}Y , ^{111}In und ^{168}Tm vergleichbare RCA von durchschnittlich 90% nach 20-30 min ergaben. Die Markierung mit ^{177}Lu ergab bereits nach etwa 10 Minuten eine nahezu quantitative RCA an ^{177}Lu -DOTA-Adenin

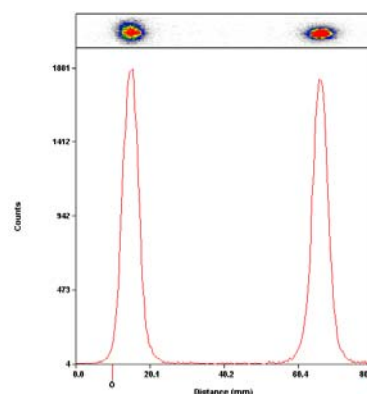


Abb.1 Beispiel für die Auswertung eines Radio-DC

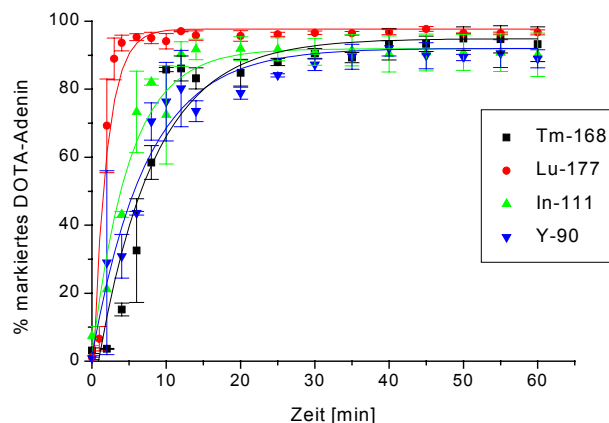


Abb.2: Markierungsexperimente mit DOTA-Adenin

logP-Wert von ^{90}Y -DOTA-Adenin: Der logP-Wert wurde bei drei pH-Werten mit einem Volumenverhältnis von 1:1 für die organische und wässrige Phase bestimmt. Aus KH_2PO_4 und Na_2HPO_4 wurden Pufferlösungen mit den pH-Werten 5, 7.4 (physiologisch) und 8 angesetzt. In einem 500 μl Reactivial wurden pro pH-Wert jeweils 100 μl Puffer und 100 μl n-Octanol vorgelegt. Zu den 2-Phasensystemen wurden jeweils 5 μl (0.484 MBq) ^{90}Y -DOTA-Adenin pipettiert, die Phasen in einer Vortex-Schüttelapparatur für 30 s homogenisiert und anschließend mittels Ultrazentrifugation getrennt. Nach erfolgter Phasentrennung wurden aus der organischen und wässrigen Phase je 5 μl Aliquots entnommen, auf eine Kieselgel-Platte gegeben und am Instant Imager ausgewertet. Die Bestimmung des logP-Wertes erfolgte durch Berechnung des Logarithmus vom Quotienten der Aktivitäten für die organische und wässrige Phase. Für jeden pH-Wert wurden 5 Messungen durchgeführt und die Ergebnisse gemittelt. Die Bestimmung der Lipophilie ergab für ^{90}Y -DOTA-Adenin logP-Werte von -1.48 unter physiologischen pH-Bedingungen (pH = 7.4); -1.77 bei pH 5 bzw. -1.78 bei pH 8. Demnach ist das DOTA-Adenin sehr hydrophil.

Schlussfolgerung: DOTA-Adenin lässt sich mit trägerfreien dreiwertigen Radiometallen quantitativ markieren.