

¹³¹I-Radioiodierung neuer MGMT-Inhibitoren und ihrer Glucose-konjugierten Analoga

U. Mühlhausen¹, R. Schirmmacher¹, M. Piel¹, D. Bier², M. H. Holschbach², B. Kaina³, F. Rösch¹

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

2) Institut für Kernchemie, Forschungszentrum Jülich GmbH, 52452 Jülich

3) Institut für Toxikologie, Johannes Gutenberg-Universität, Obere Zahlbacher Str. 67, 55131 Mainz

Einleitung: Bestimmte Tumorarten produzieren ein Enzym, das die Therapie mit alkylierenden bzw. chloralkylierenden Chemotherapeutika erschwert. Die Wirkung dieser Cytostatika beruht auf einer Blockierung der Replikation der Tumor-DNA durch Alkylierung von Guanin (Thymin), die im günstigsten Fall einen Rückgang des Tumorwachstums zur Folge hat. Das Enzym O⁶-Methylguanin-DNA-methyltransferase (MGMT) ist in der Lage, diese Blockierung der DNA effektiv rückgängig zu machen. Als Folge dieses Reparaturschrittes sind die Tumorzellen wieder in der Lage, sich zu vermehren.

Schon seit einiger Zeit ist bekannt, dass MGMT eine hohe Affinität zu bestimmten O⁶-substituierten Guaninen aufweist. Unter diesen zeigen das O⁶-5-Bromothienylguanin (IC₅₀ = 0,005 µM) und das O⁶-Benzylguanin (IC₅₀ = 0,62 µM) die höchsten Affinitäten [1]. Durch Konjugation dieser Inhibitoren mit einer Glucoseeinheit soll eine selektivere Aufnahme dieser Verbindungen in Tumorzellen gegenüber gesunden Zellen ermöglicht und so mögliche Nebenwirkungen minimiert werden [2]. Mit einem geeigneten radioaktiv markierten Substrat kann dieses Konzept des besseren Tumor-Targetings und auch die Anreicherung im Tumorgewebe überprüft werden.

Zielstellung: In der Hoffnung, die Pharmakokinetik der MGMT-Substrate für das Tumorgewebe zu erhöhen, wurden die O⁶-substituierten Guanine ITG (O⁶-(5-Iodothienyl)guanin) und IBG (O⁶-(3-Iodbenzyl)guanin) in 9-Position über einen Alkylspacer mit einer β-Glucoseeinheit konjugiert und ihre IC₅₀-Werte zur MGMT untersucht [3]. Für *in vitro*- und *in vivo*-Untersuchungen sollten die Glucose-Konjugate mit ¹³¹I radioiodiert und mit den entsprechenden radioiodierten nichtglycosylierten Verbindungen verglichen werden.

Für die Radioiodierung wurden die korrespondierenden Stannylvorläufer SnBGG, SnBGSi, SnTGG und SnTGSi dargestellt (Abb. 1).

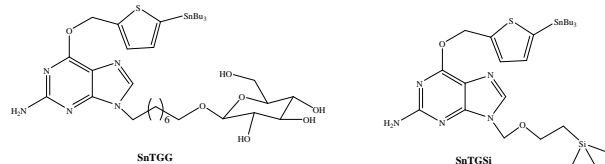


Abbildung 1: Markierungsvorläufer SnTGG und SnTGSi

Die Radioiodierungen erfolgten in einem Phosphatpuffer/Ethanol-System bei einem pH-Wert von 7,0 mit Chloramin-T (CAT) als Oxidationsmittel. Die Reaktionsbedingungen wurden hinsichtlich der Reaktionszeit, der Markierungsvorläuferkonzentration und der CAT-Konzentration optimiert. Als Reaktionszeit erwies sich für alle Verbindungen 5 Minuten als ideal. Während bei den Glucosekonjugaten keine verstärkte Abspaltung des Alkohols an O⁶ mit zunehmender CAT-Konzentration beobachtet werden kon-

nte, war die RCA bei den silylgeschützten Guaninen stark von der CAT-Konzentration abhängig.

Im Anschluss an die Radioiodierung mussten diese Derivate noch an N⁹ entschützt werden. Dies erfolgte nach einer Literaturvorschrift [4] mit Tetrabutylammoniumfluorid in THF (Abb. 2).

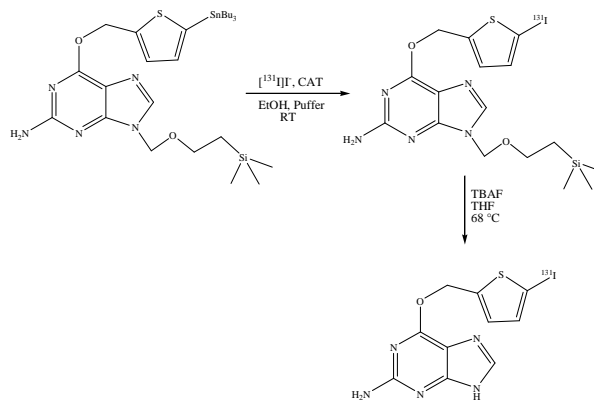


Abbildung 2: Darstellung von [¹³¹I]ITG

Die Entschützung dauert etwa 30 Minuten, was bei einer Halbwertszeit von 8 d bei ¹³¹I kein Problem darstellt. Unter den für die jeweilige Verbindung optimalen Bedingungen konnten sehr gute radiochemische Ausbeuten (RCA) zwischen 72 und 94 % erreicht werden (Tabelle 1).

Tabelle 1: Optimierte RCA der MGMT-Verbindungen

	[¹³¹ I]ITG	[¹³¹ I]ITGG	[¹³¹ I]IBG	[¹³¹ I]IBGG
RCA / %	71,5 ± 5,0	93,6 ± 0,8	82,0 ± 6,9	89,1 ± 0,9

Für weitere Untersuchungen wurden die Verbindungen mittels HPLC aufgereinigt und in einem für den jeweiligen Zweck geeigneten Lösungsmittel aufgenommen. Für eine längere Lagerung der radioiodierten Verbindungen eignete sich absolutes Ethanol bei 4°C am besten. Unter diesen Bedingungen waren alle Verbindungen länger als 30 Tage stabil.

Ausblick:

- Durchführung von Aufnahmestudien mit den radioiodierten Verbindungen zur Validierung des Konzeptes des besseren Tumor-Targetings durch Glucosekonjugation
- Übertragungsstudien auf MGMT mit den radioiodierten Verbindungen
- *in vivo*-Studien an tumortragenden Nacktmäusen

[1] R. S. McElhinney et al., J. Med. Chem.; **41**, 5265-5271 (1998)

[2] J. Reinhardt et al., J. Med. Chem.; **44**, 4050-4061 (2001)

[3] B. Kaina et al., J. Pharmacol. Exp. Therap.; **311**, 585-593 (2004)

[4] G. Vaidyanathan et al., Bioconjugate Chem; **11**, 868-875 (2000)