

Ulrich Griesbach

**Synthese und Aktivität borhaltiger
Verbindungen
für eine selektive Tumorthherapie
durch Bestrahlung mit thermischen Neutronen**



Cuvillier Verlag Göttingen

**Synthese und Aktivität borhaltiger
Verbindungen
für eine selektive Tumortherapie
durch Bestrahlung mit thermischen Neutronen**

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultäten
der Georg-August-Universität zu Göttingen

vorgelegt von
Ulrich Griesbach
aus Marne

Göttingen 2002

Griesbach, Ulrich:

Synthese und Aktivität borhaltiger Verbindungen für eine selektive Tumorthherapie durch Bestrahlung mit thermischen Neutronen / vorgelegt von Ulrich Griesbach. -

1. Aufl. - Göttingen : Cuvillier, 2002

Zugl.: Göttingen, Univ., Diss., 2002

ISBN 3-89873-529-X

D 7

Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. L.F. Tietze

Korreferent: Prof. Dr. U. Diederichsen

Tag der mündlichen Prüfung: 20.06.2002

© CUVILLIER VERLAG, Göttingen 2002

Nonnenstieg 8, 37075 Göttingen

Telefon: 0551-54724-0

Telefax: 0551-54724-21

www.cuvillier.de

Alle Rechte vorbehalten. Ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages ist es nicht gestattet, das Buch oder Teile daraus auf fotomechanischem Weg (Fotokopie, Mikrokopie) zu vervielfältigen.

1. Auflage, 2002

Gedruckt auf säurefreiem Papier

ISBN 3-89873-529-X

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von Juni 1999 bis März 2002 im Institut für Organische Chemie der Georg-August-Universität zu Göttingen unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. L.F. Tietze angefertigt.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. L.F. Tietze, für die interessante Themenstellung, das stete Interesse am Fortgang dieser Arbeit und die vielen Anregungen in zahlreichen Diskussionen.

meinen Eltern

ALLGEMEINER TEIL

1	Einleitung	1
2	Grundlegende Aspekte der Bor-Neutroneneinfang-Krebstherapie	3
2.1	Neutronenquellen für die BNCT.....	5
3	Verbindungen für die BNCT	6
3.1	Borhaltige Verbindungen, die in klinischen Studien verwendet werden.....	6
3.2	Carborane als Borträger für die BNCT	8
3.3	Die Aminosäure Carboranylalanin und das borhaltige Porphyrin BOPP	9
4	Herstellung von <i>ortho</i>-Carboranderivaten	11
4.1	Herstellung von <i>ortho</i> -Carboranen aus Alkinen.....	11
4.2	Methoden zur Substitution von Carboranderivaten	12
5	Mit Zuckereinheiten verknüpfte Carborane für die BNCT	13
6	Borhaltige Verbindungen mit DNA-bindenden Einheiten	16
7	Gastrinrezeptor-vermittelte Krebstherapie	18
8	Zielsetzung und Planung der Arbeit	19
9	<i>Ortho</i>-Carboranderivate mit DNA-bindender Indoleinheit	23
9.1	Synthese der mit der Trimethoxyindoleinheit verknüpften <i>ortho</i> - Carboranderivate	23
9.1.1	Synthese der Vorläuferverbindungen	23
9.1.2	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der Indole 47 und 48	26
9.1.3	Synthese der mit der TMI-Einheit verknüpften Carborane und Abspaltung der Schutzgruppen	26
9.1.4	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der Carborane 68 – 71	28
9.2	Synthese der mit der Trimethoxyindoleinheit und Glucose verknüpften <i>ortho</i> -Carboranderivate	29
9.2.1	Glycosidierung des Carborans 70	29
9.2.2	Einführung des Zuckers zu einem früheren Zeitpunkt.....	30
9.2.3	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der Heptynylglucoside 76 – 79	31
9.2.4	Addition von Decaboran(14) an das Alkin 79 und Abspaltung der Schutzgruppen	32
9.2.5	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der mit TMI und Glucose verknüpften Carborane 74 , 81 , 82 und 83	33
9.3	Synthese von Carboranylaminen und -carbonsäuren.....	34
9.3.1	Syntheseplanung.....	34
9.3.2	Synthese der Alkine.....	36
9.3.3	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der Verbindungen 89 , 90 , 91 , 92 93 und 95	37
9.3.4	Reaktion der Carbamate 90 , 91 , 92 , 93 und 95 sowie der Alkincarbonsäureester 96 , 97 und 98 mit Decaboran(14).....	38
9.3.5	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der Carborane 5 und 99 – 104	41
9.4	Verknüpfung der Cbz-geschützten Aminocarborane 100 und 101 mit der DNA-bindenden Bisindoleinheit	42

9.4.1	Abspaltung der Cbz-Schutzgruppe und Umsetzung mit Bisindolcarbonsäure 56	42
9.4.2	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der mit der Bisindoleinheit verknüpften Carborane 109 – 114	44
10.	Biologische Evaluation der mit der TMI- bzw. Ind₂-Einheit verknüpften Carborane	46
10.1	Der HTCFA-Test zur Bestimmung der Cytotoxizitäten	46
10.2	Der MTT-Test zur Bestimmung der Zellvitalität	47
10.3	Cytotoxizitäten der mit DNA-bindenden TMI-Einheit verknüpften Carborane.....	49
10.4	Cytotoxizitäten der mit DNA-bindenden Ind ₂ -Einheit verknüpften Carborane.....	50
10.5	Aufnahme der Verbindungen 68, 69, 70 und 71 in B-16-Melanomzellen ..	51
11	Verknüpfung der borhaltigen Aminosäure BPA mit der TMI-Einheit	53
11.1	Synthese des TMI-BPA-Konjugates	54
11.2	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der Verbindungen 119 – 125	56
11.3	Cytotoxizität des TMI-BPA-Konjugates 125	57
12	Synthese C-glycosidisch verknüpfter Carborane	58
12.1	Synthese der Ethinyl-C-Glycoside für die Reaktion mit Decaboran(14)	58
12.2	Herstellung der Carboranyl-C-Glucoside 58, 143 und 145	60
12.3	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der Verbindungen 58 und 141 – 145	61
12.4	Umsetzung der stickstoffhaltigen Ethinyl-C-Glycoside 128 und 129 mit Decaboran(14)	63
12.5	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der Verbindungen 146 und 147	64
12.6	Synthese der mit zwei Zuckereinheiten C-glycosidisch verknüpften Carborane.....	65
12.7	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der Carboranyl-C-Bis-glucoside 149 – 152	66
12.8	Cytotoxizität der Carboranyl-C-Glycoside	67
13	Synthese eines mit Testragastrin verknüpften Carborans	69
13.1	Synthese der Tetrapeptidsequenz Boc-Trp-Met-Asp(OAll)-PheNH ₂ (153)	69
13.2	Synthese von Carborancarbonsäuren für die Anknüpfung an das Tetrapeptid 153	72
13.3	Verknüpfung der Carborancarbonsäure 165 mit dem Tetrapeptid 153	73
13.4	Mechanismus der Pd-katalysierten Deallylierung	74
13.5	Diskussion ausgewählter spektroskopischer Daten der Verbindungen 166 und 167	75
13.6	Cytotoxicität des Tetragastrin-verknüpften Carborans 167	76
14	Zusammenfassung	77

EXPERIMENTELLER TEIL

1	Allgemeine Methoden	88
1.1	Verwendete Geräte.....	88

1.2	Chromatografische Methoden	89
1.3	Materialien für die <i>in vitro</i> -Cytotoxizitäts- und Boraufnahmeuntersuchungen	90
2	Allgemeine Arbeitsvorschriften	91
2.1	AAV 1: Abspaltung der Tetrahydropyranylenschutzgruppe	91
2.2	AAV 2: <i>Dess-Martin</i> -Oxidation von Alkoholen zu Aldehyden	91
2.3	AAV 3: Reduktive Aminierung von Aldehyden mit BnNH ₂ ·HCl	92
2.4.1	AAV 4 – Variante A: Synthese von Carbonsäureamiden mit EDC und HOBt aus Aminen.....	92
2.4.2	AAV 4 – Variante B: Synthese von Carbonsäureamiden mit EDC und HOBt aus a) Boc- oder b) Cbz-geschützten Aminen.....	92
2.5	AAV 5: Umsetzung von Alkinen mit Decaboran(14) zu <i>ortho</i> -Carboran-derivaten	93
2.6	AAV 6: Hydrogenolyse von Benzylethern und -amiden	93
2.7	AAV 7: Abspalten von Acetylgruppen nach <i>Zemplén</i>	94
2.8	AAV 8: Hydrogenolyse perbenzylierter Zuckerderivate mit Pd(OH) ₂ /C....	94
2.9	AAV 9: Synthese der <i>N</i> -Boc geschützten Aminosäuren	94
3	Synthese der Carboranyl-TMI-Derivate	95
3.1	5-Hexin-1-ol (54)	95
3.2	2-(Hex-5-inyloxy)-tetrahydropyran (63).....	95
3.3	(7-Hydroxyhept-5-inyloxy)-tetrahydropyran (61).....	96
3.4	5,6,7-Trimethoxyindol-1,2-dicarbonsäure-1- <i>tert</i> -butylester-2- methylester (60)	96
3.5	5,6,7-Trimethoxyindol-1,2-dicarbonsäure-1- <i>tert</i> -butylester (49).....	97
3.6	2-(7-Benzyloxyhept-5-inyloxy)-tetrahydropyran (64).....	98
3.7	2-[2-(4-Benzyloxybut-2-inyloxy)-ethoxy]-tetrahydropyran (66).....	98
3.8	7-Benzyloxyhept-5-in-1-ol (173).....	99
3.9	2-(4-Benzyloxybut-2-inyloxy)-ethanol (67).....	100
3.10	7-Benzyloxyhept-5-inal (52)	100
3.11	(4-Benzyloxybut-2-inyloxy)-acetaldehyd (53).....	101
3.12	Benzyl-(7-benzyloxyhept-5-inyl)-amin (50)	101
3.13	Benzyl-[2-(4-benzyloxybut-2-inyloxy)-ethyl]-amin (51)	102
3.14	2-[Benzyl-(7-benzyloxyhept-5-inyl)-carbamoyl]-5,6,7-trimethoxy- indol-1-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester (47)	102
3.15	2-{Benzyl-[2-(4-benzyloxybut-2-inyloxy)-ethyl]-carbamoyl}-5,6,7- trimethoxyindol-1-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester (48)	103
3.16	5,6,7-Trimethoxyindol-2-carbonsäurebenzyl-(7-benzyloxy-5 <i>C</i> ,6 <i>C</i> - dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylheptyl)-amid (68)	104
3.17	5,6,7-Trimethoxyindol-2-carbonsäurebenzyl-[2-(4-benzyloxy-2 <i>C</i> ,3 <i>C</i> - dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylbutyloxy)-ethyl]-amid (69).....	105
3.18	5,6,7-Trimethoxyindol-2-carbonsäure-(7-hydroxy-5 <i>C</i> ,6 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylheptyl)-amid (70).....	105
3.19	5,6,7-Trimethoxyindol-2-carbonsäure-[2-(4-hydroxy-2 <i>C</i> ,3 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylbutyloxy)-ethyl]-amid (71)	106
3.20	7-Hydroxyhept-2-inyl-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetyl-β-D-glucopyranosid (76) ...	107
3.21	7-Oxohept-2-inyl-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetyl-β-D-gluco-pyranosid (77)	109
3.22	<i>N</i> -Benzyl-7-aminohept-2-inyl-2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetyl-β-D- glucopyranosid (78)	109

3.23	{Benzyl-[7-(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D-glucopyranosyl)-hept-5-ynyl]- carbamoyl}-5,6,7-trimethoxyindol-1-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester (79)	110
3.24	5,6,7-Trimethoxyindol-2-carbonsäurebenzyl-[7-(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> - acetyl- β -D-glucopyranosyl)-5 <i>C</i> ,6 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)yl- heptyl]-amid (81)	111
3.25	5,6,7-Trimethoxyindol-2-carbonsäure-[7-(2,3,4,6-tetra- <i>O</i> -acetyl- β -D- glucopyranosyl)-5 <i>C</i> ,6 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylheptyl]- amid (74).....	112
3.26	5,6,7-Trimethoxyindol-2-carbonsäurebenzyl-(7- β -D-glucopyranosyl- 5 <i>C</i> ,6 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylheptyl)-amid (83).....	113
3.27	5,6,7-Trimethoxyindol-2-carbonsäure-(7- β -D-glucopyranosyl-5 <i>C</i> ,6 <i>C</i> - dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylheptyl)-amid (82)	114
4	Synthese von Carboranylaminoalkoholen und -carbonsäuren	115
4.1	4-Benzyloxybut-2-inal (88)	115
4.2	Benzyl-(4-benzyloxybut-2-ynyl)-amin (89).....	115
4.3	<i>N</i> -Benzyl- <i>N</i> -benzyloxy-carbonyl-(4-benzyloxybut-2-ynyl)-amin (90)	116
4.4	<i>N</i> -Benzyl- <i>N</i> -benzyloxy-carbonyl-(7-benzyloxyhept-5-ynyl)-amin (91)	116
4.5	<i>N</i> -Benzyl- <i>N</i> -benzyloxy-carbonyl-[2-(4-benzyloxybut-2-ynoxy)-ethyl]- amin (92).....	117
4.6	<i>N</i> -Benzyl- <i>N-tert</i> -butyloxy-carbonyl-propargylamin (95)	118
4.7	<i>N</i> -Benzyl- <i>N-tert</i> -butyloxy-carbonyl-(7-benzyloxyhept-5-ynyl)-amin (93).	118
4.8	<i>N</i> -Benzyl- <i>N</i> -benzyloxy-carbonyl-(4-benzyloxy-2 <i>C</i> ,3 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> - dodeca-boranyl(12)butyl)-amin (99)	119
4.9	<i>N</i> -Benzyl- <i>N</i> -benzyloxy-carbonyl-(7-benzyloxy-5 <i>C</i> ,6 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> - dodeca-boranyl(12)heptyl)-amin (100).....	119
4.10	<i>N</i> -Benzyl- <i>N</i> -benzyloxy-carbonyl-[2-(4-benzyloxy-2 <i>C</i> ,3 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboranyl(12)butyloxy)-ethyl]-amin (101)	120
4.11	<i>N</i> -Benzyl- <i>N-tert</i> -butoxy-carbonyl-(7-benzyloxy-5 <i>C</i> ,6 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dode- caboranyl(12)heptyl)-amin (102).....	121
4.12	1,2-Dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)-1-carbonsäureethylester (103).....	121
4.13	1,2-Dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12) (<i>o</i> -Carboran, 5)	122
4.14	4 <i>C</i> ,5 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboranyl(12)pentansäurebenzylester (104)....	122
4.15	1,2-Dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)-1-carbonsäure (164).....	123
4.16	4 <i>C</i> ,5 <i>C</i> -Dicarba- <i>closo</i> -dodecaboranyl(12)pentansäure (165)	123
5	Synthese der Carboranyl-Ind₂-Derivate.....	124
5.1	5-[(1 <i>H</i> -Indol-2'-yl)-carbonyl]amino}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäurebenzyl- (7-benzyloxy-5 <i>C</i> ,6 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylheptyl)- amid (109).....	124
5.2	5-[(1 <i>H</i> -Indol-2'-yl)-carbonyl]amino}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure- benzyl-[2-(4-benzyloxy-2 <i>C</i> ,3 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboranyl(12)butyloxy)- ethyl]-amid (110)	125
5.3	5-[(1 <i>H</i> -Indol-2'-yl)-carbonyl]amino}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure- (7-benzyloxy-5 <i>C</i> ,6 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylheptyl)- amid (111).....	126
5.4	5-[(1 <i>H</i> -Indol-2'-yl)-carbonyl]amino}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure- [2-(4-ben-zyloxy-2 <i>C</i> ,3 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboranyl(12)butyloxy)- ethyl]-amid (112)	127

5.5	5-[(1 <i>H</i> -Indol-2'-yl)-carbonyl]amino}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure-(7-hydroxy-5 <i>C</i> ,6 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylheptyl)-amid (113) .	128
5.6	5-[(1 <i>H</i> -Indol-2'-yl)-carbonyl]amino}-1 <i>H</i> -indol-2-carbonsäure-[2-(4-hydroxy-2 <i>C</i> ,3 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboranyl(12)butyloxy)-ethyl]-amid (114)	129
6	Synthese des TMI-BPA-Konjugates.....	129
6.1	<i>p</i> -Iod-L-phenylalanin (118)	129
6.2	<i>p</i> -Iod-L-phenylalanin- <i>tert</i> -butylester (119)	130
6.3	(1 <i>S</i>)-2-[1- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-2-(4-iodphenyl)-ethylcarbamoyl]-5,6,7-trimethoxyindol-1-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester (120).....	131
6.4	(1 <i>S</i>)-2-{1- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-2-[4-(4,4,5,5-tetramethyl-[1,3,2]dioxaborolan-2-yl)-phenyl]-ethylcarbamoyl}-5,6,7-trimethoxyindol-1-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester (122).....	132
6.5	(1 <i>S</i>)-2-[1- <i>tert</i> -Butoxycarbonyl-2-(4-boronophenyl)-ethylcarbamoyl]-5,6,7-trimethoxyindol-1-carbonsäure- <i>tert</i> -butylester (124)	133
6.6	(1 <i>S</i>)-2-[1-Hydroxycarbonyl-2-(4-boronophenyl)-ethylcarbamoyl]-5,6,7-trimethoxyindol (125)	134
7	Synthese der Carboranyl-C-Glycoside	134
7.1	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-3,4,5-Tris-benzyloxy-2-benzyloxymethyl-6-(1 <i>C</i> ,2 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylethyl)-tetrahydropyran (141).....	135
7.2	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)-3,4,5-Tris-benzyloxy-2-benzyloxymethyl-6-(1 <i>C</i> ,2 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylethyl)-tetrahydropyran (142)	135
7.3	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>S</i>)-3,4,5-Tris-benzyloxy-2-benzyloxymethyl-6-(1 <i>C</i> ,2 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylpropyl)-tetrahydropyran (144).....	136
7.4	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)- <i>N</i> -[4,5-Bis-benzyloxy-6-benzyloxymethyl-2-(1 <i>C</i> ,2 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylethyl)-tetrahydropyran-3-yl]-acetamid (146)	137
7.5	(2 <i>aS</i> ,3 <i>aS</i> ,4 <i>aR</i> ,5 <i>aR</i> ,6 <i>aR</i> ,2 <i>bS</i> ,3 <i>bS</i> ,4 <i>bR</i> ,5 <i>bR</i> ,6 <i>bR</i>)-2 <i>a</i> -(1 <i>C</i> ,2 <i>C</i> -Dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylethyl)-3 <i>a</i> ,4 <i>a</i> ,5 <i>a</i> -tris-benzyloxy-6 <i>a</i> -[2-(3 <i>b</i> ,4 <i>b</i> ,5 <i>b</i> -tris-benzyloxy-6 <i>b</i> -benzyloxymethyl-tetrahydropyran-2 <i>b</i> -yl)-ethyl]-tetrahydropyran (149).....	138
7.6	(2 <i>aR</i> ,3 <i>aR</i> ,4 <i>aR</i> ,5 <i>aS</i> ,6 <i>aS</i> ,2 <i>bR</i> ,3 <i>bR</i> ,4 <i>bR</i> ,5 <i>bS</i> ,6 <i>bS</i>)-1,2-Bis-(3,4,5-tris-benzyloxy-2-benzyloxymethyl-tetrahydropyran-6-yl)-1 <i>C</i> ,2 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12) (151)	139
7.7	Palladium(II)-hydroxid auf Aktivkohle (<i>Pearlman</i> -Katalysator)	140
7.8	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-3,4,5-Tris-hydroxy-2-hydroxymethyl-6-(1 <i>C</i> ,2 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylethyl)-tetrahydropyran (58)	140
7.9	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>R</i>)-3,4,5-Tris-hydroxy-2-hydroxymethyl-6-(1 <i>C</i> ,2 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylethyl)-tetrahydropyran (143)	141
7.10	(2 <i>R</i> ,3 <i>S</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>R</i> ,6 <i>S</i>)-3,4,5-Tris-hydroxy-2-hydroxymethyl-6-(1 <i>C</i> ,2 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylpropyl)-tetrahydropyran (145).....	141
7.11	(2 <i>R</i> ,3 <i>R</i> ,4 <i>R</i> ,5 <i>S</i> ,6 <i>R</i>)- <i>N</i> -[4,5-Bis-hydroxy-6-hydroxymethyl-2-(1 <i>C</i> ,2 <i>C</i> -dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylethyl)-tetrahydropyran-3-yl]-acetamid (147)	142
7.12	(2 <i>aS</i> ,3 <i>aR</i> ,4 <i>aS</i> ,5 <i>aS</i> ,6 <i>aR</i> ,2 <i>bS</i> ,3 <i>bS</i> ,4 <i>bR</i> ,5 <i>bS</i> ,6 <i>bR</i>)-2 <i>a</i> -(1 <i>C</i> ,2 <i>C</i> -Dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12)ylethyl)-3 <i>a</i> ,4 <i>a</i> ,5 <i>a</i> -tris-hydroxy-6 <i>a</i> -[2-(3 <i>b</i> ,4 <i>b</i> ,5 <i>b</i> -tris-hydroxy-6 <i>b</i> -hydroxymethyl-tetrahydropyran-2 <i>b</i> -yl)-ethyl]-tetrahydropyran (150)	143

7.13	(2aR,3aS,4aR,5aR,6aS,2bR,3bS,4bR,5bR,6bS)-1,2-Bis-(3,4,5-tris-hydroxy-2-hydroxymethyl-tetrahydropyran-6-yl)-1C,2C-dicarba- <i>closo</i> -dodecaboran(12) (152)	143
8	Synthese des Carboran-Tetrapeptid-Konjugates.....	144
8.1	L-Asparaginsäure- β -allylester Hydrochlorid (156)	144
8.2	<i>N</i> -Boc-L-Asparaginsäure- β -allylester (157).....	144
8.3	<i>N</i> -Boc-L-Methionin (158).....	145
8.4	<i>N</i> -Boc-L-Tryptophan (159).....	145
8.5	<i>N</i> -Boc-L-Asparagyl- β -allylester-L-phenylalaninamid (Boc-Asp(OAll)-PheNH ₂ , 162)	146
8.6	<i>N</i> -Boc-L-Methionyl-L-asparagyl- β -allylester-L-phenylalaninamid (Boc-Met-Asp(OAll)-PheNH ₂ , 163).....	147
8.7	<i>N</i> -Boc-L-Tryptophyl-L-methionyl-L-asparagyl- β -allylester-L-phenylala- ninamid (Boc-Trp-Met-Asp(OAll)-PheNH ₂ , 153)	148
8.8	<i>N</i> -(3C,4C-Dicarba- <i>closo</i> -dodecaboranyl(12)butylcarbonyl)-L-trypto- phyl-L-methionyl-L-asparagyl- β -allylester-L-phenylalaninamid (166).....	149
8.9	<i>N</i> -(3C,4C-Dicarba- <i>closo</i> -dodecaboranyl(12)butylcarbonyl)-L-trypto- phyl-L-methionyl-L-asparagyl-L-phenylalaninamid (167).....	150
9	<i>in vitro</i>-Cytotoxizitäts- und Boraufnahmeuntersuchungen	151
9.1	HTCFA-Tests zur Bestimmung der Klonbildungsrate	151
9.1.1	Experimentelles	151
9.1.2	Messwerte für die Toxizität des Carboran-TMI-Konjugates 68	152
9.1.3	Messwerte für die Toxizität des Carboran-TMI-Konjugates 69	152
9.1.4	Messwerte für die Toxizität des Carboran-TMI-Konjugates 70	153
9.1.5	Messwerte für die Toxizität des Carboran-TMI-Konjugates 71	153
9.1.6	Messwerte für die Toxizität des Carboran-Ind ₂ -Konjugates 109	154
9.2	MTT-Tests zur Bestimmung der Zellvitalität.....	154
9.2.1	Experimentelles	154
9.2.2	Messwerte für die Toxizität des TMI-Carboran-Glucose- Konjugates 83	155
9.2.4	Messwerte für die Toxizität des TMI-Carboran-Glucose- Konjugates 82	155
9.2.4	Messwerte für die Toxizität des Carboran-Ind ₂ -Konjugates 111	156
9.2.5	Messwerte für die Toxizität des Carboran-Ind ₂ -Konjugates 113	156
9.2.6	Messwerte für die Toxizität von TMI-BPA 125	157
9.2.7	Messwerte für die Toxizität des Carboranyl- β -D-C-Glucosides 58	157
9.2.8	Messwerte für die Toxizität des Carboranyl- α -D-C-Glucosides 143	158
9.2.9	Messwerte für die Toxizität des Methylcarboranyl- β -D-C- Glucosides 145	158
9.2.10	Messwerte für die Toxizität des Carboranyl- α -D-C-Glucosacetamids 147	159
9.2.11	Messwerte für die Toxizität des Carboranyl- β -D-C-Bisglucosides 150 .	159
9.2.12	Messwerte für die Toxizität des Carboranyl-Tetrapeptid-Konjugates 167	160
9.3	Untersuchung der Boraufnahme an B-16 Melanomzellen.....	160
9.3.1	Bestimmung der Cytotoxizität an B-16 Melanomzellen	160
9.3.2	Messwerte für die Toxizität des Carboran-TMI-Konjugates 68	160

9.3.3	Messwerte für die Toxizität des Carboran-TMI-Konjugates 69	161
9.3.4	Messwerte für die Toxizität des Carboran-TMI-Konjugates 70	161
9.3.5	Messwerte für die Toxizität des Carboran-TMI-Konjugates 71	161
9.3.6	Bestimmung der Boraufnahme in B-16 Melanomzellen.....	161
9.3.7	Messwerte für die Boraufnahme in B-16 Melanomzellen	162
	Verzeichnis der verwendeten Abkürzungen	163
	Literaturverzeichnis und Anmerkungen.....	164
	Danksagung.....	170
	Lebenslauf.....	171

ALLGEMEINER TEIL

1 Einleitung

Im Zuge einer stetig verbesserten medizinischen Versorgung der Bevölkerung in den Industriestaaten erreichen immer mehr Menschen ein hohes Lebensalter, so dass Krankheiten, die eine lange Entwicklungsphase benötigen, häufiger zum Ausbruch kommen. So starben in Deutschland 1999 insgesamt 210 837 Menschen an bösartigen Neubildungen im Vergleich zu 406 122 Todesfällen durch Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Somit stellt Krebs die zweithäufigste Todesursache dar.^[1] Trotz beachtlicher Fortschritte auf dem Gebiet der Diagnostik und Therapie liegen die Heilungschancen noch immer selten über 20%, und nur knapp die Hälfte der Patienten überlebt einen Folgezeitraum von 5 Jahren.

Zur Behandlung von Krebs stehen drei Methoden zur Verfügung:^[2] Die älteste und noch immer häufigste ist die Entfernung der für einen Chirurgen sichtbaren Tumormasse durch Operation. Dieses Verfahren garantiert jedoch nicht, dass auch die für Krebs oft typischen mikroskopischen Ausläufer miterfaßt werden. Um den invasiven Randsaum eines Tumors vollständig zu entfernen, kann der Chirurg gezwungen sein, großräumig gesundes Gewebe auszuschneiden: schwere Funktionseinbußen oder Verstümmelungen können die Folge sein. Operiert werden kann natürlich nicht, wenn lebenswichtige Körperstrukturen vom Krebs erfaßt worden sind.

Bei der Bestrahlung setzt man den Bereich der Krebsgeschwulste intensiver Röntgen- oder Gammastrahlung aus. Dadurch werden den Zellen so schwere genetische Schäden zugefügt, dass sie direkt oder apoptotisch absterben. Da sich gesundes Gewebe leichter als malignes von einer Bestrahlung zu erholen vermag, kann eine solche Therapie die anatomischen Strukturen rings um die Geschwulste erhalten und somit den Krebs ohne bleibende Funktionseinbußen heilen. Dennoch erweist sich die Strahlentherapie in einigen Fällen als unzureichend, weil sie genau wie der chirurgische Eingriff nicht immer alle Zellen eines Tumors zerstört und vor allem bereits abgesiedelte Tumorzellen nicht erfaßt, die dann zu Metastasen auswachsen können. In solchen Fällen muss die Chemotherapie angewendet werden, also einer Verabreichung von Medikamenten, die sich über die Blutbahn im gesamten Körper

verteilen. Chemotherapeutika wirken auf menschliche Zellen meist cytostatisch, d.h. sie hindern die Zellen an der Vermehrung, indem sie die Verdopplung ihrer DNA vor der Zellteilung stören. Zumindest einige dieser Medikamente können (genau wie die Bestrahlung) Apoptose auslösen. Einige Krebserkrankungen wie Leukämien, Lymphome oder Hodenkrebs lassen sich heute erfolgreich durch Kombinationen verschiedener Chemotherapeutika behandeln.

Die zur Zeit verfügbaren Medikamente versagen jedoch häufig, weil sie auch gesunde Zellen schädigen und dadurch schwere Nebenwirkungen auslösen.^[3] Diese können so stark werden, dass in solchen Fällen die Behandlung des Patienten ohne Erfolg abgebrochen werden muss.

Die Bor-Neutroneneinfang-Therapie zur Zerstörung von Tumorzellen in Gegenwart gesunder Zellen hat in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen.^[4] Es handelt sich hierbei um eine Therapie, bei der eine borhaltige Substanz möglichst selektiv in Tumorzellen angereichert wird. Bestrahlt man daraufhin das Tumorgewebe mit einem für gesunde Zellen unschädlichen, energiearmen (thermischen) Neutronenstrahl, entstehen aus den in den Tumorzellen angereicherten Boratomen energiereiche Teilchen, die den Zelltod der Tumorzellen herbeiführen.

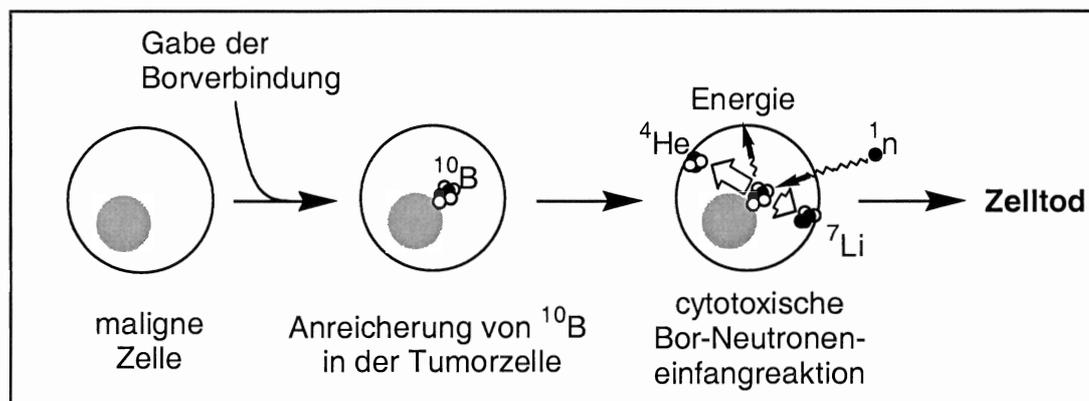


Abb. 1.1: Die Bor-Neutroneneinfang-Therapie (BNCT).

In dieser Arbeit wird die Synthese neuartiger borhaltiger Verbindungen vorgestellt, die sich aufgrund ihrer Eigenschaften potentiell für einen Einsatz im Rahmen der Bor-Neutroneneinfang-Therapie eignen.

2 Grundlegende Aspekte der Bor-Neutroneneinfang-Krebstherapie

Die Strahlentherapie versucht, das Tumorgewebe mit ionisierender Strahlung zu zerstören. Dabei darf das umliegende gesunde Gewebe nicht übermäßig geschädigt werden. Somit ist es nicht immer möglich, den Tumor trotz begrenzter Ausdehnung und bekannter Lage zu bekämpfen.

Kurz nach der Entdeckung des Neutrons 1932 fanden *H.J. Taylor* und *M. Goldhaber*^[5] die Einfang-Reaktion des Bor-Nuclids ^{10}B mit thermischen Neutronen, bei dem ^{10}B über zwei mögliche Reaktionspfade in die beiden energiereichen Kernbruchstücke $^7\text{Li}^{3+}$ und $^4\text{He}^{2+}$ (α -Teilchen) zerfällt.

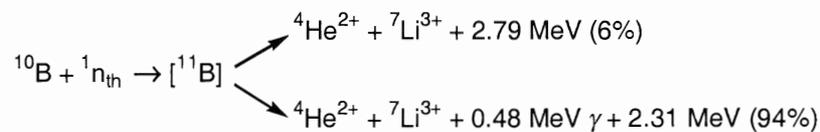


Abb. 2.1: Neutroneneinfangreaktion des Borisotops ^{10}B .

Natürlich vorkommendes Bor besteht zu 80% aus den stabilen ^{11}B - und zu 20% aus den stabilen ^{10}B -Nukliden, wovon jedoch nur der ^{10}B -Kern einen hohen Einfangquerschnitt für thermische Neutronen aufweist. Der Einfangquerschnitt ist dabei die Wahrscheinlichkeit, mit der ein bestimmter Kern ein solches Neutron einfängt; er wird in *barn* ($1 \text{ barn} = 10^{-24} \text{ cm}^2$) angegeben.

Die bei der Neutroneneinfangreaktion freigesetzten γ -Photonen haben eine verhältnismäßig große Reichweite (cm bis m). Dagegen legen die beiden Kernbruchstücke eine Strecke von maximal $10 \mu\text{m}$ zurück, dies entspricht etwa einem Zelldurchmesser. Die schon 1936 von *G.L. Locher*^[6] vorgeschlagene Bor-Neutroneneinfang-Therapie (Boron Neutron Capture Therapy, BNCT) nutzt dieses zur Bekämpfung von Krebs aus: Wird Bor im Tumor angereichert, so kann man durch Bestrahlung des Tumors mit Neutronen hochionisierte $^7\text{Li}^{3+}$ - und $^4\text{He}^{2+}$ -Teilchen freisetzen, die auf ihren Trajektorien in der Zelle ihre Energie verlieren und dabei sehr viele chemische Bindungen brechen. Starke Zellschäden bis hin zum Zelltod sind die Folge.

Thermische Neutronen können auch durch andere Atomkerne eingefangen werden und zu Kernumwandlungen führen. Wie Tabelle 2.1 zeigt, liefern die meisten dieser Kern-

umwandlungen einen um ein Neutron reicheren Kern desselben Elements sowie ein γ -Teilchen.

Nuclid	Einfangquerschnitt [barn= 10^{-24} cm^2]	Einfangreaktion	Häufigkeit [g pro g Hautgewebe]	Relative Häufigkeit der Reaktion in Hautgewebe (Wasserstoff = 1)
^1H	0.333	$^1\text{H}(n,\gamma)^2\text{H}$	0.1	1
^{12}C	0.0035	$^{12}\text{C}(n,\gamma)^{13}\text{C}$	0.204	0.0018
^{14}N	1.83	$^{14}\text{N}(n,p)^{14}\text{C}$	0.042	0.16
^{16}O	0.00019	$^{16}\text{O}(n,\gamma)^{17}\text{O}$	0.645	0.00023
^{23}Na	0.4	$^{23}\text{Na}(n,\gamma)^{24}\text{Na}$	0.002	0.0010
^{31}P	0.18	$^{31}\text{P}(n,\gamma)^{32}\text{P}$	0.001	0.00017
^{32}S	0.53	$^{32}\text{S}(n,\gamma)^{33}\text{S}$	0.002	0.00099
^{35}Cl	43.6	$^{35}\text{Cl}(n,\gamma)^{36}\text{Cl}$	0.003	0.11
^{10}B	3838	$^{10}\text{B}(n,\alpha)^7\text{Li}$	1×10^{-6} (= 1 ppm)	0.012
^{11}B	0.005	$^{11}\text{B}(n,\gamma)^{12}\text{B}$		
^{157}Gd	255 000	$^{157}\text{Gd}(n,\gamma)^{158}\text{Gd}$		

Tabelle 2.1: Für die BNCT wichtige Eigenschaften einiger Elemente.^[4a]

Den größten Einfangquerschnitt von 255 000 barn besitzt der ^{157}Gd -Kern. Auch dieser Kern bietet sich für eine Anreicherung in Tumorzellen an, die danach durch Bestrahlung mit Neutronen zerstört werden. Die geringe Stabilität der meisten organischen Gadoliniumverbindungen und die daraus resultierende Schwierigkeit, Gadolinium in Zellen anzureichern, limitiert jedoch die Anzahl der verwendbaren Substanzen stark.^[7] Zwei im menschlichen Gewebe vorkommende Nuclide sind Bestandteile wichtiger Nebenreaktionen bei der BNCT und damit Ursache beträchtlicher Hintergrundstrahlung. Bei diesen Nucliden handelt es sich um ^1H und ^{14}N , deren Neutroneneinfangreaktionen in Abb. 9.2 wiedergegeben sind:

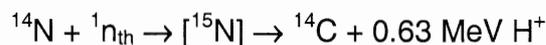
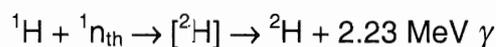


Abb. 2.2: Neutroneneinfangreaktion von ^1H und ^{14}N . Aus ^1H entstehen energiereiche Photonen und Deuteronen; ^{14}N zerfällt zu einem energiereichen Proton und ^{14}C .