

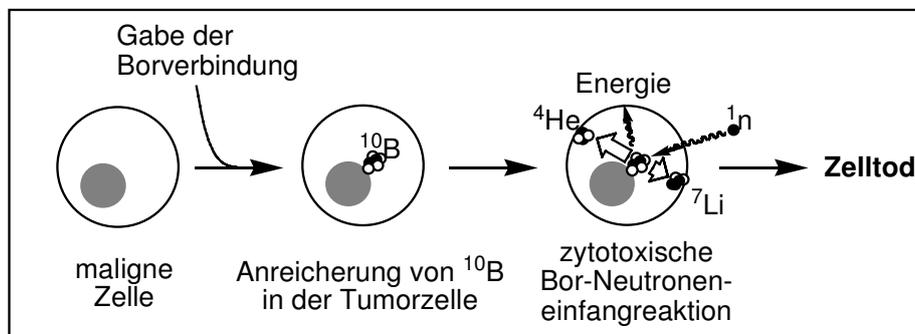
# I. ALLGEMEINER TEIL

## 1 Einleitung

Neben der Entwicklung neuer chemischer Reaktionswege und mechanistischer Untersuchungen, die ein umfassenderes Bild von chemischen Reaktionsabläufen und Zusammenhängen generieren sollen, gehört es zu den originären Aufgaben des präparativ arbeitenden Chemikers sich um die Synthese biologisch aktiver Verbindungen zu bemühen. Dies kann sowohl im Rahmen der Naturstoff-Totalsynthese und -Modifikation als auch im Bereich der Entwicklung neuartiger Verbindungen mit potentiell pharmazeutisch-medizinischen Nutzen erfolgen.

Ein Hauptaugenmerk der chemisch-pharmazeutischen Entwicklung in den reichen Industrienationen liegt auf der Therapie sogenannter Degenerationserkrankungen, wie Krebs, Alzheimer oder auch Parkinson, die eine lange Entwicklungsphase benötigen und deswegen in den alternden Industriegesellschaften Nordamerikas und Europas zunehmend an Bedeutung gewinnen. Hierbei kommt Krebs eine besondere Bedeutung zu, da auf Grund äußerer Einflüsse, wie zum Beispiel UV-Strahlung durch den fortschreitenden Abbau der Ozonschicht oder einer zunehmenden Belastung durch Feinstaub aus Industrie- und Autoabgasen aber auch auf Grund selbstgewählter Risiken wie Tabakrauch, ungesunder Ernährung oder übermäßigem Alkoholkonsum, verstärkt jüngere Menschen davon betroffen sind. So vielfältig wie die Ursachen ist die Erkrankung Krebs an sich. Es sind über 200 verschiedene Krebserkrankungen bekannt, da im Prinzip jede Körperzelle durch Mutation und unkontrolliertes Wachstum der Ausgangspunkt eines malignen Tumors sein kann. Aufgrund dieser Vielfalt ist es nicht verwunderlich, dass es für Krebs keine allgemeine Behandlung gibt und dass Formen der Krebserkrankung existieren für die keine Therapie zur Verfügung steht. Auch wenn in den letzten Jahrzehnten große Fortschritte in der Krebstherapie gemacht wurden, liegt die durchschnittliche Heilungschance bei nur 20 %, wobei hier in der Statistik auch Krebserkrankungen mit einbezogen werden, die sehr gut therapierbar sind, wie z.B. Hodenkrebs oder Leukämie bei Kindern.

Neben den drei Säulen der Tumorthherapie<sup>[1]</sup> - operative Entfernung, Strahlentherapie und Chemotherapie - mit denen oft nur unbefriedigende Ergebnisse erzielt werden können, wird heute intensiv an einer ganzen Reihe experimenteller Therapieformen wie z.B. Gentherapie, Immuntherapie, photodynamischer Therapie (PDT) und Bor-Neutroneneinfang-Therapie geforscht. Bei der Bor-Neutroneneinfang-Therapie (Bor Neutron Capture Therapy), im Folgenden als BNCT bezeichnet, handelt es sich um eine binäre Tumorthherapie, deren Grundlage die Kernreaktion des  $^{10}\text{B}$ -Isotops mit einem thermischen Neutron ist. Hierbei werden hochenergetische Teilchen freigesetzt, welche die Tumorzelle zerstören können (siehe Abb. 1).



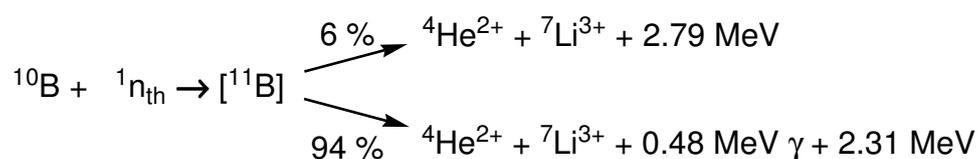
**Abb. 1:** Schematische Darstellung der Bor-Neutroneneinfang-Therapie.

Da die eigentlichen Wirkstoffe der BNCT Boratome und thermische Neutronen sind, besteht die Aufgabe für den Chemiker in der Entwicklung von Verbindungen, die es ermöglichen Bor mit hoher Selektivität in Tumorzellen zu transportieren, damit sich nur dort die schädigende Wirkung des Neutroneneinfangs entfaltet. Diese Aufgabe könnte man mit dem Begriff des "molekularen Marketings" umschreiben, da man ein vorgegebenes Produkt (hier: Bor) hat, welches durch eine geschickte "Verkaufsstrategie", also durch die Wahl einer geeigneten Verbindung an den Kunden (hier: die Tumorzelle) gebracht werden soll.

In der vorliegenden Arbeit wird die Synthese neuer Borverbindungen beschrieben, die es auf Grund ihrer Eigenschaften ermöglichen sollen eine selektive Krebstherapie mit BNCT durchzuführen.

## 2 Grundlegende Aspekte der Bor-Neutroneneinfang-Therapie

Kurz nach der Entdeckung des Neutrons durch *Chadwick* 1932 fanden *Taylor* und *Goldhaber*<sup>[2]</sup> die Neutroneneinfang-Reaktion des  $^{10}\text{B}$ -Isotops mit thermischen Neutronen. Das entstehende angeregte  $^{11}\text{B}$ -Isotop zerfällt über zwei mögliche Reaktionswege in die beiden hochenergetischen Kernbruchstücke  $^7\text{Li}^{3+}$  und  $^4\text{He}^{2+}$  ( $\alpha$ -Teilchen), die eine hohe kinetische Energie tragen.



**Abb. 2:** Neutroneneinfang-Reaktion des Borisotops  $^{10}\text{B}$ .

Schon 1936 hatte *Locher* die Idee, diese Reaktion zur Krebsbekämpfung einzusetzen:

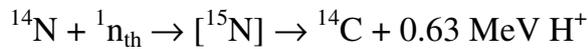
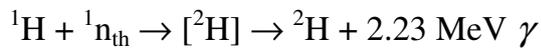
*”In particular, there exists the possibility of introducing small quantities of strong neutron absorbers into the region where it is desired to liberate ionization energy (a simple illustration would be the injection of a soluble, non-toxic compound of boron, lithium, gadolinium, or gold into a superficial cancer, followed by bombardment with slow neutrons).“*<sup>[3]</sup>

Natürlich vorkommendes Bor besteht zu 20 % aus dem für die BNCT tauglichen  $^{10}\text{B}$ -Isotop und zu 80 % aus dem  $^{11}\text{B}$ -Isotop, dessen Einfangquerschnitt für Neutronen zu klein ist. Unter dem Einfangquerschnitt versteht man die Wahrscheinlichkeit, mit der ein bestimmter Kern ein Neutron einfängt; er wird in *barn* ( $1 \text{ barn} = 10^{-24} \text{ cm}^2$ ) angegeben.

Die Kernbruchstücke der Neutroneneinfang-Reaktion legen in Gewebe eine Strecke von maximal  $10 \mu\text{m}$  zurück, was ungefähr einem Zelldurchmesser entspricht. Da sie auf ihrem Weg sämtliche Energie abgeben, zerstören sie sehr viele chemische

Bindungen. Tritt die Einfangreaktion in der Nähe eines für die Zelle lebenswichtigen Organells ein, können die resultierenden Zellschäden bis zum Zelltod führen.

Neben der entstehenden Gamma-Strahlung gibt es noch eine weitere Quelle nicht zu unterschätzender Hintergrundstrahlung, nämlich den Einfang von Neutronen durch im Gewebe vorhandene Wasserstoff- und Stickstoff-Atome und die daraus resultierenden Kernreaktionen. Beide Nuklide gehen beim Neutroneneinfang in einen um ein Neutron reicheren Kern über und emittieren dabei Gamma-Strahlen bzw. ein energiereiches Proton.



**Abb. 3:** Neutroneneinfang-Reaktion von  ${}^1\text{H}$  und  ${}^{14}\text{N}$ . Aus  ${}^1\text{H}$  entstehen energiereiche Photonen und Deuterium;  ${}^{14}\text{N}$  zerfällt zu einem energiereichen Proton und  ${}^{14}\text{C}$ .

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

**Tabelle 1:** Für die BNCT wichtige Eigenschaften einiger Elemente.<sup>[4]</sup>

Verglichen zu  $^{10}\text{B}$  haben diese Nuklide zwar nur einen kleinen Einfangquerschnitt, jedoch ist ihre natürliche Häufigkeit im menschlichen Gewebe so groß, dass ihre Einfangreaktionen im Rahmen der BNCT nicht vernachlässigt werden darf.

Nach obiger Tabelle würde sich natürlich  $^{157}\text{Gd}$  am besten für Neutroneneinfang-Therapien eignen; jedoch sind organische Gadoliniumverbindungen sehr instabil, was ein effizientes Tumor-Targeting erschwert.<sup>[5]</sup> Eine Möglichkeit dennoch die Vorteile einer NCT durch  $^{157}\text{Gd}$  zu nutzen besteht in der Verwendung von  $\text{Gd}^{3+}$ -Chelatkomplexe, die mit einem organischen Targeting System verbunden werden können. Jedoch sind hierzu unter physiologischen Bedingungen sehr stabile Komplexe notwendig um zu verhindern, dass sich  $\text{Gd}^{3+}$  aus dem Komplex lösen und unselektiv verteilen kann.<sup>[6]</sup>

Um den BNC-Effekt für die Krebstherapie nutzen zu können, muss Bor so selektiv wie möglich in die malignen Zellen eingeschleust und dort angereichert werden. Außerdem ist es notwendig, eine hohe Konzentration von  $^{10}\text{B}$  in der Tumorzelle zu erreichen, um die Therapie mit einer möglichst geringen Neutronendosis durchführen zu können, damit die Hintergrundstrahlung nach Abb. 3 nicht zu schweren Belastungen für den Patienten führt. Nach mehreren Berechnungen<sup>[7]</sup> liegt die für die BNCT notwendige Minimalkonzentration bei 10 bis 30  $\mu\text{g } ^{10}\text{B}$  pro g Tumorgewebe in Abhängigkeit von der Position des  $^{10}\text{B}$  relativ zu lebenswichtigen Organellen der Tumorzelle.

## 2.1 Neutronenquellen für die BNCT

Neutronen werden anhand ihrer Energie in drei Klassen eingeteilt: a) Thermische Neutronen haben eine Energie  $< 0.5$  eV und eine Eindringtiefe in Gewebe von ungefähr vier Zentimetern; b) epithermische Neutronen haben eine Energie zwischen 0.5 eV und 10 keV und eine Eindringtiefe in Gewebe von maximal zehn Zentimetern; c) schnelle Neutronen haben eine Energie von mehr als 10 keV und sind in der Lage Wasserstoffatome im Gewebe zu ionisieren, weswegen sie ernste Strahlenschäden hinterlassen. Interessant für die BNCT sind hauptsächlich thermische Neutronen, da nur diese von  $^{10}\text{B}$  eingefangen werden. Ihre geringe Eindringtiefe in Gewebe

ermöglicht jedoch nur die Behandlung oberflächennaher Tumoren. Tieferliegende Tumoren können mit epithermischen Neutronen erreicht werden, die auf ihrem Weg durch das Gewebe durch Stöße abgebremst werden, also Energie verlieren, und in tieferen Schichten von  $^{10}\text{B}$  eingefangen werden können. Schnelle Neutronen sind aus den oben genannten Gründen für den therapeutischen Einsatz am Menschen ungeeignet. Als Quellen für thermische und epithermische Neutronen stehen heute hauptsächlich Kernreaktoren zur Verfügung, von denen jedoch nur wenige die Anforderungen an klinisch nutzbare Neutronenstrahlen erfüllen können.<sup>[8]</sup>

Ein geeigneter Kernreaktor sollte eine Leistung von mindestens einem Megawatt aufweisen und einen Fluss von mindestens  $5 \times 10^8$  Neutronen pro Quadratmeter und Sekunde erzeugen können. Des Weiteren sollte die Verunreinigung des Neutronenstrahls mit  $\gamma$ -Strahlung und schnellen Neutronen möglichst klein sein um daraus resultierende Strahlenschäden zu minimieren.

In den USA gibt es momentan nur noch zwei geeignete Reaktoren; der Brookhaven Medical Research Reaktor wurde 1999 aus Sicherheits- und Kostengründen heruntergefahren, während in Europa derzeit vier geeignete Systeme zur Verfügung stehen. Am Forschungsreaktor in Petten, Niederlande werden seit Jahren Studien zur BNCT mit BSH (1) und L-BPA (2) durchgeführt. Die anderen Reaktoren befinden sich in Finnland, Tschechien und Schweden und werden ebenfalls für klinische und vorklinische Studien zur BNCT verwendet. Des Weiteren befinden sich zwei ausreichend ausgestattete Reaktoren in Japan sowie einer in Argentinien.

Gegenstand intensiver Forschung ist die Entwicklung geeigneter Neutronenquellen auf der Basis von Teilchenbeschleunigern. Solche Teilchenbeschleuniger (ABNS: accelerator-based neutron sources) hätten den Vorteil, das sie kleiner, kostengünstiger und einfacher zu betreiben wären als ein Kernreaktor und somit in größeren Krankenhäusern stationiert werden könnten. Aufgrund technischer Schwierigkeiten genügt die Qualität der Neutronenstrahlen aus ABNS noch nicht den hohen Anforderungen der BNCT, jedoch ist die Entwicklung bei zwei Systemen (Birmingham (Großbritannien) und Albuquerque (USA)) soweit fortgeschritten, dass die Inbetriebnahme für klinische Untersuchungen für die nächsten ein bis zwei Jahre erhofft wird.<sup>[9]</sup> Außerdem sind mittlerweile mobile Neutronenstrahlrohre (auf  $^{252}\text{Cf}$ -

Basis als Neutronenquelle) auf dem Markt, die sich eventuell als Neutronenquelle für die BNCT eignen würden.

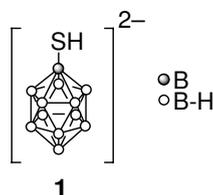
### 3 Verbindungen für die BNCT

#### 3.1 Verbindungen in klinischen Studien

Klinische Studien zur BNCT beschränken sich bis heute fast ausschließlich auf die Behandlung von Gehirntumoren, insbesondere Glioblastoma multiforme, für die bis auf sehr schwierige und risikoreiche Operationen keine wirksame Behandlungsmethode zur Verfügung steht.

Erste Versuche wurden in den frühen 1950igern von *Farr et al.*<sup>[10]</sup> am Brookhaven National Laboratory und *Sweet* und *Brownell*<sup>[11]</sup> am Massachusetts General Hospital mit  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$  durchgeführt und lieferten sehr enttäuschende Ergebnisse. Die anorganische Borquelle verteilte sich gleichmäßig in Tumorzellen und gesundem Gewebe und wies eine lange Verweildauer im Blut auf, weswegen starke Nebenwirkungen durch BNC-Reaktionen im gesunden Gewebe und im Blut beobachtet wurden. Des weiteren waren Leistung wie auch Fokussierung des Neutronenstrahls für eine erfolgreiche Behandlung nicht ausreichend. Im Jahr 1959 entdeckten *Hawthorne et al.* die beiden polyhedralen Boranionen  $\text{B}_{10}\text{H}_{10}^{2-}$  und  $\text{B}_{12}\text{H}_{12}^{2-}$ , die im Vergleich zu den übrigen Borhydriden erstaunlich stabil waren.<sup>[12]</sup> Als bald wurde das systemisch nur gering toxische und gut wasserlösliche Natriumdecahydrodecaborat zur Behandlung von Gehirntumoren eingesetzt. Obwohl es sich im Tumor stärker anreicherte als in gesundem Gewebe und nun auch ein geeigneter Neutronenstrahl zur Verfügung stand, war das Experiment ein Misserfolg: die Konzentration im Blut war höher als die im Tumor gefundene, was zur Zerstörung des gegenüber Strahlung empfindlichen vaskulären Epithels führte. Eine für die BNCT geeignete Substanz muss somit nicht nur eine günstige Verteilung zwischen malignem und gesundem Gewebe aufweisen, sondern muss auch schnell wieder aus dem Blut eliminiert werden.

Die erste borhaltige Substanz, die diese Anforderungen ansatzweise erfüllte, war das von *Soloway et al.* entwickelte und von *Du Pont* produzierte Dinatriumsalz des polyhedralen Borclusters  $B_{12}H_{11}SH^{2-}$  (BSH) (**1**).<sup>[12d]</sup>



**Abb. 4:** Das Boranat  $B_{12}H_{11}SH^{2-}$  (BSH) (**1**). Die Ecken des Ikosaeders werden durch zwölf Boratome besetzt, von denen elf ein Wasserstoffatom als Substituent tragen.

Von 1967 an wurden in Japan eine Vielzahl klinischer Studien mit BSH (**1**) durchgeführt. Zuerst wurde so viel Tumormasse wie möglich chirurgisch entfernt, anschließend BSH (**1**) *i.a.* oder *i.v.* verabreicht (100 mg/kg Körpergewicht) und 12-14 Stunden später Neutronenbestrahlung am offenen Gehirn durchgeführt, da zu dieser Zeit kein ausreichend starker thermischer Neutronenstrahl zur Verfügung stand. Obwohl die ersten Ergebnisse ermutigend waren, wurden sie von der wissenschaftlichen Öffentlichkeit zurückhaltend aufgenommen, da sie in bezug auf die Patientenauswahl nicht den Erfordernissen klinischer Studien entsprachen. Bislang ist bekannt, dass sich BSH (**1**) nach intravenöser Gabe im Gehirn bevorzugt in Tumorzellen anreichert, wohingegen sich gesunde Hirnzellen durch die Blut-Hirn-Schranke schützen.<sup>[13]</sup> Diese körpereigene Barriere schützt die Gehirnzellen vor bestimmten Mineralstoffen und Hormonen, die sonst ungehindert aus dem Blut aufgenommen werden könnten. In Gehirntumoren ist die Blut-Hirn-Schranke derart geschwächt, dass BSH (**1**) ungehindert von den Tumorzellen resorbiert werden kann. Mittlerweile werden in Tschechien und am High Flux Reaktor in Petten, Niederlande kontrollierte klinische Studien mit BSH (**1**) an Patienten durchgeführt.

In Europa und den USA wurden in den letzten Jahren zahlreiche Studien an Glioblastoma-Patienten mit *p*-Borono-L-phenylalanin (L-BPA) (**2**) als Borquelle durchgeführt, wodurch die Überlebensrate wie auch die Lebensqualität der Teilnehmer nachweisbar verbessert wurden.<sup>[14]</sup> Die erste Synthese von racemischem D,L-BPA

