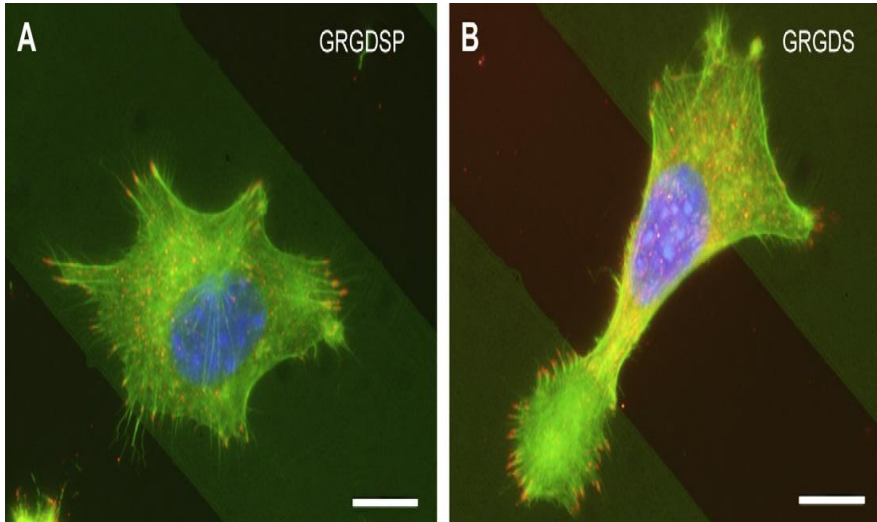


Zelladhäsion über *Integrine* als Voraussetzung höheren Lebens (Mehrzellige Lebewesen):

ein wichtiges Ziel in der Pharmaforschung.

Zellspreizung durch Anheftung mit Integrinen



Institute for Advanced Study (IAS)



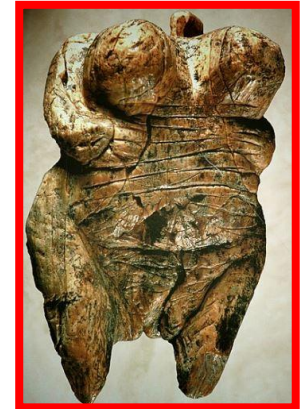
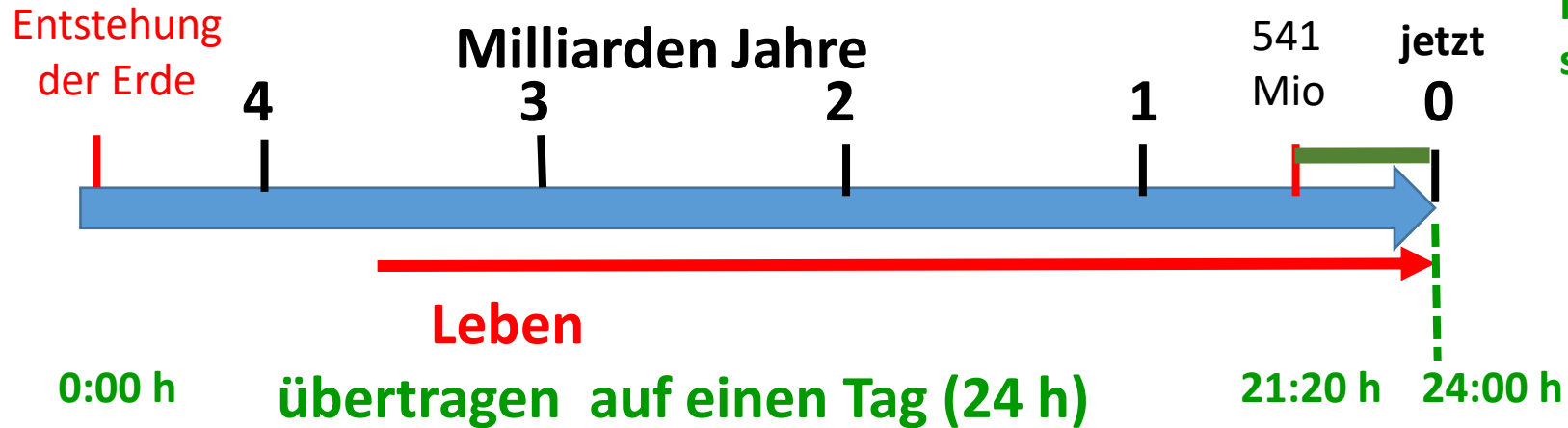
Bayerisches NMR-Zentrum



Einige Gedanken zur Evolution: Phanerozoikum (Kambrische Explosion, Dinosaurier, Vögel, Säugetiere)

Phanerozoikum =
„sichtbares Leben“

Menschheit
seit ca. 40 sec



Die Venus von Hohle-Fels
(Schwäbische Alb, ca. 35000 Jahre alt)
entstand in der letzten Sekunde

- Mehrzeller (höheres Leben)** brauchen nicht nur Kommunikation der Zellen, sondern auch
- **Erkennung der Umwelt** (das gab es schon beim *quorum sensing*),
 - gezielte **Migration**,
 - **Apoptose**,
 - Signale der **Proliferation**)

Warum brauchte die Evolution so lange, mehrzellige Organismen zu entwickeln?

Leben braucht Informationsspeicher und Weitergabe: RNA, DNA und Proteine

RNA

Informationsspeicher

ursprünglich in der *RNA-Welt* direkt

Translation

Protein

Funktionsträger

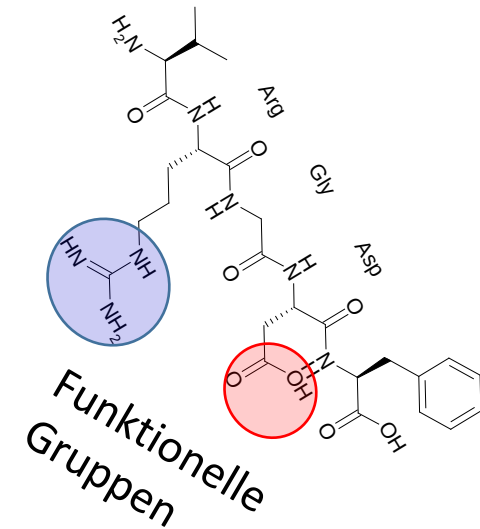
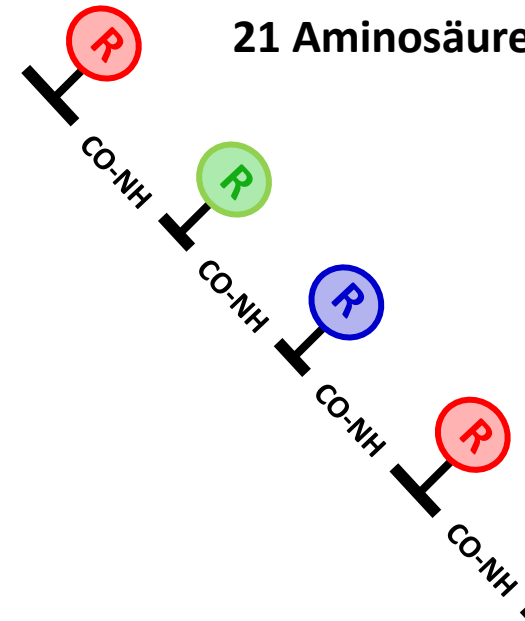
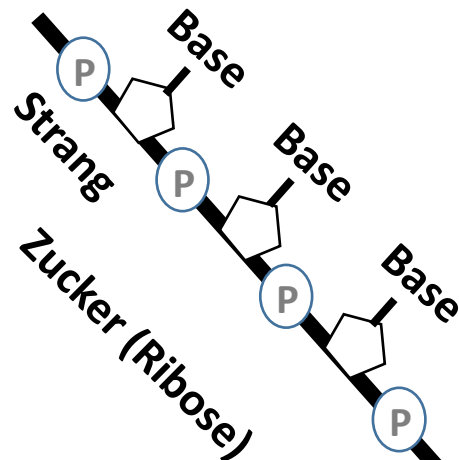
schematisch

Ribonukleinsäuren

Protein (Peptidkette)

4 Basen

21 Aminosäuren



Nachteil: chemische
Instabilität durch
Spaltung der Ketten

die „Erfindung der DNA (Desoxy-Ribonukleinsäuren)“

RNA

Informationsspeicher

Nachteil: chemische
Instabilität durch
Spaltung der Ketten

ursprünglich in der *RNA-Welt* direkt

— — — — — ➔ Protein

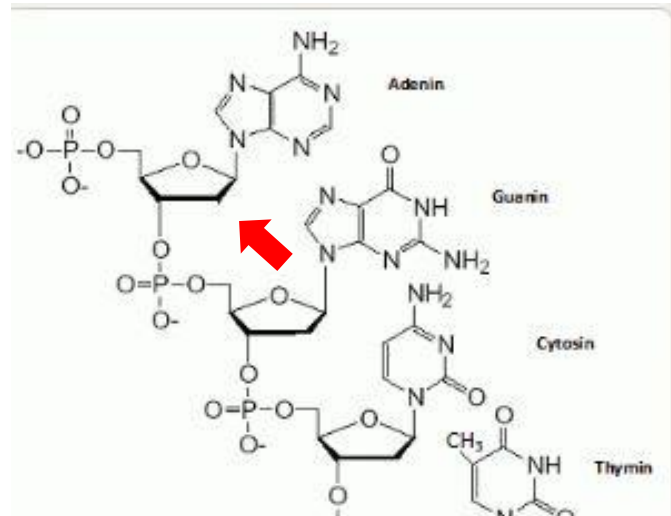
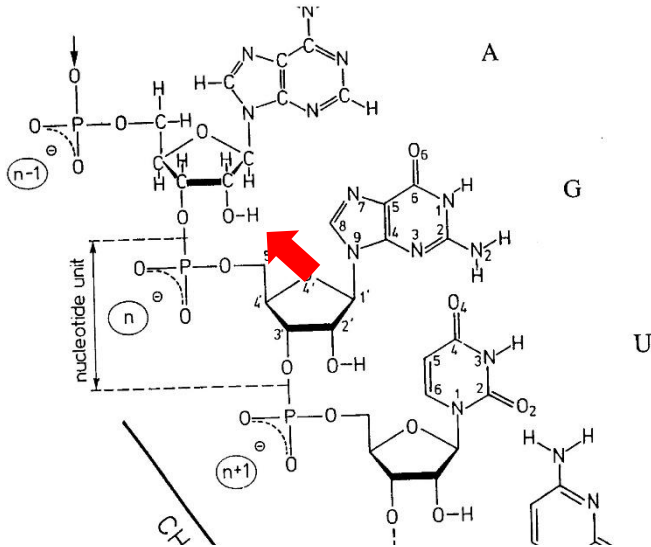
Funktionsträger

DNA

Informationsspeicher

**Desoxy-
Ribonucleinsäure:**
die Entfernung der
Hydroxylgruppe
stabilisiert die
genetische Information

Der einzige Unterschied ist die Hydroxylgruppe



P

die „Erfindung der DNA (Desoxy-Ribonukleinsäuren)“

RNA

Informationsspeicher

Nachteil: chemische
Instabilität durch
Spaltung der Ketten

ursprünglich in der *RNA-Welt* direkt



Protein

Funktionsträger

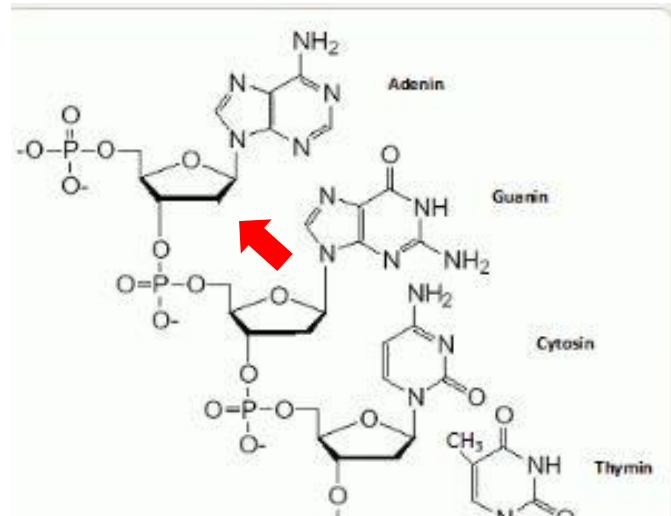
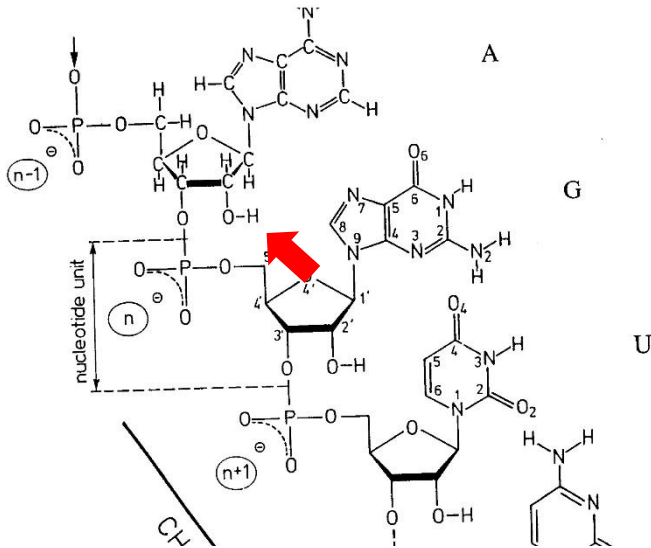
in der Natur wird die DNA aus der RNA
synthetisiert.

DNA

Informationsspeicher

Das ist umständlich und ein Chemiker würde
heute die DNA einfacher direkt und nicht über
den Umweg der RNA synthetisieren.

Der einzige Unterschied ist die Hydroxylgruppe

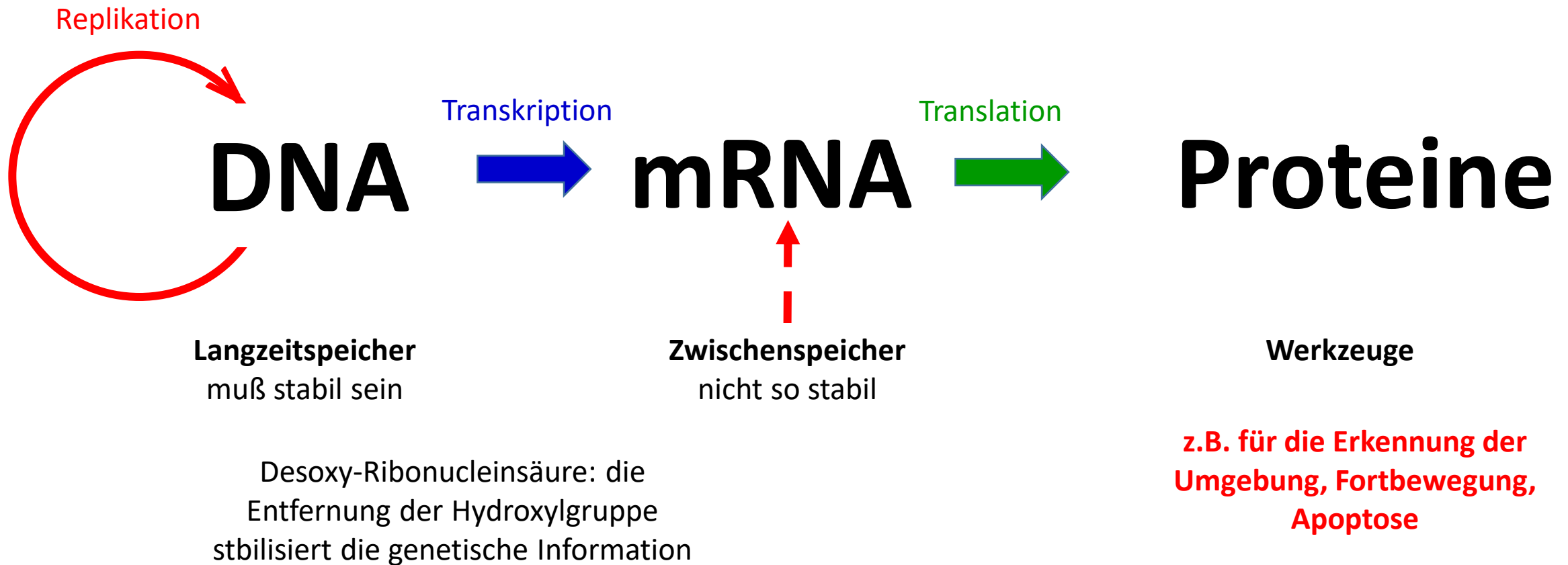


aber:

in der Evolution bleibt ein
einmal erkanntes Prinzip meist
erhalten, es wird weiter
entwickelt.

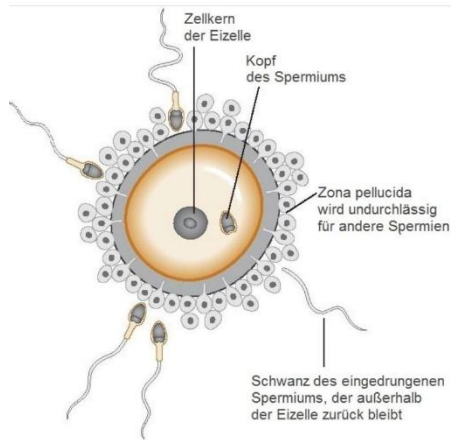
Das werde ich auch am Beispiel
der **Integrine** zeigen

Das zentrale Dogma der Genetik



Zelladhäsion über *Integrine* als Voraussetzung höheren Lebens (Mehrzellige Lebewesen):

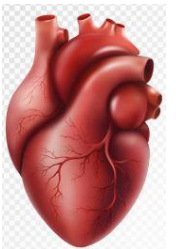
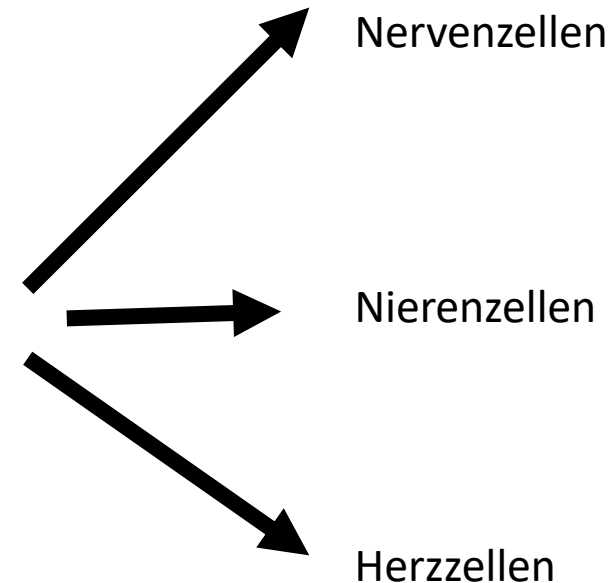
Eine Zygote ist eine diploide Zelle, die durch die Verschmelzung von haploiden Geschlechtszellen - meist einer weiblichen Eizelle und einer männlichen Samenzelle - entsteht. Bei dieser Befruchtung vereinigen sich die Zellkerne der beiden Keimzellen.



Stammzelle mit hohem Differenzierungspotenzial

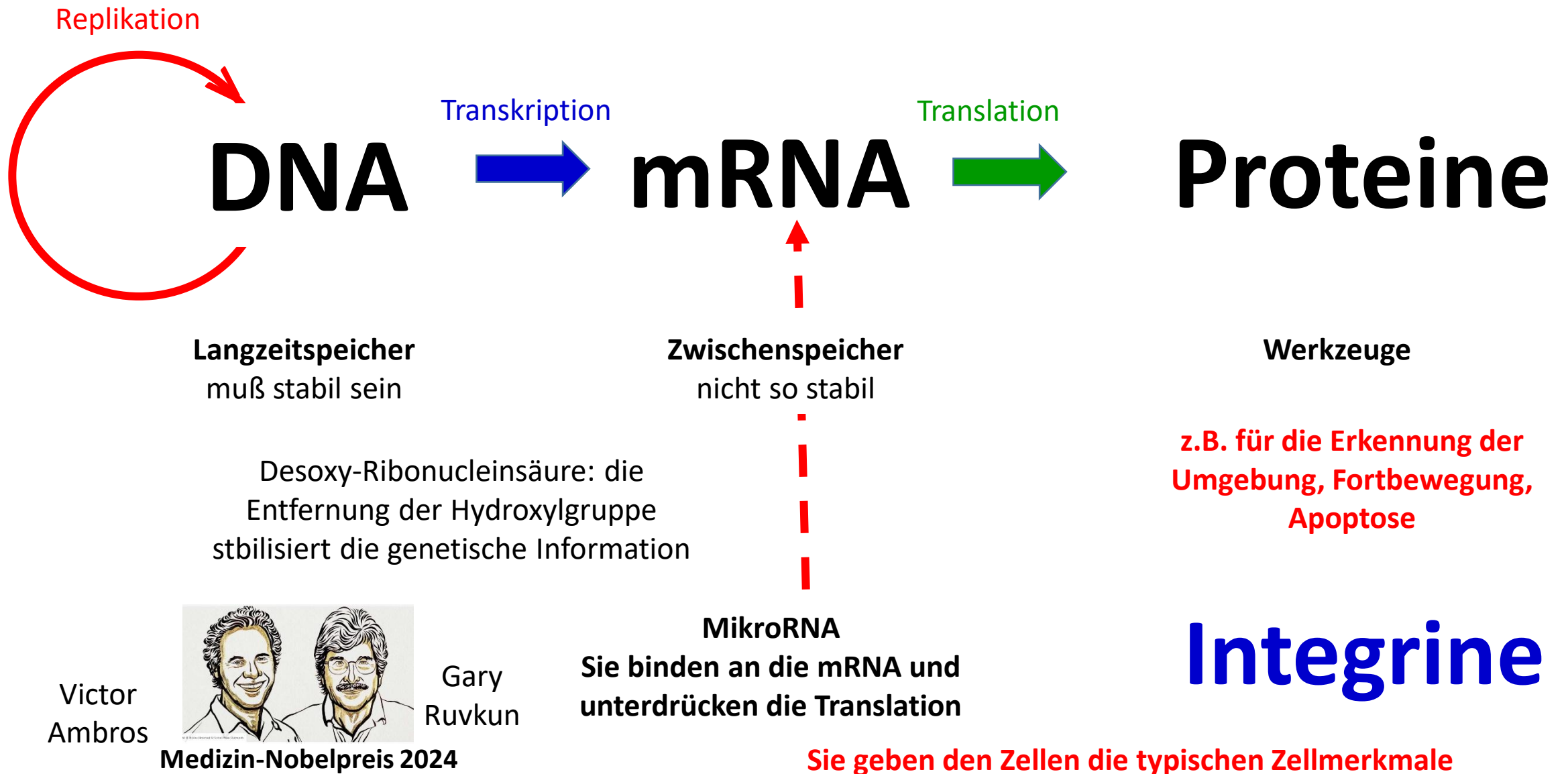
Differenzierung zu den gewebespezifischen Zellen (Keimblätter: Entoderm, Ektoderm, Mesoderm)

Regulation z.B. durch Hormone, Reaktion auf Umgebung

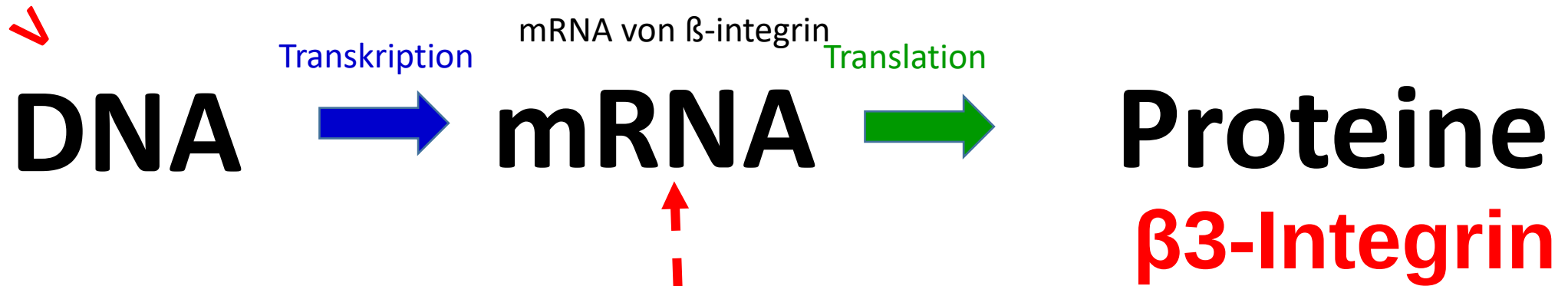


Störungen dieser Regulation führt u.a. zu Krebs

Das zentrale Dogma der Genetik



Ein Beispiel: die Expression des $\beta 3$ Integrins wird durch Let-7a miRNA inhibiert. ^[1] Wenn das fehlt  **Melanome**



Let-7a miRNA^[2]

MikroRNA

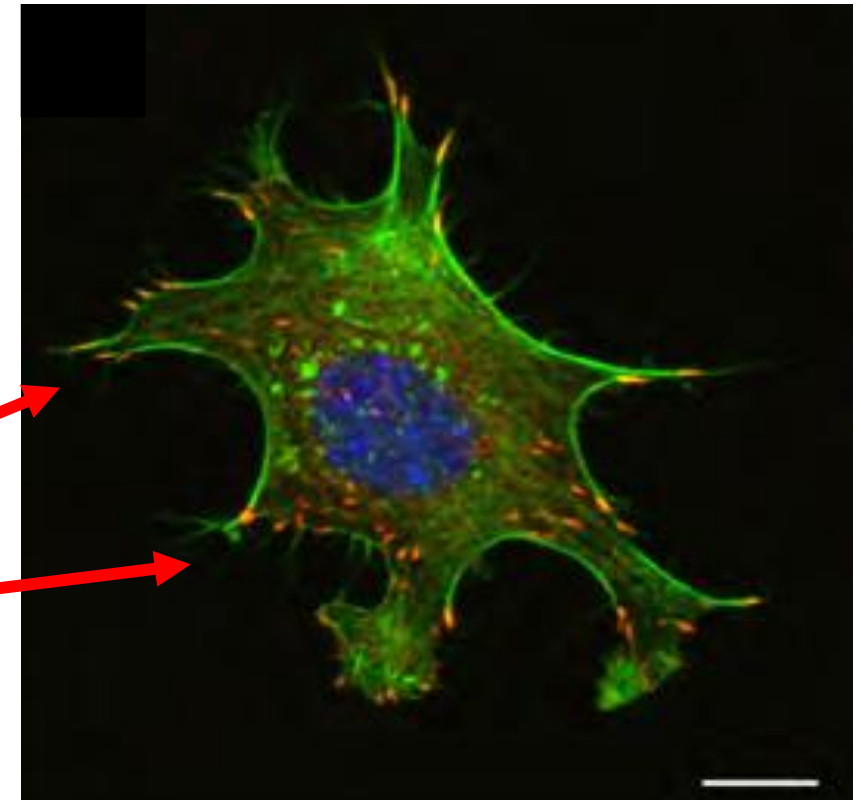
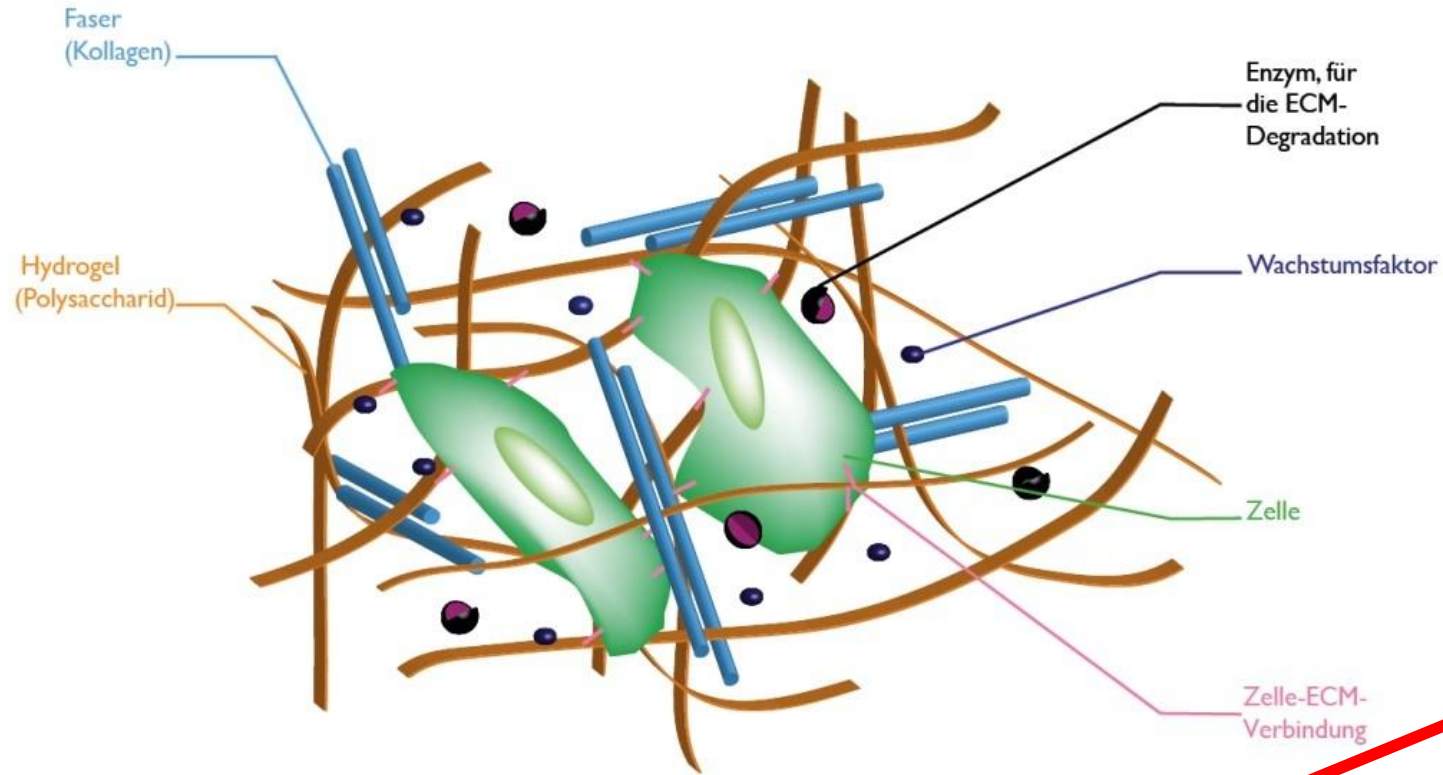
Sie binden an die mRNA und
unterdrücken die Translation

Diese miRNA fehlt in Melanomen, dadurch wird die Translation in das Integrin nicht mehr gehindert und das vaskuläre System im Krebs hochreguliert.

1. D.W. Müller und A-K. Bosserhoff, *Oncogene* **2008**, 27, 6698-6706.

2. S. Roush, F.J. Slack, *Trends in Cell Biol.* **2008**, 18, 505-516.

Zellen sind nicht isoliert, sondern binden an Proteine der **extrazellulären Matrix (ECM)**



**Integrine in
den Fokalen
Adhäsionen**

die ECM ist ein mechanisches Stütznetz aus Polysacchariden (gelb) und Faserproteinen (blau). Gelöste Proteine wie z.B. Wachstumsfaktoren (lila) ermöglichen die Kommunikation zwischen Zellen und matrixabbauenden Enzymen (schwarz) und modellieren die Matrix um

V.P. Shastri, A. Forget, Labor & More, 2014

Emil Fischer 1894: Das **Schlüssel-Schloss-Prinzip** zur Molekularen Erkennung



Emil Fischer

Schlüssel

Ligand

z.B. ein Arzneimittel

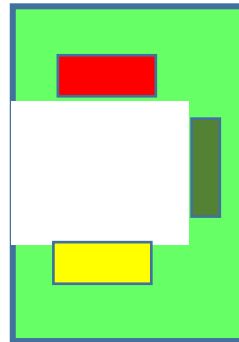


**ECM oder
kleine
Moleküle**

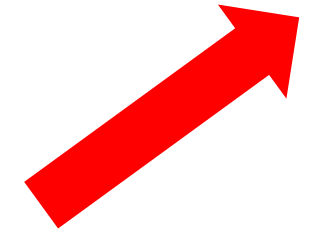
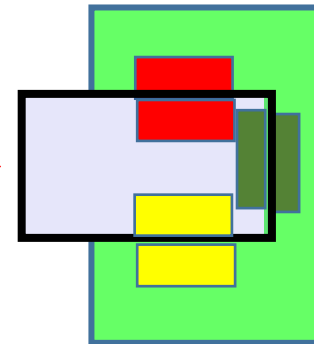
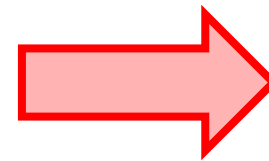
Schloss

Rezeptor

z.B. ein **Integrin**



Integrine



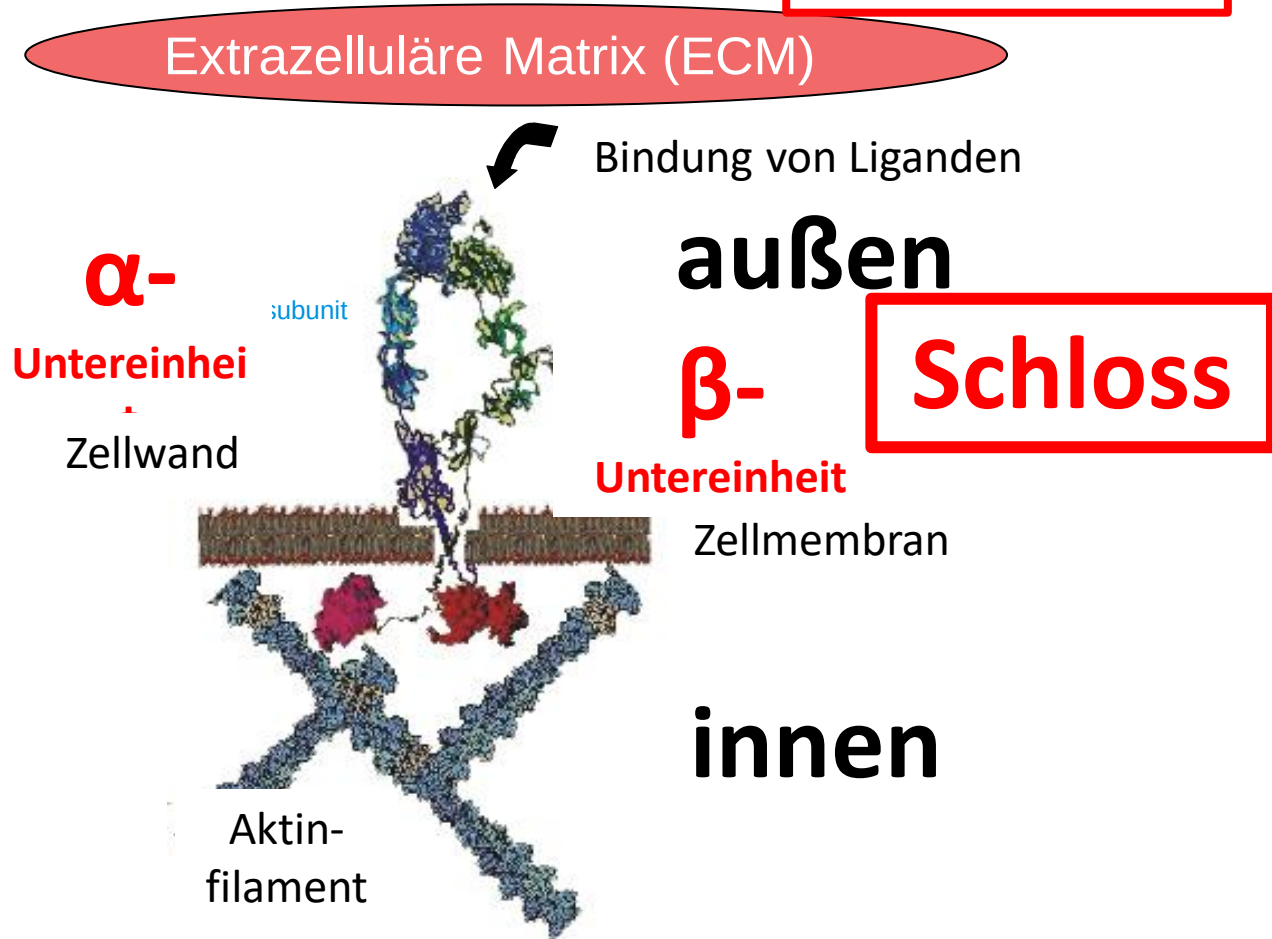
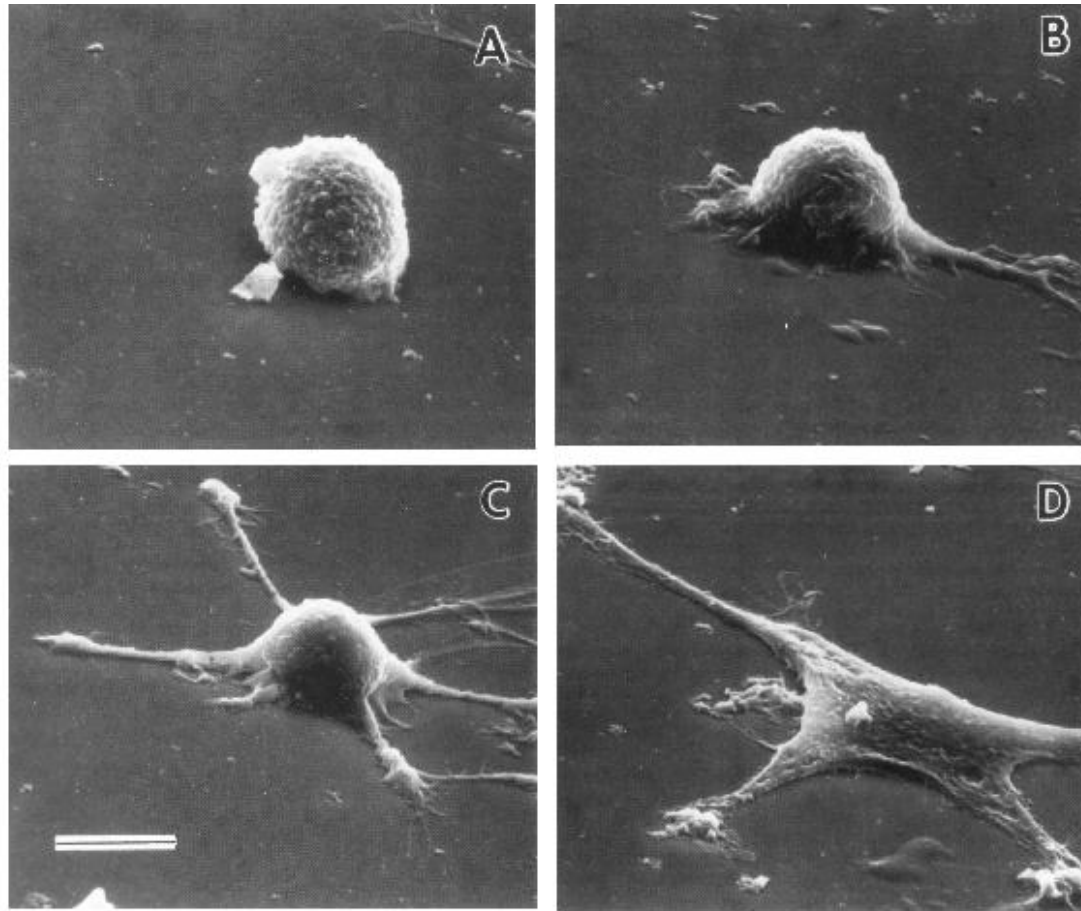
Signal

*Ich fühle mich
hier wohl !*

Die Zellen binden an andere Zellen oder an die „Extrazelluläre Matrix“. Sie sind dann gespreizt. Ohne diese Bindung gehen sie meist in die Apoptose.

Schlüssel

MC3T3 Osteoblasten Adhäsion



Die bindenden Moleküle sind die Integrine. Nachdem diese von der Natur „entdeckt“ wurden, haben sie sich weiterentwickelt

2013 trug ich bei WiTechWi über das „Geheimnis der Arachne“ vor. Das von uns gelüftete Geheimnis – wie schafft es die Spinne ein Protein zu speichern, ohne dass es verklumpt, dann aber in Sekundenbruchteilen einen Faden zu bilden, der 5 x fester als ein Stahlfaden gleicher Dicke ist – gilt für alle Webspinnen.

Wie ein DNA-Vergleich zeigt, ist das **Prinzip** in allen Webspinnen seit über 230 Millionen Jahren **erhalten**.

(seit ca. 245 Millionen Jahren gibt es Dinos).

Bei den Integrin-Rezeptoren der Zelladhäsion gibt es beim Menschen **24 verschiedenen Subtypen**, die chemisch verschiedene Adhäsionsmoleküle erkennen.



einige verschiedene Schlüssel



mit passenden Schlössern



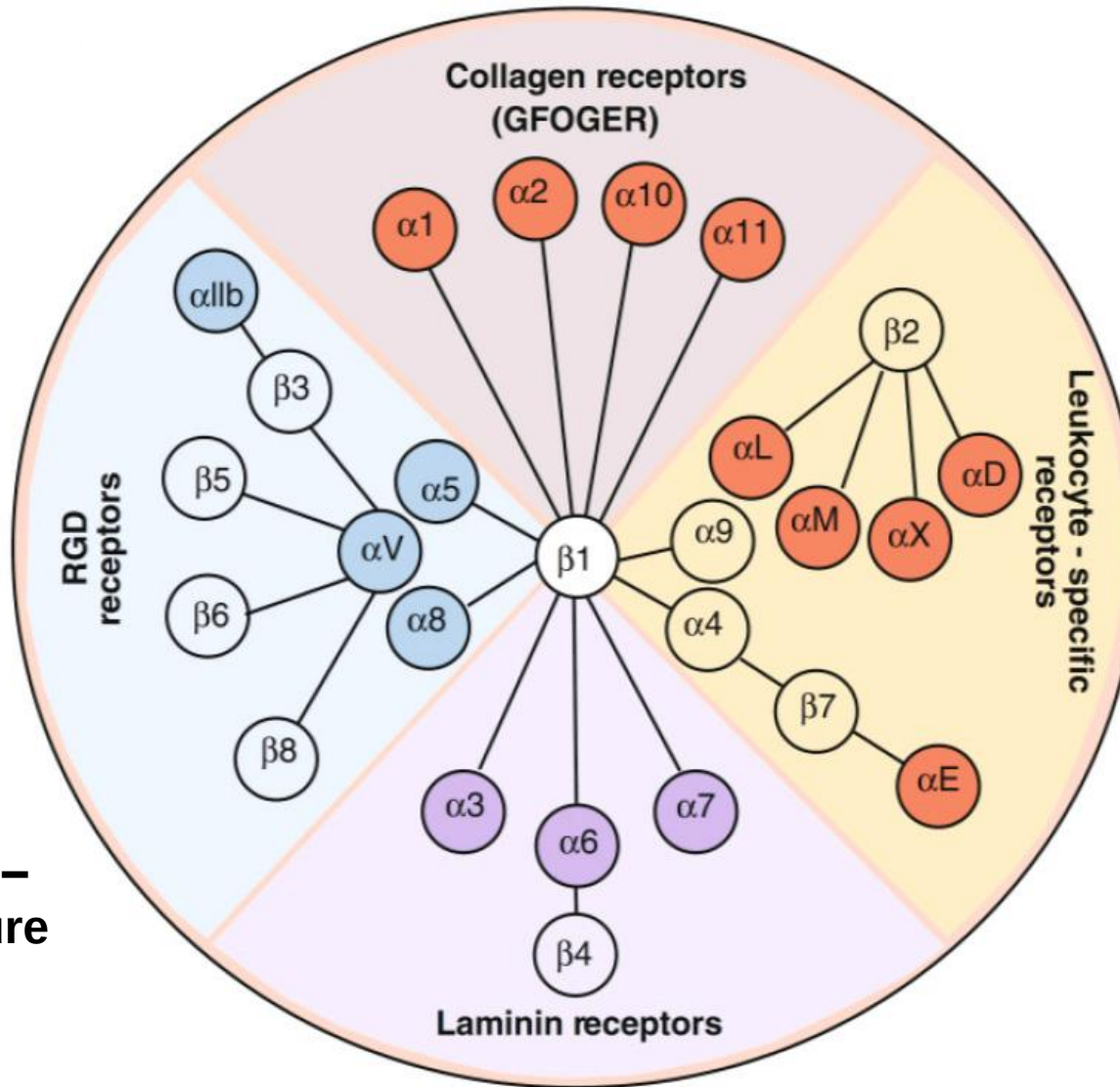
Schlüssel-Sub-Familie



24 verschiedene humane Integrin-Subtypen

Sie werden nach den an sie bindenden Molekülen klassifiziert.

Integrine, bidirektionale, allosterische Signal-Maschinen.



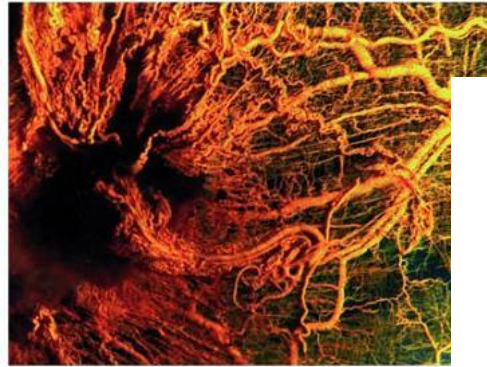
RGD =

steht für die drei Aminosäuren Arginin – Glycin . Asparaginsäure
= **Arg-Gly-Asp**

Die Funktion von Integrin-Subtypen in biologischen Prozessen

Angiogenese

$\alpha v \beta 3$



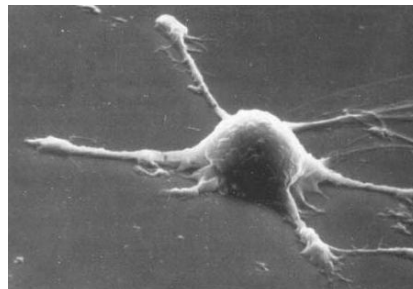
Embryogenese

$\alpha v \beta x$



Zelladhäsion

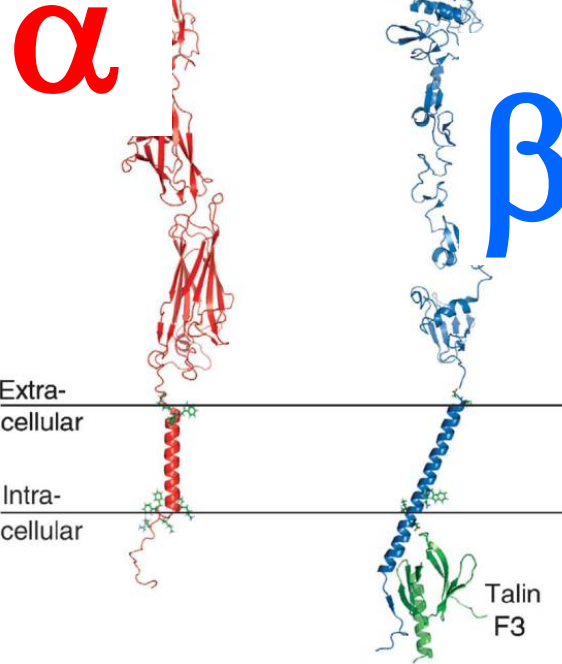
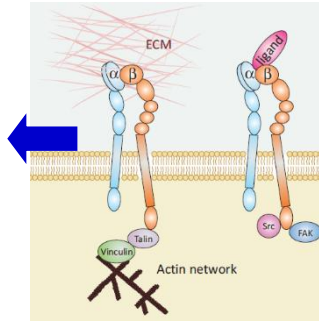
$\alpha v \beta 3$



Signalauslösung

Überleben und Proliferation

cell death (apoptosis)



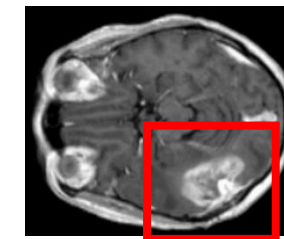
Blutgerinnung

$\alpha IIb \beta 3$



Krebs

$\alpha v \beta 6$

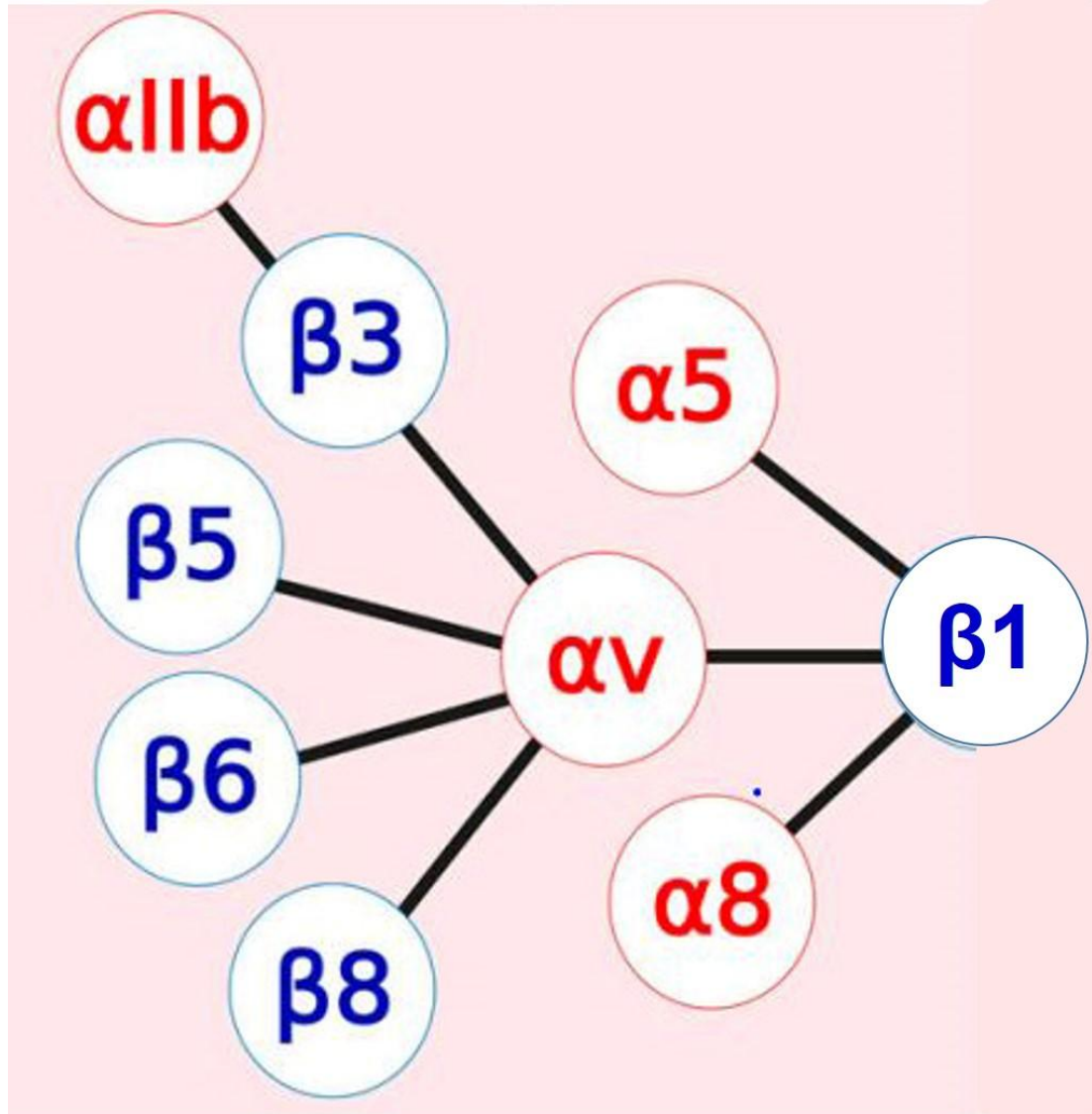


MRI glioblastom



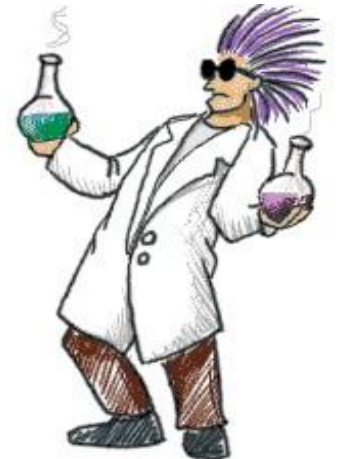
Tong-Lay et al. *EMBO J.* 2009, 28, 1351-1361

Die RGD-erkennende Integrin-Subfamilie (8 verschiedene)



Wahrscheinlich ist der Mechanismus der Erkennung für alle Glieder der Familie gleich

Wie erreicht man Selektivität?

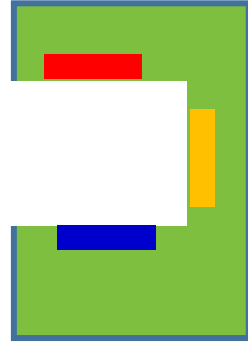


Emil Fischer 1894: Das **Schlüssel-Schloss-Prinzip** zur Molekularen Erkennung

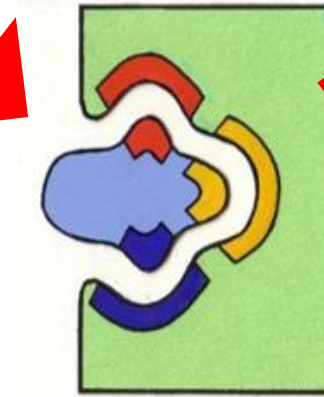
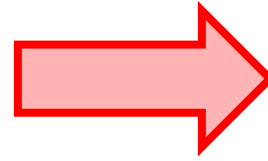
Schlüssel
Ligand
z.B. ein Arzneimittel



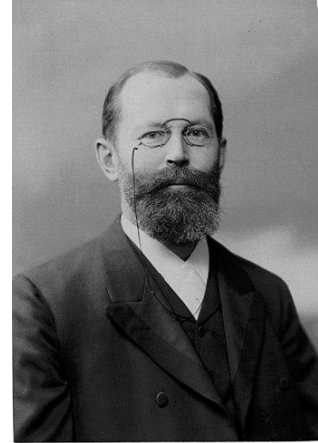
Schloss
Rezeptor
z.B. ein Integrin



???



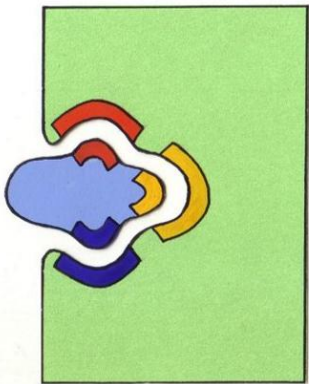
Signal



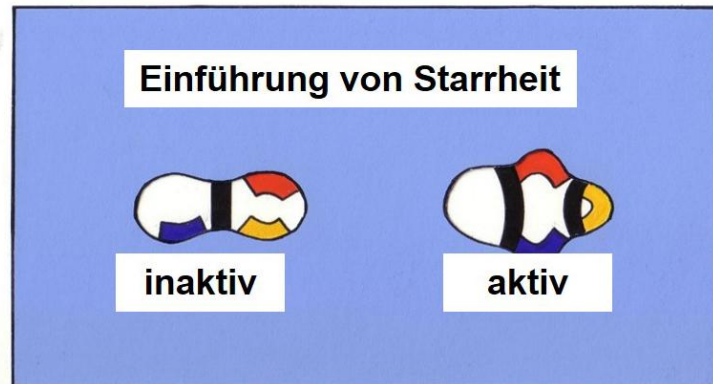
Emil Fischer

Die Bindung eines Liganden erzeugt Strukturänderungen am Rezeptor, die erkannt wird.
induzierte Anpassung. Durch Fixierung der Struktur kann man super-aktive Moleküle mit hoher Selektivität erreichen.

Komplex



Lösung

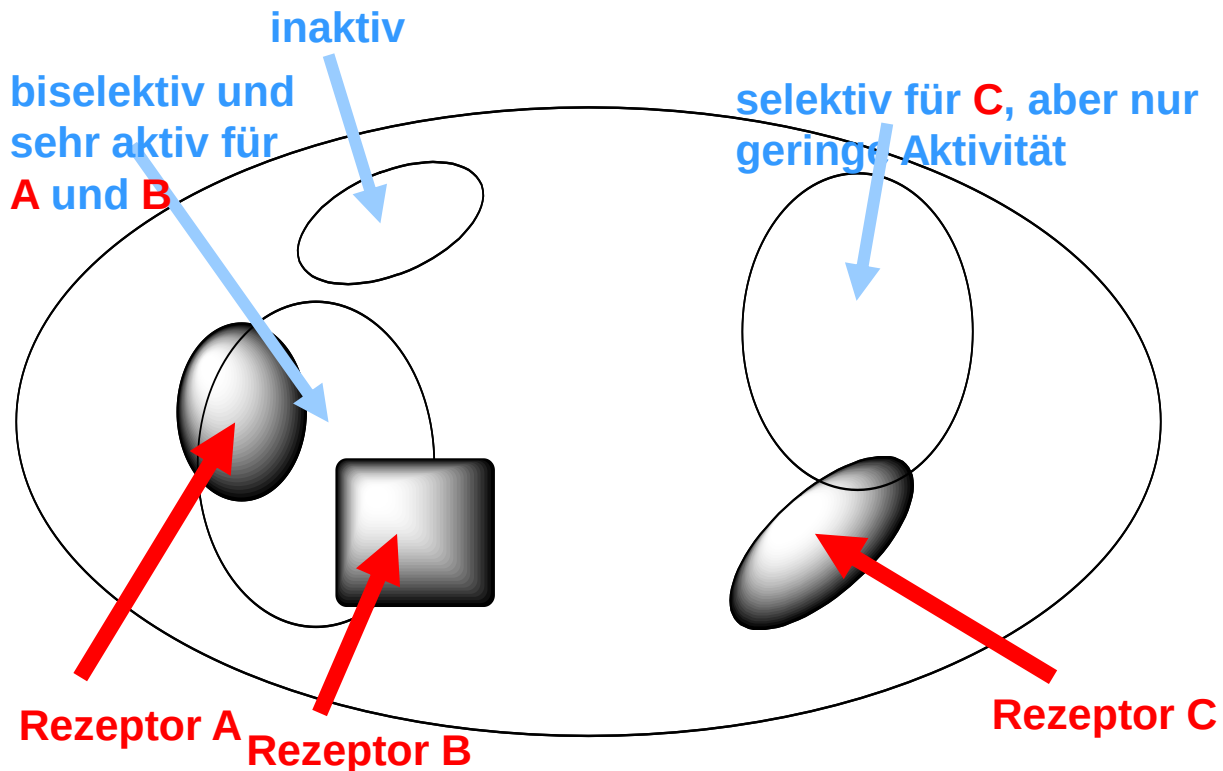


H. Kessler, 1982 Conformation and Biological Activity of Cyclic Peptides, 1500 Zitate

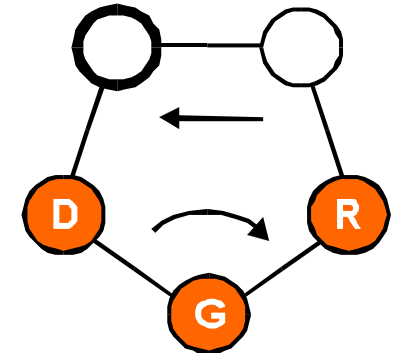
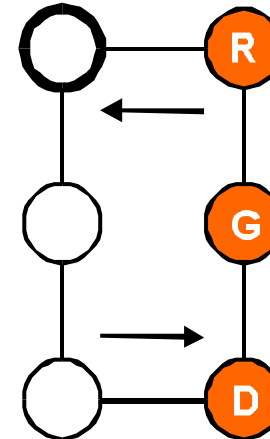
V. Hruby, 1982 Conformational restrictions of biologically active peptides, 725 Zitate

Konformationsraum für flexible und starre Liganden

Durch die Einschränkung der Raumgestalt, wird nicht mehr der gesamte Konformationsraum zugänglich



linear: flexible = nonselective



kinked: $\alpha v \beta 3$ -selective

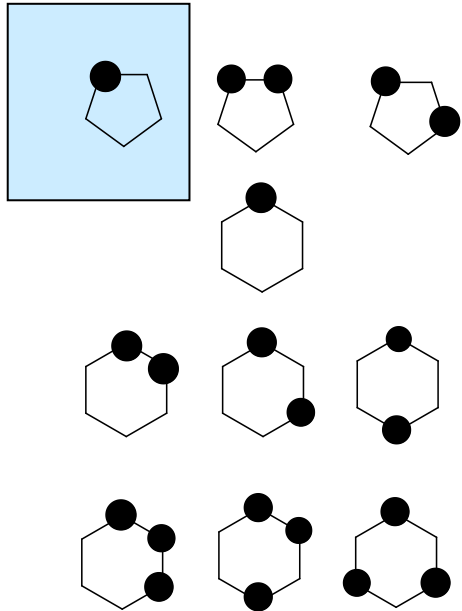
cyclic: rigid = selective

Durch Zyklisierung erreicht man im Idealfall hohe Selektivität und Super-Aktivität

Die Suche nach einer bevorzugten Konformation von cyclischen Peptiden

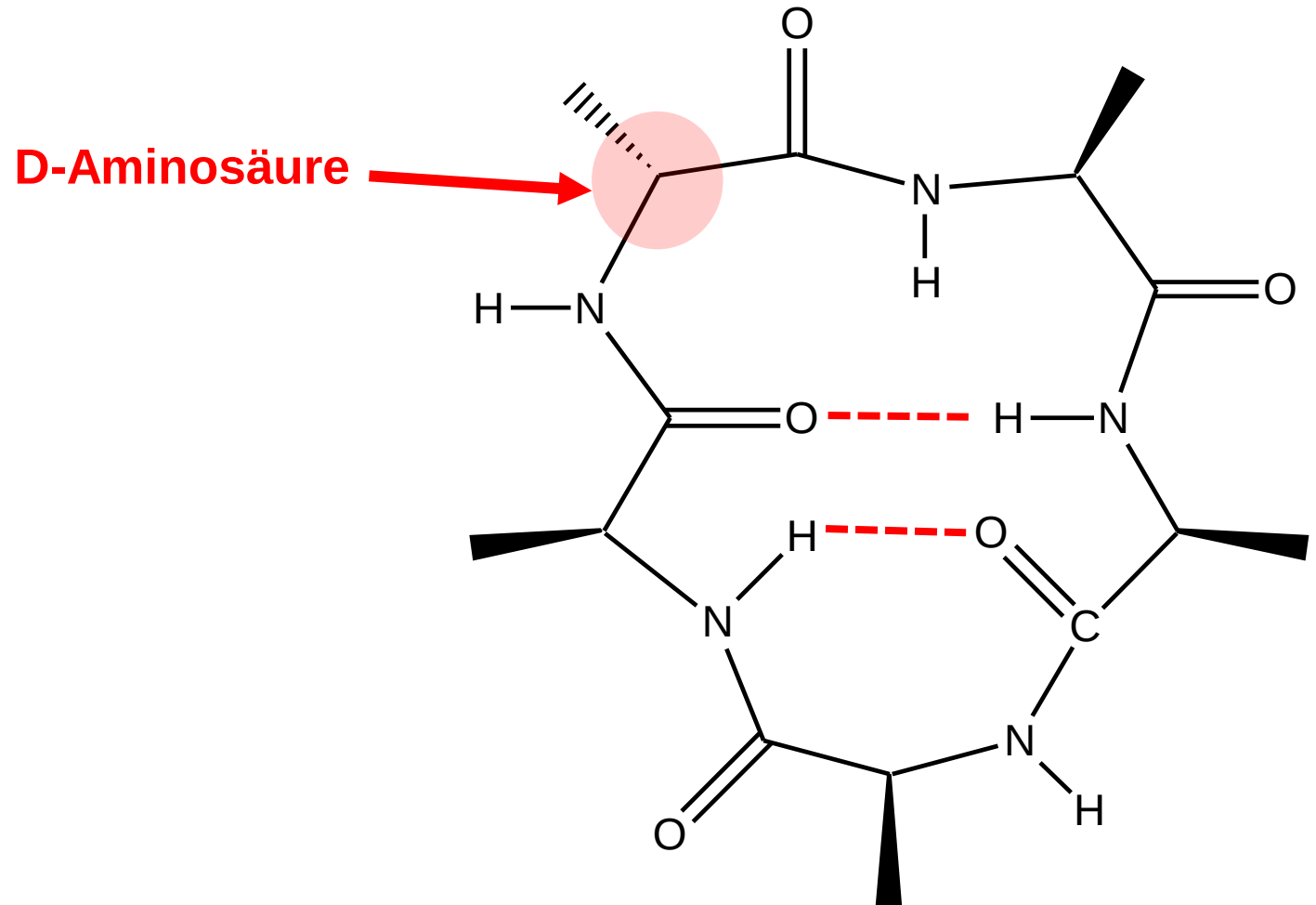
Penta- and Hexapeptide

eine gute Grundstruktur



jede Ecke ist
ein Alaninrest

● = D-Ala, Gly, D-Pro, L-Pro



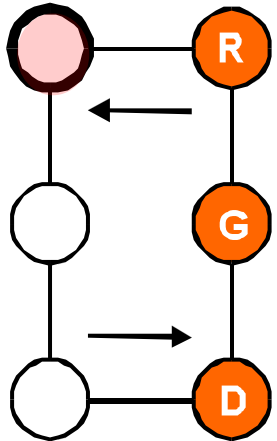
Selektivität cyclischer Peptide als Integrin Antagonisten

Räumliches Screening

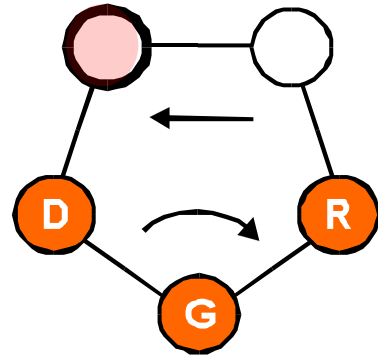
Lineare Referenzverbindung **RGDSPK**: 1.2 μmol



linear: flexibel = nicht selektiv



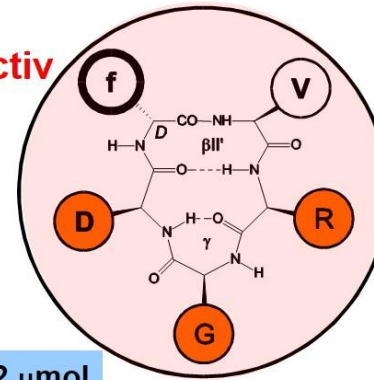
gestreckt: $\alpha\text{IIb}\beta 3$ -selektiv



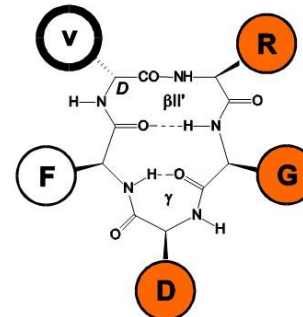
kinked: $\alpha\text{v}\beta 3$ -selectiv

cyclisch: rigid = selektiv

super-activ
selektiv



0.002 μmol

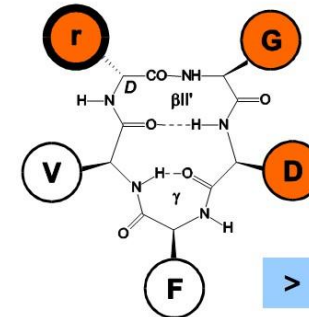


0.011 μmol

IC_{50} ($\alpha\text{IIb}\beta 3$) gegen
fibrinogen $> 10 \mu\text{mol}$

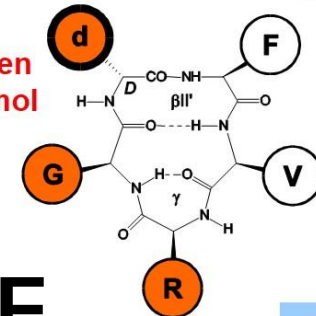
VRGDF

IC_{50} ($\alpha\text{v}\beta 3$) gegen
vitronectin

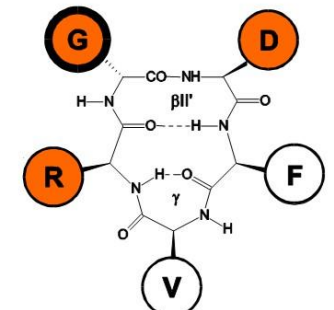


$> 10 \mu\text{mol}$

auch für
 $\alpha\text{IIb}\beta 3$

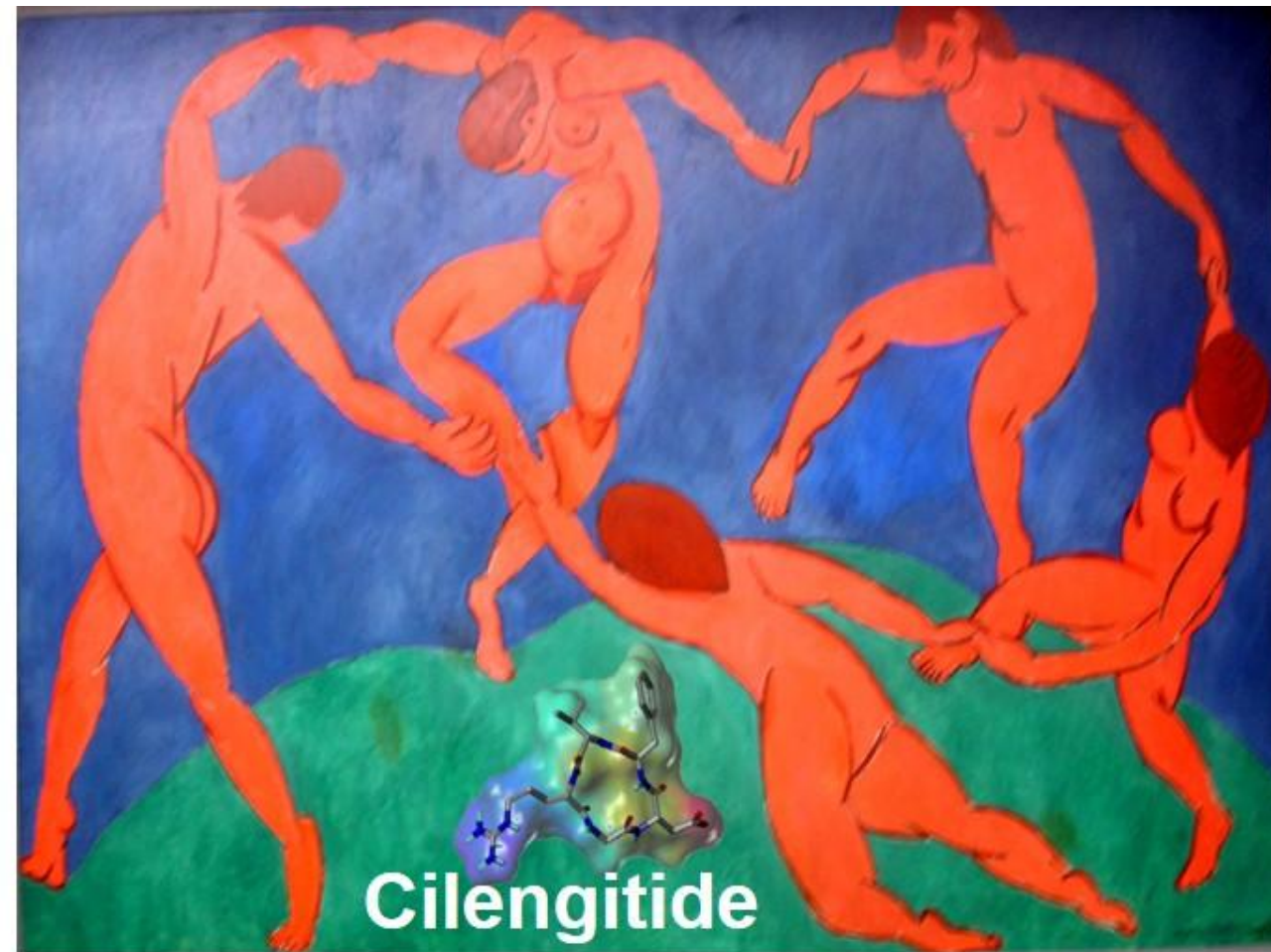
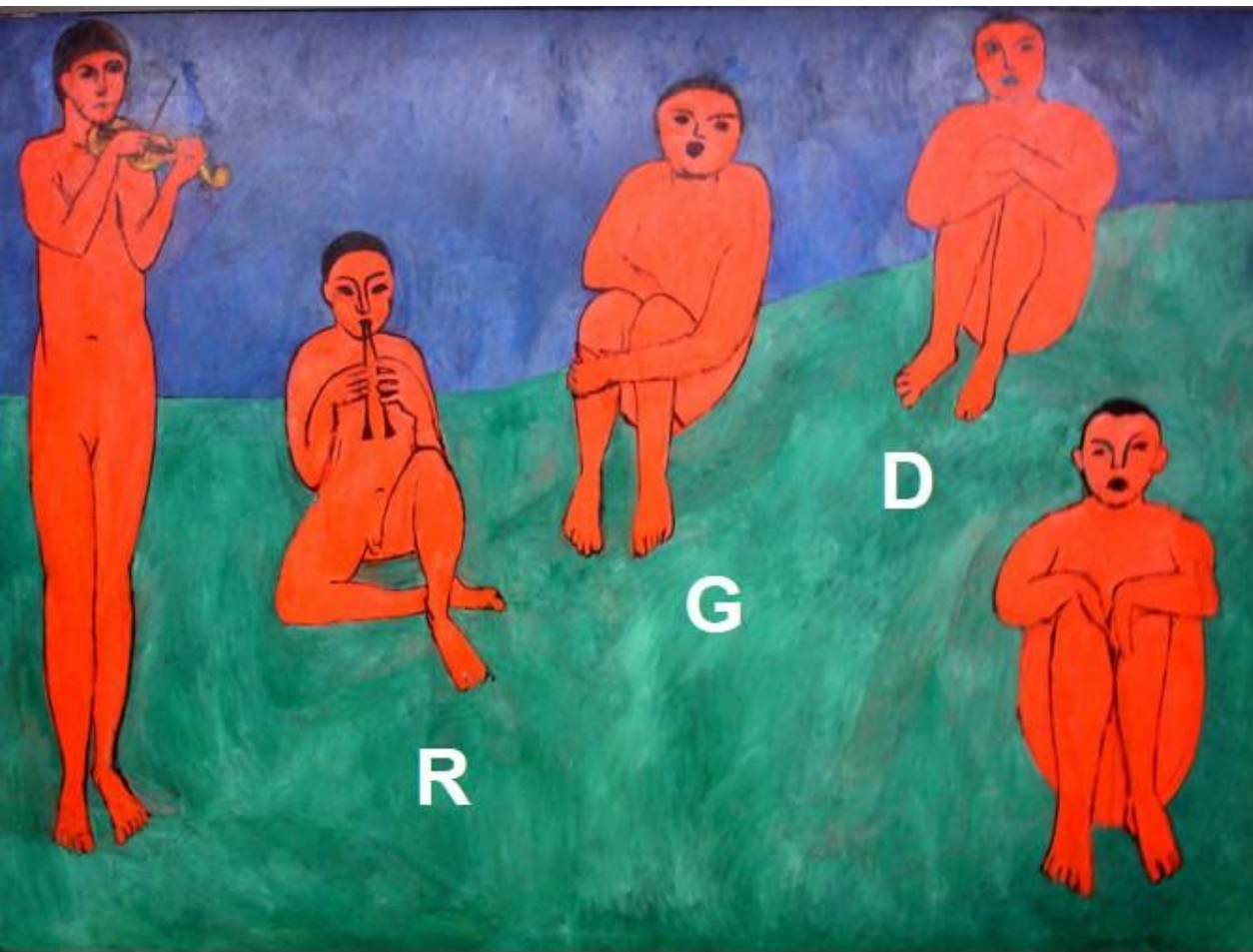


$> 10 \mu\text{mol}$



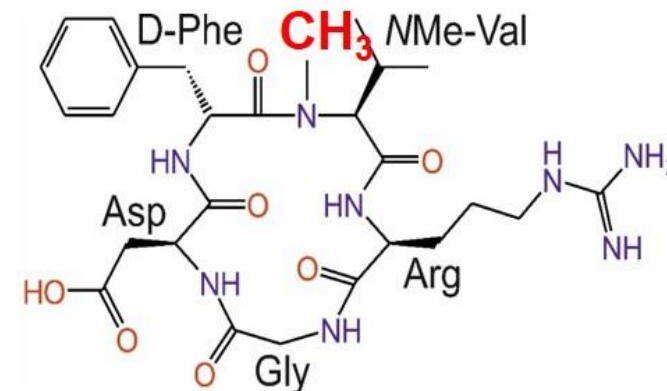
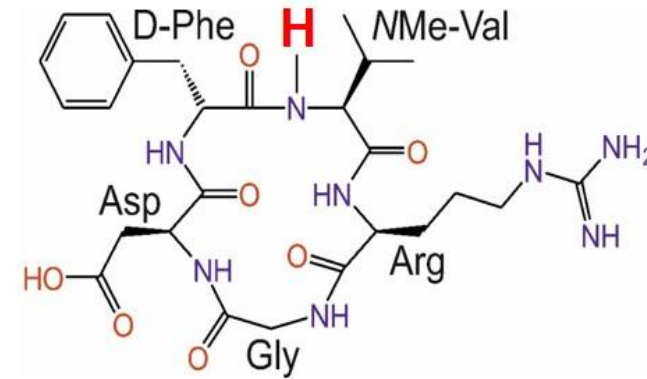
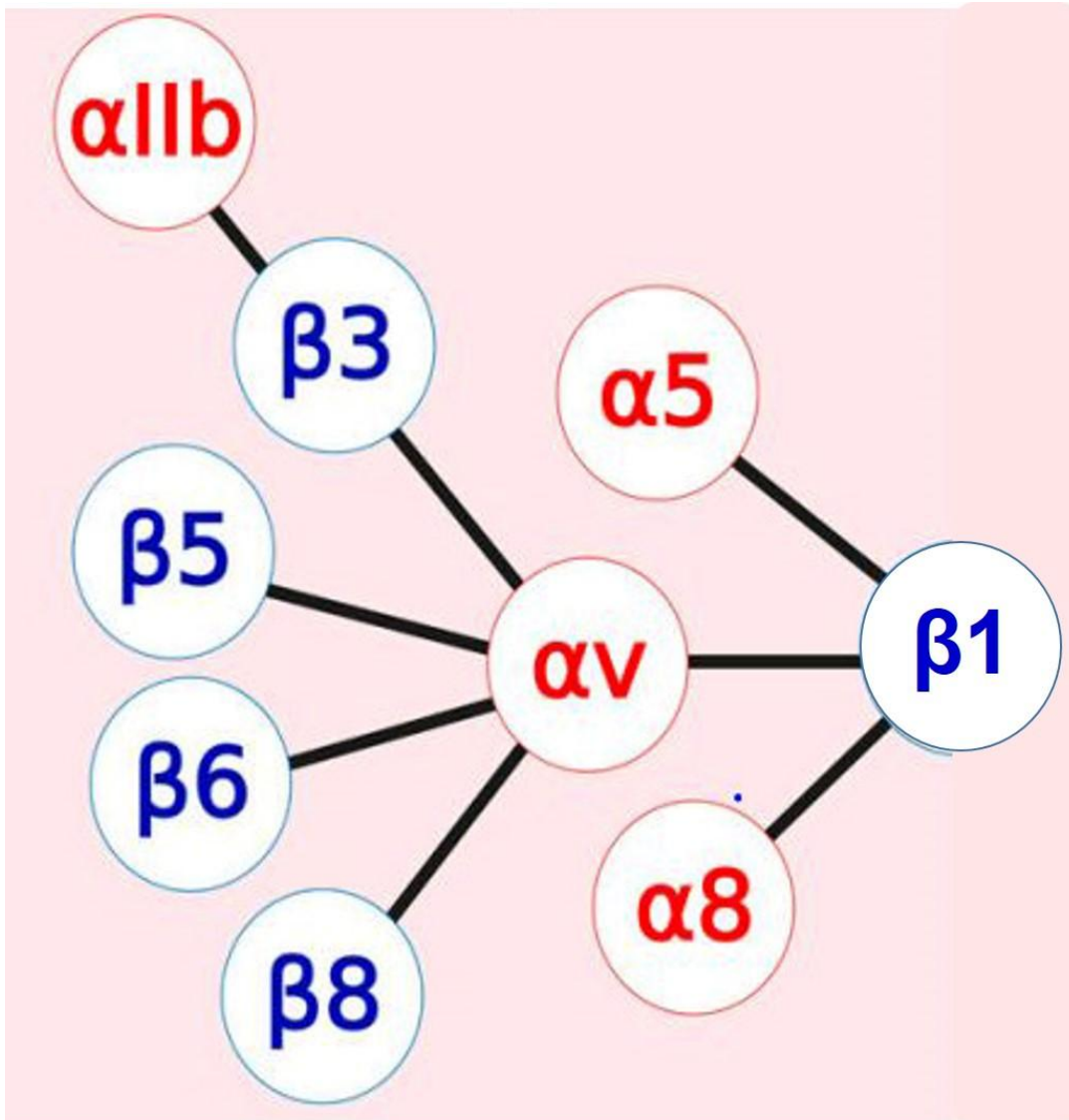
0.15 μmol

Henri Matisse, Eremitage, St. Petersburg



Es kommt nicht nur auf die Personen an, sondern auch auf deren Anordnung

Eine weitere (geringfügige) Verbesserung erreicht man durch eine N-Methylierung einer bestimmten Amidbindung



Cilengitide

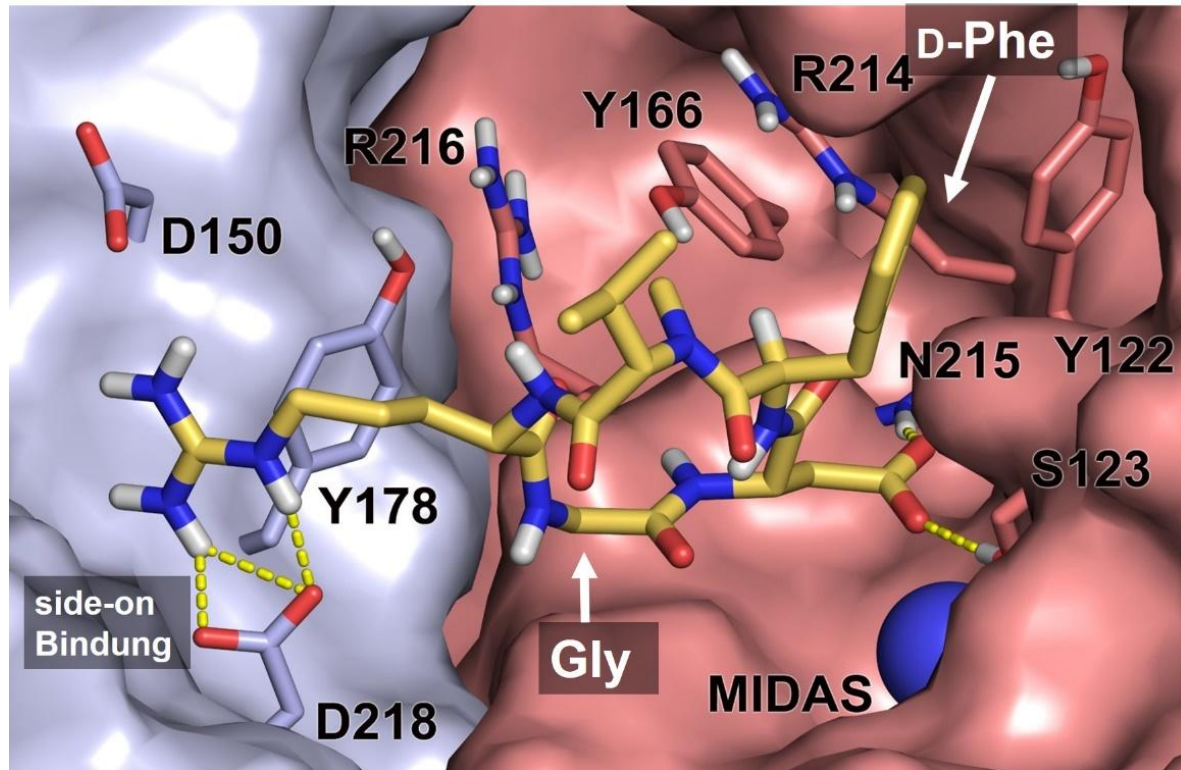


**Marion
Gurrath**



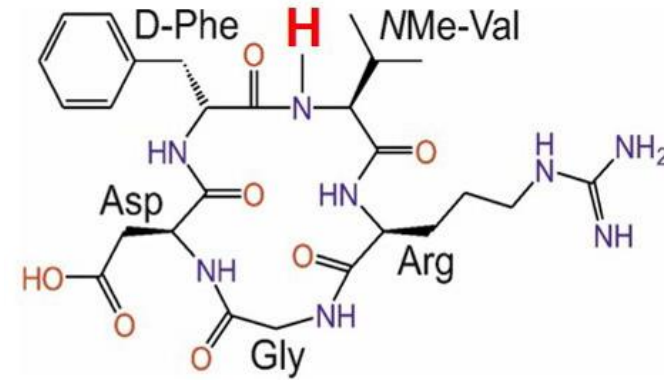
**Michael
Dechantsreiter**

Die später publizierte Röntgenstruktur der Kopfgruppe des Integrins $\alpha\beta 3$ mit unserem Cilengitide erklärt die Struktur-Wirkungs-Beziehungen und erlaubt nun „rationales“, d.h. Struktur-basiertes Design neuer Wirkstoffe.

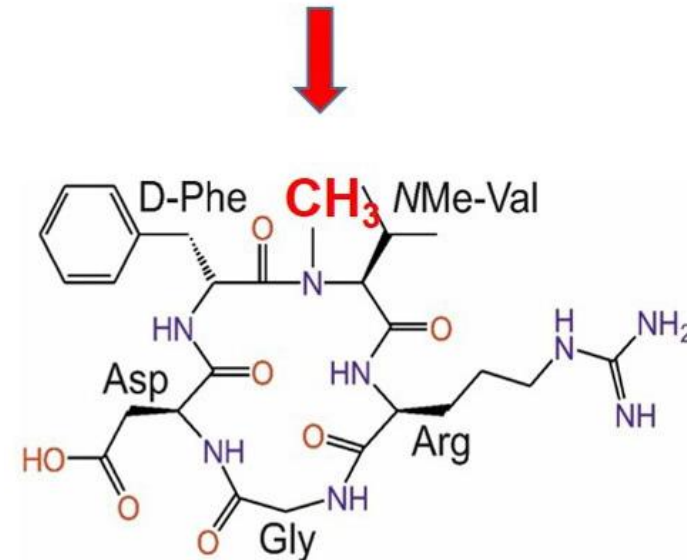


J.P. XiongM.A. Arnaout, *Science* **2002**, 296, 151–155.

M. Aumailley, M. Gurrath, G. Müller, J. Calvete, R. Timpl, H. Kessler; Arg-Gly-Asp constrained within cyclic pentapeptides: strong and selective inhibitors of cell adhesion to vitronectin and laminin fragment P1; *FEBS Lett.* **1991**, 291, 50-54



**Marion
Gurrath**

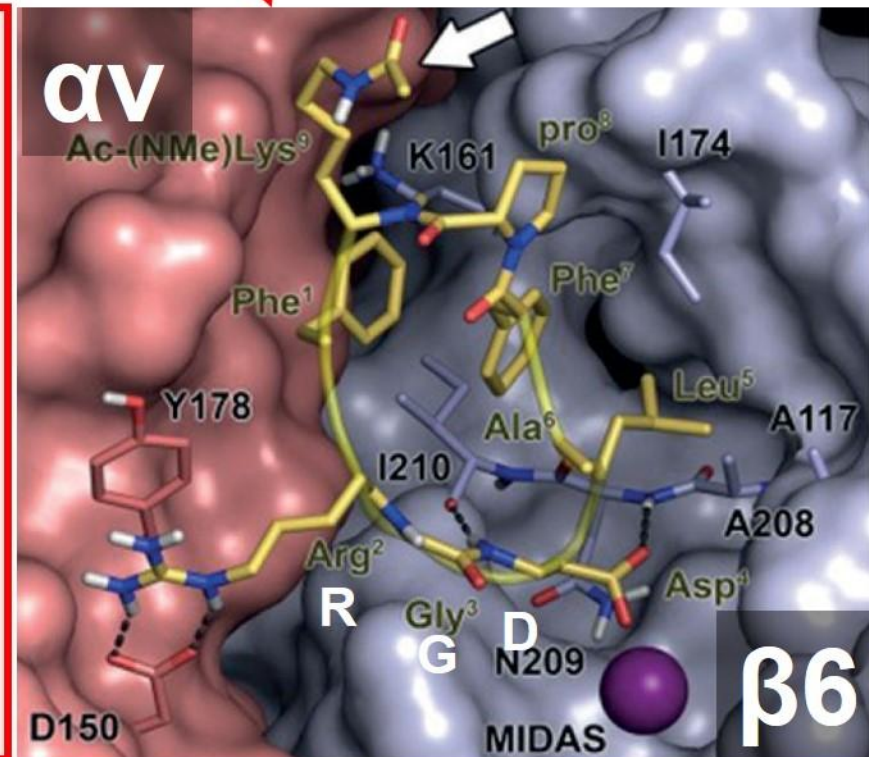
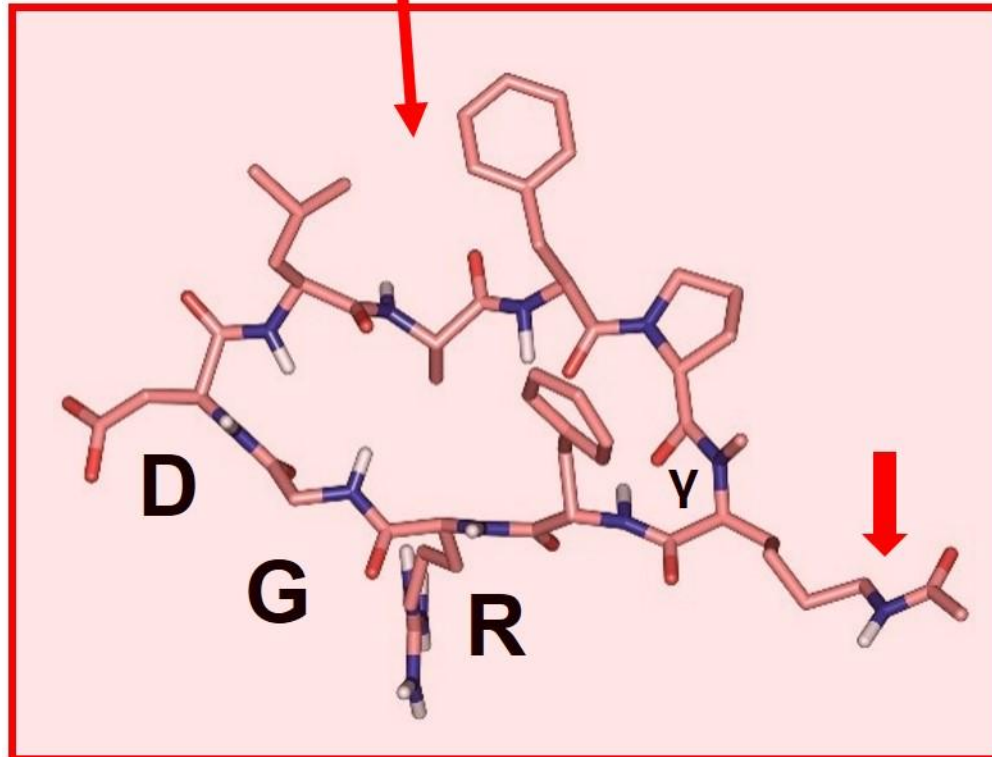


**Michael
Dechantsreiter**

Cilengitide

M. A. Dechantsreiter..... H. Kessler; *J. Med. Chem.* **1999**, 42, 3033-3040.

	$\alpha v \beta 3$	$\alpha v \beta 5$	$\alpha v \beta 6$	$\alpha v \beta 8$	$\alpha 5 \beta 1$	$\alpha IIb \beta 3$
c(RGD fV)	1.5	250	49	5200	200	>1000
Cilengitide	0.6	8.4	2050	2350	14.9	>1000
c(FRGD LAFp(NMe)K)	623 n.	>1000	0.26	23.6	72.9	>1000
c(GL RGD LpP)	>1000	>1000	210	0.93	>1000	>1000
c(phgisoDGR(Nme)k)	>1000	>1000	250	n.b.	2.9	>1000



unsere
Arbeit

$\alpha v \beta 3$

$\alpha 5 \beta 1$

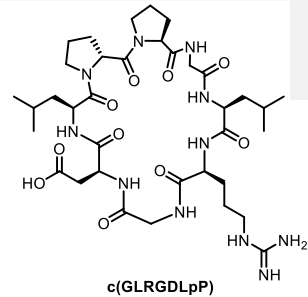
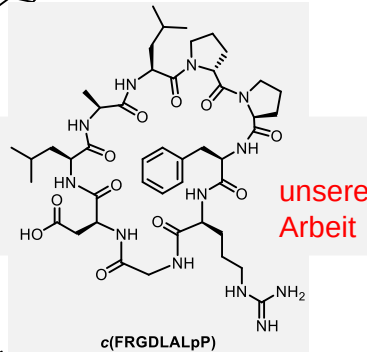
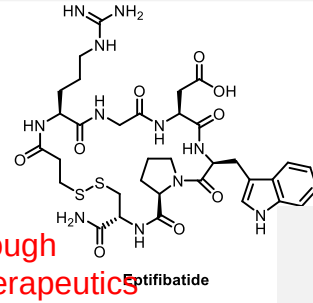
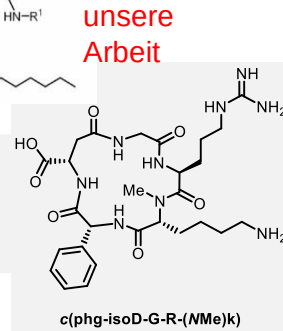
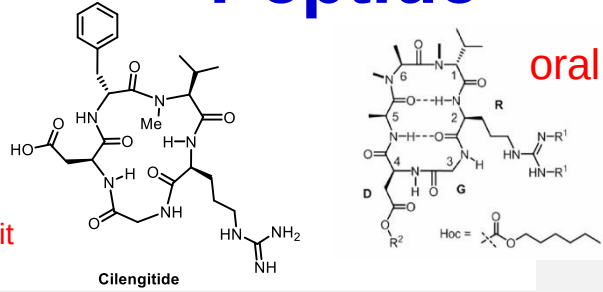
$\alpha IIb \beta 3$

$\alpha v \beta 6$

$\alpha v \beta 8$

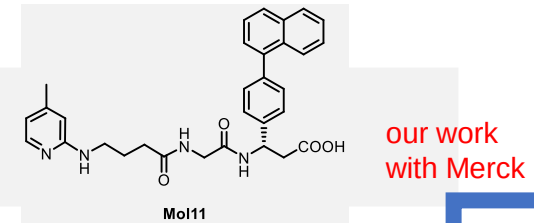
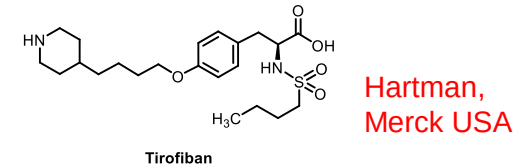
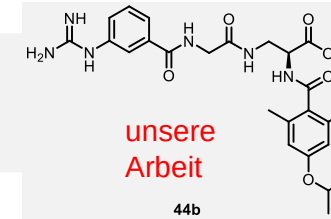
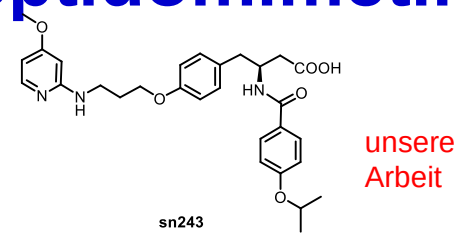
$\alpha v \beta 1$

Peptide

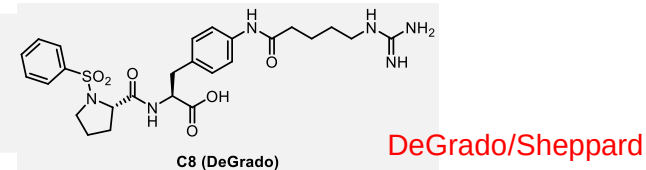


kein Peptid bekannt

Peptidomimetika

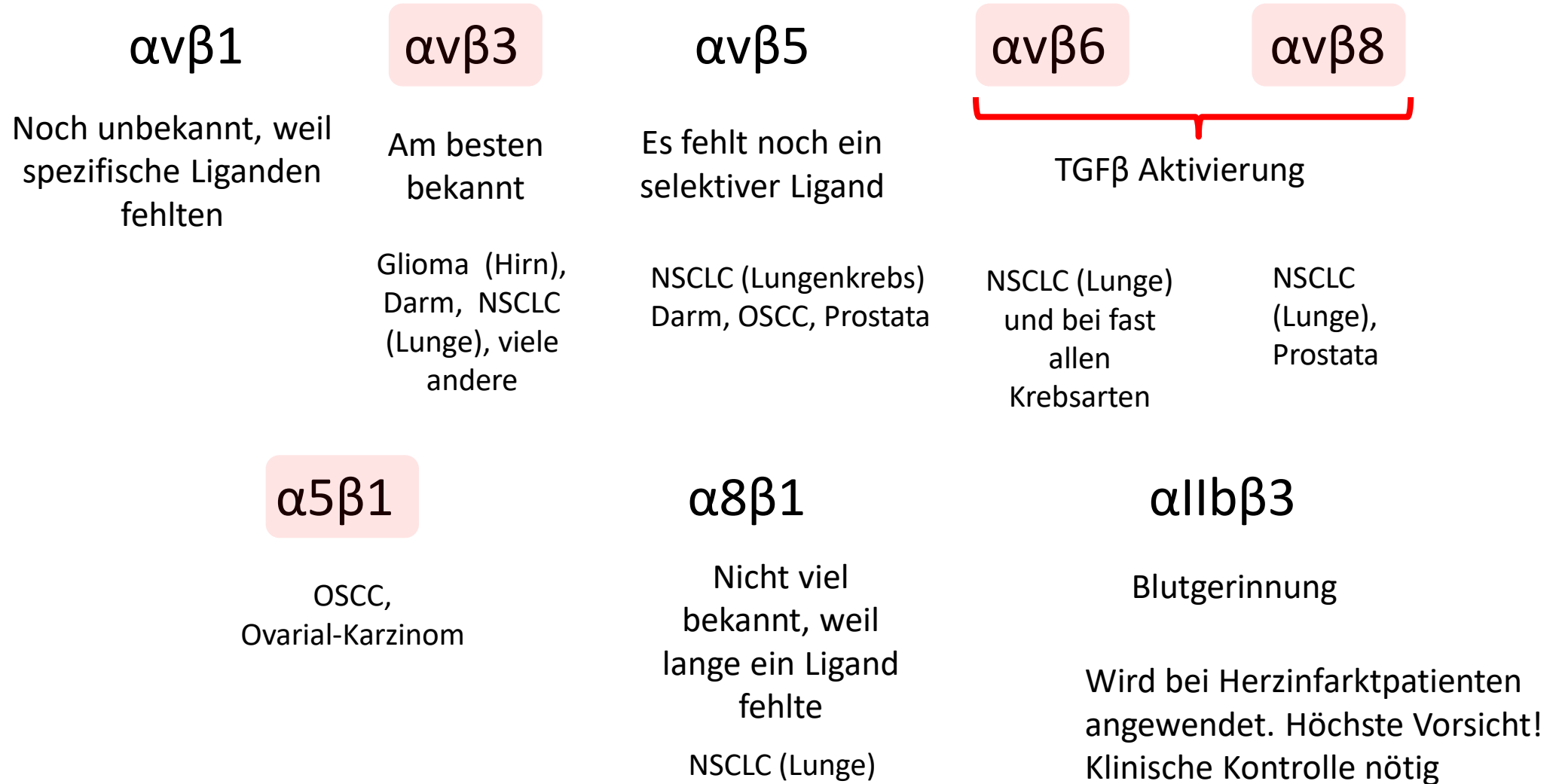


noch kein bekannt



Es gibt bisher
keinen
selektiven
Ligand für
 $\alpha v \beta 5$
 $\alpha 8 \beta 1$

Die 8 RGD erkennende Integrine sind in viele Krebsarten involviert



2015: Cilengitid ist in Phase III als Arzneimittel gegen Glioblastome gescheitert

Zwei Gründe:

1. **falsches Ziel:** Glioblastomazellen gehen nur mit dem Integrin-Subtyp $\alpha 5\beta 1$ in Apoptosen, nicht mit dem Integrin $\alpha v\beta 3$.^[1]

Es wurde auf ein falsches Integrin optimiert

Monique
Dontenwill
(Straßburg)



2. **Agonistischer Effekt bei niedriger Dosierung**
Aktivierung statt Inhibierung.^[2]

Niedrige Konzentrationen sind fast unvermeidbar

Warum das so ist, hat anfangs niemand verstanden

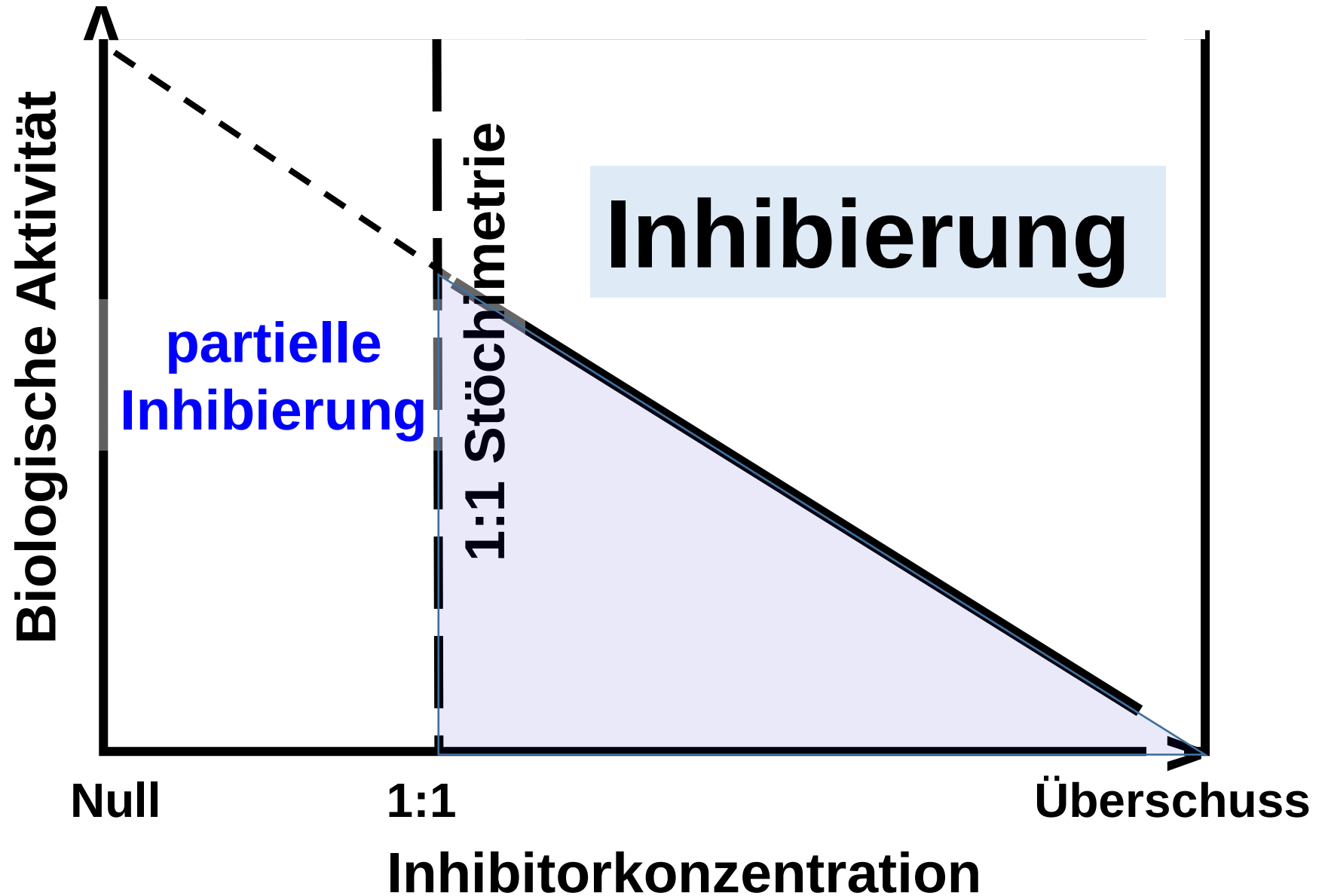
Kairbaan
Hodivala-Dilke
(London)



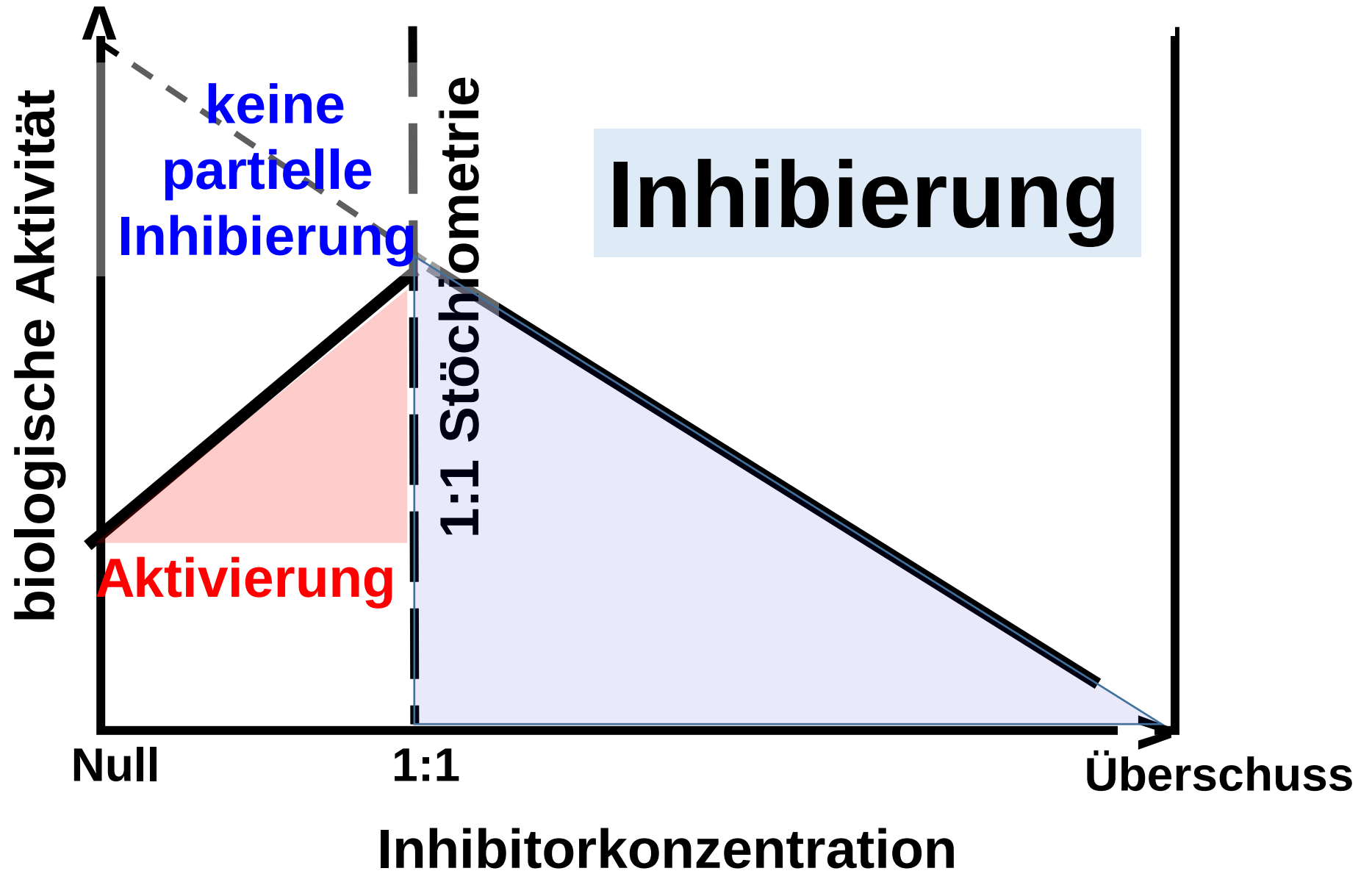
[1] G. Renner ... H. Kessler ... M. Dontenwill; *Cell Death and Differentiation*, **2015**, 23, 640-653.
doi:10.1038/cdd.2015.131.

[2] P.-P. Wong ... K. Hodivala-Dilke; *Cancer Cell* **2015**, 27, 123–137. doi.org/10.1016/j.ccell.2014.10.015, 2015

Inhibierung durch einen Inhibitor



bei den Integrinen ist das bei niedrigen Inhibitor-Konzentrationen anders:

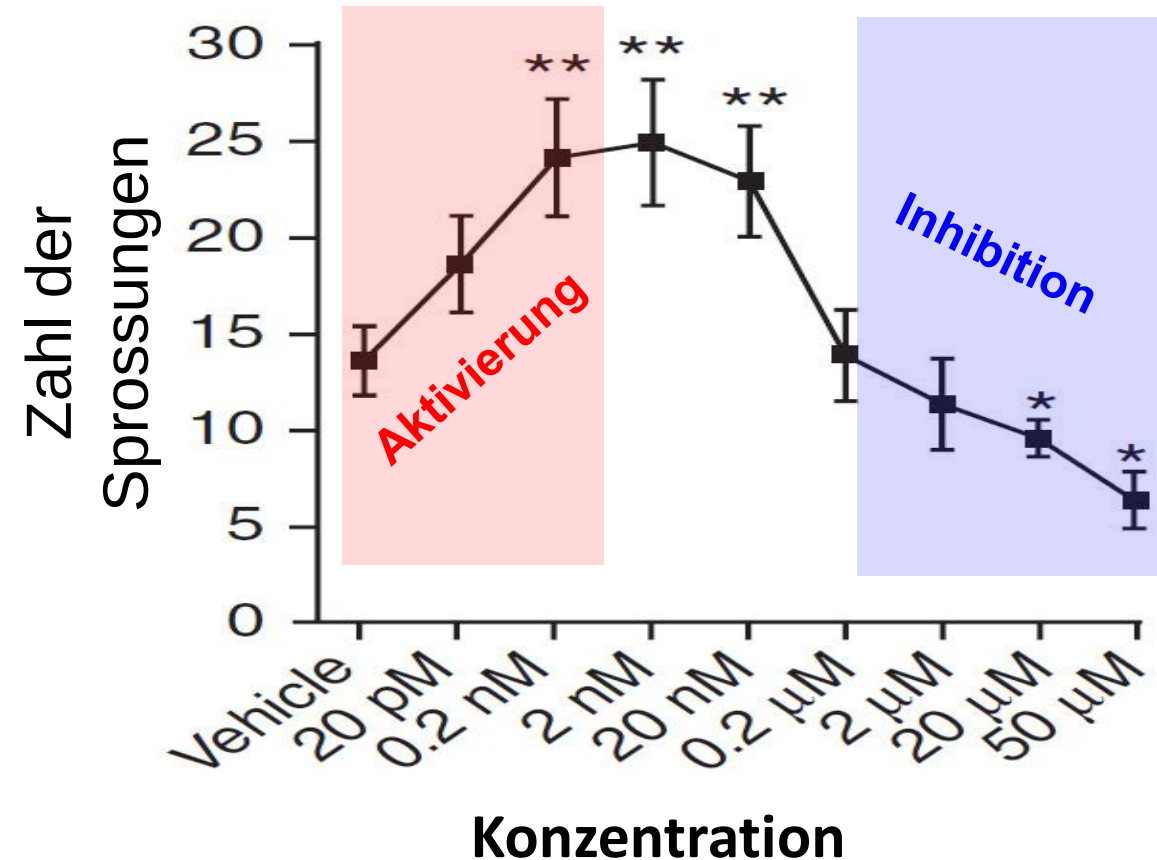


Experimenteller Beweis: niedrige Dosierung von Cilengitide aktiviert die Angiogenese und Tumorwachstum !!!

publiziert 2009.



Kairbaan
Hodivala-Dilke



Sprossung von
Rattenaortas durch
Aktivierung von $\alpha v \beta 3$

Glockenförmiges
Verhalten von
Cilengitid : quasi
zwei „verschiedene
Rezeptoren“:

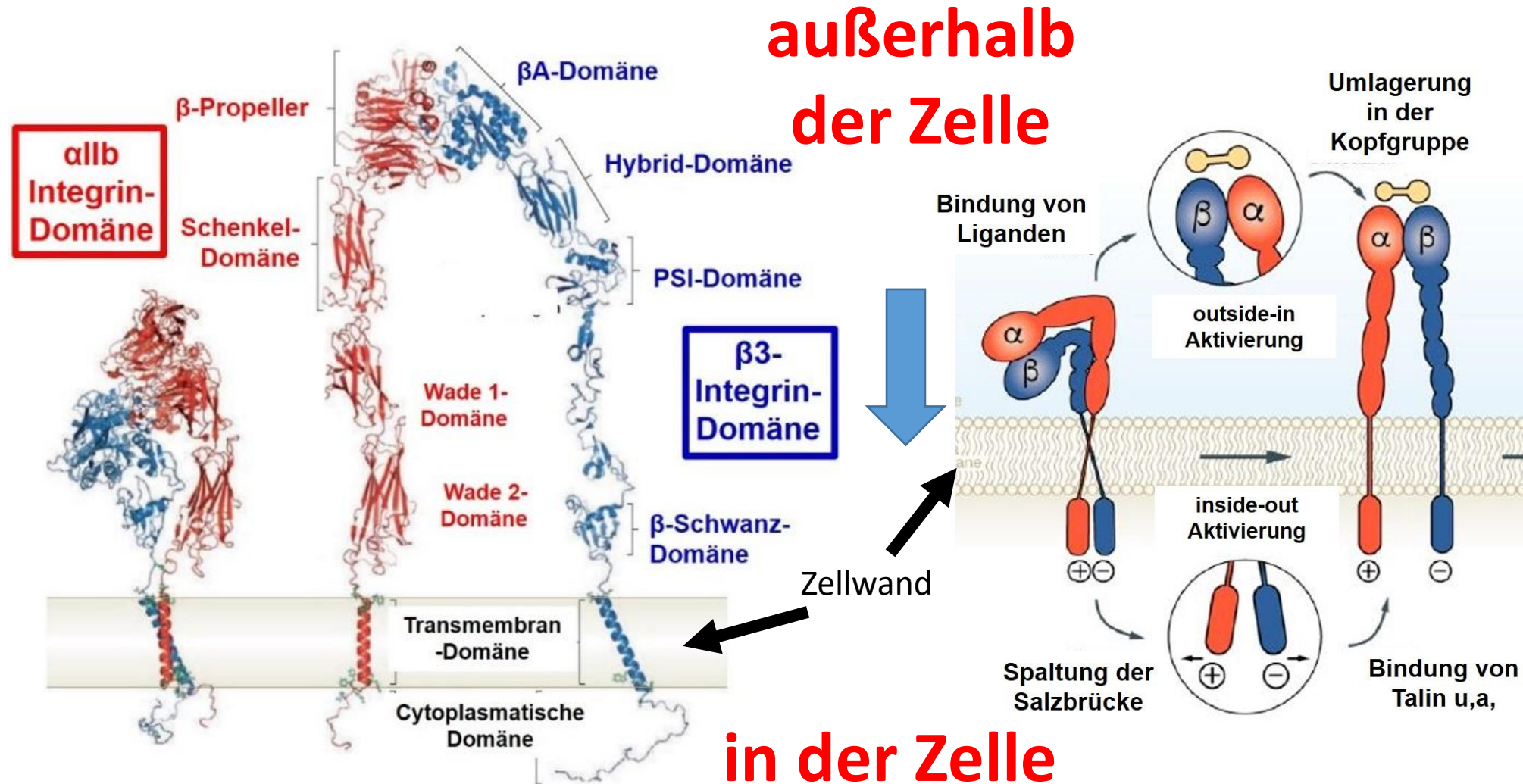
a) Geringe Dosis
Aktivierung

b) Hohe Dosis
inhibiert

Man dachte dass die
multivalente Bindung
die Ursache dafür ist.
Das ist aber nicht
(ganz) richtig.

Zum Mechanismus der Integrinaktivierung

Integrine sind bidirektionale Rezeptoren auf den Zelloberflächen, die über andere Moleküle außerhalb auf Zelloberflächen sitzend, oder meist auf der **Extrazellulären Matrix** zu finden sind, erkennen, und darauf die Zelle zur Reaktion anregen.



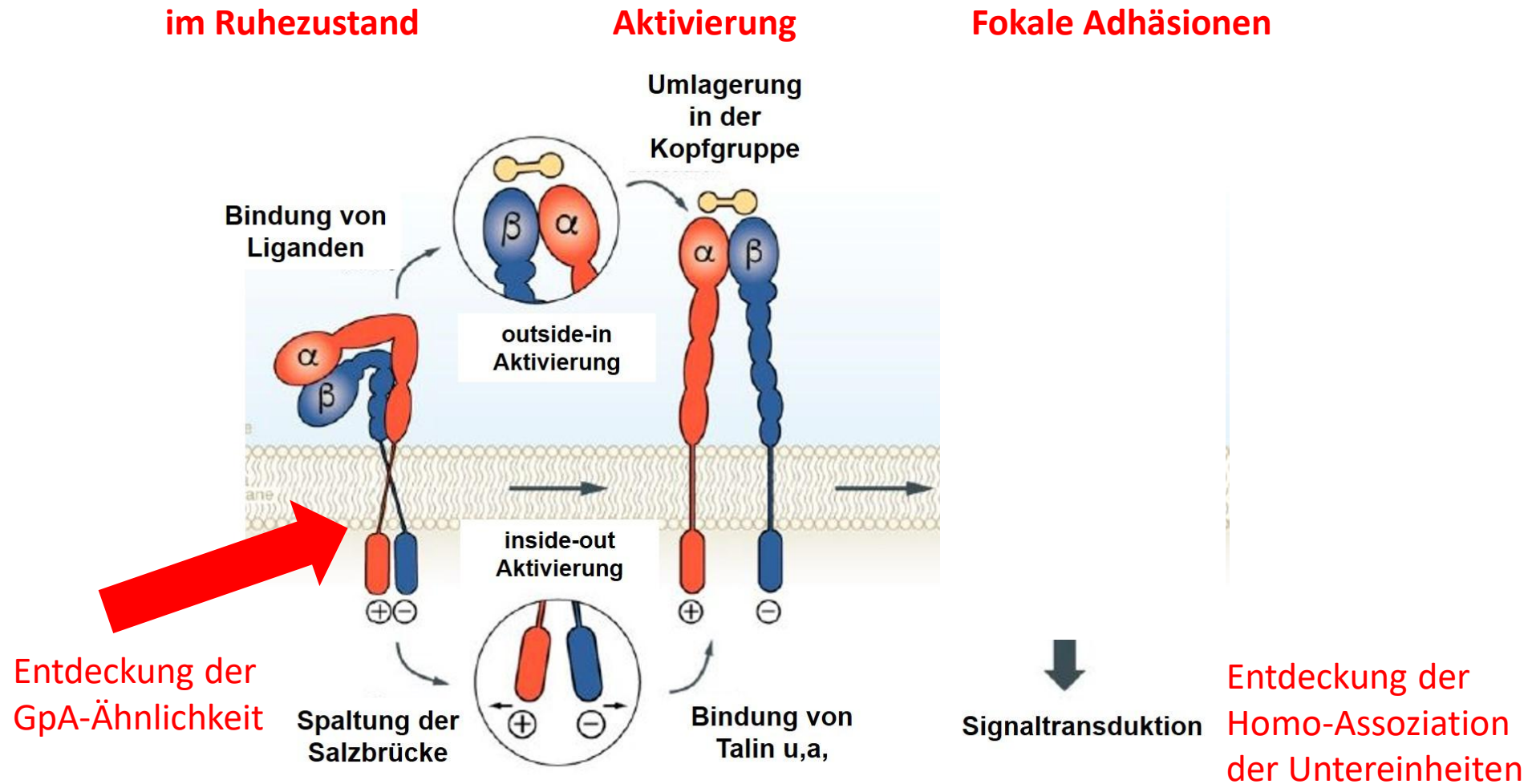
Mit der Dissoziation der heterodimeren wird die Signaltransduktion schon erklärt. Darum hat niemand diskutiert, was weiter geschieht: Die Homo-assoziation und Zusammenlagerung

Wir interessieren uns für das Problem: wie wird die Nachricht, dass ein Molekül außen an das Integrin bindet, durch die Zellmembran in das Innere der Zelle geleitet wird.



Kay Gottschalk

jetzt Professor in Ulm



K. E. Gottschalk....H. Kessler; *Protein Science* **2002**, *11*, 1800-1812; K.-E. Gottschalk, H. Kessler; *FEBS Lett.* **2004**, *557*, 253-258. K.E. Gottschalk, *Structure* **2005**, *13*, 703-712.

Integrine haben eine Glycophorin-ähnliche Sequence **GXXXG** in der transmembranen Helix

Starke Tendenz zur Dimerisierung

GpA ...**G**VMAG...

Mäßige Tendenz zur Dimerisierung

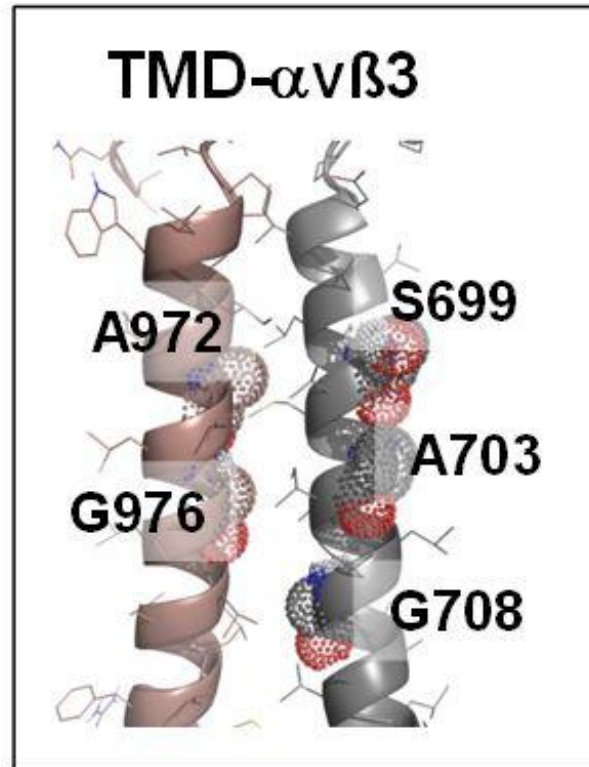
α v ...AVLAG...
 β 3 ...SVMGA...

Keine Tendenz zur Dimerisierung

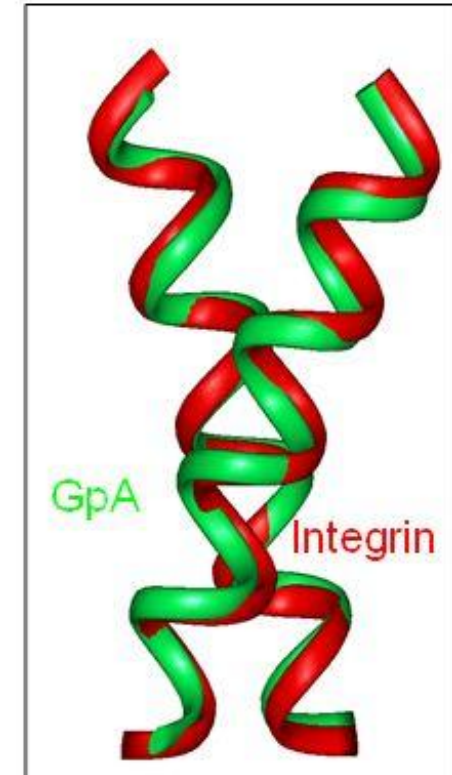
GpA mod ...**G**VMAl...

Die große Seitenkette von Isoleucin (I)
verhindert die Heterodimerisierung

α



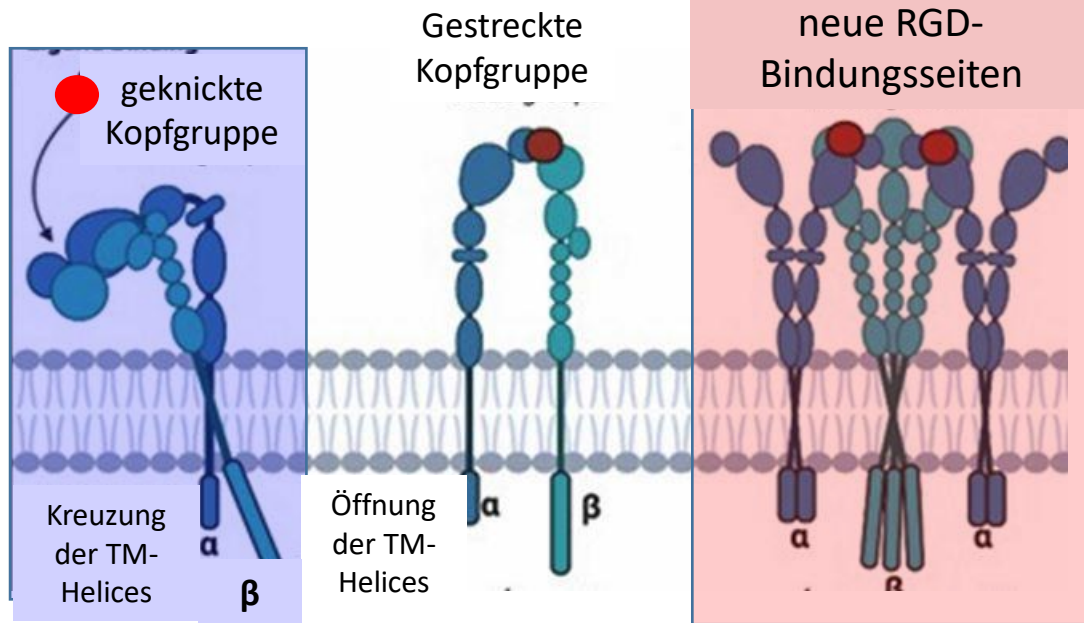
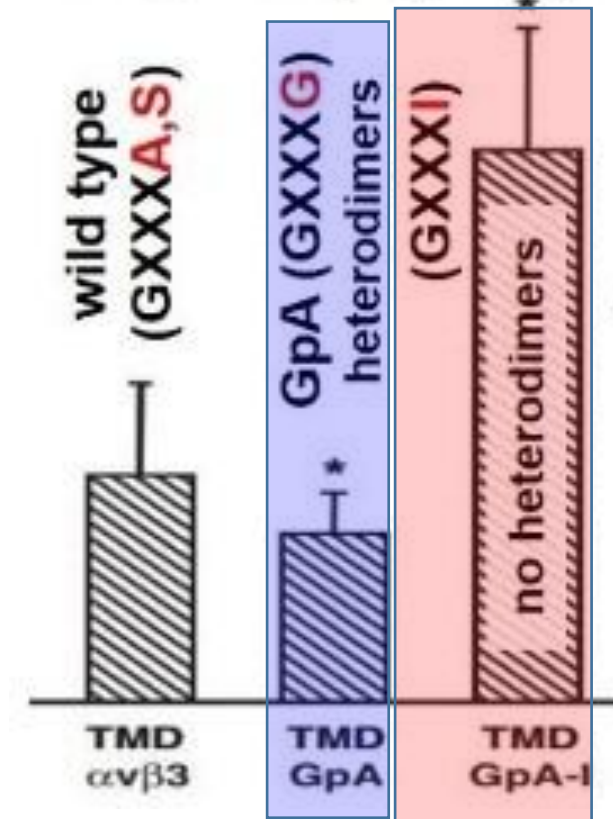
β



K. E. Gottschalk, P. D. Adams, A. T. Brunger, H. Kessler; Transmembrane signal transduction of the $\alpha_{IIB}\beta_3$ integrin; *Protein Science* **2002**, 11, 1800-1812; K.-E. Gottschalk, H. Kessler; Evidence for hetero-association of transmembrane helices of integrins; *FEBS Lett.* **2004**, 557, 253-258.

Testung der Chimären zwischen Integrin und Glykophorin A (GpA)

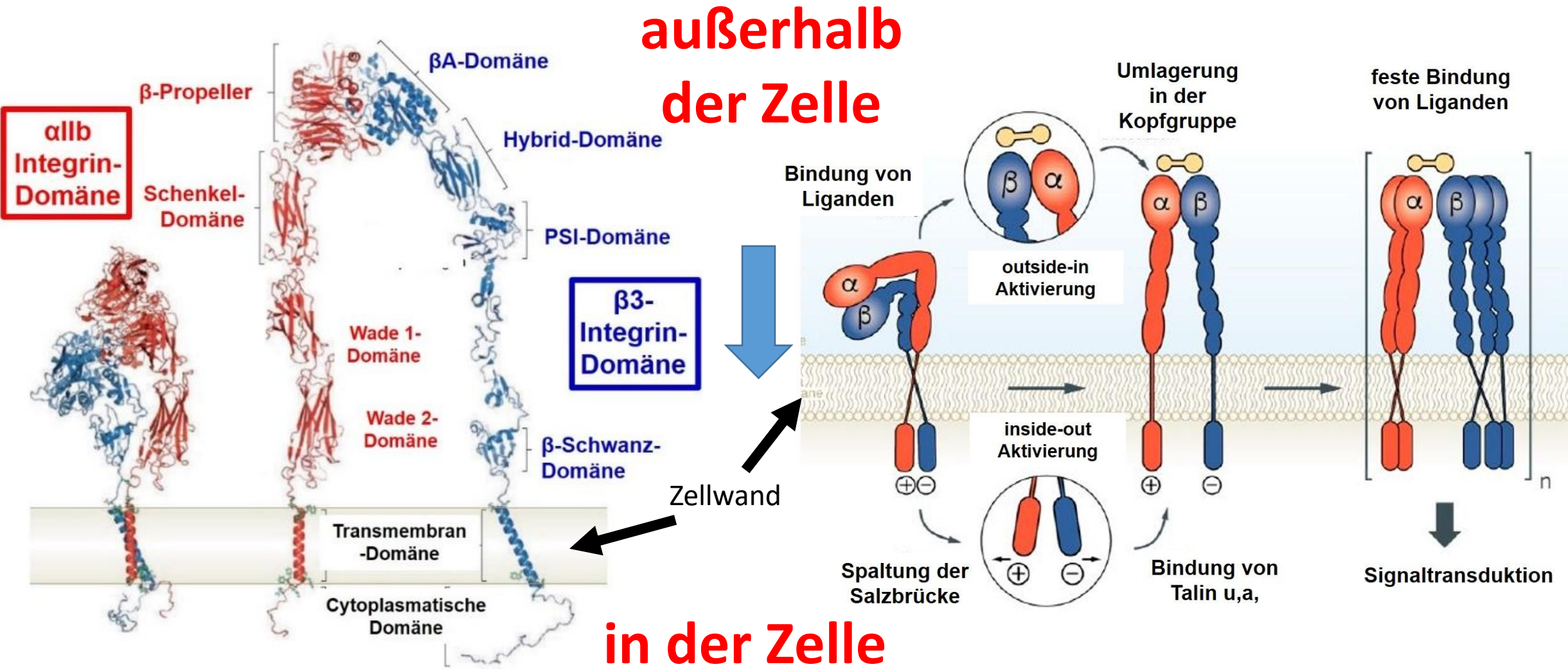
Bindung von
cRGDfK(Cy5.5)



Integrinvariante	Effekt	Bindung von RGD	Migrationsaktivität	FAK-Expression
GpA	Keine Dissoziation der Heterodimeren	schwächer	sehr schwach	etwas schwächer
GpA mit G->I Isoleucin	Erlaubt keine Assoziation der Heterodimeren	stärker	angestiegen	stark angestiegen

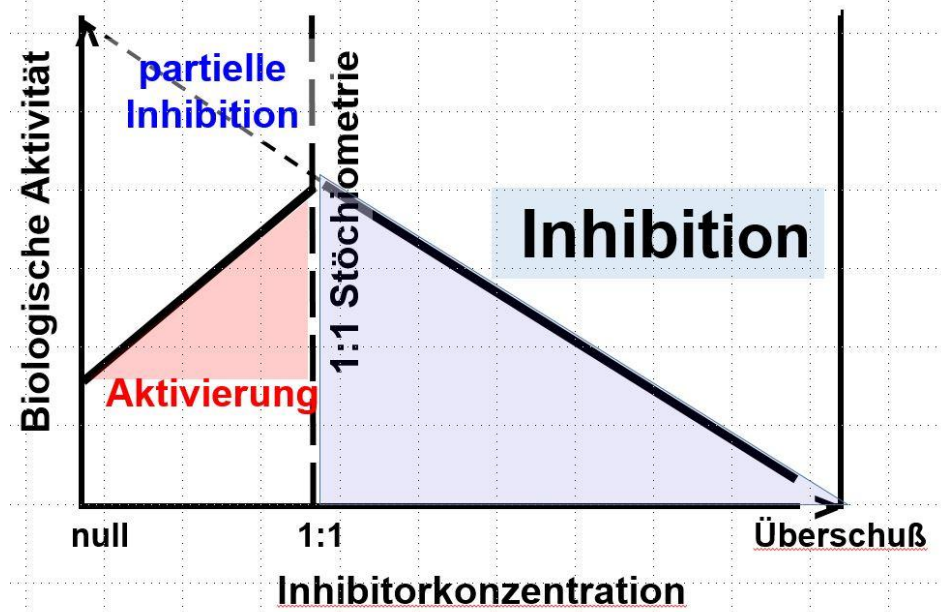
Verhinderung der Bildung der Heterodimerisierung führt zu konstitutiv-aktivierten Integrinen (Expression der fokalen Adhäsions-Kinase FAK)

Integrine sind bidirektionale Rezeptoren auf den Zelloberflächen, die über andere Moleküle außerhalb auf Zelloberflächen sitzend, oder meist auf der **Extrazellulären Matrix** zu finden sind, erkennen, und darauf die Zelle zur Reaktion anregen.

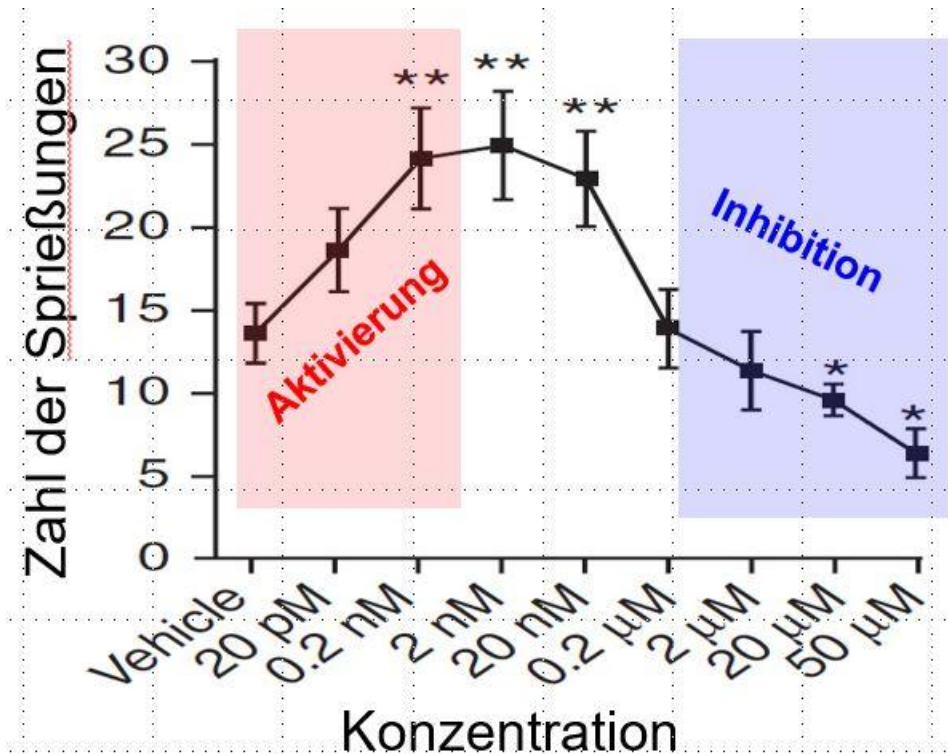


Aktivierung oder Inhibierung der Integrine durch Cilengitide (unser cyclische Pentapeptid)

Mögliche Konzentrationsabhängigkeit



Experimentelle Konzentrationsabhängigkeit



Kairbaan
Hodivala-Dilke

Cilengitide wird mit einer Halbwertszeit von 4 h ausgeschieden. Damit erreicht man sehr schnell den Bereich der Aktivierung der Integrine; es ist also schwierig, die Antagonistische Wirkung medizinisch anzuwenden.

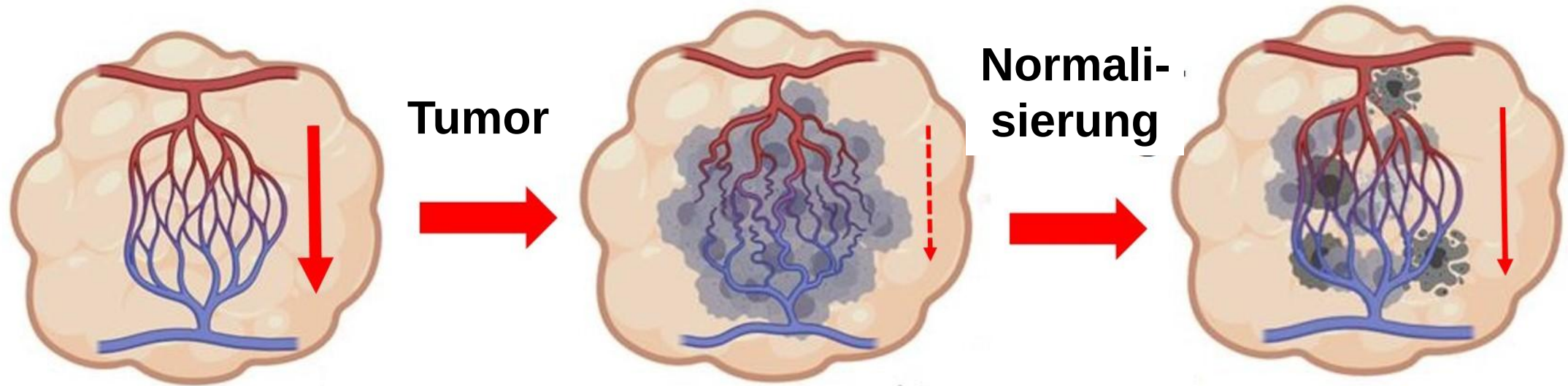
Reynolds, A.R.,und **K. Hodivala-Dilke**: Stimulation of tumor growth and angiogenesis by low concentrations of RGD-mimetic integrin inhibitors. *Nat. Med.* **2009**, 15, 392–400

Integrine in der Medizin:

Liganden als Arzneimittel

(Ausnutzung der Aktivierung bei niedrigen Konzentrationen)

Das vaskuläre System in einem Tumor

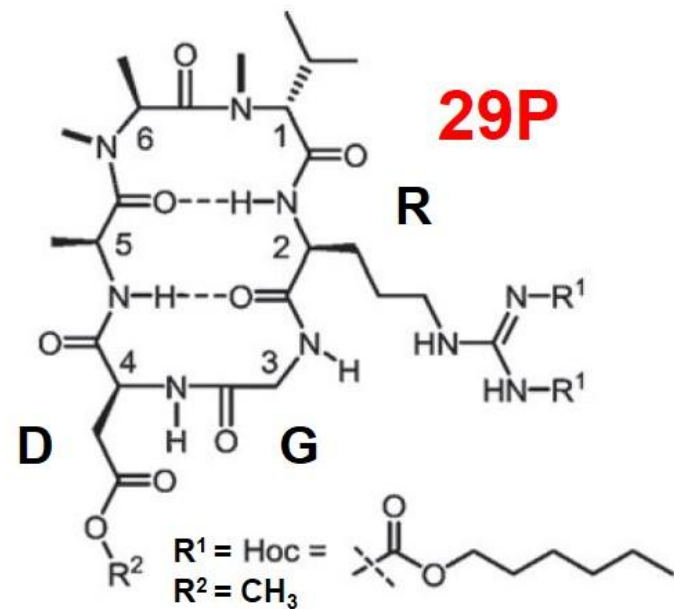


Die Zerstörung der vaskulären Systems durch den Tumor führt zum Mangel an Sauerstoffversorgung und einer Steigerung der Expression des Integrins $\alpha v \beta 3$.

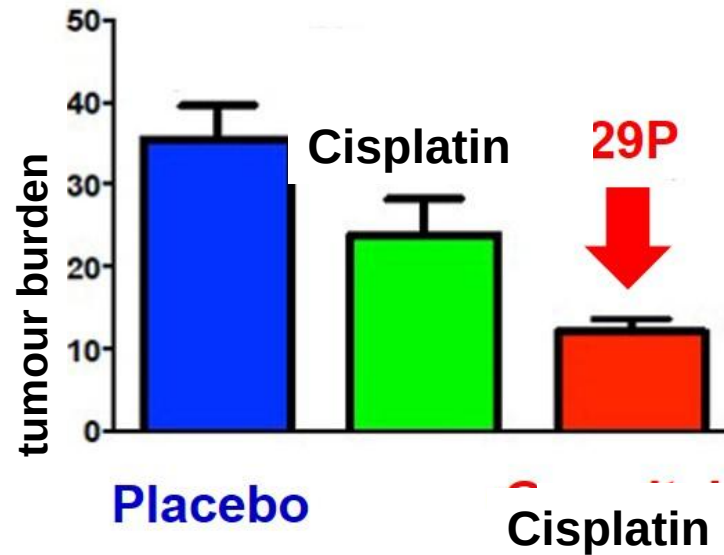
Aktiviert man die Integrine, kommt das Blut wieder in den Tumor und bringt Sauerstoff und Zytostatika.



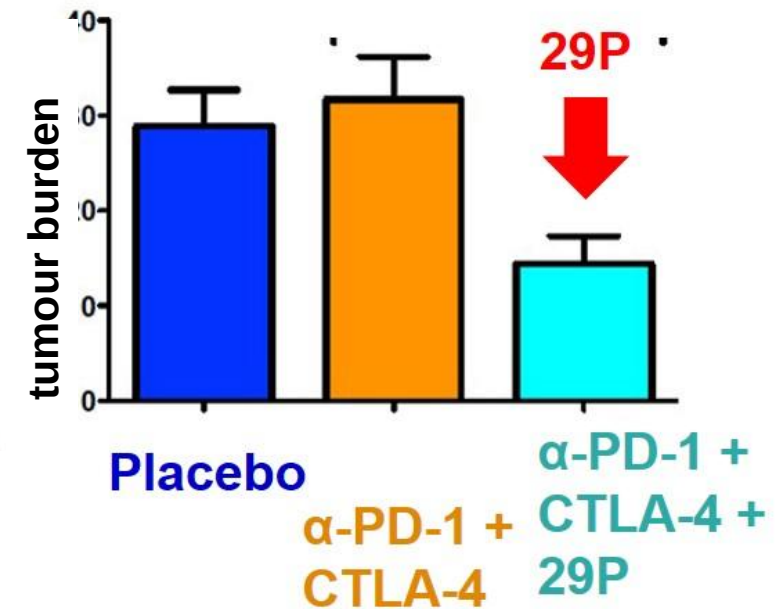
Reduktion der Tumorlast



Anwendung von **29P** mit cis-Platin



Anwendung von **29P** in der Immuntherapie



J.M. Munoz-Felix, J.B. Candido, M. Weinmüller, H. Kessler, K. Hodivala-Dilke, präsentiert auf dem International Vascular Biology Meeting in Helsinki, 3. – 7. Juni, 2018.

29P: M. Weinmüller ..., F. S. Di Leva, L. Marinelli, E. Novellino..., K. Hodivala-Dilke..., H. Kessler, *ACIE* **2017**, 56, 16405-16409

Integrine in der Medizin:

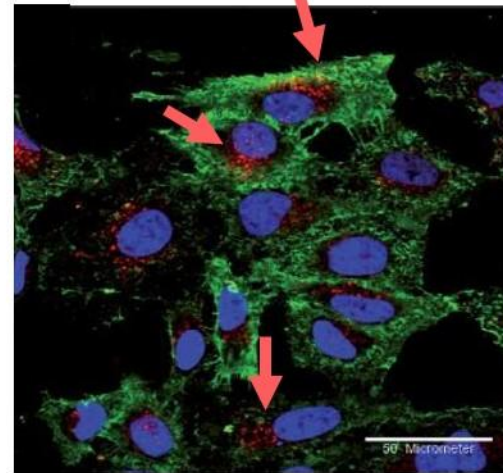
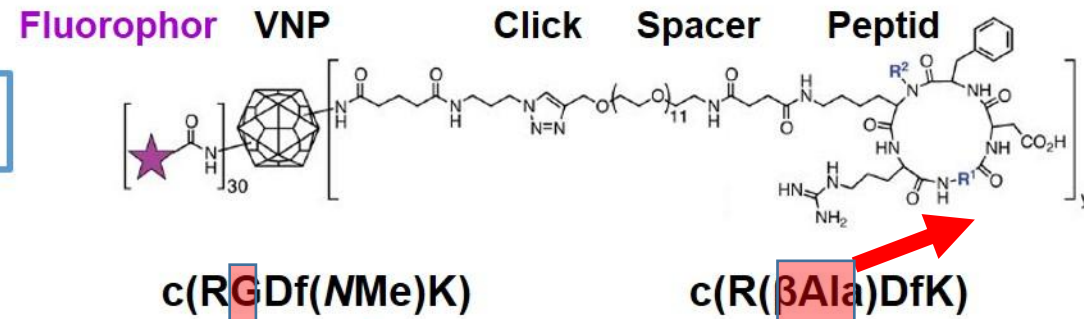
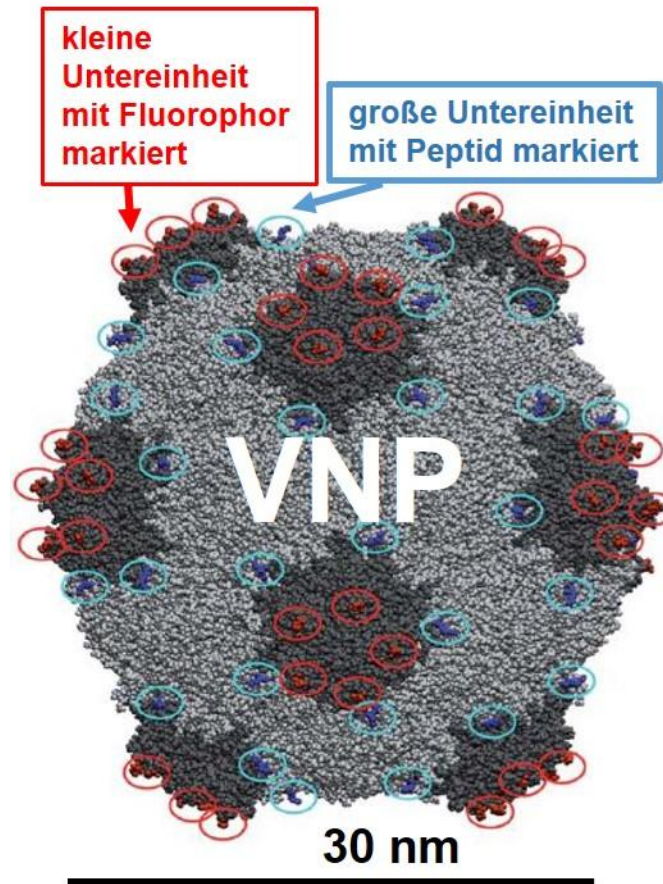
Liganden als Arzneimittel

(Ausnutzung der Aktivierung bei niedrigen Konzentrationen)

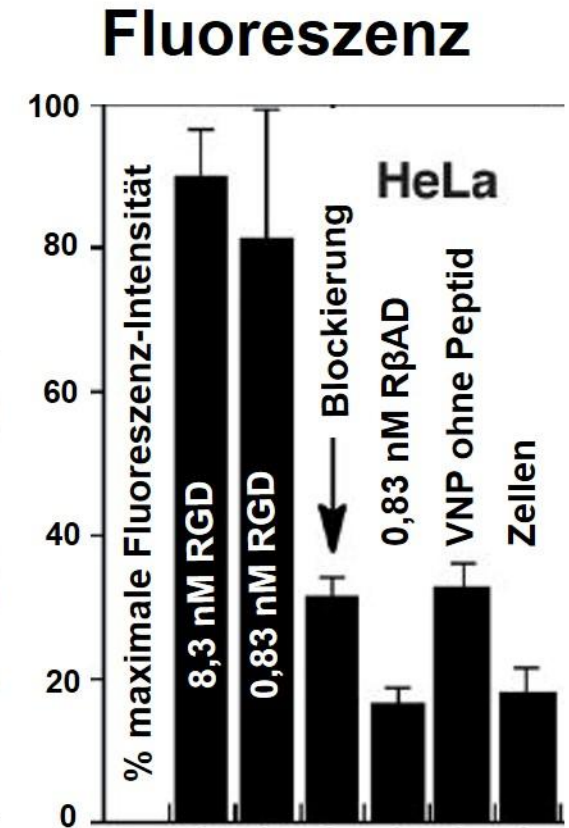
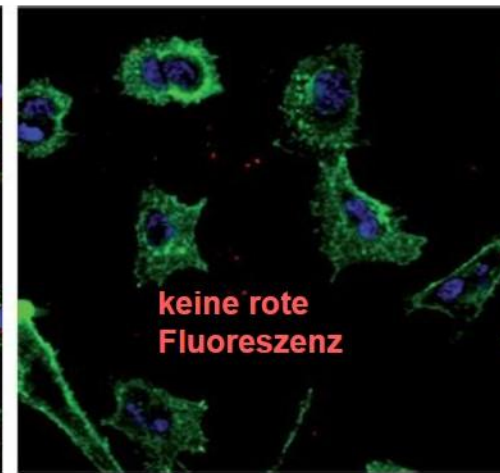
„Logistik“ von Arzneimitteln

(gezielter Transport von zytotoxischen Reagentien zum Krebs)

Logistik: gezielte Adressierung von Integrin-tragenden Zellen (Krebs)

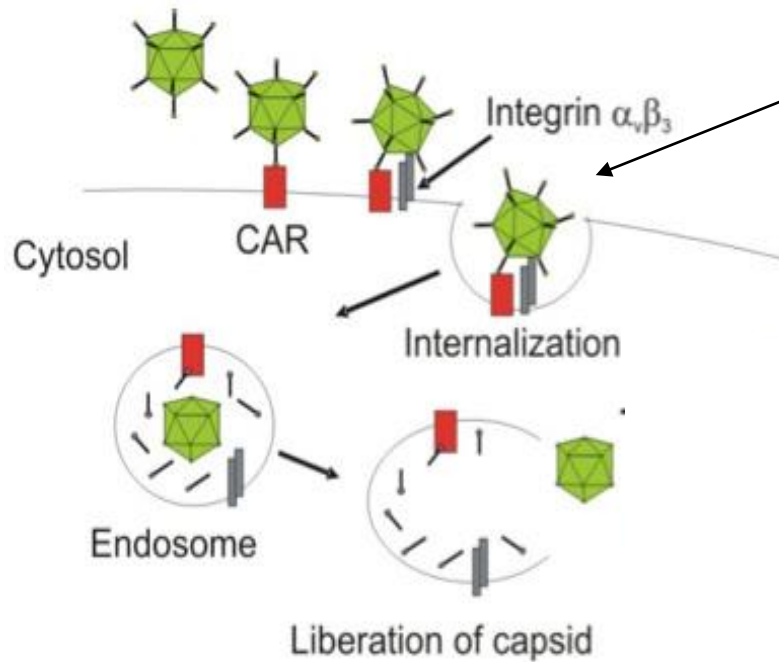


Zellmembran grün angefärbt / Zellkern blau angefärbt

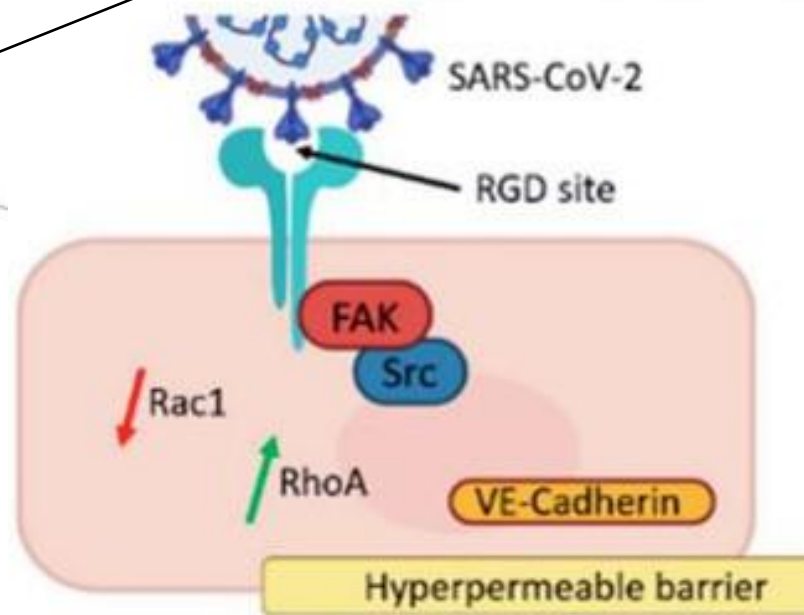


Nur die RGD-tragenden Virus-Kapside werden aufgenommen (rote Fluoreszenz)

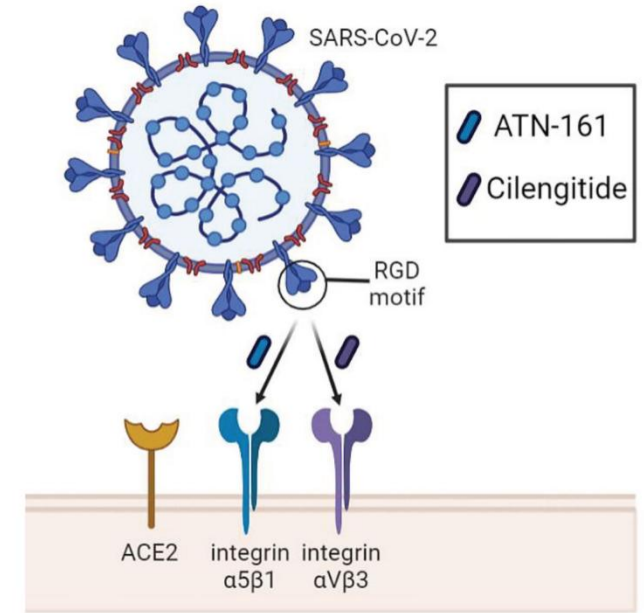
Viren binden an Integrine, die dann durch Endozytose in die Zelle geschleust werden



D. Nader, S.W. Kerrigan, *Viruses* **2022**, 14, 891



M.A. Nolte et al. *Trends in Biochem. Sci.* **2021**, 46, 124- 137.



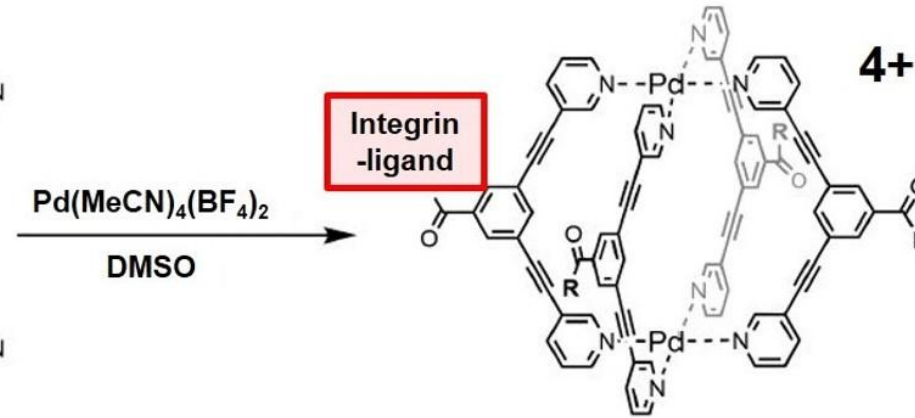
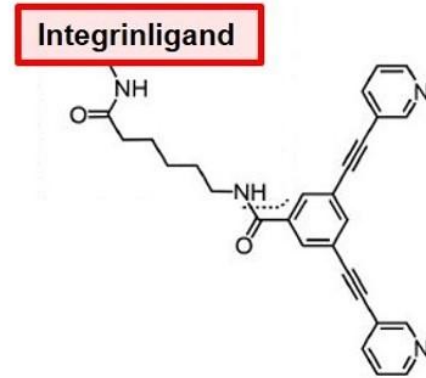
Eigene Arbeiten dazu:

- S.Tomassi ...J. Kessler, L. Marinelli, Halting the Spread of Herpes Simplex Virus-1 *J.Med.Chem.* **2021**, 64, 6973-6984.
- Bauer ...H. KesslerR. Brack-Werner, Molecular Signature of Astrocytes for Gene Delivery by the Synthetic Adeno-Associated Viral Vector rAAV9P1, *Adv. Sci.* **2022**, 9, 2104979. Selektive Adressierung von Hirnzellen (Astrozyten) über Integrin $\alpha_v\beta_3$ und $\alpha_v\beta_8$
- L.J. Flitsch ...H. Kessler, D. Grimm, O. Brüstle, Identification of adeno-associated virus variants for gene transfer into human neural cell types by parallel capsid screening, *Sci. Rep.* **2022**, 12: 83567. Die Rolle von Integrin $\alpha_v\beta_8$ bei der Gentransfektion im Hirn.
- Patenteinreichung zu SARS, aber Experimente noch nicht abgeschlossen.

Targeting Cisplatin to the integrin expressing melanoma cells



Angela Casini



← c(RGDfK)

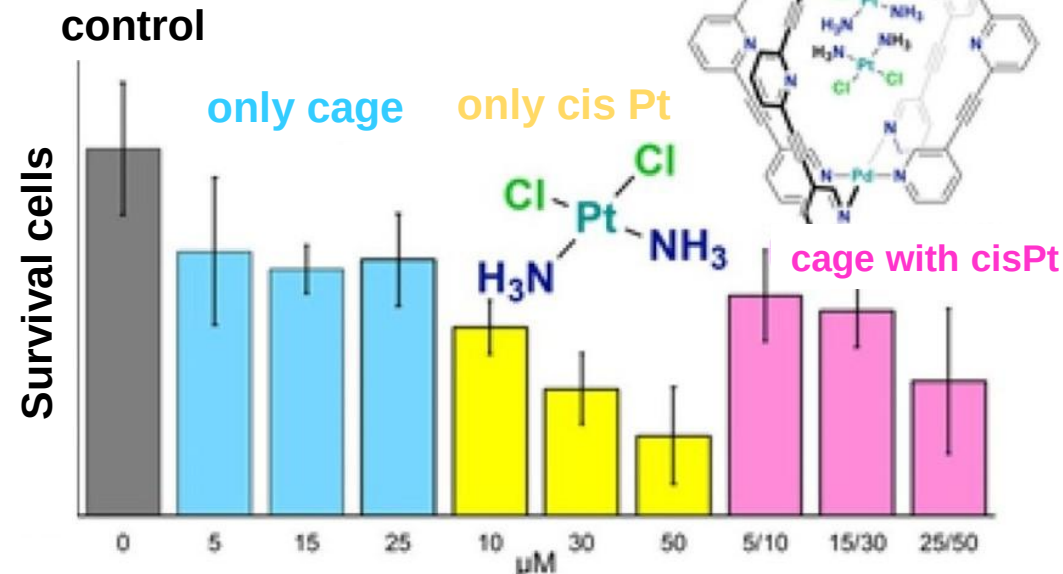


Stefanie Ludwig

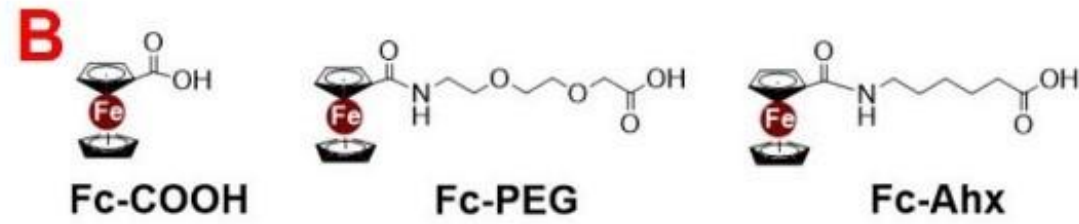
The integrin carrying A375 cells are killed

	EC 50 [μM]	
	A375	A549
cage only	>50	>80
cage with cis Pt	15,6	>60
cis Pt only	34	>60

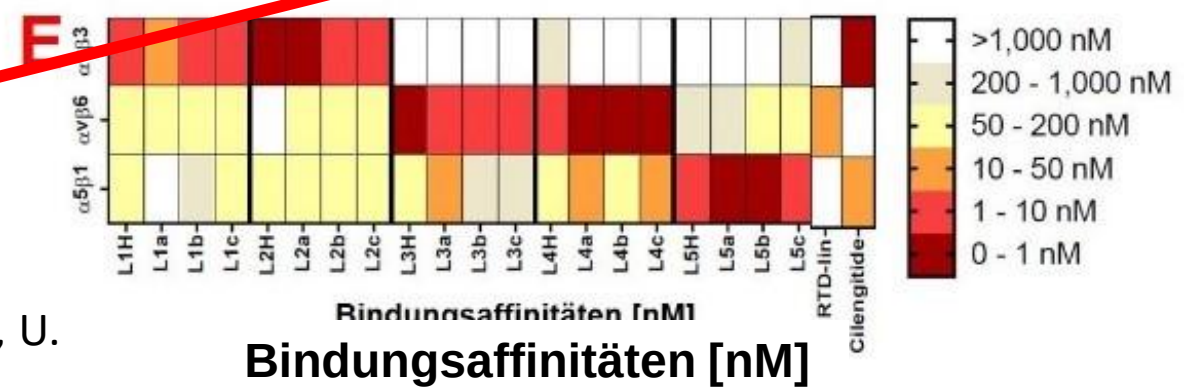
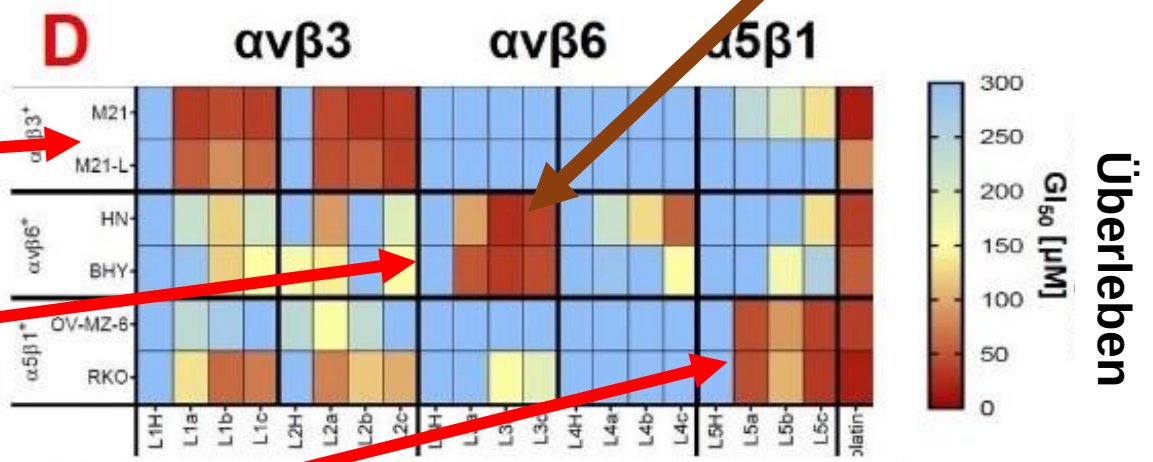
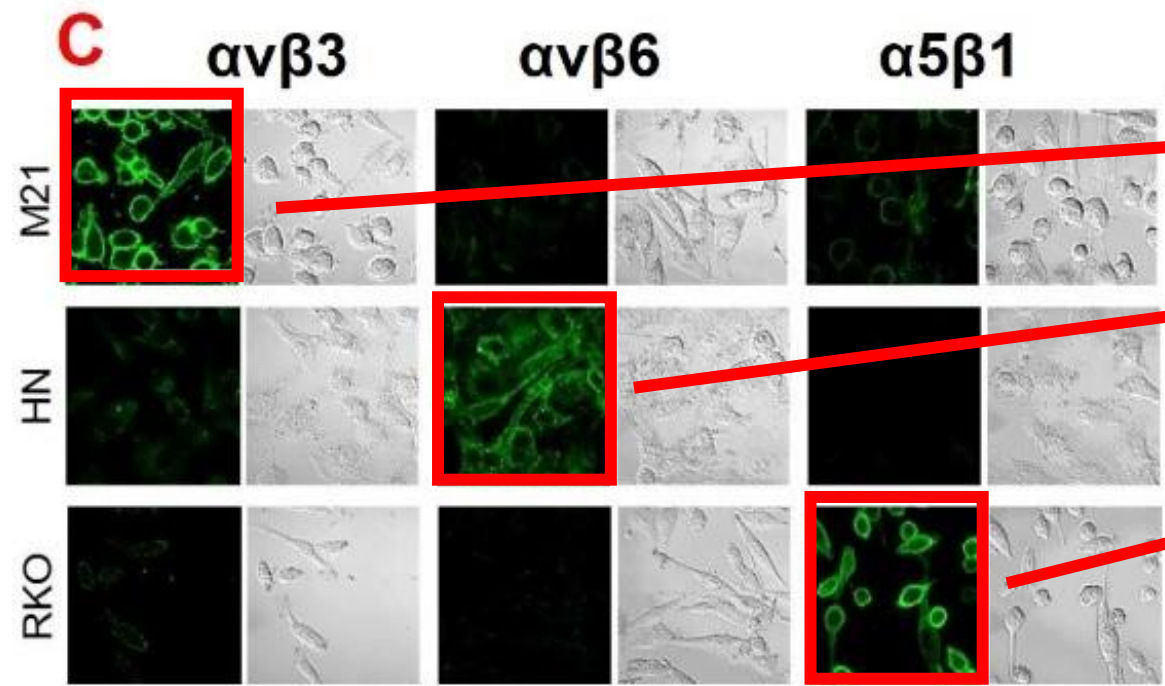
A375 Melanomzellen
 $\alpha\text{v}\beta 3$ -aktiv



Leiten des toxischen Ferrocens zu Zellen mit unterschiedlichen Integrin-Subtypen



Braun zeigt die Abtötung der Zellen an



Integrine in der Medizin:

Liganden als Arzneimittel

(Ausnutzung der Aktivierung bei niedrigen Konzentrationen)

Beschichtung von Implantaten

(Stents, wurde wegen teurer langwieriger Testung eingestellt)

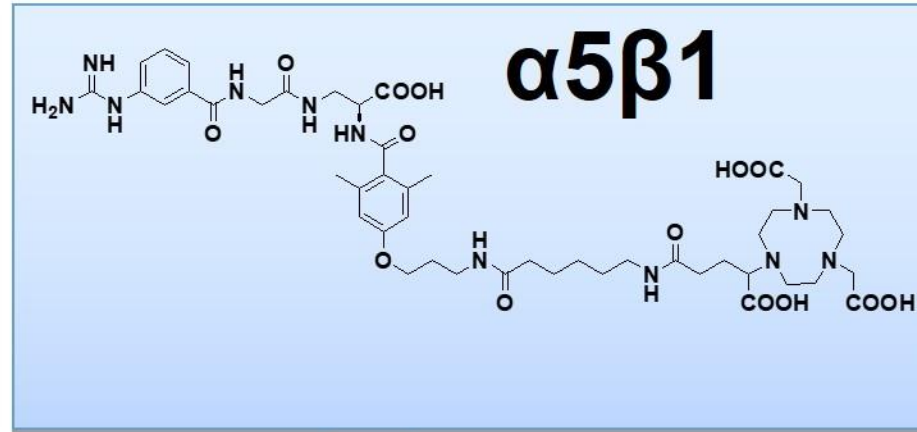
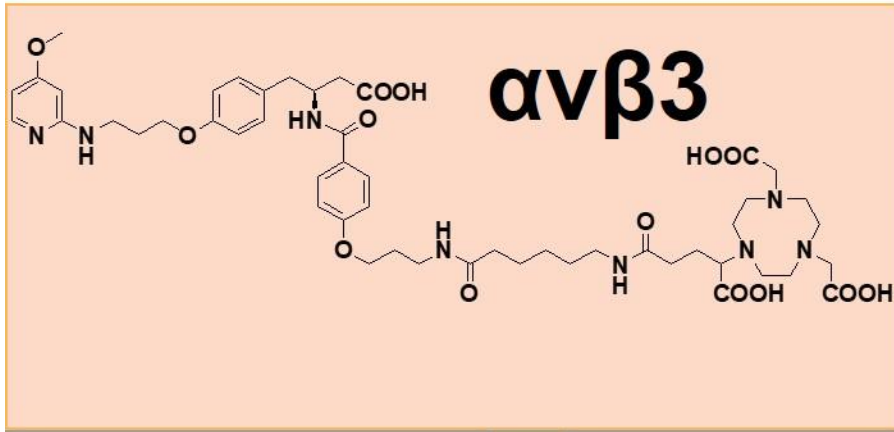
Molekulare Bildgebung und Radiotherapie

(derzeit mehrere unserer Verbindung in Klinischer Phase I – III)

„Logistik“ von Arzneimitteln

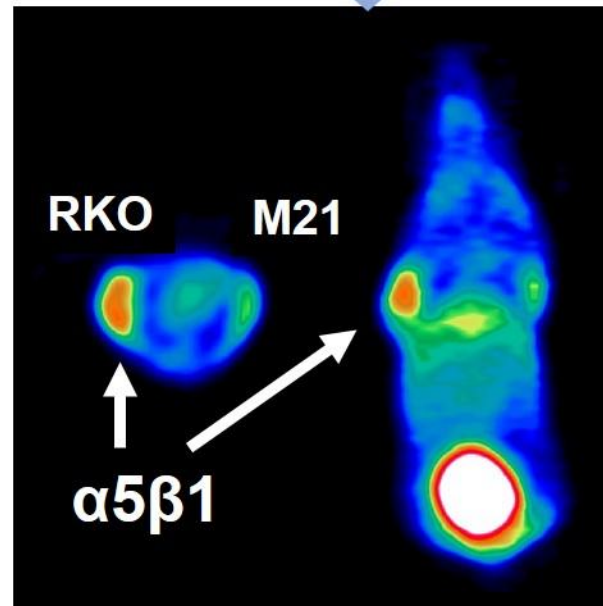
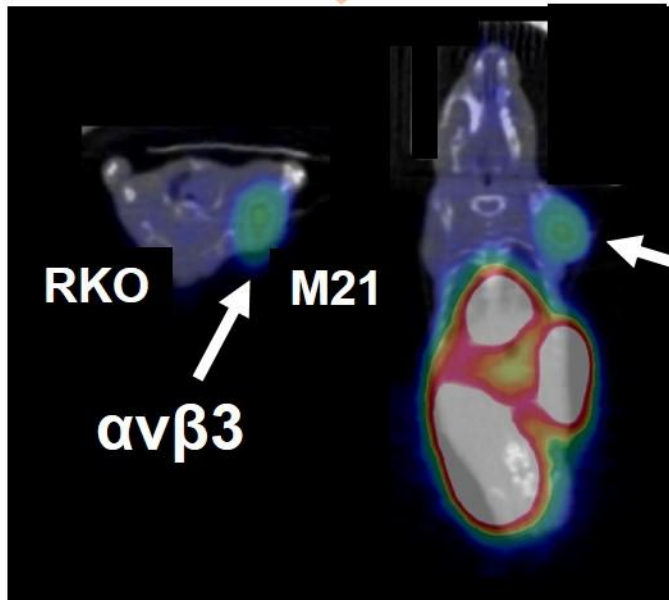
(gezielter Transport von zytotoxischen Reagentien zum Krebs)

Charakterisierung verschiedener Tumoren via PET mit 68Ga



**Eine Maus,
zwei Tumoren**

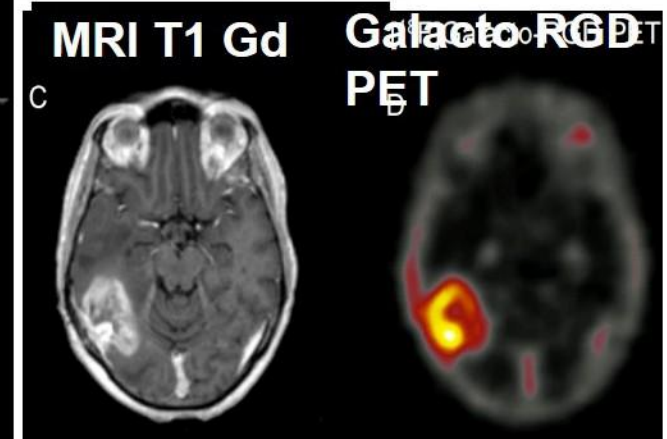
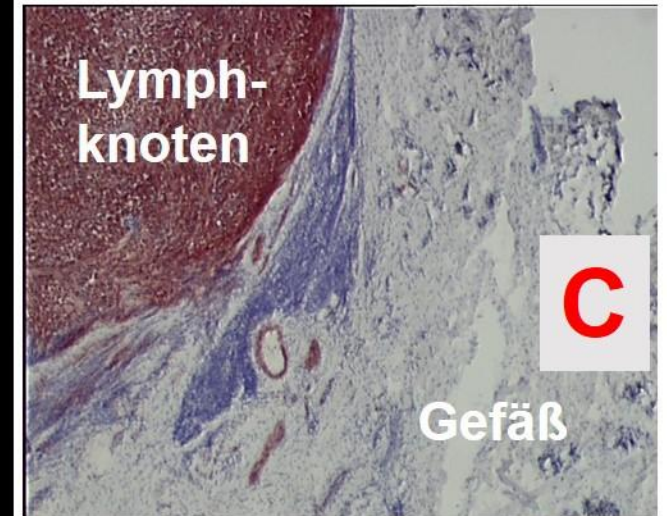
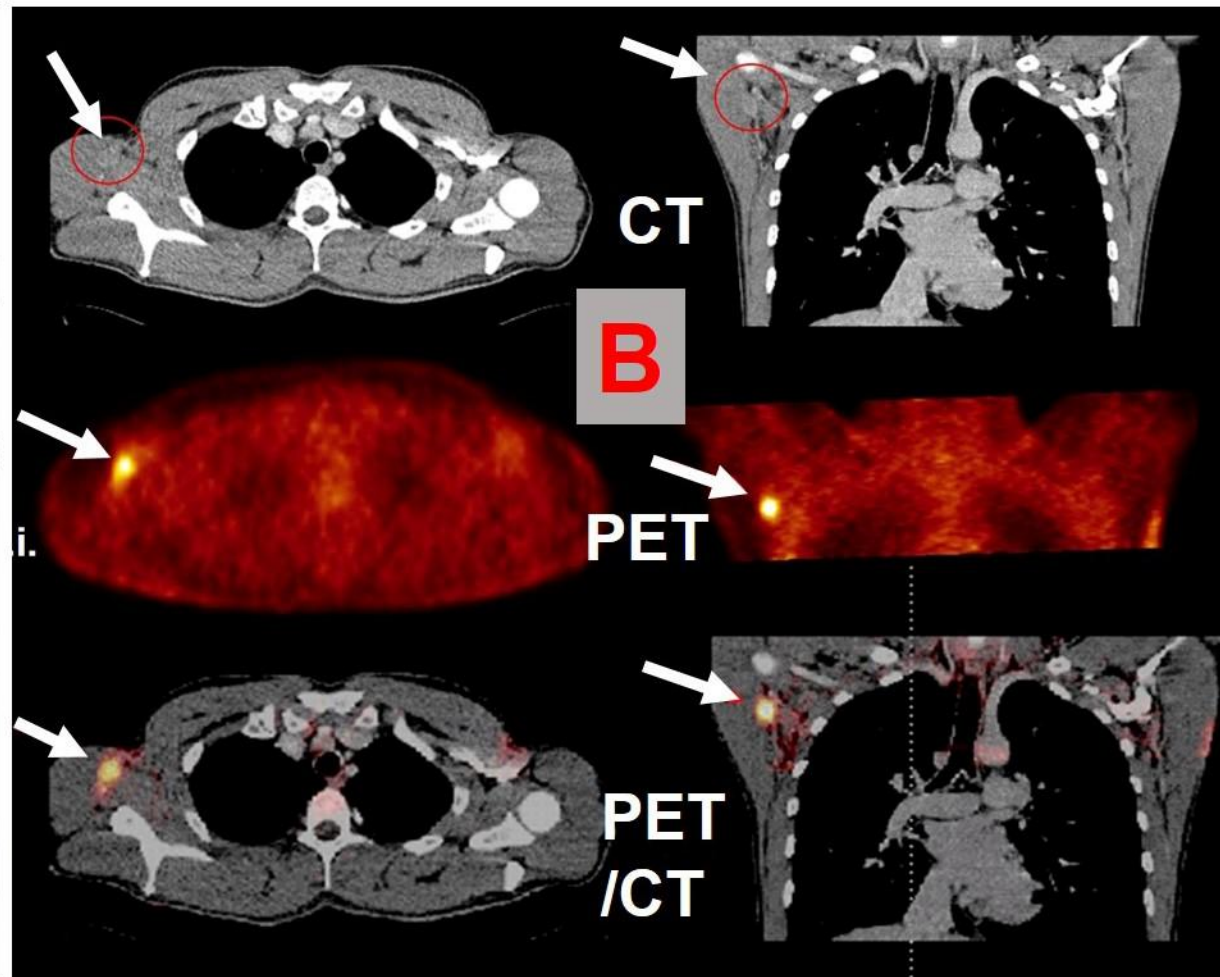
Chelator: NODAGA für
68Ga



RKO = Kolorektalkarzinomzellen; M21 sind Darmepithelzellen

Galacto-RGD: die erste PET-Anwendung der Integrin-Expression im Menschen

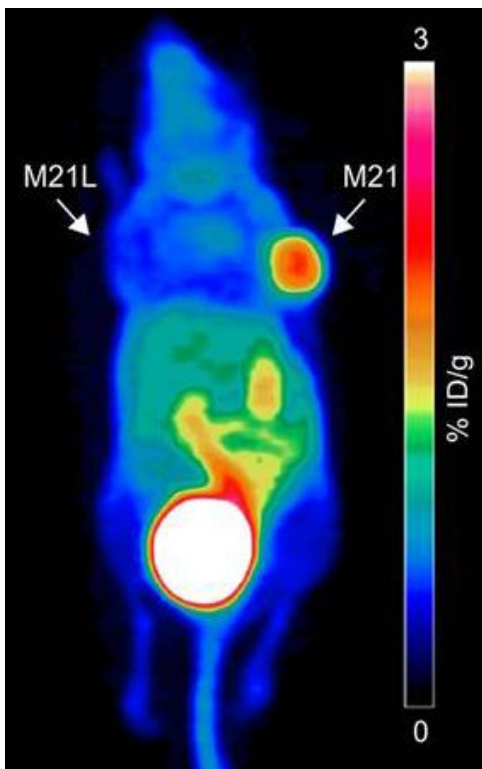
Lymphknoten-Metastase in der Achsel



R. Haubner, W. A. Weber, A. J. Beer, E. Vabuliene, D. Reim, M. Sarbia, K.-F. Becker, M. Goebel, R. Hein, H.-J. Wester, H. K., M. Schwaiger, *PLoS Medicine* **2005**, 2, 244-252.

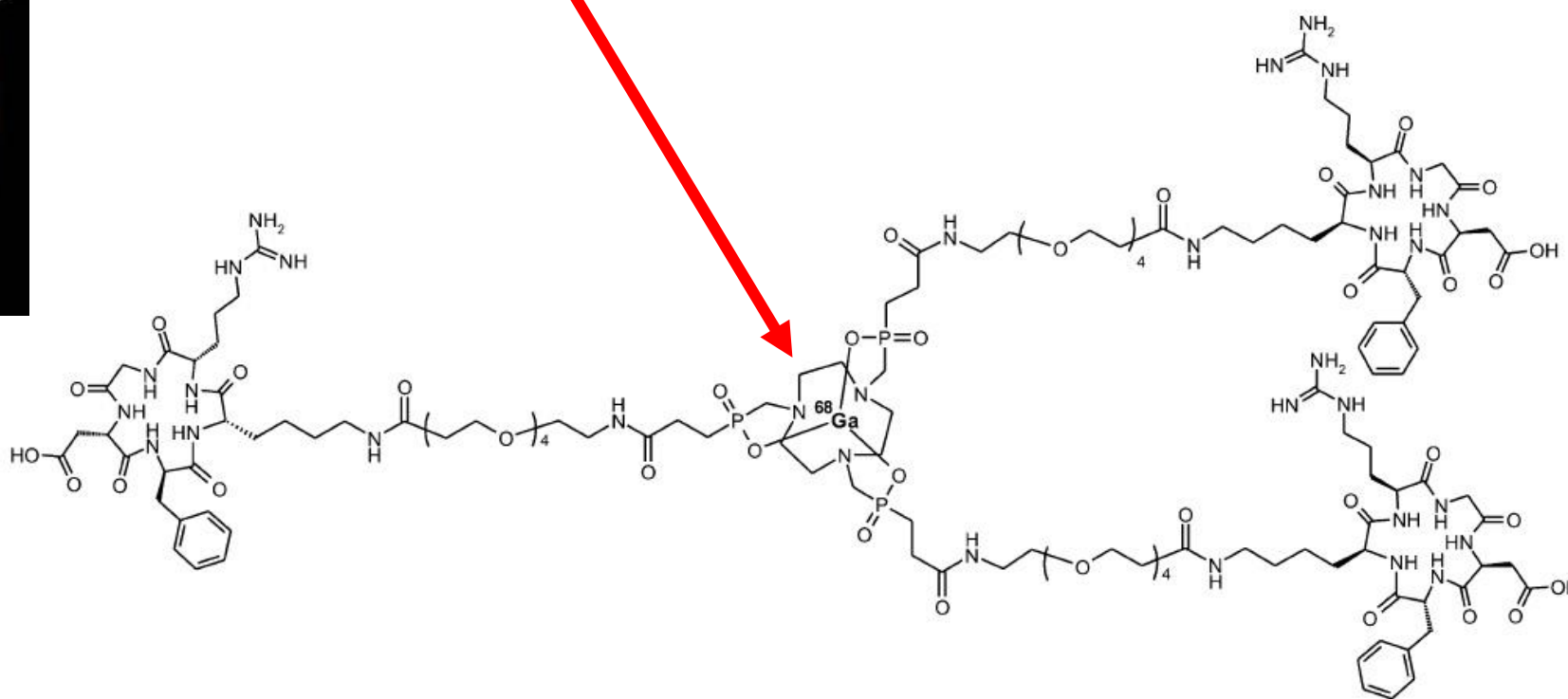
O. Schnell, H.K. et al. *Neuro-Oncology*, **2009**, 11, 861-870

Glioblastom



^{68}Ga -Avebetrin, die nächste Generation

einfacher zugänglich als Galacto-RGD



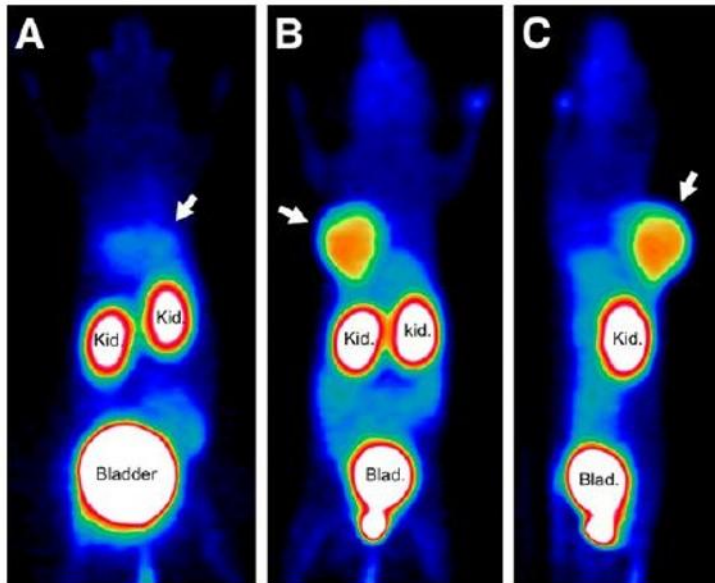
Bildgebung für zwei andere Integrin-Subtypen

$\alpha v \beta 6$

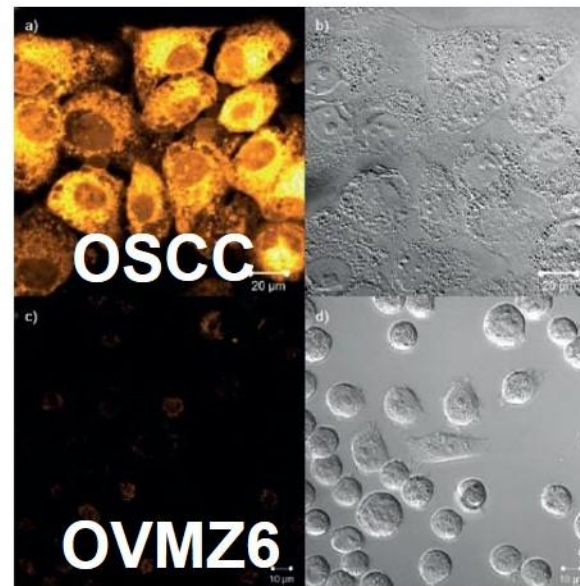
Nonapeptid – click - TRAP

PET

geblockt dorsal sagital



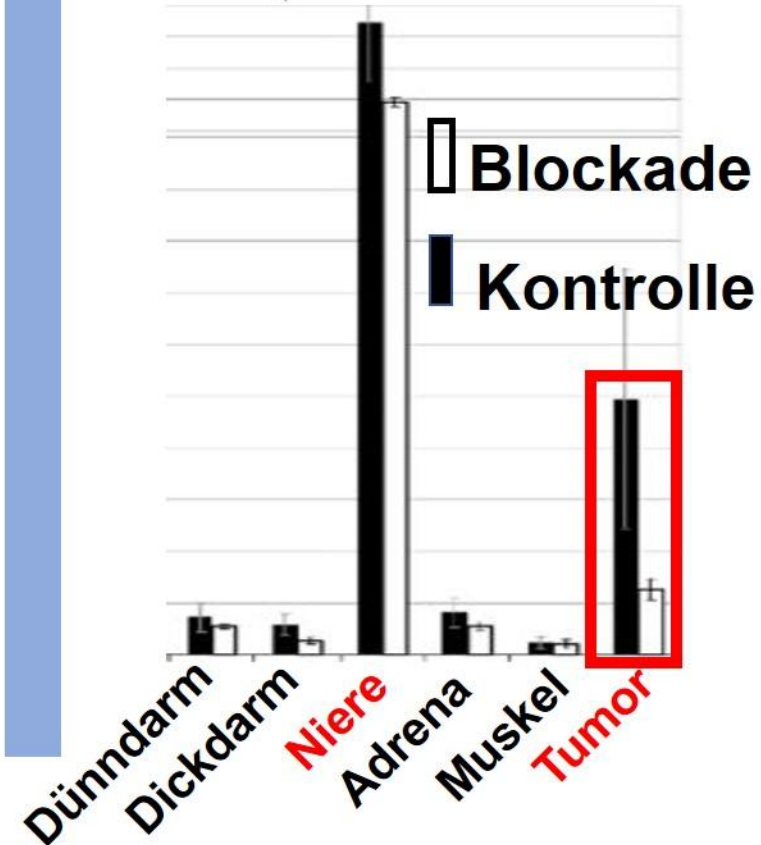
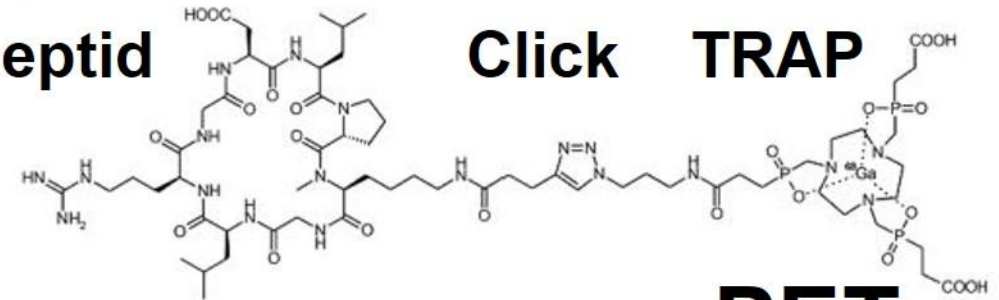
Cy5,5 Bild



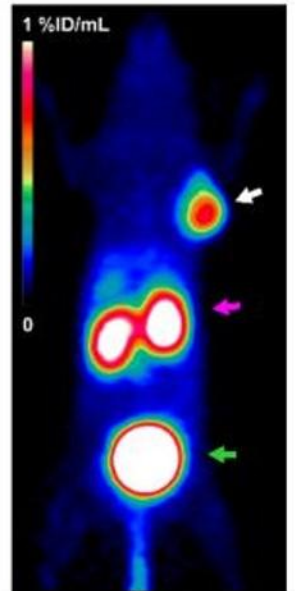
Oktapeptid

$\alpha v \beta 8$

Click TRAP



PET



Meine Kooperationspartner für Molekulare Bildgebung



**Roland
Haubner**



**Markus
Schwaiger**



**Wolfgang
Weber**



**Hans-Jürgen
Wester**



**Ambros
Beer**



**Markus
Nieberler**

Weitere Kooperationspartner (mehr als 10 gemeinsame Publikationen)

**Joachim
Spatz**

Biophysik



**Johannes
Buchner**

**Protein
Faltung**

Dank an meine Kooperationspartner und Mitarbeiter

Biophysical Studies



Andreas Bausch

Modelling/ Design



Joachim Spatz



Luciana Marinelli



Chaim Gilon



Amnon Hoffman



Kairbaan Hodivala-Dilke



Monique Dontenwill

Improvement of Implants



Michael Joner

Bio-chemistry



Ute Reuning

Molecular Imaging at TUM



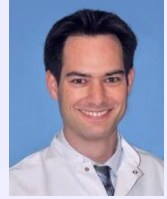
Wolfgang Weber



Markus Schwaiger



Hans-Jürgen Wester



Markus Nieberler



Carlos Mas-Moruno



Burkhard Laufer



Jayanta Chatterjee



Oleg Maltsev



Tobias Kapp



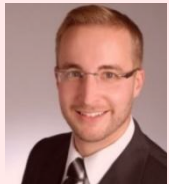
Florian Rechenmacher



Stefanie Neubauer



Kay Gottschalk



Florian Reichart



Andreas Raeder



Udaya Kiran Marelli



Michael Weinmüller

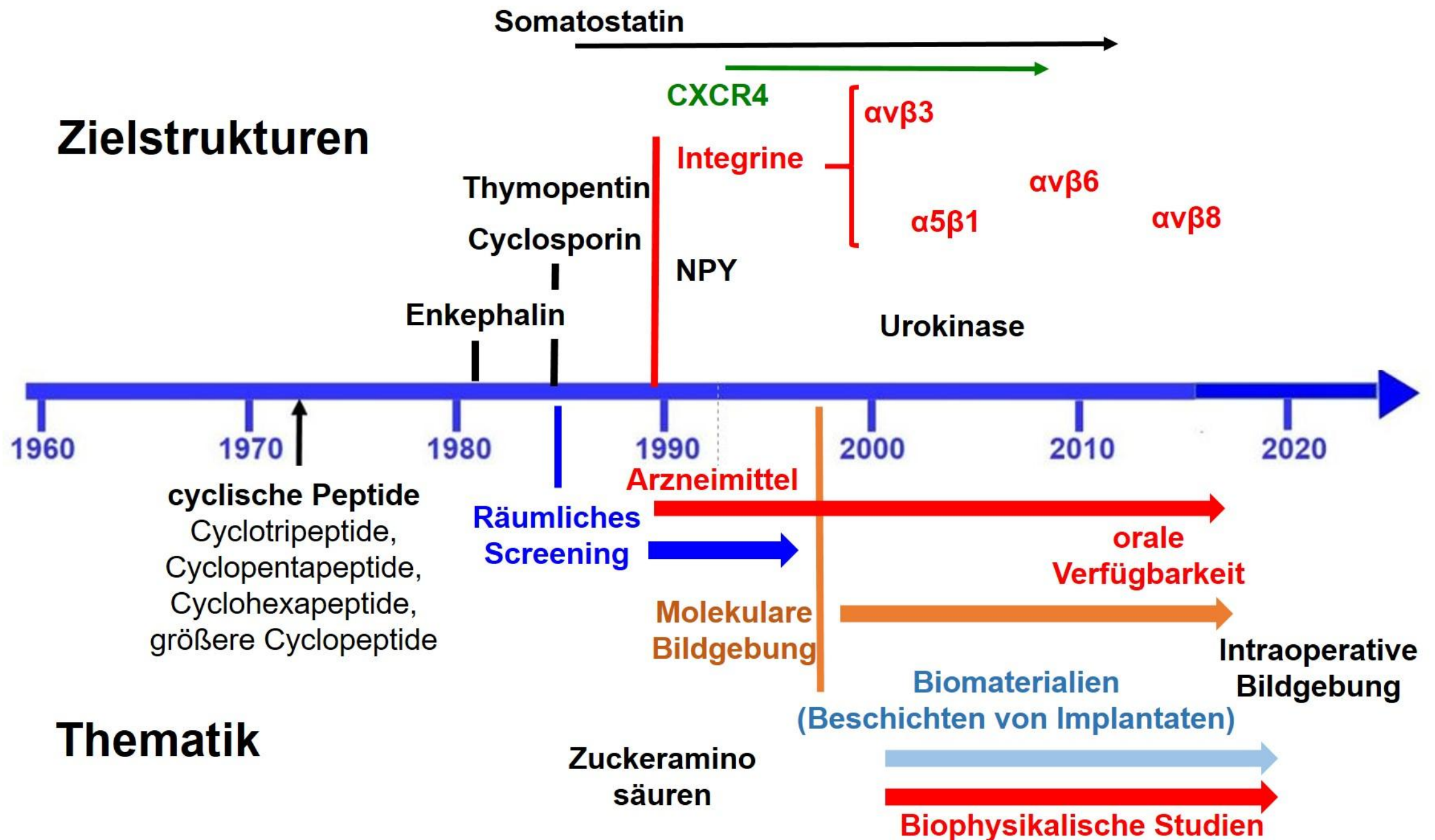


Stefanie Ludwig



Reinhard Koselleck

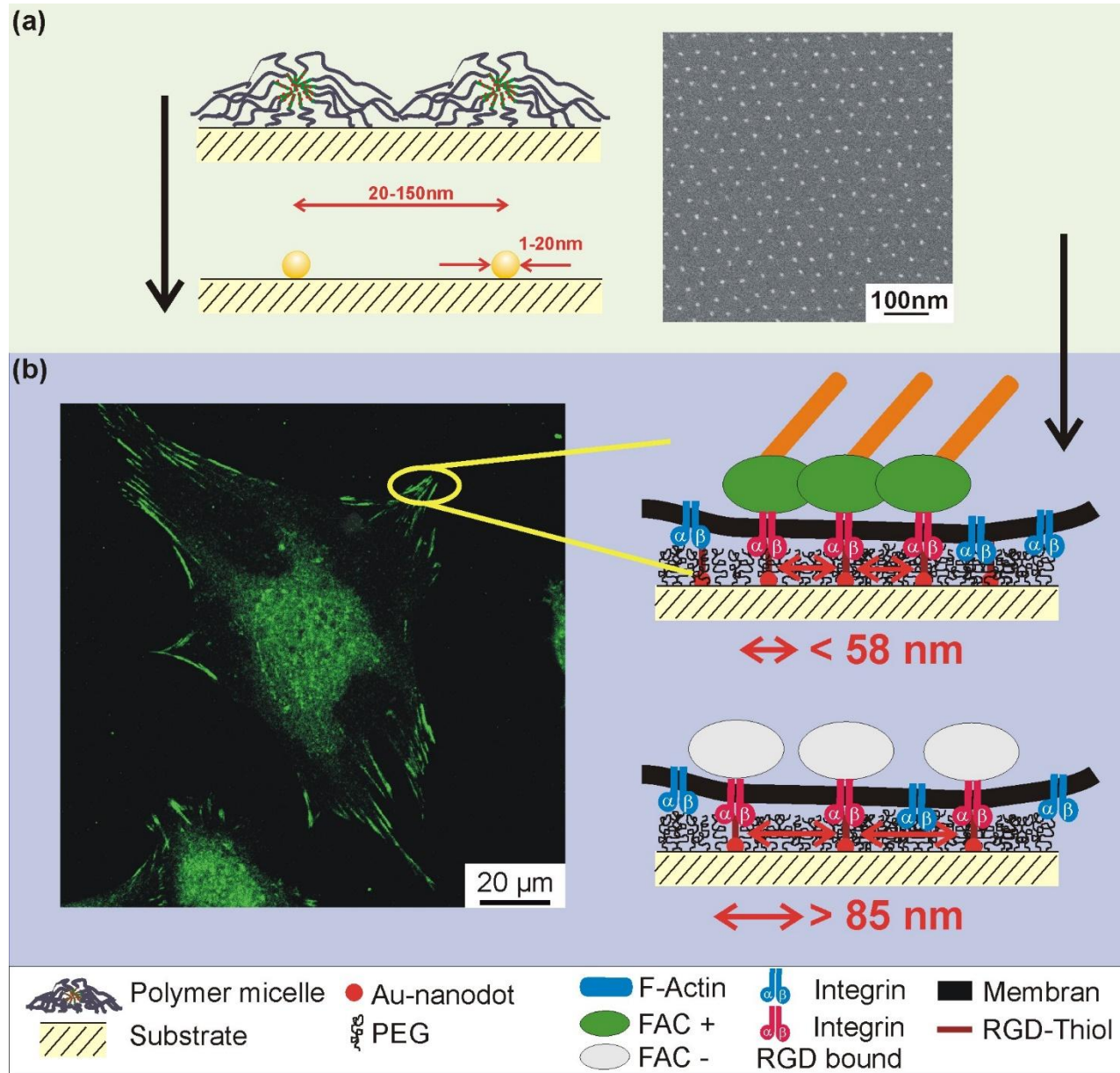






Ginkaku-ji

Vielen Dank für die Aufmerksamkeit



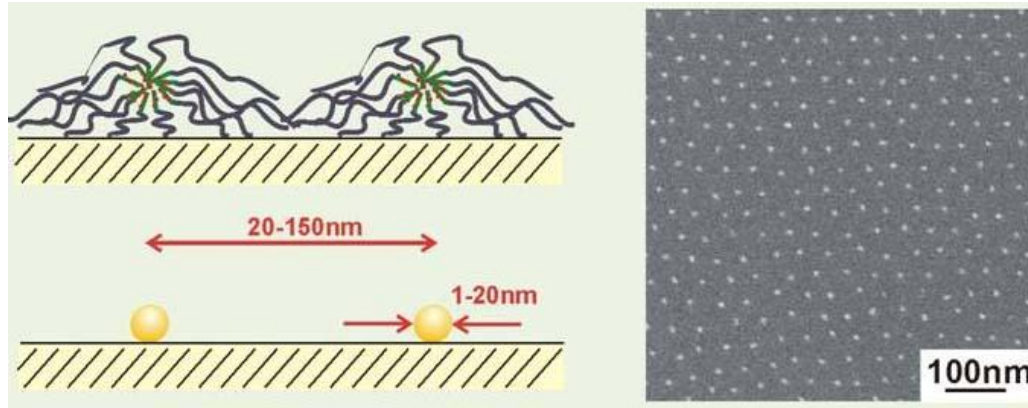
Biophysikalische Untersuchungen im Labor
von Joachim Spatz

Max-Planck-Institut
Heidelberg



Auf Glasplatten werden Goldpunkte in exakten Abständen aufgebracht und dann unsere Integrin-Liganden über einen Thiolanker aufgebracht. Die Glasplatten werden inaktiv beschichtet, so dass Zellen nur über die Integrine binden können. Es zeigte sich, dass nur dann eine fester Verankerung erfolgt, wenn der maximale Abstand $< 58 \text{ nm}$ ist. Das entspricht der Größe der Integrin-Kopfgruppe!

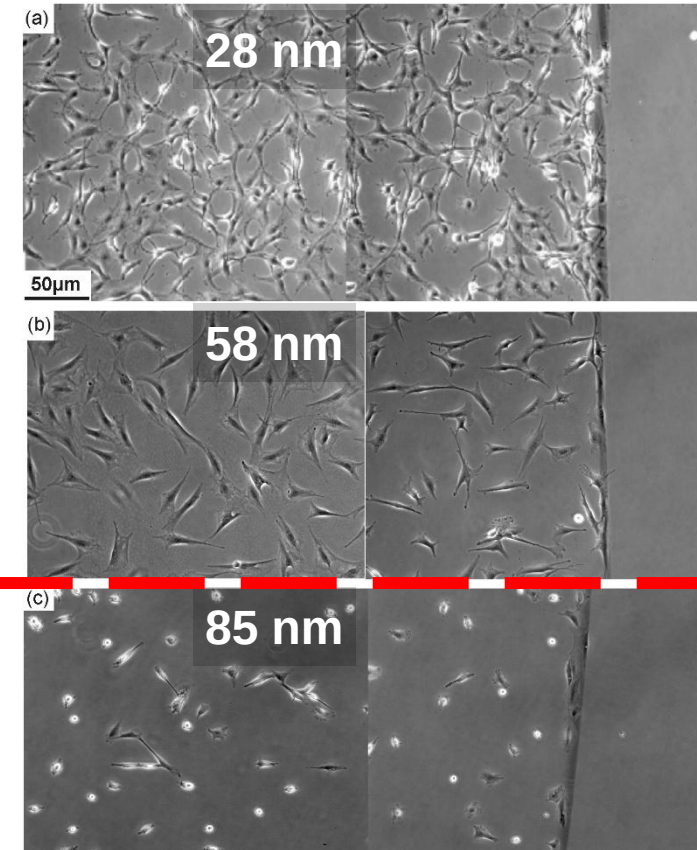
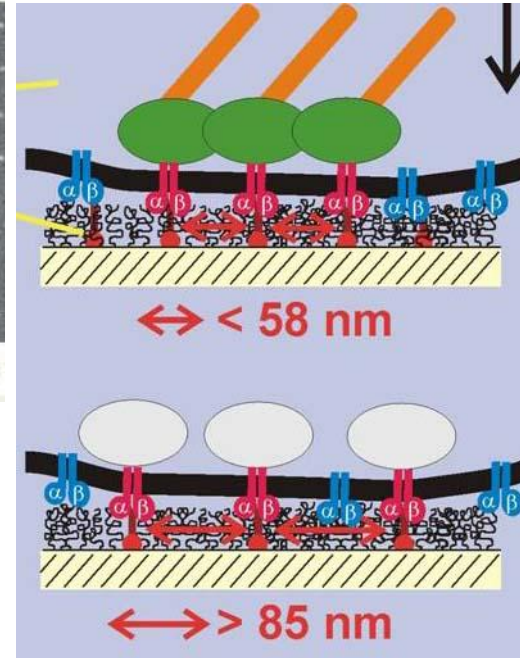
Osteoblast adhesion on functionalized gold nanodots on passivated glass plates



Joachim
Spatz

**distances between
20 and 120 nm**

depending on the length of
the aliphatic chains



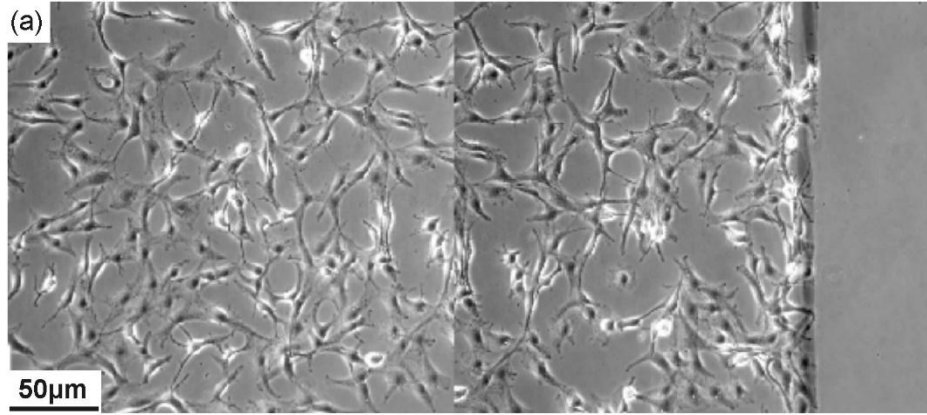
no adhesion

**result: spacing should be smaller than 65 nm for stimulation
of adhesion (the size of the headgroup is about 50 nm)**

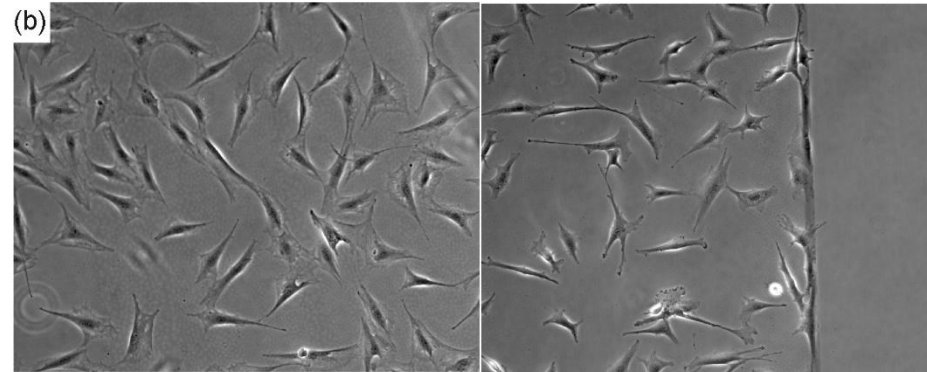
M. Arnold.... H. K., J. P. Spatz, Activation of Integrin Function by Nanopatterned Adhesive Interfaces;
ChemPhysChem **2004**, 5, 383-388

Abhängigkeit der Adhäsion vom Abstand der Goldpunkte mit RGD

28 nm



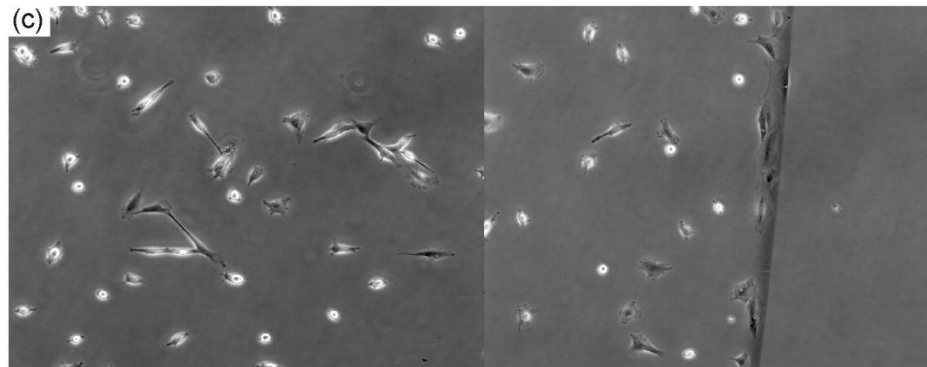
58 nm



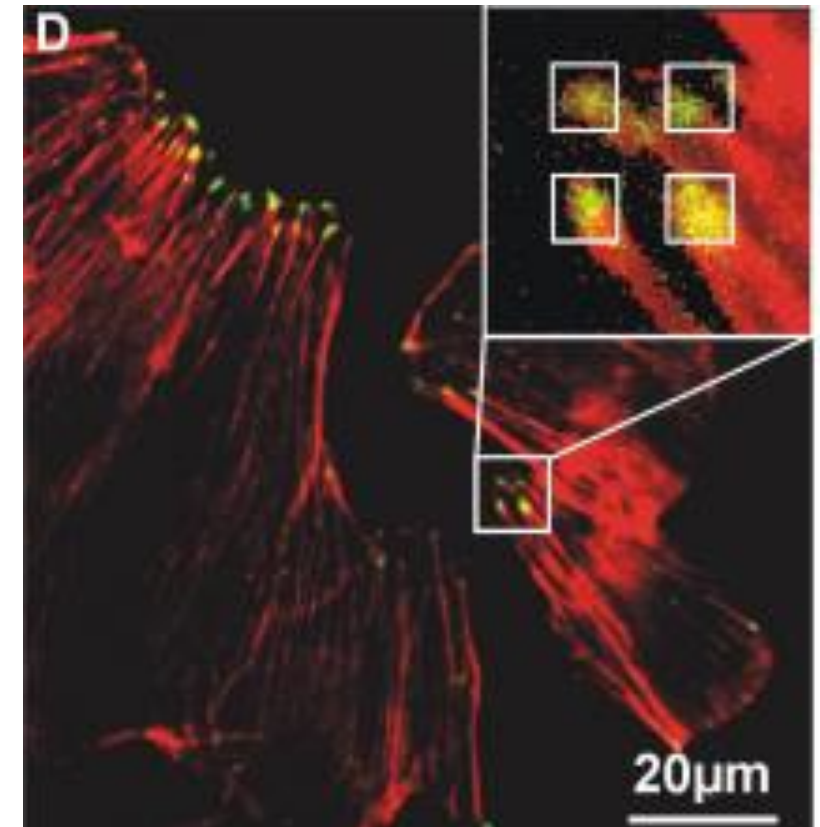
Grenzlinie bei 65 nm

keine Adhäsion

85 nm



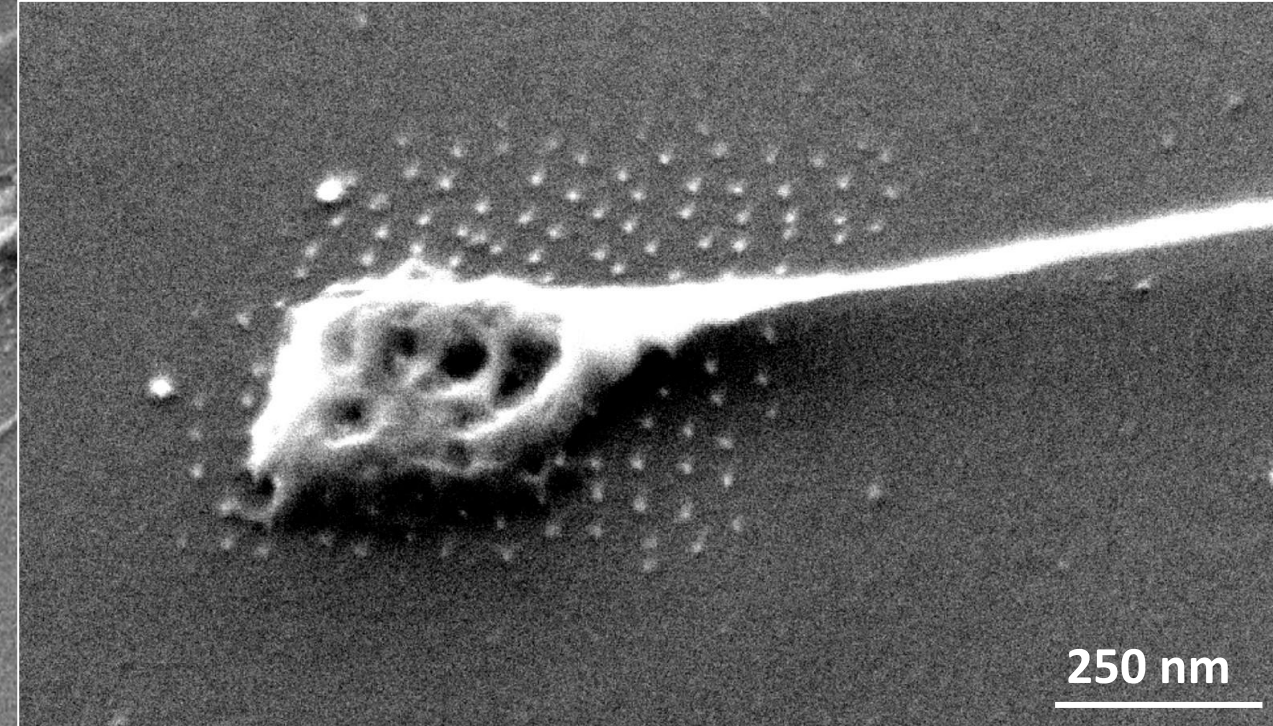
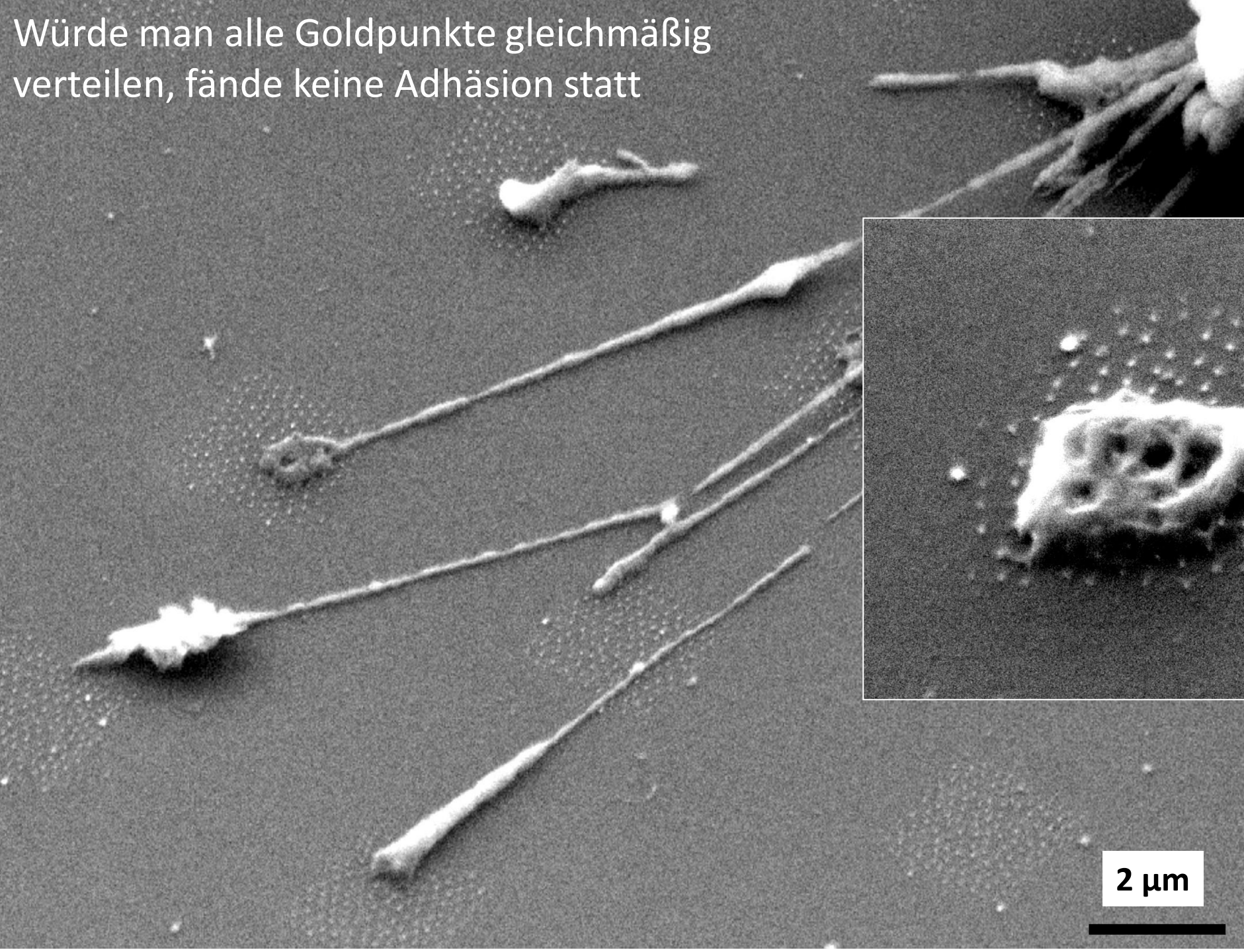
Mikro-Nano Struktur und Fokale Adhäsion



Würde man alle Goldpunkte gleichmäßig verteilen, fände keine Adhäsion statt

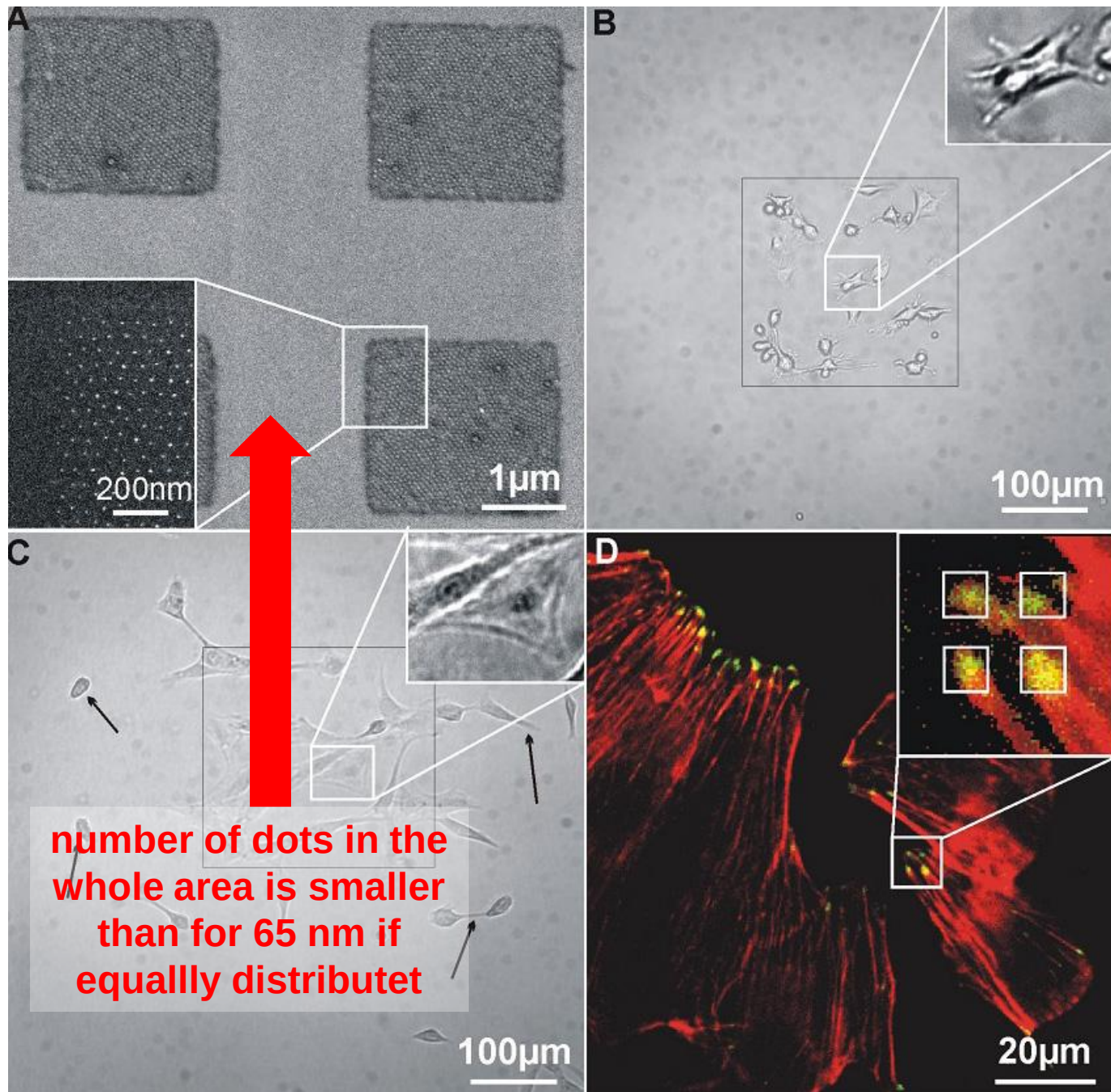
Man zieht mit einer Pinzette die Zellen ab!

Vergrößerung

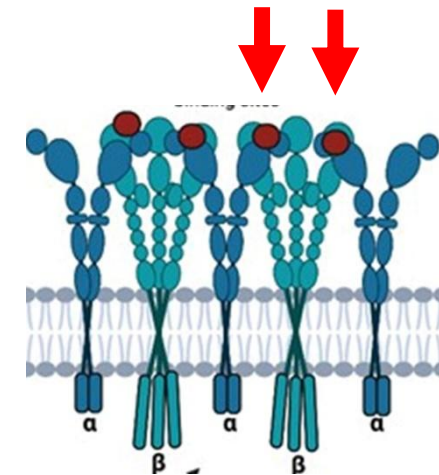


Die Integrins klammern sich fest.

2 μm



Not the total number of bindings is important but the **spacing between RGD** which corresponds to the size of the head group

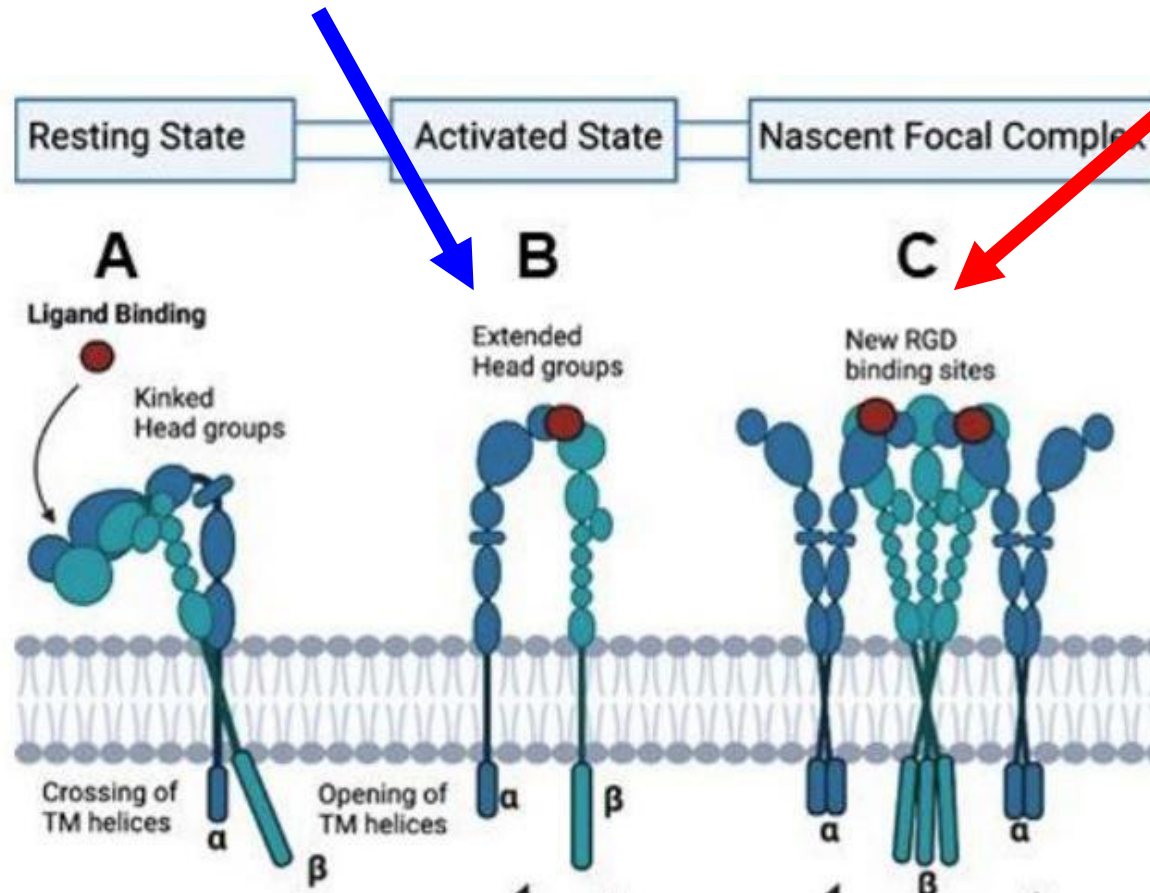


M. Arnold ... H. K., J. P. Spatz;
ChemPhysChem **2004**, 5, 383-388

Explanation of the „paradoxical“ effect of agonism of inhibitors by receptor oligomerisation

monomeric receptor

oligomeric receptor



The rearranged receptor binds RGD stronger than the heterodimic form

(see our experiments with GpA chimeric integrin)

Ute Reuning, Luciana Marinelli, Kairbaan Hodivala-Dilke, Horst Kessler, *Bioorgan. Chem.* under revision

An analogue case has been described by:

Merdanovic, M. et al. Activation by substoichiometric inhibition. *PNAS* **117**, 1414-1418 (2020)

Integrine in der Medizin:

Liganden als Arzneimittel

(Ausnutzung der Aktivierung bei niedrigen Konzentrationen)

Beschichtung von Implantaten

(Stents, wurde wegen teurer langwieriger Testung eingestellt)

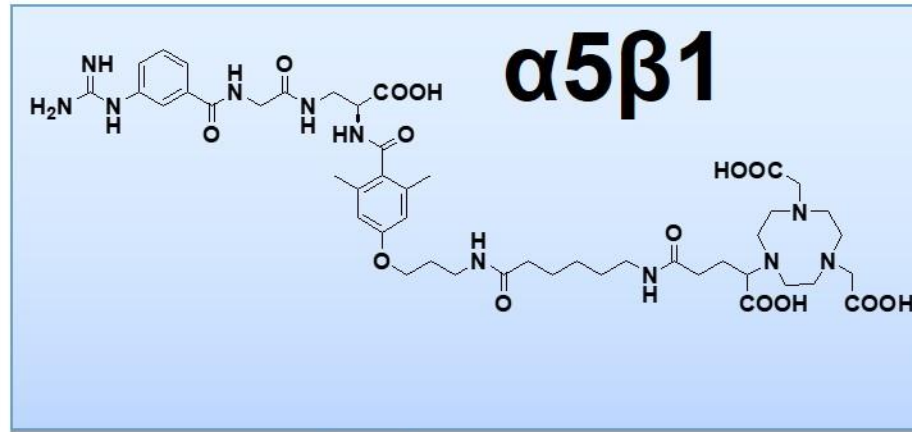
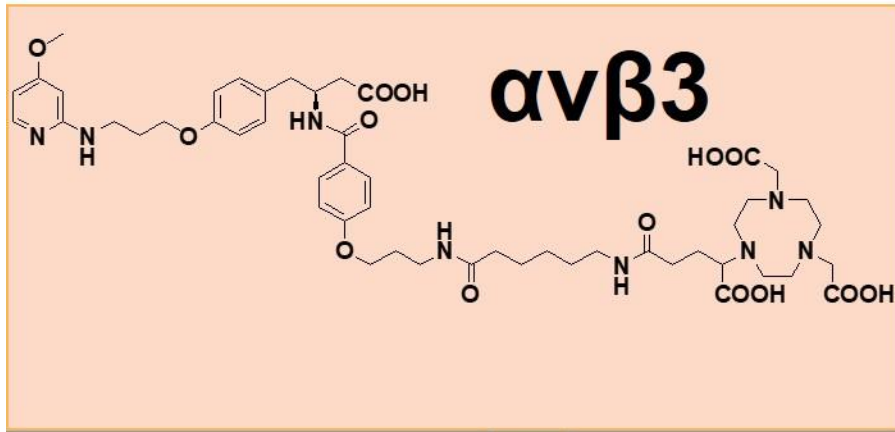
Molekulare Bildgebung und Radiotherapie

(derzeit mehrere unserer Verbindung in Klinischer Phase I – III)

„Logistik“ von Arzneimitteln

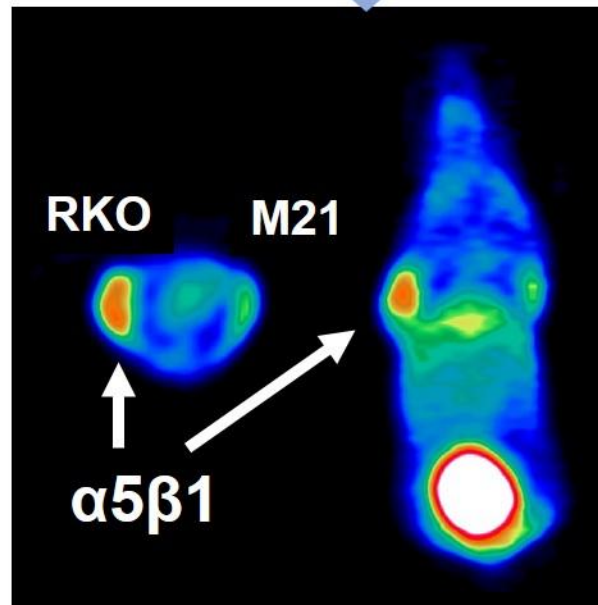
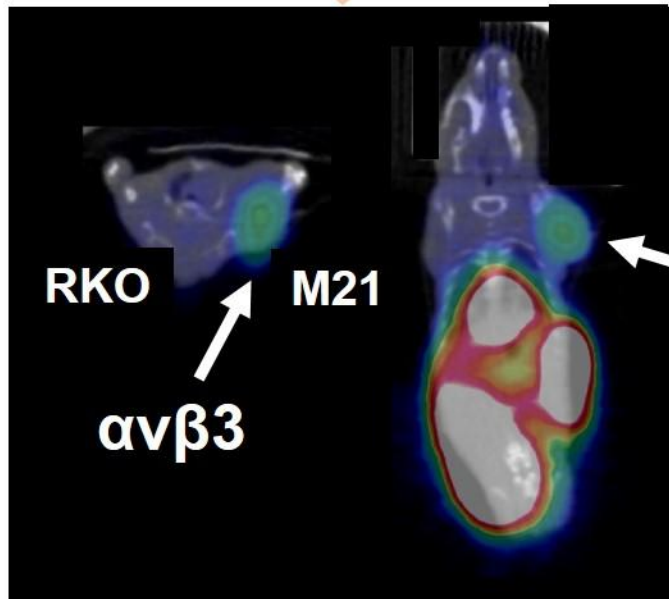
(gezielter Transport von zytotoxischen Reagentien zum Krebs)

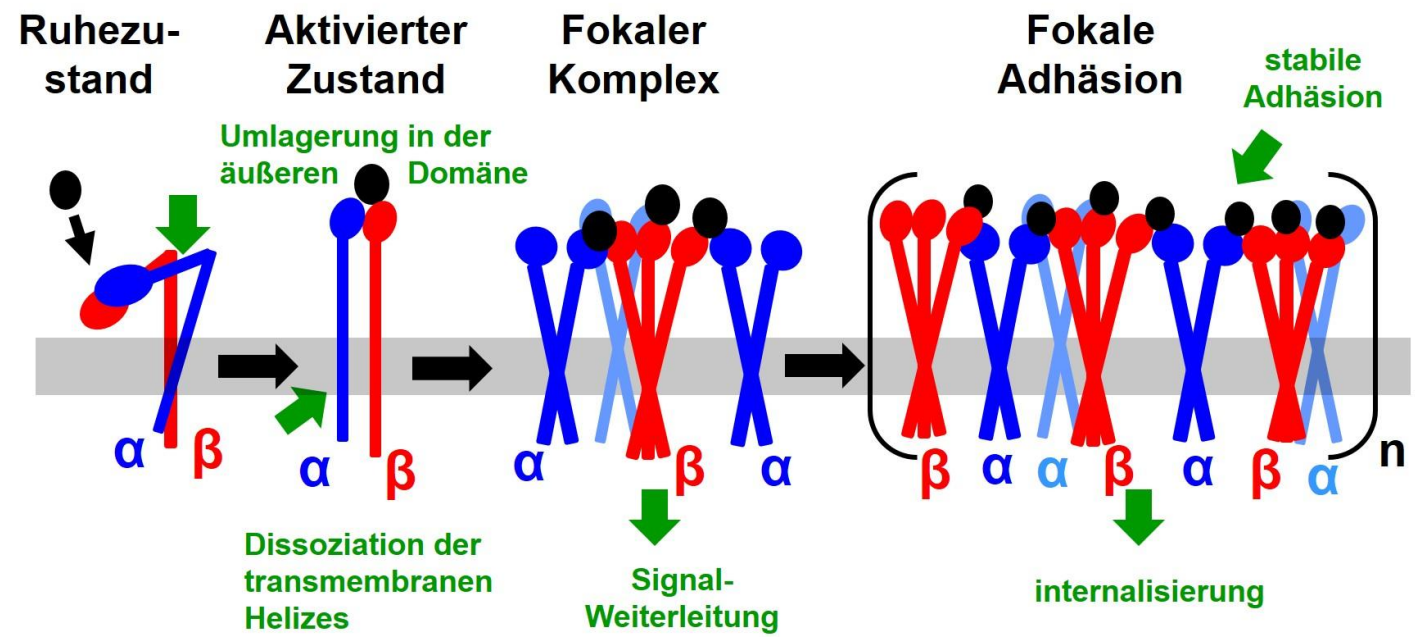
Charakterisation of different tumours via PET using ^{68}Ga



**one mouse
two tumours**

chelator: NODAGA for ^{68}Ga

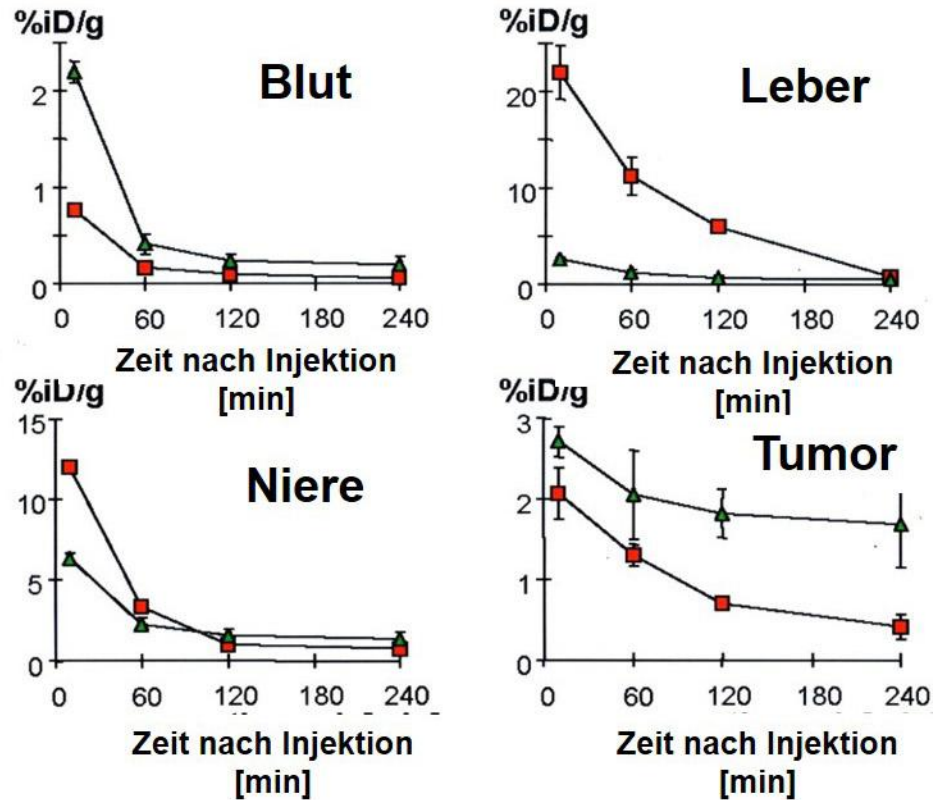




Improvement of bioavailability

A Konzentration im Gewebe

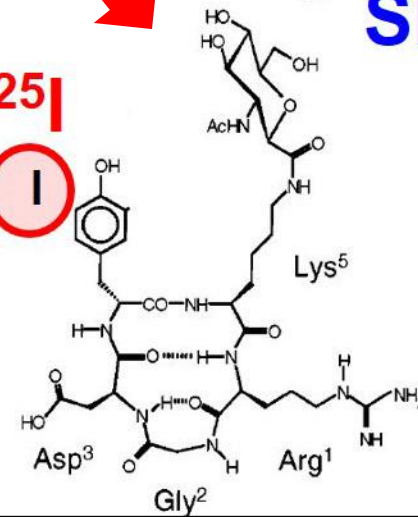
■ *c(Arg-Gly-Asp-D(L)Tyr-Val)*: Log P = -1.89
 ▲ I-Gluco-RGD: Log P = -2.45



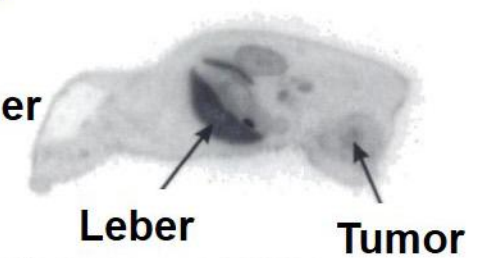
Sugar amino acids, SAA

B SPECT

¹²⁵I



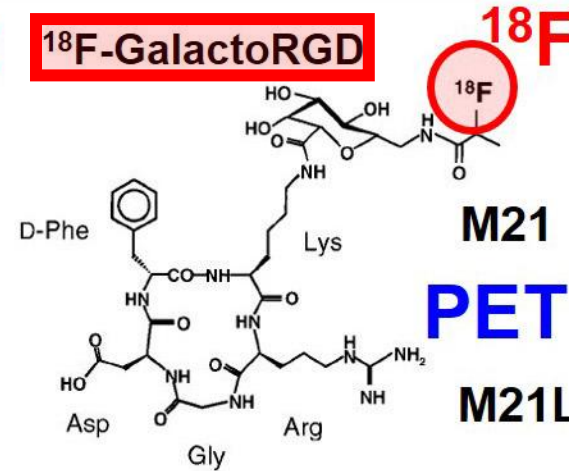
nach einer Stunde



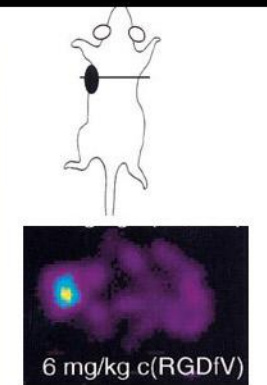
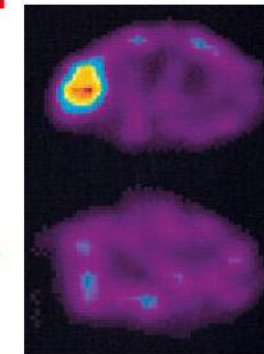
nach zwei Stunden



C ¹⁸F-GalactoRGD



PET

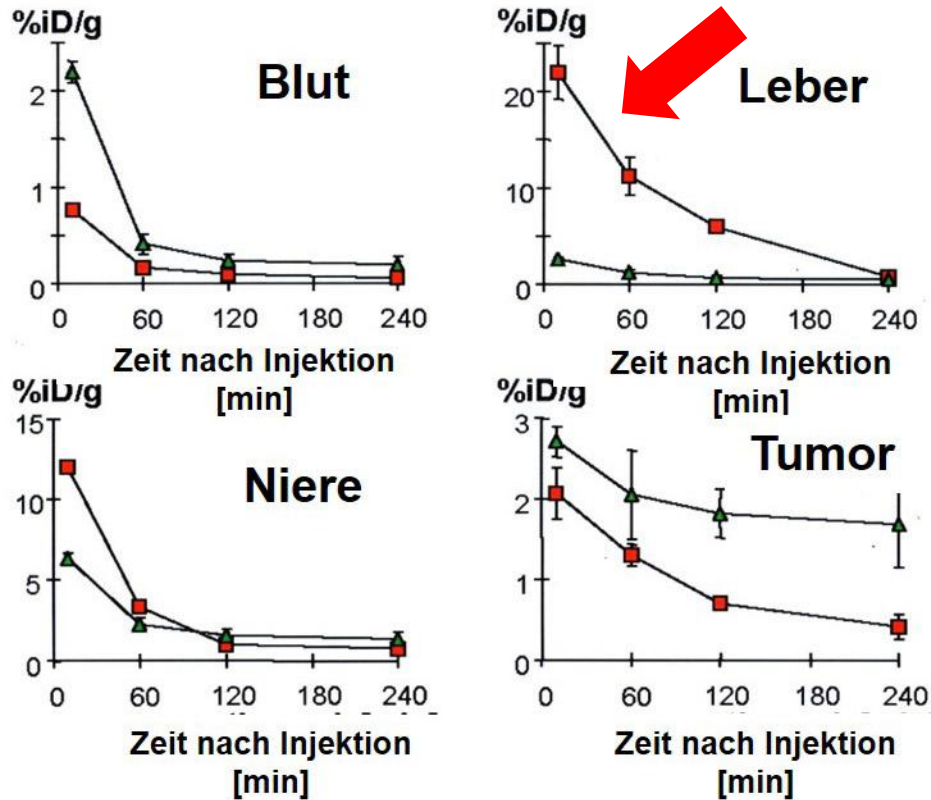


Blockierung

Verbesserung der Bioverfügbarkeit

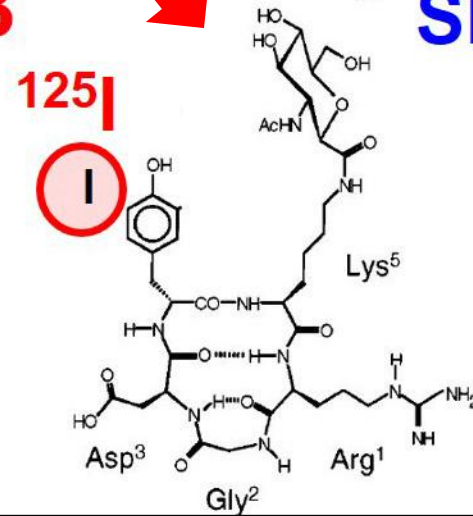
A Konzentration im Gewebe

- *c(Arg-Gly-Asp-D(I)Tyr-Val)*: **Log P = -1.89**
- ▲ I-Gluco-RGD: **Log P = -2.45**



Zuckeraminosäure zur Verminderung der Lipophilie

B **SPECT**



nach einer
Stunde

Leber

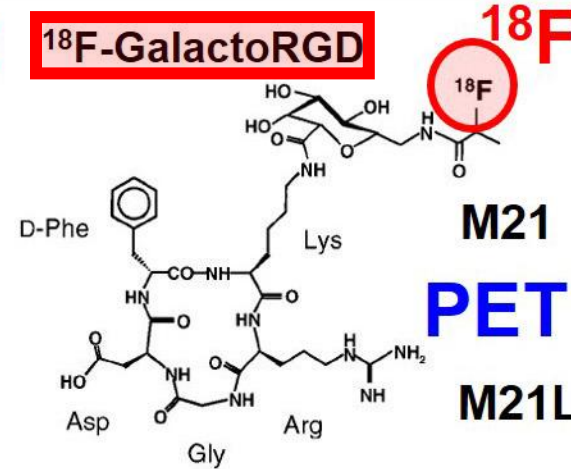
Tumor

nach zwei
Stunden

Darm

Tumor

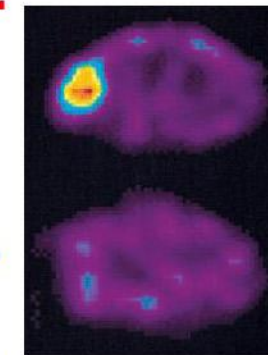
C ^{18}F -GalactoRGD



M21

PET

M21L

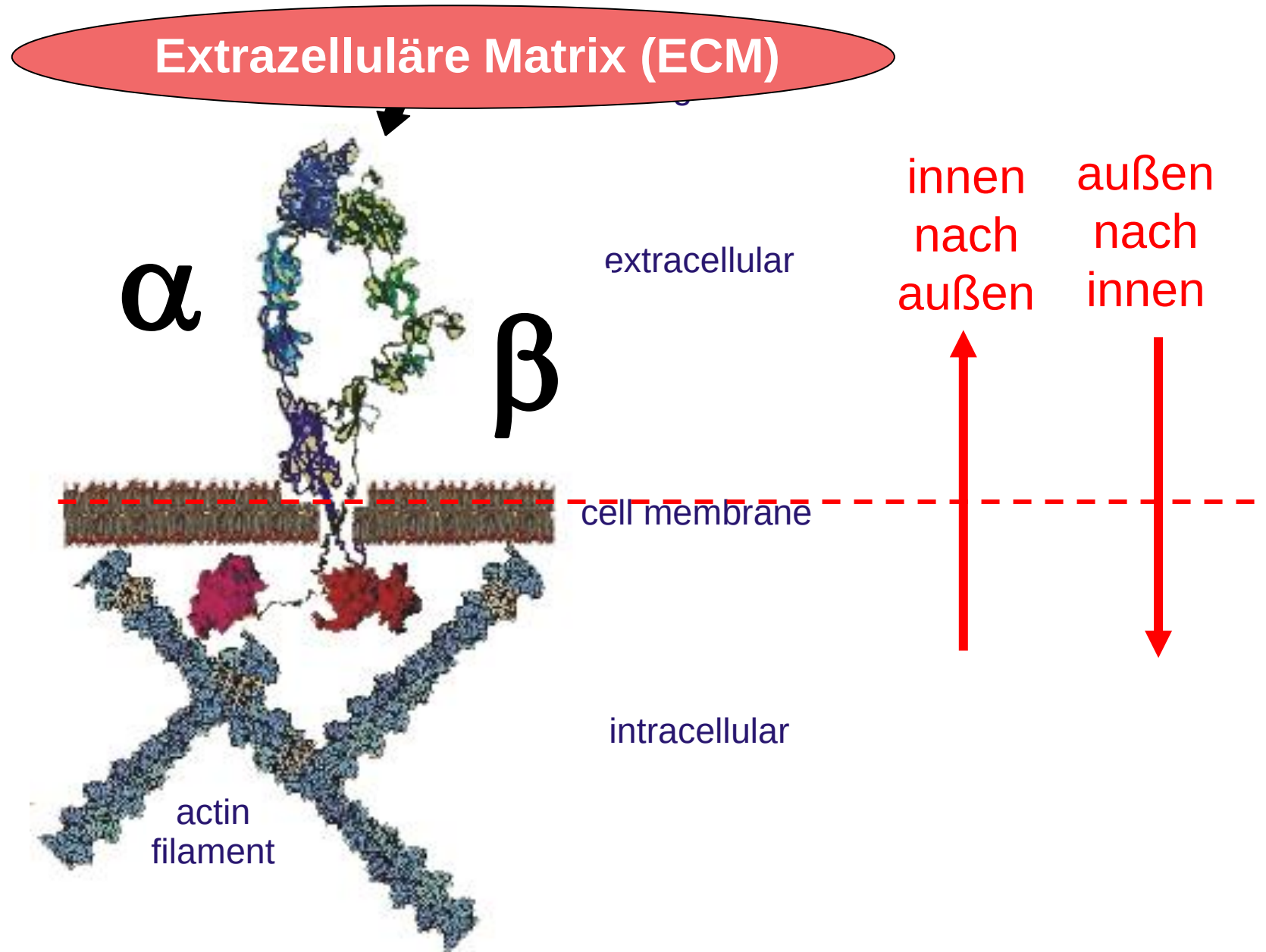


6 mg/kg c(RGDfV)

Blockierung

Blockierung

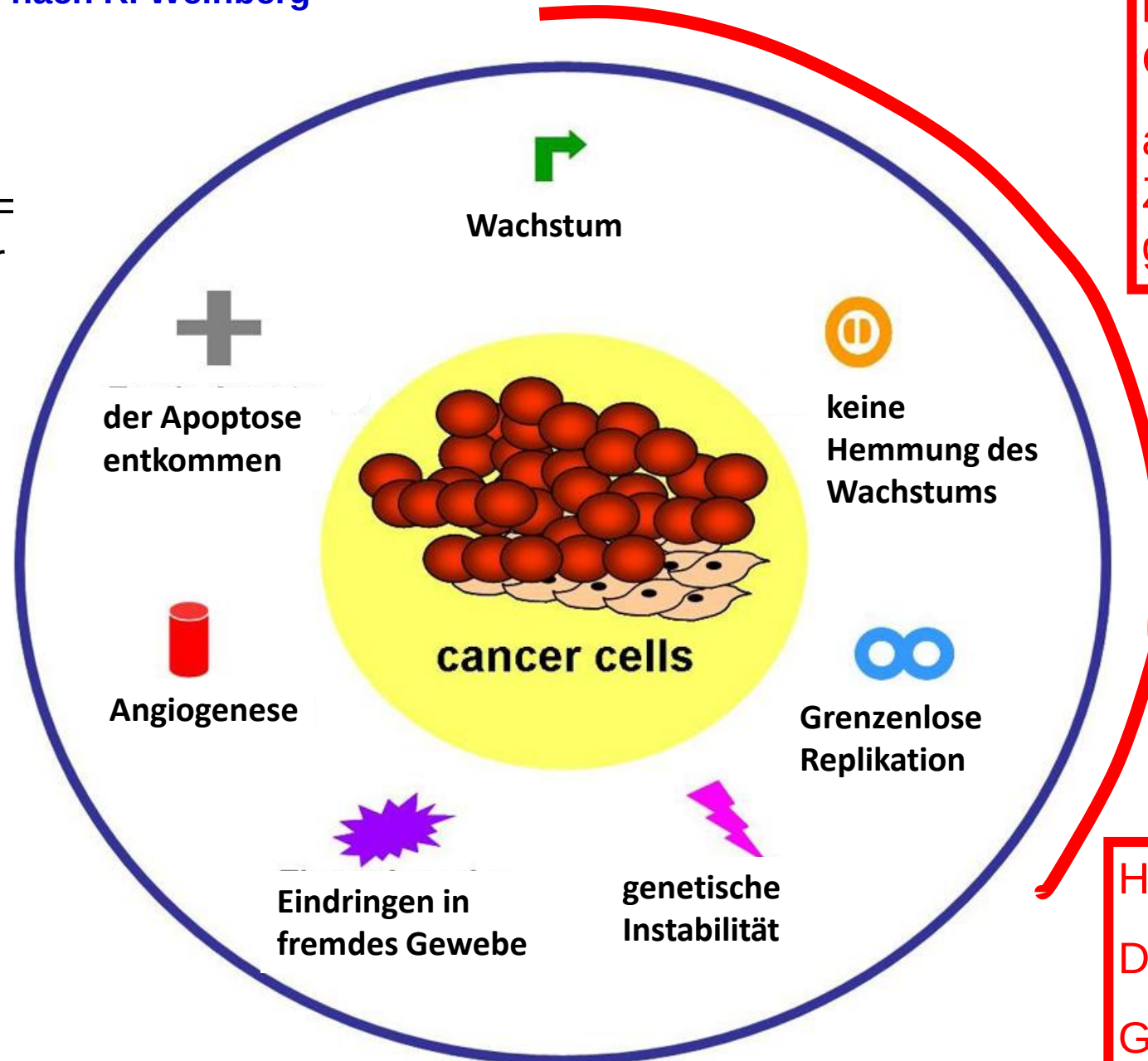
Integrine sind bidirektionale Adhäsionsrezeptoren



Kennzeichen von Krebs nach R. Weinberg

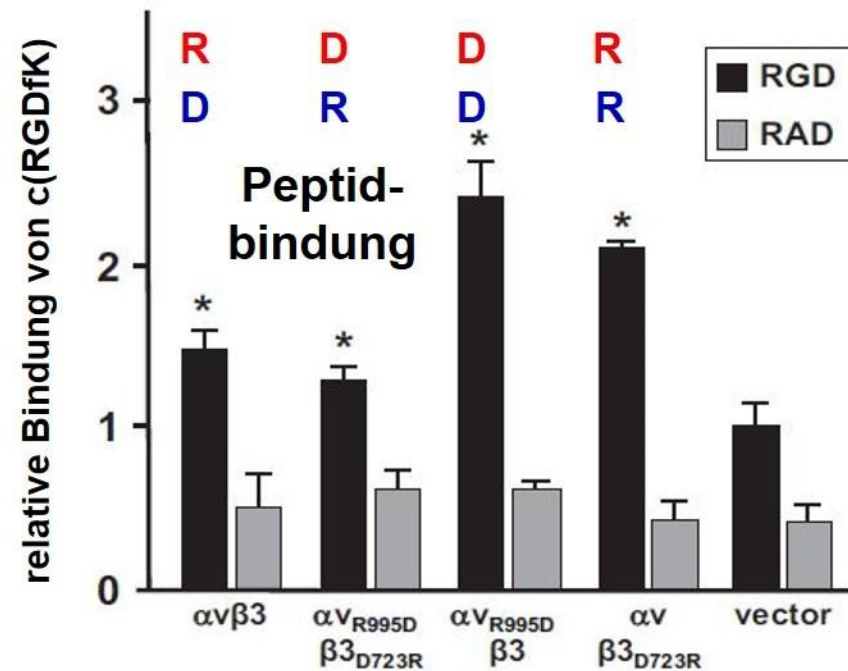
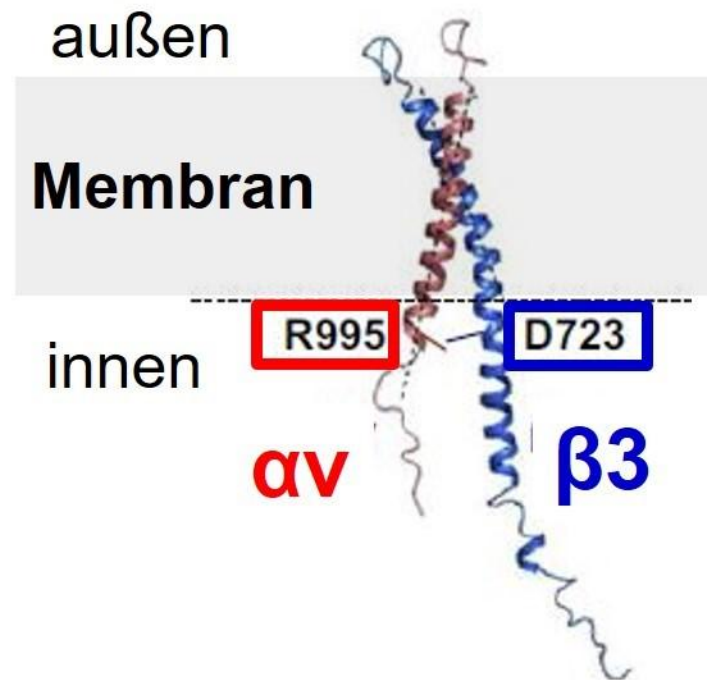
Apoptose =
natürlicher
Zelltod

Angiogenese
= Bildung
neuer
Blutgefäße

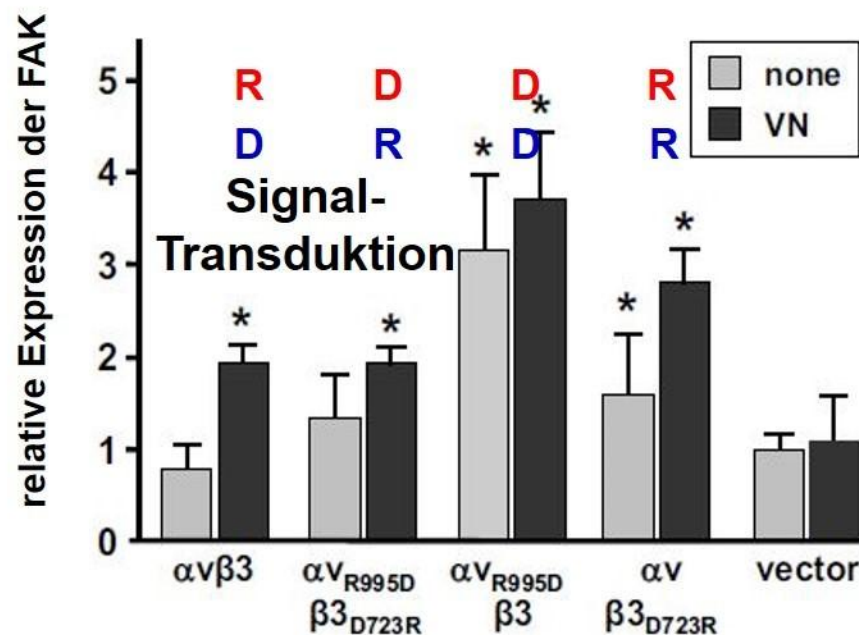
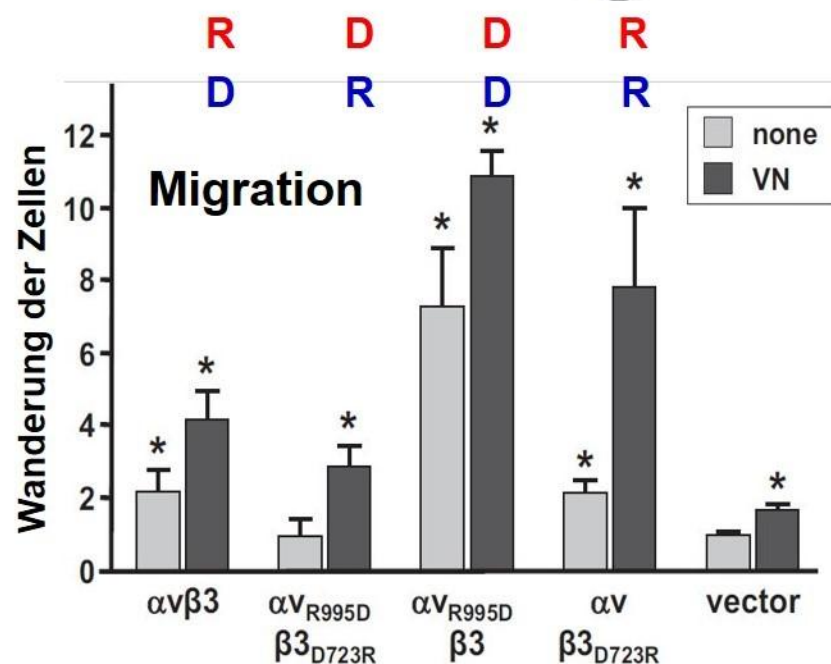


klassische
Chemotherapie:
alle wachsenden
Zellen werden
getötet

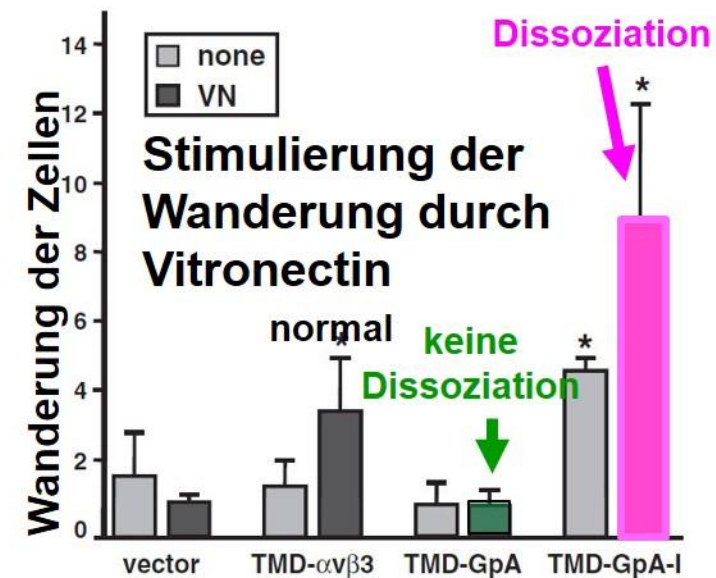
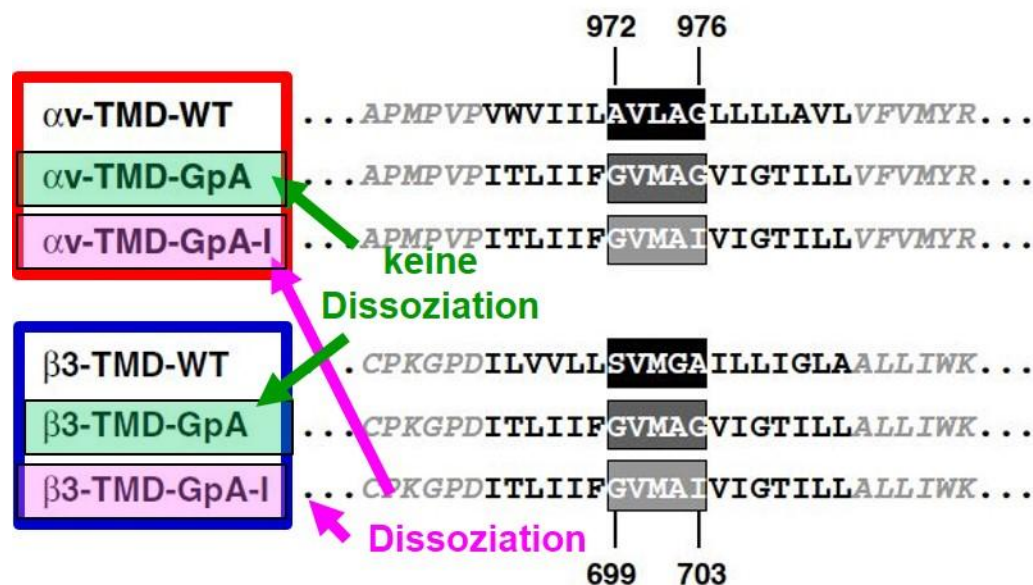
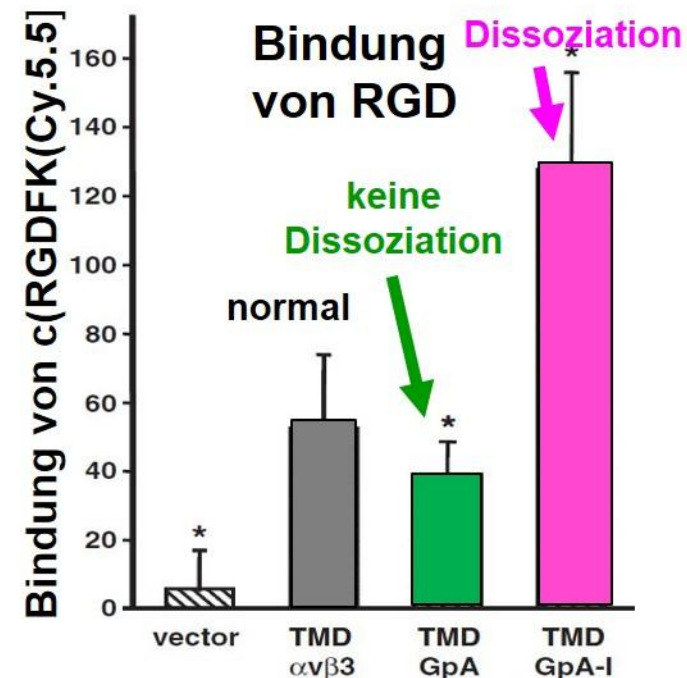
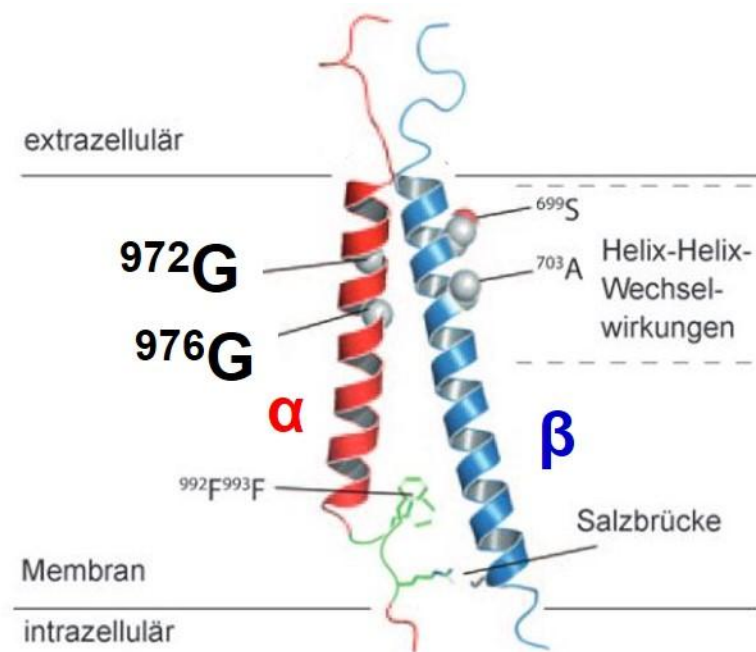
Haarausfall
Darmprobleme
Geschlechtszellen



Ute Reuning



Kay Gottschalk



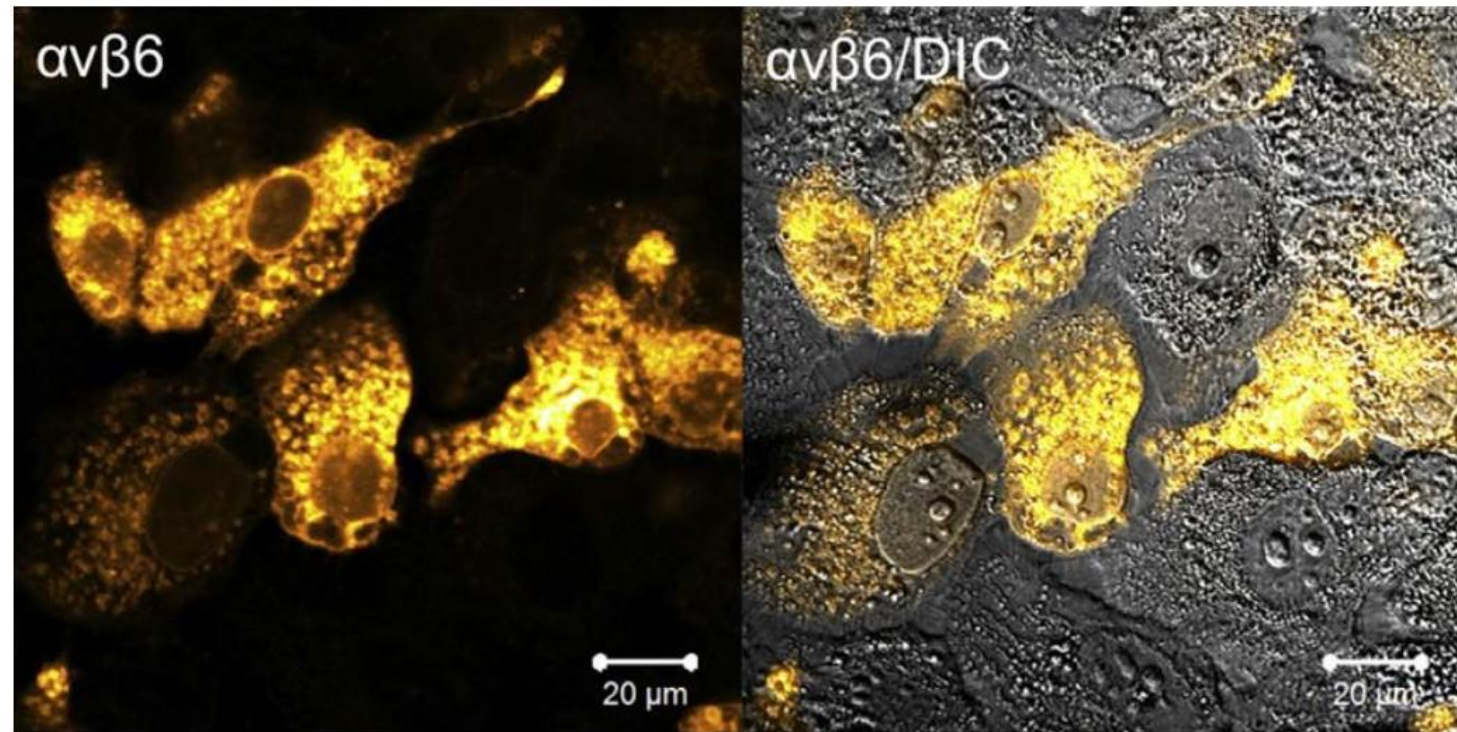
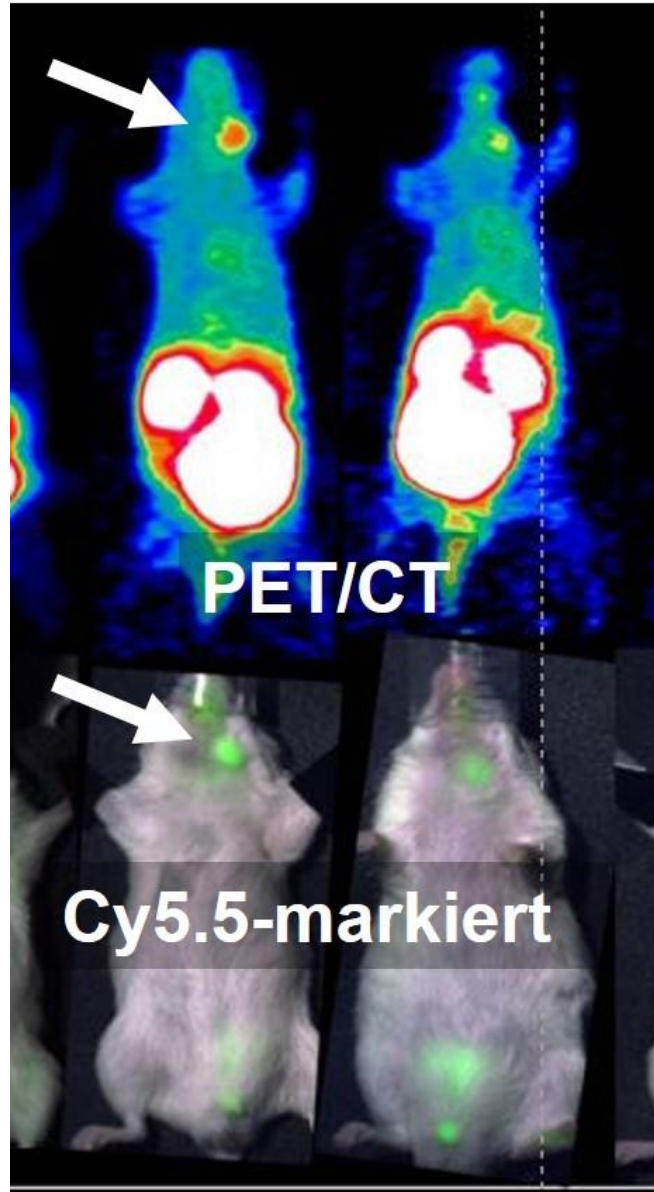
Intraoperative Bildgebung

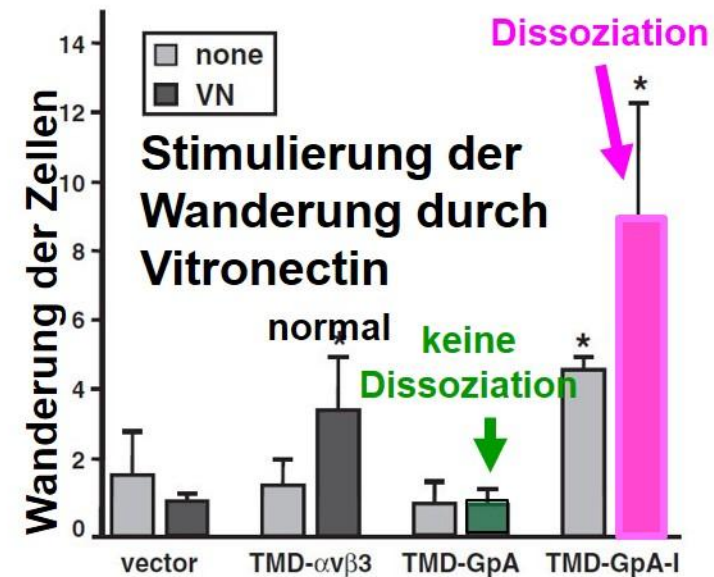
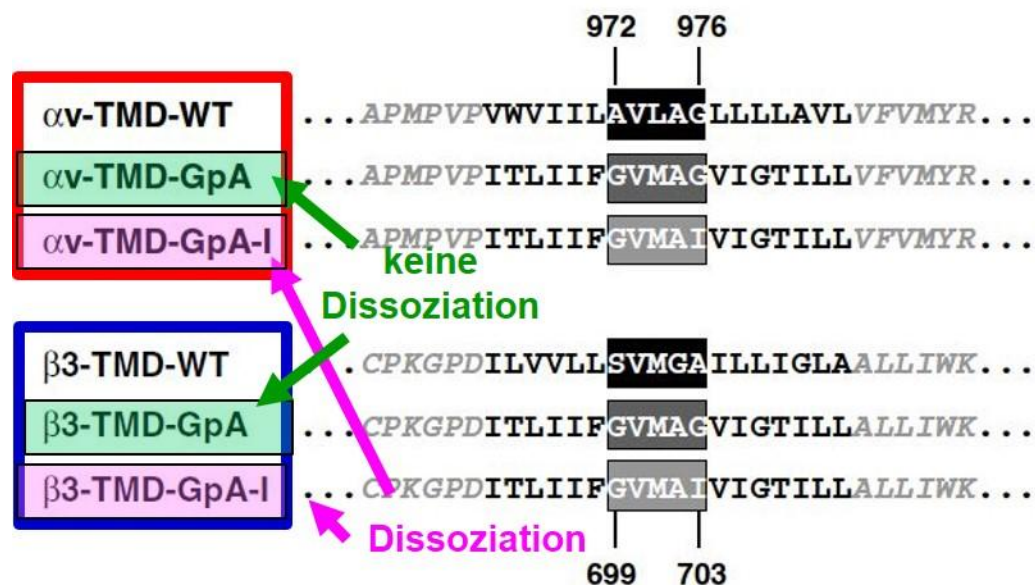
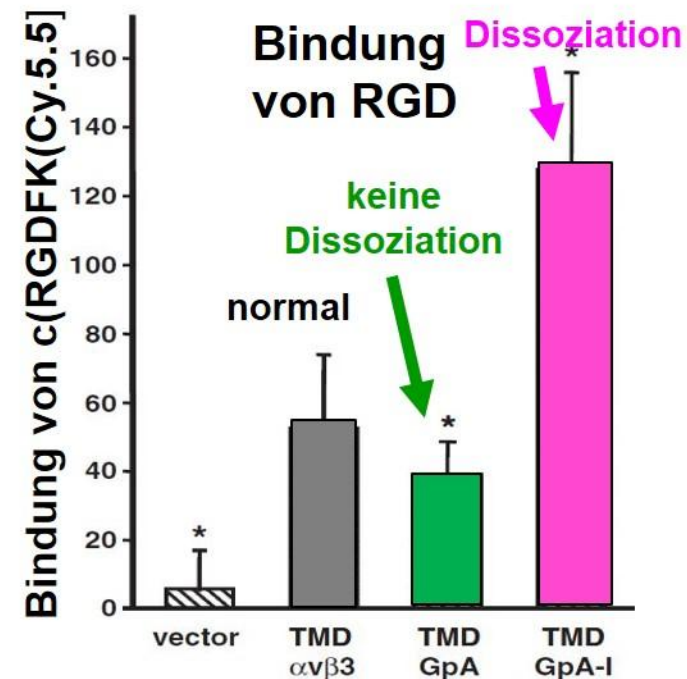
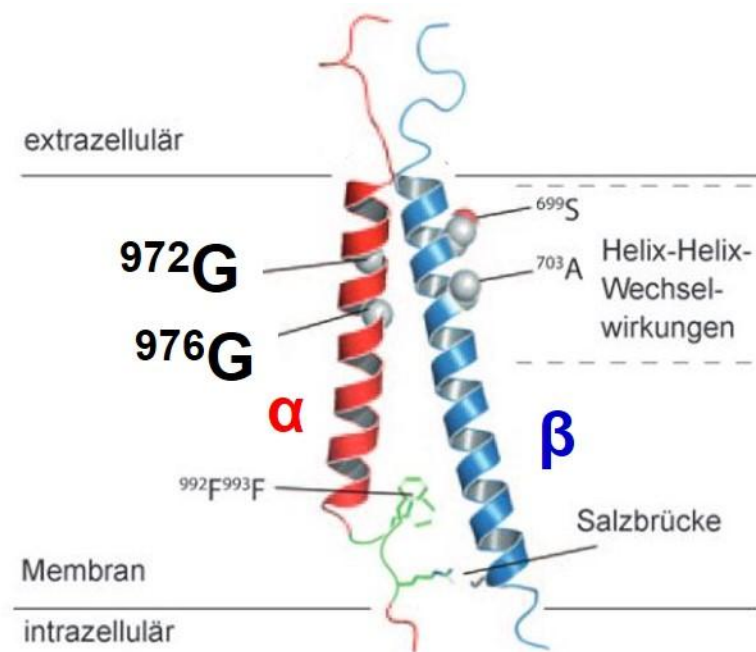
Plattenepithelzellen-Karzinom
und Integrin $\alpha\beta6$ Erkennung
mit unserem Cyclononapeptid

Überlagerung

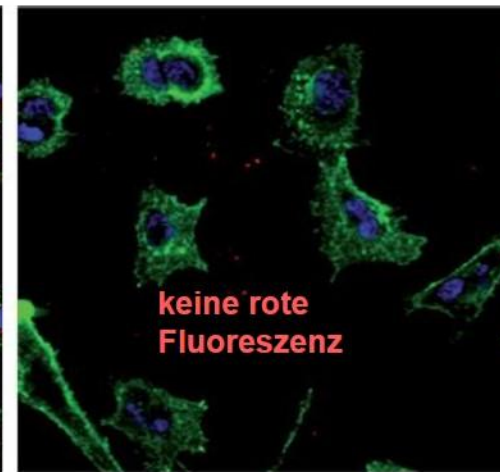
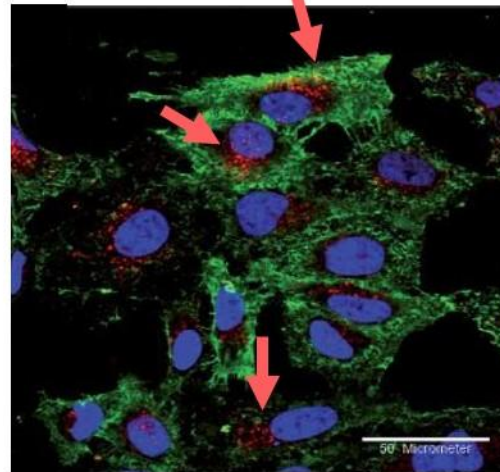
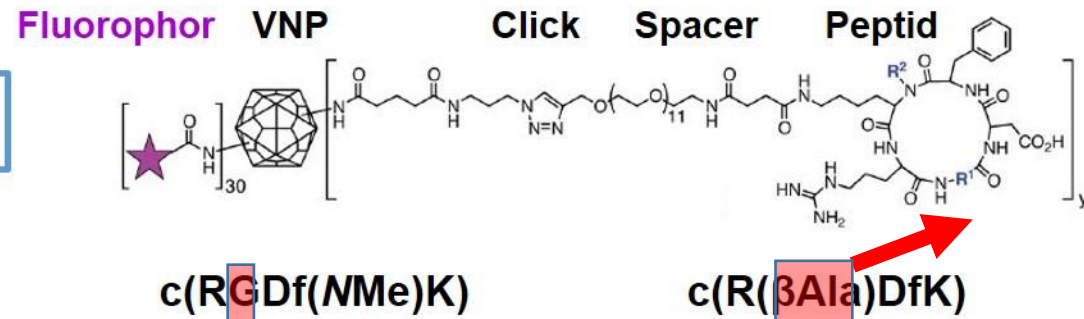
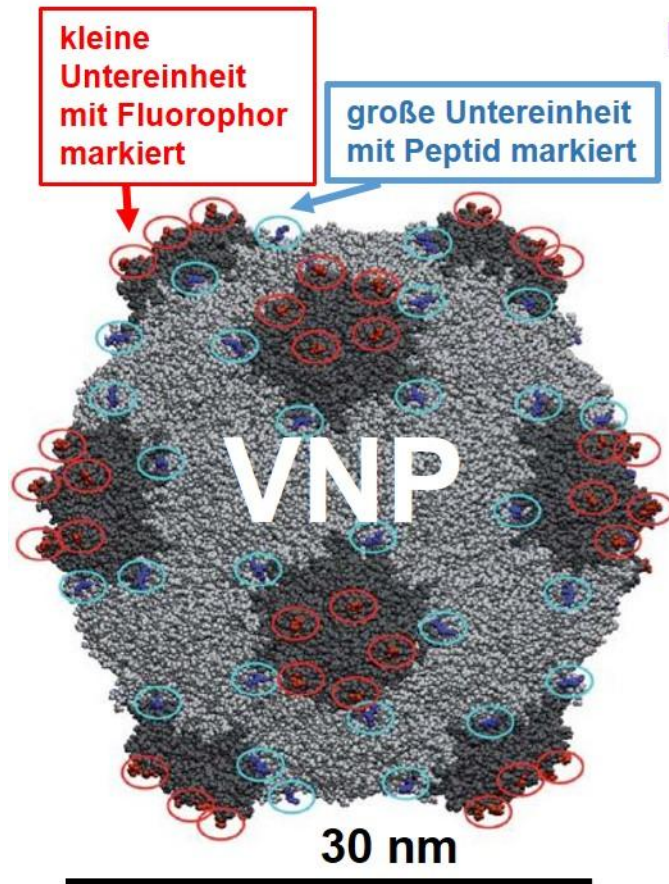
mit dem Differenzial-Interferenz-
Kontrastmikroskopischen Bild

Fluoreszenzbild



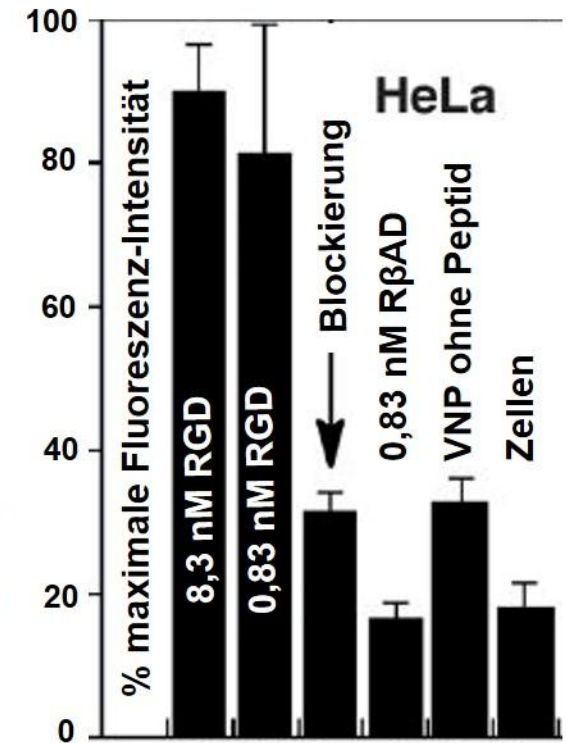


Logistic for targeting drugs



Zellmembran grün angefärbt / Zellkern blau angefärbt

Fluoreszenz



Only the RGD-labelled virus capsides (red fluorescence) are internalized

