

NOTESSynthesen verschiedenartig ^3H -markierter Putrescine

Eingegangen 29. Juni 1970

Wir berichten über mehrere Synthesen von heterotop mit Tritium markiertem Putrescin (1,4-Diaminobutan). Geringe Mengen des beiderseits endständig ^3H -markierten Putrescins hatten wir bereits früher durch thermische ⁽¹⁾ sowie auch durch nichtenzymatische Decarboxylierung mit Pyridoxal-5-phosphorsäure-ester ⁽²⁾ aus Ornithin gewonnen.

Für die Synthesen benützten wir die Mikrohydrierungsapparatur nach Grewe ⁽³⁾. Die Ampullen mit jeweils 1 C trägerfreiem Tritium (NEN Chemicals GmbH) wurden über einen Dreiwegehahn mit dem zum Reaktionsgefäß führenden Kapillarrohr verbunden, die Apparatur davor mehrmals evakuiert und mit reinem Wasserstoff gespült. Nach dem Öffnen der Ampulle trieben wir durch wiederholtes Abfächeln mit einer Bunsenflamme das Tritium vollständig in das Reaktionsgefäß über und rührten dessen Inhalt bis zum Erreichen der theoretisch zu erwartenden Wasserstoffaufnahme.

Zur Herstellung von $[1,4\text{-}^3\text{H}]$ -1,4-Diaminobutan verfahren wir analog der Synthese von ^{14}C -markiertem Putrescin ^(4, 5) aus entsprechend markiertem Bernsteinsäuredinitril, indem wir die Nitrilgruppen in aethanolischer HCl mit PtO_2 als Katalysator reduzierten. Wie schon von mehreren Autoren früher bei anderen Synthesen mit Tritium beschrieben ⁽⁶⁾, lag auch unsere radiochemische Ausbeute weit unter dem theoretischen Wert. Dieses Ausbeute-Defizit läßt sich mit einem ^3H - ^1H -Austausch im Reaktionsmedium erklären. Die unten angegebenen Werte für die spez. Aktivität in Abhängigkeit von einigen Reaktionsparametern zeigen, daß der Tritium-Einbau eindeutig von der Solvensmenge und der Protonenkonzentration im Reaktionsmedium abhängt. So ergab die Tritiierung von Bernsteinsäuredinitril in 5 ml Aethanol unter Zusatz der zur Salzbildung mit dem Reaktionsprodukt notwendigen HCl-Menge eine spez. Aktivität von 5,9 mC/mMol, nach Hydrierung in 1 ml Aethanol 22 mC/mMol. Ganz entsprechende Ergebnisse erhielten wir bei der Synthese des 1,2,3,4- ^3H -markierten Putrescins aus Fumarsäuredinitril; erwartungsgemäß war die spez. Aktivität jeweils etwa doppelt so hoch.

Um die radiochemische Ausbeute zu verbessern, versuchten wir, die Tritiierung in Wasserstoff-freien Medien vorzunehmen. Wir konnten jedoch kein Lösungsmittel finden, in dem unter Beibehalten der angegebenen milden Reaktionsbedingungen die katalytische Hydrierung unserer Ausgangsubstanzen möglich war. Es erscheint fraglich, ob Hydrierungen mit Platinoxid in protonenlosen Medien überhaupt ablaufen können. Nach unseren Beobach-

tungen nehmen nämlich die Reaktionsgeschwindigkeit und die chemische Ausbeute mit sinkendem Protonengehalt des Reaktionsmediums stark ab, während die spez. Aktivität des Hydrierungsproduktes ansteigt. In der Praxis ist man deshalb auf einen Kompromiß angewiesen, der darin besteht, daß man im Interesse einer akzeptablen chemischen und radiochemischen Ausbeute sowie auch annehmbarer Reaktionszeiten ein protonenhaltiges Reaktionsmedium verwendet und dafür eine niedrigere als die theoretisch zu erwartende spezifische Aktivität in Kauf nimmt. Um den Tritium-Verlust niedrig zu halten, sollte man versuchen, mit einem Minimum an Solvens auszukommen. Bei entsprechender Berücksichtigung dieser Fakten lassen sich, wie das dritte Synthesebeispiel, die Tritiiierung von 1,4-Diaminobutan-2, zeigt, recht hohe spez. Aktivitäten erreichen. Hinzu kommt, daß im Gegensatz zur Hydrierung von Bernsteinsäuredinitril und Fumarsäuredinitril die Hydrierung der Dreifachbindung auch ohne Säurezusatz in Alkohol sehr schnell verläuft.

Am Beispiel der Synthese von [2,3-³H]-Putrescin aus 1,4-Diaminobutan-2 läßt sich das Ausmaß der Erniedrigung der effektiven Tritium-Konzentration durch die Wasserstoffatome der beiden primären Aminogruppen abschätzen. Wenn kein Austausch mit dem Aminwasserstoff stattfindet, könnte unter unseren Reaktionsbedingungen theoretisch die maximale spez. Aktivität 1 C/mMol betragen. Findet dagegen eine vollständige Äquilibrierung von ¹H und ³H statt, dann dürfte nur 50 % der angebotenen Aktivität fest in das Putrescin eingebaut werden. Die tatsächlich erhaltene spez. Aktivität liegt mit 644 mC/mMol innerhalb dieser Grenzen und weist auf eine erhebliche Beteiligung des Aminwasserstoffs am Austausch mit Tritium hin.

SYNTHESEN.

[1,4-³H]-1,4-Diaminobutan. — Ansatz : 80 mg (1 mMol) Bernsteinsäuredinitril, 50 mg PtO₂-Katalysator (Degussa) sowie 5 ml abs. Aethanol, das 2 mMol HCl enthielt, wurden bei 30° C zunächst mit reinem Wasserstoff zur Reduktion des Katalysators vorhydriert. Anschließend wurde, wie oben angegeben, mit der ¹H-³H-Mischung bis zur Beendigung der Reaktion weiterhydriert und nach beendeter Wasserstoffaufnahme Katalysator und ausgefallenes Putrescin-Dihydrochlorid durch Zentrifugieren vom Überstand abgetrennt. Das Salz nahmen wir anschließend in Wasser auf und trennten den Katalysator durch Zentrifugation ab. Aus der wässrigen Lösung kristallisiert beim Einengen Putrescin-Dihydrochlorid aus, das mit abs. Aethanol nachgewaschen wird. Ausbeute : 106 mg = 66 % d.Th.; spez. Aktivität : 5,9 mC/mMol. — Etwas höhere spez. Aktivität (22 mC/mMol) erhielten wir bei Verwendung von nur 1 ml Aethanol. — Wesentlich höhere spez. Aktivitäten ergaben sich, wenn man die Bedingungen im Ansatz mit 1 ml Aethanol dahingehend variiert, daß man die notwendige Menge an HCl erst nach beendeter Hydrierung und erfolgter Abtrennung des Katalysators zugibt. Ausbeute : 17,4 % d. Th.; spez. Akt. : 233 mC/mMol.

[1,2,3,4-³H]-1,4-Diaminobutan. — Ansatz : 78 mg (1 mMol) Fumarsäure-dinitril, 30 mg PtO₂-Katalysator und 30 mg Pd/Aktivkohle (Merck), 5 ml Aethanol, 2 mMol HCl. Durchführung der Hydrierung wie oben.

Ausbeute : 44 mg Dihydrochlorid = 27,5 % d. Th.; spez. Akt. : 12,4 mC/mMol. Auch hier erhält man bei Erniedrigung des Lösungsvolumens höhere spez. Aktivitäten.

[2,3-³H]-1,4-Diaminobutan. — Ansatz : 84 mg (1 mMol) 1,4-Diaminobutin-2^(7, 8), das aus 1,4-Dichlorbutin-2 (Fluka AG, Buchs SG) hergestellt wurde, 15 mg Pd-Aktivkohle (Merck), 0,5 ml Aethanol. Hydrierung wie zuvor beschrieben. Nach beendeter Wasserstoffaufnahme wurde mit 4,5 ml abs. Aethanol verdünnt, der Katalysator abzentrifugiert und das Putrescin durch Zugabe der berechneten Menge äthanol. HCl ausgefällt. Ausbeute : 148 mg = 92,5 % d. Th.; spez. Aktivität : 644 mC/mMol.

H. A. FISCHER, N. SEILER und G. WERNER

Max-Planck-Institut für Hirnforschung, Arbeitsgruppe Neurochemie,
6 Frankfurt/Main, Deutschordenstr. 46, BR-Deutschland

LITERATURVERZEICHNIS

1. FISCHER, H. A., SEILER, N., THOBE, J. und WERNER, G. — *J. Labelled Comp.*, **5** : 377 (1969).
2. FISCHER, H. A., SEILER, N., THOBE, J. und WERNER, G. — *Naturw.*, **55** : 445 (1968).
3. Fa. Erich Eydram, Kiel, Feldstr. 5-7.
4. TABOR, H., ROSENTHAL, S. M. und TABOR, C. W. — *J. Biol. Chem.*, **233** : 907 (1958).
5. GROSS, D., SCHÜTTE, H. R. — *Z. Chem.*, **3** : 192 (1963).
6. EVANS, E. A. — Tritium and its Compounds, London, Butterworths, 1966, 139 ff.
7. KOROBITSYNA, K., YURYEV, YU. K. and SHVEDOVA, S. N. — *J. Gen. Chem. USSR*, 1955, 1861.
8. JOHNSON, A. W. — *J. Chem. Soc.*, 1946, 1009.