

Aminozucker-Derivate des Ferrocens und Ruthenocens -
Synthese und Markierung mit ^{14}C und ^{103}Ru

Michael Schneider und Martin Wenzel
Biol.Chem.Abtteilung,
Pharmazeutisches Institut der Freien Universität Berlin,
Königin-Luise-Str. 2-4, D-1000 Berlin 33 (Germany)

Summary

Glucosamine, galactosamine and mannosamine react with ferrocene- or ruthenocene-carbaldehyde, respectively to yield the corresponding Schiff's bases, which are reduced at the C=N-bond and at the aldehyde function of the sugar moiety. With ^{14}C -labelled amino-sugars or ^{103}Ru -labelled ruthenocene-carbaldehyde the labelled aminohexite compounds of the metallocenes are synthesized.

Key words: Metallocenes, Aminosugars, Glucosamin, ^{103}Ru

Einleitung

Radioaktive Metallocene sind vielseitige Ausgangsprodukte für die Entwicklung von Radiopharmaka, da sie in ihrer chemischen Natur sehr variabel sind (1,2). Über die Synthese und biochemischen Eigenschaften einiger lipophiler Metallocen-Derivate wurde bereits berichtet (1-4).

Als Beispiel für hydrophile Verbindungen beschreiben wir hier die Synthese einiger Aminozucker-Derivate. Es handelt sich dabei um

N-(Ferrocenylmethylen)glucosamin, -galactosamin und
-mannosamin, Tetra-O-acetyl-N-(ferrocenylmethylen)glucosamin,
2-Amino-N-ferrocenylmethyl)2-desoxysorbit, - dulcit und mannit.

Die Aminohexit-Verbindungen wurden mit dem γ -Strahler ^{103}Ru
markiert. Bei dem Aminosorbit-Derivat führten wir eine Dop-
pelmarkierung mit ^{103}Ru und ^{14}C durch.

Synthese der inaktiven Ferrocen-Derivate

=====

Eine allgemein anwendbare Methode zur Darstellung von Amino-
verbindungen des Ferrocens beruht auf der Kondensation von
Ferrocencarbaldehyd mit einem primären Amin. Anschließende
Reduktion der meist sehr hydrolyseempfindlichen Schiffischen
Basen führt zu den entsprechenden sekundären Aminen.

Die Hydrochloride von Glucosamin, Galactosamin und Mannosamin
konnten in Methanol/Wasser (1:1) in Gegenwart von NaHCO_3 bei
 50°C glatt zu den Azomethinen kondensiert werden. Diese
kristallisierten beim Abkühlen aus der Reaktionslösung.
Dünnschichtchromatographische Reinigung gelang nicht, da auf
den Kieselgelplatten sofort Hydrolyse erfolgte und nur die
Spaltprodukte zu identifizieren waren.

Als erheblich hydrolysestabiler erwies sich das tetraacety-
lierte Kondensationsprodukt aus Ferrocencarbaldehyd und
Glucosamin, Tetra-O-acetyl-N-(ferrocenylmethylen)glucosamin.
Diese Substanz ließ sich auf Kieselgelplatten in Chloroform/
Aceton (9:1) als Laufmittel gut chromatographisch reinigen.
Die Synthese gelang durch Kondensation von Tetra-O-acetyl-
glucosamin-hydrochlorid mit Ferrocencarbaldehyd sowie durch

Acetylierung der Schiffschen Basen aus Glucosamin und Ferrocencarbaldehyd. Für die beabsichtigten biochemischen Untersuchungen mußten die Azomethine wegen ihrer Hydrolyse-Empfindlichkeit reduziert werden. Am vorteilhaftesten erwies sich die katalytische Hydrierung in absolutem Ethanol in Gegenwart von PtO_2 .

Wie sich anhand der massenspektroskopischen Untersuchungen herausstellte, wurde unter den gewählten Bedingungen nicht nur die C=N-Doppelbindung, sondern auch die Aminozucker-Aldehydfunktion hydriert. Es bildeten sich also die Ferrocen-Derivate der entsprechenden 2-Amino-2-desoxy-hexite (Glucosamin \longrightarrow Aminosorbit, Galactosamin \longrightarrow Aminodulcit, Mannosamin \longrightarrow Aminomannit) (s.Tab.).

Radioaktive Markierung

Bei der Entwicklung von Radiopharmaka ist die Markierung mit einem γ -Strahler Voraussetzung, da sich nur dessen Strahlung außerhalb des Körpers nachweisen läßt.

Ein von uns entwickeltes Verfahren des thermischen Zentralatomaustausches an Ferrocen (5,6) erlaubt es, das inaktive Eisenatom gegen das γ -strahlende Ruthenium-Isotop ^{103}Ru auszutauschen. Dieses Verfahren führt jedoch bei den Aminozucker-Derivaten zu extrem schlechten Ausbeuten. Daher wurde aus Ferrocen zunächst durch Erhitzen mit $^{103}\text{RuCl}_3$ [^{103}Ru] Ruthenocen dargestellt, das über Vilsmeier-Formy-

lierung zum Aldehyd derivatisiert und dann mit den Aminozuckern kondensiert wurde. Für die ^{14}C -Markierung wurde käufliches $[\text{1-}^{14}\text{C}]$ Glucosamin für die Kondensation eingesetzt.

Die Doppelmarkierung mit ^{103}Ru und ^{14}C erlaubt, Aussagen über die Stabilität des Zucker-Derivats im Tierversuch zu machen. Über die biochemischen Befunde wird gesondert berichtet.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die Unterstützung dieser Arbeiten.

Experimenteller Teil

=====

Tetra-O-acetylglucosamin-hydrochlorid wurde nach (7,8) synthetisiert.

N-Ferrocenylmethylenlucosamin: 1.0 g (4.63 mmol) Glucosaminhydrochlorid wurde mit 1.0 g (4,69 mmol) Ferrocencarbaldehyd und 0.3 g NaHCO_3 in 5 ml Wasser und 3 ml Methanol 10 min auf $40\text{-}50^\circ\text{C}$ erwärmt. Im Kühlschrank kristallisierte die Schiff'sche Base in hellbraunen Plättchen. Ausb. 1.3 g (74.9 %), Schmp. $126\text{-}128^\circ\text{C}$ (140°C Zersetzung).

Dünnschichtchromatographie war nicht möglich, da auf Kieselgelplatten sofort Hydrolyse erfolgt.

$\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{FeNO}_5$ (375.2) Ber. C 54.4 H 5.6 N 3.7

Gef. C 53.1 H 5.8 N 3.8 Molmasse 375(MS)

2-Amino-N-(ferrocenylmethyl)-2-desoxysorbit: 430 mg (1.15 mmol) N-(Ferrocenylmethylenglucosamin wurden in 50 ml absol. Ethanol unter Zusatz von 20 mg PtO₂ 5 h bei 50°C unter einem H₂-Druck von 4 bar geschüttelt. Anschließend wurde mit weiterem Ethanol die ausgefallene gelbe Substanz in Lösung gebracht und der Katalysator abfiltriert. Nach dem Eindampfen wurde die Substanz aus Ethanol umkristallisiert. Ausb. 295 mg (67.7 %), Schmp. 230°C (Zersetzung).

R_F-Werte (Kieselgel):

a) Dichlorethan/Essigsäure/Methanol/Wasser (50:25:15:10)= 0,39

b) 1-Propanol/Essigester/Wasser/Ammoniak (50:10:30:10)= 0,57

C₁₇H₂₅FeNO₅ (379.2) Ber. C 53.8 H 6.6 N 3.7

Gef. C 53.6 H 6.2 N 3.4 Molmasse 379 (MS)

Tetra-O-acetyl-N-(ferrocenylmethylen)glucosamin

a) Kondensation von Tetra-O-acetylglucosamin mit Ferrocencarb-
aldehyd: 1.6 g (4.18 mmol) Tetra-O-acetylglucosamin-hydrochlorid wurden mit 1.0 g (4.67 mmol) Ferrocencarbalddehyd und 0.3 g NaHCO₃ in 10 ml Methanol/Wasser (1:1) suspendiert und 30 min auf 60°C erwärmt. Nach Filtration wurde die klare Lösung 48 h auf 0°C gekühlt, wobei die Schiffsche Base in gelbbraunen Plättchen auskristallisierte. Die Substanz wurde abgesaugt und mit Ethanol gewaschen. Ausb. 0.5 g (22 %), Schmp. 151°C.

R_F-Wert (Kieselgel): Chloroform/Aceton (9:1)= 0.35.

C₂₅H₂₉FeNO₉ (543.4) Ber. C 55.2 H 5.3 N 2.6

Gef. C 56.3 H 5.6 N 2.5 Molmasse 543 (MS)

b) Acetylierung von N-(Ferrocenylmethyl)glucosamin:

N-(Ferrocenylmethyl)glucosamin wurde unter Eiskühlung mit Pyridin/Acetanhydrid (1:1) versetzt und 24 h bei Raumtemp. stehengelassen. Anschließend wurde in Eis-Wasser gegossen und der abgesaugte Niederschlag aus Methanol/Wasser umkristallisiert. Die Substanz ist mit der unter a) dargestellten identisch.

Reaktionen mit Galactosamin und Mannosamin.

Die Synthese von 2-Amino-N-(ferrocenylmethyl)-2-desoxydulcit erfolgte wie beim Sorbit-Derivat durch Hydrierung der Schiffschen Base aus Ferrocencarbaldehyd und Galactosamin; 2-Amino-N-(ferrocenylmethyl)-2-desoxymannit wurde analog aus Ferrocencarbaldehyd und Mannosamin erhalten. Die Identifizierung erfolgte auf massenspektroskopischem Wege (s.Tab.). Die Reinheit wurde durch DC geprüft. Ausb. an Dulcit-Derivat 15 %, an Mannit-Derivat 17 %. Die R_F -Werte sind mit denen des Sorbit-Derivates identisch.

Darstellung der [^{103}Ru]Ruthenocen-Derivate

[^{103}Ru]Ruthenocencarbaldehyd (aus [^{103}Ru]Ruthenocen durch Vilsmeier Formylierung (9)) wurde mit den Aminozucker-hydrochloriden entsprechend den inaktiven Ferrocen-Derivaten kondensiert und anschließend in Gegenwart von PtO_2 in absol. Ethanol hydriert. Die Reinigung und Identifizierung erfolgte durch Chromatographie mit den jeweiligen inaktiven Referenzsubstanzen.

Darstellung des $[1-^{14}\text{C}]$ Sorbit-Derivates von $[^{103}\text{Ru}]$ Ruthenocen

36 μCi $[1-^{14}\text{C}]$ Glucosamin-hydrochlorid (spezif. Akt. 4 $\mu\text{Ci}/\mu\text{mol}$) wurden mit 3 mg Ruthenocencarbaldehyd wie beim Ferrocen-Derivat beschrieben kondensiert und anschließend hydriert. Die Reinigung erfolgte durch DC in 1-Propanol/Essigester/Wasser/Ammoniak (50:10:30:10). Ausb. 5 μCi = 13.2 %.

Radioaktivitäts-Messung

Die Radioaktivitäts-Messung des ^{103}Ru erfolgte im Gamma-Probenwechsler und mit dem "Dünnschicht-Scanner" der Fa. Berthold, 7547 Wildbad (Deutschland). ^{14}C wurde mit dem Flüssig-Szintillationszähler "Beta-Szint" und - nach Radiochromatographie - mit dem "Dünnschicht-Scanner" gemessen.

Literatur:

1. M. Wenzel, E. Nipper und W. Klose,
J.Nucl.Med. 18, 367-372 (1977)
2. M. Wenzel, N. Subramanian und E. Nipper,
Naturwissensch. 63, 341 (1976)
3. M. Wenzel, R. Herken und W. Klose,
Z. Naturforsch. 32c, 473 (1977)
4. A. Taylor, und M. Wenzel,
Biochem.J. 172, 77-82 (1978)
5. D. Langheim, M. Wenzel und E. Nipper,
Chem.Ber. 108, 146-154 (1975)
6. M. Schneider und M. Wenzel,
J.Lab.Comp. 15, 295-307 (1978)
7. J.C. Irvine und J.C. Earl,
J.Chem.Soc. 121, 2376-2381 (1922)
8. Th. White,
J.Chem.Soc. 1498-1500 (1938)
9. M. Wenzel, M. Schneider und E. Liss,
Z. Naturforsch., im Druck

Tab. Massenspektren^{*)}

Verbindung	Fragment-Ion	m/e	Intensität				
			-sorbit	-dulcit	-mannit		
N-(Ferrocenylmethylen)-glucosamin	M ⁺	375					
	M ⁺ - H ₂ O	357					
	Fc-CH ₂ -NH ⁺	214					
	Fc-CH ₂	199					
	Fc ⁺	186					
	C ₅ H ₅ Fe ⁺	121					
Tetra-O-acetyl-N-(ferrocenylmethylen)-glucosamin	M ⁺	543					
	M ⁺ - 4CH ₃	483					
	Fc-CH ₂ -NH ⁺	214					
	Fc-CH ₂	199					
	Fc ⁺	186					
	C ₅ H ₅ Fe ⁺	121					
2-Amino-(ferrocenylmethyl)-2-desoxyhexite			Derivat von Amino				
			-sorbit	-dulcit	-mannit		
			M ⁺	379	22	21	15
			M ⁺ - H ₂ O	361	1	2	1
			Fc-CH ₂ -NH ⁺	214	2	9	11
			Fc-CH ₂	199	100	100	100
			Fc ⁺	186	5	18	21
C ₅ H ₅ Fe ⁺	121	22	90	95			

*) Fc = Ferrocenyl