

Synthesen von [ $^{191}\text{Os}$ ]-Osmocen-Derivaten und Vergleich ihrer Organ-

Verteilung mit Ruthenocen-Derivaten bei Mäusen

Gert Schachschneider und Martin Wenzel

Biol.Chem. und Isotopen Abt., Pharm.Institut, Freie Universität Berlin,  
D 1 - Berlin 33 (Deutschland)

Summary

By the exchange of the central atom of ferrocenes with  $^{191}\text{OsCl}_4$  in the presence of HCl labelled osmocenes were gained with radiochemical yields up to 45 %. The organ-distribution of the labelled osmocenes were compared with that of the homologous ruthenocenes and that of the  $\text{OsCl}_4$  and  $\text{RuCl}_3$ .

Key words:  $^{191}\text{Os}$ , osmocene, ruthenocene, organ-distribution

Einleitung

Nach wie vor besteht ein Interesse an der Weiterentwicklung der verfügbaren Palette von Radiopharmaka. Eine Möglichkeit, variierbare Moleküle mit  $\gamma$ -Strahlern zu markieren, ergibt sich durch Cyclopentadienyl-Komplexe von Metallen. Man erhält dabei radioaktive Metallocene (1-3). So gelingt es in einer Ein-Stufen-Reaktion, verschiedene radioaktive Ruthenocene leicht aus den entsprechenden nicht radioaktiven Ferrocen-Derivaten durch Thermo-Austausch mit radioaktivem Rutheniumchlorid zu synthetisieren (2,3,4).

Bei der analogen Übertragung dieses Verfahrens zur Herstellung von radioaktiven Osmocen-Derivaten (Erhitzen von Ferrocen-Derivaten mit  $^{191}\text{OsCl}_4$ )

erhielten wir nur sehr geringe Ausbeuten von ca. 1 %. Auch bei Zusatz von Zinndichlorid zur Reduktion von  $\text{Os}^{4+}$  zu  $\text{Os}^{2+}$  (Osmocen enthält zweiwertiges Osmium) führte zu keiner wesentlichen Verbesserung (1). Setzt man jedoch einer Mischung von Ferrocen-Derivaten und radioaktivem Osmocentetrachlorid Salzsäure zu, so steigen die Ausbeuten um mehr als das 10fache. Nach diesem Verfahren konnten verschiedene Osmocen-Derivate mit Ausbeuten zwischen 7-45 % hergestellt werden. Bezogen auf das eingesetzte  $\text{OsCl}_4$  ist die chemische Ausbeute identisch mit radiochemischen Ausbeuten. Die spezifische Radioaktivität beträgt - entsprechend der spezifischen Aktivität des eingesetzten radioaktiven  $\text{OsCl}_4$  - 50 -  $0,1 \mu\text{Ci}/\mu\text{Mol}$  Osmocen-Derivat. Dieser Wert erniedrigt sich ca. um den Faktor 50, falls das inaktive Ferrocen-Derivat in die Berechnung mit einbezogen wird ( $\mu\text{Ci}/\mu\text{Mol}$  Metallocene), Versuchsbedingungen und Ergebnisse sind in Tab. 1 zusammengefaßt.

Da die Osmocen-Derivate (5) wegen ihrer strukturellen Ähnlichkeit mit den analogen Ferrocen- bzw. Ruthenocen-Derivaten bei der Dünnschicht-Chromatographie annähernd die gleichen  $R_F$ -Werte aufweisen, konnten mit Hilfe dieser Kenntnisse die synthetisierten radioaktiven Osmocen-Verbindungen chromatographisch von den radioaktiven Verunreinigungen abgetrennt werden. Bei der Rechromatographie der so abgetrennten radioaktiven Osmocen-Derivate in anderen Laufmittelsystemen erwiesen sich alle Verbindungen radiochemisch rein. Zur weiteren Identifizierung der isolierten Osmocen-Derivate wurden Massenspektren aufgenommen. Dabei zeigten alle Osmium-haltigen Molekül-Bruchstücke die charakteristische Isotopenverteilung des Osmiums.

Organ-Verteilung

Ruthenocen und Osmocen sind unter biologischen Bedingungen deutlich stabiler als Ferrocen (6), somit erschienen radioaktive Osmocen-Derivate als ebenso biochemisch interessant wie die analogen Ruthenocen-Derivate. Es wurden deshalb von den markierten Osmocen-Derivaten die Organ-Verteilung bei Mäusen untersucht. Besonders interessant erschien uns dabei ein Vergleich der Organ-Verteilung zwischen den jeweiligen Derivaten des Ruthenocens und Osmocens.

Zunächst ist aus Tabelle 2 ersichtlich, wie homogen sich die Ionen des Rutheniums (siehe auch (2)) bzw. des Osmiums sich im Körper verteilen. Keines der gemessenen Organe hat eine Radioaktivitäts-Konzentration, die höher als bei dem 9-fachen der Konzentration im Muskel liegt. So erhält man mit Ruthenium-Ionen als höchstes Konzentrations-Verhältnis den Quotienten von Milz zu Muskel wie 9:1. Mit Osmium-chlorid findet man den größten Unterschied bei Niere und Muskel ( 8 : 1 ).

Demgegenüber zeigen die radioaktiv-markierten Metallocene wesentlich größere Unterschiede in der Radioaktivitäts-Konzentration der einzelnen Organe. Herausragend ist das Ergebnis mit Acetyl-ruthenocen, das sich bevorzugt in der Nebenniere von weiblichen Mäusen anreichert (Nebenniere: Muskel  $\hat{=}$  175:1). Speziell über diese biochemisch bedeutsamen Aspekte wird an anderer Stelle berichtet (7). Acetyl-osmocen zeigt diese Nebennieren-Affinität nur in schwacher Weise, hier ist die Lunge das Organ mit der höchsten  $^{191}\text{Os}$ -Konzentration (Lunge: Muskel  $\hat{=}$  128:1). Auch aus diesen großen Unterschieden

zwischen der Organ-Verteilung der radioaktiven Metall-Ionen einerseits und der radioaktiven Metallocene andererseits geht hervor, daß die Metallocene mit Os bzw. Ru als Zentralatom in vivo dieses Zentralatom nicht abspalten. Für diese Stabilität sprechen bereits frühere Arbeiten (2,6,7).

Alle untersuchten Osmocen-Derivate zeigen generell eine verlangsamte Elimination gegenüber Ruthenocen-Derivaten, wie an der vergleichsweise höheren Radioaktivitäts-Konzentration in Lunge, Milz und Niere erkennbar ist. Aus Tab. 2 ist entnehmbar, daß die Radioaktivitäts-Konzentration in den meisten Organen nach der Gabe der Diacetyl-metallocene wesentlich geringer ist, als nach Gabe der Monoacetyl-metallocene. Auch bei anderen, hier nicht aufgeführten disubstituierten Metallocen-Derivaten war deutlich eine beschleunigte Elimination aus dem Organismus im Vergleich zu monosubstituierten Metallocenen feststellbar.

#### Material und Methodik

Inaktive Verbindungen:

Ferrocen - Merck, Darmstadt

Acetylferrocen - Alfa Europe Products, Rotterdam.

Die folgenden Verbindungen wurden gemäß den angegebenen Literaturstellen synthetisiert:

Benzoylvinylderrocen	$(\text{Fc}-\text{CH}=\text{CH}-\text{CO}-\text{C}_6\text{H}_5)$	(8)
Cinnamoylderrocen	$(\text{Fc}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}-\text{C}_6\text{H}_5)$	(9)
Ferrocencarbonsäureethylester	$(\text{Fc}-\text{COOC}_2\text{H}_5)$	(8)
Ferrocencarbonsäureamid	$(\text{Fc}-\text{CONH}_2)$	(10)
Dihydroacetylferrocen	$(\text{Fc}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3)$	(11)
Dihydroacetylruthenocen	$(\text{Rc}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3)$	(5)
Dihydroacetylosmocen	$(\text{Os}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_3)$	(5)

Radioaktive Verbindungen:

$^{103}\text{RuCl}_3$ ,  $^{191}\text{OsCl}_4$  - Amersham Buchler, Braunschweig

Synthesen:

50 mg des Ferrocen-Derivats werden in eine Duranglasampulle gefüllt, mit 0.05 ml einer 0.04 M Lösung von  $\text{H}_2\text{OsCl}_6$  (spez. Aktivität an  $^{191}/^{185}\text{Os}$ : 50-0.1  $\mu\text{Ci}/\mu\text{Mol}$ ) in 1.7 N HCl versetzt, unter leichtem Unterdruck abgeschmolzen und den in der Tabelle 1 angegebenen Reaktionsbedingungen unterworfen. Danach wird das Reaktionsprodukt in Lösung gebracht und auf eine Säule mit ca. 3 ml neutrales  $\text{Al}_2\text{O}_3$  gegeben und mit 5 ml Lösungsmittel eluiert, wobei das unumgesetzte anorganische Osmium auf dem  $\text{Al}_2\text{O}_3$  verbleibt. Das Eluat wird auf ca. 100  $\mu\text{l}$  eingeeengt und zusammen mit der eingesetzten Ferrocen-Verbindung auf einer Dünnschichtplatte chromatographiert. Mit dem "Dünnschicht-Scanner" (Fa. Berthold, Wildbad) wird die Lage und Intensität der radioaktiven Produkte ermittelt. Dabei zeigen die inaktiv dargestellten Osmocen- (5) und die entsprechenden Ferrocen-Derivate annähernd gleiche  $R_F$ -Werte, so daß die markierten Osmocen-Verbindungen auch anhand der Farbe der Ferrocen-Verbindung lokalisiert werden kann. Die radioaktive Zone wird von der DC-Platte abgeschabt, die radiomarkierte Osmocen-Verbindung vom Trägermaterial eluiert und das Lösungsmittel mit Stickstoff vertrieben. Zur Reinheitsprüfung wird das Osmocen-Derivat in einem Laufmittel rechromatographiert. Die weiteren Versuchsdaten sind der Tab. 1 zu entnehmen.

Aus dem radioaktiven Acetyl-osmocen bzw. Acetyl-ruthenocen wurden die entsprechenden Dihydro-Verbindungen ( $\text{Oc-CH(OH)-CH}_3$  bzw.  $\text{Rc-CH(OH)-CH}_3$ ) durch Reduktion mit  $\text{Li AlH}_4$  nach (5) hergestellt. Die Methoden der biochemischen Untersuchungen sind ausführlich in (7) beschrieben.

#### Literatur

1. D. Langheim, M. Wenzel und E. Nipper,  
Chem.Ber. 108, 146 (1975)
2. M. Wenzel, E. Nipper und W. Klose,  
J.Nucl.Med. 18, 367 (1977)
3. K. Hoffmann, B. Riebelmann und M. Wenzel,  
Liebigs Ann.Chem. 1181 (1980)
4. M. Schneider und M. Wenzel,  
J.Labelled Comp. and Radiopharmaceutical 17, 1-20 (1980)
5. E.A. Hill und J.H. Richards,  
J.Am.Chem.Soc. 83, 3840 (1961)
6. M. Schneider, M. Wenzel und G. Schachschneider,  
Z. Naturforschung im Druck (1982)
7. A.J. Taylor, J. Macha und M. Wenzel,  
J.Nuclear Med. 21, 63 (1980)

8. K. Schlögl,  
Monatsh. Chem. 88, 601 (1957)
9. E.R. Hauser und J.K. Lindsay,  
J.Org.Chem. 22, 906 (1957)
10. W.F. Little und R. Eisenthal,  
J.Am.Chem.Soc. 82, 1577 (1960)
11. F.S. Arimoto und A.C. Haven,  
J.Am.Chem.Soc. 77, 6295 (1955)
12. E.A. Stadelbauer, E. Nipper und M. Wenzel,  
J.Labelled Compounds 13, 491 (1977)

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die gewährte Unterstützung und Frau Scholl und Herrn Kamann für experimentelle Mitarbeit.

Tab. 1: Versuchsdaten für die Radiomarkierung von Osmocen und Osmocenderivaten

Oc  $\hat{=}$  Osmocen, Fc  $\hat{=}$  Ferrocen, EE  $\hat{=}$  Essigester

Reaktionsprodukt	Versuchsbedingungen		Ausbeute [%]		Extraktion von der Säule	Laufmittel für DC	R <sub>F</sub> -Werte
	[°C]	[Min.]	mit HCl	ohne HCl*			
Oc	260	15	45	3	CHCl <sub>3</sub>	3 x n-Pentan	0,30
Oc-COCH <sub>3</sub>	240	15	38	3	CHCl <sub>3</sub>	Benzol/EE 5/1	0,35
Oc(COCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> <sup>+</sup> )	240	15	13	1	Aceton/CHCl <sub>3</sub> 1/1	Benzol/EE 5/1	0,13
Oc-COOEt	220	30	17	-	CHCl <sub>3</sub>	CHCl <sub>3</sub> /Aceton 9/1	0,67
Oc-CO-NH <sub>2</sub>	220	30	15	-	CH <sub>3</sub> OH	CHCl <sub>3</sub> /Aceton 7/3	0,18
Oc-CO-CH=CH-Ph	220	30	7	-	CHCl <sub>3</sub>	Äther	0,60
Oc-CH=CH-CO-Ph	220	30	32	-	CHCl <sub>3</sub>	CHCl <sub>3</sub> /Aceton 7/3	0,71

+ ) Nebenprodukt bei der Synthese aus Fc-CO-CH<sub>3</sub>. Siehe Analogie bei Markierung von Acetylruthenocen (12)

\* ) Analog zu 1) wurde die angelieferte OsCl<sub>4</sub>-Lösung (in 1,7 n HCl) im Vakuum über KOH getrocknet und anschließend mit den Ferrocen-Derivaten erhitzt.

Tab. 2. Organ-Verteilung von <sup>103</sup>Ru bzw. <sup>191</sup>Os in weiblichen Mäusen nach Injektion von markiertem Ruthenocen bzw. Osmocen und ihren Derivaten

Erwachsene weibliche CFL-Mäuse erhielten ca. 1  $\mu$ Mol/kg der markierten Substanz i.v. (mit ca. 0,02  $\mu$ Ci <sup>103</sup>Ru bzw. <sup>191</sup>Os pro Tier). Nach 24 Stunden wurden die Tiere getötet, die Organe entnommen, gewogen und der Gehalt an <sup>103</sup>Ru bzw. <sup>191</sup>Os bestimmt. Zahlen  $\bar{x} \pm \sigma$  (KG = Körpergewicht).

Substanz	n	Muskel	Lunge	Leber	Milz	Niere	Nebenniere
RuCl <sub>3</sub>	7	41	130 $\pm$ 28	363 $\pm$ 152	374 $\pm$ 18	230 $\pm$ 43	134 $\pm$ 23
OsCl <sub>4</sub>	7	17	82 $\pm$ 31	133 $\pm$ 51	60 $\pm$ 21	137 $\pm$ 29	98 $\pm$ 64
Ruthenocen	7	1,6	107 $\pm$ 23	143 $\pm$ 32	8 $\pm$ 2	71 $\pm$ 11	60 $\pm$ 14
Osmocen	7	5,4	215 $\pm$ 56	149 $\pm$ 38	83 $\pm$ 35	156 $\pm$ 31	175 $\pm$ 50
Acetyl-ruthenocen	12	1,7	142 $\pm$ 25	160 $\pm$ 12	15 $\pm$ 5	46 $\pm$ 11	297 $\pm$ 87
Acetyl-osmocen	7	2,9	372 $\pm$ 87	155 $\pm$ 9	40 $\pm$ 8	72 $\pm$ 18	84 $\pm$ 26
Dihydroacetyl-ruthenocen	12	0,9	88 $\pm$ 11	101 $\pm$ 9	3 $\pm$ 0,8	38 $\pm$ 5	103 $\pm$ 25
Dihydroacetyl-osmocen	7	1,5	194 $\pm$ 42	211 $\pm$ 19	4 $\pm$ 0,8	58 $\pm$ 23	40 $\pm$ 18
Diacetyl-ruthenocen	7	0,3	5 $\pm$ 3	40 $\pm$ 8	2 $\pm$ 1	6 $\pm$ 1	22 $\pm$ 4
Diacetyl-osmocen	7	2,6	177 $\pm$ 27	143 $\pm$ 14	13 $\pm$ 2	32 $\pm$ 3	70 $\pm$ 8