

[¹⁰³Ru]-MARKIERTE RUTHENOCEN-DERIVATE BIOGENER AMINE

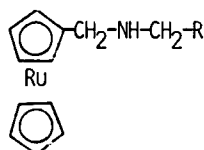
M. WENZEL, P. ASINDRAZA UND G. SCHACHSCHNEIDER
PHARMAZEUTISCHES INSTITUT DER FREIEN UNIV. BERLIN
BERLIN-DAHLEM (DEUTSCHLAND)

SUMMARY:

THE RUTHENOCENE DERIVATIVES OF DIFFERENT BIOGENIC AMINES LABELLED WITH ¹⁰³Ru IN THE RUTHENOCENE MOITY WERE SYNTHESIZED. IN A FIRST STEP THE CENTRAL ATOM OF FERROCENE WAS EXCHANGED WITH ¹⁰³RuCl₃ YIELDING [¹⁰³Ru]-RUTHENOCENE. BY VILSMEIER-FORMYLATION THE RADIOACTIVE RUTHENOCENE ALDEHYDE WAS SYNTHESIZED WHICH WAS CONDENSED WITH THE DESIRED AMINE TO THE SCHIFF'SCHE BASE, FOLLOWED BY THE REDUCTION OF THE C=N DOUBLE BOND BY NaBH₄.

ALLGEMEINER TEIL

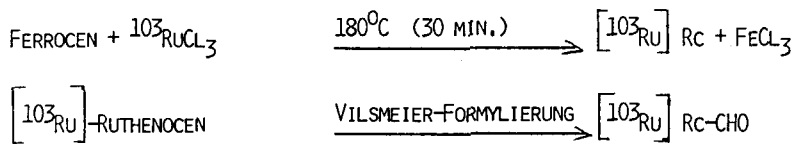
EIN VON UNS FRÜHER BESCHRIEBENES VERFAHREN ERLAUBT ES, BEIM FERROCEN DAS INAKTIVE ZENTRALATOM EISEN GEGEN RADIOAKTIVE RUTHENIUM-ISOTOPE WIE ¹⁰³Ru, ⁹⁷Ru UNTER BILDUNG VON RUTHENOCEN (Rc) ZU ERSETZEN (1,2). EIN THERMISCHER AUSTAUSCH DES ZENTRALATOMS (3) MIT RADIOAKTIVEM RuCl₃ GELINGT NICHT NUR BEIM FERROCEN, DEM GRUNDKÖRPER DER METALLOECENREIHE, SONDERN AUCH BEI EINER VIELZAHL VON FERROCEN-DERIVATEN (4-6).



-NH-CH₂-R = BIOGENES AMIN

JEDOCH KONNTEN DIE HIER GEWÜNSCHTEN [¹⁰³Ru]-Rc-CH₂-NHR-DERIVATE (FORMEL) WEGEN IHRER THERMISCHEN INSTABILITÄT NUR MIT SEHR GERINGEN AUSBEUTEN DURCH DEN OBEN BESCHRIEBENEN THERMOAUSTAUSCH GEWONNEN WERDEN,

DAHER MUSSTE EIN MEHRSTUFIGES SYNTHESE-VERFAHREN ANGEWENDET WERDEN. HIERZU WURDE AUS FERROCEN (Fc) ZUNÄCHST DURCH ERHITZEN MIT $^{103}\text{RuCl}_3$ RADIOAKTIVES RUTHENOCEN (Rc) DARGESTELLT, DURCH MEHRFACH-CHROMATOGRAPHIE KONNTE DABEI DAS RADIOAKTIVE RUTHENOCEN FREI VON FERROCEN GEWONNEN WERDEN, DIESES WURDE DURCH VILSMEIER-FORMYLIERUNG ZU ^{103}Ru -RUTHENOCEN-ALDEHYD DERIVATISIERT UND DANN MIT DEM PRIMÄREN AMIN KONDENSIERT. DAS VERFAHREN HATTE SICH SCHON BEI DER HERSTELLUNG VON AMINOZUCKER-DERIVATEN DES RUTHENOCENS BEWÄHRT (7).



VON FOLGENDEN AMINEN WURDEN DIE ENTSPRECHENDEN RUTHENOCEN-DERIVATE DURCH KONDENSATION MIT RUTHENOCENALDEHYD UND REDUKTION DER C=N-DOPPELBINDUNG HERGESTELLT:

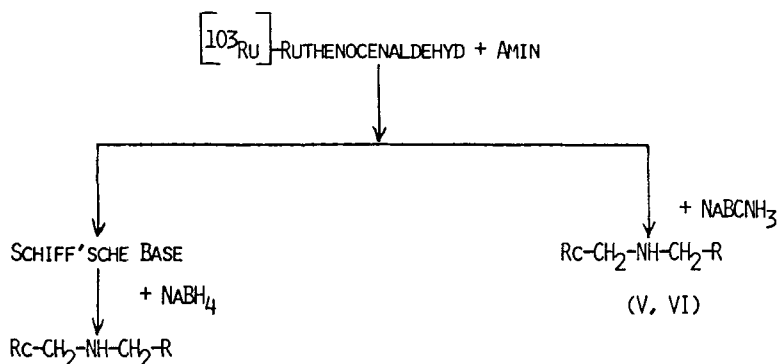
TYRAMIN	(I)
PHENYL-ETHYLAMIN	(II)
BENZYLAMIN	(III)
HOMOVERATRYLAMIN	(IV)
HISTAMIN	(V)
GLYCIN-METHYLESTER	(VI)

UM DIE METALLOECENALDEHYDE MÖGLICHST WEITGEHEND UMZUSETZEN, WURDE MIT EINEM ÜBERSCHUSS DES AMINS GEARBEITET.*

DIE ENTSTANDENEN SCHIFF'SCHEN BASEN SIND RELATIV UNSTABIL; SIE WURDEN -OHNE ISOLIERUNG- ANSCHLIESSEND AN DER C=N-DOPPELBINDUNG MIT NaBH_4 REDUZIERT (7).

* BESONDERS BEI DEN RADIOAKTIVEN SYNTHESSEN (MIKROMASSTAB) IST EINE WEITERE AUSBEUTE-STEIGERUNG MÖGLICH.

DIE VERBINDUNGEN V UND VI WURDEN DURCH AMINIERUNG UNTER GLEICHZEITIGER REDUKTION MIT NABCNH₃ SYNTHETISIERT (8), SIEHE SCHEMA.



VON DEN ANGEgebenEN SUBSTANZEN WURDEN ZUNÄCHST DIE ANALOGEN FERROCEN-DERIVATE HERGESTELLT UND -SOWEIT NICHT BEKANNT- IHRE IDENTITÄT DURCH CHN-ANALYSE UND MASSENSPEKTROMETRIE GESICHERT, DIE REINIGUNG UND IDENTIFIZIERUNG DER RADIOAKTIVRN VERBINDUNGEN ERFOLGTE DURCH CO-CHROMATOGRAPHIE MIT DEM JEWELIGEN INAKTIVEN REFERENZ-SUBSTANZEN AUF DC-PLATTEN MIT ANSCHLIESSENDER DIREKT-MESSUNG AUF DEM BERTHOLD-SCANNER (9).

EINIGE DIESER RADIOAKTIVEN RUTHENOCEN-DERIVATE ZEIGEN EINE EXTREM HOHE AFFINITÄT ZUR NEBENNIERE, ÜBER DIESE BIOCHEMISCHEN EIGENSCHAFTEN WIRD GESONDERT BERICHTET.

EXPERIMENTELLER TEIL

AUSGANGSPRODUKTE UND CHROMATOGRAPHIE

FERROCEN UND TYRAMIN-HCL: MERCK, DARMSTADT (DEUTSCHLAND).

FERROCENCARBOXALDEHYD UND HISTAMIN-2HCL: EGA, STEINHEIM/ALBUCH (DEUTSCHLAND).

BENZYLAMIN-HCL UND GLYCIN-METHYLESTER-HCL: SIGMA CHEMICAL COMPANY, ST. LOUIS (USA).

2-PHENYLETHYLAMIN-HCL: FLUKA, AG, BUCHS (SCHWEIZ).

¹⁰³RuCl₃ (180mCi/mMOL): AMERSHAM BUCHLER, BRAUNSCHWEIG (DEUTSCHLAND).

DC-PLATTE MIT KIESELGEL: FA. MERCK.

DIE RADIOAKTIVEN SYNTHES-PRODUKTE WURDEN DIREKT AUF DEN DÜNNSCHICHTPLATTEN MIT DEM "DÜNNSCHICHT-SCANNER" MIT AUTOCHRONSCHREIBER DER FA, BERTHOLD, WILDBAD (DEUTSCHLAND) MIT EINER ZÄHLAUSBEUTE VON 45 % GEMESSEN (9,10).

HERSTELLUNG DER FERROCEN-DERIVATE

KONDENSATION MIT TYRAMIN (I)

1 G (4,6 MMOL) FERROCENALDEHYD UND 2 G (11,5 MMOL) TYRAMIN-HCL WERDEN IN 10 ML METHANOL 30 MIN. BEI 60°C GERÜHRT, ANSCHLIESSEND WIRD AUF 0°C ABGEKÜHLT, MIT 90 MG (2,3 MMOL) NABH₄ VERSETZT, UND NACH BEENDIGUNG DER GASENTWICKLUNG EINE STUNDE AUF 60°C ERWÄRMT UND HEISS FILTRIERT. NACH ZUGABE VON EIN PAAR TROPFEN WASSER FÄLLT DIE SUBSTANZ AUS, ES WIRD ABFILTRIERT UND AUS ETHANOL UMKRISTALLISIERT.

AUSBEUTE: 900 MG $\hat{=}$ 57 % DER THEORIE; FP = 152°C

ANALYSE:	GEF. %	BER. %
C	66.3	68.1
H	6.2	6.3
N	4.3	4.3

KONDENSATION MIT PHENYLETHYLAMIN (II) BZW. BENZYLAMIN (III)

790 MG (5 MMOL) PHENYLETHYLAMIN-HCL BZW. 720 MG (5 MMOL) BENZYLAMIN-HCL UND 214 MG (1 MMOL) FERROCENALDEHYD WERDEN IN 10 ML METHANOL EINE STUNDE BEI 60°C ERWÄRMT UND GERÜHRT, DANACH WIRD MIT EIS GEKÜHLT UND MIT 19 MG (0,5 MMOL) NABH₄ REDUZIERT. NACH BEENDIGUNG DER GASENTWICKLUNG WIRD EINE WEITERE STUNDE BEI 60°C GERÜHRT UND HEISS FILTRIERT, DAS LÖSUNGSMITTEL WIRD ABGEZOGEN UND DER BRAUNE ZÄHFLÜSSIGE RÜCKSTAND IN ETHER AUFGENOMMEN, DAS HYDROCHLORID WIRD DURCH VERSETZEN MIT ETHERISCHER HCL AUSGEFÄLLT UND ANSCHLIESSEND AUS ETHANOL/ETHER UMKRISTALLISIERT.

	II		III	
AUSBEUTE:	200 MG (60%)		270 MG (80%)	
FP.:	205°C		158°C	
ANALYSE:	GEF., %	BER., %	GEF., %	BER., %
C	64	64	62,3	63
H	6,3	5,9	6,1	5,6
N	4,0	3,9	4,0	4,1

KONDENSATION MIT HISTAMIN

860 MG (4 MMOL) FERROCENALDEHYD 5 G (8 MMOL) HISTAMIN-HCL UND 160 MG (2 MMOL) NACNBH₃ WERDEN IN 5 ML METHANOL 2 TAGE BEI RAUMTEMPERATUR GERÜHRT, DAS LÖSUNGSMITTEL WIRD ABGEZOGEN UND DER RÜCKSTAND IN WASSER AUFGENOMMEN, DIE WÄSSRIGE LÖSUNG VOM PH 6,5 WIRD 3 MAL MIT JE 5 ML CHLOROFORM AUSGESCHÜTTELT, ANSCHLIESSEND WIRD DIE WÄSSRIGE LÖSUNG STARK ALKALISCH GEMACHT, MEHRMALS MIT CHLOROFORM AUSGESCHÜTTELT, DIE VEREINIGTEN CHLOROFORMEXTRAKTE MIT Na₂SO₄ GETROCKNET UND DAS LÖSUNGSMITTEL ENTFERNT, ES VERBLEIBT EIN DUNKELBRAUNES ÖL, DAS IN ETHER AUFGENOMMEN WIRD, NACH ZUSATZ VON ETHERISCHER HCL FÄLLT DAS REINE HYDROCHLORID AUS.

AUSBEUTE: 750 MG $\hat{=}$ 55 % DER THEORIE; FP, 185°C

ANALYSE:	GEF., %	BER., %
C	56,7	55,4
H	5,8	5,8
N	12,4	12,1

KONDENSATION MIT GLYCINMETHYLESTER

1 G (4,6 MMOL) FERROCENALDEHYD, 2 G (16 MMOL) GLYCINMETHYLESTER-HCL UND 150 MG (2,3 MMOL) NACNBH₃ WERDEN IN 10 ML METHANOL 2 TAGE BEI RAUMTEMPERATUR GERÜHRT, DANACH WIRD DAS LÖSUNGSMITTEL ABGEZOGEN, DER RÜCKSTAND IN WASSER AUFGENOMMEN UND DER PH-WERT DER LÖSUNG MIT WEINSÄURE AUF 2 EINGESTELLT, DIE LÖSUNG WIRD

MIT CHLOROFORM AUSGESCHÜTTELT, DIE CHLOROFORMPHASE VERWORFEN UND DIE WÄSSRIGE PHASE MIT NAOH STARK ALKALISCH GEMACHT, MIT NaCl GESÄTTIGT UND MEHRFACH MIT CHLOROFORM AUSGESCHÜTTELT, DIE CHLOROFORMEXTRAKTE WERDEN MIT Na_2SO_4 GETROCKNET UND DAS LÖSUNGSMITTEL ENTFERNT, DER DUNKELBRAUNE RÜCKSTAND WIRD IN ETHER AUFGENOMMEN UND MIT ETHERISCHER PERCHLORSÄURE ALS PERCHLORAT AUSGEFÄLLT.
 AUSBEUTE: 750 MG $\hat{=}$ 49 % DER THEORIE; FP. 152°C

ANALYSE	GEF., %	BER., %
C	43,61	43,4
H	4,78	4,39
N	3,68	3,61

DARSTELLUNG DER RADIOAKTIVEN RUTHENOCEN-DERIVATE

^{103}RU -RUTHENOCEN

400 μCi $^{103}\text{RuCl}_3$ (SPEZ. AKT.: (180 $\mu\text{Ci}/\mu\text{MOL}$) IN 3,4 M HCL WERDEN IN EINE DURANGLASAMPULLE ZU 6,6 MG (37 μMOL) FERROCEN GEGEBEN, DIE SUSPENSION WIRD DURCH ÜBERLEITEN VON N_2 GETROCKNET, DIE AMPULLE UNTER LEICHTEM VAKUUM ZUGESCHMOLZEN UND 30 MINUTEN BEI 180°C ERHITZT, DANACH WIRD DIE AMPULLE GEÖFFNET, DAS REAKTIONSGEMISCH IN CHLOROFORM AUFGENOMMEN UND DURCH CHROMATOGRAPHIE AN NEUTRALEM Al_2O_3 GETRENNT, WOBEI RuCl_3 AUF DER SÄULE VERBLEIBT UND DAS RADIOAKTIVE RUTHENOCEN UND RESTLICHES FERROCEN DURCH CHLOROFORM ELUIERT WIRD.

EINE TRENNUNG DES RADIOAKTIVEN RUTHENOCENS VOM INAKTIVEN FERROCEN GELINGT DURCH 5 MAL WIEDERHOLTE DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHIE MIT N-PENTAN ALS LAUFMITTEL,

RF. = 0,61 ($\text{CHCl}_3/\text{ACETON}$ - 9:1)

AUSBEUTE: 254 μCi D.H. 63,5 % DER THEORIE.

MASSENSPEKTREN DER FERROCEN-AMIN-DERIVATE

FERROCEN-DERIVAT	FRAGMENT-ION	M/E	RELATIVE HÄUFIGKEIT
Fc-CH ₂ -PHENYLETHYL - AMIN	M ⁺	319	39.1
	Fc-CH ₂ ⁺	199	100
	FE-C ₅ H ₅	121	38.3
Fc-CH ₂ -TYRAMIN	M ⁺	335	100
	Fc-CH ₂ ⁺	199	72
	FE-C ₅ H ₅	121	36.5
Fc-CH ₂ -BENZYLAMIN	M ⁺	305	100
	Fc-CH ₂ ⁺	199	25
	Fc	186	14.7
	FE-C ₅ H ₅	121	47
Fc-CH ₂ -HISTAMIN	M ⁺	309	44
	Fc-CH ₂ -NH-CH ₂ -CH ₂	244	50.8
	Fc-CH ₂ -NH ⁺	214	19
	Fc-CH ₂	199	100
	FE-C ₅ H ₅	121	76.6
Fc-CH ₂ -GLYCINMETHYL-ESTER	M ⁺	287	100
	Fc-CH ₂	199	54.6
	FE-C ₅ H ₅	121	60.8

R_F-WERTE DER METALLO-CEN-DERIVATE AUF KIESELGEL-FERTIGPLATTEN (MERCK)1 = CHCl₃/ACETON (9:1)

2 = ESSIGESTER/AMEINSENSÄURE/MEOH (80:10:10)

3 = ESSIGESTER/MEOH/NH₃ (170:20:10)

R =	R _F -WERTE		LAUFMITTEL
	Fc-R	Rc-R	
-H	0.62	0.61	1
-CHO	0.53	0.53	1
	Fc-CH ₂ -R	Rc-CH ₂ -R	
-TYRAMIN	0.56	0.55	2
-PHENYLETHYLAMIN	0.57	0.57	2
-BENZYLAMIN	0.51	0.51	2
-HOMOVERATRYLAMIN	0.49	0.49	2
-HISTAMIN	0.25	0.25	3

[¹⁰³Ru]-RUTHENOCENALDEHYD

250 μ Ci [¹⁰³Ru]-RUTHENOCEN (SPEZ. AKT.: 7 μ Ci/ μ MOL) WERDEN MIT 0,4 ML EINER 1:1 MISCHUNG AUS N-METHYLFORMANILID/POCl₃ - EINE STUNDE VORHER GEMISCHT - 5 MINUTEN BEI 80°C ERWÄRMT UND ANSCHLIESSEND BEI RAUMTEMPERATUR ÜBER NACHT STEHENGELASSEN, NACH ZUSATZ VON 3 ML EISWASSER WIRD EINE WEITERE STUNDE STEHENGELASSEN UND SO OFT MIT JE 3 ML CHCl₃ EXTRAHIERT, BIS DIE RADIOAKTIVITÄT IN DER WÄSSRIGEN PHASE KONSTANT BLEIBT, DIE CHLOROFORMEXTRAKTE WERDEN ÜBER Na₂SO₄ GETROCKNET, AUF 100 μ L EINGEENGT UND DAS GEMISCH DÜNNESCHICHTCHROMATOGRAPHISCH GETRENNT.

RF.: = 0,53, (CHCl₃/ACETON - 9 : 1)

AUSBEUTE: 170 μ Ci = 67 % DER THEORIE.

KONDENSATION MIT I - III.

30 μ Ci [¹⁰³Ru]-RUTHENOCENALDEHYD (4,3 μ MOL BEI EINER SPEZ. AKT. VON 7 μ Ci/ μ MOL) UND 40 μ MOL AMIN-HYDROCHLORID WERDEN MIT 200 μ L METHANOL VERSETZT UND EINE STUNDE BEI 60°C BELASSEN, ANSCHLIESSEND WIRD AUF 0°C (EISBAD) ABGEKÜHLT UND MIT 5 MG NaBH₄ VERSETZT, NACH BEENDIGUNG DER GASENTWICKLUNG WIRD EINE WEITERE STUNDE AUF 60°C ERWÄRMT, DAS LÖSUNGSMITTEL WIRD DANN VERFLÜCHTIGT, DER RÜCKSTAND IN WASSER AUFGENOMMEN UND MEHRERE MALE MIT CHLOROFORM AUSGESCHÜTTELT, DIE CHLOROFORMEXTRAKTE WERDEN EINGEENGT UND MITTELS DC GETRENNT.

LAUFMITTEL: ESSIGESTER/MEOH/AMEISENSÄURE (80:10:10)

	RF:	RADIOCHEM. AUSBEUTE %
Rc-TYRAMIN	0,55	50
Rc-PHENYLETHYLAMIN	0,57	10
Rc-BENZYLAMIN	0,51	40

KONDENSATION MIT HISTAMIN (V)

ZU 30 μ Ci [¹⁰³Ru]-RUTHENOCENALDEHYD (4,3 μ MOL) (SPEZ. AKT. 7 μ Ci/ μ MOL) 7,5 MG

(90 μMOL) HISTAMIN-2 HCL UND 3 MG (40 μMOL) NACNBH_3 WERDEN 200 μL METHANOL GEGEBEN. ES WIRD KURZ ERWÄRMT, BIS SICH DAS HISTAMIN - 2 HCL AUFGELÖST UND DANN 2 TAGE BEI RAUMTEMPERATUR BELASSEN. ANSCHLIESSEND WIRD WIE OBEN VERFAHREN.

RF = 0,25 ESSIGESTER/MEOH/ NH_3 /170:20:10)

AUSBEUTE: 7 μCi = 23 % DER THEORIE.

KONDENSATION MIT HOMOVERATRYLAMIN (IV)

ZU 30 μCi (4,3 μMOL) RUTHENOCENALDEHYD (SPEZ. AKT. 7 μCi ^{103}Ru / μMOL) 4 MG (20 μMOL) HOMOVERATRYLAMIN, 3 MG TOLUOSULFONSÄURE UND 5 MG NABH_4 WERDEN 200 μL METHANOL GEGEBEN UND ANSCHLIESSEND EINE STUNDE AUF 60°C ERWÄRMT. WEITERVERARBEITUNG ANALOG ZUR KONDENSATION MIT PHENYLETHYLAMIN.

RF: 0,49 IN ESSIGESTER/MEOH/AMEINSENSÄURE (80:10:10)

AUSBEUTE: 6 μCi = 20 % DER THEORIE.

DANKSAGUNG

WIR DANKEN DER DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT FÜR DIE UNTERSTÜTZUNG DER ARBEITEN.

LITERATUR

1. D. LANGHEIM, M. WENZEL UND E. NIPPER,
CHEM.BER. 108, 146 (1975)
2. E. STADLBAUER, E. NIPPER UND M. WENZEL,
J. LABELLED COMP. 13, 491 (1977)
3. M. WENZEL, R. HERKEN UND W. KLOSE,
Z. NATURFORSCHUNG 32c, 473 (1977)
4. M. SCHNEIDER, M. WENZEL UND B. RIESELMANN,
J. LABELLED COMP. 15, 295 (1978)

- 5) K. HOFFMANN, B. RIESELMANN UND M. WENZEL,
J. LABELLED COMP. AND RADIOPHARMACEUTICALS 17, 421 (1980)
- 6) M. SCHNEIDER UND M. WENZEL,
J. LABELLED COMP. AND RADIOPHARMACEUTICALS 17, 1 (1980)
- 7) M. WENZEL UND M. SCHNEIDER,
INT. J. APPL. RADIAT. ISOTOP. 32, 5 (1981)
- 8) R.F. BORCH, M.D. BERNSTEIN UND H.D. DURST,
J. AMER. CHEM. SOC. 93, 2897 (1971)
- 9) M. WENZEL UND A. ABDUL-WAHID,
INT. J. APPL. RADIAT. ISOTOP. 26, 119 (1975)
- 10) A. SIMON: MESSUNG VON RADIOAKTIVEN UND STABILEN ISOTOPEN
SPRINGER-VERLAG, BERLIN-HEIDELBERG-NEW YORK (1974)