

Synthese von Ruthenocenoyl-1,1'-diglycin-ethylester
durch Austausch von Ferrocenoyl-glycinester mit $^{103}\text{RuCl}_3$

Gert Schachschneider und Martin Wenzel

Pharmazeutisches Institut der Freien Universität Berlin
Berlin-Dahlem (Deutschland)

Exchange reaction of Ferrocenoyl-glycinethylester with $^{103}\text{RuCl}_3$
yielding Ruthenocenoyl-glycine-Derivatives

Summary:

Ruthenocenoyl-glycine derivatives labelled with radioactive ruthenium (^{97}Ru , ^{103}Ru), showing a clearance similar to Hippuran, are potential radiopharmaceuticals. Synthesis, reaction mechanism and identification of ruthenocenoyl-1,1'-diglycine derivatives are described.

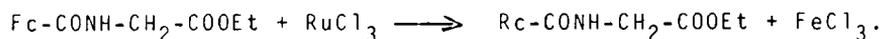
Einleitung:

Ruthenocenoyl-glycin (Ruppuran) und -diglycin kann man leicht mit radioaktivem Ruthenium als Zentralatom markieren. Beide Ruthenocen-Derivate haben interessante biochemische Eigenschaften: Sie werden ähnlich wie das Radiopharmakon o-Jod-Hippursäure (Hippuran) primär von der Niere akkumuliert und anschließend extrem schnell renal ausgeschieden (1,2). Da diese Ruthenocen-Verbindungen nicht metabolisiert werden und im Urin nur die Ausgangs-Produkte erscheinen, sind sie zur Bestimmung der Nieren-Funktion gut geeignet.

Die kernphysikalischen Parameter von ^{97}Ru für die nuklearmedizinische Diagnostik sind wesentlich günstiger als die der Jod-Isotope ^{131}J , ^{125}J und ^{123}J (2). Somit ergibt sich eine mögliche klinische Anwendung der markierten Ruthenocenoyl-glycin-Derivate. In der folgenden Arbeit beschreiben wir Versuche zur Optimierung der Synthese zur Identifizierung von Ruthenocenoyl-1,1'-diglycinester, einem Nebenprodukt dieser Synthese.

Ergebnisse und Diskussion

Wie bereits beschrieben (1), erhält man Ruthenocenoyl-glycinester durch thermischen Austausch des Zentralatoms und der entsprechenden Ferrocen-Verbindung mit RuCl_3 :



Ein Radiochromatogramm nach dem Thermoaustausch mit radioaktivem RuCl_3 zeigt Abb. 1. Auf dem Radiochromatogramm sind neben Ruthenocenoyl-glycinester auch die Nebenprodukte Ruthenocenoyl-1,1'-diglycinester und Ruthenocen erkennbar. Für die weitere Anwendung werden die Ethylester zu den freien Glycin-Verbindungen verseift.

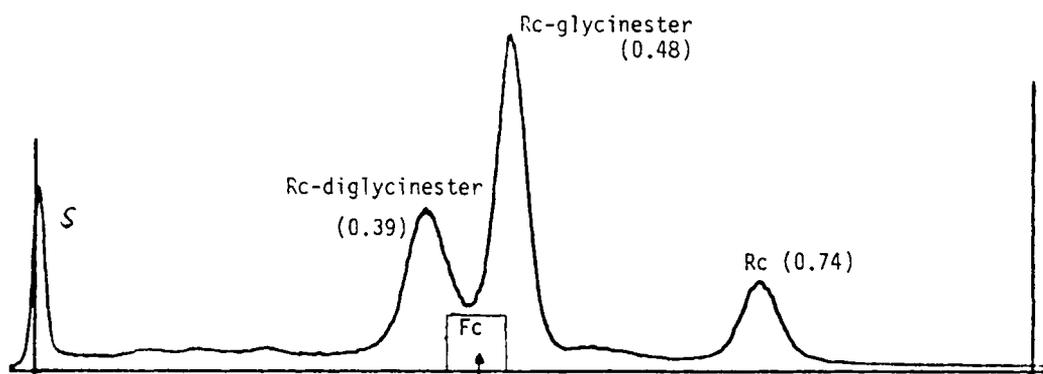


Abb. 1: Radiochromatogramm nach Thermoaustausch von Ferrocenoyl-glycinethylester mit $^{103}\text{RuCl}_3$.

DC auf Kieselgel-Fertigplatten (Merck) und Direkt-Messung des ^{103}Ru mit dem Berthold-Scanner; Fc = Gelb-Färbung durch die Ferrocen-Verbindung. Zahlen in Klammern: R_F -Werte.

Optimierung der Ausbeute an Ruthenocenoyl-glycin-Derivaten bei der Austauschreaktion

Um die Bedingungen bei der Austauschreaktion möglichst optimal zu gestalten, wurde die Abhängigkeit von der Reaktions-Temperatur und Reaktionszeit untersucht. Aus diesen Versuchen ergab sich, daß die günstigste Reaktionstemperatur bei 160⁰ - 170⁰C und die optimale Reaktionszeit bei 40-60 min. liegt.

Einen erheblichen Einfluß auf den Einbau des eingesetzten radioaktiven Rutheniums in lipophile Ruthenocen-Derivate hat das Mol-verhältnis zwischen der inaktiven Ferrocen-Verbindung und dem RuCl₃. Gemäß Abb. 2 wird die höchste Ausbeute der ¹⁰³Ru markierten Ruthenocenoyl-glycinester bei einem molaren Verhältnis Ferrocen-Derivat/RuCl₃ von etwa 12:1 erreicht. Sowohl ein Überschuß an RuCl₃ als auch ein weiterer Überschuß an Ferrocen-glycin-

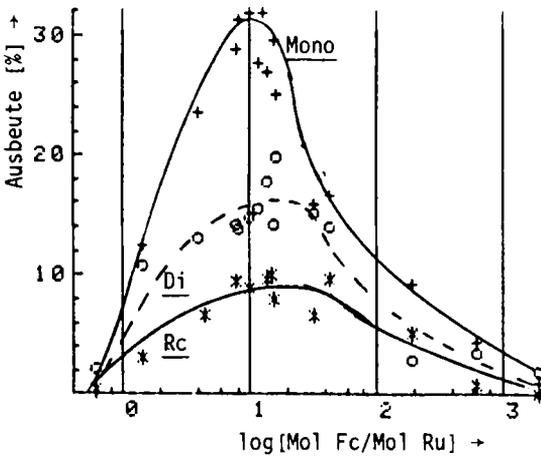


Abb. 2 Abhängigkeit der Ausbeute an ¹⁰³Ru-markierten Ruthenocen-Derivaten vom Mol-Verhältnis Ferrocenoyl-glycinester/RuCl₃.

Mono = Rc-CONH-CH₂-COOEt, Di = Rc-1,1'(-CONH-CH₂-COOEt)₂

Rc = Ruthenocen

ester verminderten die radiochemische Ausbeute. Beim gleichen Mol-Verhältnis erhält man außerdem eine günstigste Relation der Ausbeuten der Monoglycin- zur Diglycin-Verbindung.

Neben den bereits besprochenen 3 Ruthenocen-Derivaten entstehen ^{103}Ru -markierte Produkte im R_F -Bereich des Ruthenocens in geringem Umfang (Ferrocenyl-ruthenocen ?) (3). Ferner läßt sich zwischen 3-7 % an unverestertem ^{103}Ru -markiertem Ruthenocenoyle-glycin in Ameisensäure enthaltenden Chromatographie-Systemen abtrennen.

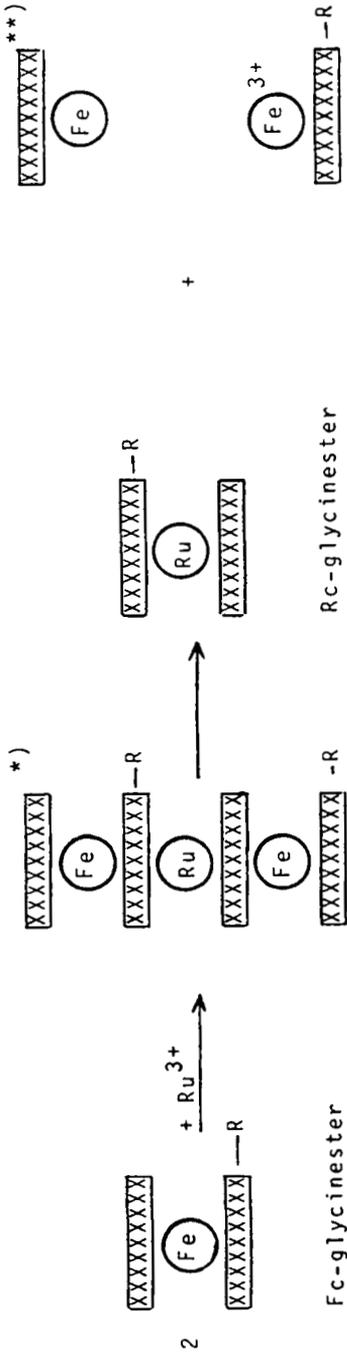
Identifizierung von Ruthenocenoyle-1,1'-di(glycinethylester)

Zur Identifizierung von Ruthenocenoyle-1,1'-diglycin bzw. seines Diesters wurde analog zu dem radioaktiven Ansatz ein Thermoaustausch mit einer größeren Menge an inaktivem Material durchgeführt. Es konnten dabei ca. 5 mg Ruthenocenoyle-di(glycinester) gewonnen werden, so daß Massenspektrum und NMR-Spektrum erhalten werden konnten. Massenspektrum und NMR beweisen das Vorliegen von Ruthenocenoyle-1,1'-di(glycinester). Die Aufteilung der einzelnen Abbauprodukte und ihre Massenzahlen zeigt Tab. 1.

Zur weiteren Absicherung wurden die analogen disubstituierten Ferrocen-Derivate hergestellt. Ihre R_F -Werte und die der Ruthenocen-Derivate sind in Tab. 2 zusammengefaßt.

Zum Mechanismus der Austausch-Reaktion

Wir hatten schon früher gefunden, daß nach Thermoaustausch von monosubstituierten Ferrocenverbindungen mit RuCl_3 Metallocene entstehen, die an beiden Cyclopentadienyl-Ringen substituiert sind (4).



Reaktions-Schema: Bildung von Ruthenocen-Derivaten beim Zentralatom-Austausch zwischen Ferrocen-Derivaten und RuCl_3 .

*) Postulierter Übergangszustand

**) Die Ladungen des Fe-Ions sind willkürlich eingezeichnet

Tab. 1: Charakteristische Peaks der Massenspektren von
 $[^{102}\text{Ru}]$ -Ruthenocenoyl-1,1'-di(glycineäthylester) und
 $[^{56}\text{Fe}]$ -Ferrocenoyl-1,1'-di(glycineäthylester)

$\text{Rc}-(\text{CONHCH}_2\text{-COOEt})_2$		S t r u k t u r	$\text{Fc}-(\text{CONHCH}_2\text{-COOEt})_2$	
m/e	rel. Int. [%]		m/e	rel. Int. [%]
490	100	M^+	444	100
445	15	$\text{M}^+ - \text{C}_2\text{H}_5\text{O}^+$	399	7
388	76	$\text{M}^+ - \text{NHCH}_2\text{COOEt}^+$	342	13
360	9	$\text{M}^+ - \text{CONHCH}_2\text{COOEt}^+$	314	9

Tab. 2. R_F -Werte von Ferrocen- bzw. Ruthenocen-Derivaten
auf Kieselgel-Dünnschichtplatten (Woelm-Rapid)

R_F -Werte x 100

Substanz	$\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$ (80/4)	$\text{CHCl}_3/\text{Aceton}/\text{HCOOH}$ (80/5/2,5)
Fc	75	78
Rc	74	78
Fc-glycin	4	11
Rc-glycin	4	12
Fc-glycineäthylester	33	42
Rc-glycineäthylester	37	43
Fc-diglycineäthylester	20	35
Rc-diglycineäthylester	21	36

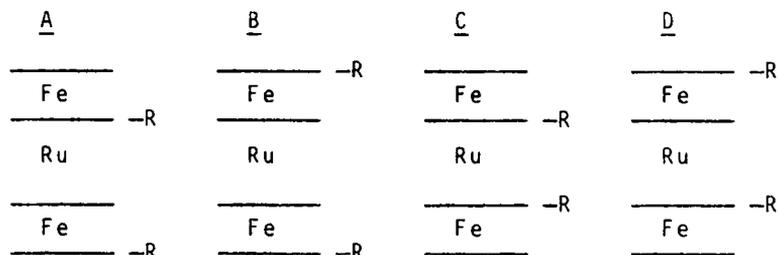
Das Auftreten von disubstituierten Ruthenocenen und Ruthenocen (bei gleichzeitiger Markierung von Ruthenocenoyl-monoglycinester) läßt sich gemäß dem beigefügten Schema erklären. Dabei lagert sich 1 Ru-Ion zwischen 2 Ferrocen-Derivaten.

Eine Neukombination der Cyclopentadienylreste, die zum Auftreten disubstituierter Metallocene führt, kann theoretisch auf der Stufe der Ferrocene oder - nach Zentralatom-Austausch auf der Stufe der Ruthenocene erfolgen. Jedoch ist eine Neukombination der Cyclopentadienyl-Ring-Systeme nach der Bildung von Ruthenocenoyl-glycinester unwahrscheinlich, da nach Erhitzen des Ruthenocenoyl-monoglycinesters unter Synthese-Bedingungen (Zusatz von $RuCl_3$) nämlich keine disubstituierte Verbindung auftritt.

Geht man nun zum obigen Schema zurück, so ergeben sich durch die 4 verschiedenen Kombinations-Möglichkeiten der beiden mittleren Cyclopentadienylringe mit dem eingeschlossenen Ru-Atom folgende 3 Reaktionsprodukte:

Rc-monoglycinester	relative Häufigkeit	2	Kombination	A + D
Rc-di(glycinester)	"	"	1	" C
Ruthenocen	"	"	1	" B

Die relative Häufigkeit ihres Auftretens läßt sich aus den Kombinations-Möglichkeiten A-D abschätzen. Man beachte, daß A und D identisch sind.



Diese Interpretation erklärt auch, warum die neu entstandenen Metallocen-Derivate ausschließlich Ruthenium als Zentralatom (Ruthenocen und Ruthenocenoyl-1,1'-di(glycinester) enthalten, und somit Ferrocen und Ferrocenoyl-1,1'-diglycinester nicht entstehen.

Präparativer Teil

Ferrocen-dicarbonensäure und Ferrocencarbonensäure wurden von der EGA-Chemie (Steinheim) bezogen. Glycinethylester-Hydrochlorid erhielten wir von der Firma Fluka (Buchs, Schweiz).

Die Synthesen des Säurechlorids der Ferrocen-1,1'-dicarbonensäure und die Umsetzung zum Ferrocen-1,1'-diglycinester wurden analog zum in (1) beschriebenen Verfahren durchgeführt. Durch Verseifen des Diesters erhielt man Ferrocenoyl-1,1'-diglycin.

Ferrocenoyl-1,1'-di(glycin-ethylester)

Analysen: Fp. 185°C

MS: Molpeak: 444 m/e	C % 54,07	berechnet	53,7	gefunden
	H % 5,41	"	5,55	"
	N % 6,31	"	5,9	"

¹H-NMR (CDCl₃):

δ (ppm) = 8,0 (t, 2H, J=7Hz, N-H), 4,85 (4H), 4,5 (4H), 4,28 (q, 4H, J=7Hz, CH₂-CH₃), 4,10 (d, 4H, J=7 Hz, NH-CH₂), 1,34 (t, 6H, J=7 Hz, CH₃).

Ferrocenoyl-1,1'-diglycin

Analysen: Fp 238°C (Zersetzung)

Dünnschichtchromatographie: Ameisensäure/Aceton/Chloroform

(5 : 20 : 75) Rf-Wert = 0,12

MS: Molpeak: 388 m/e C % 49,5 berechnet 49,4 gefunden
 H % 4,1 " 4,2 "
 N % 7,2 " 7,0 "

¹H-NMR (DMSO-d₆) = δ (ppm) 12.7 (s. breit 2H, COOH), 8.26 (t, 2H, J = 7 Hz, N-H), 4.84 (s, 4H), 4.46 (s 4H), 3.87 (d, 4H, J = 7 Hz, CH₂).

Ruthenocenoyl-di(glycin-ethylester)

Analysen:

MS: Molpeak 490 m/e

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7,6 (t, 2H, J = 7Hz, NH), 5,2 (s, 4H), 4,8 (s, 4H), 4,05 (t, 4H, J = 7Hz, CH₂NH), 4,22 (q, 4H, J = 7Hz, CH₂CH₃) 1,32 (t, 6H, J = 7Hz, CH₂CH₃).

Literatur

- 1 M. Wenzel und G. Schachschneider,
Z. Naturforschung 38c, 806 (1983).
- 2 M. Wenzel, H. Meinhold und G. Schachschneider,
Europ. J. Nucl. Med. (1984) im Druck.
- 3 E.W. Neuse und M.S. Loonat,
Transition Met. Chem. 6, 260 (1981).

- 4 E. Stadlbauer, E. Nipper und M. Wenzel,
J. Labelled Comp. 13, 491 (1977).

- 5 M. Wenzel und A. Abdul-Wahid,
Int. J. Appl. Radiol. Isotopes 26, 119 (1975)