

¹³C-Markierung der Seitenketten von Mitoxantrone

Joachim Blanz und Klaus-Peter Zeller*

Universität Tübingen, Institut für organische Chemie

Auf der Morgenstelle, D-7400 Tübingen

Summary

5,8-Bis-{{[1-¹³C]-{[2-[(2-hydroxyethyl)amino]ethyl]amino}}}-1,4-dihydroxy-9,10-anthracenedione dihydrochloride is synthesized in 28% yield from [¹³C]-sodium cyanide via a five step sequence. The described synthesis of the sidechain, 2-[(2-aminoethyl)amino]ethanol, allows the labelling of each position of the carbon skeleton by taking use of only one intermediate, which is easy to prepare in very good yield.

Key Words:

5,8-Bis-{{[1-¹³C]-{[2-[(2-hydroxyethyl)amino]ethyl]amino}}}-1,4-dihydroxy-9,10-anthracenedione dihydrochloride,

[2-¹³C]-2-Aminoethanol hydrochloride,

[2-¹³C]-2-[(2-Aminoethyl)amino]ethanol dihydrochloride,

[1-¹³C]-Glycine ethyl ester hydrochloride,

[1-¹³C]-2-Aminoethanol hydrochloride

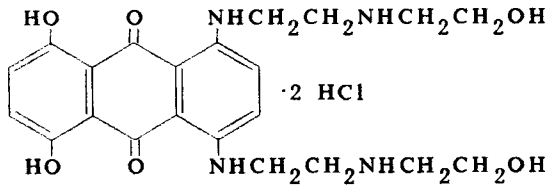
2-[[2-¹³C]-2-Aminoethyl]amino]ethanol dihydrochloride

Einleitung

Mitoxantrone (5,8-Bis-{{[2-[(2-hydroxyethyl)amino]ethyl]amino}}-1,4-dihydroxy-9,10-anthrachinon-dihydrochlorid) 1 besitzt Bedeutung zur Chemotherapie von Mammakarzinomen und akuten Leukämien. Während seine Wirksamkeit mit der anderer Anthrachinonderivate, wie Adria-

* Author to whom correspondence should be addressed.

mycin oder Daunomycin, vergleichbar ist, bietet es in der Anwendung den Vorteil einer wesentlich verringerten Kardiotoxizität und der weitgehenden Vermeidung der unangenehmen Nebenwirkungen der Anthracycline, wie Übelkeit, Erbrechen und Diarrhoe (1).



1

Obwohl die Pharmakologie dieser Verbindung seit mehreren Jahren von verschiedenen Arbeitsgruppen untersucht wird (1), ist über die Struktur der Metabolite noch wenig bekannt (2-4).

Im Rahmen eines Projekts zur Isolierung und Strukturaufklärung der Mitoxantrone-Metabolite haben wir eine Synthese ausgearbeitet, welche die gezielte Markierung sämtlicher Kohlenstoffatome der Seitenkette an C-5 und C-8 des Mitoxantrones ermöglicht. Die ^{13}C -Markierung dieser Seitenketten erschien uns vorrangig, da nach bisherigem Kenntnisstand (2-7) die Biotransformation den Anthrachinon-Chromophor intakt läßt.

Ergebnisse

Die gezielte Markierung der Seitenkette von Mitoxantrone erfordert die Ausarbeitung einer neuen Synthese für 2-[(2-Aminoethyl)amino]ethanol. Die literaturbekannte Synthese (8) Addition von 2-Aminoethanol an Aziridin, gestattet aus Symmetriegründen nur die definierte Markierung der 2-Hydroxyethyl-Gruppe. Da Aziridin schwer handhabbar ist und außerdem Probleme bei der Reinigung des Reaktionsprodukts auftreten, haben wir auch für die Markierung der 2-Hydroxyethyl-Gruppe auf diese Reaktion verzichtet.

Durch Addition von [^{13}C]-Natriumcyanid an Formaldehyd erhält man [$1\text{-}^{13}\text{C}$]-1-Cyano-1-hydroxymethan 2, mit dessen Hilfe drei der vier Kohlenstoffatome der Seitenkette markiert werden können (Schema 1). Zur Gewinnung von 2-[[$2\text{-}^{13}\text{C}$]-2-Aminoethyl]amino]ethanol 4 wird in 2 zunächst die Hydroxyl-Gruppe mit Hilfe von 2-Aminoethanol substituiert (9-11). Zur Vermeidung verlustreicher Reinigungsoperationen führt man die Umsetzung ohne Lösungsmittel durch. Gebildetes 3 wird in trockenem Tetrahydrofuran aufgenommen und der Reduktion mit Borhydrid-Tetrahydrofuran-Komplex unterworfen. Dieses Reduktionsmittel hat gegenüber dem ebenfalls verwendbaren Lithiumaluminiumhydrid

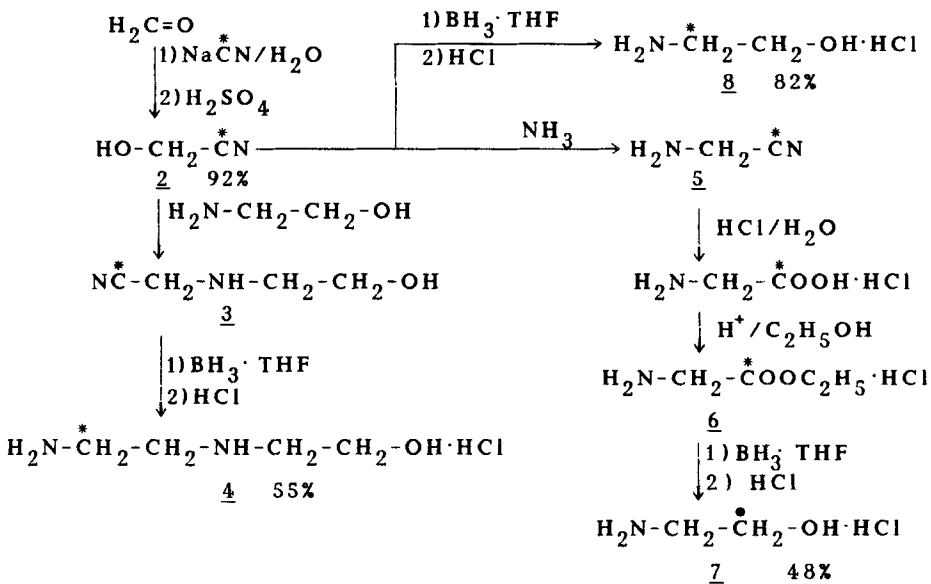
oder Natriumborhydrid den großen Vorteil, daß es nach der Hydrolyse keine Salze, sondern lediglich Borsäure bildet, die über einen Anionenaustauscher einfach zu entfernen ist. Das mehrfach gereinigte markierte Produkt **4** wird auf diese Weise in einer Ausbeute von 51 % (bezogen auf [¹³C]-Natriumcyanid) erhalten.

Das markierte Cyanhydrin **2** kann auf einfache Weise in [^{1-¹³C}]-**7** bzw. [^{2-¹³C}]-2-Aminoethanol **8** überführt werden. Mit Hilfe dieser Zwischenprodukte ist durch Umsetzung mit unmarkiertem 1-Cyano-1-hydroxymethan die Markierung der beiden β-Hydroxyethyl-Kohlenstoffatome der Seitenkette in Mitoxantrone durchführbar.

Durch Reduktion mit Borhydrid erhält man unmittelbar [^{2-¹³C}]-2-Aminoethanol **8**.

Die Solvolyse von **2** mit flüssigem Ammoniak (12) ergibt nach Hydrolyse mit Salzsäure [^{1-¹³C}]-Glycin-Hydrochlorid, das nach Veresterung (13)

Schema 1



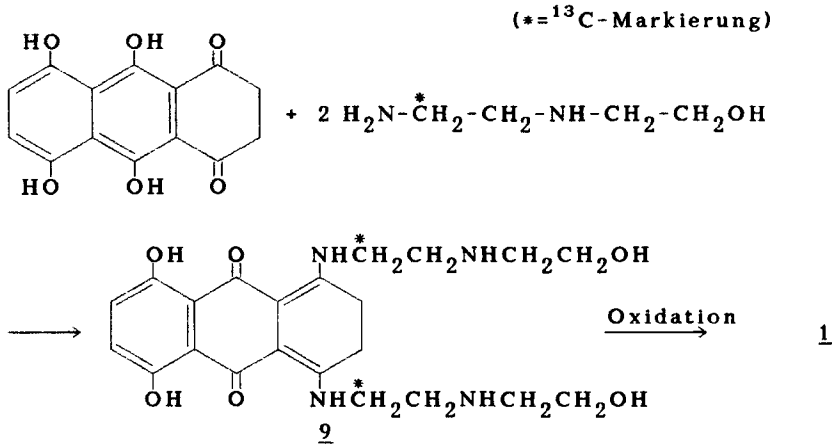
und Reduktion mit Borhydrid-Tetrahydrofuran-Komplex das Isotopomere **7** ergibt. Auf der Stufe des Hydrochlorids des Glycinesters muß mitgeschlepptes, nicht umgesetztes **2** sorgfältig abgetrennt werden, da dieses im nachfolgenden Reduktionsschritt [^{2-¹³C}]-2-Aminoethanol **8** als isotopomere Verunreinigung bilden würde.

Durch geeignete Kombination der beschriebenen Teilschritte wäre auch die gezielte Mehrfachmarkierung des 2-[(2-Aminoethyl)amino]ethanols zu erzielen.

Die Addition des markierten **4** an die reduzierte Form des 1,4,5,8-Te-

trahydroxyanthrachinons erfolgt nach den Vorschriften von K.C. Murdock (14,15) und R.K.Y. Zee-Cheng (16) und ergibt das markierte Mitoxantrone 1 mit einer Gesamtausbeute von 28% (bezogen auf [^{13}C]-Natriumcyanid).

Schema 2



Experimenteller Teil

1) Allgemeines

Die NMR-Spektren wurden an einem Spektrometer WM 400 der Firma Bruker mit dem Datensystem Aspect 2 000 der Firma Bruker registriert.

Die Elektronenstoß- und die Felddesorptionsmassenspektren wurden an einem Spektrometer 711 A der Firma Finnigan-MAT bestimmt. Das Thermospray-Massenspektrum wurde an einem Triple Stage Quadrupole 70 der Firma Finnigan-MAT aufgenommen.

pH-Werte wurden mit einem pH-Meter 521 der Firma WTW und einer Amarguss Mikro-pH-Einstabmeßkette EC 1810 bestimmt.

2) Chemikalien

Tetrahydrofuran wurde vor Gebrauch mit Lithiumaluminiumhydrid absolutiert. Methanol und Ethanol wurden mit Magnesiumspänen mehrere Stunden am Rückfluß erhitzt und kurz vor Gebrauch über Magnesium destilliert.

^{13}C -angereichertes Natriumcyanid wurde von der Firma Amersham Buchler, Braunschweig bezogen (Anreicherung: 91%).

3) Synthesen

Bei der Charakterisierung der Syntheseprodukte wurden folgende Pa-

rometer und Methoden benutzt:

Schmelzpunkte (Fp.) sind unkorregiert angegeben.

Kernresonanzspektren sind in perdeutierten Lösungsmitteln gemessen und beziehen sich auf TMS als Standard.

Massenspektren (MS) wurden mit einer Elektronenstoßenergie von 70 eV bei 200°C Quelltemperatur aufgenommen. Signale werden durch das Verhältnis m/z (Fragment, relative Intensität in Prozent) wiedergegeben. Neben EI wurden noch Felddesorption (FD) und Thermospray (TSP) als Ionisationsmethode verwendet. Bei Thermospray wurden 10 µl Lösung über eine Probeschleife injiziert. Als Lösungsmittelgemisch wurde Wasser/Methanol (70/30; v/v) verwendet.

[1-¹³C]-1-Cyano-1-hydroxymethan 2

In einem 100 ml Dreihalskolben mit Magnetskern, Kältethermometer und Septum werden 1,3393 g (0,02678 mol) [¹³C]-Natriumcyanid in 6 ml dest. Wasser gelöst. Man kühlt im Eis-Kochsalz-Bad auf -10°C ab und tropft aus einer Spritze eine Mischung aus 2,3 ml 37%iger Formalinlösung und 1,9 ml Wasser so zu, daß die Temperatur nicht über 5°C ansteigt. Nach 10 Minuten Rühren bei -10 bis 0°C tropft man aus einer Spritze verdünnte Schwefelsäure (4:1; v/v) langsam zu bis ein pH-Wert von 1,7-1,8 (25°C) erreicht ist. Auch dabei soll die Temperatur 5°C nicht übersteigen. Dann wird der pH-Wert mit 5%iger Kalilauge auf pH = 3 eingestellt. Anschließend wird die Lösung in einem Perforator 64 Stunden mit Diethylether extrahiert. Die Etherlösung wird 24 Stunden mit 15 g wasserfreiem Calciumsulfat getrocknet. Man saugt ab, spült mit 10-15 ml absolutem Ethanol nach und entfernt die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Ausbeute: 92,5%

2-[[2-¹³C]-2-Aminoethyl]aminoethanol-dihydrochlorid 4

In einem 25 ml Rundkolben mit Magnetskern und Septum werden 0,484 g (8,345 mmol) [1-¹³C]-1-Cyano-1-hydroxymethan vorgelegt. Dann tropft man unter Rühren und Kühlung in einem Eis-Kochsalz-Bad sehr langsam aus einer Spritze 0,5097 g (8,345 mmol) 2-Aminoethanol zu. Nach dem Erwärmen auf Raumtemperatur rührt man 4 Stunden, spült dann die Gefäßwand mit 1 ml absolutem THF und rührt weitere 18 Stunden. Anschließend gibt man 10 ml absolutes THF und 0,5 g wasserfreies Calciumsulfat zu und rührt erneut 3 Stunden. Man saugt ab und tropft diese Lösung aus einer Spritze zu 70 ml 1 M BH₃-THF-Komplexlösung, die unter Stickstoff in einem 250 ml Dreihalskolben mit Magnetskern, Stickstoffeinleitung, Septum und Rückflußkühler vorgelegt

ist. Man erhitzt 1,5 Stunden am Rückfluß zum Sieden, läßt abkühlen und rührt über Nacht bei Raumtemperatur. Am nächsten Morgen wird mit 50 ml 6N Salzsäure hydrolysiert. Das Reaktionsgemisch wird am Rotationsverdampfer zur Trockene eingengt, in 75 ml Wasser gelöst und auf eine Säule aufgetragen, die mit 160 ml Anionenaustauscher AG1-X2 (200-400 mesh; 0,8 meq/ml) in der OH-Form beschickt ist. Man eluiert mit 700 ml Wasser, säuert mit 10 ml konzentrierter Salzsäure an und engt erneut zur Trockene ein. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet und dann aus absolutem Methanol umkristallisiert. Im Tiefkühlschrank fallen 0,7808 g Produkt aus. Das Abrotieren der Mutterlauge und Umkristallisieren aus absolutem Ethanol ergibt zwei weitere Fraktionen, die jedoch gelblich gefärbt sind. Die drei Fraktionen (1,118g) werden ein weiteres Mal aus Ethanol umkristallisiert (Fp.: 113,5°C). Ausbeute: 55,9%

¹H-NMR (D₂O):

δ(ppm) = 3,90 (m, CH₂OH),
 3,64, 3,27 (m, NH₂¹³CH₂CH₂NH, ¹J_{CH} = 146,9 Hz),
 3,46 (m, NH₂¹²CH₂CH₂NH), 3,50 (m, ¹³CH₂CH₂NH),
 3,31 (m, CH₂CH₂OH)

¹³C-NMR (D₂O):

δ(ppm) = 59,5 (C-1), 52,7 (C-2), 47,0 (d, C-3, ¹J_{CC} = 36,8 Hz),
 38,5 (C-4)

MS (EI): m/z = 106 ([M+H]⁺, 1%), 87 ([M-H₂O]⁺, 3%),

74 ([CH₂=NHCH₂CH₂OH]⁺, 100%),

56 ([CH₂=NHCH=CH₂]⁺, 63 %)

**5,8-Bis-[[1-¹³C]-[2-[2-(2-hydroxyethyl)amino]ethyl]amino]]-
 6,7-dihydro-1,4-dihydroxy-9,10-anthrachinon 2**

831 mg (4,667 mmol) 2-[[[2-¹³C]-2-Aminoethyl]amino]ethanol-dihydrochlorid werden in 10 ml Wasser gelöst und auf eine Säule mit 25 ml Anionenaustauscher AG1-X2 (200-400 mesh; 0,8 meq/ml; OH-Form) aufgetragen. Man eluiert mit 60 ml destilliertem Wasser. Nach dem Entfernen des Wassers am Rotationsverdampfer (Badtemperatur: 30°C), trocknet man den Rückstand noch zwei Stunden im Hochvakuum. Das Öl wird in einen 50 ml Dreihalskolben mit Stickstoffeinleitung, Rückflußkühler und Magnetrührer überführt, mit 10 ml N,N,N',N'-Tetramethylethylendiamin überschichtet und 15 Minuten im lebhaften Stickstoffstrom gerührt. Dann erwärmt man auf 50°C (Badtemperatur) und gibt 0,510 g (1,861 mmol) 2,3-Dihydro-1,4,5,8-tetrahydroxyanthra-

chinon (17) zu. Nach 6,5 Stunden läßt man im Bad abkühlen und läßt ohne zu rühren 17 Stunden bei Raumtemperatur stehen. Das ausgefallene teerartige Produkt wird abgesaugt und getrocknet. Der Kolben wird noch mit Methanol ausgewaschen. Auf diese Weise erhält man weitere 69 mg Produkt (Fp.: 114°C). Ausbeute: 77%

Spektroskopische Daten der nicht markierten Verbindung:

¹H-NMR (DMSO-d₆):

δ(ppm) = 14,25 (s, 2H, OH), 13,13 (t, 2H, NH, ³J = 5,3 Hz),
 6,80 (s, 2H, H-2/3), 4,46 (bs, 2H, CH₂OH),
 3,59 (q, 4H, CH₂OH, ³J_{HH} = 5,8 Hz),
 3,46 (bs, 4H, NHCH₂CH₂NHCH₂),
 2,82 (t, 4H, CH₂NHCH₂, ³J_{HH} = 5,9 Hz),
 2,63 (t, 4H, CH₂CH₂OH, ³J_{HH} = 5,8 Hz),
 2,91 (s, 4H, H-6/7), 1,94 (bs, 2H, CH₂NHCH₂)

¹³C-NMR (DMSO-d₆):

δ(ppm) = 173,3 (C-9/10), 164,9 (C-5/8), 153,3 (C-1/4), 118,7 (C-2/3),
 118,0 (C-4a/9a), 100,2 (C-8a/10a), 60,3 (CH₂OH),
 51,1 (CH₂CH₂OH), 48,1 (CH₂NHCH₂),
 43,3 (NHCH₂CH₂NHCH₂), 23,0 (C-6/7)

MS (FD): m/z = 446 (M⁺), 444 ([M-2H]⁺)

**5,8-Bis-{{[1-¹³C]-[2-[(2-hydroxyethyl)amino]ethyl]amino}}-
 1,4-dihydroxy- 9,10-anthrachinon-dihydrochlorid 1**

0,808g 9 werden mit 0,46g 97%iges Chloranil in 20 ml 2-Methoxyethanol suspendiert. Unter Rühren und Kühlung in einem Eisbad leitet man trockenen Chlorwasserstoff ein. Dann rührt man 24 Stunden bei Raumtemperatur, gibt 100 ml absoluten Diethylether zu und saugt das ausgefallene Rohprodukt ab. Der Rückstand wird noch mit weiteren 10 ml Ether gewaschen, in 200 ml destilliertem Wasser gelöst und durch eine G4-Glasfritte filtriert. Das Wasser wird im Wasserstrahlvakuum abrotiert. Den Rückstand kristallisiert man aus 20 ml Wasser/150 ml Ethanol um. Als erste Fraktion fallen 0,399 g Produkt aus. Die Nachfällung im Kühlschrank ergibt weitere 0,27 g Mitoxantrone.

Ausbeute: 71,7 %

Gesamtausbeute bzgl. NaCN: 28,5 %

Markierungsgrad aus ¹H-NMR: 89 %

¹H-NMR (D₂O):

δ(ppm) = 6,93 (s, 2H, H-2/3), 6,77 (s, 2H, H-6/7),

3,96 (t, 4H, CH_2OH , $^3J_{\text{HH}} = 5,1$ Hz),
 3,85, 3,50 (t, 4H, $\text{NH}^{13}\text{CH}_2$, $^1J_{\text{CH}} = 139,6$ Hz),
 3,68 (t, 0,44 H, $\text{NH}^{12}\text{CH}_2$, $^3J_{\text{HH}} = 6,8$ Hz),
 3,41 (t, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NHCH}_2$, $^3J_{\text{HH}} = 6,8$ Hz),
 3,37 (t, 4H, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $^3J_{\text{HH}} = 5,1$ Hz)

^{13}C -NMR (D_2O):

$\delta(\text{ppm}) = 186,9$ (s, C-9/10), 156,5 (s, C-1/4), 148,5 (s, C-5/8),
 127,1 (d, C-2/3, $^1J_{\text{CH}} = 165,2$ Hz),
 126,7 (d, C-6/7, $^1J_{\text{CH}} = 163,7$ Hz), 117,2 (s, C-4a/9a),
 111,3 (s, C-8a/10a), 59,4 (t, CH_2OH , $^1J_{\text{CH}} = 145$ Hz),
 52,3 (t, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$, $^1J_{\text{CH}} = 144,3$ Hz),
 49,2 (td, $\text{NH}^{13}\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$, $^1J_{\text{CH}} = 144,5$ Hz),
 41,3 (t, $\text{NH}^{13}\text{CH}_2$, $^1J_{\text{CH}} = 139,6$ Hz)

MS (FD): $m/z = 446, 444$ (M^+ , 100 %))

(TSP): $m/z = 447$ ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100 %), 446 (M^+ , 31 %),

403 ($[\text{M}+\text{H}-\text{CH}_3\text{CHO}]^+$, 3 %),

359 ($[\text{M}+\text{H}-^{13}\text{CH}_2=\text{CHNHCH}_2\text{CH}_2\text{OH}]^+$, 12 %)

[2- ^{13}C]-2-Aminoethanol-hydrochlorid **8**

In einem 250 ml Dreihalskolben mit Rückflußkühler, Magnetkern, Septum und Stickstoffeinleitung werden in einer Stickstoffatmosphäre 60 ml 1M BH_3 -THF-Komplexlösung vorgelegt. Aus einer Spritze tropft man dann eine Lösung von 0,477 g (8,224 mmol) [1- ^{13}C]-1-Cyano-1-hydroxymethan in 10 ml absolutem THF zu. Dann erhitzt man 1 Stunde am Rückfluß zum Sieden, läßt abkühlen und hydrolysiert dann mit 50 ml 6N Salzsäure. Nach 15 Stunden Rühren werden die Lösungsmittel am Rotationsverdampfer entfernt und der Rückstand in 90 ml Wasser gelöst. Diese Lösung wird auf eine Säule mit 100 ml Anionenaustauscher AG1-X2 (200-400 mesh; 0,8 meq/ml; OH-Form) aufgetragen. Man eluiert mit 500 ml Wasser, säuert das Eluat mit 20 ml konz. Salzsäure an und engt am Rotationsverdampfer zur Trockene ein. Der Rückstand wird im Hochvakuum getrocknet und aus absolutem Ethanol umkristallisiert. Im Tiefkühlschrank fallen 0,5403 g Produkt aus. Aus der Mutterlauge lassen sich noch 0,1247 g leicht verunreinigtes Produkt gewinnen (Fp.: 82°C). Ausbeute: 82 %
 Markierungsgrad aus ^1H -NMR: 89%

^1H -NMR (D_2O):

$\delta(\text{ppm}) = 3,74$ (m, $\text{CH}_2\text{OH} + \text{NH}_2^{13}\text{CH}_2$), 3,04 (m, 0,2H, $^{12}\text{CH}_2\text{NH}_2$),
 2,24 (m, $\text{NH}_2^{13}\text{CH}_2$)

^{13}C -NMR (D_2O):

$\delta(\text{ppm}) = 60,4$ (d, C-1, $^1J_{\text{CC}} = 37,8$ Hz), 44,1 (s, C-2)

[2-¹³C]-2-[(2-Aminoethyl)amino]ethanol-dihydrochlorid

0,665g (6,749 mmol) [2-¹³C]-2-Aminoethanol-hydrochlorid werden in 10 ml Methanol gelöst und dann auf eine Säule mit 20 ml Anionenaustauscher AG 1-X 2 (200-400 mesh; 0,8 meq/ml; OH-Form), der in absolutem Methanol suspendiert ist, aufgetragen. Man eluiert mit 50 ml absolutem Methanol und entfernt anschließend das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Zu dem Rückstand tropft man dann aus einer Spritze bei 0-5°C 0,456g 1-Cyano-1-hydroxymethan zu. Die Aufarbeitung dieses Ansatzes erfolgt nach dem bei [4-¹³C]-2-[(2-Aminoethyl)amino]ethanol beschriebenen Verfahren (Fp.: 113°C ; farblose Kristalle). Ausbeute: 51%

¹H-NMR (D₂O):

δ(ppm) = 3,89 (m, CH₂OH), 3,48 (m, NH₂CH₂CH₂NH + ¹³CH₂CH₂OH),
 3,31 (m, ¹²CH₂CH₂OH),
 3,12 (m, ¹³CH₂CH₂OH, ¹J_{CH} = 146,1 Hz)

¹³C-NMR (D₂O):

δ(ppm) = 59,3 (d, C-1, ¹J_{CC} = 37,6 Hz), 52,5 (s, C-2), 46,8 (C-3),
 38,3 (C-4)

MS (EI): m/z = 87 ([M-H₂O]⁺, 2%),

75 ([CH₂=NH¹³CH₂CH₂OH]⁺, 100%),

57 ([CH₂=NH¹³CH=CH₂]⁺, 69%)

[1-¹³C]-Glycinethylester-hydrochlorid 6

0,468g (8,069 mmol) [1-¹³C]-1-Cyano-1-hydroxymethan werden mit 5 ml flüssigem Ammoniak in eine Ampulle eingeschmolzen. Nach dem Erwärmen auf Raumtemperatur läßt man unter gelegentlichem Schütteln 24 Stunden stehen. Dann öffnet man die Ampulle, läßt den Ammoniak verdampfen, überführt den Rückstand mit absolutem Ethanol in einen Rundkolben und entfernt das Lösungsmittel am Rotationsverdampfer. Das Reaktionsprodukt, [1-¹³C]-1-Amino-1-cyanomethan (0,395g), wird unter Kühlung (Eis-Kochsalz-Bad) und Rühren mit 20 ml konz. Salzsäure versetzt. Man hydrolysiert das Nitril durch dreistündiges Erhitzen zum Sieden, engt am Rotationsverdampfer ein und trocknet das Produkt 5 Stunden im Hochvakuum. Das entstandene [1-¹³C]-Glycinhydrochlorid wird in 30 ml absolutem Ethanol suspendiert. Man leitet dann trockenen Chlorwasserstoff ein und erhitzt eine halbe Stunde am Rückfluß zum Sieden. Noch heiß wird von wenig ungelöstem Feststoff abgesaugt. Schon beim Abkühlen fallen farblose Nadeln aus. Nach dem Abkühlen im Tiefkühlschrank erhält man 0,769g Produkt, das bei 143,5°C schmilzt. Aus der Mutterlauge gewinnt man noch 0,088g, das aber bereits bei 141,5°C schmilzt. Ausbeute: 88%

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O):

$\delta(\text{ppm}) = 4,19$ (qd, 2H, OCH_2 , $^3\text{J}_{\text{CH}} = 2,9$ Hz),
 3,80 (d, 2H, CH_2 ^{13}CO , $^2\text{J}_{\text{CH}} = 6,5$ Hz),
 1,17 (t, 3H, CH_3 , $^3\text{J}_{\text{HH}} = 7,3$ Hz)

$^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O):

$\delta(\text{ppm}) = 170,6$ (s, $^{13}\text{C}=\text{O}$), 66,0 (OCH_2),
 42,9 (d, NH_3^+CH_2 , $^1\text{J}_{\text{CC}} = 61,7$ Hz), 16,0 (CH_3)

MS (EI): $m/z = 104$ (M^+ , 3%), 75 ($[\text{M}-\text{C}_2\text{H}_5]^+$, 1%),
 30 ($[\text{H}_2\text{N}=\text{CH}_2]^+$, 100%)

[1- ^{13}C]-2-Aminoethanol-hydrochlorid 7

Ein 250 ml Dreihalskolben mit Stickstoffeinleitung, Magnetkern, Rückflußkühler und Septum wird mit Stickstoff gespült und mit 120 ml 1M BH_3 -THF-Komplexlösung beschickt. Aus einer Spritze werden dann 0,846g (6,023 mmol) [1- ^{13}C]-Glycinethylester-hydrochlorid zugetropft. Nach 15 Minuten Rühren bei Raumtemperatur erhitzt man langsam zum Sieden, läßt nach 6 Stunden erkalten und hydrolysiert mit 100 ml 6N Salzsäure. Die Lösungsmittel werden am Rotationsverdampfer abgezogen. Den Rückstand löst man in 150 ml Wasser und trägt ihn auf eine Säule auf, die mit 200 ml Anionenaustauscher (200-400 mesh; 0,8 meq/ml; OH-Form) gefüllt ist. Man eluiert mit 800 ml Wasser, gibt 10 ml konzentrierte Salzsäure zu und engt erneut zur Trockene ein. Dann wird 3 Stunden im Hochvakuum getrocknet. Der Rückstand wird erst aus absolutem Ethanol, dann aus Isopropanol umkristallisiert (Fp.: 143°C ; schwach gelbliche Kristalle). Ausbeute: 48 %

$^1\text{H-NMR}$ (D_2O):

$\delta(\text{ppm}) = 4,53$ (m, $^{13}\text{CH}_2\text{OH}$), 3,67 (m, $^{12}\text{CH}_2\text{OH}$),
 3,01 (m, $\text{CH}_2\text{NH}_2 + ^{13}\text{CH}_2\text{OH}$)

$^{13}\text{C-NMR}$ (D_2O):

$\delta(\text{ppm}) = 60,2$ (s, C-1), 44,0 (d, C-2, $^1\text{J}_{\text{CC}} = 37,8$ Hz)

Danksagung

Herrn Priv.-Doz. Dr. G. Ehninger und Frau B. Proksch, Medizinische Universitätsklinik Tübingen danken wir für die fruchtbare Zusammenarbeit. Unsere Arbeiten wurden in dankenswerter Weise von der Firma Lederle, Wolfratshausen, und dem Land Baden-Württemberg (Forschungsschwerpunkt FS 19) finanziell gefördert. Herrn Dr. Wagner-Redeker, Firma Finnigan-MAT, Bremen, verdanken wir die Thermospray-Massenspektren.

Literatur:

- 1)Batra V.K , Morrison J.A., Woodward D.L., Siverd N.S.,
Yacobi A., Drug Metabolism Reviews 17: 311 (1986)
- 2)Chiccarelli F.S., Morrison J.A., Cosulich D.B., Perkinson N.A.,
Ridge D.N., Sum F.W., Murdock K.C., Woodward D.L.,
Arnold E.T., Cancer Research 46: 4858 (1986)
- 3)Wolf C.R., Macpherson J.S., Smyth J.F.,
Biochem. Pharmacol. 35: 1577 (1986)
- 4)Smyth J.F., Macpherson J.S., Warrington P.S., Leonard R.C.F.,
Wolf C.R., Cancer Chemother. Pharmacol. 17: 149 (1986)
- 5)Ehninger G., Proksch B., Hartmann F., Gärtner H.-V.,
Wilms K., Cancer Chemother. Pharmacol. 12: 50 (1984)
- 6)Ehninger G., Proksch B., Schiller E.,
J. Chromatogr. 342: 119 (1985)
- 7)Ehninger G., Proksch B., Heinzl G., Schiller E., Weible K.-H.,
Woodward D.L., Invest. New Drugs 3: 109 (1985)
- 8)Carbide & Carbon Chem. Corp. U.S.Patent 2 318 729, 1941;
C.A. 5986 (1943)
- 9)Struve G.E., Gazzola C., Kenyon G.L.,
J. Org. Chem. 42: 4035 (1977)
- 10>Showa Denko K.K., Jpn. Kokai Tokkyo Koho 80,122,751
(Cl. C07C121/44), 20 Sep 1980; C. A. 94: 102862r (1981)
- 11)Polstorff K., Meyer H., Chem. Ber. 45: 1911 (1912)
- 12)Menge G.A., J. Amer. Chem. Soc. 56: 2197 (1934)
- 13)Curtius T., Goebel F., J. pr.[2], 37: 159 (1888)
- 14)Murdock K.C., Child R.G., Fabio P.F., Angier R.B.,
J. Med. Chem. 22: 1024 (1979)
- 15)Murdock K.C., Durr F.E., American Cyanamid Company
U.S.Patent 4,197,249, Apr. 8 1980
- 16)Zee-Cheng R.K.Y., Cheng C.C., J. Med. Chem. 21: 291 (1978)
- 17)Marshall P.G., J. Chem. Soc. 1937, 254