

Gehirn-affine Ruthenocen-Derivate: Chinuclidinol-Ester

M. Wenzel und D. Preiss

Pharmazeutisches Institut, Freie Univ. Berlin

Berlin-Dahlem (Germany)

Brain Affinity of Ruthenocene compounds: Quinuclidinol-Ester

SUMMARY

The ester of ferrocene carboxyl acid and quinuclidinol was synthesized, which after heating with $^{103}\text{RuCl}_3$ yielded the labelled ruthenocenoyl-ester. The organ distribution of this ester and of ^{103}Ru -labelled ruthenocenyl-N(isopropyl)-ethyl-amin was studied in mice and rats and compared with the organ distribution of Iodo-labelled N(-isopropyl)-amphetamine. A high brain affinity was found and the ruthenocenoyl-quinuclidinol-ester showed a remarkable heart/blood ratio.

Key words: quinuclidinol; brain, heart, amphetamine, metallocene.

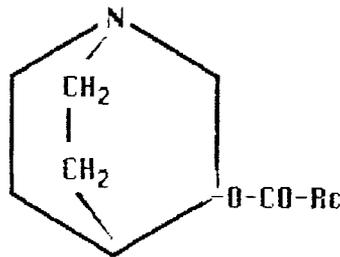
EINLEITUNG

Ähnlich wie das Jod-markierte N-(isopropyl)-Amphetamin (1-3), zeigt das N-isopropyl-Derivat des Ruthenocenyl-Amphetamins (Nip-Ripa) eine für die Gehirn-Szintigraphie geeignete Gehirn-Affinität (4,5). Um diese Befunde zu erweitern, untersuchten wir zwei weitere Amin-Derivate des Ruthenocens (Rc) auf ihre Organ-Affinität, die ebenfalls Analoga Hirn-selektiver Pharmaka darstellen. Es handelt sich dabei um N-(isopropyl)-1-Ruthenocenyl-2-amino-ethan und Ruthenocenoyl-chinuclidinol-ester.

Ruthenocen-Derivate lassen sich auf einfache Weise mit radioaktiven Ru-Isotopen markieren (4-8). ^{103}Ru ist ein Radioisotop (α 496 KeV, β 210 KeV) mit einer Halbwertszeit von 39,4 Tagen; es läßt sich gut für biochemische Untersuchungen anwenden. Für eine nuklearmedizinische Anwendung ist ^{97}Ru (9) weitaus besser geeignet (α 215 KeV, kein β , $t_{1/2} = 2,9$ d).

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Der Ester aus Ferrocen-carbonsäure und dem Alkohol Chinuclidinol wurde durch Umesterung aus Ferrocencarbonsäure-ethylester und Chinuclidinol mit 36% Ausbeute erhalten. Die Synthese von Nip-Ripa und von Ruthenocenyli-ethylamin (4, 6) haben wir bereits beschrieben. Die ^{103}Ru -markierten Ruthenocen-Analoga erhielten wir durch Zentralatom-Austausch (6-8) aus den Ferrocen-Derivaten mit $^{103}\text{RuCl}_3$. Bei der Synthese erhält man eine Mischung aus dem ^{103}Ru -markierten Ruthenocen-Derivat und dem Rest an (nicht radioaktivem) Ferrocen-Derivat. Beide Metallocen-Derivate zeigen chromatographisch ein identisches Verhalten, so daß es bisher nicht möglich war, das Ruthenocen-Derivat abzutrennen. Eine Trennung ist aber prinzipiell möglich, wie bei dem anderen Ferrocen/Ruthenocen-Derivaten z.B. dem Hippursäure-Analogen gezeigt werden konnte (7, 8).



Ruthenocenoyl-chinuclidinol-ester

Abb. 1 zeigt die Organverteilung des ^{103}Ru -markierten Ruthenocenoyl-chinuclidinol-ester bei Mäusen und Tab. 1 vergleicht bei Ratten die Gehirn-Affinität beider ^{103}Ru -markierter Ruthenocen-Derivate mit ^{103}Ru -markierten und Iod-markierten Nip-Amphetamin-Derivaten.

Die Gehirn-Affinität des ^{103}Ru -markierten Chinuclidinolesters ist 5 mal höher als vom Jod-markierten Chinuclidinol-Benzylat (10), obwohl die Ruthenocen-Verbindung im Organismus relativ schnell abgebaut wird. So ist im Harn von Mäusen 15 min. nach i.v.-Injektion des Esters nur noch 10% der ausgeschiedenen Radioaktivität als Ester nachweisbar (Abb. 2). Der in Abb. 2 am Start auftretende Peak, ließ sich in anderen chromatographischen Systemen nicht als Ruthenocencarbonsäure noch als anorganisches Ru^{3+} identifizieren.

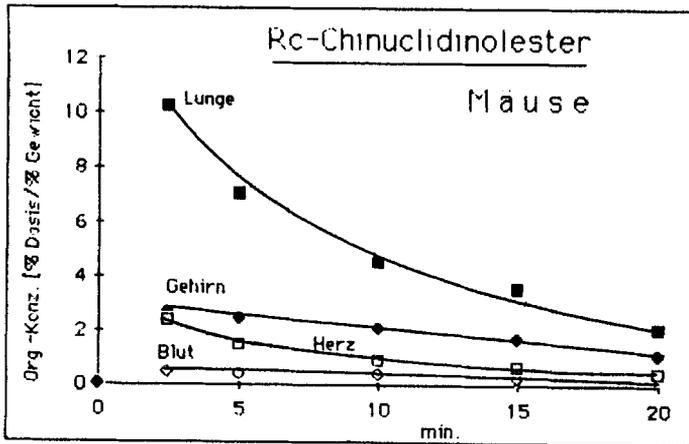


Abb. 1: Organ-Verteilung von ^{103}Ru -Ruthenocenoyl-chinuclidinolester bei Mäusen
Dosis: ca. $0,01 \mu\text{mol/Kg}$

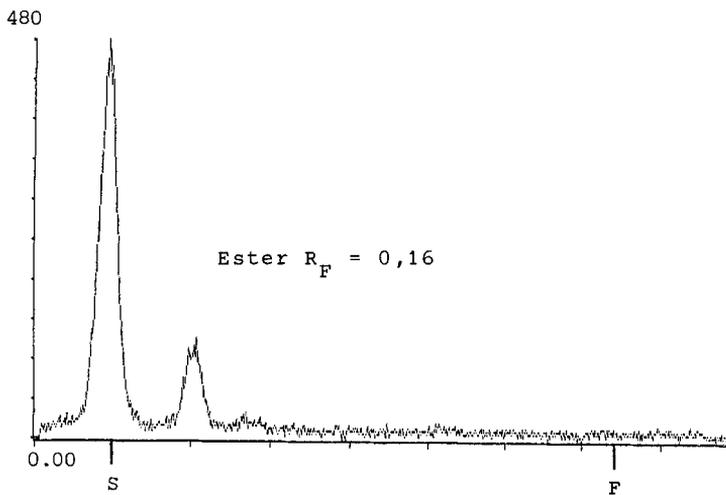


Abb. 2: DC von Mäuse-Urin nach Gabe des ^{103}Ru -markierten Chinuclidinol-Ester
($t = 15 \text{ min}$). Laufmittel: Ether/Diethylamin (95 : 5)
 R_F -Werte: Ester = $0,16$; Ruthenocencarbonsäure = $0,0$

Der Gehirnaffinität des ^{103}Ru -markierten Chinuclidinolesters entspricht dem in vitro Befund von Coper et. al (11) über die relativ hohe Bindung von Ferrocen-chinuclidinol-ester an Muscarin-Receptoren in Ratten-Cortex. Bei der Verdrängungs-Analyse mit ^3H -markierten N-Methyl-Scopolamin wurde mit der Ferrocen-Verbindung ein IC_{50} von 10^{-7} mol/L gefunden.

Tab. 1: Organ-Verteilung verschiedener Amin-Derivate bei Ratten (t = 15')Werte für Nip-Jodamphetamin \bar{x} aus (3) bei ^{103}Ru -markierten Derivaten $\bar{x} \pm \sigma$ Nip = N(isopropyl)-Amin Dosis: ca. 0,5 $\mu\text{Mol/Kg}$

Substanz (Anzahl der Tiere)	Radioaktive Konzentration [%Dosis/%Körpergewicht] x 100						
	Gehirn	Blut	Lunge	Leber	Niere	Herz	
Nip-Jodamphetamin (3)	280	132	2330	480	480	165	
Nip-Rc-ethylamin (7)	269 ± 14	31 ± 6	1210 ± 125	162 ± 10	917 ± 56	-	
Nip-Rc-propylamin (9) t = 10'	227 ± 21	16 ± 5	1197 ± 64	173 ± 25	754 ± 97	125 ± 23	
Chinnucl. Rc-ester (4) t = 10'	289 ± 15	7 ± 1	1216 ± 72	186 ± 11	821 ± 93	159 ± 11	

Alle in Tab. 1 angeführten Ruthenocen-Verbindungen haben außerdem eine hohe Lungen-Affinität, die jedoch beim Jod-markierten N(-isopropyl)-Amphetamin mit 23% Dosis/% Körpergewicht am größten ist (1-3). Zum Vergleich wurde in Abb. 3 der Konzentrations-Quotient Gehirn/Lunge der vier radioaktiven Verbindungen aus Tab. 1 nach verschiedenen Zeiten aufgetragen.

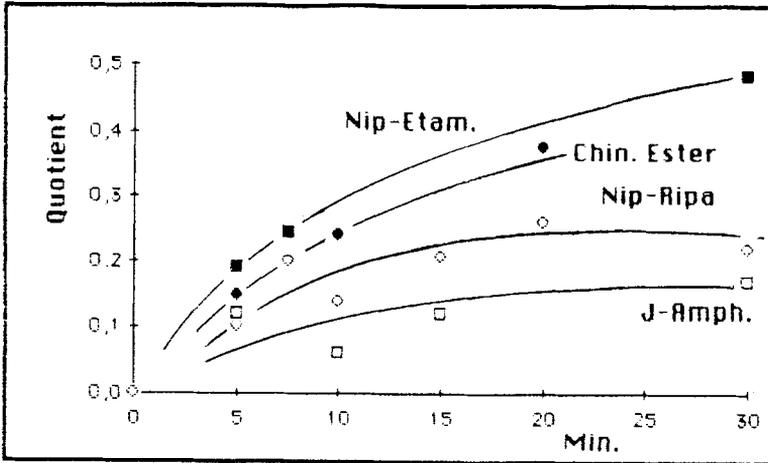


Abb. 3: Quotient der Radioakt. Konz. Gehirn/Lunge bei Ratten

Jod-markiertes N(-isopropyl)-Amphetamin (= J-Amph) aus (3)

Alle drei Ruthenocen-Derivate zeigen zu den untersuchten Zeitpunkten einen deutlich höheren Quotienten Gehirn/Lunge als das Jod-Amphetamin. Am günstigsten sind nach diesem Kriterium die beiden hier neu vorgestellten Ruthenocen-Derivate, in Sonderheit das N(-isopropyl)-ruthenocenyli-ethylamin.

Beim [^{103}Ru]-Ruthenocenyli-chinnuclidinoli-ester ist darüber hinaus noch der relativ hohe Konzentrations-Quotient Herz/Blut bemerkenswert, der bei Ratten und Mäusen Werte bis 10 : 1 erreicht (Abb. 4).

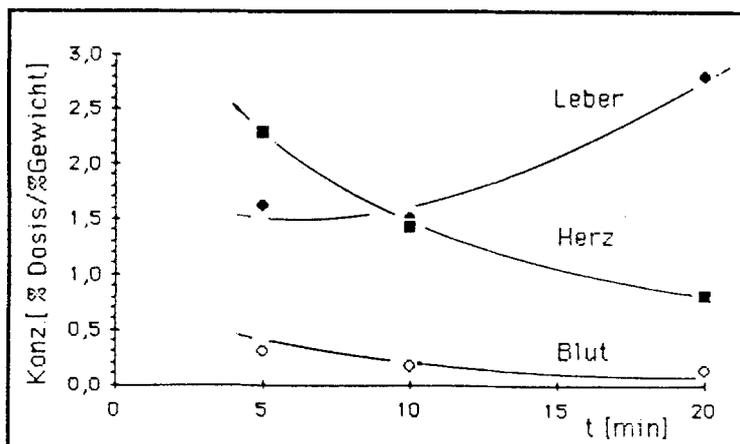


Abb. 4. Herz-Affinität von $[^{103}\text{Ru}]$ -Rutheoncenoyl-chinuclidionolester bei Ratten

Diese Konzentrations-Quotienten Herz/Blut erreichen $1/3$ der Werte von ^{201}Tl (12) jedoch das 3-fache des Quotienten beim $^{99\text{m}}\text{Tc}$ markierten Komplex mit t-Butylisocyanid (13).

MATERIAL UND METHODEN

Ferrocencarbonsäure erhielten wir von der Fa. Ventron Alfa Produkte, Karlsruhe.

$^{103}\text{RuCl}_3$ wurde von der Fa. Amersham-Buchler, Braunschweig bezogen. Es hatte eine spezifische Radioaktivität von 1-5 Ci/g Ru.

Ferrocencarbonsäure-ethylester wurde analog zu (14) hergestellt. Die Messung der Organ-Verteilung ist ausführlich in (4, 8) beschrieben.

Synthese von Ferrocenoyl-chinuclidinol-ester

In Analogie zur Vorschrift von Rzesotartarski (10) werden 4 g 3-Chinuclidinol (31,5 mMol) und 100 mg metallisches Natrium in 20 ml wasserfreiem Toluol 30 min. am Rückfluß gekocht. Anschließend fügt man aus einem Tropftrichter 1,3 g Ferrocencarbonsäure-ethylester (5,04 mMol) in 15 ml wasserfreiem Toluol dazu. Danach läßt man den Ansatz 2 h am Rückfluß sieden.

Aufarbeitung: Toluol am Rotations-Verdampfer abziehen. Der Rückstand wird in 50 ml konz. Soda-Lösung aufgenommen und 3 mal mit je 50 ml Essigester extrahiert

(Die wässrige Phase bleibt gelb durch Ferrocencarbonsäure). Der Essigester-Extrakt wird mit 2 mal Wasser gewaschen, mit MgSO₄ getrocknet und danach das Lösungsmittel abgezogen. Den Rückstand löst man in 2 ml Ether und reinigt über eine Aluminium-Oxyd-Säule (Ø 2 cm • 10 cm). Laufmittel: Ether/Diethylamin (95:5). Als erste Fraktion (gelb) erhält man restlichen Ferrocencarbonsäure-ethylester. Als zweite Fraktion (orange) erscheint der gewünschte Chinuclidinol-ester. Nach Umkristallisieren aus Ether, erhält man 0,61 g orange-gelbe Kristalle (Ausb. 36 %) Fp. 76°C.; DC auf Kieselgel: R_F 0,24 (Ether/Diethylamin 95:5). MG: 339 MS: m/e (% Häufigkeit) = 339 (M⁺, 100), 230 (80), 213 (10), 185 (6), 126 (44), 121 (5), 110 (64), 86 (20).

¹⁰³Ru-Ruthenocenoyl-chinuclidinol-ester

Das allgemeine Vorgehen ist in (6-9) beschrieben.

Man gibt 48,8 µCi ¹⁰³RuCl₃, gelöst in Aceton, in eine kleine Ampulle und läßt das Aceton abdunsten. Dann gibt man in die Ampulle 0,4 mg Fc-Chinuclidinol-ester und 0,15 ml Methanol mit 6% HCl. Anschließend wird die Ampulle zugeschmolzen und 1 h auf 130°C. erhitzt. Nach Öffnen der Ampulle wird die Methanol-Lösung direkt auf DC-Platte aufgetragen. Laufmittel: Ether/Diethylamin 95 : 5. Die orange-gelbe Bande mit dem R_F = 0,24 wird abgeschabt und eluiert. Das Eluat enthält radio-chemisch reinen [¹⁰³Ru]-Ruthenocenoyl-chinuclidinol-ester neben der nicht radioaktiven analogen Ferrocen-Verbindung.

Radiochemische Ausbeute: 24,7 %, spez. Radioakt.: 10,2 µCi/µmol Metallocen-Verbindung. Die spez. Radioaktivität der Ruthenocen-Verbindung entspricht der spez. Radioaktivität des eingesetzten ¹⁰³RuCl₃ (300 µCi/µmol)

DANKSAGUNG

Frau Scholl und Frau Brüggener sowie Herrn Kamann danken wir für wertvolle experimentelle Mitarbeit, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für finanzielle Unterstützung.

LITERATUR

1. Winchell, J., Baldwin R.M. und Lin, T.H. - J. Nucl. Med. 21, 940 (1980)

2. Hedde, J.P., Fiegler, W., Schulz, S., Christe, W. und Felix, R.
- Röntg. Forschg. 141, 214 (1984)
3. Biersack, H.J. et al. - Nuc. Compact 15, 13 (1984)
4. Wenzel, M. und Preiss, D. - Fortschr. Röntgenstr. 144, 227 (1986)
5. Wenzel, M. und Preiss, D., - Naturwissenschaften 73, 509 (1986)
6. Wenzel, M., Preiss, D. und Günther, G.
- J. Labelled Comp. Radiopharmac.
7. Schachschneider, G. und Wenzel, M.
- J. Label. Comp. Radiopharmaceuticals 22, 235 (1985)
8. Wenzel, M. und Schachschneider, G.,
- Z. Naturforschung 38c, 806 (1983)
9. Schneider, M. und Wenzel, M.
- J. Lab. Comp. Radiopharmaceuticals 19, 625 (1981)
10. Rzeszotarski, W.G. et al. - J. Med. Chem. 27, 156 (1984)
11. Coper, H, Privatmitteilung (1988)
12. Sullivann, P.J. et al., Int. J. Nucl. Med. Biol. 11, 3 (1984).
13. Jones, A.G. et al., Int. J. Nucl. Med. Biol. 11, 225 (1984).
14. Benkeser, R.A., Goggin, D. und Schroll, G.,
- J. Am. Chem. Soc. 76, 4025 (1954)