

Deuterierte Herz-affine Technetium-Isonitrit-Komplexe

M. Wenzel

Pharmazeutisches Institut der Freien Universität Berlin

1000 Berlin - Dahlem (Germany)

Myocard-Affinity of Technetium-Isonitriles after Deuteration.

Summary:

t - Butylisonitrit (TBI) and Methoxy-isobutyl-isonitrit (MIBI) were labelled with deuterium leading to TBI-d₂ and MIBI-d₂ or MIBI-d₅. After labelling with ^{99m}Tc the organ-distribution in mice and rats was studied. The deuterated isonitriles showed only a small increase in myocard-affinity but a significant decrease in blood concentration, so more favourable ratios heart/blood were reached.

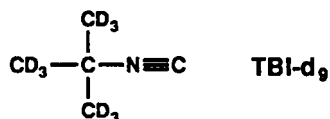
Keywords: Deuterium, Isonitriles, Myocard-Affinity

In der Nuclearmedizin besteht nach wie vor ein Bedarf an besseren Substanzen zur Funktions-Diagnostik des Herzens. Für die Herz-Szintigraphie werden neben radioaktivem Thallium Isonitrit-Komplexe des Technetiums verwendet (1,2). Eine für die Diagnostik ausreichende Herzaffinität zeigt z.B. der Komplex mit tertiärem Butylisonitrit (TBI); jedoch hat die Herz-Darstellung Mängel wegen der relativ hohen Radioaktivitäts-Aufnahme in der Leber. Günstiger liegen die Verhältnisse beim Methoxy-isobutyl-isonitrit-Komplex (MIBI) (3,4).

In dieser Arbeit wurde geprüft, ob die Deuterierung von Isonitrilen (TBI und MIBI) - nach Komplexierung mit Technetium - zu einer für die diagnostischen Zwecke verbesserten Organverteilung führt. Die Fragestellung ergibt sich aus früheren Ergebnissen, nach denen die Deuterierung anderer Radiodiagnostika zur deutlich veränderten Organverteilung führen kann. Dies zeigte sich z. B. bei Versuchen mit Amphetamin-Derivaten, die mit Ruthenium bzw. Radiojod markiert waren (5, 6).

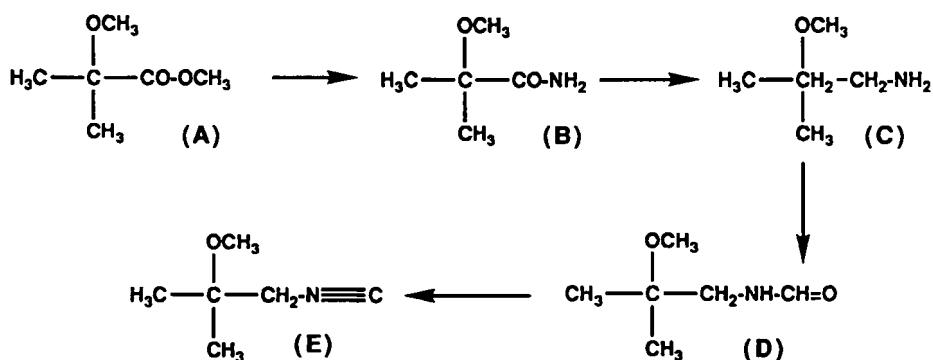
Ergebnisse und Diskussion

Nachstehend sind die Formeln der verwendeten deuterierten Isonitrile angegeben:

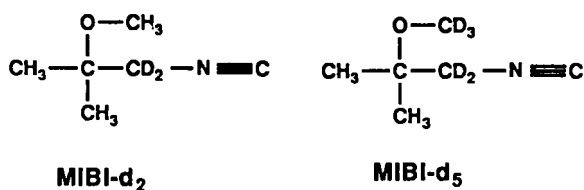


Das t-Butylisocyanid wurde aus N-t-Butyl-Formamid nach den Vorschriften von Ritter und Kalish (7) bzw. Skorna und Ugi (8) gewonnen.

Die Herstellung von deuteriertem MIBI erfolgte über mehrere Stufen analog zu (9) ausgehend von 2-Hydroxyisobuttersäure-methylester:



Das 2-Methoxy-2-methyl-propyl-isonitril (MIBI) wurde an zwei Stellen deuteriert:



Durch NMR war in den entsprechenden Molekül-Positionen eine Deuterierung von 82 - 95 % nachweisbar.

Tab. 1: Vergleich der Organ-Affinität von TBI und TBI-d₉ sowie MIBI und MIBI-d₂
 Markierung der Komplexe mit ^{99m}Tc; Mittelwerte von 5 Ratten Q, bei TBI $x \pm \sigma$

	Organ-Konz. [% Dosis/% Gewicht]				Quotient		
	Herz	Blut	Leber	Lunge	Herz/Blut	Herz/Leber	Herz/Lunge
TBI und TBI-d₉							
<u>15 Min.</u> TBI (= H)	6,34 ±0.04	0.305 ±0.003	6.10 ±0.39	8.86 ±0.07	20,8	1.04	0.72
TBI-d ₉	6.51 ±0.18	0.260 ±0.01	5.43 ±0.14	7.27 ±0.46	25.0	1.20	0.90
<u>TBI-d₉ x100</u> TBI	103	85	89	82	120	115	125
<u>60. Min.</u> TBI (= H)	6.39 ±0.19	0.17 ±0.01	6.86 ±0.50	1.98 ±0.08	37.6	0.93	3.24
TBI-d ₉	6.54 ±0.22	0.12 ±0.01	4.79 ±0.22	1.89 ±0.09	54.2	1.35	3.41
<u>TBI-d₉ x100</u> TBI	102	71	70	95	144	145	105
MIBI, MIBI-d₂ und MIBI-d₅							
<u>5 Min.</u> MIBI (=H)	5,59	0,31	2,67	4,17	18	2,09	1,34
MIBI-d ₂	6,88	0,18	1,87	3,54	38	3,68	1,94
MIBI-d ₅	5,80	0,25	2,18	2,02	28	3,23	3,49
<u>MIBI-d₂ x100</u> MIBI	123	58	70	85	213	176	145
<u>10 MIN.</u> MIBI (=H)	6,59	0,24	2,25	2,91	28	2,93	2,26
MIBI-d ₂	7,02	0,11	2,28	2,69	62	3,08	2,61
MIBI-d ₅	7,05	0,20	2,67	3,13	35	2,64	2,25
<u>MIBI-d₂ x100</u> MIBI	107	48	101	92	221	105	115

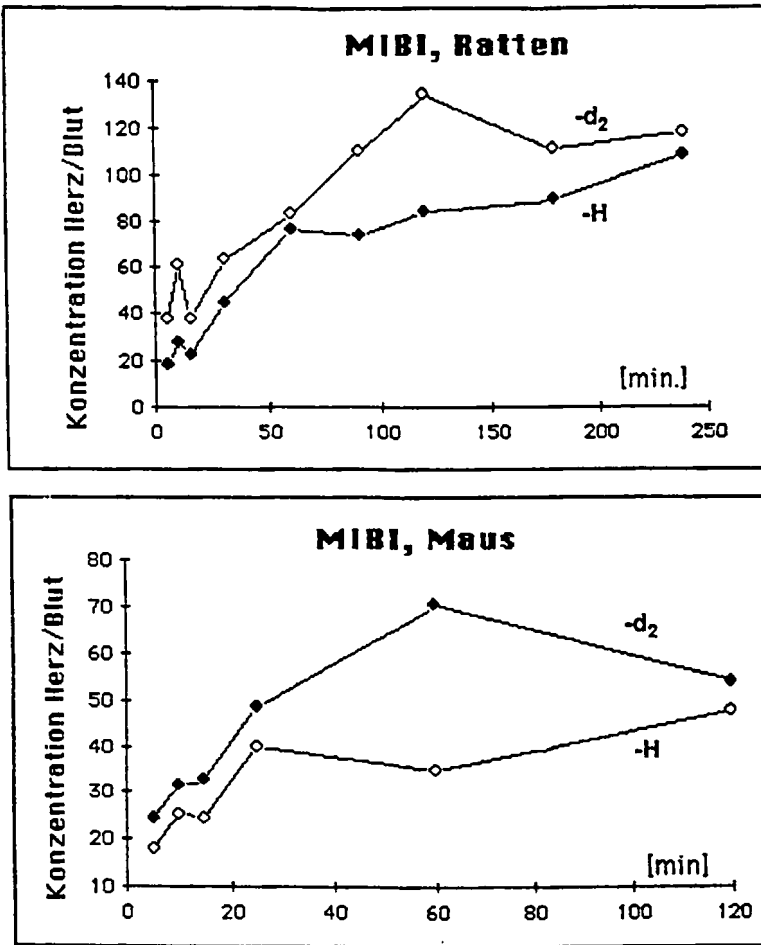


Abb. 1a/b: Konzentrations-Quotient Herz/Blut von ^{99m}Tc -MIBI nach Deuterierung
Mittelwerte von je 5 Ratten bzw. 7 Mäusen

Die nicht-deuterierten und die deuterierten Isonitrile wurden in bekannter Weise mit ^{99m}Tc markiert und anschließend ihre Organverteilung bei Ratten und Mäusen bestimmt. Durch die Deuterierung wird die Herzaffinität nur wenig erhöht, wie Tab. 1 für das TBI und MIBI zeigt. Auffallend ist die teilweise verminderte Technetium-Konzentration im Blut bei der Anwendung der deuterierten Verbindungen.

Dies zeigt sich auch deutlich bei Versuchen mit MIBI bei Mäusen. Damit wird der für die Abbildung des Herzens entscheidende Konzentrations-Quotient Herz/Blut bei den deuterierten Verbindungen deutlich verbessert, wie aus Abb. 1a und Abb. 1b für Mäuse und Ratten ersichtlich. Gemäß Tab. 1 ist der Quotient für den Technetium-Gehalt in Herz/Leber bzw. Herz/Lunge nach Gabe des deuterierten Technetium-Komplexes teilweise ebenfalls günstiger.

Ein mehrfacher Einbau von Deuterium in die Iso-Nitril Verbindungen führt nicht zu einer verbesserten Affinität zum Zielorgan. Dieses Teilergebnis stimmt in seiner Tendenz mit den Ergebnissen bei den deuterierten Amphetaminen überein.

Material und Methoden

N-t-Butylformamid-d₉

In Anlehnung an die Vorschrift von J. Ritter und J. Kalish (7), werden zu einem Ansatz von 15 g t-Butanol-d₁₀ (0,178 mol), 9,18 g NaCN 95 %ig (0,178 mol) und 22,5 ml Eisessig unter Rühren tropfenweise 44,5 g konz. H₂SO₄ in 22,25 ml Eisessig zugegeben. Die Reaktionstemperatur wird bei 50 - 60° C. gehalten. Anschließend wird das Reaktionsgefäß verschlossen über Nacht stehengelassen. Nach 24 h wird der Ansatz in 500 ml Wasser gegossen und mit ca. 25 %iger NaOH tropfenweise unter Kühlen und Rühren neutralisiert. N-t-Butylformamid-d₉ wird durch Ausschütteln mit je 100 ml Portionen Ether 8 mal extrahiert. Der Extrakt wird über K₂CO₃ getrocknet und nach Filtrieren der Ether abgezogen. Nach Destillation des Rückstandes bei Wasserstrahlvakuum erhält man 12,9 g N-t-Butylformamid-d₉ mit einem Kp von 92 - 94° C. Die wasserklare, dünnflüssige Substanz wird unter Stickstoff aufbewahrt. Ausb.: 67,3 %.

t-Butylisocyanid-d₉ (TBI-d₉)

In Anlehnung an G. Skorna und I. Ugi (8) gibt man in einen 500 ml Dreihalskolben 11,8 g t-Butylformamid-d₉ (bei 75 % Deuterierung 0,109 mol), 23,17 g wasserfreies Triethylamin (0,229 mol) und 109 ml o-Dichlorbenzol. Durch ein Eis-NaCl-Gemisch wird die Temp. bei ca. -14° C. gehalten, auch das Kühlwasser des Rückflußkühlers wird durch ein Eisbad geleitet. Innerhalb von 1 h werden 10,78 g Diphosgen (0,0545 mol) in 55 ml o-Dichlorbenzol unter Rühren zugegeben. Nach weiteren 30 min im Eisbad rührt man 2 h bei Raumtemp. Anschließend werden 100 ml 0,15 m Phosphatpuffer pH 5 durch den Tropftrichter langsam zugegeben. Die obere, rötliche, wäßrige Phase wird von der braunen, organischen Phase abgetrennt und diese mit 0,5 n NaOH extrahiert und anschließend über K₂CO₃ getrocknet. Durch Destillation bei Normaldruck wird die Hauptmenge des gewünschten Produktes vom Lösungsmittel o-Dichlorbenzol (Kp 177-178° C.) abgetrennt. Die unterhalb 140° C. überdestillierten Fraktionen werden zur Reinigung über ein thermisch gut isolierte Dornenkolonne (Länge 20 cm, Durchmesser 1,4 cm) nochmals fraktioniert destilliert.

Man erhält 6,52 g (= 0,072 mol bei 82% Deuterierung) wasserklares, t-Butylisocyanid-d₉ mit einem Kp von 89 - 90° C., Ausb. 66 %. Das NMR ergibt durch Vergleich mit dem undeuterierten t-Butylisocyanid einen Deuterierungsgrad von 82 %. Das Präparat ist mit 6 % Triethylamin verunreinigt.

Methyl-2-methoxy-d₃-2-methyl-propionat

Die Synthesen sind ausführlich in (9) beschrieben, daher wird hier nur das abweichende Vorgehen zum Einführen von Deuterium eingehender dargestellt.

Zur Synthese der deuterierten Ausgangsverbindung A (siehe Formelschema weiter oben) wird Deuterium durch Umsetzen von 2-Methyl-2-Hydroxymethylpropionat mit CD₃J (99,5 %ig) in die 2-Methoxy-Gruppe eingeführt. Das Produkt wird nach Kolonnendestillation bei einer Temperatur von 130 - 142°C. aufgefangen. Es ist leicht mit Dimethylformamid verunreinigt. Ausb. 53%. NMR-Vergleich der deuterierten mit der nichtdeuterierten Verbindung beweist eine vollständige (99 %) Deuterierung der Methoxy-Gruppe.

NMR (in CDCl₃): δ (ppm) 1,43 (s, 6H, CH₃), 3,8 (s, 3H, CH₃ ester)

2-Methoxy-d₃-2-methyl-1-d₂-propylamin (MIBI-d₅)

Bei der Reduktion von Stufe B zu Stufe C wird das 2-Methoxy-d₃-2-methyl-propanamid zunächst in der Wärme in D₂O gelöst und 24 h stehengelassen. Dadurch erfolgt ein Austausch zwischen H- und D-Atomen an der Amidgruppe, und somit wird ein Verdünnungseffekt von LiAlD₄ bei der anschließenden Reduktion vermieden. D₂O wird abgezogen und das Amid im Exsikkator gut getrocknet. Anschließend wird analog zu (9) mit LiAlD₄ (98 Atom % D) reduziert. Auf 0,1 mol 2-Methoxy-d₃-2-methyl-propanamid werden 0,22 mol LiAlD₄ in THF verwendet, Reaktionszeit 4 h unter Rückfluß. Die Ausbeute an Amin kann man erhöhen, wenn man die abfiltrierten anorganischen Bestandteile 5-6 h in einer Soxhlet-Apparatur mit Ether extrahiert.

Das Amin wird durch Destillation bei 122 - 126°C. gewonnen, Ausb. 67,8 %. NMR (D₂O): δ (ppm) = 1,17 (s, 6H, CH₃).

Läßt man die Deuterierung der Methoxygruppe weg, kommt man zu 2-Methoxy-2-methylpropyl-1-d₂-isonitril (MIBI-d₂). Die Synthese der N-Formyl-Verbindung (D) und des Iso-Nitrils (E) wird nach der Vorschrift in (8) und (9) durchgeführt.

Komplexierung des Isonitrils mit ^{99m}Tc

Die Komplexierung mit Technetium erfolgt in Anlehnung an R.J. Baker et al. (10).

5 μ mol MIBI in 200 μ l Ethanol gelöst, werden mit 0,05 mg SnCl₂ (wasserfrei) in 50 μ l Ethanol und 4-6 MBq ^{99m}TcO₄-Eluat (in ca. 50-100 μ l 0,9 % NaCl-Lösung) versetzt und 20 min in einem Wasserbad von ca. 80°C. erhitzt.

Bei hoher Konzentration des Pertechnetat-Eluates entsteht der Komplex zu mehr als 95 %. Er ist mindestens 24 h stabil. Ein Aliquot des Ansatzes kann direkt zur Injektion der Versuchstiere verwendet werden. Die Durchführung der Tierversuche ist ausführlich in (5) beschrieben.

Danksagung

Frau Gisela Günther haben wir für die präparativen Arbeiten, Frau M. Scholl und Herrn Kamann für die Tierversuche zu danken. Außerdem danken wir der Deutschen Forschungsgemeinschaft für die materielle Unterstützung.

Literatur

1. Jones, A.G., Abrams, M., Davison, A., Brodack, J., Toothaker, A., Adelstein, S. und Kassis, A.
Int. J. Nucl. Med. Biol. *11*, 225-234 (1984).
2. Baker, R.J., Bellen, J., Fornasiero, D. und Penglis, St.
Int. J. Nucl. Med. Biol. *13*, 527-532 (1986).
3. Holman Bl.L., Jones A.G., Lister-James J. et al., J. Nucl. Med. *25*, 1350-1355 (1984).
4. Wackers, F.Th., Berman, D.S., Maddahi, J. et al., J. Nucl. Med. *30*, 301-311 (1989).
5. Wenzel, M., Langstaedtler, M. und Preiss, D.
J. Appl. Radiat. Isot. *39*, 1023-1027 (1988).
6. Wenzel, M.
J. Labelled Comp. Radiopharm. *27*, 1143-1155 (1989).
7. Ritter, J. und Kalish, J.
J. Am. Chem. Soc. *70*, 4048 (1948).
8. Skorna, G. und Ugi, I.
Angew. Chem. *89*, 267 (1977).
9. Europa Patent 233 368
10. R.J. Baker, J.C. Bellen et al.; Nucl. Med. Biol. Vol. *13*, 527-32 (1986)