

Ferrocen-imidocarbonsäureäthylester: ein neues Reagens zur Schwermetallmarkierung von Proteinen

(Kurze Mitteilung)

Ethyl Ferrocenecarboximidate, a New Reagent for Heavy Metal-Labeling of Proteins (Short Communication)

Von

H. Falk, M. Peterlik und K. Schlögl

Aus dem Organisch-chemischen Institut und dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der Universität Wien

(Eingegangen am 15. April 1969)

Eine Schwermetallmarkierung von Proteinen ist mit Ferrocenylsulfochlorid ($Fc-SO_2Cl$) möglich¹. Wir suchten nun nach weiteren Verbindungen, mit deren Hilfe mehr Ferrocenylreste in Proteinmoleküle eingeführt werden könnten. Da Imidoester bekanntlich gut mit freien NH_2 -Gruppen reagieren², lag es nahe, ein entsprechendes Ferrocenderivat darzustellen; das Hydrochlorid des Ferrocen-imidocarbonsäureäthylesters (**1**) wurde auf folgendem Weg erhalten:

Eine Lösung von 239 mg (1,14 mMol) Cyanferrocen³ in 2,5 ml absol. Benzol und 0,6 ml absol. Äthanol wurde mit trockenem HCl-Gas gesättigt (vgl.²). Nach 3täg. Stehen bei Raumtemp. wurde das Lösungsmittel abgedampft und das Hydrochlorid von **1** durch Verreiben mit absol. Äther kristallin erhalten: 280 mg (d. s. 85% d. Th.) dunkelrote Kristalle, Schmp. 127—129°C. $C_{13}H_{16}FeClNO$. Ber. N 4,77. Gef. N 4,90.

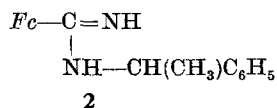
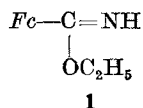
Aus dem Hydrochlorid kann die freie Base **1** (Schmp.: 72—75°C) mit K_2CO_3 -Lsg. erhalten werden. Umsetzung des Hydrochlorids von **1** in Dioxan mit (—)- α -Phenäthylamin gab in glatter Reaktion das entsprechende Amidin **2**; Schmp.: Zers. über 150°C. $C_{19}H_{20}FeN_2$. Ber. N 8,43. Gef. N 8,32. $\Delta\varepsilon = + 0,38$ (Äthanol) bei 480 nm.

¹ M. Peterlik, Mh. Chem. **98**, 2133 (1967).

² R. L. Shriner und F. W. Neumann, Chem. Rev. **35**, 351 (1944). R. Roger und D. G. Neilson, ibid. **61**, 179 (1961).

³ G. D. Broadhead, J. M. Osgerby und P. L. Pauson, J. Chem. Soc. **1958**, 650.

Solche Amidderivate optisch aktiver Amine sind vor allem in Hinblick auf stereochemische Untersuchungen von besonderem Interesse (vgl.⁴).



Die Geschwindigkeit der Reaktion des (gut wasserlöslichen!) Imidoesterhydrochlorids mit Proteinen nimmt mit steigendem pH zu. Im neutralen oder schwach alkalischen Milieu reagiert nur ein Teil der NH_2 -Gruppen. **1** wird unter den angewendeten Bedingungen nicht hydrolysiert, so daß die Umsetzung mit den reaktiven Gruppen des Proteins ohne unerwünschte Konkurrenzreaktionen stattfinden kann.

200 mg Rinderserumalbumin wurden in 10 ml 0,2*m*-Carbonatpuffer (pH = 10,5) gelöst und unter Rühren 60 mg **1**-Hydrochlorid in 1 ml Wasser zugefügt. Die Mischung wurde 40 Stdn. im Dunkeln bei 37°C weitergerührt, zentrifugiert und gegen dest. Wasser dialysiert. Eisen- und Stickstoffbestimmungen ergaben einen Gehalt von 49 µg Fe/mg Protein; dies bedeutet, daß etwa 60 Ferrocenylreste in das Proteinmolekül eingetreten waren.

Durch diesen hohen Schwermetallgehalt sollte der zur elektronenmikroskopischen Nachweisbarkeit des Eiweißkörpers im Gewebe nötige Kontrast erzielt werden.

⁴ H. Falk, Christine Krasa und K. Schlögl, *Mh. Chem.* **100**, 254 (1969).