

# Analoga des Hippurans: [ $^{103}\text{Ru}$ ]Ruthenocenoyl-glycin-Derivate. Synthese, Organ-Verteilung und Clearance

Analogue of Hippuran: Labelled Ruthenocenoyl-glycin.  
Synthesis, Organ Distribution and Clearance

Martin Wenzel und Gert Schachschneider

Pharmazeutisches Institut, Freie Universität Berlin, Königin-Luise-Str. 2–4, D-1000 Berlin 33

Z. Naturforsch. **38 c**, 806–811 (1983); received May 2/July 19, 1983

Ruthenium Isotopes, Metallocenes, Kidney, Radiopharmaceuticals, Organ Distribution

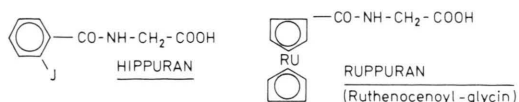
The analogue of hippuric acid, ruthenocenoyl-glycine was synthesized and labelled with the  $\gamma$ -emitter  $^{103}\text{Ru}$ . As a by-product of the synthesis the labelled diamide from ruthenocenedicarboxylic acid and glycine was gained. With these ruthenocene derivatives the organ distributions in mice and rats were measured.

All ruthenocene-glycine derivatives showed primary a high kidney accumulation followed by very rapid renal excretion. After application of the cytostatic  $\text{PtCl}_2(\text{NH}_3)_2$ , causing toxic effects in the kidney of mice, the excretion of ruthenocenoyl-glycine is decreased. Biochemical data suggest the use of labelled ruthenocenoyl-glycine as a substitute for Iodo-labelled hippuran.

## Einleitung

In der Nuklear-Medizin wird zur Funktions-Diagnostik von Nieren  $^{131}\text{J}$ -markierte *o*-Jodhippursäure (Hippuran) benutzt [1].  $^{131}\text{J}$  ist für nuklearmedizinische Anwendungen jedoch kein ideales Radioisotop: Durch seine energiereiche  $\gamma$ -Strahlung (364 keV) erhält man bei der Szintigraphie eine schlechte räumliche Auflösung von Strukturen und außerdem relativ geringe Zählausbeuten. Da  $^{131}\text{J}$  neben der  $\gamma$ -Strahlung noch  $\beta$ -Teilchen (608 keV) emittiert, führt dies zusammen mit der relativ langen Halbwertszeit (8 d) zu unerwünschten Strahlenbelastungen.

Besonders gut geeignet für die Nuklearmedizin ist das Ruthenium-Isotop  $^{97}\text{Ru}$ : Seine  $\gamma$ -Energie von 215 keV ist nahezu optimal für die  $\gamma$ -Kamera. Zudem ist seine Halbwertszeit von 2,9 d und das Fehlen einer  $\beta$ -Strahlung für eine *in vivo*-Diagnostik [2, 3] sehr günstig. Dazu kommt ein weiterer, wesentlicher Vorteil: Radioaktives Ruthenium läßt sich leicht als Zentralatom in Di-cyclopentadienyl-Komplexe (Metallocene) einbauen [4–6], die vielfältig variiert werden können.



In dieser Arbeit beschreiben wir die Synthese einer Hippursäure analogen Ruthenocen-Verbindung (vergl. Formel) und entsprechende Ester sowie deren biochemische Eigenschaften bei Mäusen und Ratten.

## Ergebnisse

### Synthese der Ruthenocenoyl-glycin-Derivate

Zur Herstellung der Ruthenocenoyl-glycin-Verbindungen wurde Ferrocenoyl-glycin-ethylester mit  $^{103}\text{RuCl}_3$  bei 170 °C erhitzt\*. Entsprechend folgender Reaktionsgleichung erhält man durch Thermo-austausch mit  $^{103}\text{Ru}$  den markierten Ruthenocenoyl-glycin-ethylester:



Fc = Ferrocenyl; Rc = Ruthenocenyl.

Das [ $^{103}\text{Ru}$ ]Ruthenocenoyl-glycin (Kurzbezeichnung: Ruppuran) wurde durch Verseifen des Ethylesters erhalten. Ein Thermo-austausch ist bei dem unveresterten Glycin-Derivat unzureichend, da sich die freie Carbonsäure bei 190 °C ohne Schmelzen zersetzt [7]. Die Ruthenocenoyl-Diglycin-Verbin-

\* Eine Übertragung dieser Methode auf den Austausch mit  $^{97}\text{Ru}$  ist ohne weiteres möglich [8]. Jedoch wurde hier wegen der länger andauernden biochemischen Untersuchungen das Ruthenium-Isotop  $^{103}\text{Ru}$  (Halbwertszeit 39 Tage) verwendet.

0341-0382/83/0900-0806 \$ 01.30/0



Dieses Werk wurde im Jahr 2013 vom Verlag Zeitschrift für Naturforschung in Zusammenarbeit mit der Max-Planck-Gesellschaft zur Förderung der Wissenschaften e.V. digitalisiert und unter folgender Lizenz veröffentlicht: Creative Commons Namensnennung-Keine Bearbeitung 3.0 Deutschland Lizenz.

Zum 01.01.2015 ist eine Anpassung der Lizenzbedingungen (Entfall der Creative Commons Lizenzbedingung „Keine Bearbeitung“) beabsichtigt, um eine Nachnutzung auch im Rahmen zukünftiger wissenschaftlicher Nutzungsformen zu ermöglichen.

This work has been digitalized and published in 2013 by Verlag Zeitschrift für Naturforschung in cooperation with the Max Planck Society for the Advancement of Science under a Creative Commons Attribution-NoDerivs 3.0 Germany License.

On 01.01.2015 it is planned to change the License Conditions (the removal of the Creative Commons License condition "no derivative works"). This is to allow reuse in the area of future scientific usage.

dungen fallen bei der Synthese als Nebenprodukte an; über ihre Synthese und Identifizierung wird gesondert berichtet.

### Biochemische Untersuchungen

Die biochemischen Untersuchungen konzentrierten sich auf die Organ-Verteilung und das Ausscheidungs-Verhalten der Ruthenocenoyl-glycin-Derivate.

Tabelle I zeigt bei Mäusen und Ratten die Organ-Verteilung von  $^{103}\text{Ru}$  nach i.v. Injektion folgender  $^{103}\text{Ru}$  markierter Ruthenocen-Derivate:

Ruthenocenoyl-glycin (Ruppuran),  
Ruthenocenoyl-glycin-ethylester,  
Ruthenocenoyl-di(glycin) (Di-Ruppuran) und  
Ruthenocenoyl-di(glycin-ethylester).

Bei allen Verbindungen erhält man die höchste  $^{103}\text{Ru}$ -Konzentration in der Niere und bei den

Diglycin-Derivaten zusätzlich in der Leber. Sämtliche Ruthenocenoyl-glycin-Derivate werden offensichtlich nicht nur in der Niere filtriert, sondern – analog zum Hippuran – aktiv sezerniert. Man findet 30 min nach Injektion eine extrem hohe Urin-Konzentration, die bei allen Verbindungen schnell wieder abfällt.

Als ein Beispiel sei hier bei Mäusen die Kinetik der Blut- und Urin-Konzentration im Zeitraum von 5–360 Minuten nach Gabe von Ruppuran gewählt (Abb. 1). Durch Dünnschicht-Chromatographie des Urins wurde bewiesen, daß nur das unmetabolisierte Ruthenocenoyl-glycin im Harn auftritt. Damit ist bei dieser Substanz eine wichtige Voraussetzung für die Messung der renalen Clearance erfüllt.

Da die Glycin- und die Diglycin-Verbindung die höchsten Urin-Konzentrationen (und damit Ausscheidungs-Raten) zeigten (vergl. Tab. I), wurden bei diesen Verbindungen im Zeitraum von 0–360

$^{103}\text{Ru}$ -Organ-Verteilung von markierten Ruthenocenoyl-glycin-Derivaten bei Mäusen und Ratten. Dosis: ca.  $0,5 \mu\text{mol/kg}$  i.v. Zahl der Tiere: (n). Rc = Ruthenocenyl  
Konzentrationsangaben  $\bar{x} \pm \sigma$ .

Zeit [h]	$^{103}\text{Ru}$ -Konz. [% Dosis/% Körpergewicht] $\times 100$					
	Blut	Lunge	Leber	Niere	Darm	Urin
Rc-CONH-CH <sub>2</sub> -COOH						
Mäuse (7)						
0,5	$14 \pm 4$	$52 \pm 11$	$50 \pm 11$	$411 \pm 150$	$45 \pm 9$	26675
1	$13,7 \pm 4$	$27 \pm 7$	$58 \pm 18$	$299 \pm 86$	$67 \pm 26$	5274
3	$1,1 \pm 0,5$	$1,4 \pm 0,7$	$17 \pm 5$	$217 \pm 42$	$22 \pm 9$	176
Ratten (3)						
3	$3,2 \pm 0,4$	$3 \pm 0,1$	$14 \pm 2$	$59 \pm 8$	$76 \pm 36$	1561
Rc-CONH-CH <sub>2</sub> -COOEt						
Mäuse (5)						
0,5	$22 \pm 6$	$30 \pm 19$	$108 \pm 12$	$553 \pm 127$	—	11924
1	$3,3 \pm 1,2$	$6,0 \pm 1,8$	$43 \pm 11$	$141 \pm 39$	$49 \pm 9$	1634
3	$1,9 \pm 0,9$	$2,6 \pm 0,6$	$24 \pm 3$	$90 \pm 19$	$31 \pm 8$	975
Ratten (3)						
0,5	$15,7 \pm 4$	$14 \pm 2$	$51 \pm 1$	$517 \pm 300$	—	882
Rc-(CONH-CH <sub>2</sub> -COOH) <sub>2</sub>						
Mäuse (5)						
0,5	$27,1 \pm 7$	$21,4 \pm 4$	$165 \pm 48$	$117 \pm 37$	$89 \pm 18$	36460
1	$7,2 \pm 1$	$7,4 \pm 2$	$83 \pm 13$	$36 \pm 14$	$95 \pm 18$	4003
3	$5,1 \pm 0,6$	$3,2 \pm 0,7$	$18 \pm 2$	$7,7 \pm 0,5$	$105 \pm 39$	332
Ratten (3)						
0,5	$35 \pm 11$	$34 \pm 20$	$228 \pm 74$	$195 \pm 68$	$134 \pm 53$	265
Rc-(CONH-CH <sub>2</sub> -COO-Et) <sub>2</sub>						
Mäuse (7)						
0,5	$18,6 \pm 4$	$32 \pm 9$	$135 \pm 29$	$89 \pm 19$	$256 \pm 62$	10500
1	$6,1 \pm 2$	$15 \pm 6$	$63 \pm 22$	$32 \pm 7$	$334 \pm 25$	2392
3	$1,5 \pm 0,3$	$3 \pm 0,6$	$34 \pm 7$	$18 \pm 3$	$176 \pm 50$	198

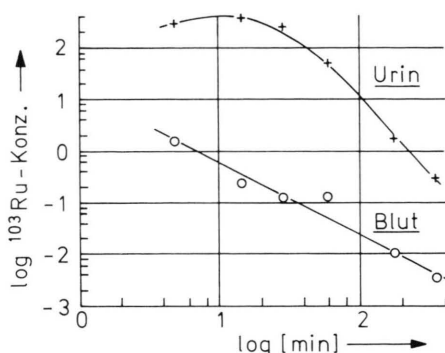


Abb. 1.  $^{103}\text{Ru}$ -Konzentration in Blut und Urin bei Mäusen nach i.v. Gabe von  $^{103}\text{Ru}$ -Ruppuran. Dosis  $0,5\ \mu\text{mol}$ ;  $n=7$  CFl Mäuse ( $\varnothing$ ). Ordinate:  $\log$  der  $^{103}\text{Ru}$ -Konz. [% Dosis/% Körpergewicht]. Abszisse:  $\log$  der Minuten seit Injektion.

Minuten der Quotient der  $^{103}\text{Ru}$ -Konzentration Niere/Leber bestimmt. Wie Abb. 2 zeigt, hat im gesamten Zeitraum Ruthenocenoyl-glycin eine deutlich höhere Nieren-Affinität als die Diglycin-Verbindung.

Dennoch wird langfristig die Diglycin-Verbindung weitgehender als das Ruppuran eliminiert. Gemäß Abb. 3 enthalten Mäuse 10 Tage nach Substanz-Injektion noch 2% an  $^{103}\text{Ru}$  beim Ruppuran im Vergleich zu 0,2% beim Di-Ruppuran. Die schnellere Exkretion der Diglycin-Verbindung beruht wahrscheinlich auf ihren stärkeren hydrophilen Eigenschaften im Vergleich zur Monoglycin-Verbindung\*. Die nach 10 Tagen in den Tieren befindliche  $^{103}\text{Ru}$ -Restaktivität ist hauptsächlich in Muskel, Leber und Niere enthalten. Das Konzentrations-Verhältnis beträgt 1:8:5 beim Ruppuran und 1:21:5 bei der Diglycin-Verbindung.

Auch die beiden Ethyl-Ester der Glycin-Verbindungen zeigen eine überraschend schnelle Elimination aus dem Blut und hohe Urin-Konzentrationen, diese erreichen jedoch nicht die Werte der unveresterten Glycin-Derivate (siehe Tab. I). Bei einer Chromatographie von Harnproben waren nicht mehr die Ester sondern nur die freien Carbonsäuren nachweisbar. Offensichtlich werden die Ester im Organismus hydrolysiert und die freien Säuren anschließend ausgeschieden.

\* Bei anderen Ruthenocen- und Osmocen-Derivaten zeigt sich ebenfalls eine schnellere Ausscheidung bei Substitution an *beiden* Cyclopentadienyl-Ringen im Vergleich zu den Derivaten, die nur an einem Ring substituiert sind [16].

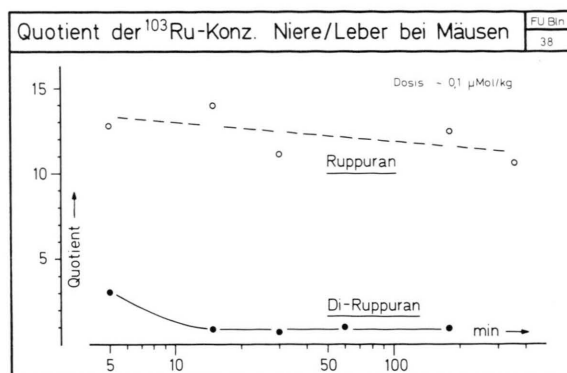


Abb. 2.  $^{103}\text{Ru}$ -Konzentrations-Quotient Niere/Leber bei Mäusen ( $\varnothing$ ) nach i.v. Gabe von  $^{103}\text{Ru}$ -markiertem Ruppuran bzw. Diruppuran. Dosis: Ruppuran  $0,5\ \mu\text{mol/kg}$ ;  $n=7$ . Di-Ruppuran  $0,1\ \mu\text{mol/kg}$ ;  $n=7$ .

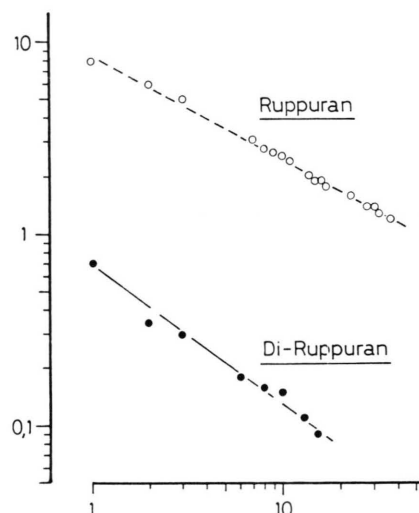


Abb. 3.  $^{103}\text{Ru}$ -Exkretion bei  $\varnothing$  Mäusen nach i.v. Gabe von  $^{103}\text{Ru}$ -markiertem Ruppuran und Di-Ruppuran. Dosierung vgl. Abb. 2. Mittelwerte von je 7 Tieren. Ordinate: Restaktivität [% Dosis].

## Diskussion

### Biochemische Aspekte

Die Amide aus Ruthenocen-monocarbonsäure bzw. -dicarbonsäure und Glycin (Ruppuran und Di-Ruppuran) sind Verbindungen, die sich leicht mit den  $\gamma$ -Strahlern  $^{97}\text{Ru}$  oder  $^{103}\text{Ru}$  markieren lassen. Sie zeigen bei Mäusen und Ratten nach i.v.-Gabe neben einer Nieren-Affinität eine extrem schnelle Clearance. Ruthenocen-glycin wird bei Mäusen binnen 60 Minuten nach der Injektion zu 85% im Urin unverändert ausgeschieden. Die Halb-

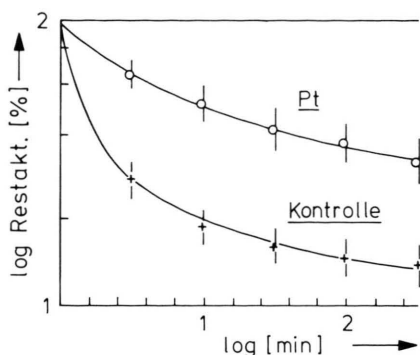


Abb. 4. [ $^{103}\text{Ru}$ ]Ruppuran-Exkretion bei Mäusen nach Behandlung mit dem Cytostatikum  $\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$ . Kontrollen ( $n = 7$  ♀) und Pt-Gruppen ( $n = 7$  ♀) erhielten [ $^{103}\text{Ru}$ ]Ruppuran  $0,5 \mu\text{mol/kg}$ . Zur Zeit  $t = 0$  h. Pt-Gruppe:  $\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$   $8 \text{ mg/kg}$ ;  $t = -24$  h. Ordinate: Logarithmus der Restaktivität im Gesamttier ( $\bar{x} \pm \sigma_{\bar{x}}$ ). Zur Zeit  $t = 0$  Restaktivität 100%.

wertszeit im Blut beträgt ca. 4 Minuten. Beide Daten entsprechen Werten, die von Konikowski *et al.* [9, 10] mit Jod-markiertem Hippuran bei Mäusen gefunden wurden [11]. Die hohe renale Clearance von Ruppuran läßt erwarten, daß Störungen der Nieren-Funktion sich durch eine verminderte  $^{103}\text{Ru}$ -Ausscheidung bemerkbar machen. Tatsächlich läßt sich eine Nierenschädigung, wie sie nach Gabe des Cytostatikums  $\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2$  auftritt [12, 13] an Hand der verminderten Exkretion von Ruppuran nachweisen (Abb. 4).

#### Radioisotope des Rutheniums im Vergleich zu den gebräuchlichen Radioisotopen der Nuklearmedizin

Die radioaktiven Ruthenocenoil-glycin-Derivate zeigen in ihren biochemischen Eigenschaften interessante Parallelen zum Nieren-Diagnosticon [ $^{131}\text{J}$ ]Hippuran [1, 9–11]. Die Nachteile des  $^{131}\text{J}$  als Radionuklid für die Nuklearmedizin sind schon in der Einleitung genannt worden [1].

Wegen dieser gravierenden Nachteile hat man in letzter Zeit statt  $^{131}\text{J}$  den reinen  $\gamma$ -Strahler  $^{123}\text{I}$  ( $\gamma$ -Energie 159 keV) zur Hippuran-Markierung verwendet [14]. Allerdings verursacht seine kurze Halbwertszeit von 13 h erhebliche logistische Probleme. Auch mit  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -markierte Komplex-Verbindungen [1] zeigen bei der Nieren-Diagnostik deutliche Nachteile. Zwar ist eine Nieren-Szintigraphie gut möglich, dagegen läßt sich die Nieren-Clearance damit nicht bestimmen. Außerdem ist die  $\gamma$ -Energie des  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  mit 140 keV zwar gut für

die klinisch gebräuchlichen Radioaktivitäts-Detektoren geeignet, jedoch ist – was oft vergessen wird – eine Gamma-Strahlung von 140 keV zu schwach, um tief im Körper liegende Strukturen gut zu erfassen.

Aus den oben erwähnten Gründen erscheinen mit  $^{97}\text{Ru}$  ( $\gamma = 215 \text{ keV}$ ; 2,9 d HWZ) markierte Radiopharmaka [3, 8, 15] als durchaus konkurrenzfähige Verbindungen. Dafür besonders geeignet sind Ruthenoceno-Derivate, da das aromatische Ringsystem des Ruthenocens eine hohe chemische Stabilität aufweist. Bei markiertem Ruthenoceno ist besonders seine chemische Variabilität hervorzuheben: Durch die Synthese von Derivaten mit verschiedenen Seitenketten, lassen sich potentiell Radiopharmaka mit sehr verschiedenen biochemischen Eigenschaften herstellen [16–19].

Die hier vorgestellten Befunde und der Bedarf für Radiopharmaka zur Nieren-Diagnostik mit besseren Nuklid-Eigenschaften lassen ein Studium der Hippuran-analogen Ruthenoceno-Verbindung an Klinik-näheren Modellen gerechtfertigt erscheinen. Darüber wird an anderer Stelle berichtet.

## Material und Methoden

### Ausgangsprodukte

Ferrocencarbonsäure, Ruthenocencarbonsäure und Glycinethylester-hydrochlorid wurden von der EGA-Chemie (Steinheim),  $^{103}\text{Ru}$ -Ruthenrichlorid von Amersham Buchler (Braunschweig) bezogen. Aus dem Glycinethylester-hydrochlorid wurde die freie Base nach [21] hergestellt. Die Darstellung von Ferrocenoil-glycin und des entsprechenden Ethylesters ist bekannt [20].

### Ruthenocenoil-glycin-ethylester

Zu 515 mg Ruthenoceno-carbonsäure (1,87 mM) gibt man in einem 50 ml Zweihalskolben 30 ml absolutes Benzol. Unter Rühren und leichtem  $\text{N}_2$ -Strom werden innerhalb von ca. 30 min portionsweise 410 mg  $\text{PCl}_5$  (1,97 mM) dazugegeben. Nach etwa zwei Stunden wird von einer geringen Menge an dunklem Bodensatz abdekantiert, mit Benzol nachgewaschen und das orangefarbene Säurechlorid am Rotationsdampfer vom Benzol befreit. (Badtemperatur nicht höher als  $40^\circ\text{C}$ !) Das noch vorhandene  $\text{POCl}_3$  wird im Ölpumpenvakuum (ca. 0,1 Torr) bei Raumtemperatur abgedampft. Das

zurückbleibende Säurechlorid wird sofort in absolutem Tetrahydrofuran (THF) aufgenommen und zu einer Lösung aus 400 mg Glycin-ethylester (3,9 mM) und 20 ml absolutem THF unter Rühren und weitgehendem Feuchtigkeitsausschluß getropft. Es fällt dabei das Hydrochlorid des überschüssigen Glycinethylesters ( $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{COOEt} \cdot \text{HCl}$ ) aus, das am nächsten Tag abfiltriert wird. Das Filtrat wird vom THF befreit und der Rückstand durch Säulenchromatographie an 30 g neutralem  $\text{Al}_2\text{O}_3$  mit Chloroform als Eluierungsmittel vorgereinigt. Dann wird das Laufmittel abgedampft und der Rückstand aus Ethanol umkristallisiert.

Fp. = 162 °C, Ausbeute: 620 mg (92% der Theorie).  
 $R_F = 0,48$   $\text{CHCl}_3/\text{Aceton}$  (9:1).

Der  $R_F$ -Wert ist mit dem der entsprechenden radioaktiven Substanz [ $^{103}\text{Ru}$ ]Ruthenocenoyl-glycinester (aus der thermischen Austauschreaktion) identisch.

Analyse:

	berechnet	gefunden
C	50,00%	50,26%
H	4,72%	4,81%
N	3,89%	3,69%

#### Ruthenocenoyl-glycin

Zu 56 mg  $\text{RcCONHCH}_2\text{COOEt}$  (0,156 mM) wird eine Lösung von 7 mg NaOH (0,175 mM) in 300  $\mu\text{l}$  EtOH gegeben und über Nacht stehengelassen. Dann wird der Alkohol verflüchtigt, der Rückstand in Wasser (500  $\mu\text{l}$ ) aufgenommen und unter Rühren verdünnte HCl zutropft. Die auskristallisierte Säure wird abfiltriert und aus EtOH/Wasser umkristallisiert.

Fp. = 203 °C, Ausbeute: 50 mg (95% der Theorie).

$R_F = 0,35$  Ameisensäure/Aceton/Chloroform  
 (5:20:7).

Der  $R_F$ -Wert ist mit dem der  $^{103}\text{Ru}$ -markierten Verbindung identisch.

Analyse:

	berechnet	gefunden
C	47,00	45,30
H	3,91	3,73
N	4,22	4,19

Die Strukturen der oben beschriebenen Ruthenocenoyl-glycin Verbindungen sind zusätzlich durch Massenspektrometrie und  $^1\text{H}$ -NMR-Analyse gesichert.

#### Radioaktive Synthesen

##### Darstellung von [ $^{103}\text{Ru}$ ] $\text{Rc}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOEt}$

7 mg (20  $\mu\text{M}$ )  $\text{Fc}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOEt}$  werden in eine Duranglasampulle eingewogen und dazu 960  $\mu\text{Ci}$  äthanolische  $^{103}\text{RuCl}_3$ -Lösung (300  $\mu\text{l}$ ) gegeben (spez. Akt.: 310  $\mu\text{Ci}/\mu\text{M}$ ). Dann wird das Lösungsmittel durch Überleiten von Stickstoff und vorsichtiges Erwärmen vertrieben. Nach Evakuieren auf ca. 1 Torr wird die Ampulle abgeschmolzen und 30 min bei 175 °C erhitzt. Nach Öffnen der Ampulle wird der Inhalt in Chloroform gelöst, auf eine Säule mit 2 ml neutralem  $\text{Al}_2\text{O}_3$  gegeben und mit  $\text{CHCl}_3$  eluiert. Dadurch wird das nicht umgesetzte  $^{103}\text{RuCl}_3$  abgetrennt. Der eluierbare  $^{103}\text{Ru}$ -Anteil (lipophile Ruthenocen-Derivate) beträgt 60–70%. Das Eluat wird eingengt und auf einer DC-Platte mit einer Mischung aus Aceton und  $\text{CHCl}_3$  (10:90) entwickelt (Abb. 5).

Da der  $R_F$ -Wert von Ferrocenoyl-glycin nur 90% des  $R_F$ -Wertes von Ruthenocenoyl-glycin ( $R_F$  0,44–0,40) beträgt, ist eine Trennung ganz oder teilweise möglich. Eluiert man nicht den gesamten Radioaktivitäts-Peak, sondern nur oberhalb des Maximums, so erhält man etwa die Hälfte des [ $^{103}\text{Ru}$ ] $\text{Rc}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CH}_2-\text{COOEt}$  ohne Ferrocen-Anteil.

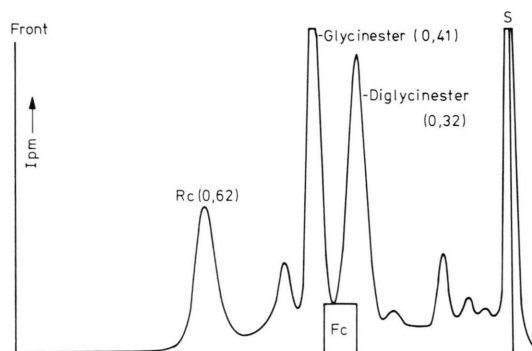


Abb. 5. Radiochromatogramm nach Thermoaustausch von Ferrocenoyl-glycinester mit  $^{103}\text{RuCl}_3$ . DC auf Kieselgel-Fertigplatten (Merck) und Direkt-Messung des  $^{103}\text{Ru}$  mit dem Berthold-Scanner. Glycinester,  $\text{Rc}-\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{COOEt}$ ; Diglycinester,  $\text{Rc}-1,1'(-\text{CONH}-\text{CH}_2-\text{COOEt})_2$ ; Rc, Ruthenocen. Die Zahlen in Klammern geben die  $R_F$ -Werte der  $^{103}\text{Ru}$ -markierten Produkte an. Fc, Gelbfärbung durch nicht radioaktives Ferrocenoyl-glycinester.



Wenn man den gesamten radioaktiven Peak ( $R_F \sim 0,41$ ) eluiert, so erhält man 17–30% der eingesetzten  $^{103}\text{RuCl}_3$ -Aktivität als Ruthenocenoyl-glycinester. Da dabei gleichzeitig ein Teil der Ferrocenverbindung mit eluiert wird, hat die Mischung eine spez. Aktivität von 30–15  $\mu\text{Ci}/\mu\text{Mol}$  Metallocen-glycinester.

#### *Darstellung von [ $^{103}\text{Ru}$ ]Rc–CO–NH–CH<sub>2</sub>–COOH*

5  $\mu\text{Ci}$  [ $^{103}\text{Ru}$ ]Rc–CO–NH–CH<sub>2</sub>–COOEt (spez. Akt. 16  $\mu\text{Ci}/\mu\text{M}$ ) werden in 500  $\mu\text{l}$  Ethanol gelöst, dazu 30  $\mu\text{l}$  (3 Tropfen) einer ethanolischen NaOH (0,1 g NaOH und 3 ml EtOH) gegeben und über Nacht bei Raumtemperatur belassen.

Danach wird mit 20  $\mu\text{l}$  (2 Tropfen) 10 N HCl angesäuert und das Lösungsmittel verflüchtigt. Nach Zugabe von 2 ml Wasser und 1 Tropfen (10  $\mu\text{l}$ ) 10 N HCl wird 1  $\times$  mit nur 0,5 ml Chloroform extrahiert, um noch geringe Mengen des unumgesetzten Esters zu entfernen. Dann wird noch 4  $\times$  mit je 1 ml Essigester extrahiert, so daß 95% der Säure gewonnen wird.

Ausbeute: 4,2  $\mu\text{Ci}$  = 85% der Theorie.

Reinigung durch Dünnschicht-Chromatographie in Ameisensäure/Aceton/ $\text{CHCl}_3$  (5:20:75). Die reine Substanz hat den  $R_F$ -Wert von 0,35.

#### *Reinheitskontrolle der radioaktiven Substanzen*

Die Reinigung und Identifizierung der radioaktiven Verbindungen erfolgte durch Chromatographie mit den jeweiligen inaktiven Referenz-Substanzen auf DC-Platten mit anschließender Direkt-Messung [22, 23] auf dem „Dünnschicht-Scanner“ (Labor Berthold, D-7547 Wildbad).

#### *Messung der Organ-Verteilung*

Diese Methoden sind ausführlich in [5, 6] beschrieben.

#### *Danksagung*

Wir danken Frau Scholl und Herrn Kamann für interessierte experimentelle Mitarbeit.

- [1] M. D. Blafox, R. Chervu und F. Freeman, in Radiopharmaceuticals. Soc. Nucl. Med. Inc., New York 1975.
- [2] S. C. Srivastava, P. Richards und G. Meinken *et al.*, in Radiopharmaceuticals (Ed. R. S. Spence), Grune u. Stratton, New York 1981.
- [3] Z. H. Oster, P. Som, M. C. Gill *et al.*, Radiology **141**, 185–190 (1981).
- [4] D. Langheim, M. Wenzel und E. Nipper, Chem. Ber. **108**, 146–154 (1975).
- [5] M. Wenzel, E. Nipper und W. Klose, J. Nucl. Med. **18**, 367 (1977).
- [6] M. Wenzel, G. Schachschneider, M. Schneider und R. Herken, Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem. **363**, 693–699 (1982).
- [7] M. Schneider, M. Wenzel und B. Rießelmann, J. Labelled Comp. Radiopharmaceuticals **15**, 295–307 (1978).
- [8] M. Schneider und M. Wenzel, J. Labelled Comp. Radiopharmaceuticals **19**, 625–629 (1981).
- [9] T. Konikowski, T. P. Haynie, H. J. Glenn und L. Farr, Proc. Soc. Exp. Biol. Med. **137**, 1343–1351 (1971).
- [10] T. Konikowski, H. J. Glenn, T. Haynie und M. Jahns, Int. J. Nucl. Med. Biology **2**, 59–65 (1975).
- [11] C. W. Bryan und J. F. Maher, Am. J. Physiol. **225**, 1220–1225 (1973).
- [12] S. Chopra, J. S. Kaufmann, Th. Jones *et al.*, Kidney International **21**, 54–64 (1982).
- [13] F. Levi, W. Hrushesky, Ch. Blomquist *et al.*, Cancer Res. **42**, 950–955 (1982).
- [14] L. Hawkins, A. Elliot, R. Shields *et al.*, Eur. J. Nucl. Med. **7**, 58–61 (1982).
- [15] Comparetto und S. M. Quaim, Radiochimica Acta **27**, 177–180 (1980).
- [16] G. Schachschneider und M. Wenzel, J. Labelled Comp. Radiopharmaceuticals **19**, 1071–1079 (1982).
- [17] M. Wenzel, M. Schneider und J. Macha, Int. J. Appl. Radiat. Isotop. **32**, 797–802 (1981).
- [18] M. Wenzel und M. Schneider, Int. J. Appl. Radiat. Isotop. **32**, 5–11 (1981).
- [19] M. Wenzel und K. Hoffmann, Naturwissenschaften **66**, 313 (1979).
- [20] K. Schlögel, Mh. Chem. **88**, 601–621 (1957).
- [21] E. Fischer, Chem. Berichte **34**, 436–437 (1901).
- [22] M. Wenzel und A. Abdul-Wahid, Int. J. Appl. Radiat. Isotop. **26**, 119–123 (1975).
- [23] Radiochromatographie in Messung von radioaktiven und stabilen Isotopen, H. Simon (Hrsg.), Springer-Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1974.