

Arch. Pharm. (Weinheim) 318, 837-842 (1985)

Potentielle Radiopharmaka zur Nebennierenszintigraphie, 1. Mitt.

Zur Radioiodmarkierung von Tyramin-Derivaten einiger Derivate des Digitoxigenins und Scillarenins

Erhard Röder* und Johannes Lütz

Pharmazeutisches Institut, Universität Bonn, An der Immenburg 4, D-5300 Bonn 1
Eingegangen am 8. Juni 1984

Als potentielle Radiopharmaka zur szintigraphischen Darstellung der Nebennieren sind Tyraminyl-derivate der Aglyka β -Anhydrodigitoxigenin (**1**), Dihydrodigitoxigenin (**2**) und Scillarenin (**3**) hergestellt und radioiodiert worden.

Die Genine werden zur jeweiligen Ketostufe dehydriert und regioselektiv mit Tyramin als Aminkomponente und NaBH_3CN als Reduktionsmittel zu 3-Tyraminyl-3-desoxy- β -anhydrodigitoxigenin (**7**), 3-Tyraminyl-3-desoxy-dihydrodigitoxigenin (**8**) und 3-Tyraminyl-3-desoxy-scillarenin (**9**) umgesetzt.

Der Einbau von Tyramin macht die Geninderivate einer gezielten Radioiodmarkierung zugänglich. Mit trägerfreiem Na^{131}I konnte eine Aktivität von 140 bis 325 mCi iodmarkierten Produkts/1 mg Ausgangsmaterial erreicht werden.

Potential Radiodrugs for Adrenal Gland Scintigraphy, I: Radioiodination of Tyramine Derivatives of Some Digitalis Aglycones and Scillarenin

As potential adrenal gland imaging agents the tyraminyl derivatives of the aglycones β -anhydrodigitoxigenin (**1**), dihydrodigitoxigenin (**2**) and scillarenin (**3**) are synthesized and radioiodinated.

The aglycones are dehydrated to the corresponding ketones and reacted regioselectively with tyramine as amino component and NaBH_3CN as reducing agent to yield 3-tyraminyl-3-deoxy- β -anhydrodigitoxigenin (**7**), 3-tyraminyl-3-deoxydihydrodigitoxigenin (**8**) and 3-tyraminyl-3-deoxy-scillarenin (**9**).

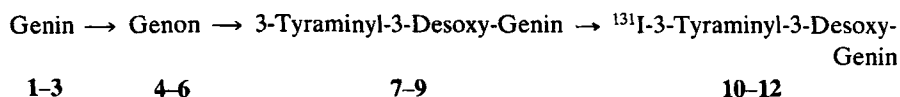
The insertion of tyramine allows the specific radioiodination of the aglycone derivatives. An activity of 140 to 325 mCi iodinated product/1 mg initial material could be attained with carrier-free ^{131}I .

Die szintigraphische Darstellung der Nebennieren (NN) zur Differentialdiagnose verschiedener Erkrankungen gelingt trotz intensiver Bemühungen bislang noch nicht in zufriedenstellender Weise. Hier wurden in den letzten 15 Jahren zahlreiche Anstrengungen unternommen, um für die Praxis allgemein anwendbare Substanzen zu entwickeln¹⁻³⁾.

Nachdem gezeigt werden konnte, daß sich ^{131}I -3-Tyraminyl-3-desoxy-digitoxigenin innerhalb weniger Stunden nach der Applikation im Vergleich zum Blutspiegel um das 200-fache in den NN anreichert⁴⁾, soll versucht werden, die Anreicherungsrate durch Verwendung verwandter Aglyka zu optimieren.

Für die Markierung erscheint ^{131}I aufgrund der günstigen Halbwertszeit und Strahlenergie als geeignetes Radioelement. Eine Radioiodierung mit ^{123}I , das für *in vivo*-Untersuchungen aufgrund seiner Strahlung und Halbwertszeit geeigneter ist, wäre in analoger Weise durchzuführen.

Durch Einbau der Partialstruktur des Tyrosins in Form von Tyramin wird das Genin einer indirekten Iodmarkierung zugänglich. Die Darstellung der Tyraminylderivate mit der sich anschließenden Iodierung ist aus folgendem Schema ersichtlich:

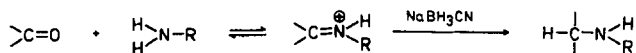


1: β -Anhydrodigitoxigenin, **2:** Dihydrodigitoxigenin, **3:** Scillarenin, **4:** β -Anhydrodigitoxigenin-3-on, **5:** Dihydrodigitoxigenin-3-on, **6:** Scillarenin-3-on, **7:** 3-Tyraminyl-3-desoxy- β -anhydrodigitoxigenin, **8:** 3-Tyraminyl-3-desoxy-dihydrodigitoxigenin, **9:** 3-Tyraminyl-3-desoxy-scillarenin, **10:** ^{131}I -3-Tyraminyl-3-desoxy- β -anhydrodigitoxigenin, **11:** ^{131}I -3-Tyraminyl-3-desoxy-dihydrodigitoxigenin, **12:** ^{131}I -3-Tyraminyl-3-desoxy-scillarenin.

Darstellung der epimeren Tyraminylgenine

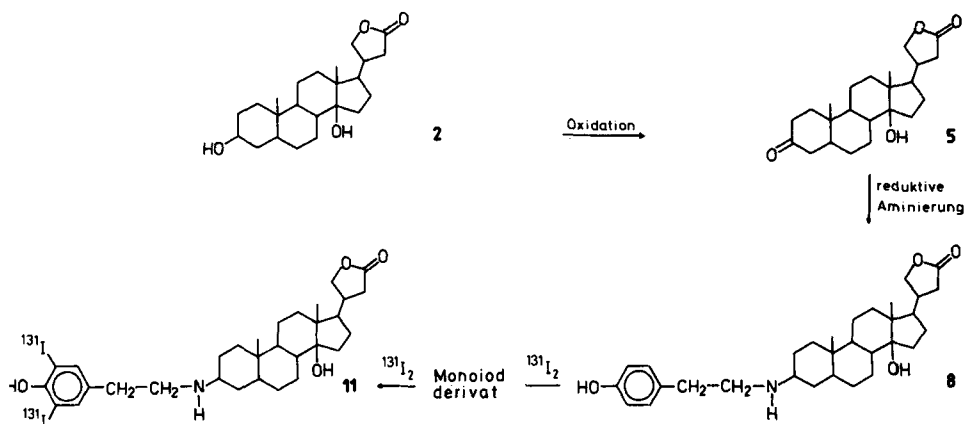
Die Genine **1–3** lassen sich nach *Smith*⁵⁾ leicht in einem $\text{CrO}_3/\text{CH}_3\text{COOH}$ -Gemisch zu den entsprechenden Genin-3-onen **4–6** oxidieren. Das von *Röder* und *Focken* entwickelte Verfahren zur reduktiven Aminierung der Carbonylfunktion in Position 3 der Aglyka kann auch hier angewandt werden⁶⁾. Die Umsetzung des Scillarenin-3-on (**6**) erfolgt in ähnlicher Weise. Dabei werden die Carbonylgruppen mit Tyramin als Aminokomponente zum Iminiumion umgesetzt, welches durch NaBH_3CN zum entsprechenden Amin reduziert wird. Als Hauptprodukte entstehen die epimeren sekundären Amine **7–9**^{*)}.

^{*)} Auf die Trennung der epimeren 3α - und 3β -Derivate wurde im Rahmen dieser Arbeit verzichtet und die Substanz als einheitlich betrachtet.



Die beschriebene Reaktion läuft unter milden Bedingungen regioselektiv in Position 3 der Steroide ab.

Synthese und Radioiodierung der Tyraminylgenine am Beispiel des Dihydrodigitoxigenins.



Radioiodierung der Geninderivate

Die Radioiodierung der Geninderivate wird nach der von *Hunter und Greenwood*⁽⁷⁾ beschriebenen Methode in modifizierter Form durchgeführt. Danach wird aus Na^{131}I durch Chloramin T Iod freigesetzt, welches mit den Tyraminresten der Verbindungen 7–9 zu den Iodderivaten 10–12 reagiert. Es entsteht ein Gemisch von 3-mono und 3,5-disubstituierten ^{131}I -Tyraminylderivaten. In der sich anschließenden säulenchromatographischen Reinigung wird das Eluat in geeigneter Weise fraktioniert, um einen größtmöglichen Anteil der Aktivität in maximal 500 μl Volumen zu erhalten. Im Eluat befinden sich unter den beschriebenen Versuchsbedingungen ca. 3–4 % Radioiod als Verunreinigung, welches nicht an Geninderivate gebunden ist.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Personal- und Sachmittel.

Experimenteller Teil

IR-Spektren: „Acculab 2“ und „Acculab 10“ und „IR-20 A“ Fa. Beckmann, in KBr. **^1H -NMR-Spektren:** Varian „T60“ und Bruker „WH90“, TMS als inn. Stand., CDCl_3 als Lösungsmittel, δ (ppm). **Massenspektren:** „MS50“ der Fa. A.E.I. (Emission von 70 eV und Probestemp. 180°).

Schmp.: Apparatur nach Tottoli, nicht korr. **Szintillationszähler:** „bf Gammazint BF5300“ der Fa. Bertold/Frieseke GmbH, Karlsruhe-Durlach. **DC-Scanner:** Dünnschichtscanner II (LB 2723) mit 2 π -Detektor der Fa. Bertold/Frieseke GmbH, Karlsruhe-Durlach. Registrierung durch Zweikanal-Ratemeter-Integrator (LB 242 K, gleicher Hersteller) in Verbindung mit einem Zweikanal-Linienschreiber (Kompensograph IV L 144 $\times$ 144) Fa. Siemens, Karlsruhe. Fertigplatten Kieselgel 60 F₂₅₄, 0.25 mm Schichtdicke, Fa. Merck, Darmstadt. **DC:** Fertigplatten Fa. Merck s.o. Fließmittel: Fließmittel A $\text{CH}_3\text{OH}/\text{NH}_3$ 10proz. 98:2 (V/V) und Fließmittel B Aceton/ CH_2Cl_2 /n-Hexan 3:3:4 (V/V). Sprühreagenzien: Cardanolide geben eine rotviolette Farbe mit H_2SO_4 konz., Cardenolide

ergeben mit *Keddes* Reagens eine hellrot-violette Färbung. Bufadienolide zeigen eine violette Färbung mit SbCl_3 . *Paulys* Reagens nach *Kutáček* dient zum Nachweis des Tyraminrestes und zeigt eine intensiv rote-rotbraune Färbung.

3-Tyraminyl-3-desoxy- β -anhydrodigitoxigenin (7)

β -Anhydrodigitoxigenin (1) wird analog dem Verfahren von *Smith*⁵⁾ zum β -Anhydrodigitoxigenin-3-on (4) umgesetzt. Die Substanz entspricht den in der Lit. angegebenen Daten. Nach dem unter ⁶⁾ beschriebenen Verfahren werden 354.5 mg (1 mmol) β -Anhydrodigitoxigenin-3-on (4) zu einer Lösung von 1040 mg (6 mmol) Tyraminhydrochlorid in 20 ml absol. Methanol gegeben. Nach Zugabe von 38 mg (0.6 mmol) NaBH_3CN wird bei Raumtemp. 72 h gerührt und der pH mit N-methanol. HCl zwischen 5–6 gehalten. Durch Zugabe von konz. HCl wird die Lösung auf pH 1 eingestellt und sofort zur Trockene gebracht. Das erhaltene Rohprodukt wird nach folgendem Extraktionsschema gereinigt:

Rohprodukt

suspendiert in 30 ml H_2O , pH 7-8

Extrahieren mit 70 ml Methylenchlorid

↓ → wässrige Phase

Methylenchlorid-Phase

Extrahieren mit 100 ml 0.01 N-HCl

↓ → organische Phase

HCl-Phase

Neutralisieren

Extrahieren mit 100 ml Methylenchlorid

↓ → wässrige Phase

Methylenchlorid-Phase

Abziehen

Suspendieren in 25 ml 0.01 N-HCl

Extrahieren mit 30 ml Methylenchlorid

↓ → organische Phase

HCl-Phase

Neutralisieren

Extrahieren mit 100 ml Methylenchlorid

↓ → wässrige Phase

Reinprodukt

Gelbweißes Pulver; Schmp. 175°; Ausb. 45 mg (9.5 % d. Th.). IR (KBr): 3440 (OH), 2930 (CH₂); 1780, 1740 (Lacton), 1610 (Doppelbindung), 1590, 1510 cm⁻¹ (Aromat). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.10 und 6.92 (4 H arom.). – C₃₁H₄₁NO₃ (475.7) Mol.-Masse 476 (ms). DC: Fließmittel A, 2 Flecke R_f = 0.42 und 0.48. Beide Flecke ergeben eine positive *Kedde*- und *Pauly*-Reaktion.

Die Aglyka Dihydrodigitoxigenin (**2**) und Scillarenin (**3**) werden nach dem oben beschriebenen Verfahren in gleicher Weise zum Tyraminderivat umgesetzt und aufgearbeitet.

3-Tyraminyl-3-desoxy-dihydrodigitoxigenin (**8**)

Weißes Pulver; Schmp. 128°; Ausb. 65 mg (13 % d. Th.). IR (KBr): 3440 (OH), 2930 (CH₂), 1790, 1710 (Lacton), 1590, 1510 cm⁻¹ (Aromat). – ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.10 und 6.85 ppm (4 H arom.). – C₃₁H₄₅NO₄ (495.7) Mol.-Masse 496 (ms). DC: Fließmittel B, 2 Flecke R_f = 0.43 und 0.47. Beide Flecke ergeben eine positive *Pauly*-Reaktion und lassen sich mit H₂SO₄ konz. blaurot färben.

3-Tyraminyl-3-desoxy-scillarenin (**9**)

Weißgelbes Pulver; Schmp. 142°; Ausb. 35 mg (11 % d. Th.). IR (KBr): 3440 (OH), 2925 (CH₂), 1760, 1730 (Lacton), 1620 (Doppelbindung), 1595, 1505 cm⁻¹ (Aromat). ¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.00 und 6.70 (4 H arom.), zwischen 6.00 und 4.00 kein Signal für Doppelbindung zwischen C-4 und C-5. C₃₂H₄₃NO₄ (505.7) Mol.-Masse 506 (ms). DC: Fließmittel B, 2 Flecke R_f = 0.44 und 0.49. Beide Flecke ergeben eine positive *Pauly*-Reaktion und lassen sich mit SbCl₃ anfärben.

¹³¹I-3-Tyraminyl-3-desoxy-β-anhydrodigitoxigenin (**10**)

¹³¹I-3-Tyraminyl-3-desoxy-dihydrodigitoxigenin (**11**)

¹³¹I-3-Tyraminyl-3-desoxy-scillarenin (**12**)

80 µl einer 0.5 m Phosphatpufferlösung (pH 7.4) werden zu 20 µl trägerfreiem ¹³¹I (als Na¹³¹I in NaOH, entsprechend 1.5 mCi) und 20 µl 3-Tyraminyl-3-desoxy-β-anhydrodigitoxigenin (**7**) (314 µg/ml) gelöst in Ethanol absol.) – bzw. 20 µl **8** und 20 µl **9** – hinzugefügt. Nach 2 min werden 20 µl Chloramin-T (7 mg/ml), nach weiteren 2 min 20 µl Natriumhydrogensulfit (7 mg/ml, beides frisch gelöst) und 100 µl DMSO zugegeben. 2 min später werden noch 50 µl H₂O in die Lösung eingebracht. Das Reaktionsgemisch wird umgehend sc gereinigt. Hierzu werden 700 mg Amberlite IRA-400, Cl⁻ (Fa. Serva) benötigt. Das Eluat wird fraktioniert:

Fraktion	Vol. (µl)	Radiochem. Ausb. (%)
1	500	1
2	500	30
3	2000	15

Fraktion 2 wird für die Injektion verwandt. Die spezifische Aktivität von Fraktion 2 beträgt 140 bis 325 mCi iodmarkiertes Produkt pro 1 mg Ausgangsmaterial.

DC Fließmittel A	Rf monoiodierte Form	Rf diiodierte Form
10	0.58	0.66
11	0.59	0.68
12	0.56	0.74

Literatur

- 1 M. Blau und H.F. Kung, Radiopharm. 2, Proc. Int. Symp., p. 671-683, Ed. J. Sorenson, Am. Soc. Nucl. Med., New York, N.Y. 1979.
- 2 K. Rehse, G. Schachschneider, H. Wenzel und N. Rietbrock, Arch. Pharm. (Weinheim) 312, 322 (1979).
- 3 S.M. Chan, G.P. Basmadjijn, D.F. Marten, S.A. Dadek, R.A. Magarian, J.R. Grunder und R.D. Jce, J. Lab. Comp. Radiopharm. 20, 1017 (1983).
- 4 E. Röder, P.H. Focken, H.J. Biersack und C. Winkler, IRCS Med. Sci. Pharmacol. 5, 542 (1977).
- 5 S. Smith, J. Chem. Soc. 1935, 1305.
- 6 E. Röder und P.H. Focken, J. Lab. Comp. Radiopharm. 15, 197 (1978).
- 7 W.M. Hunter und F.C. Greenwood, Nature (London) 194, 495 (1962).

[Ph 966]

Arch. Pharm. (Weinheim) 318, 842-848 (1985)

Potential Antitumor Agents, XV¹⁾

Anthraquinone Derivatives⁺

Aldo Andreani*, Mirella Rambaldi, Daniela Bonazzi, Giovanna Lelli

Istituto di Chimica Farmaceutica e Tossicologica, University of Bologna, Via Belmeloro 6,
I-40126 Bologna

Rosaria Bossa and Iraklis Galatulas

Istituto di Farmacologia, University of Milan, Italy

Eingegangen am 12. Juni 1984

¹⁾ Presented as a poster at the XV. National Congress of the Italian Chemical Society (Grado, September 1984)