

¹⁴C- und ³H-Markierung von 1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon im Phenyl- bzw. Pyridazonring

T. F. BURGER

Isotopenlabor der Badischen Anilin- und Soda-Fabrik AG, Ludwigshafen
am Rhein, Deutschland.

Received 16 May 1968

SUMMARY

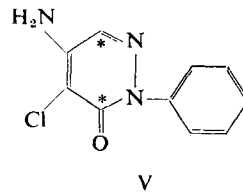
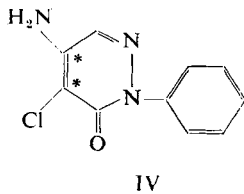
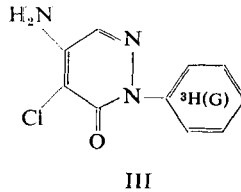
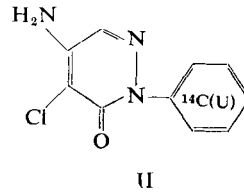
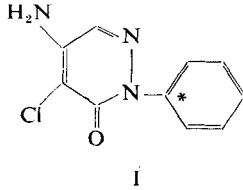
¹⁴C- and ³H-labelling of 5-amino-4-chloro-2-phenyl-3-(2 H)-pyridazinone in the benzenering was obtained by reacting ¹⁴C- or ³H-labelled phenylhydrazine-hydrochloride with mucochloric acid and heating of the labelled intermediate 4,5-dichloro-2-phenyl-3-(2 H)-pyridazinone with concentrated ammonia. Starting the synthesis with ¹⁴C-labelled mucochloric acid yielded labelling in the pyridazinone-ring. ¹⁴C- and ³H-labelled phenylhydrazine-hydrochloride was synthesised from labelled aniline-hydrochloride and ¹⁴C-labelled mucochloric acid was prepared from acetylene-¹⁴C or formaldehyde-¹⁴C with ¹⁴C-labelled 2-butyne-1,4-diol as intermediate.

ZUSAMMENFASSUNG

Die ¹⁴C- und ³H-Markierung von 1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon im Phenylring wurde durch Umsetzung von Mucochlorisäure mit ¹⁴C-bzw. ³H-markiertem Phenylhydrazin-hydrochlorid und Erhitzen des markierten Zwischenproduktes 1-Phenyl-4,5-dichlor-6-pyridazon mit konzentriertem Ammoniak erzielt. Die Synthese mit ¹⁴C-markierter Mucochlorisäure als Ausgangsmaterial ergab Markierung im Pyridazonring. ¹⁴C- und ³H-markiertes Phenylhydrazin-hydrochlorid wurde aus markiertem Anilin-hydrochlorid synthetisiert und ¹⁴C-markierte Mucochlorisäure wurde aus Acetylen-¹⁴C oder Formaldehyd-¹⁴C mit ¹⁴C-markiertem 2-Butin-1,4-diol als Zwischenprodukt hergestellt.

1. — EINLEITUNG

Das im Zuckerrübenbau häufig verwendete selektive Herbizid PYRAMIN^{®*} enthält als Wirkstoff 1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon⁽¹⁾ (PYRAZON, PCA). Für Rückstandsanalysen und Untersuchungen über das Schicksal von PCA in Pflanze und Boden wurde der Wirkstoff im Phenylring mit Kohlenstoff-14 (I, II) bzw. Tritium (III) und im Pyridazonring mit Kohlenstoff-14 (IV, V) markiert.



Die vorliegende Arbeit befaßt sich nur mit der Synthese der markierten Verbindungen. Über die Untersuchung des Abbaues von PCA in Pflanze und Boden wird später berichtet.

Nach Hensel und Baumann⁽²⁾ erhält man 1-Phenyl-4,5-dibrom-6-pyridazon durch Umsetzung von Mucobromsäure mit Phenylhydrazin in salzsaurer Lösung bei 90-100 °C. Das gleiche Verfahren liefert mit Mucochloresäure 1-Phenyl-4,5-dichlor-6-pyridazon. Daraus entsteht nach Reicheneder und Dury⁽³⁾ mit Ammoniak in methanolischer Lösung unter 40 atü bei 170 °C das 1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon.

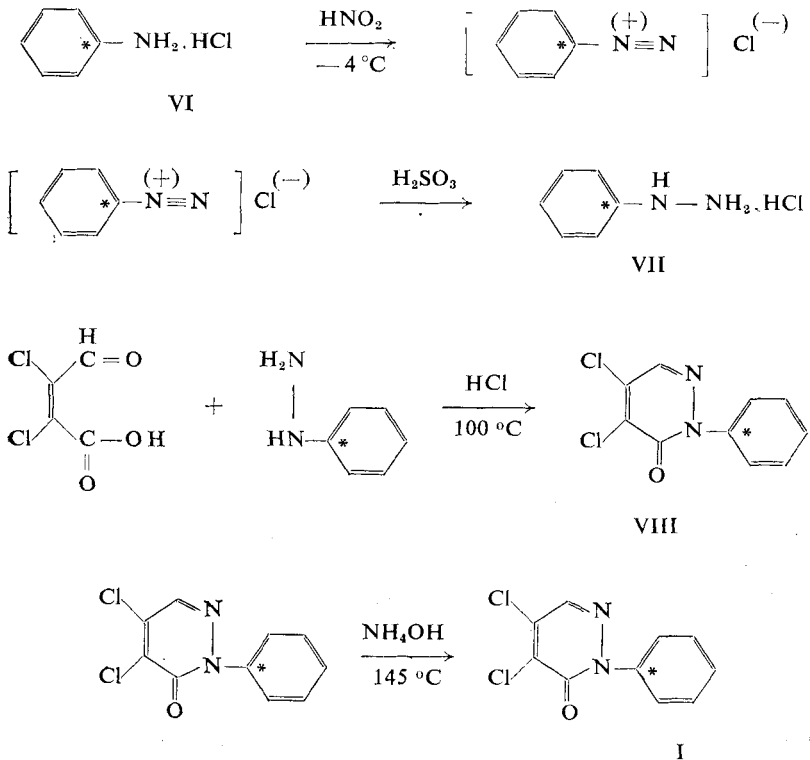
* ® Registriertes Warenzeichen der Badischen Anilin- und Soda-Fabrik AG, Ludwigshafen (Rhein).

Die beschriebenen Reaktionen bildeten die Grundlage für die Synthese des mit Kohlenstoff-14 bzw. Tritium markierten Wirkstoffes. Für das im Phenylring markierte PCA mußte ^{14}C - bzw. ^3H -markiertes Phenylhydrazin und für das im Pyridazonring markierte PCA mußte ^{14}C -markiertes 2-Butin-1,4-diol hergestellt werden.

2. — DISKUSSION DER VERSUCHE

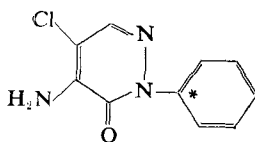
2.1. — MARKIERUNGEN IM PHENYLRING.

Die Einführung von Kohlenstoff-14 in den Phenylring von PCA wurde durch Umsetzung von käuflichem Anilin-(1- ^{14}C)-hydrochlorid (VI) zu Phenylhydrazin-(1- ^{14}C)-hydrochlorid (VII) und dessen Ringschlußreaktion mit Mucoclorsäure zu 1-Phenyl-(1'- ^{14}C)-4,5-dichlor-6-pyridazon (VIII) erzielt. Durch Reaktion von VIII mit Ammoniak wurde 1-Phenyl-(1'- ^{14}C)-4-amino-5-chlor-6-pyridazon (I) erhalten.



Zur Herstellung von VII aus VI benutzten wir die Methode von Brintzinger, Pfannenstiel und Janecke ⁽⁴⁾, wonach Anilin mit salpetriger Säure diazotiert und das Diazoniumsalz mit Schwefeldioxyd reduziert wird. Nach diesem Verfahren wurde bereits von F. Weygand und Mitarbeitern ⁽⁵⁵⁾ Phenylhydrazin-(1-¹⁴C)-hydrochlorid in 94 %iger Ausbeute, jedoch ohne nähere Beschreibung der Versuchsanordnung, hergestellt. Von uns wurden noch bei Ansätzen von 3 mMol ebenfalls chemische und radiochemische Ausbeuten von über 90 % erhalten. Das in wäßriger Lösung vorliegende VII wurde nicht isoliert, sondern sofort mit Mucochlorsäure bei 90-100 °C zu VIII umgesetzt. Die chemischen und radiochemischen Ausbeuten lagen auch hier bei ca. 90 %, wenn mit einem etwa 20 %igen Überschuß an Mucochlorsäure gearbeitet wurde.

Die Herstellung von I aus VIII erfolgte nach der für die Erfordernisse der Mikrosynthese modifizierten Methode von Reicheneder und Dury ⁽¹⁾ durch Umsetzung von VIII mit einem Überschuß an konzentriertem, wäßrigem Ammoniak im Bombenrohr bei 140-150 °C. Das Syntheseprodukt enthielt neben dem Hauptprodukt I (~ 85 %) noch isomeres 1-Phenyl-(1'-¹⁴C)-4-chlor-5-amino-6-pyridazon (IX) (~ 15 %).



IX

Der Nachweis von IX gelang mit Hilfe von Kontaktautoradiographie und automatischem Scanning ⁽⁷⁾ dünn-schichtchromatographischer Trennungen. Diese Methoden erlaubten auch eine annähernd quantitative Bestimmung der Aktivitätsverteilung. Wir benutzten jedoch zu diesem Zweck und auch für alle radiochemischen Reinheitsprüfungen die umgekehrte Isotopenverdünnungsanalyse ⁽⁸⁾.

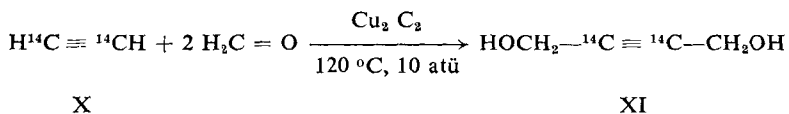
Das Isomere IX konnte im präparativen Maßstab durch Säulenchromatographie des Rohproduktes an Kieselgel G von dem gewünschten Produkt 1-Phenyl-(1'-¹⁴C)-4-amino-5-chlor-6-pyridazon (I) abgetrennt werden. Mit Hilfe dieser Reinigungsmethode wurde I in sehr guten Ausbeuten von ca. 74 % und einer radiochemischen Reinheit von annähernd 100 % erhalten.

Analog der Synthese von I wurden die markierten Verbindungen 1-Phenyl-U-¹⁴C)-4-amino-5-chlor-6-pyridazon (II) und 1-Phenyl-(G-³H)-4-amino-5-chlor-6-pyridazon (III) hergestellt. Als radioaktives Ausgangsmaterial wurde käufliches Anilin-(U-¹⁴C)-hydrochlorid bzw. Anilin-(Ring-G-³H) verwendet.

2.2. — MARKIERUNGEN IM PYRIDAZONRING.

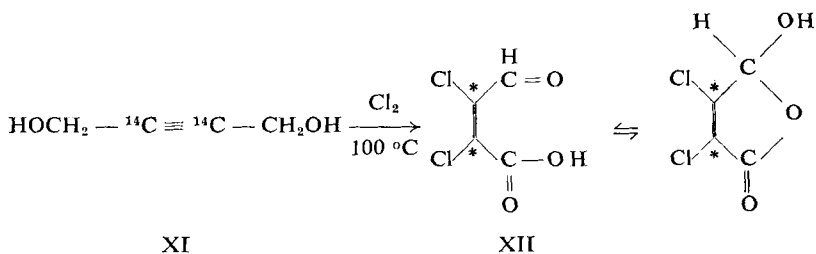
Zur Einführung von Kohlenstoff-14 in die 4- und 5-Stellung des Pyridazonringes von PCA mußte zunächst Mucochlorsäure über 2-Butin-1,4-diol-(2,3-¹⁴C) (XI) markiert werden. Als radioaktives Ausgangsmaterial diente Bariumkarbonat-¹⁴C, welches im wesentlichen nach der Vorschrift von Cox und Warne ⁽⁹⁾ in chemischen und radiochemischen Ausbeuten von 95 % in Acetylen-(1,2-¹⁴C) (X) umgesetzt wurde.

Die Herstellung von XI aus X wurde bereits von Forman und Mitarbeitern ⁽¹⁰⁾ beschrieben. Die Autoren benutzten als Reaktionspartner Paraformaldehyd und arbeiteten mit einem Kupferacetylid/Kohle-Kontakt in Dimethylformamid bei 105-115 °C und Atmosphärendruck. Die beschriebenen Ausbeuten an XI von ca. 70 % konnten von uns nicht realisiert werden. Wir benutzen deshalb eine auch im technischen Maßstab bewährte Methode von Reppe und Mitarbeitern ⁽¹¹⁾. Durch die Anpassung des Verfahrens an die Anforderungen der Mikrosynthese mußte allerdings eine Verschlechterung der Ausbeute in Kauf genommen werden. Die Reaktion von X mit einem Überschuß an wäßriger Formaldehyd-Lösung wurde in einem Autoklaven an einem Kupferacetylid/Kiellsäure-Kontakt bei 120 °C und 10 atü durchgeführt.



Die Ausbeuten an XI betragen nach wiederholter Sublimation des Rohproduktes für die nächste Synthesestufe 35-45 %.

Nach dem Verfahren von Dury und Reicheneder ^(12, 13, 14) erhielten wir durch Chlorierung von XI in salzsaurer Lösung in einer kleinen Kreislaufapparatur nach Dury (Abb. 1) bei 100 °C 2,3-Dichlor-2-buten-4-al-1-säure-(2,3-¹⁴C) oder kurz Mucochlorsäure-(2,3-¹⁴C) (XII).



Durch die Bildung einiger Nebenprodukte (z. B. Tetrachlorbutandiol) bei der Chlorierung von XI betrug die radiochemische Ausbeute von XII nur

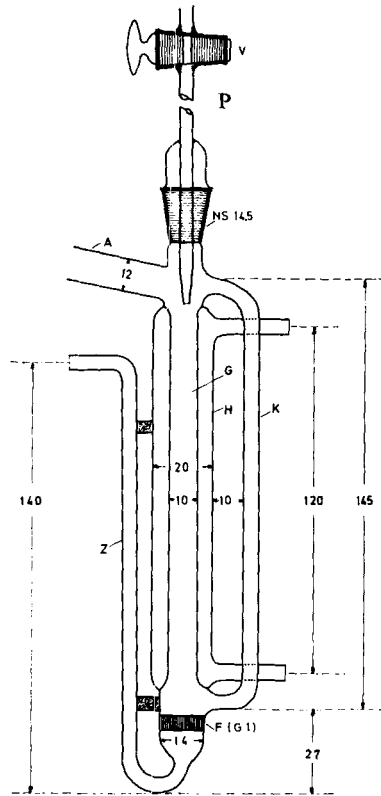
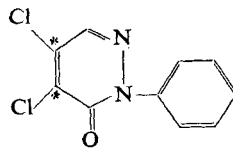


Abb. 1. Chlorierungsapparatur nach Dury ¹⁶⁾.

- | | |
|-----------------------|---------------------------|
| G = Glasrohr | A = Gasableitungsrohr |
| F = Fritte (G 1) | K = Kreislaufverbindung |
| H = Heizmantel | P = Pipette |
| Z = Gaszuleitungsrohr | V = Regulierventil (Hahn) |
- (alle Maße in mm)

etwa 30 %. Zur Vermeidung weiterer Substanzverluste wurde XII ohne vorherige Isolierung mit überschüssigem Phenylhydrazin-hydrochlorid entsprechend der Reaktion von Mucochloresäure mit VII zu VIII zu 1-Phenyl-4,5-dichlor-6-pyridazon-(4,5-¹⁴C) (XIII) umgesetzt.

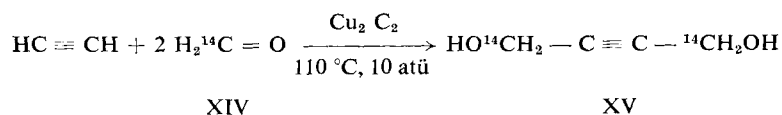


XIII

Dabei wurde ein stark verunreinigtes, braunrotes Produkt erhalten, welches sich jedoch leicht durch Umkristallisation aus Äthanol reinigen ließ. Diese Reinigung von XIII ist Voraussetzung für die erfolgreiche Ausführung der nächsten Synthesestufe. Die Reaktion von XIII mit konzentriertem, wäßrigem Ammoniak zu IV und dem Isomeren 1-Phenyl-4-chlor-5-amino-6-pyridazon-(4,5-¹⁴C), sowie die Aufarbeitung und Reinigung des Rohproduktes erfolgte wie schon bei der Synthese des im Phenylring markierten Pyridazonderivates I beschrieben wurde.

Ohne wesentlichen Unterschied gegenüber der Synthese von IV wurde der Pyridazonring von PCA in der 3- und 6-Stellung mit Kohlenstoff-14 markiert.

Als radioaktives Ausgangsmaterial für die Synthese von 2-Butin-1,4-diol-(1,4-¹⁴C) (XV) diente Formaldehyd-¹⁴C (XIV). Die Herstellung von XV aus XIV und Acetylen bei 120 °C und 30 atü an einem Kupfer/Chrom-Katalysator wurde bereits von Shatkina und Mitarbeitern ⁽¹⁵⁾ beschrieben. Wir benutzten jedoch zur Erzielung einer besseren Ausbeute auch hier wieder die bewährte Methode von Reppe und Mitarbeitern ⁽¹¹⁾. Die Umsetzung der wäßrigen Formaldehyd-¹⁴C-Lösung mit einem Überschuß an Acetylen wurde in der Weise durchgeführt, daß entsprechend des Verbrauches immer wieder Acetylen in den Autoklaven nachgepreßt und der Druck auf ca. 10 atü gehalten wurde.



Wir konnten so die radiochemische Ausbeute von Shatkina von 27 % auf über 50 % steigern. Bei diesem Verfahren wurden auch bessere Ausbeuten an XV erhalten wie bei der Herstellung von XI. Der Grund lag wohl darin, daß bei der Herstellung von XV der Acetylendruck während der Reaktion auf 10 atü gehalten wurde. Bei der Synthese von XI dagegen nahm der Acetylendruck während der Reaktion laufend ab, da das Acetylen-(1,2-¹⁴C) als radioaktiver Reaktionspartner im Unterschuß vorhanden war und nicht nachgepreßt werden konnte. Die Weiterverarbeitung von XV über die Zwischenstufen Mucochlorsäure-(1,4-¹⁴C) und 1-Phenyl-4,5-dichlor-6-pyridazon-(3,6-¹⁴C) zu 1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon-(3,6-¹⁴C) (V) erfolgte ebenso wie bei der Synthese von IV.

4. — BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Jeder Schritt der hier beschriebenen Synthesen wurde zuerst mit inaktiven Substanzen im Mikromaßstab ausgeführt. Anschließend wurde die Einführung von Kohlenstoff-14 bzw. Tritium in die gewünschten Positionen von 1-Phenyl-

4-amino-5-chlor-6-pyridazon (PCA) mit geringer Aktivität im Mikrocurie-Bereich kontrolliert. Die auf diese Weise ausgearbeiteten Synthese-Verfahren erlaubten dann die Herstellung der ^{14}C -markierten Verbindungen I, II, IV und V mit spezifischen Aktivitäten von ca. 1 mCi/mMol und der ^3H -markierten Verbindung III mit einer spezifischen Aktivität von ca. 40 mCi/mMol.

4.1. — MARKIERUNGEN IM PHENYLRING.

4.1.1. — *1-Phenyl-(1- ^{14}C)-4-amino-5-chlor-6-pyridazon (I).*

Anilin-(1- ^{14}C)-hydrochlorid.

Diese Verbindung wurde als Präparat NEC-7 von der Firma New England Nuclear Corp., USA mit einer spezifischen Aktivität von 3,25 mCi/mMol bezogen. Die radiochemische Reinheit betrug 98 % (ermittelt durch umgekehrte Isotopenverdünnungsanalyse).

Phenylhydrazin-(1- ^{14}C)-hydrochlorid.

In einem 100 ml-Dreihalskolben mit Tropftrichter, Thermometer, Kühler und Magnetrührer wurden 964 mg Anilin-(1- ^{14}C)-hydrochlorid (7,44 mMol, 20,08 mCi) in 4 ml dest. Wasser gelöst und mit 2 ml halbkonzentrierter Salzsäure versetzt. Dazu tropfte man unter Kühlung auf -4° bis 0°C und kräftigem Rühren eine Lösung von 586 mg Natriumnitrit (8,5 mMol) in 3 ml dest. Wasser. Die klare Diazoniumsalzlösung wurde in einem Zeitraum von ca. 20 Minuten tropfenweise in eine gesättigte Lösung von Schwefeldioxyd in 75 ml Wasser gegeben. Während der Reduktion des Diazoniumsalzes wurde unter Eiskühlung und Rühren weiteres Schwefeldioxyd eingeleitet. Nach kurzem Stehen und Zugabe von 3,8 ml konz. Salzsäure wurde die Lösung im Rotationsvakuumverdampfer bei Wasserstrahlvakuum auf ca. 50 ml eingengt. Die rot gefärbte Lösung wurde mit Tierkohle entfärbt und filtriert. Das farblose Filtrat konnte direkt weiter umgesetzt werden. Die Radioaktivitätsanalyse ergab eine spezifische Aktivität von 18,81 mCi/88,84 g Lösung und eine radiochemische Reinheit von 100 %. Die radiochemische Ausbeute betrug 93,7 % d. Th. bezogen auf eingesetztes Anilin-(1- ^{14}C)-hydrochlorid. Bei einer Reihe inaktiver Ansätze wurde durch Isolierung von Phenylhydrazin-hydrochlorid eine chemische Ausbeute von ca. 95 % gefunden.

1-Phenyl-(1- ^{14}C)-4,5-dichlor-6-pyridazon.

In einem 250 ml Rundkolben mit Rückflußkühler, Thermometer und KPG-Rührer wurden 1,52 g Mucochorsäure (9 mMol) in 30 ml dest. Wasser gelöst und auf $90-100^\circ\text{C}$ erhitzt. Die oben bereitete Phenylhydrazin-(1- ^{14}C)-hydrochlorid-Lösung (18,81 mCi) wurde langsam unter Rühren in die heiße Mucochorsäure-Lösung getropft. Es wurde noch eine Stunde bei 90°C gerührt und nach dem Abkühlen und Stehen über Nacht im Kühlschrank

wurde der Niederschlag abgesaugt. Die chemische Ausbeute des in reiner Form anfallenden 1-Phenyl-(1'-¹⁴C)-4,5-dichlor-6-pyridazon betrug 1,55 g (86,5 % d. Th. bezogen auf einges. Anilin-(1-¹⁴C)-hydrochlorid). Die Analyse ergab eine spezifische Aktivität von 2,70 mCi/mMol und eine Aktivitätsausbeute von 17,37 mCi/(92,3 % d. Th. bezogen auf einges. Phenylhydrazin-(1-¹⁴C)-hydrochlorid). Die radiochemische Reinheit betrug 97,7 % (durch umgekehrte Isotopenverdünnungsanalyse). Smp. 161-162 °C.

1-Phenyl-(1'-¹⁴C)-4-amino-5-chlor-6-pyridazon.

In einem 30 ml Bombenrohr aus PYREX-Glas wurden zu 1,476 g 1-Phenyl-(1'-¹⁴C)-4,5-dichlor-6-pyridazon (6,12 mMol, 16,54 mCi) 9,5 ml konzentrierter Ammoniak gegeben. Nach Kühlung mit Aceton/Kohlensäure und Evakuieren wurde das Bombenrohr zugeschmolzen und 2 Stunden bei 130-140 °C geschüttelt. Das Bombenrohr wurde nach dem Abkühlen auf Zimmertemperatur geöffnet und das Reaktionsprodukt wurde abgesaugt, mit Eiswasser gewaschen und im Exsikkator über Calciumchlorid getrocknet. Die Ausbeute an Rohprodukt, welches noch mit den Isomeren 1-Phenyl-(1'-¹⁴C)-5-amino-4-chlor-6-pyridazon verunreinigt war, betrug 1,242 g und hatte einen Smp. von 186-194 °C. Die Aktivität betrug 15,11 mCi und die umgekehrte Verdünnungsanalyse ergab eine radiochemische Reinheit von 84,2 %. Das Rohprodukt wurde durch Säulenchromatographie an Kieselgel gereinigt. Zu diesem Zweck wurde die Substanz (1,208 g, 14,69 mCi) in 50 ml Äthanol gelöst, mit ca. 2 g Tierkohle entfärbt und filtriert. Das Filtrat wurde eingengt und der Rückstand mit 100 ml Chloroform aufgenommen. Diese Lösung wurde auf eine Säule (Länge 50 cm, \varnothing innen 1,8 cm) von 50 g in Chloroform aufgeschlämmten Kieselgel (Nr. 7733, Fa. Merck) gegeben. Eluiert wurde mit 300 ml Chloroform und 300 ml Chloroform/Äthanol (9 : 1). Fraktion 1 (300 ml) und Fraktion 2 (100 ml) wurden vereinigt und ergaben nach dem Einengen bis zur Trockene 175,5 mg 1-Phenyl-(1'-¹⁴C)-5-amino-4-chlor-6-pyridazon mit einem Smp. 137-138 °C. Fraktion 3 (200 ml) ergab nach dem Einengen bis zur Trockene 995,9 mg 1-Phenyl-(1'-¹⁴C)-4-amino-5-chlor-6-pyridazon (73,4 % d. Th. bezogen auf eingesetztes 1-Phenyl-(1'-¹⁴C)-4,5-dichlor-6-pyridazon) mit einem Smp. 203-204 °C. Die Aktivitätsausbeute belief sich auf 12,16 mCi (73,6 % d. Th. bezogen auf eingesetztes 1-Phenyl-(1'-¹⁴C)-4,5-dichlor-6-pyridazon). Durch umgekehrte Isotopenverdünnungsanalyse wurde eine radiochemische Reinheit von 100 % gefunden. Dieser Befund wurde bestätigt durch Dünnschichtchromatographie an Kieselgel G — Platten mit Benzol-Äthanol (75 : 25 Vol. %) als Laufmittel und anschließender Autoradiographie mit Röntgenfilm (OSRAY DW der Fa. Agfa-Gevaert, Belgien).

4.1.2. — *1-Phenyl-(U-¹⁴C)-4-amino-5-chlor-6-pyridazon (II).*

Die im Phenylring uniform mit Kohlenstoff-14 markierte Verbindung wurde wie unter 4.1.1. beschrieben hergestellt. Als radioaktives Ausgangs-

material diente Anilin-(U-¹⁴C)-hydrochlorid (Präparat A-5 der Fa. Niche, Inc., USA) mit einer spezifischen Aktivität von 1,0 mCi/mMol.

4.1.3. — *1-Phenyl-(G-³H)-4-amino-5-chlor-6-pyridazon (III).*

Das mit Tritium markierte Präparat wurde ebenfalls wie unter 4.1.1. beschrieben hergestellt. Als radioaktives Ausgangsmaterial wurden 200 mCi Anilin-(G-Ring-³H) (Präparat TRA-20 des Radiochemical Centre Amersham, England) mit einer spezifischen Aktivität von 145 mCi/mMol verwendet. Dieses Anilin-(G-Ring-³H) (1,38 mMol) wurde vor der Diazotierung zuerst mit halbkonzentrierter Salzsäure in das Hydrochlorid überführt und mit 3,63 mMol inaktivem Anilinhydrochlorid vermischt.

4.2. — MARKIERUNGEN IM PYRIDAZONRING.

4.2.1. — *1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon (4,5-¹⁴C) (IV).*

Acetylen-(1,2-¹⁴C).

Aus 1.10 g Bariumcarbonat-¹⁴C (5,58 mMol, 6,91 mCi) und 14 g überschüssigem Bariummetall wurde nach der Methode von Cox und Warne ⁽⁹⁾ über Bariumcarbid-¹⁴C und dessen Zersetzung mit Wasser Acetylen-(1,2-¹⁴C) hergestellt. Nach der Reinigung des Rohproduktes an gut getrockneter Aktivkohle (300 °C unter Stickstoffatmosphäre) wurden 58,7 Ncm³ Acetylen-(1,2-¹⁴C) (94 % d. Th.) erhalten. Die Aktivitätsausbeute belief sich auf 6,25 mCi (90,5 % d. Th.) und die radiochemische Reinheit betrug 97 %.

2-Butin-1,4-diol-(2,3-¹⁴C).

Acetylen-(1,2-¹⁴C) (0,43 mMol, 1,024 mCi) wurde mit 9,01 mMol inaktivem Acetylen verdünnt und im Vakuum bei 10⁻² mm Hg in einen 25 ml-Autoklaven kondensiert, welcher bereits 2,4 g 30 %ige Formalinlösung (24 mMol) und 4 g Kupferacetylid-Kieselsäure-Kontakt (Kontakt 526 der Badischen Anilin- und Soda-Fabrik AG) enthielt. Nach 48-stündigem Schütteln bei 120 °C wurde der Autoklav auf Zimmertemperatur abgekühlt, vorsichtig entspannt und die Reaktionslösung wurde vom Katalysator abdekantiert. Der Kontakt wurde mehrmals mit Wasser gewaschen, die vereinigten Lösungen wurden mit Tierkohle entfärbt und mit Hilfe eines Rotationsvakuumverdampfers i. V. bis zur Trockene eingeengt. Nach Auflösung des Rückstandes in Essigester und Filtration der Lösung wurde nochmals eingeengt. Durch Unterkühlung mit fester Kohlensäure wurde das Produkt in kristalliner Form erhalten. Die Ausbeute an Rohprodukt betrug 670 mg. Es wurde in einen Sublimationsfinger überführt, mit 0,5 g Aluminiumoxyd (Woelm, neutral) vermischt, mit 14 g Quarzsand bedeckt und bei 60-90 °C und 10⁻² mm Hg sublimiert. Nach zweimaliger Wiederholung der Sublimation wurden 353 mg (44,7 % d. Th. bezogen auf eingesetztes Acetylen) 2-Butin-1,4-diol-(2,3-¹⁴C) mit einem Smp. von

57,4 °C erhalten. Die Aktivitätsausbeute betrug 428,2 μCi (44,8 % d. Th. bezogen auf eingesetztes Acetylen-(1,2- ^{14}C)) bei einer radiochemischen Reinheit von 99,8 % (durch umgekehrte Isotopenverdünnung).

1-Phenyl-4,5-dichlor-6-pyridazon-(4,5- ^{14}C).

In einer 12 ml fassenden Chlorierungsapparatur nach Dury⁽¹⁶⁾ (Abb. 1) bestehend aus einem Glasrohr G mit Fritte F, Heizmantel H, Gaszuleitungsrohr Z, am Boden, Gasableitungsrohr A am Kopf und seitlicher Rohrverbindung K von Boden und Kopf zur Erzeugung eines Kreislaufstromes, wurden 5 ml 2 n Salzsäure vorgelegt. Durch die Fritte am unteren Ende der Apparatur wurde ein gleichmäßiger Chlorstrom von ca. 2 Liter/Stunde in die von außen mit Schleichdampf auf 90-100 °C erhitzte Säure geleitet. Mit einer an der oberen Öffnung der Apparatur angebrachten Pipette P mit Regulierventil (oder Hahn) wurde innerhalb von 7 Stunden eine Lösung von 1,066 g 2-Butin-1,4-diol-(2,3- ^{14}C) (12,4 mMol, 428,2 μCi) in 4 ml dest. Wasser zugetropft. Nach 24 Stunden wurde die Chlorierung beendet. Die Reaktionslösung wurde mit dest. Wasser in einen Erlenmeyer-Kolben gespült, mit Tierkohle aufgeköcht und filtriert. Das Filtrat wurde auf ca. 50 ml eingengt und konnte ohne Isolierung der Mucochlorsäure-(2,3- ^{14}C) für die Umsetzung mit Phenylhydrazin-hydrochlorid verwendet werden. In die salzsaure Mucochlorsäure-(2,3- ^{14}C)-Lösung wurde nach Erwärmen auf ca. 70 °C unter Rühren innerhalb von 2 Stunden eine Lösung von 3,6 g Phenylhydrazin-hydrochlorid (24,8 mMol) in 30 ml verd. Salzsäure getropft. Nach kurzem Erwärmen auf 85 °C wurde abgekühlt und nach dem Stehen über Nacht im Kühlschrank wurde der rotbraune Niederschlag abfiltriert, mit Eiswasser gewaschen und i. V. über Calciumchlorid getrocknet. Es wurden 1,6 g Rohprodukt erhalten, welche nach dreimaligem Umkristallisieren aus Äthanol 583,1 mg 1-Phenyl-4,5-dichlor-6-pyridazon-(4,5- ^{14}C) (19,8 % d. Th. bezogen auf eingesetztes 2-Butin-1,4-diol-(2,3- ^{14}C)) mit einem Smp. von 162 °C ergaben. Die Radioaktivitätsausbeute betrug 77,9 μCi (18,4 % d. Th.) bei einer radiochemischen Reinheit von 99,1 %.

1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon-(4,5- ^{14}C) (IV).

Die Umsetzung von 486 mg 1-Phenyl-4,5-dichlor-6-pyridazon-(4,5- ^{14}C) (20,2 mMol, 64,9 μCi) mit 4 ml konz. Ammoniak wurde wie schon unter 4.1.1. beschrieben durchgeführt. Es wurden 412 mg Rohprodukt erhalten, welche nach Reinigung durch Säulenchromatographie 341 mg 1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon-(4,5- ^{14}C) (76,3% d. Th. bezogen auf eingesetztes 1-Phenyl-4,5-dichlor-6-pyridazon-(4,5- ^{14}C)) mit einem Smp. von 204-205 °C ergaben. Die Aktivitätsausbeute betrug 48 μCi (74 % d. Th.) bei einer radiochemischen Reinheit von 98,6 %.

4.2.2. — *1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon-(3,6-¹⁴C)* (V).

Als radioaktives Ausgangsmaterial diente käuflicher Formaldehyd-¹⁴C (C.E.N., Mol, Belgien). Die Herstellung von 2-Butin-1,4-diol-(1,4-¹⁴C) aus Formaldehyd-¹⁴C wurde jedoch mit einem Überschuß von Acetylen so durchgeführt, daß der Acetylendruck im Autoklaven durch laufendes Nachpressen auf ca. 10 atü gehalten wurde. Unter dieser veränderten Reaktionsbedingung wurde eine etwas höhere Ausbeute an 2-Butin-1,4-diol-(1,4-¹⁴C) erzielt. Die folgenden Stufen der Synthese über Mucocochlorsäure-(1,4-¹⁴C) und 1-Phenyl-4,5-dichlor-6-pyridazon-(3,6-¹⁴C) zu 1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon-(3,6-¹⁴C) gestalteten sich genau wie unter 4.2.1 beschrieben wurde.

4.3. — REINHEITSPRÜFUNGEN.

4.3.1. — *Radiochemische Reinheit.*

Die radiochemische Reinheit der ¹⁴C- und ³H-markierten Verbindungen wurde durch umgekehrte Isotopenverdünnungsanalyse bestimmt. Weiterhin wurde nach dünn-schichtchromatographischer Trennung an Kieselgel G — Schichten die Radioaktivitätsverteilung durch Abtasten der Platten mit einem Dünnschichtscanner (Typ LB 2720 der Fa. Laboratorium Prof. Dr. Berthold) festgestellt (Erfassungsgrenze ca. 5×10^{-4} μ Ci ¹⁴C pro Fleck). Die radioaktiven Flecken wurden durch Autoradiographie der Dünnschichtplatten mit Gevaert-Osray-X-Röntgenfilm (Format 24 \times 30 cm) sichtbar gemacht (Belichtungszeit bis zu 10 Tagen).

4.3.2. — *Chemische Reinheit.*

Die chemische Reinheit der Syntheseprodukte wurde durch Dünnschicht-Chromatographie an Kieselgel-G-Schichten (250 μ) unter Standardbedingungen nach Stahl ⁽¹⁷⁾ geprüft. In Tabelle 1 sind die beobachteten R_f -Werte mit den verwendeten Laufmittelgemischen und Reagenzien aufgeführt.

Die Elementaranalyse der radioaktiv markierten 1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon-Proben entsprach der Summenformel C₁₀H₈ON₃Cl. Die in äthanolischer Lösung gemessenen UV-Spektren waren deckungsgleich mit dem Spektrum eines reinen, inaktiven Präparates mit 2 Absorptionsbanden bei $\lambda_1 = 2888 \text{ \AA}$ ($\epsilon_1 = 1090$) bzw. $\lambda_2 = 2350 \text{ \AA}$ ($\epsilon_2 = 2650$).

4.4. — RADIOAKTIVITÄTSMESSUNGEN.

Die Radioaktivität der ¹⁴C- und ³H-markierten Verbindungen wurde nach der Methode von Simon und Berthold ⁽¹⁸⁾ bestimmt. Nach Umwandlung der Proben in Kohlendioxyd-¹⁴C bzw. Methan-³H und Überführung der Gase in ein Gasproportionalfüllzählrohr (Laboratorium Prof. Dr. Berthold, Wild-

TABELLE I

Substanz	Laufmittel	Reagens	Färbung	R _F -Wert
Mucochlorsäure	Toluol : Ameisensäure : Ameisensäureäthylester (50 : 10 : 40 Vol. %)	0,2 % Fluorescein in Äthanol Brom-Dampf (UV) ⁽¹⁹⁾	braun (gelber Unter- grund) gelbbraun (roter Unter- grund)-UV	~0,58
2-Butin-1,4-diol	Benzol : Äthanol (75 : 25 Vol. %) Isooctan : Äthylacetat (50 : 50 Vol. %)	0,5 % Kaliumpermanganat in 2 % iger Natronlauge 20) «	gelb (roter Untergrund) «	~0,42 ~0,12
1-Phenyl-4,5-dichlor-6-pyridazon	Benzol : Äthanol (75 : 25 Vol. %)	0,5 % Diphenylamin 0,5 % Zinkchlorid in Aceton. Erhitzen auf 200 °C. ⁽²¹⁾	weiß (hellblauer Untergrund)	~0,75
1-Phenyl-4-amino-5-chlor-6-pyridazon	Benzol : Äthanol (75 : 25 Vol. %) Toluol : Essigsäure : Wasser (10 : 10 : 1 Vol. %) Aceton : Dioxan : konz. Ammoniak (45 : 45 : 10 Vol. %)	Nitrose Gase - 1 % β-Naphthol in Methanol-Ammoniak ⁽²²⁾ « « «	rot violett « « «	~0,55 ~0,44 ~0,72

bad) wurden mit Methan als Zählgas bei einer Spannung von 3.5 kV die radioaktiven Zerfälle/Minute gemessen. Für die Impulzzählung wurde das Strahlenmeßgerät UNI/ZS (Laboratorium Prof. Dr. Berthold, Wildbad) verwendet. Unter Berücksichtigung eines Wirkungsgrades des Zählrohres (Type FZ/35 P) von ca. 75 % wurde die spezifische Aktivität der Präparate in mCi/mMol (oder $\mu\text{Ci}/\text{mMol}$) umgerechnet. Als Eichstandard zur Bestimmung des Zählrohrwirkungsgrades diente das Präparat NES 1 Benzoic- ^{14}C -Acid mit der spez. Aktivität von 8260 dpm/mg $\pm 5\%$ der Fa. New England Nuclear Corp.

LITERATURVERZEICHNIS

1. DBP 1105232 (1958/61), Badische Anilin- und Soda-Fabrik AG, Ludwigshafen (Rhein), Erf. : F. Reicheneder, K. Dury und A. Fischer.
2. BE 591 996 (1960/61), Badische Anilin- und Soda-Fabrik AG, Ludwigshafen (Rhein), Erf. : H. R. Hensel und H. Baumann.
3. DAS 1 086 238 (1959/60), Badische Anilin- und Soda-Fabrik AG, Ludwigshafen (Rhein), Erf. : F. Reicheneder und K. Dury.
4. BRINTZINGER, H., PFANNENSTIEL, K. und JANECKE, J. — *Die Chemie*, **56** : 233 (1943).
5. WEYGAND, F., GRISEBACH, H., KIRCHNER, K. D. und HASELHORST, M. — *Chem. Ber.*, **88** : 487 (1955).
6. RICHARDSON, G. S., WELIKY, I., BATCHELDER, W., GRIFFITH, M. und ENGEL, L. L. — *J. Chromatog.*, **12** : 115 (1963).
7. WENZEL, M. und SCHULZE, P. — *Naturwiss.*, **49** : 515 (1962).
8. BRODA, E. und SCHÖNFELD, T. — *Die Technischen Anwendungen der Radioaktivität*, Posta Verlag, München, 1956, Seite 82.
9. COX, J. D. und WARNE, R. I. — *J. Chem. Soc.* 1951, 1893.
10. FORMAN, S. E., GILBERT, B. L., JOHNSON, G. S., ERICKSEN, C. A. und ADELMAN, H. — *J. Agric. Food Chem.*, **8** : 193 (1960).
11. REPPE, W. und MITARB. — *Liebigs Ann. Chem.*, **596** : 32 (1955).
12. DURY, K. — *Angew. Chem.*, **72** : 864 (1960).
13. DAS 1 119 850 (1959/61), Badische Anilin- und Soda-Fabrik AG, Ludwigshafen (Rhein), Erf. : F. Reicheneder und K. Dury.
14. DAS 1 125 421 (1960/62), Badische Anilin- und Soda-Fabrik AG, Ludwigshafen (Rhein), Erf. : F. Reicheneder und K. Dury.
15. SHATKINA, T. N. — *Metody Poluchenija i Izmeren, Radioaktivnykh Preparatov, Sbornik Statei*, 1960 : 159.
16. DURY, K. — Persönliche Mitteilung.
17. STAHL, G. — *Dünnschichtchromatographie*, Springer-Verlag, Berlin, 1963, Seite 29.
18. SIMON, H. und BERTHOLD, F. — *Atomwirtschaft*, **7** : 498 (1962).
19. KRUSCHE, G. — Persönliche Mitteilung.
20. NEFF, M. B., NAFF, A. S. und STRITE, J. A. — *J. Chromatogr.* **11** : 496 (1963).
21. KATZ, D. — *J. Chromatogr.* **15** : 269 (1964).
22. FISCHER, A., persönliche Mitteilung und DRESCHER, N., Vortrag anlässlich der wissenschaftlichen Aussprache über chem. Unkrautbekämpfung in Zuckerrüben mit PYRAMIN, Ludwigshafen/Rh., 8./9. Januar 1964.