

Synthese von ^{14}C -markiertem Noxiptilin

Walter MAUL

Isotopen-Institut, Farbenfabriken Bayer AG, Wuppertal-Elberfeld

Eingegangen am 5. April 1969

SUMMARY

Noxiptilin is a new antidepressive drug exhibiting only very few side-effects. Carbon- ^{14}C labelled Noxiptilin was needed for the investigation of the metabolism and pharmacokinetics in the organism of the rat. The synthesis started from Bariumcarbonate- ^{14}C (10 mMoles; 387 mCi) and took the following route : o-toluicacid-[carboxyl- ^{14}C], phthalicacid-[carboxyl- ^{14}C], benzalphthalide-[$^{14}\text{C}_2$], 2-phenyl-acetyl-[carbonyl- ^{14}C]-benzoic acid-[carboxyl- ^{14}C], which was hydrogenated to give 2-phenyl-ethyl-[1- ^{14}C]-benzoic acid-[carboxyl- ^{14}C]. From this 5H-Dibenzo [a,d] cyclohepta-1,4-dien-5-on-[5,10- $^{14}\text{C}_2$] was synthesized. The condensation of wick with 0-(β -dimethylaminoethyl)-hydroxylamin yielded 5-(2-Dimethylaminoethyl-oxymino)-5H-dibenzo [a,d] cyclohepta-1,4-dien- [5,10- $^{14}\text{C}_2$]. The radiochemical yield of the hydrochloride of this substance (Noxiptilin- ^{14}C) was 31,5 %. Storing this material showing a specific activity of 117 microcurie/mg dissolved in ethanol in the cold (4°C) for 4 months the percentage of radioactive impurities increased from 0.6 to 4.2 %.

ZUSAMMENFASSUNG

Noxiptilin ist ein neues Antidepressivum mit geringen Nebenwirkungen. Für die Untersuchung des Stoffwechsels und der Kinetik dieser Substanz im Organismus der Ratte wurde ein Kohlenstoff- ^{14}C -markiertes Noxiptilin benötigt. Die Synthese ging aus vom Bariumcarbonat- ^{14}C (10 mMol; 387 mCi) und führte über die Stufen der o-Toluylsäure-[carboxyl- ^{14}C], Phthalsäure-[carboxyl- ^{14}C], Benzalphthalid-[$^{14}\text{C}_2$] zu 2-Phenyl-acetyl-[carbonyl- ^{14}C]-benzoesäure-[carboxyl- ^{14}C], die zu 2-Phenyl-äthyl-[1- ^{14}C]-benzoesäure-[carboxyl- ^{14}C] hydriert wurde. Hieraus konnte 5H-Dibenzo [a, d] cyclohepta-1,4-dien-5-on-[5,10- $^{14}\text{C}_2$] hergestellt werden, dessen

Kondensation mit 0-(β -Dimethylaminoäthyl)-hydroxylamin zu 5-(2-Dimethylaminoäthyl-oxyimino)-5H-dibenzo[a,d]cyclohepta-1,4-dien [5,10- $^{14}\text{C}_2$] führte. Die radiochemische Ausbeute an dem Hydrochlorid dieser Verbindung (Noxiptilin- ^{14}C) betrug 31,5 %. Bei der Aufbewahrung der Substanz, deren spez. Aktivität 117 $\mu\text{Ci}/\text{mg}$ betrug, in Äthanol im Kühlschrank stieg der Prozentsatz der radioaktiven Verunreinigungen von 0,6 auf 4,2 %.

Noxiptilin (5-(2-Dimethylaminoäthyl-oxyimino)-5H-dibenzo[a,d] cyclohepta-1,4-dien-hydrochlorid; Agedal®; BAY 1521) ist eine neue, antidepressiv wirkende Substanz mit nur geringen Nebenwirkungen. Für die ausgedehnte Untersuchung des Stoffwechsels und der Transportvorgänge des Noxiptilin bzw. seiner Metaboliten benötigten wir ein radioaktiv markiertes Präparat. Um die in erster Linie erwünschten Kenntnisse über Resorption, Verteilung, Ausscheidung und stoffliche Veränderung im Organismus der Ratte auch über einen längeren Zeitraum hinweg zu erhalten, mußte dieses radioaktive Präparat wegen der bei intravenöser Injektion niedrigen Dosierung eine relativ hohe spez. Aktivität aufweisen. Außerdem sollte gewährleistet sein, daß das markierte Kohlenstoffatom nicht schon beim ersten Metabolisierungsschritt abgespalten und als radioaktives Kohlendioxid abgeatmet wird; denn in diesem Falle wäre eine Aussage über das fernere Schicksal der Substanz im Organismus nicht mehr möglich gewesen. Für eine Synthese mit Kohlenstoff- ^{14}C als Traceratom empfahl sich daher die Markierung im Ringsystem des Noxiptilin. Hierüber soll im folgenden berichtet werden, während die mit dem Noxiptilin- ^{14}C gewonnenen tierexperimentellen Ergebnisse an anderer Stelle ⁽¹⁾ publiziert werden.

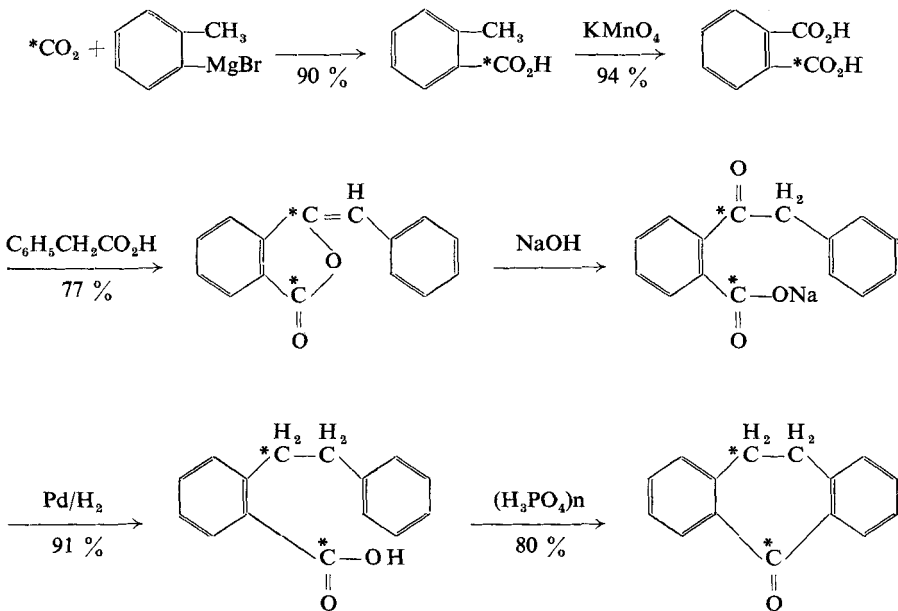
Aus der Grignardverbindung des *o*-Toluolbromid konnte mit radioaktivem Kohlendioxid (10 mMol; 387 mCi) entsprechend den allgemeinen Vorschriften ⁽²⁾ mit guter Ausbeute *o*-Toluylsäure-[carboxyl- ^{14}C] hergestellt werden. Bei der Oxydation dieser Verbindung zu Phthalsäure-[carboxyl- ^{14}C] nach der Methode von Barker und Christian ⁽³⁾ erhielten wir in inaktiven Vorversuchen stark wechselnde Ausbeuten, die wir schießlich auf Kieselsäure aus der Einwirkung des Alkali auf die verwendeten Glasflaschen zurückführen konnten. Durch die Anwendung von Polyäthylenflaschen konnte diese Schwierigkeit behoben werden.

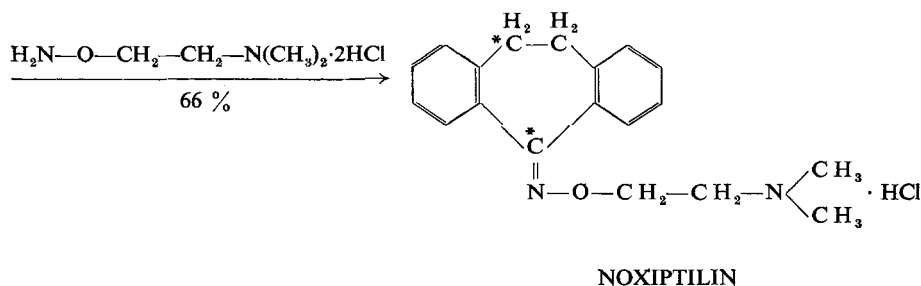
Benzalphthalid kann im präparativen Maßstab nach Weiss ⁽⁴⁾ in guter Ausbeute aus Phthalsäureanhydrid und Phenyllessigsäure hergestellt werden. Es lag daher zunächst nahe, in nur einem Schritt Phenyllessigsäure- ^{14}C zu synthetisieren und mit Phthalsäure umzusetzen. Inaktive Vorversuche ergaben jedoch, daß ein Überschuß an Phenyllessigsäure für diese Synthese unbedingt notwendig ist. — Im Verlauf weiterer inaktiver Vorversuche konnte dann

® Eingetragenes Warenzeichen der Farbenfabriken Bayer AG, Leverkusen

gezeigt werden, daß für die Phthalidbildung nicht nur das Anhydrid der Phthalsäure, sondern auch die Säure selbst eingesetzt werden kann. Wir erhielten auf diese Weise Benzalphthalid- $^{14}\text{C}_2$ in praktisch quantitativer Ausbeute, da nach der Umkristallisation dieser Substanz aus der Mutterlauge durch Trägern mit inaktivem Benzalphthalid nochmals eine reine, radioaktive Verbindung (Nebenfraktion) isoliert werden konnte, die parallel zu der in der Hauptfraktion vorhandenen Aktivität auf Noxiptilin- ^{14}C verarbeitet wurde.

Die Hydrolyse des Benzalphthalids $^{14}\text{C}_2$ führte zu 2-Phenyl-acetyl-[carboxyl- ^{14}C]-benzoesäure-[carboxyl- ^{14}C], die ohne Isolierung analog der inaktiven Synthese von Kollonitsch, Mertel und Verdi⁽⁵⁾ unter Druck katalytisch hydriert wurde. Die mit 91 % Ausbeute erhaltene 2-Phenyl-äthyl-[1- ^{14}C]-benzoesäure-[carboxyl- ^{14}C] konnte mit Polyphosphorsäure analog der Vorschrift von Campbell⁽⁶⁾ zu 5H-Dibenzo[a,d]cyclohepta-1,4-dien-5-on-[5,10- $^{14}\text{C}_2$] umgesetzt werden. Schließlich ergab die Kondensation dieser Verbindung mit *o*-(β -Dimethylaminoäthyl)-hydroxylamin-dihydrochlorid in Pyridin/Alkohol das gewünschte 5-(2-Dimethylaminoäthyl-oxyimino)-5H-dibenzo[a,d]cyclohepta-1,4-dien-[5,10- $^{14}\text{C}_2$], dessen bei der Aufarbeitung anfallende Base mit Chlorwasserstoffsäure in das Hydrochlorid (Noxiptilin- ^{14}C) umgewandelt wurde.





Die Ausbeute an Noxiptilin- ^{14}C betrug 830 mg (Hauptfraktion) bzw. 983 mg (Nebenfraktion). Bei einer gemessenen spez. Aktivität von $117 \mu\text{Ci}/\text{mg}$ ($\Delta 38,7 \text{ mCi}/\text{mMol}$) bzw. $25,3 \mu\text{Ci}/\text{mg}$ ($\Delta 8,4 \text{ mCi}/\text{mMol}$) ergab sich somit eine radioaktive Gesamtausbeute von 31,5 % berechnet für Bariumcarbonat- ^{14}C .

Die Reinheitsprüfung erfolgte durch eine zweidimensionale Trennmethode (Hochspannungselektrophorese-Chromatographie) ⁽⁷⁾ auf Papier und zeigte, daß nicht mehr als 0,6 % radioaktive Verunreinigungen nachweisbar waren.

Da bei der relativ hohen spez. Aktivität von $117 \mu\text{Ci}/\text{mg}$ und der Konstitution des Noxiptilin bei längerer Lagerung eine Autoradiolyse zu befürchten war, wurde die gesamte Menge in Äthanol gelöst. Nach einer Aufbewahrungszeit von 4 Monaten bei 4°C zeigte eine erneute Überprüfung der Reinheit auf die oben beschriebene Weise einen Gehalt an radioaktiven Verunreinigungen von ca. 4,2 %.

EXPERIMENTELLER TEIL.

o-Toluylsäure-[carboxyl- ^{14}C].

Aus insgesamt 1,97 g Bariumkarbonat (10 mMol; 387 mCi) wurde in der Vakuumapparatur nach bekanntem Verfahren das Kohlendioxid in Freiheit geätzt und mit 13 mMol *o*-Toluylmagnesiumbromid in 15 ml absolutem Äther umgesetzt. Nach dem Zersetzen mit verdünnter Schwefelsäure wird die ätherische Phase einmal mit 10 %iger Natronlauge ausgeschüttelt. Aus der alkalischen Lösung wird die *o*-Toluylsäure-[carboxyl- ^{14}C] durch Zugabe von konzentrierter Salzsäure als rein weißes Produkt ausgefällt und abgesaugt. (In inaktiven Vorversuchen erhielten wir eine Ausbeute von ca. 90 %. Der Schmelzpunkt betrug 105°C).

Phthalsäure-[carboxyl- ^{14}C].

Das noch feuchte Produkt wird in 60 ml 1*n*-Natronlauge gelöst und nach Zugabe von 3,48 g Kaliumpermanganat (22 mMol) in 80 ml Wasser in einer 500 ml Plastikflasche mit aufgesetztem Rückflußkühler 10 h auf dem siedenden Wasserbad belassen. Anschließend wurden 5 ml Äthanol zugegeben,

auf Zimmertemperatur abgekühlt und mit konz. Salzsäure stark sauer gestellt. Nach 30 Min. Erwärmen auf 100° C und der Zugabe von 6 ml gesättigter Natriumsulfit-Lösung wird die klare Lösung bei 80° C im Rotationsverdampfer auf 20-30 ml eingengt. Die ausgeschiedene Substanz wird in der Siedehitze durch Zugabe von Wasser gerade wieder in Lösung gebracht und die spontan einsetzende Kristallisation über Nacht im Kühlschrank zu Ende geführt. Nach dem Absaugen und Trocknen erhielten wir 1412 mg Phthalsäure-[carboxyl-¹⁴C]. Dies entspricht einer Ausbeute von 94 % bzw. 85 % berechnet für Bariumkarbonat.

Benzalphthalid-[¹⁴C₂].

1,4 g Phthalsäure-[carboxyl-¹⁴C] (8,5 mMol) werden zusammen mit 1,27 g Phenylessigsäure (9,35 mMol) und 26,8 mg frisch geglühtem Natriumacetat in einen 25 ml Rundkolben mit aufgesetzter, kurzer Destillationsbrücke 6 h in einem Metallbad auf 240-250° C erhitzt. Während dieser Zeit muß dafür Sorge getragen werden, daß das gebildete Kondensationswasser nicht wieder in die Schmelze zurücktropfen kann. Anschließend wird in noch warmem Zustand in 12 ml Äthanol gelöst, vom Ungelösten abfiltriert und auf ca. 4-5 ml eingengt. Nach dem Stehen im Kühlschrank über Nacht wird das gelbe Produkt abgesaugt und mit eiskaltem Äthanol gewaschen bis es fast weiß ist. Nach dem Trocknen i.V. über Blangel erhielten wir 1451 mg Benzalphthalid-[carbonyl-¹⁴C₂], Fp 99-100° C, entsprechend einer Ausbeute von 77 % bzw. 65 % berechnet für Bariumcarbonat.

2-Phenyl-äthyl-[1-¹⁴C]-benzoesäure-[carboxyl-¹⁴C].

1,45 g Benzalphthalid-¹⁴C (6,53 mMol) werden mit einer Lösung von 330 mg Natriumhydroxyd (8,5 mMol) in 7 ml Wasser versetzt und bis zur klaren Lösung auf 100° C erwärmt. Die gebildete 2-Phenylacetylbenzoesäure wird in ein 100 ml Autoklavengefäß übergeführt, mit 3 ml Wasser nachgespült und mit verdünnter Salzsäure ein pH 8,5 bis 9 eingestellt. Nach Zugabe von 460 mg eines Palladiumkatalysators (10 % Pd auf Kohle nach Engelhard) in 2,5 ml Wasser wird in den verschlossenen und mit Stickstoff gespülten Autoklaven Wasserstoff bis auf ca. 20 atm eingedrückt und 8 h bei 80° C unter magnetischem Rühren hydriert. Nach dem Absaugen und Nachwaschen des Katalysators mit Wasser und verdünnter Natronlauge wird die klare, farblose im Rotationsverdampfer bei 80° C i.V. auf ca. 20 ml eingengt. Die Säure wird mit konzentrierter Salzsäure ausgefällt, der weiße Niederschlag nach dem Abkühlen im Eisbad abgesaugt und i.V. getrocknet. Wir isolierten 1338 mg 2-Phenyläthyl-[1-¹⁴C]-benzoesäure-[carboxyl-¹⁴C], Fp 128-130 °C, entsprechend einer Ausbeute von 91 % bzw. 59 % ber. für Bariumkarbonat.

5H-Dibenzo [a,d] cyclohepta-1, 4-dien-5-on-[5, 10-¹⁴C₂] (Dibenzosuberon).

1,34 g der obigen Säure (5,9 mMol) werden unter Rühren innerhalb von 15 Min bei 170° C portionsweise in einen Kolben, der 5,3 g Polyphosphor-

säure (85,3 % P₂O₅) enthält, eingetragen. Man rührt noch 3 h nach, fügt dem Ansatz unter äußerer Eiskühlung Eiswasser zu und rührt mit Äther aus. Die wäßrige Phase wird im Scheidetrichter abgetrennt und mit Äther zweimal nachextrahiert. Die vereinigten ätherischen Lösungen werden mit 1 %iger Natronlauge und Wasser gewaschen, mit Pottasche getrocknet, eingedampft und der ölige Rückstand im Kugelrohr destilliert. Im Vakuum der Ölpumpe geht bei 165° C ein gelb-braunes Öl über. Wir erhielten 983 mg Dibenzosuberon-¹⁴C; dies entspricht einer Ausbeute von 80 % oder 47 % berechnet für Bariumkarbonat.

5-(2-Dimethylaminoäthyl-oxyimino)-5H-dibenzo[a,d]cyclohepta-1,4-dien-[5, 10-¹⁴C₂]-hydrochlorid (Noxiptilin; Agedal®; BAY 1521).

983 mg Dibenzosuberon-[¹⁴C] (4,72 mMol) werden mit 1,66 g 0-(β-Dimethylaminoäthyl)-hydroxylamin-dihydrochlorid (9,44 mMol) in 2,1 ml Pyridin und 3,1 ml Äthanol 48 h am Rückfluß gekocht. Anschließend wird i.V. bis zur Trockene eingedampft und restliches Pyridin im Vakuumexsikkator entfernt. Zur Abtrennung des im Überschuß zugesetzten 0-(β-Dimethylaminoäthyl)hydroxylamin-dihydrochlorides* wird der feste Rückstand in 20-30 ml heißem Chloroform aufgenommen und nach dem Abkühlen abfiltriert. Das Filtrat wird mit 2n Natronlauge ausgeschüttelt, mit Pottasche getrocknet, filtriert, i.V. zur Trockene eingedampft und erneut im Vakuumexsikkator getrocknet. Der nunmehr von Pyridin völlig freie Rückstand wird in 20 ml Chloroform gelöst und bis zur vollständigen Entfärbung der Lösung trockener Chlorwasserstoff eingeleitet. Nach der Behandlung mit Tierkohle wird bis zur Trockene eingedampft, der Rückstand über Nacht im Vakuumexsikkator über Blaugel stehen gelassen und anschließend aus 15 ml Dioxan umkristallisiert. Das erhaltene, noch hellbraune Produkt (1027 mg Δ 66 %) wird zur weiteren Reinigung in Aceton aufgenommen, die Lösung mit Tierkohle geklärt, eingengt und die farblosen Kristalle abgesaugt (Hauptfraktion). Die Mutterlauge wird mit Substanz niedrigerer spezifischer Aktivität, die aus der Aufarbeitung sämtlicher Mutterlaugen nach Trägern auf der Stufe des Benzalpthalids stammte, versetzt und erneut kristallisieren gelassen (Nebenfraktion). Insgesamt erhielten wir auf diese Weise 830 mg Noxiptilin-¹⁴C (Fp 190-191 °C) mit einer gemessenen spez. Aktivität von 117 μCi/mg und 983 mg dieser Verbindung mit einer spez. Aktivität von 25,3 μCi/mg. Die Gesamtausbeute berechnet für Bariumkarbonat ergibt sich hieraus mit 31,5 %.

Reinheitsprüfung.

Die Untersuchung auf Unreinheiten dieses Produktes mittels zweidimensionaler Auftrennung (Hochspannungselektrophorese : Puffer pH 6,2 [Pyridin : Eisessig : Wasser = 100 : 10 : 890] und senkrecht dazu absteigende

* Herrn Dr. H. Schröder, Farbenfabriken Bayer AG, Werk Elberfeld Pharma.-Betriebs-Wiss. Abt., danke ich für die Überlassung dieser Substanz.

Chromatographie in dem Lösungsmittelsystem sek. Butanol : Pyridin : Wasser : Eisessig = 12 : 6 : 4 : 1 auf Papier Schleicher und Schüll 2043 b Mgl) ergab eine Reinheit von 99,4 % bzw. 95,8 % nach einer Aufbewahrungszeit von 4 Monaten in 250 ml unvergälltem, absolutem Äthanol bei 4° C.

LITERATUR

1. DUHM, B., MAUL, W., MEDENWALD, H., PATZSCHKE, K. und WEGNER, L. A. — *Arzneimittelforsch.* im Druck.
2. MURRAY, A. III, and WILLIAMS, D. L. — *Organic Synthesis with Isotopes*, Vol. I, z.B. S. 34, Interscience Publishers Inc., New York 1958.
3. BARKER, D. Y. and CHRISTIAN, J. E. — *J. Am. Pharm. Ass., Sci. Ed.*, **44** : 105 (1955).
4. WEISS, R. — in : *Organic Synthesis Coll.*, Vol. II, p. 61, John Wiley and Sons Inc., New York 1943.
5. KOLLONITSCH, J., MERTEL, H. E. and VERDI, V. F. — *J. Org. Chem.*, **27** : 3362 (1962).
6. CAMPBELL, T. W., GINSIG, R. und SCHMID, H. — *Helv. Chim. Acta*, **36** : 1489 (1953).
7. DUHM, B., MAUL, W., MEDENWALD, H., PATZSCHKE, K. und WEGNER, L. A. — *Z. Naturforsch.*, **20b** : 434 (1965); *Arzneimittelforsch.*, **17** : 672 (1967).