

## NOTES

## RADIOSYNTHESEN BIOLOGISCH AKTIVER VERBINDUNGEN

II TRIFORINE (CELA W 524) MARKIERT MIT TRITIUM UND  $^{14}\text{C}$ .\*

Received on June 21, 1972.

## ZUSAMMENFASSUNG

*Ausgehend von Piperazin- $^3\text{H}$  (U) wird tritiummarkiertes Triforine (N,N'-Bis-[1-formamido-2,2,2-trichloräthyl]-piperazin- $^3\text{H}$ ) mit 89 % Ausbeute und einer spezifischen Aktivität von 149 mCi/mMol dargestellt. Bei der  $^{14}\text{C}$ -Markierung wird Paraldehyd- $^{14}\text{C}$  (U) zu Chloral-1,2- $^{14}\text{C}$  umgesetzt und als Chloral-1,2- $^{14}\text{C}$ -formamid isoliert. Dieses wird chloriert und mit Piperazin kondensiert. Triforine- $^{14}\text{C}$  entsteht in 25 %-iger Ausbeute mit einer spezifischen Aktivität von 22 mCi/mMol.*

Einleitung

Triforine (N,N'-Bis-[ $^1\text{T}$ -formamido-2,2,2-trichloräthyl]-piperazin) ist ein systemisches Fungicid (1) mit außergewöhnlicher Wirksamkeit (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9). Zur Untersuchung von Fragen des biochemischen Wirkungsmechanismus, des Metabolismus und der Translokation in Pflanzen (10, 11, 12) war die Markierung der Verbindung erforderlich. Im folgenden soll über Erfahrungen bei der Radiosynthese von Triforine berichtet werden.

Diskussion

Es erschien zunächst angebracht, das Triforine-Molekül im Piperazinring mit Tritium zu markieren. Dort war kaum mit einem

---

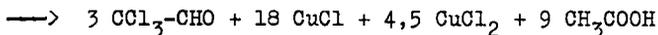
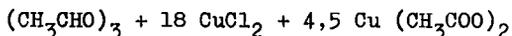
\* Teil I: I. Stiasni, K. Schweikert, Dieses Journal 2, 406 (1966)

Austausch von Tritium zu rechnen; eine Annahme, die durch die späteren Untersuchungen mit Triflorine- $^3\text{H}$  bestätigt wurde.

Andererseits war auch der Verbleib der Seitenketten im Organismus von Interesse, zumal gezeigt werden konnte, daß der Formamido-trichloräthyl-Rest durch chemische Hydrolyse relativ leicht und unter weiterem Zerfall vom Piperazinring abgespalten wird. Für eine Markierung der Seitenkette schien die Trichloräthylgruppe geeigneter als der Formylrest, von dem eine Metabolisierung zu Ameisensäure bzw.  $\text{CO}_2$  zu erwarten war.

Bei der Einführung von Kohlenstoff- $^{14}\text{C}$  in die Seitenkette ist also Chloral die Schlüsselsubstanz. Zur Darstellung von DDT- $^{14}\text{C}$  gingen Pearce und Jensen (13, 14) von Äthanol aus, das sie in einer Spezialapparatur im 100 mMol-Maßstab zu Chloral- $^{14}\text{C}$  chlorierten. Eines ähnlichen Verfahrens bediente sich Thorpe (15). Mit Mengen von 20 mMol Äthanol- $^{14}\text{C}$  ließ sich jedoch Chloral- $^{14}\text{C}$  in nur 3 %-iger Ausbeute mit ungenügender Reinheit isolieren. Auch die Chlorierung von Äthanol- $^{14}\text{C}$  in Gegenwart von Eisen-(III)-chlorid ergab im 20 mMol-Maßstab zu geringe Ausbeuten (16). Andere Versuche, ausgehend von Chloräthanol oder Chloraldiäthylacetal, lieferte Chloral in noch kleinerer Menge (16). Ein Patent-Verfahren des Consortiums für Elektrochemie (17) erwies sich in der publizierten Form als nicht durchführbar, da die durch Chlorierung von Acetaldehyd mit Kupfer-(II)-chlorid gebildeten geringen Mengen an Chloral aus den großen Lösungsmittelmengen (Essigsäure) nicht abzutrennen waren. Außerdem scheint ein Teil des eingesetzten Acetaldehyds zu verdampfen.

Grundlage für die durchgeführte Chloralsynthese ist nachstehende Reaktion:

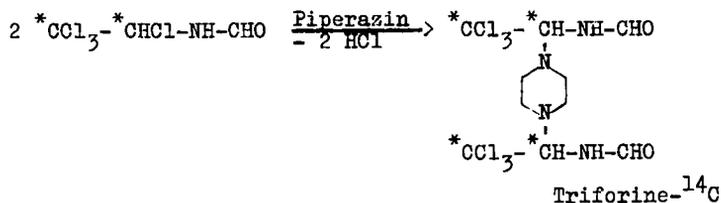
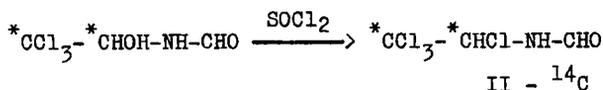
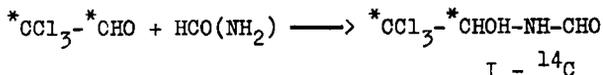


Durch die Verwendung von Paraldehyd als Ausgangsprodukt wurden die mit dem hohen Dampfdruck des Acetaldehyds verbundenen Nachteile umgangen. Setzt man für die Reaktion monomeren Acet-

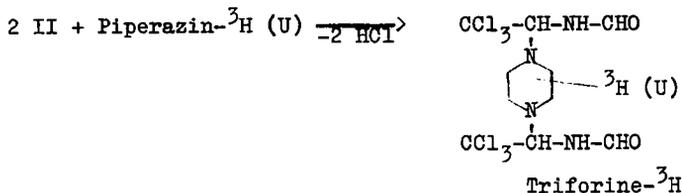
aldehyd ein, so sinkt die Ausbeute an Chloral stark ab. Ausbeuteverluste treten auch bei völliger Abwesenheit von Wasser ein; welche Rolle das Wasser in der Reaktion spielt, wurde nicht untersucht.

Die Isolierung des reinen Chlorals aus der essigsäuren Lösung durch fraktionierte Destillation gelang zunächst nicht. Auch die Neutralisation der Essigsäure führt zu unbefriedigenden Ergebnissen. Versetzt man jedoch das zunächst erhaltene Destillat von Chloral + Essigsäure mit konz. Schwefelsäure und destilliert erneut, so erhält man ein stark mit Chloral angereichertes Destillat, das ohne weitere Reinigung mit Formamid umgesetzt werden kann. Die Verwendung von Polyphosphorsäure anstelle von Schwefelsäure führt zu verminderten Ausbeuten.

Die weiteren Reaktionsschritte ergeben sich aus folgendem Schema:



bzw.



### Experimenteller Teil

Die Dünnschichtchromatographie wurde auf Kieselgelfertigplatten (Merck Nr. 5715) mit Essigester (Triforine Rp 0.45) bzw. Methanol (Triforine Rp 0.67) ausgeführt. Radiodünnschichtchromatogramme wurden auf einem DC-Scanner II LB 2723 (Laboratorium Prof. Berthold, D-7547 Wildbad) ausgewertet. Radioaktive Meßproben wurden mit einem TriCarb 3375 Flüssigscintillationszähler (Packard Instrument, D-6000 Frankfurt/M., Hanauer Landstraße 220) gemessen; die Quenckorrektur erfolgte mittels externer Standardisierung.

Triforine-<sup>3</sup>H: In einem 50 ml-Zweihalskolben werden 178 mg (2 mMol) Piperazin-<sup>3</sup>H(U)\*) mit einer Lösung von 458 mg (4.4 mMol) Triäthylamin in 1 ml Aceton versetzt und unter Rühren 958 mg (4.4 mMol) 1,2,2,2-Tetrachloräthylformamid (II) in 2 ml Aceton zugegeben. Die Lösung, aus der Triforine-<sup>3</sup>H ausfällt, wird noch 2 Stunden bei Raumtemperatur gerührt und danach tropfenweise mit 10 ml Wasser versetzt. Der Niederschlag wird abgesaugt und mit Wasser solange gewaschen, bis das Filtrat chloridfrei ist. Ausbeute 778 mg (89 % d. Th.). Spezifische Aktivität 150 mCi/mMol.

Triforine-<sup>14</sup>C: In einem 100 ml-Rundkolben werden 4,5 g CuCl<sub>2</sub>, 10 g Cu(II)-azetat und 4,25 g LiCl (zur Erhöhung der Löslichkeit der anorganischen Salze) in 15 ml Eisessig sowie 1 ml Wasser suspendiert. Das Gemisch wird mit flüssigem Stickstoff gekühlt, der Kolben an eine Vakuumlinie gehängt, und 220 mg (1,6 mMol) Paraldehyd-<sup>14</sup>C(U)\*\*) werden im Vakuum aus der Brechsigelampulle eindestilliert. Der Kolben wird entfernt und nach Zugabe von weiteren 5 ml Eisessig bei -70° am Rückflußkühler langsam auf +40° erwärmt. Nach 10 min. werden 15 ml Acetanhydrid durch den Kühler hinzugegeben und man erhitzt das Gemisch 2 Stunden zum Sieden. Danach wird der Rückflußkühler durch eine Destillationsbrücke ersetzt und etwa 35 g farblose Flüssigkeit abdestilliert. Dem Destillat wird bei -70° 25 ml konz. Schwefelsäure zugesetzt und das Gemisch bei 180° Ölbadtemperatur destil-

\*) geliefert von Farbwerke Hoechst, Radiochemisches Labor, D-6230 Frankfurt/Main 80, Postfach 800320

liert, wobei etwa 4 ml eines Gemisches von Chloral und Essigsäure übergehen. Im Rückstand sind nur Spuren Radioaktivität nachweisbar.

Das Destillat wird mit 0,25 ml Formamid in 5 ml Essigester versetzt, über Nacht bei Raumtemperatur stehen gelassen und noch 4 Stunden bei 60° behandelt. Nach Zugabe von 50 ml Essigester wird das Gemisch mehrmals mit wenig gesättigter Kochsalzlösung ausgeschüttelt. Die organische Phase wird über Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> sicc. getrocknet und eingedampft.

Der teilweise kristalline Rückstand von Chloralformid-<sup>14</sup>C (I-<sup>14</sup>C) wird in Benzol suspendiert und nach Zugabe von 0,5 ml Thionylchlorid 15 min. bei 70 - 80° gerührt. Die klare Lösung von II-<sup>14</sup>C wird i.V. eingedampft.

Der Rückstand wird in 4 ml Aceton gelöst und ein Gemisch von 200 mg (2,3 mMol) Piperazin, 500 mg Triäthylamin und 3 ml Aceton zugegeben. Die Aufarbeitung erfolgt wie bei Triforine-<sup>3</sup>H. Ausbeute 260 mg = 25 % bezogen auf Paraldehyd-<sup>14</sup>C.

Spezifische Aktivität 22 mCi/mMol. Die radiochemische Reinheit wurde durch umgekehrte Verdünnungsanalyse bestimmt und betrug 98 %. Substanz aus einem inaktiven Vorversuch war dünnschichtchromatographisch und im NMR-Spektrum identisch mit authentischem Material.

Die Elementaranalyse zeigte folgende Werte:

C ber. 27,61 %; H ber. 3,24 %; N ber. 12,88 %; Cl 48,90 %  
C gef. 28,53 %; H gef. 3,15 %; N gef. 12,65 %; Cl 50,15 %

Die Autoren danken den Herren W. Mengel, K. Schweikert und G. Winkler für technische Assistenz bei der Ausarbeitung der Synthesen.

---

\*\*\*) geliefert von New England Nuclear Chemicals GmbH,  
D-6072 Dreieichenhain, Postfach 71

Literatur

1. Ost, W., Thomas, K., Jerchel, D. und Appel, K.-R.,  
D.O.S. 1 901 241 (v. 28.8.69)
2. Adlung, K.G. und Drandarevski, C.A.,  
Proc. 6th Brit. Insectic. Fungic. Conf. 577 (1971)
3. Drandarevski, C.A.,  
38. Deutsch. Pflanzenschutz-Tagung, Bln., Mitt. Biol.  
Bundesanstalt (im Druck)
4. Ebenebe, C., Fehrmann, H. und Großmann, F.,  
Plant. Dis. Repr. 55 (8), 691 (1971)
5. Fuchs, A., Viets-Verweij, M., Vörös, J. und de Vries, F.W.,  
Acta Phytopath. Hung. (6), 347 (1971)
6. Fuchs, A., Doma, S. und Vörös, J.,  
Neth. J. Pl. Path., 77, 42 (1971)
7. Jansen, W.,  
Gesunde Pflanze 23, 46 (1971)
8. Schicke, P. und Veen, K.H.,  
Proc. 5th Brit. Insectic. Fungic. Conf., 569 (1969)
9. Schicke, P. und Arndt, S.,  
Mededelingen Fakulteit Landbouw-Wettenschappen Gent, 36,  
1165 (1971)
10. Ost, W., v.Bruchhausen, V. und Drandarevski, C.A.,  
Pestic. Science 2, 219 (1971)
11. v.Bruchhausen, V. und Stiasni, M.,  
Pestic. Science (im Druck)
12. Fuchs, A., Viets-Verweij, M. und de Vries, F.W.,  
Phytopath. Z. (im Druck)
13. Pearce, G.W. und Jensen, J.A.,  
J. Agric. Food Chem. 1, 776 (1953)

14. Pearce, G.W. und Jensen, J.A.,  
Science 118, 45 (1953)
15. Thorpe, E.,  
Dictionary of Applied Chemistry Vol. II, p. 180, Verlag  
Longmans, New York 1921
16. Schwarz, A.,  
Privatmitt. Februar 1971, RCL, Farbwerke Hoechst,  
D-6230 Frankfurt
17. Stangl, H. und Smidt, J.,  
D.A.S. 1 175 218 (v. 6.8.64)

Michael Stiasni und Walter Ost.

Wissenschaftliche Abteilung,  
C.H. Boehringer Sohn,  
D-6507 Ingelheim/Rhein.