

MARKIERUNG VON N-(2-DIÄTHYLAMINOÄTHYL)-S,S-DIPHENYLSULFOXIMIN MIT KOHLENSTOFF-14 IN DER SEITENKETTE UND DEN PHENYLRINGEN

B. Liedtke und K.-O. Vollmer
Abteilung Biochemie des Forschungsinstitutes der
Gödecke AG, D 78 Freiburg, Mooswaldallee
Received July 25, 1977

SUMMARY

Starting from barium carbonate- ^{14}C N-(2-diethylaminoethyl)-S,S-diphenyl-sulfoximine was labelled in position 1 of the side chain via 8 stages (IA). The overall radiochemical yield based on BaCO_3 was 44.6%.

For the labelling in the phenyl groups (IB) benzene-(U- ^{14}C) was used. Via diphenylsulfoxide and the corresponding sulfoximine IB was obtained with an overall yield of 30.4%.

ZUSAMMENFASSUNG

Ausgehend von Bariumcarbonat- ^{14}C wurde N-(2-Diäthylamino-äthyl)-S,S-diphenyl-sulfoximin in 8 Stufen in Position 1 der Seitenkette radioaktiv markiert (IA). Bezogen auf die Ausgangssubstanz betrug die radiochemische Ausbeute 44,6%.

Zur Markierung in den Phenylgruppen (IB) wurde Benzol-(U- ^{14}C) verwendet. Über Diphenylsulfoxid und das entsprechende Sulfoximin wurde IB mit einer Ausbeute von 30,4% erhalten.

EINLEITUNG

N-(2-Diäthylaminoäthyl)-S,S-diphenylsulfoximin (Gö 1733, Suloxifen) wurde von Satzinger und Stoss erstmals beschrieben und gehört zu einer neuen Verbindungsklasse mit spasmolytischen Eigenschaften (1).

Zur Untersuchung des Metabolismus wurden 2 Markierungen der Substanz mit Kohlenstoff-14 benötigt: A Seitenkettenmarkierung und B Markierung in den Phenylgruppen.

ERGEBNISSE UND DISKUSSION

Die Syntheseschemata sind in der folgenden Abbildung wiedergegeben:

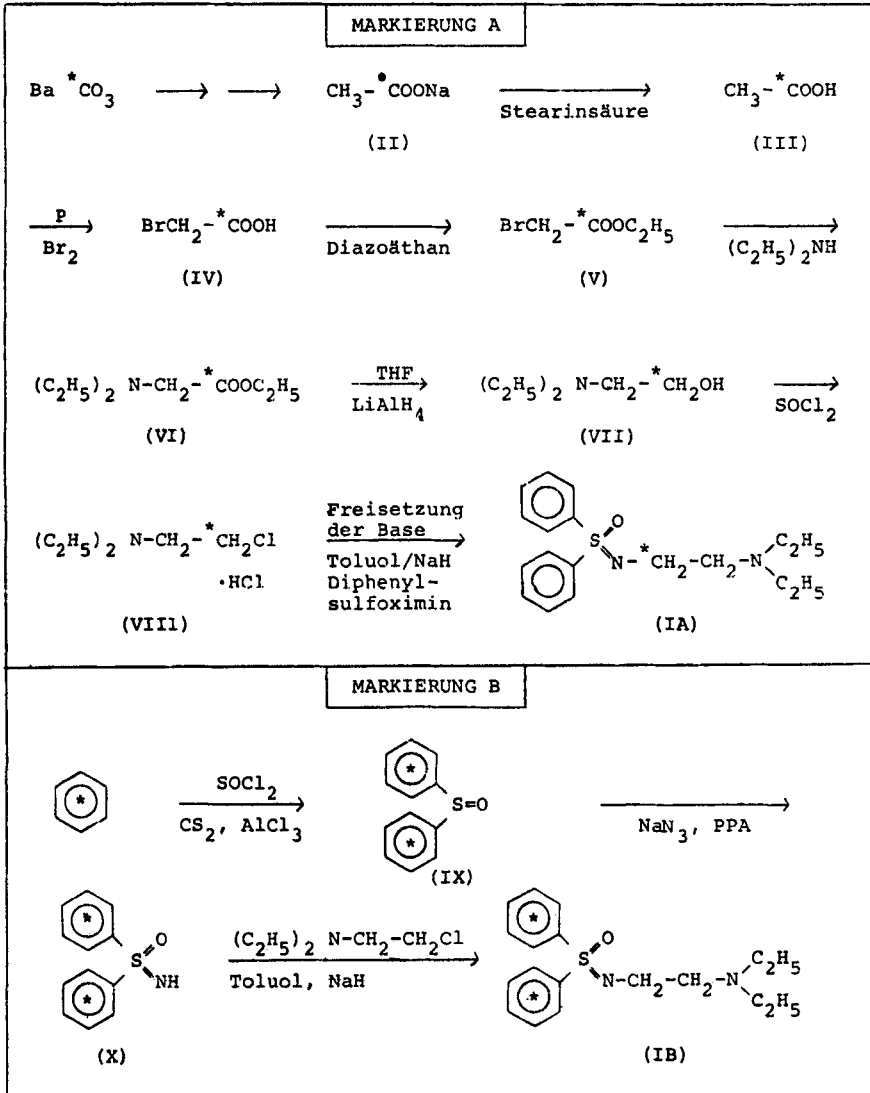


Abb. 1: Markierung von N-(2-Diäthylamino-äthyl)-S,S-diphenylsulfoximin in der Seitenkette (A) und in den Phenylringen (B).

A Markierung in der Seitenkette

Essigsäure-(1-¹⁴C) wurde aus Bariumcarbonat nach bekannter Vorschrift durch Grignard-Reaktion erhalten und als Natriumacetat isoliert (2,3). Zur Darstellung der wasserfreien Essigsäure wurden nicht die beschriebenen Verfahren verwendet, nämlich Freisetzung mit Chlorwasserstoff (4,5) bzw. Polyphosphorsäure (6,7) sondern Natriumacetat mit Stearinsäure im Vakuum erhitzt. Diese Methode ist sehr einfach und es wird reine Essigsäure mit sehr guter Ausbeute erhalten (97,4% bezogen auf Bariumcarbonat).

Bromessigsäure-(1-¹⁴C) (IV) wurde in bekannter Weise synthetisiert (6) und mit Diazoäthan in den Äthylester (V) umgewandelt. In Abänderung eines beschriebenen Verfahrens zur Darstellung von Dimethylglycinäthylester-(1-¹⁴C) und Dimethylaminoäthanol-(1-¹⁴C) (8) wurde Bromessigsäureäthylester in ätherischer Lösung mit Diäthylamin umgesetzt, das Reaktionsprodukt nach Reduktion durch Wasserdampfdestillation isoliert und in das Hydrochlorid übergeführt. Durch Umsetzung des Hydrochlorids mit Thionylchlorid wurde nach Umkristallisation Diäthylaminoäthylchlorid-(1-¹⁴C)-hydrochlorid (VIII) mit einer Ausbeute von 71,9% bezogen auf Essigsäure-(1-¹⁴C) erhalten.

Die weitere Umsetzung zu N-(2-Diäthylaminoäthyl)-S,S-diphenylsulfoximin-(1-¹⁴C) (IA) erfolgte mit dem Natriumsalz des Diphenylsulfoximins in wasserfreiem Toluol nach dem Verfahren von Satzinger und Stoss (1). Die Ausbeute über alle Stufen betrug 44,6% d.Th.

B Markierung in den Phenylgruppen

Zur Darstellung des in den Phenylresten uniform mit ¹⁴C markiertem IB wurde käufliches Benzol-(U-¹⁴C) in Schwefelkohlenstoff mit Thionylchlorid und Aluminiumchlorid zu Diphenylsulfoxid (IX) umgesetzt (9). Die weitere Umsetzung zu Diphenylsulfoximin und IB erfolgte nach gegebener Vorschrift (1). Die Ausbeute über alle Stufen betrug 30,4% d.Th.

EXPERIMENTELLER TEIL

Die angegebenen Schmelzpunkte sind nicht korrigiert und wurden mit dem Apparat nach Dr. Tottoli (Fa. Büchi, Flawil/Schweiz) bestimmt.

Die Bestimmungen der spezifischen Radioaktivität wurden mit dem Liquid Scintillation Spektrometer Tri-Carb 3375 der Fa. Packard Instruments GmbH Frankfurt durchgeführt. Scintillatorsystem: 20 g P-Terphenyl, 250 mg Dimethyl-POPOP, 5 Liter Toluol.

Die radiochemische Reinheit wurde durch Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel F₂₅₄-Platten (Merck), Schichtdicke 0,25 mm, bestimmt. Die quantitative Auswertung der Chromatogramme erfolgt mit dem Dünnschichtscanner II der Fa. Berthold, D-7547 Wildbad.

Fließmittelgemisch	Rf-Werte		
	Subst. I	Subst. IX	Subst. X
a. Benzol-Methanol (6:4)	0,2		0,6
b. Chloroform-Methanol-NH ₄ OH (25) (95:4,5:0,5)	0,30	0,62	0,54
c. Chloroform-Methanol (98:2)		0,5	0,4

Tab. 1: Verwendete Fließmittel

Bariumcarbonat-¹⁴C und Benzol-(U-¹⁴C) wurden von den Farbwerken Hoechst bezogen.

Natriumacetat-(1-¹⁴C) (II)

II wurde in bekannter Weise (2,3) aus 394 mg (2 mM; 20,4 mCi) Ba ¹⁴CO₃ hergestellt.

Ausbeute (bei 100°C und 10⁻³ Torr getrocknet): 160 mg (1,95 mM,) 97,5% d.Th.

Essigsäure-(1-¹⁴C) (III)

160 mg (1,95 mM) II wurden in einem mit Magnetrührstäbchen versehenem Rundkolben mit 10 g Stearinsäure versetzt. Nach Evakuieren (ca. 10⁻³ Torr) wurde der Kolbeninhalt unter Rühren auf 100-110°C erwärmt und die freigesetzte Essigsäure in einen mit flüssigem Stickstoff gekühlten 20 ml-Spitzkolben einkondensiert. Nach 30 min. war die Essigsäure vollständig übergegangen, erkennbar daran, daß in der geschmolzenen Stearinsäure keine Bläschen mehr aufstiegen. Ausbeute: 117 mg (1,948 mM, 97,3% bezogen auf Bariumcarbonat, d.h. 99,9% bezogen auf II).

Bromessigsäure-(1-¹⁴C) (IV) und Bromessigsäureäthylester-(1-¹⁴C) (V)

117 mg (1,95 mM) III wurden mit 1,5 mM inaktiver Essigsäure und 0,25 mM Essigsäureanhydrid auf eine spezifische Aktivität von ca. 5 mCi/mM verdünnt und nach der Vorschrift von Ropp (6) bromiert. Das erhaltene Rohprodukt IV (640 mg) wurde in 15 ml Äther gelöst und mit ätherischer Diazoäthanlösung zu V umgesetzt. Die Ausbeute wurde nicht bestimmt. Das Volumen der Lösung wurde durch Abdestillieren von Äther auf 15 ml reduziert.

N,N-Diäthylglycinäthylester-(1-¹⁴C) (VI)

Die ätherische Lösung von V (ca. 3,9 mM) wurde unter Rühren bei 0°C zu einer Lösung von Diäthylamin (1,28 g; 17,5 mM) in 20 ml Äther getropft. Das Reaktionsgemisch wurde auf Zimmertemperatur erwärmen gelassen und 1 Stunde bei dieser Temperatur gerührt. Ausgefallenes Diäthylamin-hydrobromid wurde abfiltriert, das Filtrat mit einigen Spatelspitzen wasserfreiem Natriumsulfat versetzt und über Nacht stehen gelassen. Nach Filtration wurde das Lösungsmittel bei Atmosphärendruck abdestilliert. Gegen Ende der Destillation wurde für kurze Zeit schwaches Vakuum angelegt.

Ausbeute: 0,671 g (theoretische Ausbeute: 0,63 g)

N,N-Diäthylaminoäthanol-(1-¹⁴C) (VII)

Die Lösung von 3,95 mM VI in 15 ml trockenem Tetrahydrofuran (THF) wurde ohne Kühlung zu der gerührten Suspension von 380 mg (10 mMol) Lithiumaluminiumhydrid in 20 ml trockenem THF getropft und das Reaktionsgemisch 1 Stunde lang zum Sieden unter Rückfluß erhitzt. Anschließend wurde der Ansatz unter Kühlung durch vorsichtige Zugabe von 10 ml Wasser zerlegt. Ausgefallenes Hydroxid wurde mit 25 ml 2n Schwefelsäure gelöst, THF wurde am Rotationsverdampfer abdestilliert und die zurückbleibende wässrige Lösung von VII mit 20 ml 40%iger KOH versetzt. VII wurde mit Wasserdampf abdestilliert (ca. 600 ml Kondensat) und durch Titration mit 1n Salzsäure in das Hydrochlorid übergeführt (Verbrauch: 3,3 ml $\hat{=}$ 3,3 mM VII, Ausbeute: 83,5% d.Th.). Die wässrige Lösung wurde am Rotationsverdampfer zur Trockne eingengt, der Rückstand mit Äthanol in einen 25 ml-Rundkolben übergeführt. Nach Abdestillieren des Lösungsmittels wurde der Rückstand bei 80°C/10⁻³Torr getrocknet.

Ausbeute: 504 mg (3,28 mM, 83% d.Th. bezogen auf eingesetzte Essigsäure). Die spezifische Aktivität wurde nicht bestimmt.

N,N-Diäthylaminoäthylchlorid-(1-¹⁴C)-hydrochlorid (VIII)

504 mg (3,28 mM) VII wurden mit 1,21 g (16,2 mM) gereinigtem Thionylchlorid (Destillation über Chinolin und Bienenwachs) versetzt und 30 min. zum Sieden unter Rückfluß erhitzt. Das überschüssige Thionylchlorid wurde im Vakuum abgezogen, der kristalline Rückstand mit 10 ml Äthanol versetzt und kurze Zeit zum Sieden erhitzt. Nach Abdestillieren des Alkohols wurde der Rückstand (573 mg) aus Äthanol/Äther umkristallisiert. Nach Einengen der Mutterlauge wurde durch Umkristallisation des Rückstandes aus Isopropanol/Äther eine zweite Fraktion erhalten. Die Mutterlauge wurde verworfen.

Ausbeute: 1. Fraktion 474 mg, Fp 209-210°C;

2. Fraktion 14 mg, Fp 201-203°C;

authentische Substanz Fp 210-211°C

Gesamtausbeute: 488 mg (2,84 mM = 86,6% d.Th. bezogen auf VII bzw. 71,9% bezogen auf eingesetzte Essigsäure.)

N-(2-Diäthylamino-äthyl)-S,S-diphenylsulfoximin-(1-¹⁴C)·H₃PO₄
(IA·H₃PO₄)

Die Darstellung von I erfolgte nach Vorschrift von Satzinger und Stoss (1).

Die Lösung von 617 mg (2,84 mM) Diphenylsulfoximin (X) in 30 ml trockenem Toluol wurde mit 137 mg (2,84 mM) einer 50%igen Suspension von Natriumhydrid in Paraffinöl versetzt und zum Sieden erhitzt. Dabei fiel das Natriumsalz des Diphenylsulfoximin als farbloser Niederschlag aus. In die siedende Suspension wurde die zuvor bereitete Lösung des Diäthylaminoäthylchlorids eingetropft. 488 mg (2,84 mM) VIII waren zuvor mit 5 ml 2n Natronlauge in die Base übergeführt und 5 mal mit je 3 ml Toluol extrahiert worden. Die Lösung wurde über 2 KOH-Plätzchen getrocknet. Das Reaktionsgemisch wurde 5 Stunden zum Sieden unter Rückfluß erhitzt, danach erkalten gelassen, mit Benzol in einen Scheidetrichter übergeführt und zwei mal mit Wasser (20 und 10 ml) ausgeschüttelt. Die wässrige Phase wurde verworfen, die organische Phase viermal mit je 5 ml 2n Salzsäure ausgeschüttelt. Der vereinigte salzsaure Auszug wurde mit 5 ml 10n Natronlauge versetzt und die ausgefallene Base IA 5 mal

mit je 20 ml Chloroform extrahiert. Der Extrakt wurde über Natriumsulfat getrocknet, abfiltriert und zur Trockne eingeeengt.

Ausbeute an Rohprodukt (IA): 624 mg. Die Reinheitskontrolle durch DC (Fließmittelgemische a und b) zeigte, daß die Substanz 5,5% radioaktive Nebenprodukte enthielt. Eine Reinigung des Produkts gelang durch Säulenchromatographie und nachfolgende Umkristallisation des Phosphatsalzes.

Säulenchromatographie:

Säule: Innendurchmesser 20 mm, Länge 330 mm. Beschickung mit 50 g Kieselgel (Korngröße 0,05-0,2 mm) suspendiert in Chloroform.

Elution mit 350 ml Chloroform, dann mit 1 Liter Benzol-Methanol (1:1).

Es wurden 5 Fraktionen aufgefangen (1 x 350 ml, 4 x 250 ml). Die Fraktion(1) enthielt 20 mg Diphenyl-sulfoximin, die Fraktionen(2-4) 566 mg nahezu reines IA und die Fraktion(5) 6 mg IA und polare Nebenprodukte. Die Hauptmenge der polaren Nebenprodukte war auf der Säule verblieben.

Ausbeute an IA: 566 mg (1,79 mM; 62,9% d.Th.)

Zur Überführung in das Phosphat wurde IA in wenig Äthanol gelöst und mit einer alkoholischen Lösung von 206 mg (1,79 mM) 85%iger Phosphorsäure versetzt. Der Alkohol wurde abdestilliert, der Rückstand aus 5 ml absolutem Äthanol umkristallisiert.

Ausbeute an $IA \cdot H_3PO_4$ (nach Aufarbeiten der Mutterlauge): 751 mg (1,81 mM = 63,7% bezogen auf VIII bzw. 44,6% über alle Stufen). Die radiochemische Reinheit war > 99,5%. Sie wurde durch Dünnschichtchromatographie mit den Fließmittelgemischen a und b bestimmt. Fp: 152-153°C (authentische Substanz 152-153°C).

Spezifische Aktivität: 10,85 μ Ci/mg = 4,5 mCi/mM.

Diphenyl-sulfoxid-(Phenyl-(U-¹⁴C)) (IX)

156,2 mg (2 mM) Benzol-(U-¹⁴C) der spezifischen Aktivität 3,7 μ Ci/mM, eingeschlossen in einem breakseal-tube, wurde unter Vakuum in einen mit 5 ml Schwefelkohlenstoff beschickten kleinen Rundkolben, der mit flüssigem Stickstoff gekühlt war, einkondensiert. Das Reaktionsgefäß wurde auf Zimmertemperatur erwärmt, vom Reaktionsrechen abgenommen und mit einem Magnetührstäbchen sowie einem Rückflußkühler versehen. Daraufhin wurden nacheinander 267 mg (2 mM) Aluminiumchlorid und 131 mg (1,1 mM) Thionylchlorid zugefügt, das Reaktionsgemisch 12 Stunden bei Zimmertemperatur gerührt

und dann noch 1 Stunde zum Sieden unter Rückfluß erhitzt. Schwefelkohlenstoff wurde abdestilliert, der zurückbleibende Aluminiumchloridkomplex durch Zugabe einiger Eisstückchen und etwas Wasser zerlegt. Das ausgefallene Reaktionsprodukt wurde mit Chloroform extrahiert und die Lösung über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration und Abdestillieren des Lösungsmittels wurde ein schwach gelbliches Öl erhalten, das beim Reiben mit einem Glasstab sofort kristallisierte.

Ausbeute: 187,3 mg (0,93 mM; 92,8% d.Th.). Fp: 67-69°C (authentische Substanz Fp: 70-71°C). Die radiochemische Reinheit betrug 98,2% (Fließmittelgemisch c). Die spezifische Aktivität wurde nicht bestimmt.

Diphenyl-sulfoximin- γ -Phenyl-(U-¹⁴C) γ (X)

Die Darstellung von X erfolgte nach Vorschrift von Satzinger und Stoss (1).

In die auf 80°C erwärmte Lösung von 186 mg (0,92 mM) IX in 1,5 g Polyphosphorsäure (bereitet durch Eintragen von Diphosphorpentoxid (5 Gew.-Tl.) in 85%ige Phosphorsäure (10 Gew.-Tl.) bei einer Temperatur unter 100°C) wurde unter kräftigem Rühren im Verlauf von 3,5 Stunden 130 mg (2 mM) Natriumazid eingetragen. Nach beendeter Zugabe wurde weitere 1,5 Stunden auf 80°C erwärmt. Nach Stehen über Nacht bei Zimmertemperatur wurde das Reaktionsgemisch mit einigen ml Wasser versetzt und in einen Scheidtrichter übergeführt. Die Phosphorsäure wurde mit Kaliumkarbonat neutralisiert und ausgefallenes Reaktionsprodukt mit Chloroform extrahiert, die Lösung über Natriumsulfat getrocknet. Nach Filtration und Abdestillieren des Lösungsmittels wurde die Substanz durch Umkristallisation aus Cyclohexan gereinigt.

Ausbeute: 104 mg (0,479 mM; 52% d.Th.).

Radiochemische Reinheit: ca. 93% (Fließmittelgemisch c). Die Substanz enthielt nach der Umkristallisation noch 2 unpolare Nebenprodukte, wurde jedoch ohne weitere Reinigung weiterverarbeitet.

N-(2-Diäthylamino-äthyl)-S,S-diphenyl-sulfoximin- γ -Phenyl-(U-¹⁴C) γ (IB)

Die Darstellung von IB erfolgte wie für IA beschrieben.

Aus 104 mg (0,479 mM) X wurden 187 mg rohes IB erhalten. Die Reinigung erfolgte durch Säulenchromatographie (s. IA) und präpa-

rative Schichtchromatographie (Fließmittel a, Kieselgelplatten PF₂₅₄, Merck). Das so gereinigte IB wurde mit der berechneten Menge Phosphorsäure in das Phosphat übergeführt und durch Umkristallisation aus wenig Äthanol gereinigt.

Ausbeute: 126 mg (0,3 mM; 63,5% d.Th. bezogen auf X bzw. 30,4% d.Th. berechnet auf eingesetztes Benzol).

Fp: 151-152°C (authentische Substanz Fp: 152-153°C).

Spezifische Aktivität: 17,8 µCi/mg = 7,38 mCi/mM.

Radiochemische Reinheit: 98% (Fließmittelgemische a und b)

Vor der Durchführung von Versuchen wurde die Substanz nach Überführen in die Base mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie (Fließmittel a) gereinigt, in das Phosphat übergeführt, mit inaktivem I·H₃PO₄ zur gewünschten spezifischen Aktivität verdünnt und aus wenig Äthanol umkristallisiert. Die radiochemische Reinheit betrug nach diesem Reinigungsschritt >99,9%.

Danksagung:

Herrn Dr. Gomahr, Direktor des Forschungsinstitutes der Gödecke AG, Freiburg, danken wir für die Förderung der Arbeit.

LITERATUR

1. Satzinger, G. und Stoss, P. - *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* 20: 1214 (1970)
2. Calvin, M., Heidelberger, C., Reid, J.C., Tolbert, B.M. und Jankowich, P.E. - *Isotopic Carbon*, John Wiley & Sons Inc., S. 178, New York 1949
3. Rieker, A., Scheffler, K. und Müller, E. - *Liebig's Ann. Chem.* 670: 23 (1963)
4. Ostwald, R., Adams, P.T. und Tolbert, B.M. - *J. Amer. Chem. Soc.* 74: 2425 (1952)
5. Schütte, H.-R. - *Radioaktive Isotope in der organischen Chemie und Biochemie*, Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstrasse, 1966
6. Ropp, G.A. - *J. Amer. Chem. Soc.* 72: 4459 (1950)
7. Fitzell, D.L., Hsieh, D.P.H., Reece, C.A. und Seiber, J.N. - *J. labelled Compounds* XI: 135 (1975)
8. Smith, M.A. und Lemmon, R.M. - *University of California, Radiat. Laboratory Report UCRL-9208* (1960)
9. Shriner, R.L., Struck, H.C. und Jorison, W.J. - *J. Amer. Chem. Soc.* 52: 2066 (1930)