

Arch. Pharm. (Weinheim) 313, 481–487 (1980)

Synthese und teratogene Aktivität von thalidomid-analogen 1,3-Indandionen

Kurt Fickentscher*, Ulrike Halfmann** und Ferdinand Köhler

Pharmazeutisches Institut und Institut für Humangenetik der Universität Bonn, An der Immenburg 4, 5300 Bonn 1

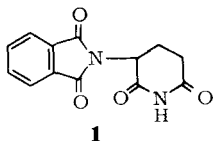
Eingegangen am 23. August 1979

Einige thalidomid-analoge 1,3-Indandione wurden synthetisiert und teratologisch an Mäusen untersucht. Dabei wurde eine stärkere teratogene Aktivität als bei Thalidomid (**1**) gefunden. Damit wird eine Umacylierung als mögliche Ursache der Thalidomid-Teratogenität ausgeschlossen.

Synthesis and Teratogenic Activity of some Thalidomide Analogous Indane-1,3-diones

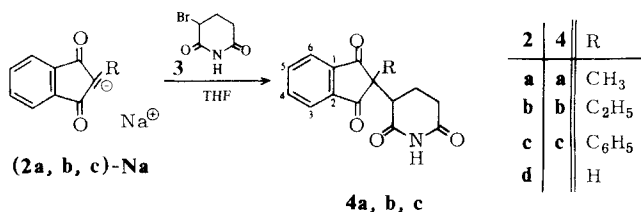
Some thalidomide analogous indane-1,3-diones have been synthesized and tested on mice. They showed greater teratogenic activities than thalidomide (**1**) itself. Therefore, a transacylation as the possible cause of the teratogenicity of thalidomide is refuted.

Trotz vielfältiger Untersuchungen ist der teratogene Wirkungsmechanismus von Thalidomid (**1**) bisher ungeklärt. Während die schlafmachende Wirkung an den Glutarimid-Molekülteil gebunden ist, muß für die teratogene Aktivität der intakte Phthalimidrest verantwortlich gemacht werden. Dessen reaktive Säureamidgruppen gaben immer wieder Anlaß zu Spekulationen, daß beim Zustandekommen der bekannten Thalidomid-Embryopathien eine Umacylierungsreaktion eine ursächliche Rolle spielen könnte¹⁻⁵).

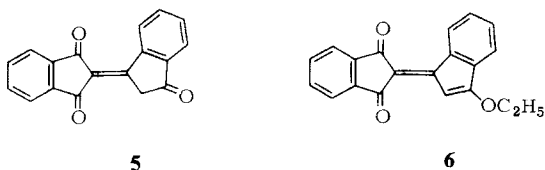


**) Auszug aus der Dissertation *U. Halfmann*, Bonn 1977.

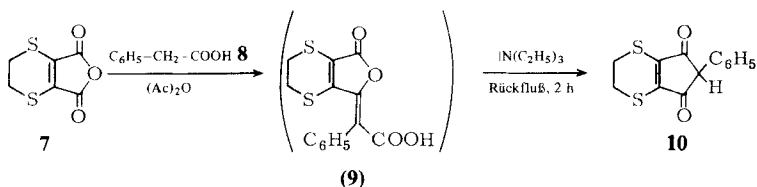
In diesem Zusammenhang interessierten nun Verbindungen, in denen der Phthalimid- durch einen 1,3-Indandionrest ersetzt ist.



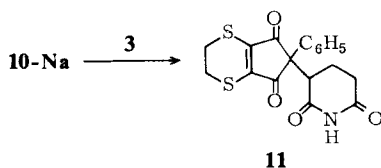
Die Verbindungen **4a–c** sind durch C-C-Verknüpfung der Natriumsalze der 2-substituierten 1,3-Indandione **2a–c**⁶⁾ mit 3-Bromglutarimid (**3**) leicht zugänglich. Dagegen lassen sich die Alkalisalze von 1,3-Indandion **2d** mit **3** nicht zur Reaktion bringen. Man erhält nur die Aldolkondensationsprodukte aus 2 bzw. 3 Molekülen **2d**; hauptsächlich entsteht Bindon **5**⁷⁾. Dieses läßt sich mit Orthoameisensäuretriethylester leicht in den Enolether **6** überführen.



Da die 3,6-Dithia-3,4,5,6-tetrahydrophthalsäurederivate in ihrem Reaktionsverhalten den entsprechenden Phthalsäureverbindungen sehr stark ähneln^{8–10)}, wurde versucht, die zu **4a–c** analogen Dithia-Verbindungen herzustellen. Das gelang aber nur mit dem Natriumsalz des Phenylderivats **10**. **10** wurde in Analogie zu *Nathanson*⁶⁾ aus dem Anhydrid **7** und Phenylelessigsäure (**8**) in Acetanhydrid und Umlagerung des Benzylidenphthalids (**9**) in Gegenwart von Triethylamin erhalten.

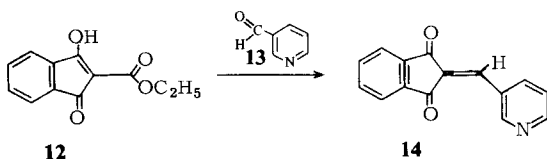


Aus **10-Na** und **3** entsteht **11** in glatter Reaktion.



222

Schließlich wurde aus dem Enol-carbonsäureester **12** und Pyridin-3-aldehyd (**13**) das – wie **5** und **6** – planar gebaute **14** hergestellt, das *Kaneti* und *Yuhknovski*¹¹⁾ auf anderem Wege erhielten.



Die Verbindungen **4a**, **4c**, **11** und **14** wurden an der SWS-Maus teratologisch untersucht. Dabei zeigte sich in allen Fällen eine stärkere toxische, embryotoxische und teratogene Aktivität als bei Thalidomid (**1**). Damit kann eine Umacylierungsreaktion als Ursache der teratogenen Wirkung von **1** ausgeschlossen werden; die Ergebnisse früherer Untersuchungen werden bestätigt¹²⁾. Außerdem wird erneut gezeigt, daß kein absoluter Zusammenhang zwischen planarem Molekülbau und der Induktion von Teratogenität besteht. Indessen scheint eine erhöhte maternale Toxizität einen Anstieg sowohl der embryonalen Letalität als auch der teratogenen Aktivität zu bewirken.

Dem Fonds der Chemischen Industrie sowie der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für Sachbeihilfen. Herrn Doz. Dr. H. Koch, Wien, danken wir bestens für wertvolle Anregungen und Diskussionsbeiträge.

Experimenteller Teil

1. Teratologische Untersuchungen

1.1. Allgemeine Angaben

Die Untersuchungen erfolgten an Mäusen des Inzuchtstammes ICR-SWS 56/65 (Boehringer, Ingelheim). Einzelheiten über Tierhaltung, Schnittentbindung und Aufbereitung der Feten sind in früheren Arbeiten beschrieben, z. B.¹³⁾

Die Applikation erfolgte i. p. am Tage 9 p. c. in einer 1 : 3-Mischung (V/V) aus Tween 20 und physiol. Kochsalzlösung, die Schnittentbindung erfolgte am Tag 19 p. c.. Das Applikationsgemisch wurde vorher auf seine Verträglichkeit gegenüber den Muttertieren getestet. Kontrollserie I erhielt das reine Applikationsgemisch (40 mg/kg), Kontrollserie II blieb unbehandelt.

1.2. Ergebnisse

Tab. 1: Toxizität, Embryotoxizität und Teratogenität von **4a**, **4c**, **11** und **14**

Verbindung (Serie)	Dosis (mg/kg)	Gv	Lt	Maternale Daten			Embryonale Daten				R/I (%)	M/F (%)
				Ab	Gewichts- zunahme		I	R	F	M		
					$\bar{x}$ g	$\pm$ lim						
Kontroll- serie I	40 ml/kg	10	0	0	178	41	135	8	127	0	5.9	0
Kontroll- serie II	—	10	0	0	197	31	127	9	118	0	7.1	0
4a	1.2	5	0	0	158	27	58	4	54	0	6.9	0
	2.5	5	0	0	187	39	61	6	55	0	9.8	0
	5	5	0	0	153	62	66	8	58	2	12.1	3.5
	10	5	0	1	149	86	48	12	36	15	25	41.7
	20	5	1	2	109	71	23	14	9	9	60.9	100
	40	5	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4c	0.6	5	0	0	193	27	67	3	64	0	4.5	0
	1.2	5	0	0	198	39	63	8	55	0	12.7	0
	2.5	5	0	1	157	50	49	9	40	5	18.4	12.5
	5	5	0	0	126	62	61	13	48	11	21.3	22.9
	10	5	1	1	115	34	34	18	16	10	52.9	65.5
	20	5	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
11	0.15	5	0	0	193	24	68	5	63	0	7.4	0
	0.3	5	0	0	180	45	61	7	54	0	11.5	0
	0.6	5	0	0	168	72	62	9	53	0	14.5	0
	1.2	5	0	0	133	63	60	14	46	0	23.3	0
	2.5	5	0	2	112	43	35	20	15	2	57.1	13.3
	5	5	1	1	107	47	31	18	13	13	58.1	100
	10	5	5	—	—	—	—	—	—	—	—	—
14	5.6	5	0	0	187	25	67	3	64	0	4.5	0
	10	5	0	0	180	29	61	4	57	0	6.5	0
	20	5	0	0	174	35	65	4	61	2	6.2	3.2
	40	5	0	1	169	32	53	6	47	11	11.3	23.4
	80	5	0	1	171	7	55	13	42	23	23.6	54.8
	160	5	2	1	143	5	23	11	12	10	47.8	83.3

Gv: Eingesetzte gravide ♀♀; Lt: Letale innerhalb 0–5 d nach Applikation; Ab: Abortierte innerhalb 0–5 d nach Applikation; $\bar{x}$ g: Mittelwert $\bar{x}$ der Summen der Gewichtszunahme (in g) der eingesetzten graviden ♀♀ von d 0 bis d 18 p.c., $\pm$ lim: deren Streuung; I: Implantationen; R: Resorptionen; F: Feten (gesamt); M: Mißgebildete Feten; R/I (%): Resorptionsrate; M/F (%): Mißbildungsrate

Tab. 2: LD₅₀-, ELD₅₀- und TD₅₀-Werte von **1**, **4a**, **4c** und **14**

Verbindung	LD ₅₀ (mg/kg)	ELD ₅₀ (mg/kg)	TD ₅₀ (mg/kg)
1 ¹³⁾	nicht bestimmbar	306	215
4a	28	17	12
4c	14	10	8
11	7	2	3
14	200	168	73

Die embryonale Letaldosis 50 (ELD₅₀) = Dosis (mg/kg) von 50 % R/I; die teratogene Dosis 50 (TD₅₀) = Dosis (mg/kg) von 50 % M/F

1.3. Diskussion

Tab. 2 zeigt, daß alle 1,3-Indandione eine deutlich stärkere maternale und embryonale Toxizität sowie eine deutlich stärkere Teratogenität besitzen als Thalidomid selbst. Als besonders toxisch und teratogen erweist sich die Dithiaverbindung **11**. Dagegen ist das planare Indanylidin **14** relativ schwach wirksam, aber immerhin noch etwa doppelt so embryotoxisch und dreimal so teratogen wie Thalidomid. In allen Fällen besteht eine gute Korrelation zwischen maternaler Toxizität, Embryoletalität und Teratogenität.

2. Darstellung der Substanzen

Schmp.: Kofler-Schmp.-Mikroskop (unkorr.). – ¹H-NMR-Spektren: Varian T-60 (TMS inn. Stand. mit δ = 0 ppm). – MS (Niederauflösung): AEI MS-9. – Elementaranalysen: Mikroanalytisches Laboratorium Dr. E. und G. Pascher, Bonn.

2-Methyl-1,3-indandion (**2a**), 2-Ethyl-1,3-indandion (**2b**) und 2-Phenyl-1,3-indandion (**2c**) wurden nach Lit.⁶⁾ erhalten. 3-Bromglutarimid (**3**) wurde nach Lit.¹⁴⁾ erhalten.

3-[2-(1,3-Dioxo-2-methylindanyl)]glutarimid (**4a**)

1.6 g (0.01 mol) **2a** werden in einer Lösung von 0.23 g (0.01 mol) Natrium in 30 ml absol. Ethanol gelöst. Nach dem Abziehen des Lösungsmittels i. Vak. wird der ziegelrote Rückstand in 40 ml trockenem THF suspendiert und die Suspension zum Sieden erhitzt. Nach langsamem Zutropfen von 1.92 g (0.01 mol) **3** in 10 ml trockenem THF wird die Mischung 3.5 h am Rückfluß erhitzt. Danach läßt man 12 h stehen, filtriert vom NaBr ab und entfernt das THF i. Vak.. Das zurückbleibende Öl kristallisiert nach Zugabe von wenigen ml Ethanol. Ausb.: 0.9 g (33 %) farblose, rhombische Kristalle, Schmp: 222–224° (Ethanol). C₁₅H₁₃NO₄ Ber.: Mol.-Masse 271 Gef.: 271 (ms).

¹H-NMR (CDCl₃): δ (ppm) = 7.8 (m; 4 arom. H); 3.3 (m; Glutarimid-CH); 2.0–3.0 (2 m; Glutarimid-CH₂-CH₂); 1.35 (s; CH₃); das Glutarimid-NH tauscht mit CDCl₃ aus, in [D₆]DMSO erscheint es bei 10.7.

3-[2-(1,3-Dioxo-2-ethylindanyl)]glutarimid (4b)

wird analog **4a** hergestellt aus 0.75 g (4,3 mmol) **2b**, 0.1 g (4.3 mmol) Natrium und 0.83 g (4.3 mmol) **3**. Reaktionsdauer 3 h; Aufarbeitung wie bei **4a**. Ausb.: 0.35 g (28 %) farblose, rechteckige Kristalle, Schmp.: 170–173° (Ethanol).

$C_{16}H_{15}NO_4$ (285.1) Ber.: C 67.4 H 5.26 N 4.9; Gef.: C 67.2 H 5.21 N 5.0. 1H -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 7.8 (m; 4 arom. H); 3.1–3.5 (m; Glutarimid-CH); 1.8 (m; Ethyl- CH_2); 0.8 (t; Ethyl- CH_3); das Glutarimid-NH tauscht mit $CDCl_3$ aus, in $[D_6]DMSO$ erscheint es bei 10.7.

3-[2-(1,3-Dioxo-2-phenylindanyl)]glutarimid (4c)

wird analog **4a** hergestellt aus 1.11 g (5 mmol) **3c**, 0.12 g (5 mmol) Natrium und 0.96 g (5 mmol) **3**. Reaktionsdauer 72 h; Aufarbeitung wie bei **4a**. Ausb.: 0.62 g (38 %) farblose, rhombische Kristalle, Schmp.: 260–264° (Ethanol). $C_{20}H_{15}NO_4$ (333.1) Ber.: C 72.0 H 4.5 N 4.2; Gef.: C 71.8 H 4.5 N 4.3. 1H -NMR ($CDCl_3$): δ = 7.8 (m; 4 arom. H); 7.4 (m; 5 arom. Phenyl-H); 3.5–3.8 (m; Glutarimid-CH); 1.0–2.8 (m; Glutarimid- CH_2 - CH_2); das Glutarimid-NH tauscht mit $CDCl_3$ aus, in $[D_6]DMSO$ erscheint es bei 10.8.

1,3-Dioxo-2-[1-(3-oxoindanylidene)]indan (= Bindon) (5) und **1,3-Dioxo-2-[1-(3-ethoxy-2-indenyliiden)]indan (= Bindonethylether) (6)** wurden nach Lit.^{7,12)} erhalten.

5,6-Dihydro-1,4-dithiin-2,3-dicarboximid (7) wurde nach Lit.⁹⁾ erhalten.

2-Phenyl-4,5,6,7-tetrahydro-4,7-dithia-1,3-indandion (10)

5.2 g (20 mmol) **7** und 2.8 g (20 mmol) **8** werden in 12 g (120 mmol) Acetanhydrid gelöst, die Lösung tropfenweise mit 6.1 g (60 mmol) Triethylamin versetzt und 2 h am Rückfluß erhitzt. Das erkaltete Reaktionsgemisch gießt man auf 30 ml konz. HCl in 100 g Eis. Es scheidet sich ein dunkelgelbes Öl ab, welches bei 6–8° schnell erstarrt. Ausb.: 4.3 g (97 %) gelbe, quadratische Kristalle, Schmp.: 166–168° (Ethanol). $C_{13}H_{10}O_2S_2$ (262.1) Ber.: Mol.-Masse 262 Gef.: 262 (ms).

1H -NMR ($CDCl_3$): δ (ppm) = 7.3 (m; 5 arom. H); 4.1 (s; =CH); 3.3 (s; 4 Dithiaring-H).

3-[2-(1,3-Dioxo-2-phenyl-4,5,6,7-tetrahydro-4,7-dithiaindanyl)]glutarimid (11)

wird analog **4a** hergestellt aus 1.31 g (5 mmol) **10**, 0.115 g (5 mmol) Natrium und 1.0 g (5.2 mmol) **3**. Reaktionsdauer 1 h; Aufarbeitung wie bei **4a**. Ausb.: 1.4 g (78 %) hellgelbe, feinkristalline Substanz, Schmp.: 297–301° (Ethanol). $C_{18}H_{15}NO_4S_2$ (373.2) Ber.: C 57.9 H 4.02 N 3.8; Gef.: C 57.8 H 4.06 N 3.6.

1H -NMR (CF_3COOD): δ (ppm) = 3.7–4.1 (m; Glutarimid-CH); 7.4 (als s erscheinendes m; 5 arom. H); 3.4 (s; 4 Dithiaring-H), 1.5–3.0 (2 m; Glutarimid- CH_2 - CH_2).

Ethyl-1-hydroxy-3-oxoinden-2-carboxylat (12) wurde nach Lit.¹⁵⁾ erhalten.

1,3-Dioxo-2-(3-pyridylmethylen)indan (14)

3.27 g (15 mmol) **12** in 50 ml Eisessig werden mit 1.7 g (16 mmol) Pyridin-3-aldehyd (**13**) und 5 Tropfen konz. H_2SO_4 versetzt und 1 h am Rückfluß erhitzt. Nach Abziehen des Lösungsmittels i. Vak. kristallisiert **14** aus. Ausb.: 2.9 g (97 %) beigefarbene Nadeln, Schmp.: 154–161° (Ethanol). $C_{15}H_9NO_2$ (235.1) Ber.: C 76.6 H 3.82; Gef.: C 76.7 H 3.87.

1H -NMR (CD_3OD): δ (ppm) = 7.7–10.8 (2 m; 4 arom. H, 4 arom. Pyridin-H, 1 =CH).

Literatur

- 1 S. Fabro, R. L. Smith und R. T. Williams, *Nature* (London) **208**, 1208 (1965).
- 2 E. Brode, *Arzneim. Forsch.* **18**, 1313 (1968).
- 3 W. Endres, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **305**, 671 (1972).
- 4 P. D. Hoagland und S. W. Fox, *Experientia* **29**, 962 (1972).
- 5 N. Å. Jönsson, *Acta Pharm. Suec.* **9**, 543 (1972).
- 6 E. Nathanson, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **26**, 2576 (1893).
- 7 W. M. Fischer und A. Cirulis, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **65**, 1852 (1932).
- 8 W. Wolf, E. Degener und S. Petersen, *Angew. Chem.* **72**, 963 (1960).
- 9 R. H. Schweizer, *Helv. Chim. Acta* **52**, 2221 (1969).
- 10 K. Fickentscher, *Arch. Pharm. (Weinheim)* **307**, 840 (1974).
- 11 T. Kaneti und I. N. Yuhknovski, *Izv. Otd. Khim. Nauki Bulg. Akad. Nauk.* **1970**, 83.
- 12 F. Köhler, K. Fickentscher, U. Halfmann und H. Koch, *Arch. Toxicol.* **33**, 191 (1975).
- 13 K. Fickentscher und F. Köhler, *Pharmacology* **11**, 193 (1974).
- 14 *Jap. Pat.* 5277 (17.5.1960); *C. A.* **55**, 572 (1961).
- 15 A. Hantzsch und F. E. Dollfus, *Ber. Dtsch. Chem. Ges.* **35**, 246 (1902).

[Ph 161]

Arch. Pharm. (Weinheim) **313**, 487–498 (1980)

Synthese und Reaktionsverhalten 4-phenylsubstituierter Isochinuclidine

Woldemar Schneider* und Gottfried Krombholz¹⁾

Pharmazeutisches Institut der Universität Freiburg, Hermann-Herder-Str. 9, 7800 Freiburg
Eingegangen am 23. August 1979

Verschiedene Synthesewege, die zu den 2-Alkyl-4-phenylisochinucliden **14** und **15**, zu den 3,4-Diphenylisochinucliden **22–24** sowie zum 6-Oxo-4-phenyl-3-isochinuclidon (**43**) führen, werden beschrieben. Die Struktur der bei der sauren Hydrolyse von 7-Phenyl-1,4-dioxaspiro-[4.5]decan-7-carbonsäureamid (**36**) entstehenden Produkte wird durch spektroskopische Methoden sowie durch Abbaureaktionen aufgeklärt.

Synthesis and Reactivity of 4-Phenylisoquinuclidines

Several approaches to the synthesis of the 2-alkyl-4-phenylisoquinuclidines **14** and **15**, the 3,4-diphenylisoquinuclidines **22–24** and of 6-oxo-4-phenyl-3-isoquinuclidone (**43**) are described. The structures of the products of hydrolysis of 7-phenyl-1,4-dioxaspiro[4.5]decanecarboxamide (**36**) were determined by spectroscopy and degradative reactions.
