

H. Auterhoff*) und W. Lang**)

Darstellung und Eigenschaften der optisch aktiven Bromisovale

Aus dem Pharmazeutisch-chemischen Institut der Universität Tübingen

(Eingegangen am 14. April 1969)

Es wurden aus racemischer α -Bromisovaleriansäure die D- und L-Isomere dargestellt und über die optisch aktiven Chloride mit Harnstoff D- und L-Bromisoval synthetisiert. Die krampfunterdrückende Wirkung an der Maus nach Gabe von Pentetrazol war beim L-Bromisoval etwa 3mal größer als beim D-Bromisoval.

Synthesis and Properties of the Optically Active Bromisovals

D- and L-Isomers from racemic α -bromoisovalerianic acid were prepared and changed into the chlorides, which with urea gave D- and L-bromisoval. The antispasmodic effect of L-bromisoval after application of pentetrazol to mice was approximately 3 times higher than that of D-bromisoval.

Es scheint häufig der Fall zu sein, daß bei Hypnotika mit asymmetrischen Strukturen die einzelnen Enantiomere verschieden wirksam sind. Beim Piperidindion(2,4) Methypylon (entspr. Noludar® ist die (+)-Form die wirksamere¹⁾, ebenso beim Piperidindion(2,6) Glutethimid (entspr. Doriden®)²⁾ und beim Barbiturat Hexobarbital (entspr. Evipan®)³⁾. Nichts bekannt war uns über die Wirkung der optisch aktiven Bromisovale, denn verwendet wird stets das racemische Produkt (entspr. Bromural®).

Da weder der saure noch der basische Charakter des α -Bromisovalerianylcarbamids genügend ausgeprägt ist, gelang trotz zahlreicher Versuche eine Trennung des Razemates in seine Antipoden über eine Salzbildung mit optisch aktiven Säuren bzw. Basen nicht. Es mußten daher die (+)- und (—)- α -Bromisovaleriansäure dargestellt und ohne Razemisierung mit Harnstoff umgesetzt werden.

Zur Darstellung der optisch aktiven α -Bromisovaleriansäuren sind mehrere Verfahren beschrieben worden. Wir verwendeten nach ⁴⁾ zur Gewinnung der (—)-Säure

*) Herrn Prof. Dr. Dr. h. c. Walter Hückel zum 75. Geburtstag gewidmet.

**) Aus der Dissertation von Walther Lang, Tübingen 1969.

¹⁾ K. Vogler und M. Kofler, *Helv. chim. Acta* 39, 1387 (1956).

²⁾ H. Keberle, W. Riess und K. Hoffmann, *Arch. int. Pharmacodynam. Thérap.* 163, 117 (1962).

³⁾ J. Knabe und R. Kräuter, *Arch. Pharmaz.* 298, 1 (1965); J. Knabe und D. Strauß, *Angew. Chem.* 86, 483 (1968).

⁴⁾ P. Leven, T. Mori und L. Mikeska, *J. biol. Chemistry* 75, 348 (1927).

das Cinchonidinsalz und kristallisierten dieses wiederholt aus Aceton um. Zur Gewinnung der (+)-Säure wurde die Mutterlauge der ersten Kristallisation des (—)-Säure-Cinchonidinsalzes verwendet, nur mußte die freie Säure dazu durch Vakuumdestillation gereinigt werden. Sie wurde dann entsprechend⁵⁾ in wäßriger Lösung mit Brucin umgesetzt, wobei das (+)-Säure-Brucinsalz als das schwerer lösliche gewonnen wurde. Nach siebenmaliger Umkristallisation änderte sich die Drehung der freien (+)-Säure nicht mehr und der Drehwert entsprach dem der (—)-Säure ($[\alpha]_D^{20} \pm 23^\circ$, Benzol). Der rechtsdrehenden Säure kommt die D-, der linksdrehenden die L-Konfiguration zu⁶⁾.

Die optisch aktiven Säurechloride wurden mit überschüssigem Harnstoff bei Raumtemperatur umgesetzt und die gewonnenen D- und L-Bromisovals mehrmals aus siedendem Wasser umkristallisiert. Die spezifische Drehung der reinen optisch aktiven Formen liegt bei + bzw. — $29,5^\circ$ (Methanol), der Schmelzpunkt bei 165° , wobei man unterm Mikroskop bei 120° eine Umlagerung der langen Nadeln in feinere und bei 160° die Bildung derber Nadelbüschel beobachtet. Das racemische Produkt schmilzt bei 160° .

Die 1951 von Senoh dargestellten (+)- und (—)-Formen des Bromisovals hatten eine Drehung von $[\alpha]_D^{20} \pm 26^\circ$ (Methanol)⁷⁾.

Pharmakologische Prüfung*)

Da bei den als Versuchstieren verwendeten Mäusen die Narkose erst bei der sehr hohen Dosierung von 200 mg/kg D,L-Bromisoval, i. p. in Cremophorsuspension verabreicht, eintrat, diese Dosis aber der langsamen Eliminierung der Substanz wegen bereits letal wirkte, kam als Testmethode die Messung der Hemmwirkung auf die Krampfhäufigkeit nach Gabe eines Analeptikums in Frage. Die Versuchstiere erhielten eine Pentetrazoldosis, die bei 100% der nicht mit Bromisoval behandelten Kontrollgruppe einen eindeutigen Krampfanfall erzeugte. Die Testsubstanzen wurden in steigender Dosierung mehreren Versuchsgruppen verabfolgt. Für jede Gruppe wurde die Anzahl Tiere registriert, die keinen Krampfanfall zeigten, und daraus die mittleren Hemmdosen (ED_{50}) berechnet. Die Größenordnung der erforderlichen Bromisoval dosis war in Vorversuchen bestimmt worden. Das Ergebnis der Hauptversuche ist in Tabelle 1 dargestellt.

*) Die pharmakologische Prüfung wurde am Pharmakologischen Institut der Universität Tübingen, Leiter Prof. Dr. F. Lembeck, durchgeführt. Wir danken den Herren Doz. Dr. D. Winne und Dr. H. Ochsenfahrt für die Beratung und Unterstützung.

⁵⁾ S. Berlingozzi und M. Furia, Gazz. chim. ital. 56, 85 (1926).

⁶⁾ P. Brewster, Nature (London) 166, 180 (1950).

⁷⁾ S. Senoh, J. pharmac. Soc. Japan 71, 798 (1951).

Tabelle 1. Prüfung der Wirkung von D- und L-Bromisoval

	Substanz mg/kg	Pentetrazol mg/kg	Anzahl Tiere	gekrampft	nicht gekrampft	Krampf- hemmung bei % Tieren	+
D-Form	120	104	17	12	5	29,4	1
	142	104	28	18	10	35,8	1
	200	104	17	6	11	64,7	0
L-Form	42	104	17	14	3	17,5	4
	46	104	10	7	3	30,0	1
	71	104	27	8	19	70,4	0
	142	104	10	0		100,0	0
Kontrolle	0	104	30	30	0	0	29

Die Ergebnisse der Versuche in Tabelle 1 wurden im Wahrscheinlichkeitsnetz mit logarithmischer Abszisse dargestellt und rechnerisch nach dem Probitverfahren ausgewertet*). Als ED_{50} ergab sich für D-Bromisoval 165,4 mg/kg (Vertrauensgrenzen 136,0—201,3 bei Irrtumswahrscheinlichkeit $\alpha = 0,05$), für L-Bromisoval 57,8 mg/kg (Vertrauensgrenzen 50,3—66,4).

L-Bromisoval war im angewandten Test 2,8mal wirksamer als D-Bromisoval.

Wir danken dem Fonds Chemie für die Unterstützung der Arbeit.

Beschreibung der Versuche

(—)- α -Bromisovaleriansäure

98,4 g Cinchonidin wurden in 500 ml warmem Aceton suspendiert und die Suspension unter kräftigem Rühren mit einer Lösung von 60,0 g rac. α -Bromisovaleriansäure in 900 ml Aceton vereinigt. Es wurde rasch zur Lösung erwärmt, filtriert und allmählich auf 5° abgekühlt. Die ausgefallenen Nadeln des (—)- α -Bromisovaleriansäure-Cinchonidin-Salzes wurden abgetrennt, mit kaltem Aceton gewaschen und getrocknet. — Einengung des Filtrats i. Vak. auf die Hälfte erbrachte eine zweite Kristallfraktion. Das Filtrat wurde zur Trockne gebracht; der Rückstand (84,0 g) wurde auf (+)- α -Bromisovaleriansäure weiterverarbeitet. Das (—)-Säure-Cinchonidinsalz wurde aus Aceton weiter umkristallisiert. Zur Messung der Drehung wurden jeweils 2 g des Kristallisates zerlegt und die Säure mit Äther extrahiert. Ausbeuten und Drehwerte:

Kristallisation	Eingesetzt g	Ausbeute g Salz	$[\alpha]_{546}^{20}$ der Säure
1.	60,0 Säure + 98,4 Base	62,0	— 6,9°
2.	60,0 Salz	47,0	— 11,7°
3.	45,0 „	34,0	— 15,3°
4.	32,0 „	25,0	— 19,8°
5.	23,5 „	18,5	— 23,2°
6.	17,0 „	13,0	— 26,4°
7.	11,0 „	7,0	— 27,6°
8.	5,5 „	3,8	— 27,6°

*) Vgl. L. Cavalli-Sforza, Grundbegriffe der Biometrie, G. Fischer Verlag, Stuttgart 1964. — Wir danken Herrn Dr. H. Ochsenfahrt für die Berechnung. Einzelheiten siehe Dissertation W. Lang.

(+)- α -Bromisovaleriansäure

Der Rückstand (84,0 g) der zweiten Kristallisation des (—)-Säure-Cinchonidin-Salzes wurde zerlegt und die Säurefraktion bei 85° und 1 Torr destilliert. Zwischen 85° und 90° gingen 27,3 g über. Sie wurden in 200 ml Äther gelöst und die Lösung zu einer Suspension von 58,9 g Brucin in 4300 ml Wasser von 30° gegeben. Unter Rühren entstand eine klare Lösung, die bei 30°/15 Torr auf die Hälfte eingengt wurde. Im Kühlschrank fielen 54,0 g eines feinkristallinen Niederschlages des (+)-Säure-Brucin-Salzes aus.

Dieses wurde aus Wasser wiederholt umkristallisiert. Zur Messung der Drehung wurden jeweils 2 g des Kristallisates zerlegt und die Säure mit Äther extrahiert. Ausbeuten und Drehwerte:

Kristallisation	Eingesetzt g	Ausbeute g Salz	$[\alpha]_{546}^{20}$ der Säure
1.	27,3 Säure + 58,9 Base	54,0	+ 8,6°
2.	52,0 Salz	39,0	+ 11,5°
3.	37,0 „	32,7	+ 17,4°
4.	30,7 „	27,7	+ 22,3°
5.	26,2 „	23,0	+ 24,8°
6.	21,5 „	19,7	+ 25,9°
7.	18,2 „	14,0	+ 26,6°
8.	12,5 „	10,0	+ 27,6°
9.	8,5 „	5,0	+ 27,6°

(—)- und (+)-Bromisoval

1,9 g (—)- α -Bromisovaleriansäure bzw. 2,5 g (+)-Säure wurden mit 2,0 g bzw. 2,6 g Thionylchlorid und je 2 Tropfen Dimethylformamid 30 Min. auf dem Wasserbad erhitzt, das überschüssige Thionylchlorid bei Raumtemperatur und dann die Säurechloride bei 48° und 12 Torr destilliert. Ausbeute 60 bzw. 54% d. Th.

1,45 g (—)- α -Bromisovaleriansäurechlorid bzw. 1,8 g (+)-Säurechlorid wurden mit 0,72 g bzw. 0,90 Harnstoff gemischt; der Ansatz wurde 24 Std. stehengelassen, dann mit 20 ml Wasser versetzt, mit gesättigter NaHCO_3 -Lösung neutralisiert, abgesaugt und aus siedendem Wasser umkristallisiert. Ausbeute nach der 1. Umkristallisation etwa 35%.