

Pharmazeutisches Institut der Universität Bern
und
Institut für organische Chemie der Universität Bern

Nitrierungsprodukte einiger phenylsubstituierter Anticonvulsiva

Von *W. Wiegrebe, Lore Wehrhahn* und *U. P. Schlunegger*

Herrn Professor Dr. Ing. habil. *Hans Kaiser*, Stuttgart, zum 85. Geburtstag gewidmet

Ziel unserer Arbeit war es, eine möglichst einfache Methode zur quantitativen Bestimmung gebräuchlicher Antiepileptika im Blutserum zu entwickeln. Da unsere Versuche, die betreffenden Substanzen ohne chemische Umwandlung zu bestimmen, unbefriedigende Ergebnisse lieferten, entschlossen wir uns zu einer quantitativen Auswertung ihrer Nitrierungsprodukte. Substanzen mit aromatischen Nitrogruppen können unter anderem kolorimetrisch [1, 2] und polarographisch [3, 4, 5] bestimmt werden.

Als Arbeitsgrundlage wählten wir die Vorschrift von *Huisman* [1] für die Bestimmung phenylsubstituierter Anticonvulsiva. *Huisman* [1] arbeitet sehr rationell, indem er alle Substanzen gemeinsam aus Serum extrahiert und sie gemeinsam nitriert, ohne die Serumbestandteile zu entfernen. Die dünnstschichtchromatographisch getrennten Nitrierungsprodukte werden dann kolorimetrisch bestimmt.

Wir versuchten, die Methode durch polarographische Auswertung der Dünnschichtchromatogramme nach *Oelschläger* [6] weitergehend zu vereinfachen. Voraus-

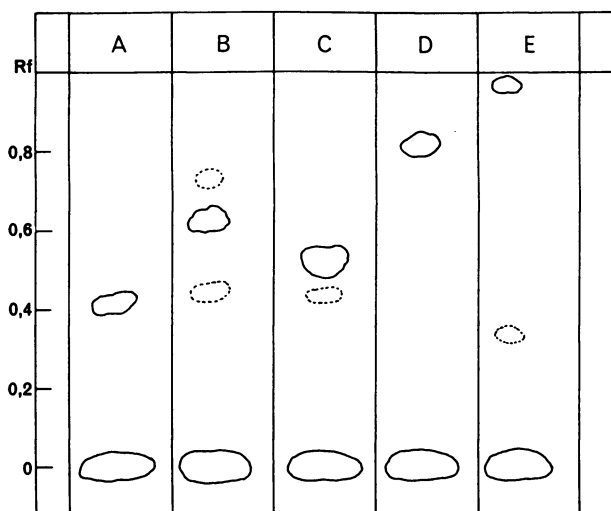
setzung dafür war die Kenntnis der bei der Nitrierung entstehenden Produkte.

Folgende Anticonvulsiva wurden untersucht: Phenobarbital, Phenytoin, Mephentyoin, Methylphenobarbital und Primidon. Wir prüften zunächst, ob nach *Huisman* [1] einheitliche Nitrierungsprodukte oder Gemische entstehen. Dabei änderten wir geringfügig die Bedingungen für die Dünnschichtchromatographie. Es erwies sich als zweckmässig, die Acidität des aufgetragenen Nitriersäuregemisches vor dem Kontakt mit dem stark ammoniakalischen Fließmittel durch Einstellen der Platte in eine NH_3 -Kammer abzustumpfen. Danach war eine gleichmässige Entwicklung der Chromatogramme zu beobachten.

Um das unangenehme und schwerflüchtige Isobutanol des *Huisman*schen Fließmittels durch einen anderen polaren Bestandteil zu ersetzen, probierten wir diverse Laufmittel aus und fanden, dass das von *Deininger* [7] angegebene Gemisch Isopropanol-Chloroform-Ammoniak 25prozentig (45 : 45 : 10) die gleichen Trenneffekte besitzt wie das *Huisman*sche Fließmittel (Experimenteller Teil, 1).

Abbildung 1

Dünnschichtchromatogramm der Nitrierungsprodukte



- A Phenobarbital
 B Methylphenobarbital
 C Phenytoin
 D Primidon
 E Mephenytoin

Das Dünnschichtchromatogramm (Abb. 1) zeigte (UV 254 nm) für Phenobarbital und Primidon einen, für Phenytoin und Mephenytoin zwei und für Methylphenobarbital drei Flecken. Nach dem Besprühen mit salzsaurem SnCl_2 -Lösung und Ehrlichs Reagens [8] färbten sich alle Flecken gelb. Es handelte sich bei diesen Produkten offensichtlich um aromatische Nitroverbindungen*.

Es zeigte sich, dass Nitrierungen mit 5-, 10- und 100fachen Substanzmengen im entsprechend vergrösserten Ansatz zu den gleichen Produkten führten (Experimenteller Teil, 1a). Das Auftreten mehrerer Nitrierungsprodukte bei den Hydantoinen und beim Methylphenobarbital wurde von *Huisman* [1] nicht erwähnt.

Im Hinblick auf die spätere polarographische Auswertung wollten wir von allen Substanzen einheitliche Nitrierungsprodukte erhalten. Da – besonders bei den vergrösserten Ansätzen – die Zugabe der Nitriersäure zu den methanolischen Lösungen der Substanzen nach *Huisman* [1] eine heftige Reaktion unter starker Wärmeentwicklung bewirkte, untersuchten wir, ob und wie sich Temperatur und Methanol auf die Nitrierung auswirken. Es wurden wieder Ansätze verschiedener Grössenordnung gemacht (Experimenteller Teil, 2):

- a) mit Methanol (unter Hitzeentwicklung) [1],
 b) mit Methanol und eisgekühlter Nitriersäure im Eisbad,

* Mesuximid bzw. sein Nitrierungsprodukt war auch in Mengen $> 100 \mu\text{g}$ weder im UV-Licht noch mit den o. a. Sprühreagenzien oder *o*-Dianisidin [9] zu erkennen. Wir schlossen diese Substanz deshalb von unseren weiteren Untersuchungen aus.

c) ohne Methanol bei Zimmertemperatur,

d) ohne Methanol im Eisbad.

Es konnten dünnschichtchromatographisch keine qualitativen Unterschiede zwischen den nach den vier verschiedenen Reaktionsbedingungen erhaltenen Nitrierungsprodukten festgestellt werden. Auch hatte sich, soweit sich das visuell beurteilen liess, das Verhältnis zwischen Haupt- und Nebenprodukten bei den entsprechenden Substanzen nicht verschoben.

Da wir durch diese Modifikationen der Reaktionsbedingungen auf Anzahl und Art der mit Nitriersäure entstehenden Produkte keinen Einfluss nehmen konnten, beschlossen wir, später nur die Hauptprodukte polarographisch auszuwerten, und befassten uns im folgenden mit der Konstitutionsaufklärung der Nitroverbindungen.

Phenobarbital

Bei der Nitrierung von Phenobarbital (1) entsteht ein Gemisch aus *m*- und *p*-Nitro-Phenobarbital (2 bzw. 3) [10]. Wir arbeiteten die Vorschrift von *Bousquet* und *Adams* [11] nach (Experimenteller Teil, 3) und erhielten dünnschichtchromatographisch nur einen Flecken vom Rf-Wert des Nitrierungsproduktes nach *Huisman* [1]. Die beiden Isomeren liessen sich mit zahlreichen Fliessmitteln nicht trennen. Die Frage, ob auch bei der Nitrierung nach *Huisman* [1] dieses Isomerengemisch entsteht, mussten wir deshalb über die Aminoverbindungen klären.

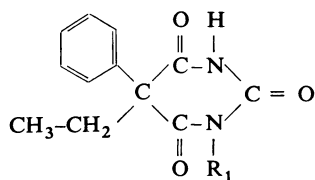
m-Nitro-Phenobarbital (2) wurde leicht durch Umkristallisieren des Rohproduktes nach *Bousquet* und *Adams* [11] erhalten. *p*-Nitro-Phenobarbital (3) entsteht in untergeordneter Menge und ist schwierig zu isolieren [12]. Es gelang uns, durch wiederholtes Auskochen des Rohproduktes mit Toluol [13] eine mit 3 angereicherte Fraktion herzustellen, aus der wir durch mehrfaches Umkristallisieren mit Äthanol [12] wenig 3 gewinnen konnten.

Die entsprechenden Aminoverbindungen erhielten wir durch Hydrieren von 2 bzw. 3. Die von *Bousquet* und *Adams* [11] angegebenen Bedingungen wurden modifiziert (Experimenteller Teil, 4). Der dünnschichtchromatographische Vergleich dieser authentischen Substanzen mit einem hydrierten *Huisman*-Ansatz zeigte, dass auch nach *Huisman* [1] 2 und 3 entstehen.

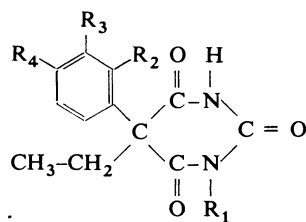
Phenytoin (DPH)

Wir nitrierten DPH (4) im präparativen Massstab nach *Huisman* [1] (Experimenteller Teil, 5) und erhielten zwei dünnschichtchromatographisch trennbare Nitroverbindungen: Rf = 0,52, Hauptprodukt (5); Rf = 0,44, Nebenprodukt (6) (s. Abb. 1). Wir konnten beide Verbindungen nur durch Dickschichtchromatographie isolieren.

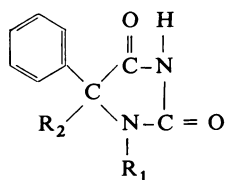
Formelübersicht



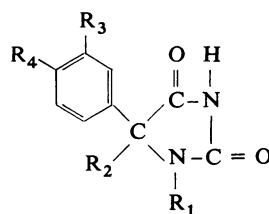
	R ₁
1	-H
10	-CH ₃



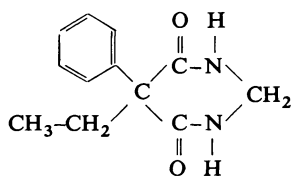
	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
2	-H	-H	-NO ₂	-H
3	-H	-H	-H	-NO ₂
11	-CH ₃	-H	-H	-NO ₂
12	-CH ₃	-NO ₂	-H	-H



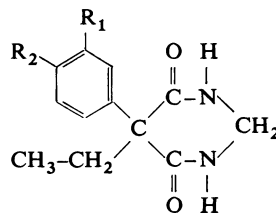
	R ₁	R ₂
4	-H	-C ₆ H ₅
7	-CH ₃	-C ₂ H ₅



	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
5	-H	-C ₆ H ₄ -NO ₂ (<i>m</i>)	-H	-NO ₂
6	-H	-C ₆ H ₄ -NO ₂ (<i>o</i>)	-H	-NO ₂
8	-CH ₃	-C ₂ H ₅	-H	-NO ₂
9	-CH ₃	-C ₂ H ₅	-NO ₂	-H



13



	R ₁	R ₂
14	-NO ₂	-H
15	-H	-NO ₂

5 erwies sich aufgrund der Verbrennung und des Massenspektrums als dinitriertes DPH. M⁺ von **5** (m/e 342) ist relativ klein (5%)* und weist die Zusammensetzung C₁₅H₁₀N₄O₆** auf. Durch DADI-Analyse (Direct Analysis of Daughter Ions [14]) liessen sich folgende Übergänge nachweisen: M⁺ m/e 342→299→282→252→206.

Dies entspricht einer Eliminierung von CHNO aus dem Hydantoinring zu m/e 299 (43%, C₁₄H₉N₃O₅). Die konsekutive Abspaltung von OH[•] zu m/e 282 (37%, C₁₄H₈N₃O₄), von 30 Masseinheiten (ME) zu m/e 252 (18%) und von weiteren 46 ME zu m/e 206 (8%) ist mit der Eliminierung der beiden Nitrogruppen erklärbar.

Andererseits entspricht der intensive Peak bei m/e 149 (66%, C₇H₅N₂O₂) einem protonierten Nitro-benzonitril, das nach DADI erwartungsgemäss 30 ME zu m/e 119 (25%) und 46 ME zu m/e 103 (98%) verliert (Hinweis auf die Nitrogruppe). m/e 103 stösst schliess-

* Es wird nur der Bereich oberhalb m/e 76 diskutiert. m/e 76 wird als 100% gesetzt.

** Durch exakte Massenmessung gesicherte Ionen sind durch Angabe der Elementar-Zusammensetzung gekennzeichnet.

lich 27 ME (HCN) aus, um das aromatische Restion m/e 76 (100%) zu formieren. Die Herkunft des für diesen Fragmentierungszug verantwortlichen Ions m/e 149 liess sich durch eine Defokussierung nach *Barber-Elliott* [15] nachweisen. Als Vorgänger von m/e 149 erschien das Ion m/e 220 (4%), das als (M-122) die Abspaltung einer der beiden Nitrophenyl-Gruppen aus M^+ anzeigt.

Ein weiterer Fragmentierungszug geht vom Ion m/e 254 (20%) aus, das durch Verlust von $CHNO$, CO und $\cdot OH$ aus M^+ entstanden sein muss. Die DADI-Analyse zeigt folgende Abspaltung auf: m/e 254 \rightarrow 238 (3%) (-16 ME) und m/e 254 \rightarrow 224 (-30 ME). Das Ion m/e 224 (51%, $C_{13}H_8N_2O_2$) muss demnach noch eine intakte Nitrogruppe enthalten. Diese Tatsache wird durch die DADI-Analyse m/e 224 \rightarrow 194 (17%; -30 ME) bzw. m/e 224 \rightarrow 178 (33%; -46 ME) belegt.

Da das UV-Spektrum (absol. Äthanol; λ_{max} 264 nm, $\log \epsilon = 4,29$; λ_{min} 233 nm, $\log \epsilon = 3,98$) im Vergleich mit den UV-Spektren der Mononitro-toluole nichts über den Substitutionstyp aussagte, wurde ein oxydativer Abbau von **5** zu den entsprechenden Nitrobenzoesäuren vorgenommen (Experimenteller Teil, 6). Wir konnten *m*- und *p*-Nitrobenzoesäure dünn-schichtchromatographisch identifizieren. **5** ist demnach 5-*m*-Nitrophenyl-5-*p'*-nitrophenylhydantoin.

Das MS von **6** zeigt wie das von **5** das Molekülion bei m/e 342 (4%), weist somit auf ein dinitriertes DPH hin. Die Fragmentierung von **6** verläuft aber vollständig anders als bei **5**. Dies deutet auf starke Nachbargruppeneffekte hin, wie sie erfahrungsgemäss bei in 1,2-Stellung substituierten Aromaten auftreten können. Im vorliegenden Fall beobachtet man vorerst die konsekutive Abspaltung von zwei $CHNO$ -Neutralteilchen, wie DADI- und Defokussier-Daten belegen. Dieser Befund deckt sich mit der elementaren Zusammensetzung des resultierenden Ions m/e 256 (26%, $C_{13}H_8N_2O_4$). Dieses Ion verliert erwartungsgemäss 17 ($\cdot OH$) und 46 (NO_2) ME zu m/e 239 (12%) bzw. zu m/e 210 (10%), wie die DADI-Analyse belegt. Das Ion m/e 256 gibt auch Anlass zu einer Umlagerung, wobei offenbar eine Verknüpfung der beiden aromatischen Ringe unter Verlust von 90 ME eintritt. Das resultierende prominente Ion m/e 166 (72%, $C_{12}H_8N$) stösst anschliessend (DADI) 27 ME (HCN) unter Bildung der Spezies m/e 139 (34%) aus.

Die Genese einer weiteren Umlagerung, die offenbar einen Sauerstofftransfer beinhaltet, ist noch ungeklärt. Das Umlagerungsprodukt m/e 150 (36%, $C_7H_4NO_3$) spaltet (DADI) 30 ME (NO) zu m/e 120 (12%) und 46 ME (NO_2) zu m/e 104 (34%) ab. Schliesslich verliert m/e 104 noch 28 ME, vermutlich CO , um das aromatische Rest-Ion bei m/e 76 (100%) zu generieren.

Im IR-Spektrum von **6** konnten wir neben den Nitro-Banden bei 1350 und 1530 cm^{-1} für DPH charakteristische Banden wiederfinden: CONH bei 3200 cm^{-1} , Fünfring-Imid bei 1785 cm^{-1} , Fünfring-Harnstoff bei

1720 cm^{-1} , aromatische Ringe bei 1600 und 1580 (schwach) cm^{-1} . Das UV-Spektrum von **6** in Äthanol unterschied sich nur geringfügig von dem von **5**; λ_{max} 262 nm, $\log \epsilon = 4,12$; λ_{min} 236/7 nm, $\log \epsilon = 3,98$. Ein NMR-Spektrum konnte wegen Substanzmangels nicht aufgenommen werden. Beim oxydativen Abbau (Experimenteller Teil, 6) von **6** erhielten wir ein Gemisch aus *o*- und *p*-Nitrobenzoesäure. **6** ist somit 5-*o*-Nitrophenyl-5-*p'*-nitrophenylhydantoin.

Mephenytoin

Mephenytoin (**7**) wurde im präparativen Massstab nach *Huisman* [1] nitriert (Experimenteller Teil, 7). Durch fraktionierte Kristallisation konnten wir das Hauptprodukt (**8**) (Smp. 203–204°) isolieren, das nach der Verbrennung ein mononitriertes Mephenytoin war. Durch oxydativen Abbau zu *p*-Nitrobenzoesäure (Experimenteller Teil, 6) konnten wir nachweisen, dass **8** *p*-Nitro-Mephenytoin ist.

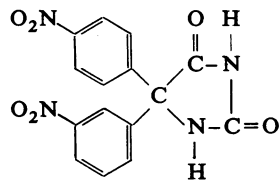
Aus den Mutterlaugen erhielten wir ein konstant schmelzendes Produkt (Smp. 150–151°), das den gleichen Rf-Wert besass wie **8** (Rf = 0,97, s. Abb. 1) und laut Verbrennung ebenfalls mononitriertes **7** war. Das NMR-Spektrum liess vermuten, dass es sich um ein Gemisch aus *m*- und *p*-Nitro-Mephenytoin handelte; die Bestätigung wurde erbracht durch oxydativen Abbau (Experimenteller Teil, 6), der zu *m*- und *p*-Nitrobenzoesäure führte. *m*-Nitro-Mephenytoin (**9**) konnte aus dem Gemisch nicht isoliert werden; auch dünn-schichtchromatographisch erreichten wir trotz Variation der Fließmittel keine Trennung der Isomeren.

Beim oxydativen Abbau des Gemisches von **8** und **9** (Experimenteller Teil, 6), in dem **9** bereits angereichert ist, entsteht dennoch nur wenig *m*-Nitrobenzoesäure. **9** wird folglich bei der Nitrierung von **7** nach *Huisman* [1] nur in untergeordneter Menge gebildet. Im Frontband des durch Dickschichtchromatographie von anderen Nitrierungsprodukten (s.u.) getrennten Nitriergemisches war **9** durch oxydativen Abbau nicht nachzuweisen, obwohl das IR-Spektrum auf ein Gemisch von **8**+**9** hinwies (Experimenteller Teil, 8).

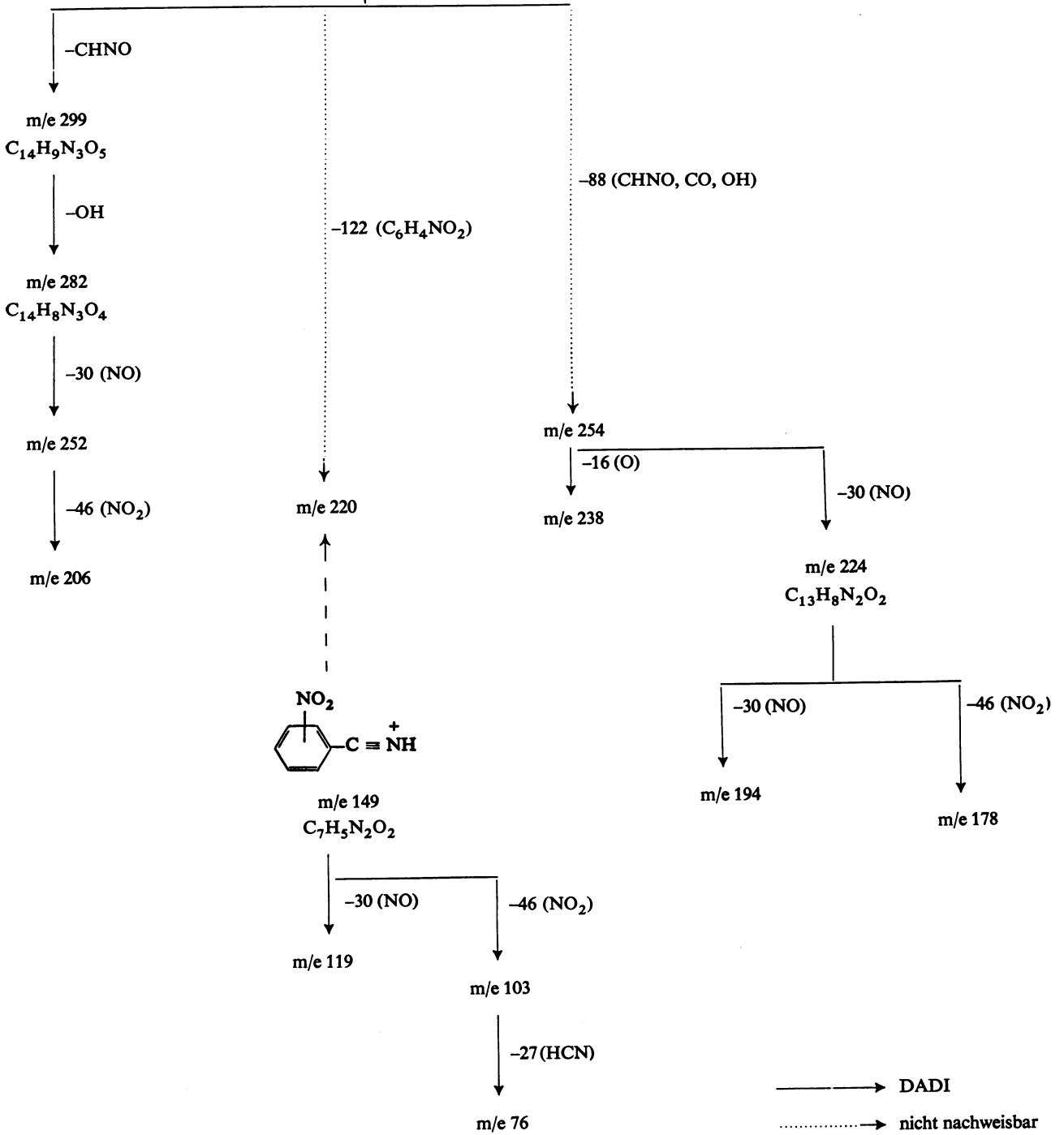
Da die in geringer Menge entstehende aromatische Nitroverbindung vom Rf-Wert 0,33–0,34 in den Mutterlaugen von **8** bzw. **8**+**9** nicht mehr nachzuweisen war (Dünnschichtchromatographie), isolierten wir sie mittels Dickschichtchromatographie direkt aus dem Nitriergemisch. Im IR-Spektrum fehlten die Amid-Bande bei 3200 cm^{-1} sowie die für den intakten Hydantoinring charakteristischen Banden bei 1780 und 1720 cm^{-1} . Dafür traten die Aromaten-Banden bei 1600 und 1500 cm^{-1} verstärkt hervor. Dieses Zersetzungsprodukt entsteht offensichtlich in proportionalen Mengen zu **8**+**9**, da bei der polarographischen Bestimmung von **7** nach Nitrierung und Dünnschichtchromatographie stets nur 83% **7** gefunden werden [16].

Abbildung 2

Fragmentierungsschema



m/e 342
C₁₅H₁₀N₄O₆



————→ DADI
→ nicht nachweisbar
 - - - → defokussiert

Methylphenobarbital

Bei der Nitrierung von Methylphenobarbital (**10**) entstanden drei dünn-schichtchromatographisch trennbare Produkte (Abb. 1; Experimenteller Teil, 9). Das Hauptprodukt (**11**) ($R_f = 0,62-0,63$) konnte durch fraktionierte Kristallisation rein gewonnen werden. Die Verbrennung ergab, dass es sich um mononitriertes **10** handelte. Durch oxydativen Abbau zur Nitrobenzoesäure (Experimenteller Teil, 6) wurde erwiesen, dass **10** in *p*-Stellung nitriert worden war. Die beiden Nebenprodukte wurden dickschichtchromatographisch aus den Mutterlaugen von **11** isoliert.

Das Massenspektrum zeigte für das mengenmässig grössere Nebenprodukt ($R_f = 0,44$) die Mol.-Masse 277, was auf Nitro-Phenobarbital hinwies. Der base-peak m/e 249 entsteht, entsprechend den Angaben für Phenobarbital [17], aus M^+ 277 ($< 1\%$) durch C_2H_4 -Abspaltung (*McLafferty*-Umlagerung). Diese Fragmentierung wurde durch DADI-Analyse gesichert. m/e 249 verliert weiter OH^\bullet zu m/e 232 (55%, $C_{10}H_6N_3O_4$), das nacheinander NO (DADI) zu m/e 202 (19%), CHNO (defokussiert) zu m/e 159 (40%, $C_9H_5NO_2$) und CO zu m/e 131 (33%, DADI) verliert. Das Massenspektrum zeigt ausserdem ein prominentes Ion m/e 191 (30%, $C_{10}H_9NO_3$), das CH_3^\bullet zu m/e 176 (16%, DADI) und von dort CO zu m/e 148 (48%, $C_8H_6NO_2$, defokussiert) verliert. Die Reihenfolge dieser Abspaltungen kann auch umgekehrt ablaufen (DADI). Aus m/e 148, das offensichtlich noch die Nitrogruppe enthält, entstehen durch Verlust von NO bzw. NO_2 (DADI) m/e 118 (10%) bzw. m/e 102 (33%). Dieser Fragmentierungszug zeigt, dass M^+ auch durch Verlust von formal 2 Molekeln CHNO zerfallen kann. Beim oxydativen Abbau (Experimenteller Teil, 6) entstand *m*-Nitrobenzoesäure. – Dieses Nebenprodukt ist nach IR-Spektrum, Smp. und Dünnschichtchromatographie mit **2** identisch und ist durch oxydative Entmethylierung von **10** entstanden.

Das nur in Spuren entstandene zweite Nebenprodukt (Smp. 201° , $R_f = 0,73$) zeigte im Massenspektrum einen $M+1$ -peak bei m/e 292. Das IR-Spektrum war den Spektren von **10** und **11** ähnlich und sprach somit für ein nitriertes Methylphenobarbital. Beim oxydativen Abbau (Experimenteller Teil, 6) entstand *o*-Nitrobenzoesäure. Es handelt sich wahrscheinlich um *o*-Nitro-Methylphenobarbital (**12**).

Primidon

Boon und Mitarbeiter [18] beschreiben, dass bei der Nitrierung von Primidon (**13**) *m*-Nitro-Primidon (**14**) entsteht. Bei der Nitrierung nach Huisman [1] erhielten wir ein Produkt, das dünn-schichtchromatographisch nur einen Flecken ergab. Da bei der Nitrierung aller von uns untersuchten Substanzen zwei oder mehr Nitroverbindungen entstanden und Isomergemische nicht unbedingt dünn-schichtchromatographisch getrennt

werden, nitrierten wir **13** sowohl nach Boon [18] als auch in vergrössertem Ansatz nach Huisman [1] und untersuchten vergleichend die nach beiden Vorschriften erhaltenen Produkte (Experimenteller Teil, 10).

Aus beiden Ansätzen erhielten wir durch Umkristallisation das bei Boon [18] beschriebene **14**. Die *m*-Substitution wurde mittels dünn-schichtchromatographischer Identifizierung der durch oxydativen Abbau (Experimenteller Teil, 6) entstandenen *m*-Nitrobenzoesäure bestätigt. Aus dem Abdampfrückstand der Mutterlaugen von **14** erhielten wir beim oxydativen Abbau (Experimenteller Teil, 6) ein Gemisch aus wenig *m*-Nitrobenzoesäure und viel *p*-Nitrobenzoesäure. Offensichtlich war *p*-Nitro-Primidon in der Mutterlauge angereichert worden. Wir konnten dieses Produkt bisher nicht isolieren.

Die Elementaranalyse des Gemisches stützt unsere Auffassung, dass es sich um Nitro-Primidon handelt. Damit ist wahrscheinlich, dass in Analogie zum Phenobarbital bei der Nitrierung von Primidon neben **14** auch das *p*-Isomere (**15**) entsteht.

Experimenteller Teil

1. Nitrierung von **1**, **4**, **7**, **10**, **13** und Mesuximid nach Huisman; modifizierte Dünnschichtchromatographie

Je $100 \mu g$ **1**, **4**, **7**, **10**, **13** und Mesuximid wurden in kleinen Spitzkolben mit $20 \mu l$ Methanol und $100 \mu l$ Nitriersäure (95 Vol.-% konz. $H_2SO_4 + 5$ Vol.-% rauchende HNO_3) versetzt. Die Mischungen wurden 15 min lang auf einem Vibrator geschüttelt und weitere 15 min stehengelassen.

Dünnschichtchromatographie. Kieselgel GF 254, MERCK; Platten-grösse 20×20 cm, Schichtdicke 0,3 mm; halbstündige Aktivierung 110° .

$10 \mu l$ jeder Nitriermischung wurden strichförmig mit einer Blutzuckerpipette aufgetragen. Die Platten blieben 5 min an der Luft liegen und wurden dann so lange in eine offene NH_3 -Kammer gestellt (Startflecken nach oben), bis keine Nebelbildung mehr zu beobachten war und die vorher durchscheinenden Startflecken weiss-trübe geworden waren (etwa 15–20 min). Dann wurde in gesättigter Kammer in frisch vorbereitetem Fliessmittel $CHCl_3$ -Isopropanol- NH_3 25proz. (45:45:10) [7] zweimal je 45 min entwickelt. Nach jedem Lauf wurde die Platte 10 min bei 110° getrocknet.

Detektion. Nach Markierung der Flecken im UV-Licht 254 nm wurde mit salzsaurer $SnCl_2$ -Lösung reduziert und bis zur Verflüchtigung der Salzsäure im Trockenschrank erhitzt. Die aromatischen Aminoverbindungen wurden durch Besprühen mit Ehrlichs Reagens sichtbar gemacht (gelbe Flecken auf weissem Grund [8]).

1a. Nitrierung nach Huisman im vergrösserten Ansatz

Je 0,5 bzw. 1 und 10 mg jeder Substanz wurden mit 0,1, 0,2 bzw. 2 ml Methanol und 0,5, 1 bzw. 10 ml Nitriersäure versetzt. Die Mischungen wurden weiter nach 1 behandelt.

2. Nitrierung unter verschiedenen Bedingungen

- Die Durchführung entspricht 1 bzw. 1a.
- Die Substanzen (0,1 bis 10 mg) wurden mit den o. a. Volumina eisgekühlten Methanols versetzt; anschliessend wurde im Eisbad unter ständigem Rühren (Magnetührer) die entsprechende Menge (s. o.) eisgekühlter Nitriersäure tropfenweise zugegeben. Die Temperatur wurde dabei zwischen 0° und $+5^\circ$ gehalten. Darnach folgte 15minütiges Rühren und 15minütiges Stehenlassen im Eisbad. Dünnschichtchromatographie wie bei 1.

c) und d) 0,1 bis 10 mg jeder Substanz wurden mit 0,12, 0,6 bzw. 1,2 und 12 ml Nitriersäure versetzt und die Mischungen wie unter 1 bzw. 2b behandelt.

3. Darstellung von Nitro-Phenobarbital (2 und 3) [11]

5 g 1 wurden ohne wesentliche Abweichungen von der Literaturvorschrift nitriert. Die Ausbeute an Rohprodukt betrug 5,6 g (etwa 94% der Theorie). Im Dünnschichtchromatogramm war nur Nitro-Phenobarbital nachzuweisen.

3 g des Rohproduktes ergaben nach zweimaligem Umkristallisieren aus 95proz. Äthanol 1,1 g 2 vom Smp. 276–277° (276–277° [11] bzw. 279–280° [19, 20] bzw. 283–284° [10]).

Der Rückstand der eingedampften Mutterlaugen von 2 wurde zweimal 15 min mit je 250 ml Toluol ausgekocht [13]. Die vereinigten Filtrate wurden zur Trockne eingedampft, und der Rückstand wurde nochmals aus 100 ml siedendem Toluol umkristallisiert. Das so erhaltene kristalline Produkt schmolz bei 198–202°. Nach achtmaligem Umkristallisieren aus 95proz. Äthanol [12] erhielten wir etwa 180 mg 3 vom Smp. 218° (216–217° [10] bzw. 217–219° [12]).

4. Darstellung der Amino-Phenobarbitale [11]

300 mg 2 (Smp. 276–277°), in 20 ml 95proz. Äthanol gelöst, wurden in einem druckfesten Glaskolben innerhalb von 3–4 h bei etwa 0,8 atü und 60–70° hydriert (Pt aus 50 mg Actiplat «AB», DOUCO-CHEMIE). Nach Filtration und Einengen der Lösung erhielten wir eine dünnschichtchromatographisch reine Aminoverbindung. Smp. nach einmaligem Umkristallisieren aus 95proz. Äthanol: 207–208° (205–206° [11] bzw. 208–209° [10]).

100 mg 3 (Smp. 218°) wurden wie oben hydriert. Die nach einmaligem Umkristallisieren erhaltenen dünnschichtchromatographisch reinen Kristalle schmolzen bei 231° (234–235° [12]).

10 mg 1 wurden nach 1a nitriert. Das Nitriergemisch wurde in 50 ml Eiswasser gegossen und die saure wässrige Lösung dreimal mit je 20 ml Äther ausgeschüttelt. Der Abdampfrückstand wurde in Äthanol aufgenommen und wie oben hydriert. Nach Filtrieren wurde eingengt und die äthanolische Lösung direkt zur Dünnschichtchromatographie verwendet.

5. Präparative Darstellung von 5 und 6

1 g DPH (4) wurde in 5 ml Methanol aufgeschlämmt und im Eisbad unter Rühren tropfenweise mit 25 ml Nitriersäure versetzt. Nach 1 h weiteren Rührens bei Zimmertemperatur wurde die Mischung auf Eis gegossen. Dabei schied sich ein gelb-weißer Niederschlag ab, der abfiltriert, bis zur Neutralität gewaschen und bei 110° im Trockenschrank getrocknet wurde. Die Rohausbeute betrug 1,1 g. Das Dünnschichtchromatogramm zeigte, dass sich 4 quantitativ zu den Nitroverbindungen 5+6 umgesetzt hatte.

Trennung von 5 und 6. Verwendet wurden selbstgegossene Platten mit Kieselgel 60 PF 254, MERCK Nr. 7747, Schichtdicke 1,5 mm. Etwa 600 mg des Rohproduktes (pro Platte etwa 150 mg) wurden, in THF gelöst, bandförmig aufgetragen. Nach zweimaligem Entwickeln im Fließmittel CHCl_3 -Isopropanol-Ammoniak 25proz. (60 : 30 : 5) wurden die entsprechenden Bänder abgehoben und mit Methanol eluiert. Der Abdampfrückstand wurde in Äthanol aufgenommen und durch ein hartes Filter (SCHLEICHER & SCHÜLL Nr. 576) filtriert. Nach viermaligem Umkristallisieren erhielten wir 400 mg dünnschichtchromatographisch reines 5 (Smp. 244–245°) und wenige Milligramm reines 6 (Smp. 249–251°).

$5 \text{ C}_{15}\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_6$ (342,3) ber. C 52,64% H 2,94%
gef. C 52,45% H 3,11%

6. Oxydativer Abbau der nitrierten Anticonvulsiva zu Nitrobenzoesäuren im Mikromassstab [10]

Maximal 10 mg der Nitroverbindungen wurden in 2 ml 0,5proz. KOH aufgeschlämmt. Die Mischung wurde 13 h unter Rühren am Rückflusskühler gekocht und dabei in Anteilen mit 50 mg

KMnO_4 versetzt. Der Permanganat-Überschuss wurde mit wenigen Tropfen verd. H_2O_2 -Lösung entfernt, das Reaktionsgemisch filtriert, mit verd. HCl angesäuert und dreimal mit je 15 ml Äther ausgeschüttelt. Die vereinigten, über Na_2SO_4 getrockneten Ätherphasen wurden eingengt und als Auftragslösung für die Dünnschichtchromatographie verwendet. Als Vergleichssubstanzen wurden *o*-, *m*-, *p*-Nitrobenzoesäure und gegebenenfalls 3,5-Dinitrobenzoesäure aufgetragen.

Als Fließmittel [21] diente die obere Phase von Petroläther (50/70°)-Tetrachlorkohlenstoff-Chloroform-Ameisensäure (100 %)-Eisessig (50 : 40 : 20 : 8 : 2, Vol./Vol.). Es wurde zweimal 15 cm in gesättigter Kammer entwickelt. Nach dem ersten Lauf blieb die Platte 30 min an der Luft liegen. Die Detektion erfolgte nach Markierung unter UV-Licht 254 nm mit SnCl_2 -Lösung und Ehrlichs Reagens (siehe 1).

7. Präparative Darstellung von 8 bzw. 8+9

1 g 7 wurde nach 5 nitriert. Die Rohausbeute betrug 0,7 g. Nach viermaligem Umkristallisieren aus 95proz. Äthanol erhielten wir 8 (weisse Kristalle, Smp. 203–204°).

$\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$ (263,3) ber. C 54,75% H 4,98%
gef. C 54,74% H 4,96%

Oxydativer Abbau von 8, siehe 6.

Aus dem Abdampfrückstand der Mutterlaugen von 8 erhielten wir nach viermaligem Umkristallisieren aus 95proz. Äthanol bis zur Schmelzpunkt Konstanz ein weiss-kristallines Produkt (Smp. 150–151°).

$8+9 \text{ C}_{12}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$ (263,3) ber. C 54,75% H 4,98%
gef. C 54,60% H 5,09%

Dieses Produkt wurde ebenfalls abgebaut (siehe 6).

8. Dickschichtchromatographie eines Huisman-Nitriergemisches von 7

Ein geringer Teil des nach 7 erhaltenen Nitriergemisches wurde auf Dickschichtplatten (siehe 5) bandförmig aufgetragen (maximal 0,4 ml/Platte). Die Platten wurden etwa 15 min an der Luft liegengelassen, danach 30–40 min einzeln in NH_3 -Kammern gestellt (starke Nebelbildung) und anschliessend zweimal in gesättigter Kammer im Fließmittel Isopropanol- CHCl_3 - NH_3 25proz. (45 : 45 : 10) [7] entwickelt. Wegen der bereits starken Zerstörung der Startzone verzichteten wir – im Gegensatz zu 1 – auf die zwischenzeitliche Erhitzung der Platte. Vor dem zweiten Entwickeln in erneuertem Fließmittel (!) empfiehlt sich Trocknung durch etwa einstündiges Liegenlassen der Platte an der Luft (evtl. milder Luftstrom unter Meidung der Startzone). Die Front wurde mit CHCl_3 eluiert. Mit einem Teil des kristallinen Rückstandes wurde ein IR-Spektrum aufgenommen, der Rest wurde für den oxydativen Abbau nach 6 verwendet.

Die Zone des Zersetzungsproduktes wurde ebenfalls mit CHCl_3 eluiert. Der in geringer Menge gewonnene schmierige Rückstand, der sich zunehmend bräunlich verfärbte, wurde IR-spektroskopisch untersucht (s. theoretischer Teil).

9. Darstellung von 9

1 g 10 wurde nach 5 nitriert. Beim Eingiessen in Eiswasser bildete sich eine weisse, klebrige Masse, die nach dem Lösen in 95proz. Äthanol kristallin ausfiel. Nach dreimaligem Umkristallisieren aus Äthanol erhielten wir ein Produkt vom Smp. 161–162°, das dünnschichtchromatographisch einheitlich war.

$\text{C}_{13}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_5$ (291,3) ber. C 53,61% H 4,50%
gef. C 53,41% H 4,53%

Der oxydative Abbau von 9 zur Nitrobenzoesäure und deren Identifizierung erfolgte nach 6.

10. Nitrierung von 13 nach Boon [18] zu 14

Es wurde ohne wesentliche Abweichung von der Literaturvorschrift verfahren. Das durch Umkristallisation gewonnene *m*-Nitro-Primidon schmolz bei 247–248° (248–249° [18]).

Der nach dem Abtrennen des Hauptproduktes **14** aus den eingegengten Mutterlaugen kristallisierende Rest hatte ein konstantes Schmelzintervall zwischen 230° und 256°. Er wurde, ebenso wie **14**, oxydativ nach **6** abgebaut.

14 + **15** C₁₂H₁₃N₃O₄ (263,3) ber. C 54,75% H 4,98%
gef. C 54,75% H 5,09%

Nitrierung von 13 nach Huisman [1] im präparativen Massstab. 1 g **13** wurde nach **5** nitriert. Nach einmaligem Umkristallisieren aus 95proz. Äthanol erhielten wir 0,5 g **14** vom Smp. 247–248°. Dieses Produkt sowie seine Mutterlaugen wurden nach **6** oxydativ abgebaut. Die Ergebnisse des oxydativen Abbaus sind im theoretischen Teil erwähnt.

Wir danken dem Schweizerischen Nationalfonds zur Förderung der wissenschaftlichen Forschung für die Unterstützung eines Teils dieser Arbeit (Gesuch Nr. 2.885.73).

Zusammenfassung

Phenobarbital, Phenytoin, Mephentyoin, Methylphenobarbital und Primidon wurden nach *Huisman* bzw. nach modifizierten Bedingungen nitriert. Die Konstitution der dabei entstehenden Nitroverbindungen wurde aufgeklärt. Aus N-methylierten Barbituraten und Hydantoinen erhielten wir hauptsächlich *p*-Nitroverbindungen, während die nicht-methylierten Antiepileptica im wesentlichen zu *m*-Nitroprodukten umgesetzt wurden.

Adresse der Autoren

Prof. Dr. W. Wiegrebe, Fachbereich Chemie und Pharmazie,
Universität Regensburg, Postfach, D-84 Regensburg;
PD Dr. U.P. Schlunegger, Institut für Organische Chemie,
Universität Bern, Freiestrasse 3, CH-3000 Bern.

Literatur

- [1] *Huisman J. W.*, Clin. chim. Acta 13, 323 (1966).
- [2] *Rieder J.*, Arzneim.-Forsch. 15, 1134 (1965).
- [3] *Oelschläger H.*, Arch. Pharm. 296, 7 (1963).
- [4] *Oelschläger H., Volke J., Lim G. T. und Frank U.*, Arzneim.-Forsch. 16, 82 (1966).
- [5] *Březina M. und Zuman P.*, Die Polarographie in der Medizin, Biochemie und Pharmazie, Akademische Verlagsgesellschaft Geest und Portig, Leipzig, 1956, S. 291.
- [6] *Oelschläger H., Volke J. und Lim G. T.*, Arch. Pharm. 298, 213 (1965).
- [7] *Deiningger R.*, Arzneim.-Forsch. 5, 472 (1955).
- [8] *Jureček M., Churáček J. und Červinka V.*, Mikrochim. Acta 1960, 102.
- [9] *Schmidt G., Bösche J. und Keding H.*, Akt. Probl. Verkehrsmed. 1966, 45.
- [10] *Pierce A. E. und Rising M. M.*, J. amer. chem. Soc. 58, 1361 (1936).
- [11] *Bousquet E. W. und Adams R.*, J. amer. chem. Soc. 52, 224 (1930).
- [12] *Butler T. C.*, J. Pharmacol. exper. Therap. 116, 326 (1956).
- [13] *Ranzew F.*, J. Pharm. Belg. 6, 410 (1924).
- [14] *Schlunegger U. P.*, Angew. Chem., im Druck.
- [15] *Beynon J. H.*, Anal. Chem. 42, 97A (1970).
- [16] *Wiegrebe W. und Wehrhahn L.*, Arzneim.-Forsch. 25, 517 (1975).
- [17] *Grützmacher H.-F.*, Dtsch. Apoth. Ztg. 106, 377 (1966).
- [18] *Boon W. R., Carrington H. C., Greenhalgh N. und Vasey C. H.*, J. chem. Soc. [London] 1954, 3263.
- [19] *Bush M. T. und Johnson J. R.*, J. amer. chem. Soc. 55, 3894 (1933).
- [20] *Pierce A. E. und Rising M. M.*, J. amer. chem. Soc. 55, 3895 (1933).
- [21] *Gosselé J. A. W.*, J. Chromatogr. [Amsterdam] 63, 433 (1971).

Eingang 31. Oktober 1974