



SCHWEIZERISCHE EIDGENOSSENSCHAFT
BUNDESAMT FÜR GEISTIGES EIGENTUM

51 Int. Cl.³: C 07 D 307/87

Erfindungspatent für die Schweiz und Liechtenstein

Schweizerisch-liechtensteinischer Patentschutzvertrag vom 22. Dezember 1978



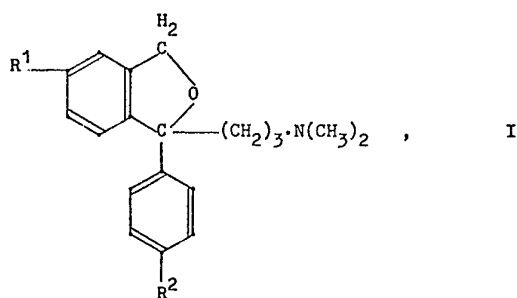
PATENT SCHRIFT A5

632 258

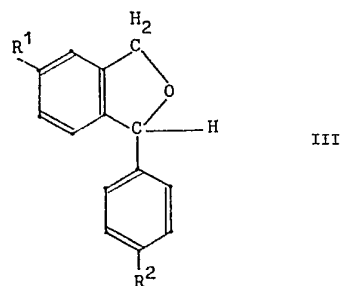
21 Gesuchsnummer:	3574/81	73 Inhaber:	Kefalas A/S, Kopenhagen-Valby (DK)
62 Teilgesuch von:	423/77		
22 Anmeldungsdatum:	13.01.1977	72 Erfinder:	Klaus Peter Bogeso, Lyngby (DK) Anders Stausboll Toft, Farum (DK)
30 Priorität(en):	14.01.1976 GB 1486/76		
24 Patent erteilt:	30.09.1982		
45 Patentschrift veröffentlicht:	30.09.1982	74 Vertreter:	E. Blum & Co., Zürich

54 Verfahren zur Herstellung von neuen Phthalanen.

57 Neue Phthalane der allgemeinen Formel I



worin jedes der Symbole R^1 und R^2 ein Halogenatom, eine Trifluormethylgruppe, eine Cyangruppe oder eine R-CO-Gruppe bedeutet, wobei R für einen Alkylrest mit 1 bis einschliesslich 4 Kohlenstoffatomen steht, und die Säure-Additionssalze derselben mit pharmazeutisch verträglichen Säuren, werden erhalten, indem man eine Verbindung der allgemeinen Formel III

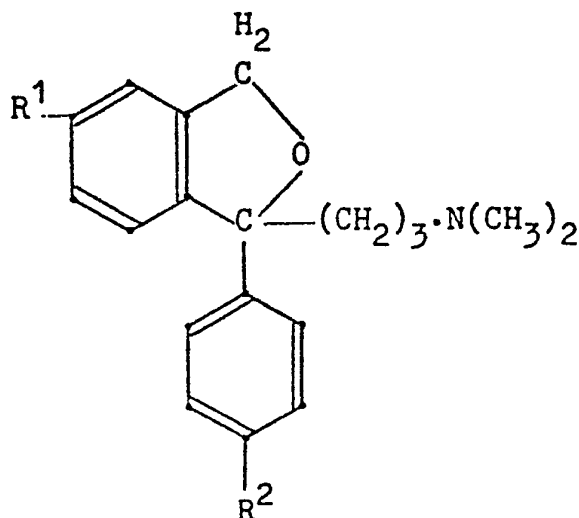


worin R^1 und R^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben, mit einem 3-Dimethylaminopropylhalogenid in Gegenwart eines Kondensationsmittels umgesetzt, und gegebenenfalls erhaltene Verbindungen der allgemeinen Formel I in die entsprechenden Säure-Additionssalze mit pharmazeutisch verträglichen Säuren überführt.

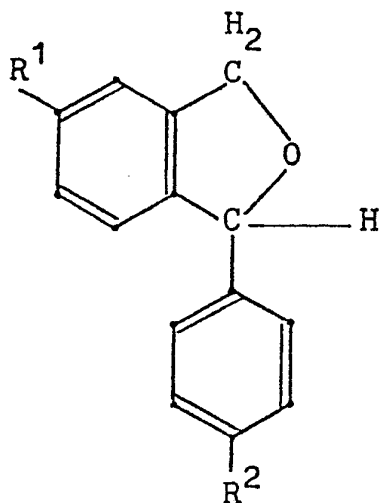
Die Phthalane der Formel I können zur Linderung, Abschwächung, Milderung und Inhibierung der Manifestationen von gewissen physiologisch/psychologischen Abnormitäten von Lebewesen verwendet werden.

PATENTANSPRÜCHE

1. Verfahren zur Herstellung von neuen Phthalanen der allgemeinen Formel I



worin jedes der Symbole R^1 und R^2 ein Halogenatom, eine Trifluormethylgruppe, eine Cyanogruppe oder eine $R-CO$ -Gruppe bedeutet, wobei R für einen Alkylrest mit 1 bis einschließlich 4 Kohlenstoffatomen steht, und den Säureadditionssalzen derselben mit pharmazeutisch verträglichen Säuren, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der allgemeinen Formel III



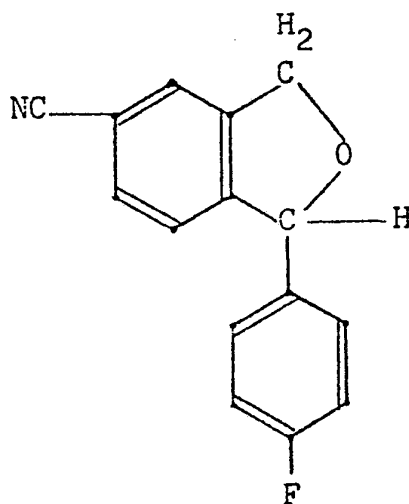
worin R^1 und R^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben, mit einem 3-Dimethylaminopropylhalogenid in Gegenwart eines Kondensationsmittels umsetzt, und gegebenenfalls erhaltene Verbindungen der allgemeinen Formel I in die entsprechenden Säureadditionssalze mit pharmazeutisch verträglichen Säuren überführt.

2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel III, in der wenigstens eines der Symbole R^1 und R^2 eine Cyanogruppe darstellt, mit einem 3-Dimethylaminopropylhalogenid in Gegenwart eines Kondensationsmittels umsetzt, wonach die erhaltene Verbindung der Formel I entweder als freies Amin oder als ein Säureadditionssalz desselben isoliert wird.

3. Verfahren nach einem der Ansprüche 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der Formel

2

(I) 5
10
15



mit einem 3-Dimethylaminopropylhalogenid in Gegenwart eines Kondensationsmittels umsetzt, wonach das bei der Umsetzung gebildete 1-(4'-Fluorphenyl)-1-(3-dimethylaminopropyl)-5-phthalan-carbonitril als freies Amin oder als ein Säureadditionssalz desselben isoliert wird.

4. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man 1-(4'-Fluorphenyl)-1-(3-dimethylaminopropyl)-5-phthalan-carbonitril oder ein Säureadditionssalz davon mit einer pharmazeutisch verträglichen Säure herstellt.

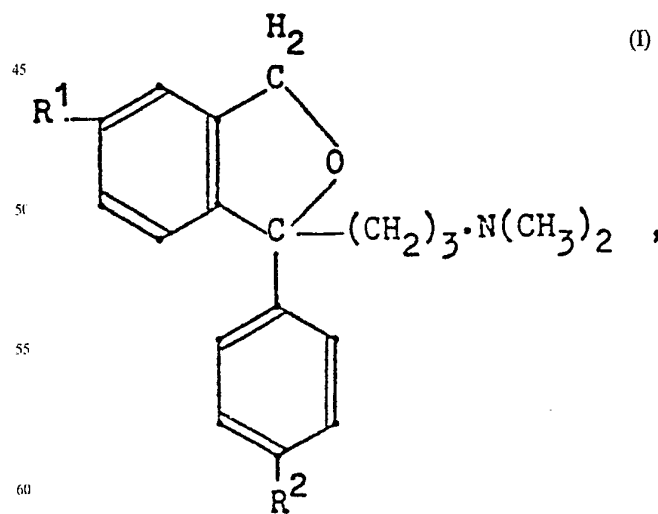
5. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man 1-(4'-Fluorphenyl)-1-(3-dimethylaminopropyl)-5-phthalan-carbonitril herstellt.

6. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass man das Hydrobromid des 1-(4'-Fluorphenyl)-1-(3-dimethylaminopropyl)-5-phthalan-carbonitrils herstellt.

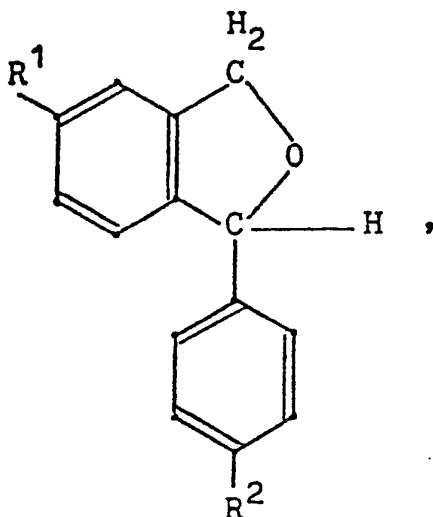
(III) 35

Die vorliegende Erfindung betrifft ein Verfahren zur Herstellung von neuen Phthalanen.

Das erfindungsgemäße Verfahren zur Herstellung von neuen Phthalanen der allgemeinen Formel I



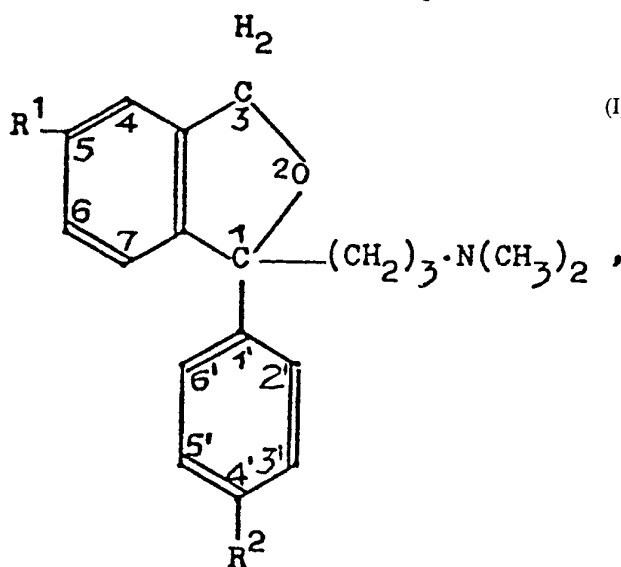
worin jedes der Symbole R^1 und R^2 ein Halogenatom, eine Trifluormethylgruppe, eine Cyanogruppe oder eine $R-CO$ -Gruppe bedeutet, wobei R für einen Alkylrest mit 1 bis einschließlich 4 Kohlenstoffatomen steht, und den Säureadditionssalzen derselben mit pharmazeutisch verträglichen Säuren, ist dadurch gekennzeichnet, dass man eine Verbindung der allgemeinen Formel III



worin R^1 und R^2 die oben angegebenen Bedeutungen haben, mit einem 3-Dimethylaminopropylhalogenid in Gegenwart eines Kondensationsmittels umsetzt, und gegebenenfalls erhaltene Verbindungen der allgemeinen Formel I in die entsprechenden Säureadditionssalze mit pharmazeutisch verträglichen Säuren überführt.

Die Phthalane der Formel I können zur Linderung, Abschwächung, Milderung und Inhibierung der Manifestationen von gewissen physiologisch/psychologischen Abnormalitäten von Lebewesen verwendet werden.

Die Numerierung der erfindungsgemäss herstellbaren neuen Phthalane erfolgt üblicherweise gemäss der allgemeinen Formel



worin die Symbole R^1 und R^2 weiter oben definiert worden sind. Seit vielen Jahren hat man angenommen, dass Depressionen zu einer verminderten Aktivität der zentraladrenergischen Prozesse in Beziehung stehen, und man war der Meinung, dass die antidepressive Wirksamkeit von imipraminartigen Drogen durch die Inhibierung der Noradrenalinrückaufnahme zustande kommt. Demgemäss haben sich alle Anstrengungen darauf konzentriert, Wirkstoffe aufzufinden, die Noradrenalin durch Verhinderung seiner Rückaufnahme potenzieren. Es wurde gefunden, dass unter den in der US-PS Nr. 3467675 beschriebenen Phthalanen die am stärksten wirksame Verbindung mit einem Noradrenalin potenzierenden Effekt ein Phthalan war, das in 3-Stellung der Ringstruktur Methylgruppen enthält, im Phenylring keine Substituenten aufweist, in 1-Stellung einen unsubstituierten Phenylring enthält und eine Monomethylaminopropylgruppe an die 1-Stellung gebunden enthält. In der Tat wurde gefunden, dass nur Verbindungen, die zwei Methylgruppen in 3-Stellung aufweisen, das Noradrenalin äusserst stark potenzierende Mittel sind, vgl. hierzu

P.V. Petersen und Mitarbeiter in «Acta pharmacol. et toxicol.», 1966, Band 24, Seite 121.

- (III) Aufgrund der Ergebnisse von neueren Forschungsarbeiten auf dem Gebiet der Pharmakologie und Biochemie von antidepressiven Mitteln und Depressionen, so von Carlsson und Mitarbeitern, die ihre Arbeit «Effect of antidepressant drugs on the depletion of intraneuronal brain 5-hydroxytryptamine stores caused by 4-methyl- α -ethylmetatryptamine» in «Europ. J. Pharmacol.», 1969, 5, Seiten 357 bis 366, veröffentlichten, nahmen diese Autoren an, dass die Blockierung der Rückaufnahme des 5-Hydroxytryptamins beteiligt ist an der stimmungsanhebenden Wirkung der tricyclischen Antidepressiva, während die Blockierung der Noradrenalinrückaufnahme den Auftrieb der an Depressionen leidenden Patienten fördert. Ebenso vertreten auch Lapin und Oxenkrug in ihrer Arbeit «Intensification of the central serotonergic processes as a possible determinant of the thymoleptic effect», veröffentlicht in «Lancet», 1969, I, Seiten 132 bis 136, die Ansicht, dass die stimmungsanhebende Wirkung der Monoaminoxidaseinhibitoren und der Elektroschocktherapie zu einer Intensivierung der serotoninergischen Prozesse im Gehirn in Beziehung steht.

Es ist nun überraschenderweise gefunden worden, dass die Phthalane der Formel I ebenso wie ihre Säureadditionssalze mit pharmazeutisch verträglichen Säuren beispielsweise stark potenzierende Wirkungen auf Tryptophan und 5-Hydroxytryptophan ausüben, wie an Hand von zuverlässigen Standard-*in-vivo*-Tests an Versuchstieren und auch *in vitro* gezeigt werden kann. Gleichzeitig weisen im allgemeinen die Verbindungen praktisch keine potenzierenden Wirkungen auf Noradrenalin oder Adrenalin auf.

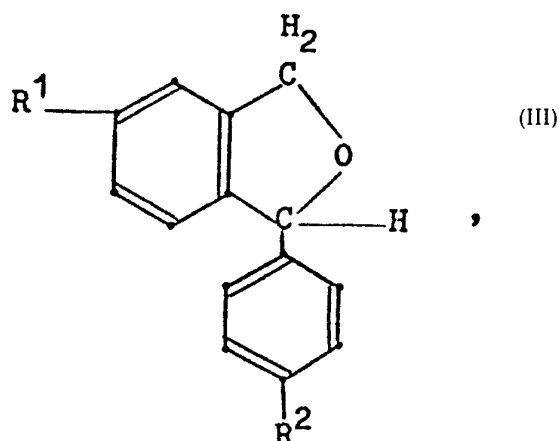
- (I) Diejenige Verbindungen der Formel I, bei denen wenigstens einer der Substituenten R^1 und R^2 für eine Cyanogruppe oder eine Gruppe der Formel $R-CO-$ steht, stellen neue Verbindungen dar, während die anderen zwar breit in der US-PS Nr. 3467675 beansprucht werden, sie jedoch vorher weder hergestellt noch in Vorschlag gebracht worden sind.

- (35) Die Verbindungen der Formel I und die nichttoxischen Säureadditionssalze derselben können sowohl oral als auch parenteral z.B. in Form von Tabletten, Kapseln, Pulvern, Sirupen oder Lösungen für Injektionszwecke verabfolgt werden.

- (40) Zur Herstellung der Phthalane der Formel I kann man sich entweder der Methoden bedienen, die auf dem Gebiet der präparativen Chemie zur Herstellung von analogen Phthalanen bekannt sind, z.B. der Methode, die in der US-PS Nr. 3467675 beschrieben ist, oder irgendwelcher chemischer Äquivalente solcher Methoden.

- (45) Die Säureadditionssalze der Verbindungen der Formel I sind vorzugsweise Salze von pharmakologisch verträglichen, nichttoxischen Säuren, wie Mineralsäuren, z.B. Salzsäure, Bromwasserstoffsäure, Phosphorsäure, Schwefelsäure und dergleichen, und von organischen Säuren, wie Essigsäure, Weinsäure, Maleinsäure, Citronensäure, Oxalsäure, Benzoesäure, Methansulfonsäure, Embonsäure und dergleichen.

- (50) Die Verbindungen der Formel I werden hergestellt durch Umsetzen einer Verbindung der allgemeinen Formel III



in der R¹ und R² die oben angegebenen Bedeutungen haben, mit einem 3-Dimethylaminopropylhalogenid in Gegenwart eines Kondensationsmittels, wie eines Alkaliamids, z.B. Natriumamid oder Kaliumamid, Butyllithium, Phenyllithium oder dergleichen, und Isolieren der Verbindung der Formel I, die hierbei entsteht, entweder als freies Amin oder als ein nichttoxisches Säureadditionssalz.

Die Umsetzung wird vorzugsweise in Gegenwart eines inerten organischen Lösungsmittels durchgeführt.

Die folgenden Beispiele sollen die Erfindung näher erläutern, sie aber in keiner Weise einschränken.

Beispiel 1:

1-(4'-Fluorphenyl)-1-(3-dimethylaminopropyl)-5-phthalanarbonitril und dessen Oxalat

Das Ausgangsmaterial, das 1-(4'-Fluorphenyl)-5-cyanophthalan, wurde in folgender Weise hergestellt:

300 g 4-Brom-4'-fluor-2-(hydroxymethyl)benzophenon wurden in 750 ml Äther gelöst und tropfenweise zu einer Suspension von 25 g Lithiumaluminiumhydrid in 900 ml Äther mit solcher Geschwindigkeit zugesetzt, dass das Gemisch schwach unter Rückfluss siedete. Dann wurde das Gemisch 2 h unter Rückfluss zum Sieden erhitzt, wonach es mit Wasser hydrolysiert wurde. Die Ätherphase wurde von den ausgefällten Metallsalzen abdekantiert, die zweimal mit Äther gewaschen wurden. Die gesammelten Ätherphasen wurden über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und im Vakuum eingedampft. Die Ausbeute betrug 305 g unreines [4-Brom-2-(hydroxymethyl)phenyl]-(4-fluorphenyl)methanol in Form eines Öls, das direkt in der nächsten Stufe verwendet wurde.

Die 305 g Öl wurden 3 h auf einem Dampfbad in 2400 ml einer 60%igen wässrigen Phosphorsäure unter lebhaftem Rühren erhitzt. Das Gemisch wurde in 2 l Eiswasser gegossen und mit Äther extrahiert. Die Ätherphase wurde mit Wasser bis zur neutralen Reaktion gewaschen und über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, dann mit Aktivkohle behandelt und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand (256 g) wurde im Vakuum destilliert, und es wurden 177 g 1-(4'-Fluorphenyl)-5-bromphthalan vom Kp.₁ 170 bis 175° C als gelbes Öl erhalten.

177 g 1-(4'-Fluorphenyl)-5-bromphthalan und 62,5 g Cuprocyanid wurden 4 h in 200 ml Dimethylformamid unter Rückfluss erhitzt. Das Reaktionsgemisch wurde in eine Lösung von 120 g Natriumcyanid in 600 ml Wasser gegossen. Das Gemisch wurde 10 min gerührt und abgekühlt. Die Kristalle, die sich ausschieden, wurden abgenutscht, und das Filtrat wurde einmal mit 200 ml Benzol extrahiert. Die Kristalle wurden in 200 ml Benzol gelöst, und die vereinigten Benzolphasen wurden mit 10%iger wässriger Natriumcyanidlösung und Wasser extrahiert, über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet, mit Aktivkohle behandelt und im Vakuum eingedampft. Beim Abkühlen kristallisierte das 1-(4'-Fluorphenyl)-5-phthalanarbonitril aus; es wurde Petroläther zugesetzt, und die Kristalle wurden abgenutscht. Die Ausbeute betrug 122 g; der Schmelzpunkt lag bei 87 bis 90° C. Nach dem Umkristallisieren aus Äther/Petroläther (1:1) wurden 96 g erhalten, die bei 95 bis 97° C schmolzen.

21 g Natriumhydrid (50%ig in Mineralöl) wurden in einer Stickstoffatmosphäre in 900 ml Dimethylsulfoxid bei 60 bis 70° C gelöst. Zu der entstandenen Natriummethylsulfinylmethyllösung wurden tropfenweise unter Köhlen 96 g 1-(4'-Fluorphenyl)-5-phthalanarbonitril, in 150 ml Dimethylsulfoxid gelöst, zugegeben. Die Reaktionstemperatur wurde auf 25° C gehalten. Nachdem der Zusatz beendet war, wurde das Gemisch 10 min bei Raumtemperatur gerührt. Danach wurden 53 g 3-Dimethylaminopropylchlorid in 25 ml Dimethylsulfoxid schnell zugesetzt, und das Reaktionsgemisch wurde auf 40° C erwärmt und 50 min auf dieser Temperatur gehalten. Danach wurde das Gemisch in Eiswasser gegossen und mit Äther extrahiert. Die Ätherphase wurde mit 20%iger wässriger Essigsäure extrahiert. Die Essigsäurelösung wurde mit 10N-Natriumhydroxidlösung alkalisch gestellt und mit Äther extrahiert,

der mehrere Male mit Wasser gewaschen wurde. Die Ätherphase wurde abgetrennt, über wasserfreiem Kaliumcarbonat getrocknet, mit Aktivkohle behandelt und im Vakuum eingedampft. Der Rückstand bestand aus einem Öl (80 g), das im Vakuum destilliert wurde und 56 g 1-(4'-Fluorphenyl)-1-(3-dimethylaminopropyl)-5-phthalanarbonitril lieferte, dessen Siedepunkt bei Kp._{0,03} 175 bis 181° C lag.

Das entsprechende Oxalat wurde in konventioneller Weise aus Äthanol erhalten und schmolz bei 163 bis 166° C. Der Schmelzpunkt des Hydrobromids liegt bei 182 bis 183° C.

In analoger Weise wurden hergestellt:

1-(4'-Chlorphenyl)-1-(3-dimethylaminopropyl)-5-propionylphthalan und dessen Oxalat, das bei 134 bis 139° C schmilzt. Die Verbindungen der Formel I und die nichttoxischen Säureadditionssalze derselben können sowohl oral als auch parenteral verabfolgt werden, und sie können z.B. in Form von Tabletten, Kapseln, Pulvern, Sirupen oder in Form der üblichen sterilen Lösungen für Injektionszwecke verwendet werden. Die bei der Verabfolgung erhaltenen Ergebnisse sind gewöhnlich sehr vielversprechend. Am zweckmässigsten werden die Verbindungen der Formel I und die nichttoxischen Säureadditionssalze derselben oral in Einheitsdosierungsform, z.B. als Tabletten oder Kapseln, verabfolgt, wobei jede Dosierungseinheit eine der genannten Verbindungen in einer Menge von etwa 0,1 bis etwa 50 mg, am besten jedoch von etwa 0,5 bis 25 mg, als freies Amin berechnet, enthält, und die Tagesgesamtdosis für gewöhnlich etwa 0,5 bis etwa 300 mg beträgt. Die genauen Einzeldosierungen und ebenso die Tagesdosierungen werden normalerweise in jedem Einzelfall natürlich nach den Regeln der medizinischen Wissenschaft festgelegt.

Bei der Herstellung der Tabletten wird im allgemeinen der Wirkstoff meistens mit den gewöhnlichen Tablettenbegleitstoffen wie Maissstärke, Kartoffelstärke, Talkum, Magnesiumstearat, Gelatine, Milchzucker, Pflanzengummen und dergleichen, vermischt. Eine geeignete Formulierung für eine Tablette enthält 10 mg 1-(4'-Fluorphenyl)-1-(3-dimethylaminopropyl)-5-phthalanarbonitril (im folgenden mit der Kurzbezeichnung Lu 10-171 bezeichnet), in Form seines Hydrochlorids, und ihre Zusammensetzung kann folgende sein:

Lu 10-171, Hydrochlorid	11,2 mg
Kartoffelstärke	36 mg
Milchzucker	18 mg
Gelatine	5 mg
Talkum	6 mg
Magnesiumstearat	0,4 mg

Es können beliebige andere pharmazeutische Tablettierungs-Begleitstoffe verwendet werden, vorausgesetzt, dass sie mit dem Wirkstoff verträglich sind, und weitere Zusammensetzungen und Dosierungsformen können jenen analog sein, wie sie derzeit für Thymoleptica, z.B. Imipramin, Amitriptylin oder Nortriptylin, verwendet werden. Auch Kombinationen der Verbindungen der Formel I und ebenso von deren nichttoxischen Säureadditionssalzen mit anderen Wirkstoffen, besonders anderen Thymoleptica, Neuroleptica oder dergleichen, sind im allgemeinen möglich.

Wie bereits oben erwähnt, wird in dem Fall, in dem die Verbindungen der Formel I in Form eines Säureadditionssalzes isoliert werden, die Säure vorzugsweise so ausgewählt, dass sie ein Anion enthält, das nichttoxisch und pharmakologisch verträglich ist, zumindest in den üblichen therapeutischen Dosierungen. Unter den repräsentativen Salzen, die zu dieser bevorzugten Gruppe gehören, sind zu nennen die Hydrochloride, Hydrobromide, Sulfate, Acetate, Phosphate, Nitrate, Methansulfonate, Äthansulfonate, Lactate, Citrate, Tartrate oder Bitartrate und Maleate der Amine der Formel I. Andere Säuren sind gleichfalls brauchbar und können gewünschtenfalls Anwendung finden. So können z.B. die Fumarsäure, Benzoesäure, Ascorbinsäure, Bernsteinsäure, Salicylsäure, Bismethylen-salicylsäure, Propionsäure, Glukonsäure, Apfelsäure, Malonsäure, Mandelsäure, Zimtsäure, Citraconsäure, Embonsäure, Stearinsäure, Palmitinsäure, Itaconsäure, Glykolsäure, Benzolsulfonsäure und Sulfaminsäure ebenfalls als Säureadditionssalze bildende Säuren verwendet werden. Ist es erwünscht, eine erfindungsgemäss herstellbare Verbindung in Form der freien Base zu isolieren, so kann dies nach

konventionellen Arbeitsweisen geschehen, z.B. dadurch, dass man das isolierte oder nicht isolierte Salz in Wasser löst, es mit einem geeigneten alkalischen Material behandelt, die freigesetzte Base mit einem geeigneten organischen Lösungsmittel extrahiert, die freigesetzte Base mit einem geeigneten organischen Lösungsmittel trocknet, den Extrakt trocknet und ihn zur Trockne eindampft oder fraktioniert destilliert, um das freie basische Amin zu gewinnen.

Selbstverständlich ist die Erfindung nicht auf die genauen Einzelheiten der Herstellungsweisen oder die genaue Verbindung oder die Mittel, die jeweils oben beschrieben sind, beschränkt, da offensichtliche Modifizierungen und Äquivalente, wie sie sich für den Fachmann im allgemeinen von selbst ergeben, gleichfalls zur Erfindung gehören. Die Phthalane der Formel I und ebenso ihre nichttoxischen Säureadditionssalze sind auf ihre Fähigkeit, 5-Hydroxytryptophan und Tryptophan zu potenzieren, in der Regel an Hand von zuverlässigen Standard-Testmethoden untersucht worden. Bei diesen Tests ist normalerweise bekannten antidepressiven Mitteln vergleichend gegenübergestellt worden.

5-Hydroxytryptophanpotenzierung

Der 5-Hydroxytryptophanpotenzierungstest wurde im wesentlichen nach den Angaben von Carlsson und Mitarbeitern in «Brain Research», 12, Seiten 456 bis 460, (1969) durchgeführt. Die Testsubstanz wurde der Maus intraperitoneal 30 min vor der intravenösen Verabfolgung von 5-Hydroxytryptophan, 100 mg/kg, verabfolgt. Eine unvorbehandelte Gruppe diente als Kontrolle. Nach dieser Dosis von 5-Hydroxytryptophan blieben die Kontrolltiere unbeeinflusst. Waren die Tiere mit einer Substanz vorbehandelt worden, welche die Rückaufnahme von 5-Hydroxytryptamin inhibiert, so tritt ein charakteristisches Syndrom auf. Dieses besteht aus folgenden Symptomen: (1) Erregung, (2) Tremor und (3) Wegstrecken der Hinterbeine. Jedem Tier wurde ein Punkt für jedes Symptom gegeben, das innerhalb einer Beobachtungszeit von 15 min auftrat, und die ED₅₀ wurde definiert als die Dosis, die ein Punktergebnis zustande bringt, das die Hälfte der maximal erzielbaren Punkte ausmachte.

Tryptophanpotenzierung

Der Tryptophanpotenzierungstest wurde wie oben beschrieben durchgeführt mit der Abänderung, dass Tryptophan (100 mg/kg; intravenös) an Stelle von 5-Hydroxytryptophan verwendet wurde, und die Mäuse 18 bis 20 h vor dem Testen mit Nialamid (100 mg/kg per os) vorbehandelt wurden.

Inhibierung der ¹⁴C-5-HT-Aufnahme in Kaninchenblutplättchen in vitro

Die Methode stellt eine geringe Modifizierung der Methode dar, die von Lingjaerde in «Psychopharmacologia», 17, Seiten 94 bis 99 (1970) beschrieben ist. 2 ml mit Kaninchenblutplättchen angereichertes Plasma, das EDTA als Antikoagulationsmittel enthielt, wurde mit der Testverbindung und 2 ml 0,05M Na-P-Puffer, pH 7,2, 5 min bei 37° C bebrütet. Danach wurde ¹⁴C-5-HT (Endkonzentration 120 nM) zugegeben, und die Inkubation bzw. Bebrütung wurde

15 min lang fortgesetzt. Die Inkubation wurde dadurch beendet, dass man die Teströhrchen in ein Eisbad stellte, und die Blutplättchen wurden durch Zentrifugieren (~4000 g; 5 min; 4° C) isoliert. Nach dem Abgiessen wurden die Blutplättchen vorsichtig mit 4 ml eiskalter Kochsalzlösung gewaschen, und es wurde die zurückgebliebene Radioaktivität gemessen. Die Aufnahme bei diesen Testproben wurde in Prozent der Aufnahme in der Kontrollgruppe errechnet und gegen die Konzentration der Testverbindung auf halblogarithmischem Wahrscheinlichkeitspapier (probability paper) aufgetragen, woraus der IC₅₀-Wert bestimmt wurde.

Inhibierung der H 75/12-induzierten Verarmung an 5-HT im Rattenhirn in vivo

Diese wurde anhand einer Modifizierung der von Carlsson und Mitarbeitern entwickelten und in «Europ. J. Pharmacol.» 5, Seiten 357 bis 366 (1969) beschriebenen Methode untersucht. Nach dieser Methode konnte die durch H 75/12 (4-Methyl- α -äthylmetatyramin) verursachte Verarmung an 5-HT durch thymoleptische Drogen verhindert werden, indem die Aufnahme von H 75/12 in 5-HT-Neuronen inhibiert wurde.

Die Drogen wurden (in Kochsalzlösung; 10 ml/kg) subkutan verabfolgt. Nach 20 min wurde eine intraperitoneale Injektion von H 75/12 (50 mg/kg; 10 ml/kg) verabfolgt. 2 h nach dieser Injektion wurden die Tiere durch einen Schlag auf den Kopf getötet. Das 5-HT im Gehirn wurde fluorimetrisch nach Andén und Magnusson, «Acta Physiol. Scand.» 69, Seiten 87 bis 94 (1967) bestimmt. Die Gehirne von Ratten, welche die Droge plus H 75/12 erhalten hatten, wurden mit denen von Ratten verglichen, die H 75/12 allein oder den Trägerstoff allein erhalten hatten.

Es wurden logarithmische Dosisansprechkurven mittels der linearen Regressionsanalyse errechnet, und es wurde die Dosis (ED₂₅) bestimmt, die eine 25%ige Herabsetzung der Verarmung bewirkte.

Inhibierung der ³H-NA-Aufnahme in Mäuse-Atria in vitro

Zur Messung der Inhibierung der Aufnahme von ³H-NA in Mäuse-Atria in vitro wurde von einer Modifizierung der von Sachs in «Acta Physiol. Scand. Suppl.», 341, Seiten 1 bis 67 (1970) und von Jonsson und Sachs in «Europ. J. Pharmacol.» 16, Seiten 55 bis 62 (1971) beschriebenen Methode Gebrauch gemacht. Die Atria wurden mit den Drogen 5 min bei 37° C in sauerstoffangereichertem Krebs-Ringer-Phosphatpuffer, pH 7,4 vorinkubiert. Danach wurde ³H-NA (Endkonzentration 10⁻⁷ M) zugesetzt, und die Inkubation wurde 15 min lang fortgesetzt. Das extrazelluläre und lose gebundene ³H-NA wurde in isotopfreiem Puffer 10 min lang ausgewaschen. Es wurde die zurückgebliebene Radioaktivität bestimmt, und die Aufnahme wurde als Prozent der Aufnahme in einer Kontrollgruppe berechnet. Die IC₅₀-Werte wurden aus logarithmischen Konzentrationsansprechkurven bestimmt.

Die erhaltenen Ergebnisse sind aus der nachstehenden Tabelle zu entnehmen, in die auch die Ergebnisse einbezogen sind, die mit den Vergleichssubstanzen Chlorimipramin, Imipramin, Desipramin, Amitriptylin und Nortriptylin, die sämtlich bekannte Thymoleptica darstellen, erhalten wurden.

Kurzbezeichnung	R ₁	R ₂	Tryptophanpotenzierung ED ₅₀ mg/kg i.p.	5-HTP-Poten- zierung ED ₅₀ mg/kg i.p.	¹⁴ C-5-HT- Aufnahme IC ₅₀ × 10 ⁷ N	H 75/12-Test ED ₅₀ mg/kg	³ H-NA-Auf- nahme in vitro IC ₅₀ × 10 ⁹ M
Lu 10-199	Cl	Cl	1,6	2,1	0,20	0,53	16 000
Lu 9-199	Cl	F	1,9	4,1	0,21	0,18	> 10 000
Lu 9-269	Cl	CF ₃	1,6	6,1	1,40		
Lu 10-059	Cl	CN	0,8	1,9	0,29	1,40	
Lu 10-162	Br	Cl	4,6	5,4	0,22	0,34	49 000
Lu 10-132	Br	F	3,4	2,7	0,31	0,65	22 000

Kurzbezeichnung	R ₁	R ₂	Tryptophan-potenzierung ED ₅₀ mg/kg i.p.	5-HTP-Potenzierung ED ₅₀ mg/kg i.p.	¹⁴ C-5-HT-Aufnahme IC ₅₀ × 10 ⁷ N	H 75/12-Test ED ₅₀ mg/kg	³ H-NA-Aufnahme <i>in vitro</i> IC ₅₀ × 10 ⁹ M
Lu 12-007	CF ₃	Cl	0,8	1,2			
Lu 12-012	CF ₃	F	1,2	2,8			
Lu 10-047	CF ₃	CN	2,3	2,6	0,29	1,1	27 000
Lu 10-202	CN	Cl	0,8	0,9	0,17	0,18	23 000
Lu 10-171	CN	F	0,9	2,3	0,14	0,27	36 000
Lu 10-042	CN	CN	0,4	1,2	0,29	0,31	> 10 000
Lu 10-196	C ₂ H ₅ CO	Cl	3,4	2,7	0,15		11 000
Lu 12-166	F	F	1,8	1,3	0,34	0,58	13 000
Lu 12-168	F	Cl	7,2	3,1	0,16	0,36	13 000
Chlorimipramin			2,6	3,9	0,77	0,80	270
Imipramin			9,4	13	3,9	7,5	75
Desipramin			> 20	> 20	34	35	1,4
Amitriptylin			> 20	21	5,0	54	130
Nortriptylin			> 20	> 20	33	14	29