



Ausschlusspatent

Erteilt gemäß § 5 Absatz 1 des Änderungsgesetzes zum Patentgesetz

ISSN 0433-6461

(11)

201 139

Int.Cl.³

3(51) C 07 C 93/06

C 07 B 19/00

AMT FUER ERFINDUNGS- UND PATENTWESEN

In der vom Anmelder eingereichten Fassung veröffentlicht

(21) AP C 07 C / 234 837 4
(31) 206498

(22) 13.11.81
(32) 14.11.80

(44) 06.07.83
(33) US

- (71) siehe (73)
(72) FOSTER, BENNIE J.; LAVAGNINO, EDWARD R.; US;
(73) ELI LILLY AND CO., INDIANAPOLIS, US
(74) PATENTANWALTSBUERO BERLIN, 1130 BERLIN, FRANKFURTER ALLEE 286

(54) VERFAHREN ZUR HERSTELLUNG VON (-)-N-METHYL-3-(2-METHYLPHENOXY)-3-PHENYLPROPYLAMIN UND SEINEN PHARMAZEUTISCH UNBEDENKLICHEN SALZEN

(57) Herstellung des (-)-Enantiomers von N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylamin oder einem pharmazeutisch unbedenklichen Salz hiervon, indem man (a) eine racemische Form der Verbindung der Formel (I) mit einer (+)-Säure umsetzt und hierdurch ein Gemisch aus dem (+)(-)-Salz und dem (+)(+)-Salz bildet, (b) das (+)(-)-Salz von dem (+)(+)-Salz durch fraktionierte Kristallisation abtrennt, (c) das so erhaltene (+)(-)-Salz mit einer starken Base zur Reaktion bringt und hierdurch die (-)-Base der Formel (I) freisetzt und (d) die auf diese Weise erhaltene Base gewünschtenfalls ansäuert und so zu einem pharmazeutisch unbedenklichen Salz hiervon gelangt. Die hierdurch erhältliche Verbindung stellt ein besonders wirksames antidepressives Mittel dar, das gegenüber dem entsprechenden (+)-Enantiomer wesentlich wirksamer ist und ferner auch geringere anticholinergische Nebeneffekte aufweist.

23 4837 4

Titel der Erfindung:

Verfahren zur Herstellung von (-)-N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylamin und seinen pharmazeutisch unbedenklichen Salzen

Anwendungsgebiet der Erfindung:

Die Erfindung bezieht sich auf ein neues R-Isomer eines 3-Aryloxy-3-phenylpropylamins, das sich als antidepressives Mittel besonders wirksam erwiesen hat.

Charakteristik der bekannten technischen Lösungen:

Aus US-PS 4 018 895 ist bekannt, daß 3-Aryloxy-3-phenylpropylamine über antidepressive Eigenschaften verfügen. Darin wird daher auch die racemische Form der erfindungsgemäßen Verbindung beschrieben. In Biochem. Pharm. 25, 1979 bis 1983 (1976) wird die Wirksamkeit eines anderen Racemats aus obiger US-PS diskutiert, nämlich von N-Methyl-3-(2-methoxyphenoxy)-3-propylaminhydrochlorid. Erwartungs-

13 NOV 1981 * 971402

gemäß ist das (-)-Enantiomer und das (+)-Enantiomer dieser Verbindung gleich wirksam.

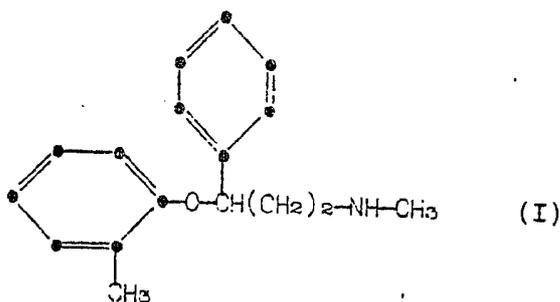
Aufgabe der Erfindung:

Die bekannten antidepressiven Mittel sind für den einen oder anderen Zweck zwar ausreichend wirksam, jedoch immer noch verbesserungsbedürftig. Aufgabe der Erfindung ist daher die Bereitstellung einer neuen Verbindung, die sich gegenüber den bekannten Substanzen durch eine besonders starke antidepressive Wirksamkeit auszeichnet.

Darlegung des Wesens der Erfindung:

Diese Aufgabe wird nun überraschendesweise durch die Erkenntnis gelöst, daß das (-)-Enantiomer von N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylamin ganz wesentlich wirksamer ist als das (+)-Enantiomer und ferner auch geringere anticholinergische Nebenwirkungen aufweist.

Erfindungsgemäß wurde demnach gefunden, daß das (-)-Enantiomer von N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylamin der Formel (I)



oder dessen pharmazeutisch unbedenkliche Salze besonders wirksame antidepressive Mittel sind.

Das erfindungsgemäße (-)-Enantiomer hat die R-absolute Stereochemie.

Zu pharmazeutisch unbedenklichen Salzen gehören diejenigen Säureadditionssalze, die nichttoxisch oder ansonsten pharmakologisch unbedenklich sind. Beispiele für derartige Salze sind die Hydrochloride, Nitrate, Phosphate, Sulfate, Hydrobromide, Hydroiodide, Pyrosulfate, Sulfite, Metaphosphate, Acetate, Propionate, Caprylate, Formiate, Phthalate, Citrate und Lactate.

Die Verbindung der Formel (I) wird gewöhnlich in Salzform verwendet, wobei das Hydrochlorid besonders bevorzugt ist.

Solche Salze lassen sich in üblicher Weise herstellen, indem man beispielsweise die Base in Ether löst und die Etherlösung mit einer etwa äquivalenten Menge einer geeigneten Säure versetzt.

Die erfindungsgemäße Verbindung läßt sich herstellen, indem man das entsprechende Racemat auftrennt, zu dem man beispielsweise gemäß US-PS 4 018 895 gelangt.

Die Erfindung betrifft demnach vor allem ein Verfahren zur Herstellung des (-)-Enantiomers der Formel (I) oder eines pharmazeutisch unbedenklichen Salzes hiervon, das dadurch gekennzeichnet ist, daß man

- (a) eine racemische Form der Verbindung der Formel (I) mit einer (+)-Säure umsetzt und hierdurch ein Gemisch aus dem (+)(-)-Salz und dem (+)(+)-Salz bildet,
- (b) das (+)(-)-Salz von dem (+)(+)-Salz durch fraktionierte Kristallisation abtrennt,
- (c) das so erhaltene (+)(-)-Salz mit einer starken Base zur Reaktion bringt und hierdurch die (-)-Base der

Formel (I) freisetzt und

- (d) die auf diese Weise erhaltene Base gewünschtenfalls ansäuert und so zu einem pharmazeutisch unbedenklichen Salz hiervon gelangt.

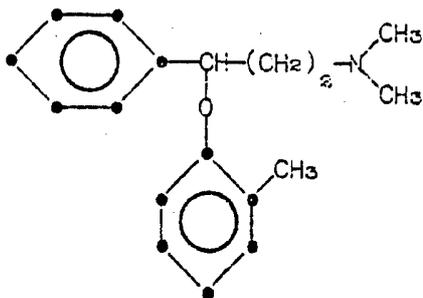
Die beim erfindungsgemäßen Verfahren bevorzugt verwendete (+)-Säure ist die L(+)-Mandelsäure. Die bevorzugten starken Basen sind die Hydroxide der Metalle der Gruppe IA des Periodensystems der Elemente, wie Natriumhydroxid oder Kaliumhydroxid, oder auch Ammoniumhydroxid.

Die Auftrennung soll in einem inerten organischen Lösungsmittel durchgeführt werden, vorzugsweise einem nichtpolaren oder mäßig polaren Lösungsmittel, wie dies im folgenden noch näher besprochen wird. Die Auftrennung wird vorzugsweise so durchgeführt, indem man zuerst das Racemat der Formel (I) in einem Lösungsmittel löst, beispielsweise einem Ether, wie Tetrahydrofuran, Dioxan, Dimethoxyethan oder Diethylether, einem Alkohol, wie Cyclohexanol, Ethanol oder Butanol, einem Alkan, wie Pentan, Hexan oder Octan, einem Ester, wie Ethylacetat, Methylacetat, Ethylbutyrat oder Methylbenzoat, einem Halogenalkan, wie Dichlormethan, Chloroform oder 1,2-Dibromethan, oder einem aromatischen Kohlenwasserstoff, wie Benzol, Toluol, Ethylbenzol oder Xylol. Die Verwendung von Etherlösungsmitteln, insbesondere von Diethylether, ist bevorzugt. Die hierdurch erhaltene Lösung des Racemats versetzt man dann mit einer Lösung oder Suspension der optisch aktiven Säure in einem geeigneten organischen Lösungsmittel oder einem Suspendiermittel, wie Benzol, Toluol oder Xylol, vorzugsweise Toluol. Sodann rührt man das Reaktionsgemisch bei einer Temperatur von im allgemeinen etwa 0°C bis 100°C, vorzugsweise 0°C bis 50°C, und insbesondere Umgebungstemperatur, wodurch das gewünschte Salz dann ausfällt. Das hierdurch erhaltene rohe Salz wird anschließend vorzugsweise durch Umkristallisation teilweise gereinigt.

Das erhaltene Rohprodukt wird vorzugsweise in einem Gemisch aus Dichlormethan und Ethylacetat gelöst und dann ausgefällt, indem man das Dichlormethan bis zur Bildung von Kristallen abdestilliert und zur Vervollständigung der Kristallisation hierauf Diethylether zugibt. Im Anschluß daran löst man das Mandelat in Wasser und überführt es durch Basischstellen dieser Lösung in die gewünschte freie Base. Vorzugsweise extrahiert man das Produkt aus der wässrigen Lösung beispielsweise mit einem Ether und bildet in der Etherlösung dann das jeweils gewünschte Salz, wenn man ein Salz haben möchte.

Die bevorzugte Menge an (+)-Säure beträgt 0,5 Mol pro Mol Racemat, es können jedoch auch Mengen von etwa 0,5 bis 1 Mol verwendet werden. Ein Arbeiten mit Säuremengen von über 1 Mol ist wirtschaftlich uninteressant.

Das bevorzugte Verfahren zur Herstellung des Racemats der Formel (I) besteht in einer Demethylierung des entsprechenden Dimethylaminoderivats der Formel



welches ebenfalls in US-PS 4 018 895 beschrieben wird. Diese Demethylierung läßt sich selbstverständlich nach den verschiedensten Verfahren erreichen. Es wurde vorliegend jedoch gefunden, daß diese Demethylierung besonders gut abläuft, indem man eine der N-Methylgruppen durch Umsetzung mit Phenylchlorformiat durch eine Phenoxyformylgruppe ersetzt und diese Gruppe dann hydrolytisch mittels einer

wässrigen Base, wie Natriumhydroxid, abspaltet. Diese Demethylierungsreaktion kann bei Temperaturen zwischen 50 und 150°C durchgeführt werden.

Ausführungsbeispiele

Die Erfindung wird anhand der folgenden Herstellungen und Beispiele weiter erläutert.

Herstellung 1

Methyl/3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropyl/carbaminsäurephenylester

Eine Lösung von 0,714 Mol (192 g) N,N-Dimethyl- γ -(2-methylphenoxy)-benzolpropanamin in 500 ml Toluol wird auf Rückflußtemperatur erhitzt und dann tropfenweise über eine Zeitdauer von 45 Minuten mit 0,785 Mol (123 g) Phenylchlorformiat versetzt. Die Zugabegeschwindigkeit des Phenylchlorformiats wird so eingestellt, daß die Reaktionslösung gleichmäßig unter Rückfluß siedet und die Blasenbildung durch das erzeugte Methylchlorid gemäßigt wird. Nach beendeter Zugabe des Phenylchlorformiats erhitzt man das Reaktionsgemisch eine Stunde auf Rückflußtemperatur und rührt es dann noch 16 Stunden bei Umgebungstemperatur.

Im Anschluß daran verdünnt man das Reaktionsgemisch mit Methylenchlorid (1 Liter) und wäscht die organische Schicht der Reihe nach mit 10%-iger Natriumhydroxidlösung, gesättigter Natriumchloridlösung, 1n Chlorwasserstoffsäurelösung und schließlich wieder mit gesättigter Natriumchloridlösung. Die ursprüngliche basische wässrige Schicht wird erneut mit Methylenchlorid extrahiert, worauf man sie mit 1n Chlorwasserstoffsäure und anschließend mit gesättigter Natriumchloridlösung wäscht.

Die vereinigten organischen Extrakte werden durch Rühren über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet und dann unter Vakuum eingeengt. Durch Behandlung mit Hexan wird die im Titel genannte Verbindung auskristallisiert und anschließend umkristallisiert, indem man die Kristalle in Diethylether (schwachlöslich) und Methylenchlorid (sehr gut löslich) löst und die Lösung unter Abdestillieren der stärker flüchtigen Lösungsmittel mit Hexan versetzt und hierdurch auf ein Volumen von etwa 1 Liter konzentriert.

Das racemische Produkt wird gesammelt und getrocknet, wodurch man zu 228 g (Ausbeute = 85 %) einer bei 72 bis 76°C schmelzenden Verbindung gelangt.

Herstellung 2

N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylaminhydrochlorid

Eine Lösung von 0,54 Mol (210 g) Methyl/3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylcarbaminsäurephenylester in 890 ml Propylenglykol wird in einer Menge mit einer Lösung von 5,35 Mol (214 g) Natriumhydroxid in 890 ml Wasser versetzt. Die Reaktionslösung wird unter Rühren 20 Stunden auf Rückflußtemperatur (etwa 110°C Reaktionstemperatur) erwärmt.

Sodann wird die Reaktionslösung auf 25°C abgekühlt, mit 2500 ml Wasser versetzt und mit Toluol (3 mal 400 ml) extrahiert. Die vereinigten Toluolextrakte werden über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet und unter Vakuum zu einem gummiartigen Produkt eingeengt.

Das gummiartige Konzentrat wird in 1 Liter Toluol gelöst und die Lösung solange mit gasförmigem Chlorwasserstoff behandelt, bis sie sauer ist. Die Azidität der Lösung wird bestimmt, indem man eine bestimmte Menge hiervon ent-

nimmt, mit Wasser versetzt und den pH-Wert der wässrigen Schicht prüft.

Die Toluollösung wird unter Vakuum zur Trockne eingedampft, da sich kein Niederschlag der Titelverbindung feststellen läßt. Der erhaltene Viskoserückstand wird solange mit Ether behandelt, bis er kristallin ist, worauf man ihn sammelt und mit Ether wäscht. Das erhaltene Titelprodukt wird aus Methylenchlorid und Ethylacetat unter Abdestillieren des Methylenchlorids umkristallisiert. Auf diese Weise gelangt man zu 135 g (Ausbeute = 85 %) eines Produkts mit einem Schmelzpunkt von 132 bis 135°C.

Analyse für $C_{17}H_{22}NOCl$

berechnet: C 69,77, H 7,60, N 4,80;

gefunden: C 69,68, H 7,34, N 4,64.

Beispiel 1

(-)-N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylaminhydrochlorid

Eine Lösung von 469 g racemischem N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylaminhydrochlorid in 1500 ml Wasser wird mit Natriumcarbonat basisch gestellt und dann zweimal mit je 1 Liter Diethylether extrahiert. Die Etherextrakte werden vereinigt, mit Wasser gewaschen und über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet. Die trockene Lösung wird mit 122 g L(+)-Mandelsäure in 2 Liter Toluol versetzt und das Gemisch 112 Stunden bei Umgebungstemperatur gerührt. Sodann filtriert man das Gemisch und wäscht die erhaltenen Feststoffe mit Diethylether, wodurch man zu 167 g des Mandelatsalzes von (-)-N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylamin gelangt. Das Produkt wird aus 2 Liter eines 1:1-Gemisches (Volumen) aus Dichlormethan und Ethylacetat um-

kristallisiert, indem man das Dichlormethan bis zur beginnenden Ausfällung verdampft und das Ganze dann mit 1 Liter Diethylether verdünnt. Auf diese Weise gelangt man zu 148 g an gereinigtem Zwischenprodukt.

Man löst 748 g des Mandelatsalzes, welches man in Form mehrmaliger Wiederholungen des oben beschriebenen Verfahrens herstellt, in 1 Liter heißem Methanol und verdünnt die Lösung mit 1 Liter Wasser von Umgebungstemperatur. Die erhaltene Aufschlammung wird mit Natriumcarbonatlösung basisch gestellt und dann zweimal mit je 500 ml Diethylether und anschließend zweimal mit je 1 Liter Ethylacetat extrahiert. Die organischen Schichten werden vereinigt, worauf man das Gemisch mit gesättigtem wässrigem Natriumchlorid wäscht und dann über Natriumsulfat sowie Magnesiumsulfat trocknet. Im Anschluß daran leitet man durch die Lösung Chlorwasserstoffgas, wodurch das gewünschte Produkt als Hydrochlorid ausfällt. Die Feststoffe werden abfiltriert und getrocknet, wodurch man zu 510 g (-)-N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylaminhydrochlorid gelangt. Das Produkt wird zur Reinigung in 200 ml Dichlormethan gelöst und die Lösung über Magnesiumsulfat getrocknet. Die getrocknete Lösung wird filtriert und dann mit Ethylacetat verdünnt. Das Gemisch wird zum Verdampfen des Dichlormethans erhitzt, worauf man das hierdurch erhaltene kristallisierte Produkt abfiltriert. Auf diese Weise gelangt man zu 486 g der Titelverbindung, die bei 166 bis 168°C schmilzt. Eine Lösung hiervon mit einer Konzentration von 10 mg/ml in Methanol verfügt über einen optischen Drehwert von $\alpha_D^{25} = -38,01^\circ$; $\alpha_{365}^{25} = -177,26^\circ$.

Beispiel 2

(-)-N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylaminhydrochlorid

Man löst 100 g racemisches N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylaminhydrochlorid in 2 Liter Wasser und stellt das Ganze dann mit Natriumcarbonat basisch. Die Lösung wird zweimal mit je 2 Liter Diethylether extrahiert und die Diethyletherlösung über wasserfreiem Magnesiumsulfat getrocknet. Sodann versetzt man die Lösung mit einer Suspension von 209 g L(+)-Mandelsäure in 200 ml Xylol und rührt das Gemisch 22 Stunden bei Umgebungstemperatur. Die angefallenen Feststoffe werden gesammelt und getrocknet, wodurch man zu 372 g reinem (-)-Mandelatsalz gelangt, das bei 126 bis 128°C schmilzt. Das unreine Salz wird in 4 Liter eines 1:1-Gemisches (Volumen) aus Dichlormethan und Ethylacetat gelöst und das Gemisch dann bis zur beginnenden Ausfällung leicht zum Sieden erhitzt. Nach Zusatz von 1,5 Liter Diethylether wird das Gemisch abgekühlt und filtriert, wodurch man zu 359 g des (-)-Mandelats gelangt, das bei 128 bis 129°C schmilzt. Das Produkt wird erneut aus dem gleichen Lösungsmittelsystem umkristallisiert, und auf diese Weise erhält man 326 g hochreines Mandelat mit einem Schmelzpunkt von 128 bis 129°C.

Das in obiger Weise hergestellte gereinigte Salz wird in 2 Liter Wasser gelöst und die Lösung mit Natriumcarbonat basisch gestellt. Die basische Lösung wird zweimal mit je 1 Liter Diethylether extrahiert, und die organischen Schichten werden vereinigt und über wasserfreiem Natriumsulfat getrocknet. Unter Rühren leitet man in die Lösung dann solange Chlorwasserstoffgas ein, bis sie gegenüber einem pH-Papier eine saure Reaktion zeigt. Das hierdurch erhaltene Hydrochlorid wird gesammelt und umkristallisiert, indem man es in 500 ml Dichlormethan löst, die Lösung mit 1,5 Liter Ethylacetat versetzt und das Gemisch bis zur beginnenden Ausfällung leicht zum Sieden erhitzt, worauf man 1 Liter Diethylether zugibt. Durch anschließendes Abkühlen des Gemisches, Filtrieren und Trocknen der dabei erhaltenen Feststoffe gelangt man zu 209 g (-)-N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylaminhydrochlorid, das

bei 165 bis 168°C schmilzt. Die Umkristallisation dieses Produkts aus dem gleichen Lösungsmittelsystem ergibt 180 g hochreines (-)-N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylaminhydrochlorid mit einem Schmelzpunkt von 165 bis 167°C. Eine Lösung hiervon mit einer Konzentration von 10 mg/ml in Methanol verfügt über einen optischen Drehwert von $\alpha_D^{25} = -37,6^\circ$; $\alpha_{365}^{25} = -181,3^\circ$.

Beispiel 3

(-)-N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylaminhydrochlorid

Man löst 3,05 g racemisches N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylaminhydrochlorid in 50 ml Wasser und stellt die Lösung dann mit Natriumbicarbonat basisch. Die Lösung wird hierauf dreimal mit je 50 ml Diethylether extrahiert, und die vereinigten organischen Schichten werden zweimal mit je 20 ml Wasser gewaschen. Sodann wird die Lösung über Magnesiumsulfat getrocknet und unter Vakuum zu einem Feststoff eingeengt. Der Rückstand wird in 100 ml Benzol gelöst und die Lösung mit 1,5 g L(+)-Mandelsäure versetzt. Die Lösung wird dann 64 Stunden bei 23°C gerührt und anschließend unter Vakuum zu einem Feststoff eingeengt, den man zum Lösen mit 100 ml Xylol versetzt. Hierauf läßt man die Lösung bis zur Bildung eines Niederschlags stehen. Die Feststoffe werden abfiltriert und aus 20 ml Xylol umkristallisiert. Sodann suspendiert man das Produkt in Wasser und stellt die Suspension mit Ammoniumhydroxid basisch, wodurch man zur freien Base gelangt, die man zweimal mit je 20 ml Diethylether extrahiert. Die organischen Schichten werden zweimal mit je 50 ml Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet und mit gasförmigem Chlorwasserstoff behandelt, wodurch man zum Hydrochlorid gelangt, das spontan ausfällt und aus der Lösung abfiltriert wird. Das Produkt wird aus

10 ml Dichlormethan und 30 ml Ethylacetat unter Zugabe von 50 ml Diethylether umkristallisiert. Auf diese Weise gelangt man zu 90 mg des gewünschten Produkts mit einem Schmelzpunkt von 156 bis 157°C. Dieses Produkt weist obiger Messungsmethode zufolge einen optischen Drehwert von $\alpha_D^{25} = -29,3^\circ$, $\alpha_{365}^{25} = -146,02^\circ$ auf.

Die Wirksamkeit und Sicherheit der erfindungsgemäßen Verbindung wird in Form des Hydrochlorids sowohl durch in-vivo-Untersuchungen als auch durch in-vitro-Untersuchungen ermittelt. Hierzu gibt es selbstverständlich eine Reihe biochemischer Untersuchungen, die Vorhersagen über eine antidepressive Wirksamkeit erlauben. In diesem Zusammenhang wird beispielsweise hingewiesen auf Diseases of the Nervous System, 841 bis 846 (1977) und Br. J. Clin. Pharmac. 4, 57S bis 68S (1977). Darin wird der Mechanismus einer Depression sauber erläutert, zu der es kommt, wenn das Nervensystem seine Fähigkeit verliert, Impulse zwischen Neuronen in genügender Anzahl und ausreichender Geschwindigkeit zu übertragen. Als eine der wesentlichen Ursachen für eine Depression ist ein Zustand anzusehen, bei welchem im zentralen Nervensystem ungenügend Monoamine vorhanden sind. Die wichtigsten dieser Amine sind Norepinephrin, Serotonin und 3,4-Dihydroxyphenylethylamin (Dopamin). Es gibt bereits eine Klasse an Arzneimitteln, die als Monoaminaufnahmeinhibitoren bezeichnet werden, durch welche sich dieser Zustand abschwächen läßt, da diese Verbindungen anscheinend die Wiederaufnahme der Amine durch die Synapsen hemmt, nämlich durch die Nervenendstellen, von denen die Amine freigesetzt werden.

Die erfindungsgemäße Verbindung gehört nun zur Klasse der Monoaminaufnahmeinhibitoren, wie dies auch für das Racemat gemäß US-PS 4 018 895 gilt, aus welchem sie isoliert worden ist. Die später angegebenen Versuchsergebnisse zeigen die ganz beachtliche Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Verbindung als Monoaminaufnahmeinhibitor im Vergleich zum Racemat,

aus dem diese Verbindung isoliert worden ist, und dem entsprechenden (+)-Enantiomer.

Die Monoaminaufnahmeinhibierung wird in vitro nach dem Verfahren der bereits eingangs genannten Literaturstelle Biochem. Pharm. 25, 1979 bis 1983 (1976) ermittelt. Hierzu tötet man männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Gewicht von 110 bis 150 g durch Abschneiden der Köpfe, Entnahme des gesamten Gehirns und entsprechende Verteilung der Hirnmasse. Aus 10%-igen Homogenisaten bestimmter Zonen des Gehirns in 0,32 Mol Saccharose und 10 mMol Glucose bildet man durch Differentialzentrifugierung nach dem in J. Anat. 96, 79 (1962) beschriebenen Verfahren rohe Präparationen von Synaptosomen.

Die Aufnahme von $\text{L}^3\text{H}7$ -Monoaminen durch Synaptosome wird wie folgt bestimmt.

Man bebrütet eine Teilmenge einer Synaptosompräparation, die 1 mg Protein entspricht, über eine Zeitdauer von 5 Minuten bei 37°C in 1 ml oder in 3 ml eines Krebs-Bicarbonatmediums, das zusätzlich 10 mMol Glucose, 0,1 mMol Iproniazid, 1 mMol Ascorbinsäure, 0,17 mMol Ethylendiamintetraessigsäure und $\text{L}^3\text{H}7$ -Monoamin in einer bestimmten Konzentration enthält. Die Inkubationsgemische werden unmittelbar darauf mit 2 ml eisgekühltem Krebs-Bicarbonat-Puffer verdünnt, der 1 mMol nicht radioaktives Monoamin enthält. Die Synaptosome werden durch Zentrifugieren geerntet und mittels 5 ml kaltem Puffer in Zählampullen gespült, die 10 ml Scintillationsflüssigkeit enthalten. Sodann mißt man die Radioaktivität mittels eines Flüssigkeitsscintillationsspektrometers, wobei die Menge an durch die Synaptosome bei 4°C angesammeltem $\text{L}^3\text{H}7$ -Monoamin die Untergrundzählung darstellt, welche bei allen Proben von den erhaltenen Werten subtrahiert wird.

Vom Hypothalamus isolierte Synaptosome akkumulieren L^3H^7 -Norepinephrin in einer Menge von $3,9 \times 10^{-12}$ Mol/mg Protein, wenn sie in Kontrollversuchen ohne irgendeinen Wirkstoff untersucht werden. Die Zugabe der erfindungsgemäßen Verbindung zur Synaptosompräparation ergibt eine Erniedrigung der Monoaminaufnahme, wie sie aus der folgenden Tabelle hervorgeht.

<u>Konzentration</u>	<u>Aufnahme</u>
1×10^{-9} Mol	$3,1 \times 10^{-12}$ Mol/mg Protein
2	2,2
3	3,1
10	1,4
30	1,0
50	0,9
100	0,8

Die obigen Werte werden auf eine logarithmische Skala aufgetragen, um hierdurch die Konzentration der Verbindung zu bestimmen, welche die Hälfte der Aufnahmeaktivität inhibiert. Hierdurch ergibt sich ein Wert (IC_{50} -Wert) von 4×10^{-9} Mol.

Die gleiche Untersuchung wird auch unter Verwendung des (+)-Enantiomers der erfindungsgemäßen Verbindung und des racemischen Gemisches durchgeführt. Hierbei ergibt sich ein IC_{50} -Wert für das (+)-Enantiomer von 4×10^{-9} Mol, während der IC_{50} -Wert des racemischen Gemisches 9×10^{-9} Mol beträgt. Die erfindungsgemäße Verbindung ist in ihrer die Aufnahme von Norepinephrin hemmenden Wirksamkeit demnach etwa 10 mal so stark wie das entsprechende (+)-Enantiomer.

Unter Anwendung der gleichen Untersuchungsmethode bestimmt man auch den Einfluß der erfindungsgemäßen Verbindung auf die Aufnahme von L^3H^7 -Serotonin und L^3H^7 -Dopamin, und zwar unter Verwendung von vom Corpus striatum für die Bestimmung der Dopaminaufnahme isolierten Synaptosomen und von vom Cerebralcortex isolierten Synaptosomen für die Serotoninaufnahme. Hierbei ergibt sich, daß die erfindungsgemäße Verbindung die Aufnahme von Norepinephrin wesentlich stärker hemmt als die anderen beiden Monoamine. Die IC_{50} -Werte für die Aufnahme von Dopamin bzw. von Serotonin betragen 4×10^{-6} Mol bzw. 1×10^{-6} Mol.

Die erfindungsgemäße Verbindung ist in ihrer Wirksamkeit selektiv, da sie die Aufnahme von Norepinephrin wesentlich stärker hemmt als die Aufnahme anderer Monoamine. Eine Reihe wirksamer antidepressiver Mittel zeigt ebenfalls eine besonders starke Wirksamkeit hinsichtlich der Aufnahme von Norepinephrin.

Die Hemmung der Aufnahme von Norepinephrin durch die erfindungsgemäße Verbindung ist ferner auch an lebenden Tieren untersucht worden. Hierzu werden männliche Sprague-Dawley-Ratten mit einem Gewicht von 110 bis 150 g verwendet, die man eingeteilt in Gruppen aus jeweils 5 Tieren mit der zu untersuchenden Verbindung in den angegebenen Dosen und angeführten Zeiten behandelt und durch Abschneiden der Köpfe tötet. Aus jedem Gehirn entnimmt man den Hypothalamus und homogenisiert ihn wie bei der obigen in-vitro-Untersuchung angegeben in einem Medium. Für die Untersuchungen verwendet man Teilmengen des Homogenisats, die 1 mg Protein enthalten. Inkubationszeit, Inkubationsmedium und Inkubationstemperatur entsprechen den bei den obigen Untersuchungen angegebenen Werten.

Verabreicht man die erfindungsgemäße Verbindung 1 Stunde vor der Tötung der Ratten intraperitoneal in einer Menge von 1, 3 und 10 mg/kg, dann ergibt sich eine Erniedrigung der Aufnahme an L^3H^7 -Norepinephrin um 35 %, 58 % und 68 % gegenüber dem Kontrollwert. Anhand von drei unabhängigen Bestimmungen berechnet man auch den ED_{50} -Wert, der sich hierbei zu 2,1 mg/kg ergibt. Ferner bestimmt man auch die ED_{50} -Werte für das (+)-Enantiomer und das Racemat, und diese Werte betragen 6,3 mg/kg bzw. 3,4 mg/kg.

Die Versuchsdaten werden auf andere Art zum Ausdruck gebracht, indem man den Blutspiegel der Verbindung gegen den Wert der Aufnahme von L^3H^7 -Norepinephrin aufträgt. Diese Auftragung ergibt für die erfindungsgemäße Verbindung eine ED_{50} -Konzentration im Blutplasma von etwa 14×10^{-9} g/ml. Für das (+)-Enantiomer beträgt der ED_{50} -Wert auf gleicher Basis 110×10^{-9} g/ml, und demnach nahezu das Achtfache.

Man beobachtet auch die Dauer der Hemmung der Norepinephrinaufnahme durch die erfindungsgemäße Verbindung, indem man entsprechende Versuchstiere, denen man 10 mg/kg der Verbindung gegeben hat, zu Zeiten von bis zu 4 Stunden nach erfolgter Wirkstoffverabreichung tötet. Hierbei ergibt sich, daß das Maximum einer Hemmung der Norepinephrinaufnahme bei über 80 % liegt und etwa 2 Stunden konstant bleibt. 4 Stunden nach Verabreichung beträgt die Hemmung noch etwa 65 %. Im Gegensatz dazu ergibt das (+)-Enantiomer eine maximale Hemmung von 70 %, die nach 2 Stunden bzw. nach 4 Stunden auf 50 % bzw. 35 % gefallen ist.

Das neurotoxische Mittel 6-Hydroxydopamin hat die Eigenschaft, daß es norepinephrinergische Endstellen des zentralen und peripheren Nervensystems zerstört. Drei Tage nach erfolgter intraventrikularer Injektion von 6-Hydroxydopamin an männliche Sprague-Dawley-Ratten ergibt sich ein

Abfall der Aufnahme von Norepinephrin durch die Synaptosome des Hypothalamus von einem Wert von $5,6 \times 10^{-12}$ Mol/mg Protein auf einen Wert von $2,2 \times 10^{-12}$ Mol/mg Protein. Verabreicht man die erfindungsgemäße Verbindung intraperitoneal vor der Injektion von 6-Hydroxydopamin, dann wird das Ausmaß der Norepinephrinaufnahme nicht so stark herabgesetzt. Dosen von 1,3 und 6 mg/kg ergeben eine Erniedrigung der Hemmung der Aufnahme um 15 %, 43 % und 70 %. Der ED_{50} -Wert berechnet sich zu 4 mg/kg. In gleicher Weise bestimmt man auch den ED_{50} -Wert des (+)-Enantiomers, und dieser ergibt sich dann zu etwa 22 mg/kg.

Anhand entsprechender in-vitro-Untersuchungen wird die anticholinergische Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Verbindung ermittelt.

Aufgrund der hierbei erhaltenen Versuchsergebnisse ist die anticholinergische Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Verbindung wesentlich niedriger als diejenige des entsprechenden (+)-Enantiomers oder des Racemats. Die anticholinergische Wirksamkeit ist eine schädliche Nebenwirkung einer Reihe von Arzneimitteln. Für diese Untersuchungen verwendet man 2 mm x 30 mm große Streifen aus frischer Trachea von Meerschweinchen. Die Streifen suspendiert man in 10 ml Organbädern, die eine physiologische Kochsalzlösung enthalten und eine Temperatur von $37,5^{\circ}\text{C}$ haben, und belüftet das Ganze mit einem Gemisch aus 5 % Kohlendioxid und 95 % Sauerstoff. Man befestigt die Trachealstreifen an isometrischen Überträgern, die mit einem automatischen Aufzeichnungsgerät verbunden sind, und läßt sie vor Zugabe des Wirkstoffs unter einer Spannung von 2 g wenigstens 2 Stunden äquilibrieren. Durch anschließende Zugabe zunehmend höher werdender Konzentrationen an Wirkstoff zum Bad in jeweils etwa dreifachen Anteilen gelangt man zu entsprechenden Dosis-Wirkungs-Kurven. Die Wirkstoffkonzentration wird erst dann erhöht, wenn die vorherige

Konzentration ihre maximale Wirksamkeit entfaltet hat und konstant geblieben ist. Aufeinanderfolgende Dosis-Wirkungs-Kurven mit einem bestimmten Gewebe sind stets durch einstündiges Waschen mit frischer physiologischer Kochsalzlösung unterbrochen, um hierdurch ein maximales Auswaschen des Wirkstoffs sicherzustellen.

Unter Verwendung von Acetylcholin als Agonist ermittelt man auch die Dissoziationskonstanten. Hierzu bestimmt man das Ausmaß der Konzentrationen an Acetylcholin, die gleiche Wirkungen ergeben, und zwar in Gegenwart sowie in Abwesenheit der erfindungsgemäßen Verbindung bei verschiedenen Konzentrationen dieser Verbindung. Der Logarithmus aus Dosisverhältnis - 1, aufgetragen gegen den negativen Logarithmus der molaren Konzentration der Verbindung, ergibt eine Gerade, deren Neigung stets nahe dem theoretischen Wert der Einheit entspricht. Die hierzu angewandte Berechnungsmethode wird in Brit. J. Pharmacol. 14, 48 bis 58 (1959) beschrieben.

Anhand der entsprechenden Aufzeichnungen ergibt sich für die erfindungsgemäße Verbindung ein negativer Logarithmus der Dissoziationskonstanten von 5,26, während die entsprechenden Werte für das (+)-Enantiomer und das Racemat bei 6,04 und 5,72 liegen. Die anticholinergische Wirksamkeit der erfindungsgemäßen Verbindung ist demnach nur ein Sechstel so groß wie die entsprechende Wirksamkeit des (+)-Enantiomers und lediglich ein Drittel so groß wie die des Racemats. Die Wahrscheinlichkeit für anticholinergische Nebeneffekte bei der erfindungsgemäßen Verbindung ist daher wesentlich geringer als beim entsprechenden (+)-Enantiomer oder Racemat.

Zur Beurteilung antidepressiver Arzneimittel bedient man sich des sogenannten Apomorphin-Hypothermie-Antagonismen-Versuchs, da Antidepressiva die durch Apomorphin hervorge-

rufene Erniedrigung der Körpertemperatur antagonisieren. Dieser Versuch wird wie folgt durchgeführt. Man spritzt Mäusen eine solche Dosis an Apomorphin, daß sich (rektal gemessen) eine Erniedrigung der Körpertemperatur um etwa 4°C ergibt. Die erfindungsgemäße Verbindung wird intraperitoneal 30 Minuten vor Injektion der jeweiligen Dosis an Apomorphin gespritzt, wobei man 30 Minuten nach erfolgter Injektion des Apomorphins die Körpertemperatur mißt. Die erfindungsgemäße Verbindung ergibt hierbei einen 50 %-igen Antagonismus der Hypothermie bei einer Dosis von 0,16 mg/kg. Sie ist demnach wesentlich wirksamer als das entsprechende (+)-Enantiomer, welches einen 50 %-igen Antagonismus erst bei einer Dosis von 2,26 mg/kg ergibt.

Ein ähnlicher Versuch wird durchgeführt, indem man das Apomorphin intraperitoneal und die erfindungsgemäße Verbindung oral verabreicht. Hierbei ergibt sich durch Verabreichung der erfindungsgemäßen Verbindung in einer Dosis von 1 mg/kg als höchster Antagonismus ein Wert von 35 %, während das entsprechende (+)-Enantiomer hier einen Wert von 50 % ergibt, jedoch nur in einer Dosis von 3 mg/kg.

Bei einem weiteren Versuch ermittelt man die elektrophysiologischen Einflüsse der erfindungsgemäßen Verbindung auf das Kardialleitungs-gewebe beim Kaninchen, das man gelegentlich auch als Purkinje-Fasern bezeichnet. Hierbei ergibt sich, daß die erfindungsgemäße Verbindung das Ausmaß des Anstiegs und der Dauer des Wirkungspotentials in einer Konzentration von 8×10^{-6} Mol unterdrückt, während sich der gleiche Effekt durch das (+)-Enantiomer erst bei einer Konzentration von 37×10^{-6} Mol und durch das Racemat erst bei einer Konzentration von 18×10^{-6} Mol erreichen läßt.

Man ermittelt auch die akute Toxizität der erfindungsgemäßen Verbindung, indem man diese Verbindung Mäusen in hohen Dosen spritzt. In Dosen von unter 90 mg/kg führt hierbei weder die erfindungsgemäße Verbindung noch das entsprechende (+)-Enantiomer zum Tod. Bei niedrigeren Dosen kommt es durch die erfindungsgemäße Verbindung offensichtlich zu einer Beeinflussung des zentralen Nervensystems, wobei dieser Einfluß innerhalb von 40 bis 60 Minuten jedoch rasch verschwindet. Ähnliche Einflüsse verursacht auch das (+)-Enantiomer bei vergleichbaren Dosen, doch halten diese wesentlich länger an. Eine mit dem (+)-Enantiomer in einer Dosis von 60 mg/kg behandelte Maus ist beispielsweise 5 Stunden nach erfolgter Verabreichung immer noch stimuliert.

Zur Anwendung der erfindungsgemäßen Verbindung als Antidepressivum verabreicht man diese Menschen, die an Depression leiden, in einer antidepressiv wirksamen Dosis. Solche antidepressiv wirksamen Dosen betragen beim Menschen etwa 0,1 bis 25 mg/kg oder etwa 6 bis 1500 mg/kg und Tag als Gesamtdosis. Die bevorzugten Dosen liegen bei etwa 0,5 bis 5 mg/kg oder etwa 30 bis 300 mg/Tag. Die Verbindung kann ein- oder mehrmals pro Tag verabreicht werden, indem man die jeweils geeignete Dosis für jede Verabreichung entsprechend unterteilt, oder sie läßt sich auch lediglich einmal verabfolgen. Der Verabreichungsweg für die erfindungsgemäße Verbindung ist nicht kritisch. Die Verbindung wird oral absorbiert, so daß eine orale Verabreichung gewöhnlich bevorzugt ist. Die Verbindung läßt sich jedoch auch subkutan verabreichen, beispielsweise durch Injektion, oder sie kann in besonderen Fällen auch auf anderem Weg verabfolgt werden, beispielsweise durch Sublingualblättchen oder durch Suppositorien.

Pharmazeutische Zubereitungen zur Verabreichung der erfindungsgemäßen Verbindung können in herkömmlicher Weise formuliert werden und die verschiedensten üblichen Formen haben. Für eine orale Verabreichung eignen sich gewöhnlich am besten Tabletten oder Kapseln, die die erfindungsgemäße Verbindung als Wirkstoff enthalten.

Kapseln der vorliegenden Verbindung lassen sich in üblicher Weise herstellen, indem man diese Verbindung einfach mit einem pharmazeutisch unbedenklichen Träger verdünnt und die jeweils gewünschte Menge hiervon in eine Kapsel geeigneter Größe abfüllt.

Tabletten sind bekanntlich etwas schwieriger herstellbar, können jedoch entweder durch direkte Kompression oder durch Granulierung und Kompression gebildet werden. Zur Herstellung von Tabletten, die die erfindungsgemäße Verbindung als Wirkstoff enthalten, können die üblichen Verdünnungsmittel, Exzipientien, Gleitmittel und Bindemittel verwendet werden, wie die später folgenden Beispiele zeigen.

Möchte man aus der erfindungsgemäßen Verbindung flüssige Dosierungsformen herstellen, dann soll diese Verbindung hierfür zweckmäßigerweise in Form eines wasserlöslichen Salzes vorliegen. Solche Salze lassen sich dann einfach in zur Injektion geeignetem Wasser lösen, oder sie können zur Bildung eines oral verabreichbaren Elixirs auch in Wasser gelöst werden, das entsprechende Aromastoffe enthält und mit pharmazeutisch unbedenklichen Konservierungsmitteln vermischt ist.

Oral verabreichbare Formulierungen der erfindungsgemäßen Verbindung sind bevorzugt, und bevorzugte Formulierungen hiervon sind Tabletten und Kapseln. Im allgemeinen enthalten solche Formulierungen etwa 5 bis 500 mg Wirkstoff

pro Dosierungseinheit, und vorzugsweise etwa 10 bis 100 mg Wirkstoff pro Dosierungseinheit.

Im folgenden werden verschiedene Beispiele für besonders geeignete Formulierungen der erfindungsgemäßen Verbindung beschrieben. In allen diesen Beispielen wird diese Verbindung als Hydrochlorid eingesetzt.

Kapseln

Kapsel mit einer Wirkstoffmenge von 5 mg

Wirkstoff	5 mg
vorgelatinisierte Stärke NF	295 mg

Wirkstoff und Stärke werden gründlich miteinander vermischt und in Hartgelatinekapseln abgefüllt.

Kapsel mit einer Wirkstoffmenge von 25 mg

Wirkstoff	25 mg
mikrokristalline Cellulose NF	123,4 mg
vorgelatinisierte Stärke NF	36,1 mg
flüssiges Silikon	1,9 mg

Das flüssige Silikon wird gründlich mit einem Teil der Exzipientien vermischt. Sodann gibt man den Wirkstoff und den Rest der Exzipientien zu und vermischt alles gründlich miteinander. Anschließend füllt man das erhaltene Gemisch in Hartgelatinekapseln ab.

Kapseln mit einer Wirkstoffmenge von 50 mg

Wirkstoff	50 mg
vorgelatinisierte Stärke NF	168,4 mg
Stärke NF	82,9 mg
flüssiges Silikon	1,6 mg

Die Herstellung solcher Kapseln wird genauso durchgeführt wie die oben beschriebene Herstellung der Kapsel mit einer Wirkstoffmenge von 25 mg.

Kapsel mit einer Wirkstoffmenge von 500 mg

Wirkstoff	500 mg
vorgelatinisierte Stärke NF	400 mg

Wirkstoff und Stärke werden gründlich miteinander vermischt und in Hartgelatine kapseln abgefüllt.

Tabletten

Direkte Verpressung zur Herstellung einer Tablette mit einer Wirkstoffmenge von 10 mg

Wirkstoff	10 mg
mikrokristalline Cellulose NF	233,7 mg
Stärke NF	45,0 mg
Stearinsäure NF	6,0 mg
Magnesiumstearat NF	3,0 mg
kolloidales Siliciumdioxid NF	0,9 mg

Der Wirkstoff und die anderen Ingredientien werden gründlich miteinander vermischt und dann zu Tabletten verpreßt.

Stückchenförmige Formulierung zur Herstellung von Tabletten mit einer Wirkstoffmenge von 25 mg

Wirkstoff	25 mg
mikrokristalline Cellulose NF	249,7 mg
Lactose USP	25,0 mg
vorgelatinisierte Stärke NF	10,0 mg
Stearinsäure NF	8,0 mg

Magnesiumstearat NF	3,3 mg
kolloidales Siliciumdioxid NF	2,4 mg

Wirkstoff, Lactose USP, vorgelatinisierte Stärke NF, 30% der mikrokristallinen Cellulose NF, 80% der Stearinsäure NF und 50% des kolloidalen Siliciumdioxids NF vermischt man gründlich miteinander und verpreßt das Ganze dann zu Stückchen. Die Stückchen werden zur Bildung von Granulaten gesiebt. Anschließend vermischt man die Granulate, Magnesiumstearat NF sowie die restliche mikrokristalline Cellulose NF, Stearinsäure NF und kolloidales Siliciumdioxid NF gründlich miteinander und verpreßt das Ganze zu Tabletten.

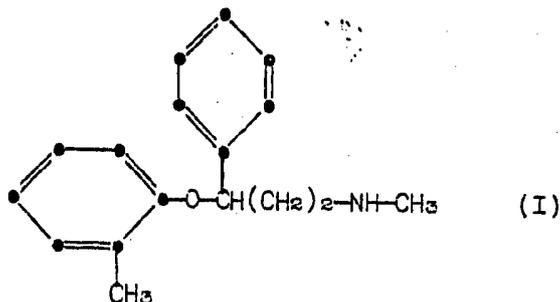
Naßgranulation zur Herstellung von Tabletten mit einer Wirkstoffmenge von 50 mg

Wirkstoff	50 mg
zweibasisches Calciumphosphat USP	112,9 mg
Lactose USP	105,0 mg
mikrokristalline Cellulose NF	60,0 mg
Stärke NF	9,0 mg
Stearinsäure NF	4,5 mg
Magnesiumstearat NF	1,5 mg

Man vermischt den Wirkstoff, das zweibasische Calciumphosphat USP und die Lactose USP gründlich miteinander und verarbeitet das Ganze anschließend mit einem 1:1-Gemisch aus denaturiertem Alkohol und gereinigtem Wasser USP zu einer feuchten Masse. Die feuchte Masse wird klassifiziert und getrocknet, und die getrocknete Masse wird zur Bildung von Granulaten gesiebt. Die Granulate vermischt man dann gründlich mit mikrokristalliner Cellulose NF, Stärke NF, Stearinsäure NF und Magnesiumstearat NF und verpreßt das Ganze anschließend zu Tabletten.

E r f i n d u n g s a n s p r u c h

Verfahren zur Herstellung des (-)-Enantiomers von
N-Methyl-3-(2-methylphenoxy)-3-phenylpropylamin der
Formel (I)



oder eines pharmazeutisch unbedenklichen Salzes hiervon,
dadurch g e k e n n z e i c h n e t , daß man

- (a) eine racemische Form der Verbindung der Formel (I) mit einer (+)-Säure umgesetzt und hierdurch ein Gemisch aus dem (+)(-)-Salz und dem (+)(+)-Salz bildet,
- (b) das (+)(-)-Salz von dem (+)(+)-Salz durch fraktionierte Kristallisation abtrennt,
- (c) das so erhaltene (+)(-)-Salz mit einer starken Base zur Reaktion bringt und hierdurch die (-)-Base der Formel (I) freisetzt und
- (d) die auf diese Weise erhaltene Base gewünschtenfalls ansäuert und so zu einem pharmazeutisch unbedenklichen Salz hiervon gelangt.