

## SYNTHESE VON [<sup>14</sup>C]CLOTRIMAZOL

W. Maul und D. Scherling

Isotopenlabor Chemie im Institut für Pharmakokinetik  
der BAYER AG, D-5600 Wuppertal 1, Friedrich-Ebert-Str. 217

Received March 28, 1977

### SUMMARY

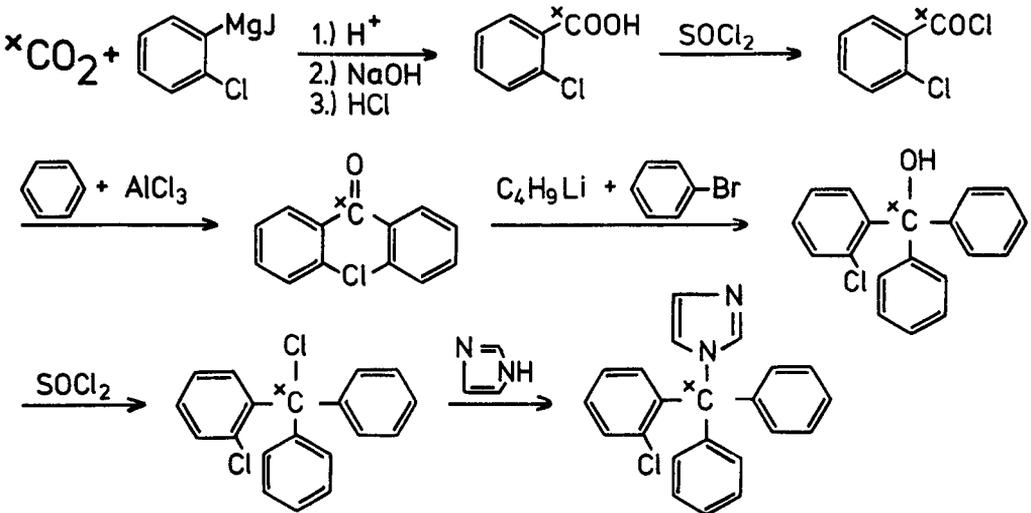
Clotrimazole is a new antimycotic agent. <sup>14</sup>C-labelled Clotrimazole was needed for the investigation of metabolism and pharmacokinetics of the drug in man and animal. 1-[(2-chlorophenyl)-diphenyl-<sup>14</sup>C]methyl-1H-imidazole (<sup>14</sup>C]Clotrimazole) was synthesized from barium[<sup>14</sup>C]carbonate (5 mmoles; 99.2 mCi) via 2-chloro-[carboxyl-<sup>14</sup>C]benzoic acid, 2-chloro-[carbonyl-<sup>14</sup>C]benzoylchloride, 2-chloro-[carbonyl-<sup>14</sup>C]benzophenone, [(2-chlorophenyl)-diphenyl]-<sup>14</sup>C]methanol and [(2-chlorophenyl)-diphenyl]-<sup>14</sup>C]methylchloride with an overall yield of 30 %, based on barium[<sup>14</sup>C]carbonate. A specific activity of 57 µCi/mg and a radiochemical purity of > 99 % were achieved.

Key words: synthesis, carbon-14, Clotrimazole, antimycotic agent.

Clotrimazol (1-{{(2-Chlorphenyl)-diphenylmethyl}}-1H-imidazol; Canesten<sup>(R)</sup>; BAY b 5097) ist ein neues Antimykotikum, das von Büchel, Draber, Regel und Plempel entwickelt wurde<sup>(1)</sup>. Sein Wirkungsspektrum schließt die Spektren von Amphotericin B und Griseofulvin ein. Clotrimazol wurde von Plempel und Bartmann<sup>(2)</sup> in vitro gegen Dermatophyten und Hefen sowie in vivo auf seine topische Wirkung bei Dermatomykosen geprüft. Studien zur systemischen Toxizität und lokalen Verträglichkeit wurden von Tettenborn<sup>(3)</sup> durchgeführt. Clotrimazol wirkt primär fungistatisch<sup>(4)</sup> und besitzt eine große therapeutische Breite.

Für eingehende Untersuchungen des Stoffwechsels und der Pharmakokinetik in Mensch<sup>(5,6)</sup> und Tier<sup>(7)</sup> wurde ein radioaktiv markiertes Präparat benötigt. Wir entschieden uns für eine Markierung des zentralen Methan-Kohlenstoffatoms von Clotrimazol, da zu erwarten war, daß dieses Atom bei der Biotransformation nicht als radioaktives Kohlendioxid abgespalten wird.

Die radioaktive Mikrosynthese wurde entsprechend dem folgenden Formelschema durchgeführt:



(R): Eingetragenes Warenzeichen der BAYER AG, Leverkusen

2-Chlor-[carboxyl- $^{14}\text{C}$ ]benzoesäure konnte nach einer Reihe von Vorversuchen mit guter Ausbeute hergestellt werden. Umsetzung des Grignardreagenz von 2-Brom-chlorbenzol oder des entsprechenden Lithium-organischen Reagenz mit Kohlendioxid<sup>(8)</sup> führte zu unbefriedigenden Ergebnissen. Bei Einsatz von 2-Chlorphenyl-magnesiumjodid waren hohe Ausbeuten realisierbar. Das entsprechende Säurechlorid ließ sich in guten Ausbeuten und hoher Reinheit herstellen. Die nachfolgende Friedel-Crafts-Acylierung von 2-Chlor-[carbonyl- $^{14}\text{C}$ ]benzoylchlorid mit Benzol zu 2-Chlor-[carbonyl- $^{14}\text{C}$ ]benzophenon wurde entsprechend allgemeinen Vorschriften durchgeführt.

Die Umsetzung des Keton zu {(2-Chlorphenyl)-diphenyl}-[ $^{14}\text{C}$ ]methanol verlief nur mit Phenyllithium zufriedenstellend. Mit Phenylmagnesiumbromid wurden sehr niedrige Ausbeuten erzielt. Reaktion von 2-Chlorbenzoesäure mit Phenylmagnesiumbromid direkt zum substituierten Tritylalkohol führte nicht zum Ziel. Die nachfolgende Umsetzung mit Thionylchlorid zu {(2-Chlorphenyl)-diphenyl}-[ $^{14}\text{C}$ ]methylchlorid ließ sich ohne Schwierigkeiten durchführen. Substitution mit Imidazol in Acetonitril als Reaktionsmedium lieferte 1-{(2-Chlorphenyl)-diphenyl}-[ $^{14}\text{C}$ ]methyl}-1H-imidazol (= [ $^{14}\text{C}$ ]Clotrimazol), das durch Umkristallisation aus Acetonitril gereinigt wurde.

Die spezifische Aktivität des markierten Präparates betrug 57  $\mu\text{Ci}/\text{mg}$  bei einer Gesamtausbeute von 30 %, bezogen auf eingesetztes Barium[ $^{14}\text{C}$ ]carbonat.

Die Reinheitsprüfung erfolgte mittels zweidimensionaler Dünnschichtchromatographie, Autoradiographie der DC-Platte und Liquid-Scintillation-Messung der ausgekratzten radioaktiven Zonen in Insta-Gel.

## EXPERIMENTELLER TEIL

2-Chlor-[carboxyl-<sup>14</sup>C]benzoesäure

Aus 987 mg Barium[<sup>14</sup>C]carbonat (5 mMol; 99,2 mCi lt. Angaben des Herstellers Amersham Buchler, Braunschweig) wurde in der evakuierten Syntheseapparatur mit 15 ml konz. Schwefelsäure [<sup>14</sup>C]Kohlendioxid freigesetzt, das auf 7 mMol 2-Chlorphenyl-magnesiumjodid in 7,6 ml abs. Äther kondensiert wurde (Kühlung mit flüssigem Sauerstoff). Nach der Abnahme des Kolbens von der Apparatur und dem Auftauen des Reaktionsgemisches unter fließendem Wasser wurde eine Minute kräftig geschüttelt; dieser Vorgang (Einfrieren, Auftauen, eine Minute Schütteln) wurde noch zweimal wiederholt. Nach erneutem Abkühlen wurden 5 ml 2N-Schwefelsäure in den Reaktionskolben eingesaugt, der Kolbeninhalt aufgetaut und die wässrige Phase nach dem Belüften des Kolbens zusammen mit 0,5 ml Waschwasser verworfen. Die ätherische Lösung wurde zweimal mit je 2,5 ml 1N-Natronlauge extrahiert und zweimal mit je 0,5 ml Wasser gewaschen. Die vereinigten wässrigen Extrakte wurden mit Kieselgur versetzt, erhitzt und heiß filtriert. Aus der gekühlten Lösung wurde 2-Chlor-[carboxyl-<sup>14</sup>C]benzoesäure mit 1 ml konz. Salzsäure in Form farbloser Kristalle ausgefällt und nach 3 Stunden Kühlung abfiltriert. Nach dem Trocknen über Kaliumhydroxid fielen 652 mg Säure (83 % d.Th.) an, Fp. 140°.

2-Chlor-[carbonyl-<sup>14</sup>C]benzoylchlorid

Eine Lösung von 652 mg 2-Chlor-[carboxyl-<sup>14</sup>C]benzoesäure (4,16 mMol) in 18 ml Thionylchlorid (frisch destilliert über Leinöl<sup>(9)</sup>) wurde 15 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels wurde der dunkelgrüne Rückstand im Kugelrohr bei 15 Torr und 80 bis 120° destilliert, wobei 603 mg farbloses 2-Chlor-[carbonyl-<sup>14</sup>C]benzoylchlorid (83 % d.Th.) erhalten wurden.

2-Chlor-[carbonyl- $^{14}\text{C}$ ]benzophenon

Zu einer Lösung von 603 mg 2-Chlor-[carbonyl- $^{14}\text{C}$ ]benzoylchlorid (3,45 mMol) in 5 ml abs. Benzol (56,4 mMol) wurden unter Rühren und Eiskühlung 1,58 g Aluminiumchlorid (11,8 mMol; unmittelbar vor Reaktionsbeginn zweifach sublimiert) gegeben. Nach 10 Stunden Rühren unter Rückfluß und 6 Stunden bei Raumtemperatur wurde das braune Reaktionsgemisch auf ca. 25 g Eis gegossen. Unter Rühren wurden 0,1 ml konz. Salzsäure zugegeben; die wässrige, benzolhaltige Lösung wurde dreimal mit je 7 ml Äther extrahiert. Die vereinigten ätherischen Extrakte wurden einmal mit 1 ml 2N Natronlauge und 1 ml Wasser gewaschen, mit Natriumsulfat getrocknet und mit Aktivkohle entfärbt. Die ätherische Lösung wurde auf 2 ml eingeengt. Über Nacht im Kühlschrank kristallisierten 623 mg 2-Chlor-[carbonyl- $^{14}\text{C}$ ]benzophenon (83 % d.Th.) aus; Fp. 42°.

{{(2-Chlorphenyl)-diphenyl}-[ $^{14}\text{C}$ ]methanol

Eine Lösung von 4 mMol Butyllithium in 2,4 ml abs. Äther und 0,46 ml Brombenzol (4,34 mMol) in 5 ml abs. Äther wurde 15 Minuten unter Stickstoff bei Raumtemperatur gerührt; unter Eiskühlung wurde eine Lösung von 623 mg 2-Chlor-[carbonyl- $^{14}\text{C}$ ]benzophenon (2,88 mMol) in 8,6 ml abs. Äther innerhalb von 15 Minuten zugetropft; nach 3 Stunden Rühren bei Raumtemperatur wurden unter Kühlung 3 ml 2N-Schwefelsäure zugetropft, die wässrige Phase abgetrennt und verworfen. Der ätherische Extrakt wurde mit Natriumsulfat getrocknet, mit Aktivkohle entfärbt und heiß filtriert. Nach dem Einengen auf 2 ml kristallisierten bei 4 °C 763 mg {{(2-Chlorphenyl)-diphenyl}-[ $^{14}\text{C}$ ]methanol (90 % d.Th.) aus; Fp. 90°.

{{(2-Chlorphenyl)-diphenyl}-[<sup>14</sup>C]methylchlorid

Eine Lösung von 763 mg {{(2-Chlorphenyl)-diphenyl}-[<sup>14</sup>C]methanol (2,6 mMol) in 8,5 ml Thionylchlorid (destilliert über Leinöl<sup>(9)</sup>) wurde 6 Stunden unter Rückfluß erhitzt. Nach dem Abdampfen des Lösungsmittels wurde das Reaktionsprodukt in Cyclohexan aufgenommen; die braune Lösung wurde mit Aktivkohle entfärbt, heiß filtriert und auf ca. 2 ml eingengt. Über Nacht im Kühlschrank fielen 608 mg {{(2-Chlorphenyl)-diphenyl}-[<sup>14</sup>C]methylchlorid (75 % d.Th.) an; Fp. 132°.

1-{{(2-Chlorphenyl)-diphenyl}-[<sup>14</sup>C]methyl}-1H-imidazol

Eine Lösung von 608 mg {{(2-Chlorphenyl)-diphenyl}-[<sup>14</sup>C]methylchlorid (1,94 mMol) und 303 mg Imidazol (4,46 mMol) in 3 ml Acetonitril wurde unter Rühren 6 Stunden auf 95° erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde das Reaktionsprodukt durch Zugabe von 9 ml Wasser als Öl ausgefällt, das bei 4 °C über Nacht kristallisierte. Nach dem Abfiltrieren wurde das Rohprodukt in 10 ml Acetonitril aufgenommen; die Lösung wurde mit Aktivkohle behandelt, heiß filtriert und auf ca. 2 ml eingengt. Nach 3 Stunden in der Kälte kristallisierten 552 mg 1-{{(2-Chlorphenyl)-diphenyl}-[<sup>14</sup>C]methyl}-1H-imidazol aus, die erneut aus Acetonitril umkristallisiert wurden. Die Ausbeute betrug 517 mg (entsprechend 77 % d.Th., bzw. 30 %, bezogen auf Bariumcarbonat), farblose, kurze Nadeln; Fp. 144°.

Die gemessene spezifische Aktivität<sup>\*)</sup> des Präparates betrug ca. 57 µCi/mg. 16,3 mg [<sup>14</sup>C]Clotrimazol wurden mit 75 mg nicht markiertem Material geträgert, so daß nach erneuter Umkristallisation 68 mg Substanz mit einer spezifischen Aktivität von ca. 10 µCi/mg resultierten.

---

\*) Herrn Dr. Wegner, Isotopenlabor Technik der BAYER AG, danken wir für die Durchführung aller Messungen.

Die Reinheitsprüfung erfolgte mit Hilfe zweidimensionaler Dünnschichtchromatographie (DC-Fertigplatte Kieselgel 60 F<sub>254</sub>, Merck; A: Benzol-Methanol (80 + 20) [Rf 0,57] und senkrecht dazu B: Methanol [Rf 0,64]) und Autoradiographie der Dünnschichtplatte. Die ausgekratzenen radioaktiven Zonen wurden mit Hilfe der Liquid-Szintillations-Technik in Insta-Gel gemessen. Die radiochemische Reinheit betrug > 99 %.

## LITERATUR

- (1) Büchel K.H., Draber W., Regel E. und Plempel M. - *Arzneim.-Forsch. (Drug Res.)* 22: 1260 (1972)
- (2) Plempel M. und Bartmann K. - *ibid.* 22: 1280 (1972)
- (3) Tettenborn D. - *ibid.* 22: 1272 (1972)
- (4) Freis A. - *ibid.* 22: 1289 (1972)
- (5) Duhm B., Maul W., Medenwald H., Patzschke K., Wegner L.A. und Oberste-Lehn H. - *ibid.* 22: 1276 (1972)
- (6) Duhm B., Maul W., Medenwald H., Patzschke K., Pütter J. und Wegner L.A. - *Postgr.Med.Journal* July 1974: 13-16
- (7) Duhm B., Maul W., Medenwald H., Patzschke K. und Wegner L.A. - unveröffentlichte Ergebnisse
- (8) Murray A. III und Williams D.L. - *Organic Synthesis with Isotopes* Vol. I: 34; Interscience Publishers Inc., New York 1958
- (9) Fieser M. und Fieser L.F. - *Reagents for Organic Synthesis* Vol. III: 290; Wiley-Interscience, New York 1972