

SYNTHESE VON 1,1'-HEXAMETHYLEN-bis- $\left\{5-(4\text{-CHLOR}[2(n)\text{-}^3\text{H}]\text{-PHENYL})\text{-BIGUANID}\right\}$ -DIGLUCONAT (^3H -CHLORHEXIDIN-DIGLUCONAT).

Franz A. Drahowzal⁺ und Franz Wiesinger^x
 Techn. Universität Wien und Forschungszentrum
 Seibersdorf der Österreichischen Studiengesellschaft
 für Atomenergie Ges. m. b. H.

Received May 9, 1977

SUMMARY

^3H -Chlorohexidine dihydrochloride is obtained from the reaction of 1,6-hexamethylenediamin dihydrochloride with 4-chloro $[2(n)\text{-}^3\text{H}]$ phenyl dicyandiamide. The later has resulted from condensation of 4-chloro- $[2(n)\text{-}^3\text{H}]$ anilin with dicyandiamide. By hydrogenation of 4-chloro-2-jodoanilin with gaseous tritium the 4-chloro $[2(n)\text{-}^3\text{H}]$ anilin is formed.

Kennworte: Katalytische Hydrierung, 4-Chlor $[2(n)\text{-}^3\text{H}]$ anilin, ^3H -Chlorhexidin dihydrochlorid

EINLEITUNG

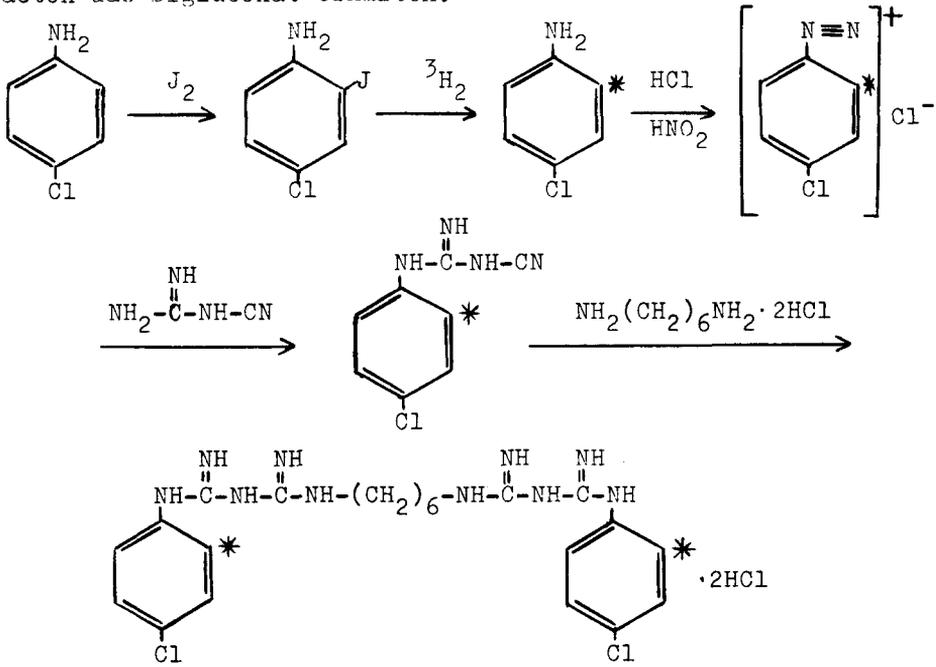
Chlorhexidin, ein stark wirkendes Antiseptikum, ist in Form seines D-Gluconates ein Bestandteil des in der Milchwirtschaft äußerlich verwendeten Desinfektionsmittels "Miwisupersept" (1). Um davon in Milch geringste Mengen quantitativ bestimmen zu können, wurde die mit Tritium markierte Verbindung für Tierversuche benötigt (2), (3).

Zur Synthese wurde erst 4-Chlor $[2(n)\text{-}^3\text{H}]$ anilin dargestellt, aus diesem dann 4-Chlor $[2(n)\text{-}^3\text{H}]$ phenyl-dicyandiamid gewonnen, das mit Hexamethylen-diamindihydrochlorid umgesetzt, ^3H -Chlorhexidin-

⁺Abteilung "Markierte organische Verbindungen" der T. U. Wien, Getreidemarkt 9, A-1060 Wien, Austria.

^xInstitut f. Chemie, Forschungszentrum Seibersdorf, A-2444 Seibersdorf, Austria.

dihydrochlorid lieferte (4). Daraus wurde mit D-Gluconsäure- δ -lacton das Digluconat erhalten.



Die Markierung mit Tritium erfolgte im aromatischen Kern des 4-Chlorphenylrestes. In der Literatur wird dafür der katalytische Austausch von Halogen, vor allem von Jod mit Tritium bevorzugt. Die dort angegebenen Verfahren (5), (6) zur Gewinnung tritierter Halogenbenzole bzw. Phenole gaben uns kein befriedigendes Ergebnis, da das beschriebene Pd/BaCO₃ zu wenig aktiv war, während bei Verwendung von Pd/C und Lauge die Geschwindigkeit der Wasserstoffaufnahme auch nach beendetem Jodaustausch nicht merklich absank. Erst nach Modifikation obzittierter Methoden verlangsamte sich nach beendeter Jodsubstitution der Wasserstoffverbrauch dermaßen, daß bei rechtzeitigem Abbruch der Gaszufuhr Chloraustausch vermeidbar war.

Das 4-Chlor-2-jodanilin wurde nach F. B. DAINS u. Mtb. (7) dargestellt. Da so jodiertes 4-Chloranilin als 4-Chlor-2-jodanilin identifiziert worden ist (8), haben wir die daraus durch Jodsubstitution erhaltene Verbindung als 4-Chlor[2(n)-³H]anilin

bezeichnet. Für die nachfolgenden Syntheseschritte wurde mit inaktivem 4-Chloranilin verdünnt.

EXPERIMENTELLER TEIL

4-Chlor-2-jodanilin :

Das von F. B. DAINS u. Mtb. (7) beschriebene Verfahren wurde durch nachfolgende Arbeitsweise auch für kleine Ansätze geeignet: Zu einer Mischung von 1,27 g (10 mMol) 4-Chloranilin, 1,6 g (22 mMol) NaHCO₃ und 10 ml Wasser, die auf 10° abgekühlt worden war, wurden 2,5 g (20 mMol) fein gepulvertes Jod innerhalb von 30 Minuten portionsweise unter Rühren zugesetzt. 15 Minuten wurde nachgerührt, dann die dunkle, schmierige Masse zentrifugiert und weitgehend von Wasser befreit. Aus dem feuchten Rückstand extrahierte man mit heißem Petroläther das rohe 4-Chlor-2-jodanilin, das zur Reinigung nochmals aus Petroläther umkristallisiert wurde. Ausbeute: 1,64 g (6,5 mMol = 65 % d. Th.), Fp. = 44-46°, Lit.(7) = 46°.

4-Chlor[2(n)-³H]anilin :

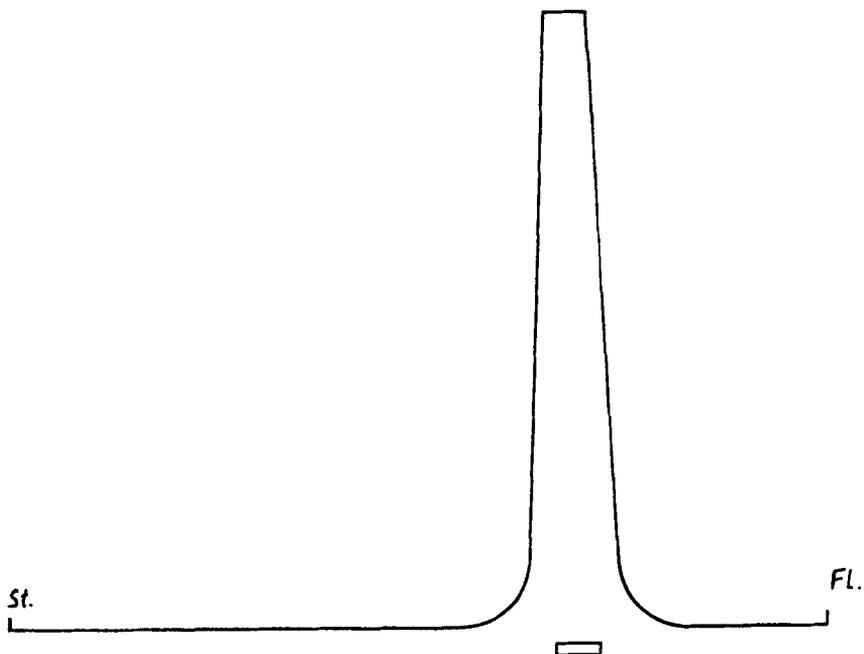
250 mg (1 mMol) 4-Chlor-2-jodanilin und 100 mg (1,2 mMol) trockenes Natriumacetat wurde nach Zugabe von Platinoxid (Adams-Katalysator) in 3 ml Methanol gelöst. Die im Vakuum unter Kühlung mit flüssiger Luft entgaste Suspension wurde unter Normaldruck bei 10° mit einem Wasserstoff-Tritiumgemisch, enthaltend etwa 10 Ci ³H₂, so hydriert, daß mittels Gasbürette die Reaktionsgeschwindigkeit laufend verfolgt werden konnte. Nach 10 Minuten verlangsamte sich die Wasserstoffaufnahme deutlich, es waren 24 ml H₂-³H₂ (1,1 mMol) verbraucht worden. Die Hydrierung wurde abgebrochen, der Katalysator abzentrifugiert und die Lösung im Vakuum zur Trockene eingedampft. Zur Entfernung des nicht bei dieser Abdestillation von Methanol mitgenommenen labilen Tritiums löste man den Rückstand in heißer Salzsäure, machte alkalisch und ätherte aus. Der mehrmals mit Wasser gewaschene Ätherextrakt wurde getrocknet, der Äther entfernt und aus Petroläther bis zu

konstanter spezifischer Aktivität umkristallisiert.

Ausbeute: 100 mg (0,784 mMol = 78,4 % d. Th.), Fp. = 64°.

Aktivität: 1,7 Ci, das sind 2,16 Ci/mMol.

Radio-Dünnschichtchromatogramm von 4-Chlor[2(n)-³H] anilin-HCl



auf Merk-Fertigplatte Kieselgel 60 und als Laufmittel eine Mischung von Benzol und Methanol = 9 : 1, R_f -Wert = 0,7.

Messung mit Dünnschicht-Scanner II der Firma Berthold:

Vorschubgeschwindigkeit: 1200 mm/h

Empfindlichkeit 10 K d.h. Vollausschlag bei 10.000 dps

Zeitkonstante (Dämpfung) = 1.

4-Chlor[2(n)-³H] phenyl-dicyandiamid :

100 mg (0,784 mMol) 4-Chlor[2(n)-³H] anilin von 1,7 Ci (spez. Aktivität = 2,16 Ci/mMol) wurden mit 1,1 g (8,63 mMol) inaktivem 4-Chloranilin verdünnt und in der Hitze in 6 ml Salzsäure (conc.HCl, verdünnt mit gleichem Volumen H₂O) gelöst. Unter Rühren wurde auf 5° abgekühlt und eine kalte Lösung von 0,66 g (9,56 mMol) Natriumnitrit in 2 ml Wasser zugetropft. Man rührte

einige Minuten nach und tropfte die klare Lösung in eine Mischung von 0,88 g (10,5 mMol) Dicyandiamid, 1,5 g (14,2 mMol) Na₂CO₃ und 30 ml Wasser so ein, daß das Reaktionsgemisch alkalisch blieb. Das als pulveriger Niederschlag ausgefallene Triazin wurde abgesaugt, mit Wasser gewaschen und möglichst rasch in eine Lösung von 1,1 ml conc. Salzsäure in 10 ml Aceton bei 20° eingetragen. Nach beendeter Stickstoffentwicklung konnte mit 70 ml Wasser 4-Chlor[2(n)-³H]phenyl-dicyandiamid kristallin ausgefällt werden, das abgesaugt, gewaschen und getrocknet wurde.

Ausbeute: 1,26 g (6,48 mMol = 68,8 % d. Th.)

Aktivität: 1,17 Ci = 68,8 % d. Th. (180,5 mCi/mMol).

³H-Chlorhexidin dihydrochlorid :

Obigen 1,26 g (6,48 mMol) 4-Chlor[2(n)-³H]phenyl-dicyandiamid (1,17 Ci = 180,5 mCi/mMol) wurden 1,56 g (8,02 mMol) inaktive Verbindung zugesetzt. Diese 2,82 g (14,5 mMol = 80,7 mCi/mMol) wurden einer unter Rückfluß siedenden Suspension, bereitet aus 1,37 g (7,25 mMol) Hexamethyldiamin-dihydrochlorid und 6 ml n-Butylacetat, chargenweise zugegeben. Nach 20 Stunden Rühren unter Rückfluß (130°) wurde erkalten gelassen und die gebildete Kristallmasse abgesaugt. Zweimaliges Umkristallisieren aus heißem Methanol unter Behandlung mit Aktivkohle gab reines ³H-Chlorhexidin dihydrochlorid vom Fp = 260°, der mit dem der inaktiven Substanz identisch war und das auch mit dieser keine Schmelzpunktsdepression zeigte.

Ausbeute : 1,22 g (2,11 mMol = 29,2 % d. Th.)

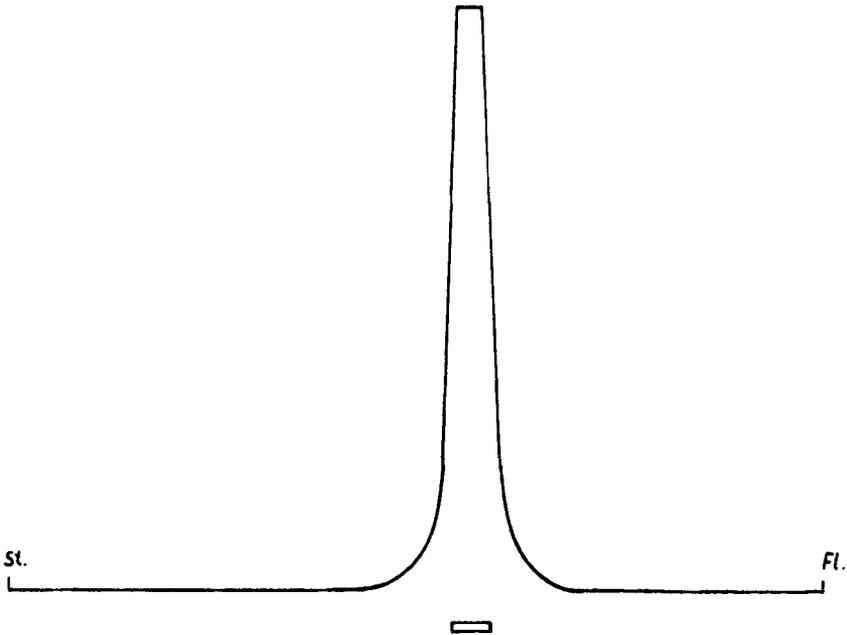
Aktivität: 325 mCi = 27,8 % d. Th. (29,2 % d. Th. = 340,5 mCi),

oder 19,1 % ³H bezogen auf eingesetztes 4-Chlor[2(n)-³H]anilin.

Die darauf bezogene chemische Ausbeute hat 20,0 % betragen. Die spezifische Aktivität war zufolge der in beiden Reaktionsstufen durchgeführten Verdünnung auf 154 mCi/mMol (theor.: 161 mCi/mMol) abgesunken. Zuzufolge der scharfen Reaktionsbedingungen der letzten Stufe ist denkbar, daß Aktivitätsverlust in kleinem Ausmaße durch

Tritiumaustausch erfolgt.

Radio-Dünnschichtchromatogramm von ^3H -Chlorhexidin dihydrochlorid



auf Merck-Fertigplatte Kieselgel 60 und als Laufmittel eine Mischung von Butanol, Eisessig und Wasser = 3 : 1 : 1, $R_f = 0,57$.

Messung mit Dünnschicht-Scanner II der Firma Berthold:

Vorschubgeschwindigkeit: 1200 mm/h

Empfindlichkeit 1 K d. h. Vollausschlag bei 1000 dps

Zeitkonstante (Dämpfung) = 3.

Bei Benzol und Methanol = 9 : 1 als Laufmittel:

^3H -Chlorhexidin-2HCl sowie inaktives Chlorhexidin $R_f = 0,2$

4-Chlor[2(n)- ^3H] anilin sowie 4-Chloranilin-HCl $R_f = 0,7$

4-Chlor-2-jodanilin-HCl $R_f = 0,91$

Anilin-HCl $R_f = 0,0$

^3H -Chlorhexidin-digluconat :

Man löste 1,22 g (2,11 mMol) ^3H -Chlorhexidin dihydrochlorid in Methanol, versetzte mit der stöchiometrischen Menge 0,5 normaler alkoholischer NaOH und dampfte im Vakuum zur Trockene ein. Das so gebildete NaCl wurde mit Wasser bis zur chloridfreien Reaktion

entfernt und die wässrige Suspension unter leichtem Erwärmen und Rühren mit 0,775 g (4,35 mMol) D-Gluconsäure- δ -lacton versetzt. Die klare Lösung hatte $p_H = 6$, die Umsetzung war quantitativ.

Das mit 2,32 g (2,59 mMol) inaktiver Substanz auf eine Lösung von 10 % eingestellte Endprodukt (4,70 mMol = 69 mCi/mMol) enthielt insgesamt 325 mCi Tritium.

Bei diesem Syntheseweg ist stabile Tritierung nur von der Abhydrierung des Jods mittels Tritium zu erwarten, denn unter allen angewandten Bedingungen erfolgt zersetzungsfreier Ersatz von an Kohlenstoff gebundenem Wasserstoff durch Tritium nach unseren Beobachtungen (9) nur in vernachlässigbarem Ausmaße.

ACKNOWLEDGEMENT

Für wertvolle Hinweise und für die Unterstützung bei der Durchführung der Markierung danken wir noch besonders Herrn Dr. Grablowitz vom Forschungslaboratorium der Firma Arcana.

LITERATUR

1. Registrierte Marke der Firma Arcana, A-9800 Spittal/Drau, Austria.
2. Leibetseder J. und Brantl E., Veterinärmed. Univ. Wien, Veröffentlichung in Vorbereitung.
3. Über die Synthese von ¹⁴C-Benzalkon B gluconat, dem zweiten wirksamen Bestandteil, berichten wir gesondert.
4. Mitteilung des Forschungslaboratoriums der Firma Arcana.
5. OTTO P. und JUPPE G., J. Labelled Compds., 1, 115 (1965).
6. HESSELBO T., Intern. J. Appl. Radiation and Isotopes, 16, 329 (1965).
7. DAINS F.B., VAUGHAN T.H. u. JANNEY W.H., J. Am. Chem. Soc., 40, 932 (1918).
8. DAINS F.B. u. MAGERS A.W., J. Am. Chem. Soc., 52, 1573 (1930).
9. DRAHOWZAL F.A. u. WIESINGER F., Chem. Pharm. Bull., 23, 2944 (1975).