

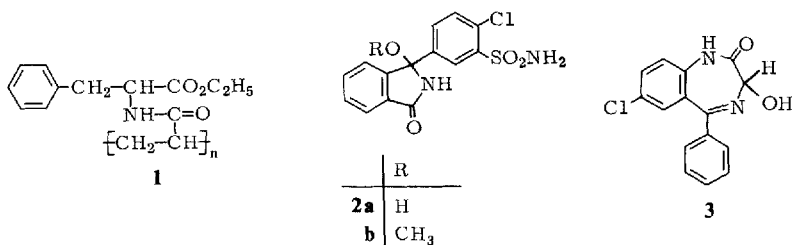
Chromatographische Racemattrennungen, IX¹⁾**Chlortalidon-, Chlortalidon-methylether- und Oxazepam-Enantiomere***Gottfried Blaschke* und Hildegunde Markgraf²⁾*Pharmazeutisches Institut der Universität Bonn,
An der Immenburg 4, D-5300 Bonn 1

Eingegangen am 5. November 1979

Chromatographic Resolutions of Racemates, IX¹⁾**Chlorotalidone-, Chlorotalidone Methyl Ether-, and Oxazepam Enantiomers**

The racemic drugs chlorotalidone (**2a**) and oxazepam (**3**) are completely, chlorotalidone methyl ether (**2b**) partially resolved by chromatography on the optically active amide **1**. **2a** and **3** racemize under the influence of acids and bases.

Durch Chromatographie an optisch aktiven Polyamiden wie dem Phenylalaninderivat **1** werden Racemate zumindest teilweise in Enantiomere aufgetrennt³⁾. Nachfolgend berichten wir über weitere chromatographische Racemattrennungen am Beispiel von Arzneistoffen.

**Chlortalidon (2a)**

Beim Diureticum Chlortalidon (**2a**) sind die üblichen Methoden zur Herstellung der Enantiomeren ungeeignet. So ist die Synthese aus optisch aktiven Vorstufen nicht möglich, weil das Chiralitätszentrum, Teil einer acylierten Halbaminalkstruktur, erst in der letzten Stufe der Synthese gebildet wird⁴⁾. Ebenso fehlen zur konventionellen Racematspaltung geeignete funktionelle Gruppen.

2a wird durch Chromatographie am optisch aktiven Polyamid **1**⁵⁾ im präparativen Maßstab vollständig getrennt. Wie bei früheren Versuchen³⁾ ist die Racemattrennung an der gleichen Säulenfüllung ohne Änderung der Trennwirkung beliebig oft wiederholbar. Erhöhung der Säulentemperatur nach Elution des (–)-Enantiomeren beschleunigt die Elution der stärker gebundenen (+)-Form und verkürzt damit die Trennung (Abb. 1).

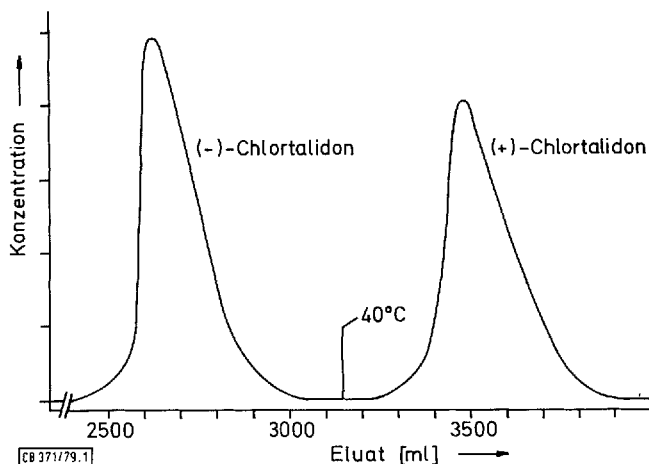
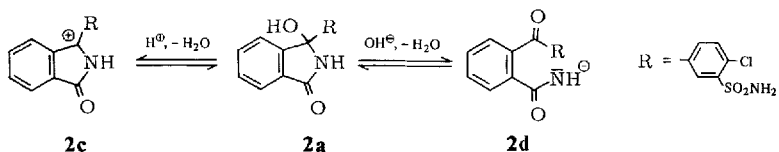


Abb. 1. Chromatographie von 530 mg Chlortalidon (**2a**) an 250 g 1. Säule 76×3.2 cm, Fließmittel Toluol/Dioxan (1:1)

Die nach Abdampfen der beiden Fraktionen in quantitativer Ausbeute erhaltenen optisch reinen Enantiomeren ergeben nach Umkristallisieren analysenreine Präparate vom Schmelzpunkt 264°C (Zers.) und den spezifischen Drehwerten $[\alpha]_{589}^{20} = -140.1^\circ$ sowie 140.9° in Dioxan. Optisch aktives **2a** ist im pH-Bereich von 2–4 konfigurationsstabil, racemisiert aber in stärker saurer und alkalischer Lösung (Tab.)⁶. Die nach dem Zeitgesetz 1. Ordnung ablaufende Racemisierung dürfte im sauren Bereich über die Protonierung der OH-Gruppe und Wasserabspaltung zum achiralen Carbenium-Immonium-Ion **2c**⁴⁾, im alkalischen Bereich über eine Dissoziation des Protons der OH-Gruppe und Ringöffnung unter Bildung des achiralen Benzophenonderivates **2d** erfolgen. Wegen der leichten Racemisierbarkeit im alkalischen Bereich ist die pharmazeutische Anwendung des optisch aktiven Chlortalidons nicht sinnvoll.



Tab.: Racemisierungsgeschwindigkeit von (–)-Chlortalidon [(–)-**2a**]

pH	Halbwertszeit (min)	pH	Halbwertszeit (min)
0.0	11.6	4.0	$\infty^{\text{a)}$
1.2	432	6.0	40.0
2.2	$\infty^{\text{a)}$	7.4	2.9
3.0	$\infty^{\text{a)}$		

^{a)} Im Beobachtungszeitraum von 7 h konfigurationsstabil.

Chlortalidon-methylether (2b)

Der Methylether **2b** wird im Vergleich zur Hydroxyverbindung **2a** an **1** rasch eluiert und nicht mehr vollständig getrennt. Dennoch wird die Hauptmenge an beiden Enantiomeren in Anfangs- bzw. Endfraktionen annähernd gleichen spezifischen Drehwerts und damit optisch rein erhalten. Bestätigt wird die optische Reinheit durch erneute Chromatographie der vereinigten Anfangsfraktionen gleichen spezifischen Drehwerts, wobei nur ein symmetrischer Peak mit der Retentionszeit von $(-)$ -**2a** erscheint.

Oxazepam (3)

Auch vom Psychopharmakon Oxazepam (Adumbran®) (**3a**) waren die optischen Formen bisher nicht bekannt. Beim Versuch, das konventionell getrennte Hemisuccinat von **3** in optisch aktives **3** zu überführen⁸⁾, racemisierte die Probe vollständig.

Chromatographie von 300 mg **3** an **1** ergibt ähnlich wie bei **2b** keine vollständige Trennung. Dagegen erhält man bei der Wiederholung mit weniger Racemat eine vollständige Trennung mit substanzfreiem Eluat von 25 ml zwischen beiden Enantiomeren (Abb. 2).

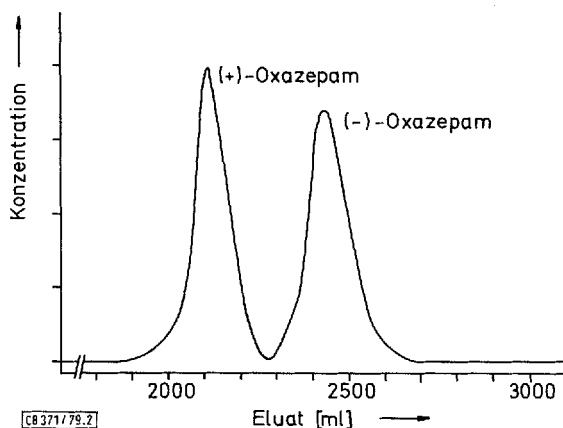


Abb. 2. Chromatographie von 45.6 mg Oxazepam (**3**) an 250 g **1**. Säule 76 × 3.2 cm, Fließmittel Toluol/Dioxan (1 : 1)

Optisch aktives **3** racemisiert teilweise schon beim Einengen des Eluats in Glasgefäßen. Diese Racemisierung dürfte unter Ringöffnung zum tautomeren, achiralen Iminoaldehyd erfolgen⁸⁾. Dagegen erhält man beim Abdunsten des Lösungsmittels in Kunststoffgefäßen weitgehend enantiomerenreine Präparate.

Für leicht racemisierende Verbindungen wie Oxazepam ist die chromatographische Racemattrennung somit die einzige Möglichkeit zur Gewinnung der Enantiomeren. Der spezifische Drehwert von **3**, aus dem polarimetrisch direkt nach der Elution in der Durchflußküvette gemessenen Drehwert und der spektralphotometrisch bestimmten Konzentration berechnet, liegt mit $[\alpha]_{365} = -1519/-1513^\circ$ sowie $[\alpha]_{589} = 433/-431^\circ$ ungewöhnlich hoch.

Natriumalkoholat gibt mit $(-)$ - bzw. $(+)$ -Oxazepam jeweils das ebenfalls links- bzw. rechtsdrehende Dinatriumsalz von **3**. Da bei der Alkoholyse des (S) -konfigurierten Hemisuccinats von **3** rechtsdrehendes Dinatriumsalz erhalten worden war⁸⁾ und diese Reaktion unter Erhaltung der Konfiguration erfolgte, ist $(+)$ -**3** *S*-, $(-)$ -**3** *R*-konfiguriert.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sowie dem Ministerium für Jugend, Familie und Gesundheit danken wir für Sachmittel.

Experimenteller Teil

Chromatographie: Die Suspension von 250 g vernetztem Poly[(S)-N-acryloylphenylalanin-ethylster] (**1**)⁵ in Toluol/Dioxan (1:1), eingefüllt in eine mit Teflonstempeln abgedichtete thermostatisierbare Chromatographiesäule des inneren Durchmessers 3.2 cm (Fa. Quickfit), ergab eine 76 cm hohe Trennschicht mit einem Totvolumen von 700 ml. Das Racemat wurde als gesättigte Lösung in Toluol/Dioxan (1:1) aufgetragen und mit dem gleichen Fließmittel bei einem Druck von 2.2 bar (Duramat Membranpumpe der Fa. Cfg, Heidelberg) chromatographiert, wobei die Fließgeschwindigkeit von 50 ml/h resultierte. Das Eluat wurde über Durchflußküvetten eines Spektralphotometers (Fa. Knauer) und Polarimeters (Fa. Perkin-Elmer, Typ 241 mit Geberereinheit für Kompensationsschreiber, 1-dm-Küvette) geleitet und fraktioniert aufgefangen (Fraktionssammler Ultra-Rac der Fa. LKB). Ein Dreikanalschreiber registrierte Substanzkonzentration, Drehwert und Fraktionswechsel.

(-)- und (+)-Chlortalidon [(-)- und (+)-3-(4-Chlor-3-sulfamoylphenyl)-3-hydroxy-1-isoindolinon] (**2a**): Chromatographie von 311.3 mg **2a** ergab vollständige Enantiomerentrennung [Retentionsvolumen von (-)- bzw. (+)-**2a**: 2900 bzw. 3900 ml, Basisbreite 300 bzw. 440 ml, Trennfaktor $\alpha = 1.45$, Auflösung $R_S = 2.70$]. Beim Umkristallisieren aus Chloroform racemisierten die Präparate teilweise, offenbar bedingt durch die im Chloroform spurenweise enthaltene Salzsäure. Man wiederholte den Chromatographieversuch mit 307 sowie 530 mg Racemat. Beim letzten Versuch wurde nach Elution der (-)-Form die Säulentemperatur auf 40°C gesteigert (Abb. 1). Die Enantiomeren aus den beiden letzten Versuchen (Wiederfindungsrate 97.6 bzw. 99.0%) wurden jeweils vereinigt und aus Aceton/Pentan umkristallisiert, wobei man 250 mg (-)- sowie 220 mg (+)-**2a** vom Schmp. 264°C und $[\alpha]_{365}^{25} = -593.6/595.2^\circ$, $[\alpha]_{589}^{25} = -140.1/140.9^\circ$ (0.25proz. in Dioxan) erhielt. Die NMR-Spektren von Enantiomeren und Racemat stimmen überein.

$C_{14}H_{11}ClN_2O_4S$ (338.8) Ber. C 49.63 H 3.27 N 8.27 Gef. C 49.80 H 3.32 N 8.10 [(-)-Form]
Gef. C 49.60 H 3.50 N 7.95 [(+)-Form]

Racemisierung des Chlortalidons: Die Lösung von jeweils ca. 5 mg (-)-Chlortalidon in 1 ml Dioxan wurde mit 1 ml wäßriger Pufferlösung (Phosphat-, Citrat- bzw. HCl-Puffer) versetzt. In kurzen Abständen (zu Beginn nach 0.25 min, später 1 min) bestimmte man den Drehwert bei 365 nm. Bei der Auftragung von $\log \alpha_{365}$ gegen die Zeit resultiert eine Gerade, aus deren Steigung graphisch die Geschwindigkeitskonstante und daraus die Halbwertszeit der Racemisierung (Tab.) bestimmt wurde.

(-)- und (+)-Chlortalidon-methylether [(-)- und (+)-3-(4-Chlor-3-sulfamoylphenyl)-3-methoxy-1-isoindolinon] (**2b**): Chromatographie von 299 mg **2b** [Schmp. 121°C (Zers.), Lit.⁴): 121–123°C (Zers.)] ergab eine teilweise Trennung mit optisch reinen Anfangs- und Endfraktionen [Retentionsvolumen von (-)- bzw. (+)-**2b**: 1700 bzw. 1870 ml, Basisbreiten 220 bzw. 250 ml, Trennfaktor $\alpha = 1.17$, Auflösung $R_S = 0.70$, optische Ausbeute 86%]. Die fünf Anfangsfraktionen zu je 20 ml wurden vereinigt [83 mg (-)-**2b**, 55%] und erneut chromatographiert, wobei ein symmetrischer Peak beim Retentionsvolumen von 1700 ml die optische Reinheit dieser Fraktionen anzeigte. Der Abdampfrückstand wies spezifische Drehwerte von $[\alpha]_{365} = -606^\circ$, $[\alpha]_{589} = -141^\circ$ (0.2proz. in Dioxan) auf. Anfangs- und Endfraktionen [die Endfraktion enthielt 76 mg (51%)] des ersten Versuchs hatten annähernd gleiche Absolutwerte der spezifischen Drehung gezeigt.

(+)- und (-)-Oxazepam [(+)- und (-)-7-Chlor-1,3-dihydro-3-hydroxy-5-phenyl-2H-1,4-benzodiazepin-2-on] (**3**): Chromatographie von 45.6 mg **3** in analysenreinem Toluol/Dioxan (1:1) gab eine vollständige Trennung mit substanzfreiem Zwischenvolumen von 25 ml (Abb 2). Der Trennfaktor α beträgt 1.27, die Auflösung R_S 1.17. Da die optisch aktive Substanz unter dem

katalytischen Einfluß von Glasoberflächen racemisierte, berechnete man die für Toluol/Dioxan (1:1) angegebenen α -Werte aus dem Drehwertdiagramm des Eluats. Zur präparativen Isolierung von angereicherten Fraktionen wiederholte man den Chromatographieversuch mit 298 mg **3**, fing das Eluat portionsweise in Polypropylenflaschen auf und dunstete das Fließmittel im Abzug bei Raumtemp. ab. Man erhielt so aus Anfangsfraktionen 20.0, 37.0 und 28.7 mg mit $[\alpha]_{365} = 1000$, 1020, und 959° (0.4 bis 0.8proz. in Dioxan) sowie aus Endfraktionen 23.4, 34.6 und 30.5 mg mit $[\alpha]_{365} = -970$, -1012 und -907° (0.5 bis 0.7proz. in Dioxan).

Absolute Konfiguration von (+)- und (-)-3: In Dioxan und Dimethylformamid rechtsdrehendes **3** (37 mg, $[\alpha]_{365} = 1020^\circ$) sowie linksdrehendes **3** (34.7 mg, $[\alpha]_{365} = -1012^\circ$, Meßwerte jeweils in Dioxan) wurden in jeweils 5 ml wasserfreiem Ethanol gelöst. Es wurde mit der doppelt-molaren Menge einer Natriumethanolatlösung in Ethanol versetzt, rasch i. Vak. zur Trockne eingedampft und in jeweils 5 ml Dimethylformamid gelöst. Die rasch racemisierenden Lösungen der Dinatriumsalze waren rechtsdrehend [aus (+)-**3**] bzw. linksdrehend [aus (-)-**3**].

Literatur

- 1) VIII. Mitteil.: G. Blaschke und H.-P. Kraft, Makromol. Chem., Manuskript zur Veröffentlichung eingereicht. VII. Mitteil.: Lit.³⁾.
- 2) Teil der Dissertation H. Markgraf, Univ. Bonn, voraussichtlich 1979.
- 3) A.-D. Schwanghart, W. Backmann und G. Blaschke, Chem. Ber. **110**, 778 (1977).
- 4) W. Graf, E. Girod, E. Schmid und W. G. Stoll, Helv. Chim. Acta **42**, 1085 (1959).
- 5) G. Blaschke und A.-D. Schwanghart, Chem. Ber. **109**, 1967 (1976).
- 6) Das pH-Profil der Racemisierungsgeschwindigkeit erinnert an die Hydrolyse von Acetylsalicylsäure, die ebenfalls im schwach saurem Bereich am stabilsten ist⁷⁾.
- 7) E. R. Garrett, J. Pharm. Sci. **49**, 767 (1960).
- 8) G. Jommi, F. Mauri, G. Riva und L. Mauri, D. O. S. 2016810 (19. Nov. 1970) [Chem. Abstr. **74**, P 22902a (1971)]; A. Corbella, P. Gariboldi, G. Jommi, J. Chem. Soc., Chem. Commun. **1973**, 721.

[371/79]