

Institut für Pharmazie der Friedrich-Schiller-Universität Jena, Germany

Neue Befunde zur Synthese des chiralen Muskelrelaxans Chlormezanon und dessen Racematspaltung an einer präparativen Chiralcel® OD-Säule

H. OELSCHLÄGER, J. WANGE, J. LETSCH, A. SEEING

Herrn Prof. Dr. Dr. med h.c. N. Brock, Bielefeld, zum 90. Geburtstag in Freundschaft gewidmet.

Eingegangen am 31. Juli, 2002, angenommen am 30. September 2002

Prof. Dr. Dr. h.c. mult. H. Oelschläger, Institut für Pharmazie, Philosophenweg 14, D-07743 Jena, Germany
b8oehe@rz.uni-jena.de

Pharmazie 58: 95–98 (2003)

2-(4-Chlorphenyl)-4-metathiazanon (**2**) ist das Zwischenprodukt bei der Zweistufensynthese von Chlormezanon (**1**), einem zentral angreifenden Muskelrelaxans. Als zweiter Schritt erfolgt die Oxidation des Schwefelatoms. Man erhält eine wesentlich verbesserte Ausbeute (67% d.Th.) an **2**, wenn zunächst das Halbaminal aus 4-Chlorbenzaldehyd und Methylamin gebildet wird, das dann mit β -Mercaptopropionsäure abreagiert, als bei umgekehrter Zugabe über das Halbmercaptal (42% d.Th.). Natriumperborat ist eindeutig dem Kaliumpermanganat als Oxidationsmittel überlegen. Das racemische Chlormezanon (**1**) lässt sich schnell im Grammmaßstab an einer Chiralcel® OD-Säule trennen. Werden die entscheidenden Faktoren wie Flussrate, Zusammensetzung der mobilen Phase und Temperatur zunächst an analytischen Säulen ermittelt, dann erfordert die Trennung nur 40 min. Zum ersten Mal konnten die beiden Dissoziationskonstanten von **1** mit Hilfe des log pKa-Titrationen der Firma Sirius Co. ermittelt werden, der für die Registrierung der Titrationskurven im pH-Bereich von 2–12 nur 15–17 min benötigt. Diese Geschwindigkeit überspielt den störenden Bruch der S-C-Bindung von **1** im stark sauren und stark alkalischen pH-Bereich.

New results on the synthesis of the centrally acting muscle relaxant chlormezanone and its resolution on a gram scale using a Chiralcel® OD column

2-(4-Chlorophenyl)-4-metathiazanone (**2**) is the intermediate product for the two step-synthesis of chlormezanone (**1**), a centrally acting muscle relaxant. The second step includes the oxidation of its sulfur atom. It has been found that the foregoing reaction of 4-chlorobenzaldehyde with methylamine forming the hemiaminal and the subsequent addition of β -mercaptopropionic acid leads to a remarkable better yield (67% of th.) than the route via the hemimercaptale (42% of th.). **2** could be oxidized with sodium perborate superior to potassium permanganate. The racemic chlormezanone (**1**) is resolved quickly on a gram scale by preparative column chromatography on a Chiralcel® OD column (tris(3,5-dimethyl-phenyl-carbamoyl)cellulose on silicagel). The resolution needed only 40 min, if flow rate, composition of the mobile phase and temperature as the most important factors are determined prior with an analytical column. Both dissociation constants could be determined for the first time with the aid of a log pKa-Titrator of the Sirius Co., which needs for the registration of the curves only 15–17 min in the pH range of 2–12. This speed outplayed the disturbing cleavage of the S-C bond of chlormezanone at strong acidic and alkaline pH values.

1. Einleitung

In der Gruppe der zentral angreifenden Muskelrelaxantien sind kaum Beziehungen zwischen chemischer Struktur und pharmakologischer Wirkung zu erkennen. Ein chemisches Unikat in der Gruppe war das 2-(4-Chlorphenyl)-3-methyl-3,4,5,6-tetrahydro-2H-1,3-thiazin-4-on-1,1-dioxid (Chlormezanon, **1**), das 1962 als racemisches Monopräparat, später auch in Kombination mit Paracetamol und Codeinphosphat in die Therapie eingeführt wurde. Auf-

grund seltener Epidermolysen unklarer Ursache mit einer Inzidenzrate im Bereich der von Diazepam und Allopurinol entschloss sich der Hersteller 1996, das racemische Chlormezanon weltweit aus dem Handel zu nehmen, obwohl die Arzneimittelkommission der Deutschen Ärzteschaft die Substanz als wertvolles Arzneimittel eingestuft hatte. Für unsere mit der Universität Freiburg angelaufenen dermatologischen Untersuchungen mit dem Ziel der Ursachenklärung der Epidermolysen wurden größere Mengen der reinen Enantiomeren benötigt, die durch enantio-

spezifische Säulenchromatographie des Racemats angestrebt wurden. Die pharmazeutisch-chemischen, pharmakokinetischen und pharmakologischen Eigenschaften der Enantiomeren waren bereits in vorhergehenden Arbeiten geklärt worden [1–5]. Die Eliminationshalbwertszeit für (+)-**1** ist mit 47 h fast doppelt so lang wie die des (−)-**1** mit 24 h. Die Enantiomeren racemisieren bei pH 7,4 und 37 °C mit einer Halbwertszeit von 20,5 h. Im Pentetrazol- und Strychnin-Krampf-Test an Mäusen hatte sich das (+)-**1** als wesentlich stärker antikonvulsiv als das (−)-**1** erwiesen [6].

2. Untersuchungen, Ergebnisse und Diskussion

Nach Surrey et al. [7] wird **1** in einer Zweistufensynthese aus 4-Chlorbenzaldehyd, Methylamin und β-Mercaptopropionsäure durch 48-stündiges Erhitzen mit nachfolgender Oxidation des *m*-Thiazanons **2** mit Kaliumpermanganat erhalten.

Die Ausbeute an **2** beträgt 11% d. Th., während die KMnO₄-Oxidation 46% d. Th. **1** erbringt. Die Autoren geben für **2** einen Sdp. 172–175 °C (0,2 Torr) an, während Nagakura et al. später einen Schmp. von 49 °C fanden [8]. Diese Autoren hatten **1** über eine unökonomische intramolekulare Pummerer-Reaktion erhalten.

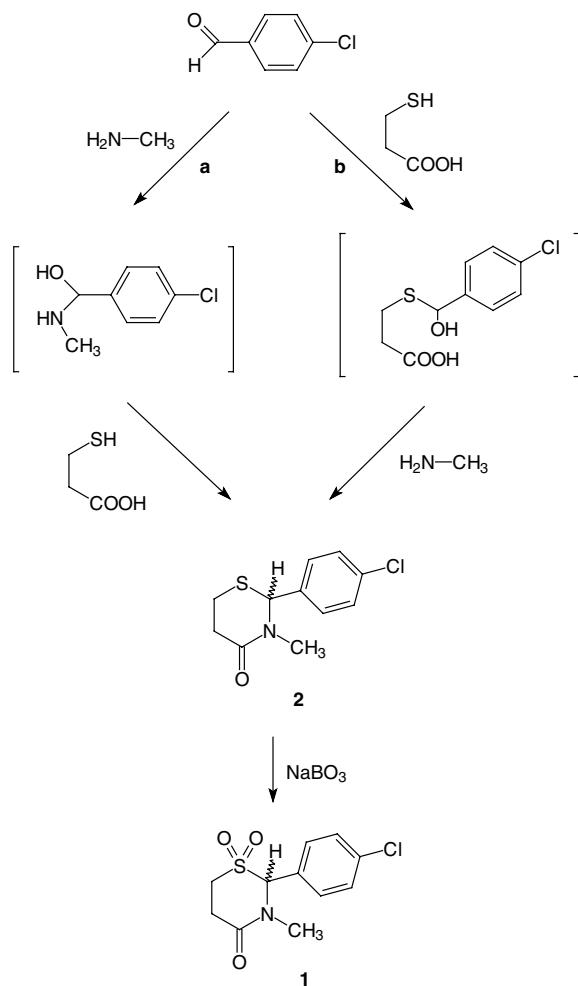
Um die Ausbeute an **1** zu steigern, wurden zwei alternative gestufte Verfahren überprüft. Wir ließen in molarer Relation das Elektrophil 4-Chlorbenzaldehyd a) zunächst bei RT in Toluol mit in EtOH gelöstem Methylamin bzw. b) mit β-Mercaptopropionsäure reagieren. Unter schwachem Erwärmen entsteht eine klare Lösung a) des Halbaminals bzw. b) des Halbmercaptals, der nach 60 minütigem Rühren das jeweilige zweite Nukleophil zugesetzt wird. Nach einer Stunde Rühren bei RT wird das Reaktionswasser mit Toluol als Azeotrop entfernt, dann das restliche Toluol i. Vak. abdestilliert und der verbleibende Rückstand an Kieselgel 60 sc gereinigt. Über das Halbaminal wird eine Ausbeute von 67% d. Th. **2**, über das Halbmercaptal nur eine Ausbeute von 42% d. Th. erhalten (dc rein).

Die Oxidation des *m*-Thiazanons kann statt mit Kaliumpermanganat vorteilhafter in Anlehnung an eine modifizierte Vorschrift von McKillop et al. mit Na-Perborat in Eisessig erfolgen [9]. Die Autoren geben zwar eine Ausbeute von 68% d.Th., aber keinen Schmp. und kein Lösungsmittel für die Umkristallisation an. Wir erhielten nach dem Umkristallisieren aus MeOH 65% d.Th. (range 55–79%) vom Schmp. 116 °C (HPLC rein) (Schema 1).

Bereits früher wurde von uns auf die Schwierigkeiten hingewiesen, eine präparative Chiralcel® OD-Säule (Länge 50 cm × 5 cm, Partikelgröße 20 µm) a priori optimal zu fahren [10]. Daher wurden für die Racematspaltung von **1** zunächst Erfahrungen an einer analytischen Chiralcel® OD-Säule (250 × 4,6 mm, Ø 10 µm) mit Vorsäule (50 × 4,6 mm, Ø 10 µm) mit einer Flussrate von 0,8 ml/min unter einem Druck von 35 bar gesammelt. Das Fließmittel bestand aus *n*-Hexan/EtOH (1 + 1) [11]. Die zahlreichen Trennungen wurden im Temperaturbereich zwischen 15 bis 35 °C bei Flussraten von 0,7 und 0,8 ml/min durchgeführt und die κ_a -Werte der Trennungen ermittelt. Die maximale Säulenbeladung wurde mit verschiedenen **1**-Konzentrationen von bis zu 30 mg/ml EtOH ermittelt. Das Optimum der Trennung ergab sich bei einer Flussrate von 0,7 ml/min bei 25 °C mit einem max. κ_a -Wert von 2,245 und einer minimalen Laufzeit (40 min). Bei längeren Laufzeiten trat eine erhebliche Bandenverbreiterung ein.

Die bei den analytischen Studien erreichte max. Säulenbeladung von 600 µg in 20 µl EtOH konnte mit dem

Schema 1



Packungsmaterialfaktor von 250 und einer Flussrate mit dem Faktor 140 erfolgreich in den semipräparativen Maßstab übertragen werden. Zwangsläufig war die endgültige Optimierung der Racemattrennung erst an der präparativen Anlage möglich.

Abb. 1 veranschaulicht das unterschiedliche Verhalten der **1**-Enantiomeren auf der analytischen Säule in Abhängigkeit von der Temperatur. Der Wert für κ_a wird in guter Näherung linear mit steigender Temperatur kleiner. Ferner wurde bei den Analysen mit variierter Flussrate festgestellt, dass diese Variationen bei konstanter Temperatur keine Auswirkungen auf die Auflösung der Peaks haben. Es ändern sich lediglich die Retentionszeiten der Enantiomeren.

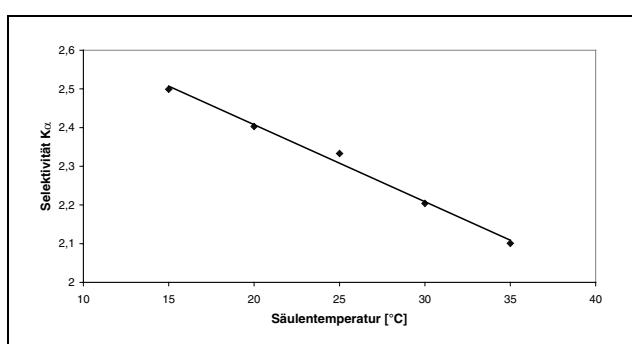


Abb. 1: Temperaturabhängigkeit der Selektivität der Enantiomerentrennung von **1** (Flussrate von 0,7 ml/min)

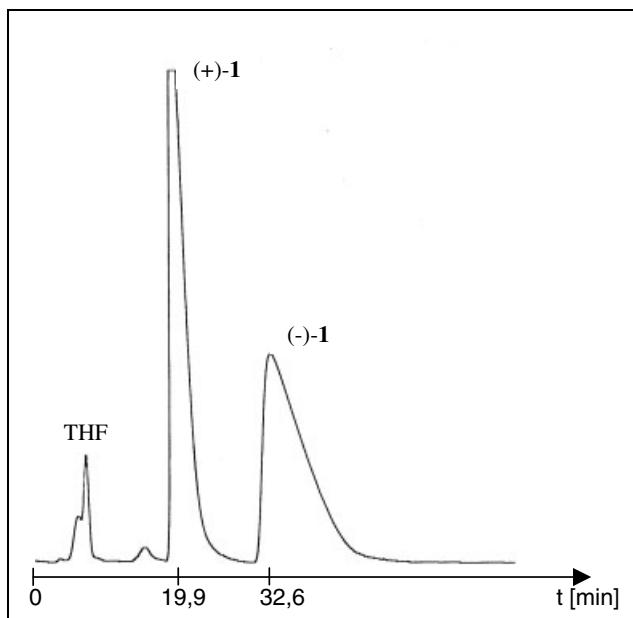


Abb. 2: Chromatographie von 1000 mg **1** an einer präparativen OD-Säule (50 cm × 5 cm), Fließmittel EtOH/n-Hexan (1 + 1), Flußrate 100 ml/min, Detektion 254 nm

Es gelang aufgrund dieser Erkenntnisse eine 10%ige Lösung von **rac-1** (1g) im Lösungsmittelgemisch THF + EtOH + n-Hexan (4 + 4 + 2) mit dem Fließmittelgemisch EtOH + n-Hexan (1 + 1) bei 25 °C mit einer Flussrate von 100 ml/min in 40 min unter 18 bar mit Basislinientrennung zu separieren (Abb. 2).

Die Solventen wurden in getrennten Rotationsverdampfern abdestilliert und der Rückstand mit eiskaltem Wasser versetzt. Bei +4 °C trat nach mehreren Stunden Kristallisation ein. Pro Enantiomer wurden etwa 60% d. Th. vom Schmp. 153 °C mit einer Reinheit besser als 99% (ee) erhalten. Die spezifischen Drehungen in MeOH betragen für das (+)-Enantiomer +22,6° und -22,1° für das (-)-Enantiomer.

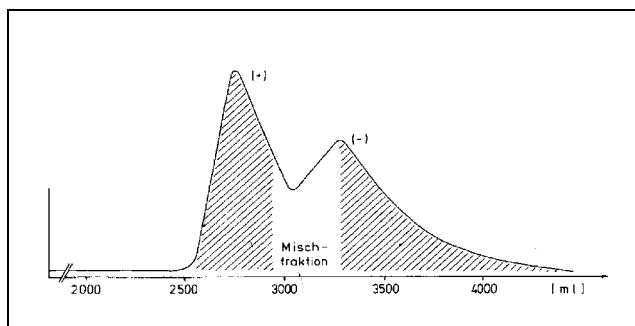


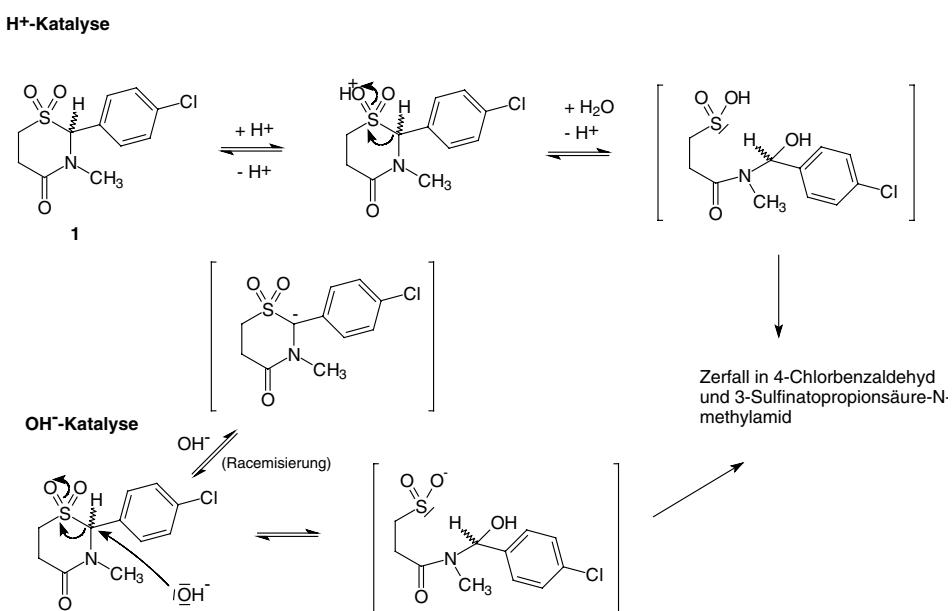
Abb. 3: Chromatographie von 700 mg **1** an 380 g mikrokristallinem Cellulosetriacetat, Säule 70,0 × 3,8 cm, Fließmittel EtOH/Wasser (95 + 5), Flussrate 92 ml/h [6]

Eine präparative chromatographische Enantiomerentrennung von **rac-1** (700 mg) wurde bisher nur von Blaschke et al. an Cellulosetriacetat mit dem Fließmittel EtOH + H₂O (95 + 5) unter 2 bar beschrieben [6]. Die Autoren erhielten nach dem Umkristallisieren 65% (+)-1 und 54% (-)-1 vom Schmp. 153 °C. Bei der Trennung fiel außerdem eine Mischfraktion von 25% des Ansatzes an, weil an Cellulosetriacetat keine Basislinientrennung möglich war. Bei einer Fließgeschwindigkeit von 9 ml/h erforderte diese Trennung ca. 49 h.

Wie wir bereits früher berichtet haben [2], geht der Biotransformation von **1** im pH-Bereich von 9–2 eine Ringspaltung als autoprotolytischer Prozess voraus. Im stark sauren und stark alkalischen Milieu wird die Spaltung der S-C-Bindung durch Protonierung bzw. durch Hydroxideinfluss stark beschleunigt.

An dieser Instabilität von **1** scheiterte bisher die Bestimmung der p_a-Werte. Mit dem log p_a-Titriator der Fa. Sirius (Sirius Analytical Instruments Ltd., Riverside, East Sussex, UK) stand uns erstmals ein Gerät zur Verfügung, das in Verbindung mit einer entsprechenden Auswertesoftware den auch in den stark verdünnten Analysenlösungen nicht unerheblichen Carbonatfehler kompensieren konnte¹. Das Gerät gestattete eine sehr rasche Titration innerhalb von

Schema 2



15–17 min im pH-Bereich von 2–12. In diesem Zeitintervall tritt nach unseren früheren Untersuchungen noch keine signifikante Spaltung des Heteroringes in stark saurem und stark alkalischem pH-Bereich ein. Die auf diese Weise ermittelten pK_a -Werte lagen bei $11,92 \pm 0,035$ bzw. $0,813 \pm 0,079$ für das C2-Proton bzw. den protonierten Sulfoxidsauerstoff.

Der entscheidende Fortschritt vorstehender Untersuchungen liegt einmal in der wesentlich verbesserten Synthese des Zwischenproduktes *m*-Thiazanon **2** und der gesteigerten Ausbeute von **1** durch Einsatz von Na-Perborat sowie in der sehr schnellen Racemattrennung an einer präparativen Chiralcel® OD-Säule ohne nennenswerte Mischfraktion. Es können an einem Tag ca. 3 g der (+)- und (-)-Enantiomeren in einer Reinheit von >99% (ee) gewonnen werden.

3. Experimenteller Teil

3.1. Synthese von **1** und **2**

3.1.1. 2-(4-Chlorphenyl)-3-methyl-3,4,5,6-tetrahydro-2H-1,3-thiazin-4-on (**2**)

Zu 45,0 g (0,32 mol) 4-Chlorbenzaldehyd in 200 ml Toluol werden in 1 h unter Rühren 40,0 ml 33%ige Methylaminlösung (0,32 mol) in abs. EtOH getropft. Die Temperatur des Reaktionsgemisches steigt dabei langsam von 13 auf 28 °C. Anschließend werden zu der trüben Lösung 34,0 g (0,32 mol) β-Mercaptopropionsäure zugetropft. Dabei klärt sich die Lösung, und die Temperatur steigt auf 32 °C. Man röhrt die goldgelbe Lösung weitere 60 min und erhitzt dann am Wasserabscheider ca. 48 h, bis kein Wasser mehr übergeht.

Das Solvens wird am RV abgezogen, das Rohprodukt 1:1 in einem Gemisch von CH_2Cl_2 /Eissigsäureethylester (3+1)¹ aufgenommen und sc an Kieselgel 60 gereinigt (mobile Phase CH_2Cl_2 /Eissigsäureethylester 3+1). Die schwach gelblichen, dc reinen Kristalle schmelzen bei 49 °C (Schmp. [7] 49 °C). Die Ausbeute beträgt 67% d.Th.

3.1.2. 2-(4-Chlorphenyl)-3-methyl-3,4,5,6-tetrahydro-2H-1,3-thiazin-4-on-1,1-dioxid (**1**)

Zu einer Lösung von 6,7 g (0,028 mol) **2** in 100 ml Eisessig werden unter Röhren in kleinen Anteilen innerhalb von 30 min bei 50 °C 21,4 g (0,139 mol) Na-Perborat \times 4 H_2O gegeben. Nach weiterem zweistündigen Röhren wird der Eisessig am RV abgezogen, der Rückstand in 100 ml CH_2Cl_2 aufgenommen und die organische Phase mit 100 ml H_2O ausgeschüttelt. Nach Ausschütteln der wässrigen Phase mit 50 ml CH_2Cl_2 werden die organischen Phasen vereinigt, zweimal mit 50 ml 10%iger NaHCO_3 -Lösung und anschließend mit 50 ml Wasser ausgeschüttelt. Nach Trocknen über Na_2SO_4 wird das CH_2Cl_2 am RV abgezogen, der ölige Rückstand in 15 ml siedendem MeOH aufgenommen und im Kühlschrank zur Kristallisation gebracht. Die abgesaugten, hplc reinen Kristalle, Ausbeute 55–80% d.Th. (n=16) schmelzen bei 116 °C (Sofortschmp., Koflerbank)

Synthese-Analytik

DC-Bedingungen: DC-Folien Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt), mobile Phase CH_2Cl_2 /Eissigsäureethylester 3+1, Laufstrecke 8,5 cm, Rf-Werte: 4-Chlorbenzaldehyd (0,73), **2** (0,26), **1** (0,22).

HPLC-Bedingungen: Pumpe LC-6A, Detektor SPD-7A, Integrator Chromatopac C-R6A (Shimadzu, Duisburg) Injektor Rheodyne, 20 μl Probenschleife, stationäre Phase LiChrospher® 100-RP18 (125 \times 4 mm; 4 μm) (Merck, Darmstadt), mobile Phase Acetonitril (LiChrosolv®, Merck, Darmstadt)/Puffer pH 5,5 (50:50), Flussrate 0,4 ml/min, Messwellenlänge 218 nm, interner Standard β-Naphthol (p.a.).

3.2. Präparative SC-Trennung von **1**

Pumpe HD 200 (Labomatic, Allschwil, CH), Detektor UV/Vis-Filterphotometer (Knauer, Berlin), Schreiber L5212B (Linseis, Selb), Injektor Rheodyne, 10 ml Probenschleife, stationäre Phase präparative Chiralcel® OD-Säule (50 \times 5 cm; 20 μm) mit Temperiermantel (Daicel Chemical Industries, Tokio), Thermostat MP F12 (Julabo, Groß-Umstadt), mobile Phase *n*-Hexan/EtOH (LiChrosolv®, Merck, Darmstadt) (50:50), Flussrate 100 ml/min, res. Druck: 15 bis 18 bar, Säulentemperatur 25 °C, Messwellenlänge 254 nm.

Die injizierte Substanzmenge wird so gewählt, dass im Chromatogramm gerade noch Basislinientrennung auftritt, was mit einer Lösung von 1,0 g **1** in 10 ml EtOH/THF/*n*-Hexan (4+4+2) erreicht werden kann. Die erhaltenen Fraktionen [(+)-**1**, t_r 19,8 min und (-)-**1**, t_r 32,6 min] wurden an der analytischen Anlage auf Enantiomerenreinheit geprüft und anschließend in getrennten Rotationsverdampfern bei 40 °C auf wenige ml eingeeignet, mit ca. 20 ml eiskaltem Wasser versetzt und über Nacht im Kühlschrank aufbewahrt. Nach Filtration und Trocknung (i. Vak., P_2O_5) werden pro Enantiomer 0,30 g (60% d.Th.) Kristalle vom Schmp. 153 °C mit Reinheiten >99% (ee) erhalten.

Für die Elution werden ca. 2 l mobile Phase benötigt. Die optische Drehung der Enantiomeren wird mit 0,5%igen Lösungen in MeOH an einem Polarimeter Polartronic E (Schmidt und Haensch, Berlin) bestimmt. Die spezifischen Drehungen betragen +22,6° für (+)-**1** und -22,1° für (-)-**1**.

3.3. Bestimmung der Dissoziationskonstanten

Die Bestimmung der pKa-Werte von **1** erfolgt durch potentiometrische Titration mit einem GlPKa® pKa/LogP-Titriator². Die Glaselektrode wird nach Adjustierung der pH-Skala mit Phosphatpuffer (pH 7,0) durch Titration von 1 M-HCl mit 1 M-KOH nach der Four-Plus®-Methode kalibriert. Alle Titrationen werden bei $25 \pm 0,5$ °C in 0,15 M-KCl-Lösung durchgeführt. Als Maßlösungen dienen 1 M-KOH bzw. 1 M-HCl. Der Start-pH wird je nach titrierter Funktion auf 3,5 oder 9,5 eingestellt.

Zur Titration wird **1** im Bereich seiner maximalen Wasserlöslichkeit (1–4 mM) gelöst. Der gemessene Anfangs-pH in 0,15 M-KCl liegt bei ca. 5,3. Die Titration des C-2-Protons (**1a**) erfolgt mit 1 M-KOH im pH-Bereich 4,15–11,88, die Titration des Sulfoxids (**1b**) im pH-Bereich 9,50–1,67. Aus den erhaltenen 17 Messpunkten werden über die Auswertesoftware pKaLOGP 5.1 die zugehörigen pKa-Werte berechnet.

Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie, Frankfurt a. M. für stete finanzielle Förderung.

¹ Wir sind der Fa. Novartis, Basel, und dem Laborleiter Herrn Dr. B. Faller für die Unterstützung bei diesen Messungen zu großem Dank verpflichtet.

² Hersteller: Fa. Sirius Analytical Instruments Ltd., Riverside, East Sussex, UK.

Literatur

- Klinger, W.; Oelschläger, H.; Rothley, D.; Karge, E.; Seeling, A.: Eur. J. Drug. Metab. Pharmacokin. **24**, 63 (1999)
- Seeling, A.; Oelschläger, H.; Rothley, D.: Pharmazie **55**, 293 (2000)
- Oelschläger, H.; Klinger, W.; Rothley, D.; Seeling, A.; Bockhard, H.; Hofmann, B.; Machts, H.; Riederer, H.; Rackur, H.: Pharmazie **53**, 620 (1998)
- Klinger, W.; Oelschläger, H.; Karge, E.; Rothley, D.: Europ. J. Drug Metab. Pharmacokin. **22**, 165 (1997)
- Oelschläger, H.; Lemmer, B.; Rothley, D.; Nold, G.; Riederer, H.; von Fallois, J.: Eur. J. Clin. Pharmacol. **49**, Number 1/2 A 159 E (1995)
- Blaschke, G.; Fraenkel, W.; Fröhlingsdorf, B.; Marx, A.: Liebigs Ann. Chem. 753 (1988)
- Surrey, A. R.; Webb, W. G.; Gesler, R. G.: J. Am. Chem. Soc. **80**, 3469 (1958)
- Nagakura, I.; Oka, H.; Nitta, Y.: Heterocycles **3**, 453 (1975)
- McKillop, A.; Kemp, D.: Tetrahedron **45**, 3299 (1989)
- Wange, J.; Oelschläger, H.: Arch. Pharm. **334** (Suppl. 2), 51 (2001)
- Bergmann-Leyder, N.; Tambuté, A.; Caude, M.: Chirality **7**, 311 (1995)