

SYNTHESE STERISCH EINHEITLICHER SELEKTOREN ZUR DÜNNSCHICHT- CHROMATOGRAPHISCHEN RACEMATSPALTUNG NACH DEM LIGANDEN- AUSTAUSCHPRINZIP

Jürgen MARTENS* und Stefan LÜBBEN

Fachbereich Chemie (Organische Chemie) der Universität Oldenburg
Ammerländer Heerstraße 114-118, D-2900 Oldenburg i. O., Germany

(Received in Germany 29 September 1989)

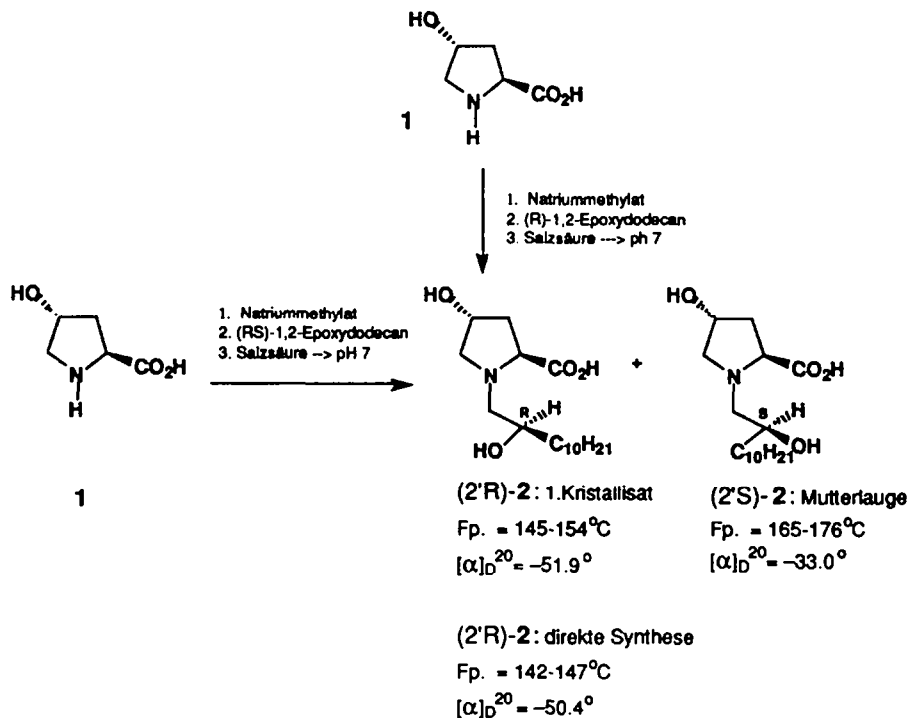
Abstract: The recently developed TLC pre-coated plates Chiralplate[®] and Chir[®] are impregnated with a copper complex of (2'RS)-**2**, a mixture of diastereomers. We have now succeeded in the separation of these diastereomers. (2'R)-**2** was also obtained by direct synthesis from (2S,4R)-4-hydroxyproline (**1**) and (R)-1,2-epoxydodecane. The configuration in 2'-position of the side chain of **2** has no influence on the stereoselectivity of its copper complex in the tlc enantiomeric separation of imino acids.

Enantiomere haben in der Regel eine unterschiedliche pharmakologische Wirkung.¹ Trotzdem werden bis heute rund 25 % aller Pharmawirkstoffe als Stereoisomerengemische eingesetzt. Die analytische Bestimmung der Zusammensetzung von Enantiomerengemischen ist folglich zunehmend wichtig. Die direkte dünnschichtchromatographische Enantiomerentrennung ist eine neue einfache Methode zur analytischen Trennung von Enantiomeren.^{2,4} Vor allem die dünnschichtchromatographische Enantiomerentrennung von Aminosäuren und Aminosäure-Derivaten nach dem Ligandenaustauschprinzip hat praktische Anwendung gefunden.⁷⁻¹⁶ Gebrauchsfertige DC-Platten zur Trennung von Enantiomeren nach dem Ligandenaustauschprinzip werden unter den Handelsnamen Chiralplate[®] und Chir[®] verkauft. Dabei kommt als chiraler Selektor ein Kupfer(II)-Komplex des Hydroxyprolin-Derivats (2'RS)-**2** zur Anwendung.^{17,18} Bemerkenswert ist dabei die Tatsache, daß die Trennung von Racematen mit Hilfe des Diastereomerengemisches (2'RS)-**2** gelingt.

Wir stellten uns die Frage, welchen Einfluß die Konfiguration in der 2'-Stellung der Seitenkette von [(2'RS)-**2**] auf die Enantioselektivität bei der dünnschichtchromatographischen Enantiomerentrennung besitzt. In dieser Arbeit wird die Gewinnung und gezielte Synthese der beiden Diastereomeren (2'R)-**2** und (2'S)-**2** beschrieben. Die Synthese von (2S,4R,2'RS)-4-Hydroxy-1-(2'-hydroxydodecyl)prolin [(2'RS)-**2**] erfolgt ausgehend von (2S,4R)-4-Hydroxyprolin (**1**) über dessen Natriumsalz durch Reaktion mit racemischem (RS)-1,2-Epoxydodecan.¹⁷

Anschließend wurde erstmalig das Diastereomerengemisch (2'RS)-**2** durch fraktionierte Kristallisation in die sterisch einheitlichen Selektoren (2'R)-**2** und (2'S)-**2** getrennt. Folgende Vorgehensweise hat sich als günstig erwiesen: Durch Erwärmen wird (2S,4R,2'RS)-4-Hydroxy-1-(2'-hydroxydodecyl)prolin (**2**) in wenig Ethanol

gelöst und mit Methyl-tert.butylether versetzt. Beim langsamen Abkühlen erhält man als 1. Kristallinat einen farblosen Feststoff (2'R)-2. Das Diastereomere (2'R)-2 wurde alternativ gezielt durch Umsetzung des Natriumsalzes von natürlichem Hydroxyprolin mit optisch aktivem (R)-1,2-Epoxydodecan synthetisiert. Die ¹H-NMR-Spektren und andere physikalische Daten von (2'R)-2 (direkte Synthese) wurden mit dem durch fraktionierte Kristallisation aus (2'RS)-2 erhaltenen ersten Kristallinat (2'R)-2 verglichen. Die Übereinstimmung der Drehwerte und Schmelzpunkte ist gut, so daß die Zuordnung der absoluten Konfiguration in der Seitenkette keine Probleme bereitet. Die ¹H-NMR-Spektren sind identisch, d.h. durch fraktionierte Kristallisation von (2'RS)-2 bekommt man in der 1. Fällung fast reines (2S,4R,2'R)-4-Hydroxy-1-(2'-hydroxydodecyl)prolin [(2'R)-2]. Durch Aufarbeitung der Mutterlauge mit mehrmaligem Umkristallisieren erhält man dann sogar reines (2S,4R,2'S)-4-Hydroxy-1-(2'-hydroxydodecyl)prolin [(2'S)-2] mit einem Schmelzpunkt von 165-176°C und $[\alpha]_D^{20} = -33.0^\circ$ (c=1, Methanol).



Zur Herstellung der enantioselektiven DC-Platten taucht man eine DC-Glasplatte (E. Merck RP-18 F 254 S) für 1 Minute in eine 0.25% Kupferacetat-Lösung (Methanol/Wasser v:v = 9:1) und trocknet an der Luft. Anschließend wird für 1 Minute in eine 0.8%-methanolische Lösung des chiralen Selektors (2'R)-2 getaucht und bei 70°C getrocknet. Die so imprägnierte DC-Platte ist zur dünn-schichtchromatographischen Enantiomerentrennung einsatzbereit.

Die Enantioselektivität des sterisch einheitlichen Selektors (2'R)-2 bei der direkten dünn-schichtchromatographischen Enantiomerentrennung wurde an zwei Beispielen belegt (siehe Tabelle 1).

Tabelle 1. Dünnschichtchromatographische Enantiomerentrennung von α -Iminocarbonsäuren auf RP 18-DC-Platten, imprägniert mit dem Kupfer(II)-Komplex von (2'R)-2 im Vergleich zu (2'RS)-2 (=Chiralplate®).

Iminosäure	(2'R)-2	(2'RS)-2
(all S)-2-Azabicylo[3.3.0]octan-3-carbonsäure ¹⁹	$R_f = 0.53$	$R_f = 0.50$
(all R)-2-Azabicylo[3.3.0]octan-3-carbonsäure ¹⁹	0.44	0.41
(S)-Prolin	0.55	0.55
(R)-Prolin	0.44	0.44

Laufmittel: Acetonitril/Methanol/Wasser (v:v:v = 4:1:1)

Überraschend konnte mit DC-Platten, die mit dem sterisch einheitlichen Selektor (2'R)-2 imprägniert waren, im Vergleich zum Diastereomeregemisch (2'RS)-2 keine verbesserte Trennung der enantiomeren α -Aminosäuren erreicht werden. Die Konfiguration in der 2'-Stellung der Seitenkette scheint demnach keinen Einfluß auf die Enantioselektivität des chiralen Selektors zu besitzen. Basierend auf diesem Ergebnis wollen wir neue verbesserte Selektoren für die dünnschichtchromatographische Enantiomerentrennung synthetisieren.

EXPERIMENTELLES

Zur Schmelzpunktbestimmung diente eine Apparatur nach Dr. Linström. Die Schmelzpunkte sind unkorrigiert. Die Aufnahme der ¹H-NMR-Spektren erfolgte bei 300 Mhz in Methanol-d₄ mit dem AM 300 der Firma Bruker Karlsruhe. Die Drehwerte wurden auf einem Perkin-Elmer Polarimeter (241 MC) bei Raumtemperatur gemessen. Die IR Spektren wurden auf einem Beckmann-Spectrophotometer (IR 4220) erhalten.

(2S,4R,2'RS)-4-Hydroxy-1-(2'-hydroxydodecyl)prolin [(2'RS)-2]

Die Darstellung erfolgt nach einer Literaturvorschrift.¹⁷ Fp. (Diastereomeregemisch): Fp. 153-162°C; $[\alpha]_D^{25} = -42.2^\circ$ (c=1, Methanol); IR (KBr): $\nu = 3300 \text{ cm}^{-1}$ (OH), 1690 cm^{-1} (C=O); ¹H-NMR (CD₃OD): $\delta = 0.95$ (t, J=7.5 Hz, 3H, CH₃), 1.3-1.5 (m, 18H, -CH₂-), 2.12-2.24 (m, 1H, H-3), 2.38-2.48 (m, 1H, H-3), 3.13 {dd, J=10.2Hz und J=12.9 Hz, 0.5 H, H-1'[(2'S)-2]}, 3.22-3.34 {m, 1H und 2 x 0.5 H, H-5 und 2 H-1'[(2'R)-2]}, 3.46 (dd, J=2.3Hz und J=12.8 Hz, 0.5 H, H-1'), 3.82-3.91 (m, 2H, H-5 und H-2'), 4.18-4.27 (m, 1H, H-2), 4.48-4.54 (m, 1H, H-4). Das ¹H-NMR-Spektrum besteht aus einer Überlagerung der Spektren der Diastereomeren (2'R)-2 und (2'S)-2. MS (i-Butan CI): m/z = 316 (MH⁺) und 298 (M⁺ -H₂O, 100 %).

(2S,4R,2'R)-4-Hydroxy-1-(2'-hydroxydodecyl)prolin [(2'R)-2]

0.7 g (5.4 mmol) (2S,4R)-4-Hydroxyprolin (I) werden zu einer Lösung gegeben, die 5.4 mmol Natriummethylat und ca. 20 ml abs. Methanol enthält. Hierzu gibt man 1.0 g (5.4 mmol) (R)-1,2-Epoxydodecan und rührt 24 h bei Raumtemp. Nach Zugabe von 20 ml dest. Wasser und Neutralisieren mittels konz. Salzsäure wird das ausgefallene Produkt abgesaugt und sorgfältig mit Wasser, anschließend mit Ether gewaschen. Umkristallisieren aus abs. Methanol liefert 1.0 g (58 %) des farblosen Produktes (2'R)-2.

Fp. 142-147°C; $[\alpha]_D^{25} = -50.4^\circ$ (c=1, Methanol); IR(KBr): $\nu = 3300 \text{ cm}^{-1}$ (OH), 1665 cm^{-1} (C=O); ¹H-NMR (CD₃OD): $\delta = 0.9$ (t, J=6.9 Hz, 3H, CH₃), 1.3-1.5 (m, 18H, -CH₂-), 2.21 (ddd, J=4.6 Hz, J=11.1 Hz und J=13.9 Hz, 1H, H-3), 2.43 (dddd, J=1.8 Hz, J=2.0 Hz, J=7.6 Hz und J=14.0 Hz, 1H, H-3), 3.23-3.38 (m, 3H, H-5 und 2 x H-1'), 3.82-3.85 (m, 2H, H-5 und H-2'), 4.41 (dd, J=7.6 Hz und J=11.0 Hz, 1H, H-2), 4.48-4.54 (m, 1H, H-4); MS (i-Butan, CI): m/z = 316 (MH⁺) und 298 (M⁺ -H₂O, 100 %). C, H, N, O: Ber. C, 61.23; H, 10.58; N, 4.20. Gef. C, 61.09; H, 11.35; N, 4.18.

Trennung des Diastereomeregemisches durch fraktionierte Kristallisation

9.4 g (29.8 mmol) (2'RS)-2 werden durch Erwärmen in ca. 100 ml Ethanol (99%) gelöst. Es fallen unmittelbar nach

Zugabe von Methyl-tert.butylether und Abkühlen auf Raumtemp. in zwei aufeinander folgenden Fraktionen weiße Kristalle aus, die abgesaugt, sorgfältig mit Methyl-tert.butylether gewaschen, getrocknet und analysiert werden. Die Analyse der ¹H-NMR-Spektren bestätigt, daß es sich bei diesen beiden Fraktionen um stark angereichertes (2S,4R,2'R)-4-Hydroxy-1-(2'-hydroxydodecyl)prolin (2'R)-2 handelt. Weiteres Umkristallisieren aus Ethanol liefert 0.54g einer reinen Probe von (2'R)-2. Fp. 145-147°C; [α]_D²⁰ = -51.9° (c=1, Methanol); ¹H-NMR (CD₃OD): δ = 0.9 (t, J=7.9 Hz, 3H, CH₃), 1.25-1.5 (m, 18H, -CH₂-), 2.18 (ddd, J=4.6 Hz, J=10.5 Hz und J=13.8 Hz, 1H, H-3), 2.42 (dddd, J=1.8 Hz, J=2.3 Hz, J=7.5 Hz und J=13.6 Hz, 1H, H-3), 3.18-3.35 (m, 3H, H-5 und 2 x H-1'), 3.80-3.95 (m, 2H, H-5 und H-2'), 4.23 (dd, J=7.6 Hz und J=10.4 Hz, 1H, H-2), 4.4-4.5 (m, 1H, H-4).

Aus einem Teil der verbleibenden Mutterlauge kann durch mehrfaches Umkristallisieren aus Ethanol 0.35 g reines (2S,4R,2'S)-4-Hydroxy-1-(2'-hydroxydodecyl)prolin [(2'S)-2] erhalten werden. Der Rest der Mutterlauge verbleibt als gelbes Öl (2.5 g). Die Analyse des ¹H-NMR-Spektrums bestätigt, daß es sich hierbei um rohes (2'S)-2 handelt. Die Gesamtrohausbeute an (2'S)-2 beträgt 2.85 g. Fp. 165-176°C; [α]_D²⁰ = -33.0° (c=1, Methanol); ¹H-NMR (CD₃OD): δ = 0.90 (t, J=7.5 Hz, 3H, CH₃), 1.25-1.5 (m, 18H, -CH₂-), 2.18(dd, J=4.0 Hz, J=9.6 Hz und J=13.9 Hz, 1H, H-3), 2.38-2.48 (m, 1H, H-3), 3.13 (dd, J=10.27 Hz und J=12.81 Hz, 1H, H-1'), 3.22-3.34 (m, 1H und 1H, H-5), 3.46 (dd, J=2.15 Hz und J=12.8 Hz, 0.5 H, H-1'), 3.76-3.92 (m, 2H, H-5 und H-2'), 4.21 (dd, J=7.9 Hz und J=10.3 Hz, 1H, H-2), 4.47-4.53 (m, 1H, H-4). C, H₃, NO₄·H₂O (335.5): Ber. C, 61.23; H, 10.58; N, 4.20; Gef. C, 61.17; H, 10.85; N, 4.34.

Die Unterscheidung der Diastereomere (2'R)-2 und (2'S)-2 im ¹H-NMR-Spektrum erfolgt durch die zwei Protonen am C1 der Seitenkette. Bei δ =3.46 ppm wird für eines der H-Atome ein dd beobachtet, wenn (S)-Konfiguration in der Seitenkette vorliegt. Chirale Selektoren 2, die (R)-konfiguriert in der Seitenkette sind, zeigen dieses Signal hochfeldverschoben.

Danksagung - Wir danken dem Fonds der Chemischen Industrie und der Degussa AG für die Unterstützung dieser Arbeit.

LITERATUR

- 1 Martens, J.; Bhushan, R. *J. Pharm. Biochem. Anal.* **1989** im Druck.
- 2 Martens, J.; Bhushan, R. *Chem. Ztg.* **1988**, *112*, 367.
- 3 Martens, J.; Bhushan, R. *Int. J. Peptide Protein Res.* **1989**, *33* im Druck.
- 4 Günther, K. *J. Chromatogr.* **1988**, *448*, 11.
- 5 Mack, M.; Hauck, H.E.; Herbert, H. *J. Planar Chromatogr.* **1988**, *1*, 304.
- 6 Mack, M.; Hauck, H.E. *Chromatographia* **1989**, *26*, 197.
- 7 Günther, K.; Martens, J.; Schickedanz, M. *Angew. Chem.* **1984**, *96*, 514; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1984**, *23*, 506. Günther, K.; Schickedanz, M.; Martens, J. *Naturwissenschaften* **1985**, *72*, 149. Günther, K.; Martens, J.; Schickedanz, M. *Angew. Chem.* **1986**, *98*, 284; *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1986**, *25*, 278. Günther, K.; Schickedanz, M.; Drauz, K.; Martens, J. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1985**, *325*, 298.
- 8 Nyiredy, S.; Dallenbach-Toelke, K.; Sticher, O. *J. Chromatogr.* **1988**, *450*, 241.
- 9 Grinberg, N. *J. Chromatogr.* **1985**, *333*, 69. Grinberg, N.; Weinstein, S. *J. Chromatogr.* **1984**, *303*, 251.
- 10 Martens, J.; Günther, K.; Schickedanz, M. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **1986**, *319*, 461.
- 11 Kovács-Hadady, K.; Kiss, I. T. *Chromatographia* **1987**, *24*, 677.
- 12 Martens, J.; Günther, K.; Schickedanz, M. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **1986**, *319*, 572.
- 13 Brinkman, U. A. Th.; Kamminga, D. *J. Chromatogr.* **1985**, *330*, 375.
- 14 Günther, K.; Martens, J.; Schickedanz, M. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1985**, *322*, 512.
- 15 Marchelli, R.; Virgili, R.; Armani, E.; Dossena, A. *J. Chromatogr.* **1986**, *355*, 354. Gont, L. K.; Neuendorf, S. *K.J. Chromatogr.* **1987**, *391*, 343. Brückner, H. *Chromatographia* **1987**, *24*, 725; Brückner, H.; Bosch, I.; Graser, Th.; Fürst, P. *J. Chromatogr.* **1987**, *395*, 569. Neuzil, E.; Lacoste, A. M.; Denois, F. *Biochem. Soc. Trans.*, **1986**, *14*, 642. Sinibaldi, M.; Messina, A.; Girelli, A. M. *Analyst* **1988**, *113*, 1245. Wang, K. T.; Chen, S. T.; Lo, L. C. *Fresenius Z. Anal. Chem.* **1986**, *324*, 338.
- 16 Martens, J.; Günther, K.; Schickedanz, M. *Arch. Pharm. (Weinheim)* **1986**, *319*, 461.
- 17 Martens, J.; Weigel, H.; Busker, E.; Steigerwald, R. [Degussa AG] Deutsche Patentschrift 3 143 726 (1982).
- 18 Martens, J.; Günther, K.; Schickedanz, M. [Degussa AG] Europäisches Patent 143 147 (1982).
- 19 Synthese dieser Iminocarbonsäure: Teetz, V.; Geiger, R.; Gaul, H. *Tetrahedron Lett.* **1984**, *25*, 4479.