

253. Georg Triem: Über die Trennung kleiner Mengen racemischer Aminosäuren in die optischen Antipoden über die Salze der Cholestenonsulfonsäure.

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Greifswald.]

(Eingegangen am 18. Juni 1938.)

Mit Hilfe der Methode von E. Fischer zur Spaltung racemischer Aminosäuren in die optischen Antipoden über die Alkaloidsalze der benzylierten oder formylierten Aminosäuren kann man größere Mengen racemischen Ausgangsmaterials verarbeiten. Zur raschen Darstellung kleiner Mengen optisch reiner Aminosäuren ist sie zu umständlich. Nach dem im folgenden beschriebenen Verfahren lassen sich aus kleinen Mengen racemischen Ausgangsmaterials in kurzer Zeit optisch reine Aminosäuren herstellen.

Bei Versuchen über das Lösungsvermögen der von A. Windaus und E. Kuhr dargestellten Cholestenonsulfonsäure¹⁾ fanden wir, daß diese mit Aminosäuren aus absol. Alkohol krystallisierende Verbindungen bildet, die durch Analyse als Salze der Aminosäuren mit der Cholestenonsulfonsäure charakterisiert werden konnten.

Da die Cholestenonsulfonsäure optisch aktiv ist, war es uns nicht unwahrscheinlich, daß sie bei der Salzbildung mit racemischen Aminosäuren mit dem einen der optischen Antipoden ein schwerer lösliches Salz bildet als mit dem anderen. Beim Leucin gelang es dann auch, diese Annahme als richtig zu erweisen: Wir ließen in absol. Alkohol racemisches Leucin und Cholestenonsulfonsäure in molaren Verhältnissen miteinander in Reaktion treten. Das in Alkohol unlösliche Leucin ging alsbald in Lösung, und nach kurzer Zeit trat Krystallisation ein. Das aus dem Krystallisat in Freiheit gesetzte Leucin war in salzsaurer Lösung linksdrehend, das in der alkoholischen Mutterlauge als cholestenonsulfonsaures Salz verbliebene drehte nach seiner Isolierung in salzsaurer Lösung nach rechts.

Bei genügend großen Löslichkeitsunterschieden der cholestenonsulfonsauren Salze von optischen Antipoden der Aminosäuren mußte es möglich sein, racemische Aminosäuren direkt — also ohne Benzylierung oder Formylierung — mit Hilfe der optisch aktiven Säure in die Antipoden zu zerlegen. Auf diesem Wege ist es uns bis jetzt gelungen, je einen Antipoden des Leucins, der α -Amino-buttersäure und des Tyrosins optisch rein darzustellen. Bei der Aminobernsteinsäure haben wir ein optisch aktives, jedoch nicht optisch reines Präparat erhalten. Beim Alanin versagte die Methode. Aus unseren Ergebnissen glauben wir schließen zu können, daß beide Antipoden des Alanins mit der Cholestenonsulfonsäure in Alkohol schwer lösliche Salze bilden.

Beschreibung der Versuche.

Wir verwenden rohe Cholestenonsulfonsäure, die in guter Ausbeute zu erhalten ist. Auf die Reindarstellung der Säure, bei der wir immer große Verluste hatten, haben wir verzichten können.

5 g der racemischen Aminosäure werden mit der berechneten Menge Cholestenonsulfonsäure im Mörser fein zerrieben und innig gemischt. Schließ-

¹⁾ A. 532, 57 [1937].

lich wird mit wenig absol. Alkohol verrieben. Die Salzbildung vollzieht sich bei den verschiedenen Aminosäuren verschieden schnell. Beim Leucin und Tyrosin z. B. erstarrt die Mischung nach wenigen Minuten, bei der Asparaginsäure etwa nach $\frac{1}{2}$ Stunde. Der Krystallbrei wird soweit wie möglich auf der Nutsche abgesaugt und der verbleibende, meist gelb bis braun gefärbte zähe Rückstand in absol. Alkohol gelöst. Geringe Mengen nicht umgesetzter Aminosäure bleiben dabei meist ungelöst. Wir filtrieren und engen bei etwa 10—20 mm auf 25 ccm ein. Es ist für die Erreichung einer guten Ausbeute an optisch reiner Aminosäure von ausschlaggebender Bedeutung, daß die alkoholische Lösung bei möglichst tiefer Temperatur eingeeengt wird, da sonst starke Verharzung eintritt. Nach wenigen Min. oder Stehenlassen über Nacht erstarrt die Lösung zu einem Krystallbrei von gut ausgebildeten, in Äther schwer löslichen Nadeln. Man saugt ab und wäscht mit absol. Äther nach.

Zur Reindarstellung der Aminosäure wird das cholestenonsulfonsaure Salz mit 10 g Bleioxyd verrieben, mit 300 ccm Wasser versetzt und $\frac{1}{2}$ Stde. geschüttelt. Das Bleisalz der Cholestenonsulfonsäure fällt aus und kann abgesaugt werden. Es wird noch einmal mit 200 ccm Wasser ausgezogen. Aus dem Filtrat fällen wir das Blei mit Schwefelwasserstoff. Da das Bleisulfid meist kolloidal ausfällt, wird mit Tierkohle geschüttelt; nach dem Filtrieren erhält man eine klare, farblose wäßrige Lösung der Aminosäure, die im Vak. eingeeengt und mit Alkohol gefällt wird.

Die Aminosäuren erwiesen sich nach einmaligem Umkrystallisieren und Waschen mit Alkohol und Äther als chemisch und optisch rein.

Bei dem in Wasser schwer löslichen Tyrosin konnten wir die Ausfällung des Bleis mit Schwefelwasserstoff umgehen. Es genügte, die wäßrige, bleihaltige Lösung der Aminosäure mit Essigsäure anzusäuern. Das Tyrosin fiel sofort oder nach dem Einengen im Vak. aus.

Um uns davon zu überzeugen, ob die beim Leucin und der Aminobuttersäure beobachtete Linksdrehung nicht auf Verunreinigung mit der linksdrehenden Cholestenonsulfonsäure beruht, haben wir die Aminosäuren aus den alkoholischen Mutterlaugen in der angegebenen Weise isoliert und gefunden, daß sie zwar nicht optisch rein, jedoch stark rechtsdrehend waren.

Die Ausbeuten an optisch aktiven Aminosäuren betragen bei Verwendung von 5 g Ausgangsmaterial rund 1 g (40% d. Th.).

Nach unserer Methode kann bis jetzt nur ein Antipode rein dargestellt werden, der andere wird in der Mutterlauge angereichert. Wir glauben aber, daß man Lösungsmittel finden kann, in welchen die zur fraktionierten Krystallisation der cholestenonsulfonsauren Salze nötigen Löslichkeitsunterschiede groß genug sind, um eine quantitative Trennung zu ermöglichen.

Wir sehen die Vorzüge unserer Methode neben der Tatsache, daß man mit verhältnismäßig geringen Mengen racemischen Ausgangsmaterials arbeiten kann, darin, daß sich die Benzoylierung oder Formylierung der Aminosäuren und vor allem die Verseifung der acylierten Aminosäuren erübrigt.

Es lag nun nahe, nach anderen optisch aktiven Sulfonsäuren zu suchen, die vielleicht leichter zugänglich sind als die Cholestenonsulfonsäure. Wir haben Versuche mit der uns zufällig zur Verfügung stehenden *d*-Brom-

camphersulfonsäure gemacht. Deren Leucinsalz war aber in Alkohol und selbst in Äther so leicht löslich, daß eine fraktionierte Krystallisation nicht ausgeführt werden konnte.

Darstellung von *d*(—)-Leucin: 5 g *racem.* Leucin, 18 g rohe Cholestenonsulfonsäure und 30 ccm absol. Alkohol werden in der angegebenen Weise vereinigt. Nach wenigen Min. erstarrt die Mischung zu einem Krystallbrei, der abgesaugt, in Alkohol gelöst und filtriert wird. Man engt im Vak. auf 20 ccm ein, läßt über Nacht krystallisieren, saugt ab und wäscht mit absol. Äther nach.

Die alkoholischen Mutterlaugen wurden zur Weiterverarbeitung auf *l*(+)-Leucin aufbewahrt.

Das Salz des *d*(—)-Leucins mit der Cholestenonsulfonsäure stellt weiße Nadeln dar. Schmp. 192—193° unter Gasentwicklung.

0.00759 g Sbst.: 0.158 ccm N (19.1°, 757 mm).

$C_{33}H_{57}O_6NS$. Ber. N 2.45. Gef. N 2.42.

Das Leucin wurde aus dem cholestenonsulfonsauren Salz, wie oben beschrieben, isoliert und gereinigt.

$[\alpha]_D^{20} = -0.74^\circ \times 2.1698 / 0.0850 \times 1 \times 1.10 = -17.17^\circ$ (in 20-proz. HCl).

Das *d*(—)-Leucin wurde nach dieser Methode also optisch reiner erhalten, als es nach der Methode von E. Fischer möglich ist, wahrscheinlich weil in unserem Arbeitsgang keine Racemisierungsfahr besteht.

Das aus den alkohol. Mutterlaugen isolierte Leucin zeigte:

$[\alpha]_D^{20} = +0.41^\circ \times 2.3128 / 0.1138 \times 1 \times 1.1 = +7.6^\circ$ (in 20-proz. HCl).

Die Darstellung von *d*(—)-*n*- α -Amino-buttersäure geschah analog der Darstellung von *d*(—)-Leucin aus 5 g *racem. n.* α -Amino-buttersäure, 23 g Cholestenonsulfonsäure und 40 ccm absol. Alkohol. Die Krystallisation trat nach wenigen Min. ein. Nach dem Umkrystallisieren stellt das Salz weiße Nadeln dar.

0.00859 g Sbst.: 0.181 ccm N (18.2°, 757 mm).

$C_{31}H_{53}O_6NS$. Ber. N 2.46. Gef. N 2.46.

Die aus dem Salz isolierte Aminobuttersäure zeigte: $[\alpha]_D^{20} = -0.73^\circ \times 2.1064 / 0.1013 \times 1 \times 1.016 = -14.94^\circ$ (in Wasser unter Zusatz der zur Salzbildung errechneten Menge Salzsäure).

Die Darstellung von *l*(+)-Tyrosin geschah aus 5 g *racem.* Tyrosin, 13.3 g Cholestenonsulfonsäure und 20 ccm absol. Alkohol. Die Krystallisation trat nach wenigen Min. ein. Das Salz wurde umkrystallisiert. Auf eine Analyse wurde verzichtet.

Nach dem Ausfällen der Cholestenonsulfonsäure mit Bleioxyd wurde filtriert und das klare Filtrat mit Essigsäure angesäuert. Die Hauptmenge des in Wasser schwer löslichen Tyrosins fiel nach mehrstündigem Stehenlassen aus. Durch Einengen der Mutterlauge im Vak. konnte die Ausbeute etwas verbessert werden. $[\alpha]_D^{20} = +0.55^\circ \times 3.4082 / 0.0980 \times 2 \times 1.112 = +8.6^\circ$ (in 21-proz. HCl).

Der Versuch zur Darstellung optisch reiner Asparaginsäure wurde mit 5 g Asparaginsäure, 18 g Cholestenonsulfonsäure und 30 ccm absol. Alkohol ausgeführt. Die Krystallisation trat erst nach etwa 30 Min. ein. Die aus dem Salz isolierte Asparaginsäure wurde in schlechter Ausbeute erhalten (0.25 g).

$[\alpha]_D^{20} = +0.57^\circ \times 1.8816 / 0.0744 \times 1 \times 0.1028 = +14.01^\circ$ (in 3 Mol. Salzsäure). Optisch reine Asparaginsäure zeigt unter denselben Bedingungen eine spezif. Drehung von +25.5°.