

117. Munio Kotake, Takeo Sakan und Toshio Miwa: Die Spaltung des α -Oxy-tryptophans in die optischen Antipoden*)

[Aus dem Institute of Polytechnics, Osaka City University, Osaka/Japan]
(Eingegangen am 11. März 1952)

(+)- α -Oxy-tryptophan, das von H. Wieland und B. Witkop als Bestandteil des Phalloidins in *Amanita phalloides* aufgefunden worden ist, wurde durch Spaltung der *d,l*-Verbindung über das Brucin-Salz der *N*-Acetyl-Verbindung ebenso wie die (-)-Verbindung erhalten.

Das (+)- α -Oxy-tryptophan¹⁾, dessen Vorkommen in der Natur H. Wieland²⁾ 1940 zusammen mit B. Witkop durch die Hydrolyse des Phalloidins, des Giftes des Knollenblätterpilzes, *Amanita phalloides*, bewiesen hat, hat durch die spätere Aufklärung seiner physiologischen Bedeutung durch A. Butenandt³⁾ immer mehr an Interesse gewonnen. Die Synthese der *d,l*-Form dieses Stoffes gelang uns 1950⁴⁾, im folgenden Jahre dann auch A. Neuberger und seinen Mitarbeitern⁵⁾. Das Problem der Spaltung in die optischen Antipoden aber blieb noch ungelöst.

Wir haben nun gefunden, daß man das schon von Neuberger⁵⁾ erhaltene Brucin-Salz des *N*-Acetyl- α -oxy-tryptophans durch Behandeln mit einer wäßrigen Lösung von Natriumcarbonat zerlegen kann, ohne gleichzeitig das *N*-Acetyl- α -oxy-tryptophan zu zersetzen. In der Folge konnten wir dann auch durch Hydrolyse des aus dem schwer löslichen Brucin-Salz gewonnenen *N*-Acetyl-(+)- α -oxy-tryptophans mit Schwefelsäure (+)- α -Oxy-tryptophan vom Zersp. 257° ($[\alpha]_D^{20}$: +40.8°) und aus dem leicht löslichen Brucin-Salz (-)- α -Oxy-tryptophan ($[\alpha]_D^{20}$: -41.3°) erhalten. Das Brucin läßt sich aus dem Salz auch durch Papierchromatographie abtrennen, aber die vorstehend beschriebene Methode ist einfacher und allein für das Arbeiten in präparativem Maßstab geeignet.

Das so gewonnene (+)- α -Oxy-tryptophan ist identisch mit dem aus Phalloidin erhaltenen²⁾.

Beschreibung der Versuche

N-Acetyl-*d,l*- α -oxy-tryptophan: 5.49 g (0.02 Mol) *d,l*- α -Oxy-tryptophan wurden in 30 ccm 2*n* NaOH gelöst und unter Kühlung mit Eiswasser 12 ccm Essigsäureanhydrid in 6 Anteilen zugesetzt. Nach Zugabe des gesamten Essigsäureanhydrids wurde die Lösung 4 Stdn. im Kohlendioxyd-Strom auf 35–40° erwärmt, dann unter Kühlung mit Eis mit 6.67 ccm 6*n* H₂SO₄ versetzt und i. Vak. unter Kohlendioxyd zur Trockne

*) Meinem verehrten Lehrer, Herrn Geheimrat Professor Dr. H. Wieland, zum 75. Geburtstag gewidmet. *M. Kotake*.

1) Die Drehungsrichtung gilt für die alkalische Lösung der Verbindung.

2) A. 543, 171 [1940].

3) Naturwiss. 28, 447 [1940].

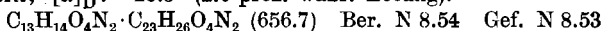
4) M. Kotake, T. Sakan u. T. Miwa, Journ. Amer. chem. Soc. 72, 5085 [1950].

5) J. W. Cornforth, R. H. Cornforth, C. E. Dagliesh u. A. Neuberger, Biochem. Journ. 48, 591 [1951].

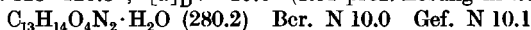
eingedampft. Anschließend wurde mit 30 ccm Wasser versetzt, die schwer löslichen Kristalle wurden nach cinigem Stehen abfiltriert und viermal mit Wasser gewaschen. Weitere 0.2 g wurden noch aus der Mutterlauge und dem Waschwasser gewonnen; Ausb. 87% d. Theorie. Nach dem Umkristallisieren aus Wasser lag der Zersp. bei 211.5°.



N-Acetyl-(+)- α -oxy-tryptophan und *N*-Acetyl(-)- α -oxy-tryptophan: Man löst 5.24 g *N*-Acetyl-*d,l*- α -oxy-tryptophan und 9.32 g Brucin-tetrahydrat unter Erwärmen in 80 ccm 95-proz. Alkohol und läßt über Nacht bei Raumtemperatur stehen. Die ausgeschiedenen Kristalle werden abfiltriert und getrocknet: 5.86 g, die dreimal aus 95-proz. Alkohol umkristallisiert, 1.92 g reines Brucin-Salz vom Zersp. 213 bis 213.5° liefern; $[\alpha]_D$: -26.5° (2.0-proz. wäbr. Lösung).



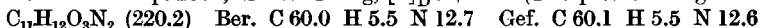
1.97 g dieses Brucin-Salzes werden in 150 ccm Wasser gelöst, mit einer konz. wäbr. Lösung von 0.180 g Natriumcarbonat versetzt und das in Freiheit gesetzte Brucin durch viermaliges Ausschütteln mit Chloroform extrahiert. Die wäbr. Lösung wird mit 4 ccm *n*HCl versetzt, zur Trockne verdampft und der feste Rückstand mehrere Male unter Erwärmen mit feuchtem Aceton extrahiert. Der Extrakt wird i. Vak. eingedampft und getrocknet, der Rückstand in 5 ccm Wasser unter Erwärmen gelöst und die Lösung dann i. Vak.-Exsiccator konzentriert. Hierbei scheiden sich die Kristalle des *N*-Acetyl(-)- α -oxy-tryptophans ab; Ausb. 83.6%. Die Substanz zeigt aus 2 ccm Wasser umkristallisiert den Zersp. 125–125.5°; $[\alpha]_D$: -29.0° (1.91-proz. Lösung in *n*NaOH).



Wenn man die bei der Abtrennung des schwer löslichen Brucin-Salzes erhaltene Mutterlauge eindampft und trocknet, erhält man 7.68 g eines pulverigen Rückstands. Man löst diesen in 150 ccm Wasser, gibt dazu die konz. Lösung von 0.700 g Natriumcarbonat und extrahiert das abgeschiedene Brucin mit Chloroform. Nach Zugabe von 15 ccm *n*HCl wird die Lösung i. Vak. bis auf 20 ccm eingeeengt, dann mit einer Spur *N*-Acetyl-*d,l*-Verbindung geimpft und über Nacht stehengelassen. Es scheiden sich 0.56 g Kristalle aus. Wird die Mutterlauge wie im Falle des *N*-Acetyl(-)- α -oxy-tryptophans behandelt, so steigt die Gesamtausbeute auf 1.09 g kristalliner Substanz. Die Kristalle werden aus 2 ccm Wasser fraktioniert umkristallisiert. Es werden so 0.56 g *N*-Acetyl-(+)- α -oxy-tryptophan vom Zersp. 123–124° erhalten; $[\alpha]_D$: +28.4° (1.99-proz. Lösung in 0.1 *n*NaOH).

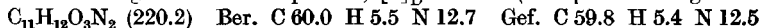


(+)- α -Oxy-tryptophan und (-)- α -Oxy-tryptophan: Man versetzt 420 mg *N*-Acetyl-(+)- α -oxy-tryptophan mit 2.05 ccm 6*n* H₂SO₄, erwärmt 20 Stdn. auf dem Wasserbad in Kohlendioxyd-Strom, verdünnt dann mit Wasser auf 250 ccm, setzt die ber. Menge von in wenig heißem Wasser gelöstem Bariumhydroxyd zu, filtriert durch Aktivkohle und konzentriert im Vakuum. Es scheiden sich allmählich nadelförmige Kristalle aus. Beträgt das Gesamtvolumen der Lösung nur noch 5 ccm, so erwärmt man, bis der größte Teil der Kristalle in Lösung gegangen ist, konzentriert weiter im Exsiccator bis auf 2 ccm und filtriert das ausgeschiedene (+)- α -Oxy-tryptophan ab. Farblose Nadeln vom Zersp. 257°; Ausb. 117 mg, $[\alpha]_D$: +40.8° (4.20-proz. Lösung in *n*NaOH).



Die Mischprobe mit der aus Phalloidin von H. Wieland und B. Witkop erhaltenen Aminosäure²⁾ zeigte keine Schmelzpunkts-Erniedrigung⁴⁾.

(-)- α -Oxy-tryptophan wird aus *N*-Acetyl(-)- α -oxy-tryptophan nach dem gleichen Verfahren gewonnen. Zersp. 257°; $[\alpha]_D$: -41.3° (1.45-proz. Lösung in *n*NaOH).



⁴⁾ Private Mitteilung von Hrn. B. Witkop; den Herren B. Witkop und P. L. Julian möchten wir für die Durchführung der Mischprobe bestens danken.