

Heinz Krebs und Wilhelm Schumacher \*)

Über die chromatographische Spaltung von Racematen, IV<sup>1-3</sup>)

## Camphersulfonsäuren, Diphensäuren und Aminosäuren

Aus dem Laboratorium für Anorganische Chemie der Technischen Hochschule Stuttgart

(Eingegangen am 1. September 1965)

■  
*N*-Acylierte DL-Aminosäuren lassen sich durch Chromatographie an Stärke um so besser optisch aktivieren, je größer der Aylrest ist. *Racem.* Derivate des Camphers (3-Brom-DL-campher-sulfonsäure-(7<sup>1</sup>) und DL-Campher-sulfonsäure-(1<sup>1</sup>)) und *racem.* Diphensäurederivate lassen sich ebenfalls um so besser trennen, je größer die Asymmetrie der Molekel ist. Optisch reine Fraktionen konnten erhalten werden von 3-Brom-DL-campher-sulfonsäure-(7<sup>1</sup>), 6.6'-Dinitro-diphensäure und 4.6.4'.6'-Tetranitro-diphensäure.

■  
Die chromatographische Spaltung organischer Racemate an Stärke scheint von folgenden Faktoren abhängig zu sein<sup>1)</sup>:

1) In der Nähe des asymmetrischen C-Atoms muß eine polare Gruppe vorhanden sein, durch welche die Adsorption an Stärke, wahrscheinlich über Wasserstoffbrückenbindungen, erfolgen kann.

2) Das asymmetrische C-Atom muß mit unterschiedlich großen Gruppen verbunden sein, so daß sich seine Asymmetrie bei der Adsorption an Stärke bemerkbar macht. Es wird also mehr verlangt als bei der Spaltung von Racematen über fraktionierte Kristallisation diastereomerer Verbindungen; denn hierbei genügt, daß die Asymmetrie der Molekel sich an einer beliebigen Stelle bemerkbar macht, um eine unterschiedliche Einpassung in ein Kristallgitter und damit eine Trennung zu bewirken. Bei der Adsorption muß jedoch die Asymmetrie sich in dem Teil der Molekeloberfläche bemerkbar machen, welcher den Adsorptionszentren benachbart liegt.

3) Sind die Bedingungen 1) und 2) nicht erfüllt, so kann sich die Asymmetrie einer Molekel bei der Adsorption auswirken, wenn die Molekel über mehrere polare Gruppen an das Adsorbens gebunden ist. Das ist der Inhalt der sogenannten Dreipunktregel von *Dalgliesh*<sup>4)</sup>.

Es war das Ziel der vorliegenden Arbeit, durch weiteres experimentelles Material die drei oben genannten Regeln zu sichern.

\*) *W. Schumacher*, Dissertat., Techn. Hochschule Stuttgart 1965.

1) III. Mittel.: *H. Krebs*, *J. A. Wagner* und *J. Diewald*, Chem. Ber. **89**, 1875 (1956).

2) *H. Krebs* und *R. Rasche*, Z. anorg. allg. Chem. **276**, 236 (1954).

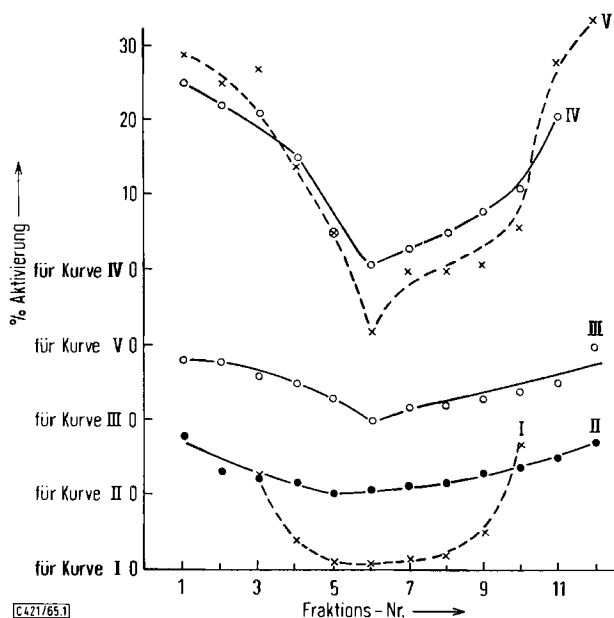
3) *H. Krebs* und *J. Diewald*, Z. anorg. allg. Chem. **287**, 98 (1956).

4) *C. E. Dalgliesh*, J. chem. Soc. [London] **1952**, 3940.

Die chromatographische Methode wurde etwas verbessert; außerdem besitzt das verwendete Polarimeter 141 der Firma Perkin-Elmer eine um den Faktor 10 höhere Meßgenauigkeit als die üblichen Halbschattengeräte; die Ablesung erfolgt automatisch, so daß subjektive Fehler sich nicht einschleichen können.

Zunächst wurde eine Reihe von Alaninderivaten untersucht. *Theisen*<sup>5)</sup> hatte mit der früheren weniger empfindlichen Meßtechnik gefunden, daß sich Alanin selbst an Stärke nicht trennen läßt, während die Trennung bei acylierten Alaninderivaten um so besser wird, je größer der Acylrest ist. Wir konnten mit der verbesserten Technik auch das Alanin in geringem Maße an Stärke aktivieren. Die Fraktion mit der größten Aktivierung von Alaninderivaten  $\text{CH}_3\text{CH}(\text{NHR})\text{CO}_2\text{Na}$  durch chromatographische Adsorption an Stärke

Verbindung	R	$\lambda$ [nm]	$[\alpha]_{\text{max}}$	% Aktivierung
Alanin	H	578	+1.9 bis -2.5	13-17
<i>N</i> -Acetyl-alanin	$\text{CH}_3\text{CO}$	589	-2.5 bis +2.2	8-7
<i>N</i> -Chloracetyl-alanin	$\text{CH}_2\text{ClCO}$	589	-1.5 bis +2.0	8-10
<i>N</i> -Dichloracetyl-alanin	$\text{CHCl}_2\text{CO}$	589	-9.8 bis +11	39-44
<i>N</i> -Trichloracetyl-alanin	$\text{CCl}_3\text{CO}$	589	-19 bis +18	-
<i>N</i> -Trimethylacetyl-alanin	$\text{C}(\text{CH}_3)_3\text{CO}$	589	-4.0 bis +3.3	25-21



Abbild. 1. Prozentuale optische Aktivierung bei der Trennung von Alanin und *N*-Acyl-alanin-Derivaten an Stärke mit Wasser. Kurve I ist um 2 Einheiten nach rechts verschoben  
 Kurve I: DL-Alanin, II: *N*-Acetyl-DL-alanin, III: *N*-Chloracetyl-DL-alanin, IV: *N*-Dichloracetyl-DL-alanin, V: *N*-Trimethylacetyl-DL-alanin

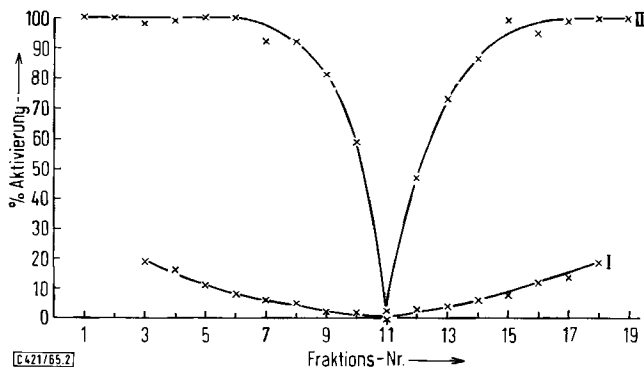
<sup>5)</sup> *W. Theisen*, Dissertat., Univ. Bonn 1957.

spezifischen Drehung zeigte eine Aktivierung von 17%. In der Tab. sind unsere Ergebnisse zusammengestellt. Abbild. 1 zeigt den Gang der Aktivierung in den einzelnen Fraktionen.

Um das Ausmaß der Aktivierung festzustellen, wurden die optisch reinen Verbindungen dargestellt, soweit sie in der Literatur nicht beschrieben sind. Die Tabelle zeigt deutlich, daß die Größe des Acylrestes bei der Spaltung an Stärke eine wichtige Rolle spielt. Der Einfluß der Größe des Acylrestes wird weiter demonstriert durch die Ergebnisse von *Theisen*<sup>5)</sup>, der zeigen konnte, daß  $\alpha$ - und  $\beta$ -Naphthoyl-alanin und ferner Acetyl-tryptophan, Benzoyl-methionin und Prolin sich an Stärke trennen lassen. Das Ausmaß der Aktivierung wurde von ihm in den Fällen bestimmt, wo die Drehwerte der optisch reinen Verbindungen bekannt waren. Beim  $\alpha$ -Naphthoyl-alanin konnte eine Fraktion mit ca. 30-proz., beim Acetyl-tryptophan und Prolin von je 5-proz. Aktivierung erreicht werden. Ergänzend sei aus dieser Arbeit noch mitgeteilt, daß Atropinsulfat und 3.4-Dimethyl-2-phenyl-morpholin Fraktionen mit 15-proz. Aktivierung zeigten.

*Theisen*<sup>5)</sup> hat schon Versuche zur chromatographischen Spaltung von Substanzen durchgeführt, deren Asymmetrie über die ganze Molekel relativ groß ist (Campher- und Diphensäure-Derivate). Unsere Ergebnisse sind folgende:

Das Ammoniumsalz von Campher-sulfonsäure-(11) ergab Fraktionen mit einer Aktivierung von 19%. Das Ammoniumsalz der viel stärker asymmetrischen 3-Brom-campher-sulfonsäure-(71) fiel in einigen Fraktionen mit einer optischen Reinheit von 100% an. Den Verlauf der Trennungen zeigt Abbild. 2.

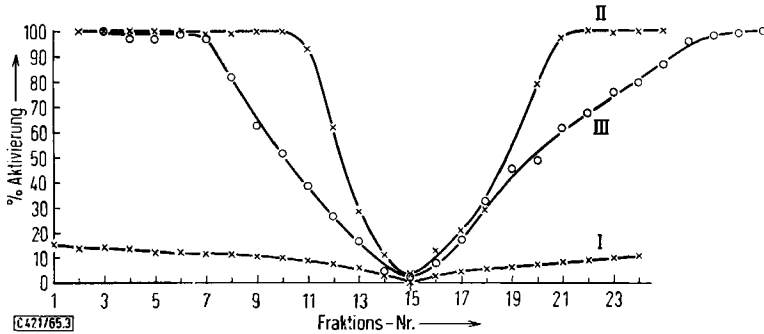


Abbild. 2. Prozentuale optische Aktivierung bei der Trennung von DL-Campher-sulfonsäure-(11) (Kurve I) und 3-Brom-DL-campher-sulfonsäure-(71) (Kurve II) an Stärke mit Wasser. Kurve I ist um 2 Einheiten nach rechts verschoben

Das Natriumsalz der 6-Nitro-diphensäure ergab eine Aktivierung von 15%, während 6.6'-Dinitro-diphensäure und 4.6.4'.6'-Tetranitro-diphensäure in einigen Fraktionen eine Aktivierung von 100% zeigten (Abbild. 3).

In diesem Zusammenhang sei auch noch auf Untersuchungen von *Musso*<sup>6)</sup> hingewiesen, dem es gelang, einen Orceinfarbstoff chromatographisch an Stärke ebenfalls in einigen Fraktionen in einer optischen Reinheit von 100% zu erhalten.

<sup>6)</sup> H. Musso, Chem. Ber. **91**, 349 (1958).



Abbild. 3. Prozentuale optische Aktivierung bei der Trennung von 6-Nitro-diphenylsäure (Kurve I), 6,6'-Dinitro-diphenylsäure (Kurve II) und 4,6,4',6'-Tetranitro-diphenylsäure (Kurve III) an Stärke mit Wasser. Kurve II ist um eine, III um zwei Einheiten nach rechts verschoben

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft, dem Kultusministerium von Nordrhein-Westfalen und dem Fonds der Chemie schulden wir Dank für die Bereitstellung von Mitteln und Apparaten zur Durchführung dieser Arbeit.

### Beschreibung der Versuche

*Durchführung der chromatographischen Trennung an Stärke:* Die benutzten Glasrohre (150 cm  $\times$  18 mm) waren am unteren Ende mit einer Glassinterplatte und einem Hahn versehen. Jeweils 200 g käufliche Kartoffelstärke wurden, aufgeschlämmt in 200 ccm Methanol, in das Rohr gegeben. Nach Absitzen der Stärke wurde das Methanol durch destilliertes Wasser verdrängt. Man erhält durch die nachträgliche Quellung der Stärke im Rohr eine gleichmäßige Packung der Säule, die auch nach langer Benutzung keine Risse zeigt. Dann wurde solange mit Wasser gewaschen, bis sich im Eluat keine durch lösliche Stärke verursachte optische Drehung mehr nachweisen ließ. Bei der Trennung (Eliminierung mit Wasser) wurde auf den Kopf der Säule ein Überdruck von 0.25 at gegeben, um die Durchlaufgeschwindigkeit zu erhöhen. Eine Trennung dauerte 2–3 Tage. Die einzelnen Fraktionen (6 ccm, jedoch beim Trichloracetyl-alanin, den Camphersulfonsäuren und den Nitrodiphenylsäuren 3 ccm) wurden in einem Fraktionssammler aufgefangen.

*Alaninderivate:* Die racem. Acylderivate wurden nach Schotten-Baumann aus Alanin, der dreifachen Menge Acylchlorid und 4n NaOH unter Eiskühlung dargestellt und aus siedendem Wasser umkristallisiert. *N*-Dichloracetyl-DL-alanin schmolz bei 170° (Lit.<sup>7)</sup>: 164°, das bisher unbekannte *N*-Trimethylacetyl-DL-alanin bei 137°.

Da die freien Säuren in Wasser nur beschränkt löslich sind und außerdem die Stärke in großem Maße hydrolytisch spalten, trennten wir die wäßr. Lösungen der Natriumsalze. Von den untersuchten Acylderivaten waren in der Literatur lediglich die Drehwerte des *N*-Acetyl- und des *N*-Chloracetyl-alanins angegeben. Wir stellten deshalb die optisch aktiven freien Säuren und ihre Natriumsalze her, um das Ausmaß unserer Trennungen bestimmen zu können.

Nach der Synthese aus *L*-Alanin, Acylchlorid und Natronlauge wurden die Aminosäuren mit konz. Salzsäure in Freiheit gesetzt und mit Essigester ausgeschüttelt. Nach Trocknen mit Natriumsulfat und Abziehen des Lösungsmittels i. Vak. wurde der farblose Rückstand in

<sup>7)</sup> E. Ronwin, J. org. Chemistry **18**, 1564 (1953).

wenig Aceton aufgenommen, mit 10 ccm Wasser und einem Tropfen Salzsäure versetzt und zum Eindunsten hingestellt. Nach einigen Tagen war das Aceton vollständig verdampft; die *Acylalanine* fielen in großen farblosen Kristallen an.

*N-Acetyl-L-alanin*: Schmp. 126°,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-65.6^\circ$  (Wasser,  $c = 5.5$  mg/ccm) (Lit.<sup>8)</sup>; Schmp. 125°,  $[\alpha]_D$ :  $-66.2^\circ$ .

*Natriumsalz*:  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-33.1^\circ$  (Wasser,  $c = 8.3$  mg/ccm).

*N-Chloracetyl-L-alanin*: Schmp. 93°,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-45.2^\circ$  (Wasser,  $c = 8.5$  mg/ccm) (Lit.<sup>9</sup>); Schmp. 93°,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-45.6^\circ$ .

*Natriumsalz*:  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-19.6^\circ$  (Wasser,  $c = 6.6$  mg/ccm).

*N-Dichloracetyl-L-alanin*: Schmp. 175° (Zers.),  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-45.3^\circ$  (Wasser,  $c = 6.0$  mg/ccm).

*Natriumsalz*:  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-25.0^\circ$  (Wasser,  $c = 6.1$  mg/ccm).

*N-Trimethylacetyl-L-alanin*: Schmp. 136°,  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-49.4^\circ$  (Wasser,  $c = 10$  mg/ccm).

*Natriumsalz*:  $[\alpha]_D^{20}$ :  $-15.4^\circ$  (Wasser,  $c = 8.6$  mg/ccm).

Versuche, *N-Trichloracetyl-L-alanin* in optisch reiner Form darzustellen, scheiterten daran, daß keine kristallinen Produkte anfielen.

*Camphersulfonsäuren*: Wir stellten *DL-Campher-sulfonsäure*-(<sup>11</sup>) nach *Rewald*<sup>10</sup>) aus synthetischem *Campher*, *Acetanhydrid* und konz. *Schwefelsäure* dar. Schmp. 201° (Zers.). Für die Spaltungsversuche benutzten wir das Ammoniumsalz.

Das Ammoniumsalz der *3-Brom-DL-campher-sulfonsäure*-(<sup>71</sup>) wurde nach *Kipping* und *Pope* dargestellt<sup>11</sup>).

Bei der *Camphersulfonsäure* betragen die höchsten spezifischen Drehwerte in einigen Fraktionen  $[\alpha]_D$ :  $-4.0$  und  $+3.9^\circ$ , was einer Aktivierung von 19% entspricht (Abbild. 2), während die Werte bei der *Bromcamphersulfonsäure*  $[\alpha]_D$ :  $\pm 88^\circ$  betragen (100% Aktivierung) (Abbild. 2).

*Nitrodiphensäuren*: *6-Nitro-DL-diphensäure* wurde nach *Schmidt* und *Kämpf*<sup>12</sup>) dargestellt. Sie zeigte den von den Autoren angegebenen Schmp. 248–249° (Zers.).

*6,6'-Dinitro-DL-diphensäure* konnte auf einem eleganten Wege<sup>13–16</sup>) gewonnen werden. *3-Nitro-phthalsäure* aus *Phthalsäureanhydrid* wurde mit Quecksilber(II)-acetat in die Anhydro-2-hydroxymercuri-3-nitro-benzoesäure übergeführt, woraus mit *Brom* und Natriumbromid *2-Brom-3-nitro-benzoesäure* gewonnen werden konnte. Nach Veresterung mit Methanol gab diese mit Kupferpulver den *Dimethylester* der *6,6'-Dinitro-diphensäure*; Verseifung lieferte das gesuchte Präparat. Schmp. 268° (Lit.<sup>17</sup>): 262–263°).

Aus *DL-6,6'-Dinitro-diphensäure* wurde durch Nitrierung nach *Christie* und *Kenner*<sup>18</sup>) *DL-4,6,4',6'-Tetranitro-diphensäure* gewonnen. Schmp. 288–289°.

<sup>8</sup>) S. M. Birnbaum, L. Levintow, R. B. Kingsley und J. P. Greenstein, J. biol. Chemistry **194**, 455 (1952).

<sup>9</sup>) P. J. Fodor, V. E. Price und J. P. Greenstein, J. biol. Chemistry **178**, 503 (1949).

<sup>10</sup>) B. Rewald, Ber. dtsh. chem. Ges. **41**, 3136 (1909).

<sup>11</sup>) St. Kipping und W. J. Pope, J. chem. Soc. [London] **63**, 1893 (1893).

<sup>12</sup>) J. Schmidt und A. Kämpf, Ber. dtsh. chem. Ges. **36**, 3737 (1903).

<sup>13</sup>) Org. Syntheses **7**, 70 (1927).

<sup>14</sup>) F. C. Whitmore und P. J. Culhane, J. Amer. chem. Soc. **51**, 603 (1929).

<sup>15</sup>) J. P. Culhane, Org. Syntheses, Coll. Vol. I, 2. Aufl. 125 (1951).

<sup>16</sup>) A. W. Ingersoll und J. R. Little, J. Amer. chem. Soc. **56**, 2124 (1934).

<sup>17</sup>) R. Kuhn und O. Albrecht, Liebigs Ann. Chem. **455**, 272 (1927).

<sup>18</sup>) G. H. Christie und J. Kenner, J. chem. Soc. [London] **121**, 619 (1922).

Für die chromatographischen Spaltungsversuche wurden die Natriumsalze verwendet, für welche die spezifischen Drehwerte der optisch reinen Formen bekannt sind.

Bei der Trennung von 6-Nitro-diphensäure konnten wir maximale spezifische Drehwerte von  $[\alpha]_D$ :  $-65$  bzw.  $+47^\circ$  messen, was einer Aktivierung von 15 bzw. 11 % entspricht. 6.6'-Dinitro-diphensäure ließ sich in einigen Fraktionen mit 100-proz. optischer Reinheit gewinnen ( $[\alpha]_D$ :  $\pm 230^\circ$ ), sofern nicht mehr als 2.5 g des Natriumsalzes auf eine Säule aus 200 g Stärke gegeben wurden. Auch 4.6.4'.6'-Tetranitro-diphensäure konnte in einigen Fraktionen bis zu 100 % getrennt werden ( $[\alpha]_D$ :  $\pm 180^\circ$ ). [421/65]

---