

- [13] G. BEISENHERZ, H. J. BOLTZE, TH. BÜCHER, R. CZOK, K. H. GARBADE, E. MEYER-ARENDE & G. PFLEIDERER, *Z. Naturforsch.* 8b, 555 (1953).
- [14] G. H. HOGEBOOM, W. C. SCHNEIDER & G. E. PALADE, *J. biol. Chemistry* 172, 619 (1948).
- [15] M. WAITE & S. J. WAKIL, *J. biol. Chemistry* 237, 2750 (1962).
- [16] A. TISELIUS, S. HJERTEN & O. LEVIN, *Arch. Biochemistry Biophysics* 65, 132 (1956).
- [17] J. KNAPPE & T. HÖPNER, *Fed. Europ. biochem. Soc., 1st. Meeting, London 1964, Abstract A8*; J. KNAPPE, B. WENGER & U. WIEGAND, *Biochem. Z.* 337, 232 (1963).
- [18] M. D. LANE & F. L. YOUNG, *Fed. Proc.* 23, 481 (1964).
- [19] M. D. LANE, K. L. ROMINGER, D. L. YOUNG & F. LYNEN, *J. biol. Chemistry* 239, 2865 (1964); 239, 2858 (1964).

263. Optische Spaltung des 5-Hydroxy-DL-Tryptophans

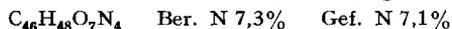
von Heinrich Rinderknecht

(30. X. 64)

Die Erkenntnis, dass das 5-Hydroxytryptophan, Vorläufer des neurophysiologisch wichtigen Serotonins, die Blut-Hirn-Schranke zu passieren vermag, hat in den letzten Jahren zunehmendes Interesse an dieser Aminosäure angefacht. Da bekanntlich die L- und D-Antipoden der meisten Aminosäuren im Stoffwechsel verschiedene Wege beschreiten, was auch auf das 5-Hydroxytryptophan zutrifft [1]¹⁾, so ist die Anwendung der optisch reinen Isomeren, insbesondere der L-Form, in vielen Untersuchungen fast unumgänglich. Die optische Spaltung der racemischen Aminosäure durch fraktionierte Kristallisation der Chininsalze des N-Benzylloxycarbonyl-5-benzyloxy-DL-tryptophans wurde zwar 1957 von MORRIS & ARMSTRONG [2] beschrieben (der D-Antipode bildet das weniger lösliche Salz). Die Arbeitsweise dieser Autoren ist jedoch sehr mühsam und mit dem Nachteil zahlreicher Umkristallisationen behaftet.

Es gelang uns nun, durch nacheinanderfolgenden Gebrauch des Stereoisomerenpaares Chinidin und Chinin diese Methode so zu vereinfachen, dass schon nach 1–2 Umkristallisationen optisch reine Salze des N-Benzylloxycarbonyl-5-benzyloxy-L- bzw. -D-tryptophans in 60–65-proz. Ausbeute erhalten wurden. Die L- und D-Antipoden konnten durch Freisetzen aus ihren Salzen fast quantitativ isoliert werden, und Hydrierung über Palladiumkohle lieferte die L- und D-Formen des 5-Hydroxytryptophans in 85% Ausbeute. Die Kombination stereoisomerer Basen zur optischen Spaltung von racemischen Säuren war uns nur aus einer einzigen Literaturangabe [3] bekannt und dürfte wohl von allgemeinem Interesse sein.

Experimentelles. – *Chinidinsalz des N-Benzylloxycarbonyl-5-benzyloxy-L-tryptophans.* Eine Lösung von N-Benzylloxycarbonyl-5-benzyloxy-DL-tryptophan (9,6 g) und 7,2 g Chinidin in 250 ml siedendem Benzol wurde langsam auf Zimmertemperatur abgekühlt und schliesslich 30 Min. in Eiswasser stehengelassen. Der Niederschlag wurde abfiltriert und *in vacuo* bei 45° getrocknet. Ausbeute: 8,5 g. Smp. 135°. Nach zweimaliger Umkristallisation aus 450 ml und 300 ml Benzol wurden 5,5 g (65% d. Th.) Reinprodukt erhalten. Smp. 156°; $[\alpha]_D^{23} = +127,5^\circ$ ($c = 1$ in Äthanol).



Chininsalz des N-Benzylloxycarbonyl-5-benzyloxy-D-tryptophans. Die Benzolfiltrate des Chinidinsalzes wurden mit 150 ml Wasser versetzt und unter Umrühren mit 6N HCl auf pH 1,5 ein-

¹⁾ Die Zahlen in eckigen Klammern verweisen auf das Literaturverzeichnis, S. 2404.

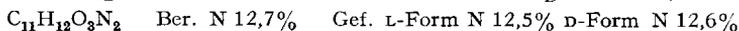
gestellt. Die Benzolphase wurde abgetrennt und die wässrige Schicht mit 100 ml Benzol extrahiert. Die kombinierten Benzolextrakte wurden zweimal mit 75 ml Wasser gewaschen und durch Destillieren auf 250 ml reduziert. Nach Zugabe von 3,4 g Chinin zu der heissen Lösung wurde filtriert, über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen und der ausgeschiedene Kristallbrei abfiltriert. Der Kristallkuchen, mit etwas kaltem Benzol gewaschen und wie oben getrocknet, lieferte 6 g Produkt. Aus 250 ml Benzol wurden daraus 5 g (60%) reines Chininsalz erhalten. Smp. 144–145°; $[\alpha]_D^{23} = -94,2^\circ$ ($c = 1$ in Äthanol), (Lit. [2]: $[\alpha]_D^{23} = -94,3^\circ$).

N-Benzoyloxycarbonyl-5-benzyloxy-L-tryptophan. 5 g Chinidinsalz wurden in 50 ml Wasser und 35 ml Äthylacetat aufgeschlämmt und die wässrige Schicht mit 6N HCl auf pH 1,5 eingestellt. Die Äthylacetatschicht wurde abgetrennt und die wässrige Phase noch dreimal mit 25 ml Äthylacetat ausgezogen. Die vereinigten Äthylacetatextrakte wurden mit 20 ml verd. HCl und zweimal mit 20 ml Wasser gewaschen, über Magnesiumsulfat getrocknet, mit etwas Tierkohle behandelt und zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wurde in 25 ml heissem Benzol aufgenommen und über Nacht bei Zimmertemperatur stehengelassen. Der kristalline Niederschlag wurde filtriert und im Vakuum über Phosphorpentoxid getrocknet. Ausbeute: 2,8 g (96%). Smp. 99°; $[\alpha]_D^{21} = -10,3^\circ$ ($c = 1$ in Äthanol), (Lit. [2]: $[\alpha]_D^{22} = -10,1^\circ$).

N-Benzoyloxycarbonyl-5-benzyloxy-D-tryptophan. Die Substanz wurde wie oben angegeben aus ihrem Chininsalz freigesetzt und aus Benzol umkristallisiert. Smp. 99°; $[\alpha]_D^{25} = +10,15^\circ$ ($c = 1$ in Äthanol), (Lit. [2]: $[\alpha]_D^{22} = +10,3^\circ$).

5-Hydroxy-L- und -D-tryptophan. 2 g *N-Benzoyloxycarbonyl-5-benzyloxy-L-tryptophan* wurden in 50 ml Äthanol gelöst und die Lösung mit Wasser (ca. 24 ml) versetzt, bis sie sich zu trüben begann. Es wurden nun 0,5 g 10-proz. Palladiumkohle und 0,5 ml konz. HCl hinzugefügt und unter Umschütteln Wasserstoff in die Lösung eingeleitet. Nach etwa 2,5 Std. war die Hydrierung beendet. Das Reaktionsgemisch wurde in einer Stickstoffatmosphäre filtriert, das Filtrat mit 2N NaOH auf pH 5,9 eingestellt und unter vermindertem Druck auf 20 ml eingeeengt. Kristallisation wurde durch Kratzen mit einem Glasstab ausgelöst und das Produkt nach zwei-stündigem Stehen im Kühlschrank in einer Stickstoffatmosphäre filtriert. Die fast farblosen Nadelchen wurden mit etwas Äthanol gewaschen und im Vakuum über KOH und Phosphorpentoxid getrocknet. Ausbeute: 0,7 g (85%) 5-Hydroxy-L-tryptophan. Smp. 273° (Zers.); $[\alpha]_D^{23} = -32,4^\circ$ ($c = 1$ in Wasser), (Lit. [2]: $[\alpha]_D^{22} = -32,5^\circ$).

Die *D*-Form des 5-Hydroxytryptophans wurde auf dieselbe Weise erhalten. Ausbeute: 85%. Smp. 274° (Zers.), $[\alpha]_D^{24} = +31,5^\circ$ ($c = 1$ in Wasser) (Lit. [2]: $[\alpha]_D^{22} = +32,2^\circ$).



Herrn M. PANIC sei an dieser Stelle für seine Mitarbeit an diesem Projekt bestens gedankt. Die Arbeit wurde zum Teil durch das NATIONAL INSTITUTE OF CHILD HEALTH AND HUMAN DEVELOPMENT, grant No. HD-00347, unterstützt.

SUMMARY

A novel method for the resolution of 5-hydroxy-DL-tryptophan is described. Successive treatment of *N-Benzoyloxycarbonyl-5-benzyloxy-DL-tryptophan* with the stereoisomeric bases quinidine and quinine precipitates directly the corresponding salts of the *L*- and *D*-antipodes.

Contribution No. 3178 from the
Gates and Crellin Laboratories of Chemistry,
California Institute of Technology,
Pasadena 4, California
and
CALBIOCHEM, Inc. Los Angeles, California

LITERATURVERZEICHNIS

- [1] J. A. OATES & A. SJOERDSMA, Proc. Soc. exp. Biol. Med. 108, 264 (1961).
- [2] A. J. MORRIS & M. D. ARMSTRONG, J. org. Chemistry 22, 306 (1957).
- [3] E. FISCHER & W. A. JACOBS, Ber. deutsch. chem. Ges. 39, 2942 (1906).