

Dünnschicht- und säulenchromatographische Trennung einiger diastereomerer Dipeptide

Werden zwei optisch aktive Aminosäuren zu einem Dipeptid verknüpft, so tritt sehr häufig eine Racemisierung auf. Dabei racemisiert in der Regel die Aminosäure, die mit ihrer Carboxylgruppe zur Reaktion gebracht wird. Es entsteht ein Gemisch zweier diastereomerer Dipeptide. Zur Erkennung einer solchen Racemisierung sind bisher eine Reihe von Analysenmethoden herangezogen worden.

Die Messung der Drehung ist ungenau, da die spezifische Drehung von Peptiden oft gering ist und daher ein kleiner Anteil des durch Racemisierung entstandenen Diastereomeren nicht erkannt werden kann. Ebenso ist die oft mögliche fraktionierte Kristallisation für analytische Zwecke wenig geeignet. Gute Ergebnisse wurden mit der Gaschromatographie von N-Trifluoracetyl-dipeptid-methylestern¹ und neuerdings mit der Papierchromatographie freier Dipeptide² erzielt. In beiden Arbeiten finden sich weitere Literaturhinweise.

In der vorliegenden Mitteilung wird über die dünnschichtchromatographische Trennung einer Reihe von diastereomeren Dipeptiden berichtet. Von 12 zur Verfügung stehenden diastereomeren Dipeptiden konnten 9 aufgetrennt werden (Tabelle I). Das LL- (bzw. DD-) Isomer besass stets den höheren R_F -Wert. Die Trennung von Alanyl-alanin, Alanyl-asparagin und Alanyl-methionin gelang nicht.

Die unter den angegebenen Bedingungen entstehenden Flecke sind scharf. Die untere Nachweisgrenze wurde für Alanyl-leucin, Leucyl-leucin und Leucyl-tyrosin bestimmt. Es lassen sich 0.2 γ der einzelnen Diastereomeren noch ohne Schwierigkeiten erkennen. Dabei ist die Anfärbbarkeit für LL- (bzw. DD-) Isomere in der Regel etwas besser als für DL- (LD-) Isomere. Die Flecke für LL- (DD-) Isomere erscheinen schneller und sind zunächst violett gefärbt, während DL- (LD-) Isomere später und als mehr bräunliche Flecke erscheinen.

Beim Alanyl-leucin, das sich durch seine gute Löslichkeit besonders für diese Bestimmung eignet, konnten 0.5 γ des DL-Isomeren neben 1000 γ des LL-Isomeren noch ohne Schwierigkeiten nachgewiesen werden.

Die dünnschichtchromatographischen Trennungen können auf die Säule übertragen werden. Fig. 1 zeigt die Trennung von DL-Alanyl-L-leucin unter Verwendung von Kieselgel zur Säulenchromatographie unter 0.08 mm Korngrösse (Merck,

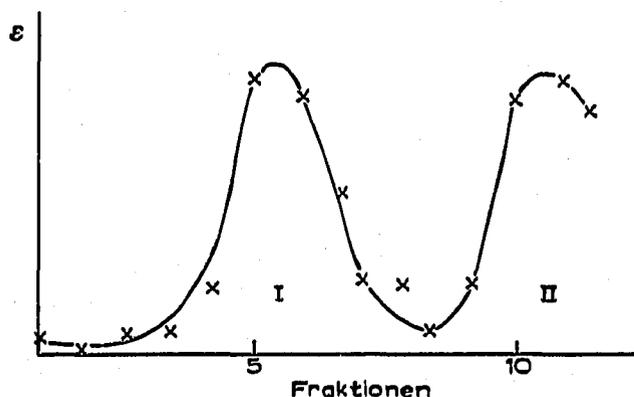


Fig. 1. Säulenchromatographische Trennung von DL-Alanyl-L-Leucin. (I) LL-Isomer; (II) DL-Isomer.

TABELLE I

DÜNNSCHICHTCHROMATOGRAPHISCHE TRENNUNG DIASTEREOMERER DIPEPTIDE

Als Kieselgel wurde Kieselgel G (Merck, Darmstadt), als Zellulose Zellulosepulver MN 300 (Macherey, Nagel & Co., Düren) verwendet.

Fliessmittel: I = *n*-Butanol-Wasser-Eisessig (8:2:2).

II = Essigester-Pyridin-Eisessig-Wasser (5:5:1:3).

III = *n*-Butanol-Wasser-Eisessig (8:2:4).

Die getrockneten Chromatogramme wurden mit Ninhydrin-Reagenz (Merck) besprüht und 10 Min. bei 80° aufbewahrt.

<i>Dipeptid</i>	<i>Konfiguration</i>	<i>Schicht</i>	<i>Fliessmittel</i>	<i>R_F-Wert</i>
Ala-Leu	LL	Kieselgel	I (II)	0.56 (0.57)
	DL			0.30 (0.40)
	LL	Zellulose	I (II)	0.77 (0.60)
	DL			0.45 (0.25)
Ala- <i>n</i> -Leu	LL	Zellulose	II	0.64
	DL			0.56
Ala-Phe	LL	Zellulose	II	0.59
	DL			0.54
Ala-Ser	LL	Kieselgel	I (III)	0.19 (0.27)
	DL			0.13 (0.22)
	LL	Zellulose	I (II)	0.34 (0.23)
	DL			0.20 (0.16)
Ala-Val	LL	Kieselgel	I (III)	0.39 (0.47)
	DL			0.27 (0.42)
Leu-Leu	LL	Kieselgel	I (II)	0.60 (0.77)
	DL			0.48 (0.61)
	LL	Zellulose	I	0.87
	DL			0.81
Leu-Phe	LL	Kieselgel	I	0.38
	DL			0.27
	LL	Zellulose	I	0.89
	DL			0.76
Leu-Tyr	LL	Kieselgel	I	0.55
	DL			0.44
Phe-Leu	LL	Kieselgel	I	0.54
	DL			0.43

Darmstadt) und Fliessmittel I (vergl. Tabelle I). Die Länge der verwendeten Säule betrug 17 cm, ihr Durchmesser 2 cm. Die Auswertung erfolgte kolorimetrisch mit Ninhydrin³.

Pharmazeutisch-Chemisches Institut der Universität Tübingen
(Deutschland)

H. FELTKAMP
H. PFROMMER

- 1 F. WEYGAND, A. PROX, L. SCHMIDHAMMER UND W. KÖNIG, *Angew. Chem.*, 75 (1963) 282.
2 T. SOKOLOWSKA UND J. F. BIERNAT, *J. Chromatog.*, 13 (1964) 269.
3 V. RUDLOFF UND G. BRAUNITZER, *Z. Physiol. Chem.*, 323 (1961) 129.

Eingegangen den 23. September 1964