

36. Hans Brockmann und Hans Musso: Zur Kenntnis des IR-Spektrums optisch aktiver Aminosäuren und ihrer Racemate

[Aus dem Organisch-Chemischen Institut der Universität Göttingen]
(Eingegangen am 10. September 1955)

Herrn Professor Dr. K. Freudenberg zum 70. Geburtstag gewidmet

Wie am Beispiel des Alanins, Serins und ihrer Anhydride gezeigt, treten bei Antipoden und Racematen, die sich in Schmelzpunkt und Löslichkeit hinreichend unterscheiden, charakteristische Unterschiede im IR-Spektrum auf, die Rückschlüsse auf die Bindung der Moleküle im Kristall erlauben.

Die Konfiguration der beiden optisch inaktiven, stereoisomeren Alanin- und Serin-anhydride wird auf synthetischem Wege sichergestellt.

Beim Pressen in Kaliumbromid können Gemische optischer Antipoden in Racemate übergehen.

Die Racemate aliphatischer α -Aminosäuren sind in Wasser durchweg weniger löslich als die Antipoden^{1,2)}. Für die Löslichkeit einer kristallisierten Verbindung sind im wesentlichen zwei Faktoren maßgebend, die zwischen den Molekülen der festen Phase wirksamen Gitterkräfte und die in der Solvationswärme zum Ausdruck kommende Attraktion zwischen den Molekülen der festen Phase und denen des Lösungsmittels. Da die Solvatation bei Racemat und Antipoden bei hinreichender Verdünnung gleich ist³⁾, müssen bei den α -Aminosäuren die Löslichkeitsunterschiede zwischen Racemat und Antipoden dadurch bedingt sein, daß im Kristall die Bindung zwischen Molekülen entgegengesetzter Konfiguration fester ist als zwischen gleich konfigurierten. Übereinstimmend damit schmelzen im allgemeinen die Racemate, sofern sie schwerer löslich sind als die Antipoden, höher als diese.

N. Wright⁴⁾ hat als erster bei Aminosäuren Unterschiede im IR-Spektrum von Racematen und Antipoden festgestellt und darauf hingewiesen, daß sich ganz allgemein ein Racemat im IR-Spektrum von seinen optisch aktiven Komponenten unterscheiden muß. Später sind solche Unterschiede auch bei Aminosäure-Derivaten (Acetyl-leucin und Acetyl-isoleucin⁵⁾ sowie α -Methyl-serin⁶⁾) beobachtet worden.

Offenbar wird sich das IR-Spektrum eines Racemates um so deutlicher von dem der Antipoden unterscheiden, je größer die Differenz in den Gitterkräften ist. Um zu sehen, wie groß derartig bedingte spektroskopische Unter-

¹⁾ J. B. Dalton u. C. L. A. Schmidt, J. biol. Chemistry **103**, 549 [1933]; **109**, 241 [1935].

²⁾ E. J. Cohn, T. L. McMeekin, J. T. Edsall u. J. H. Wearc, J. Amer. chem. Soc. **56**, 2270 [1934].

³⁾ In konzentrierten Lösungen sind bei einigen Aminosäuren Assoziationen nachgewiesen worden. M. Frankel, Biochem. Z. **217**, 378 [1930]; W. M. Hoskins, M. Randall u. C. L. A. Schmidt, J. biol. Chemistry **88**, 215 [1930]; Y. Cann, J. physic. Chem. **36**, 2813 [1932]. ⁴⁾ J. biol. Chemistry **127**, 137 [1939].

⁵⁾ S. E. Darmon, G. B. B. M. Sutherland u. G. R. Tristram, Biochem. J. **42**, 508 [1948].

⁶⁾ E. H. Flynn, J. W. Hinman, E. L. Caron, D. O. Woolf, jr., J. Amer. chem. Soc. **75**, 5867 [1953].

schiede werden können, haben wir nach Aminosäuren gesucht, bei denen sich aus den erwähnten Löslichkeits- und Schmelzpunkts-Diskrepanzen auf eine besonders feste Bindung der D- und L-Moleküle im Racemat-Kristall schließen lässt. Eine solche Aminosäure ist das Serin. Welche Rolle seine Hydroxygruppe im Kristall des Racemates und der Enantiomeren spielt, wird deutlich, wenn man Serin mit seiner Stammverbindung, dem Alanin, vergleicht (Tafel 1).

DL-Alanin ist bei Raumtemperatur praktisch ebenso löslich wie die Antipoden, und auch im Schmelzpunkt bestehen keine wesentlichen Unterschiede. Offenbar ist die Bindung zwischen Alanin-Molekülen entgegengesetzter Konfiguration nicht viel fester als zwischen gleich konfigurierten.

D- bzw. L-Serin löst sich bei 20° etwa doppelt so gut wie optisch aktives Alanin, was auf den hydrophilen Charakter der Hydroxygruppe zurückgeführt werden kann. Dagegen ist die Löslichkeit des Serin-Racemates fast neunmal kleiner als die der Antipoden und etwa viermal geringer als die des DL-Alanins. Im Racemat-Kristall des Serins wirkt die Hydroxygruppe demnach nicht wie bei den Antipoden hydrophil, sondern sie setzt im Gegenteil die Löslichkeit erheblich herab. Mit diesem abnormalen Verhalten der Hydroxygruppe steht auch in Einklang, daß ihre Methylierung die Wasserlöslichkeit des Racemates nicht wie sonst bei hydroxylhaltigen Verbindungen erniedrigt, sondern erhöht. DL-O-Methyl-serin ist fast zwölffach löslicher als DL-Serin.

Ähnlich wie Serin verhält sich Isoserin. In Analogie zum β-Alanin, dessen Löslichkeit größer ist als die des α-Alanins, könnte man erwarten, daß sich DL-Isoserin leichter löst als DL-Serin. Das Gegenteil ist der Fall; die Löslichkeit von DL-Isoserin ist etwa dreimal kleiner als die von DL-Serin. Andererseits finden sich zwischen den Antipoden des Isoserins und denen des Serins keine auffälligen Unterschiede. Die Löslichkeitsdifferenz zwischen Racemat und Antipoden ist beim Isoserin also noch größer als beim Serin.

Der bei beiden Hydroxy-aminosäuren ungewöhnlich große Löslichkeitsunterschied zwischen Racemat und Antipoden zeigt, daß im Kristall des Racemates die Bindung zwischen D- und L-Molekülen erheblich fester ist als zwischen gleich konfigurierten. Übereinstimmend damit schmilzt DL-Serin etwa 20° höher als die Antipoden, und beim Isoserin ist der Unterschied sogar 48°.

Wie aus den vorstehenden Tatsachen hervorgeht, stellen Alanin und Serin hinsichtlich der im Racemat wirksamen Gitterkräfte zwei Extremfälle dar, die uns für einen Vergleich der IR-Spektren besonders geeignet erschienen. Wir haben daher bei beiden die Spektren von Antipoden und Racemat in Kaliumbromid⁷⁾ aufgenommen (Perkin-Elmer Modell 21), wobei der von B. Franck⁸⁾ angegebene, sehr bewährte Pastillen-Rahmen benutzt wurde. Löslichkeit und Schmelzpunkte der in dieser Arbeit untersuchten Verbindungen finden sich in Tafel 1. Soweit ältere Angaben vorlagen, sind sie (in der zweiten Reihe jeder Spalte) mit angeführt.

⁷⁾ U. Schiedt u. H. Reinwein, Z. Naturforsch. 7 b, 270 [1952].

⁸⁾ Z. Naturforsch. 9 b, 276 [1954].

Tafel 1. Löslichkeiten und Schmelzpunkte einiger Aminosäuren und Aminosäure-anhydride

	Schmelzpunkt*)			Löslichkeit in g/ 100 g Wasser bei 20°
DL-Alanin	295–296°	295 ⁹⁾	297° ¹¹⁾	15.67 ¹⁾
D- bzw. L-Alanin	300–305°	297 ¹¹⁾		15.78 ¹⁾
DL-Serin	242–245°	246° ⁹⁾		4.48 4.30 ¹⁾
D- bzw. L-Serin	221–222°	228° ¹²⁾		36.4 25–33 bei 20–25° ¹²⁾
DL-O-Methyl-serin	239°	200–210° ¹³⁾		53.5
DL-O-Äthyl-serin	252°	256° ¹⁴⁾		44.5
DL-Ioserin		248° ⁹⁾		1.53 ¹⁵⁾
D- bzw. L-Ioserin		199–201° ¹⁶⁾		20–15 bei 0° ¹⁶⁾
„DL-Alanin-anhydrid A“	283°			1.70
„DL-Alanin-anhydrid B“	276–278°			2.72
D- bzw. L-Alanin-anhydrid	288–290°	297° ¹¹⁾		2.40
DL-Alanin-anhydrid	283–284°			1.62
meso-Alanin-anhydrid	275–277°	277–278° ¹⁹⁾		2.70
„DL-Serin-anhydrid A“	276–277°	282° ¹⁷⁾		0.34
„DL-Serin-anhydrid B“	224–226°	226° ¹⁸⁾		5.49
D- bzw. L-Serin-anhydrid	246–248°	247° ¹²⁾		2.70
DL-Serin-anhydrid	225–227°			5.48

* Alle Schmp. wurden unter dem Heizmikroskop nach Kofler bestimmt und sind auf etwa 3° genau, da sich alle Substanzen beim Schmelzen mehr oder weniger stark zersetzen bzw. sublimieren.

Die IR-Spektren von L- und DL-Alanin hat bereits Wright⁴⁾ aufgenommen. Da seine Ergebnisse nur tabellarisch wiedergegeben sind, bringen wir zusammen mit den bisher noch nicht bekannten Spektren des L- und DL-Serins auch unsere L-Alanin- und DL-Alanin-Kurven (Abbild. 1).

Wie schon Wright festgestellt hat, sind beim Alanin zwischen Racemat und Antipoden nur sehr kleine Abweichungen (bei 3.35, 6.50 und 9.73 μ) zu erkennen. Was nach dem geringen Schmelzpunkts- und Löslichkeitsunterschied zwischen Racemat und Enantiomeren zu erwarten war, wird durch das IR-Spektrum also bestätigt; Racemat und Antipoden haben ein sehr ähnliches Kristallgitter. Zum gleichen Ergebnis kommt man auf Grund des Debeye-Scherrer-Diagramms²⁰⁾ und der Röntgen-Strukturanalyse²¹⁾.

⁹⁾ E. Fischer u. H. Leuchs, Ber. dtsch. chem. Ges. **35**, 3793 [1902].

¹⁰⁾ M. S. Dunn u. T. W. Brophy, J. biol. Chemistry **99**, 221 [1932].

¹¹⁾ E. Fischer, Ber. dtsch. chem. Ges. **39**, 453, 574 [1906].

¹²⁾ E. Fischer u. W. A. Jakobs, Ber. dtsch. chem. Ges. **39**, 2942 [1906].

¹³⁾ L. R. Schultz u. H. E. Carter, J. biol. Chemistry **116**, 793 [1936].

¹⁴⁾ H. Leuchs u. W. Geiger, Ber. dtsch. chem. Ges. **39**, 2844 [1906].

¹⁵⁾ P. Melikow, Ber. dtsch. chem. Ges. **18**, 1266 [1880].

¹⁶⁾ E. Fischer u. W. A. Jakobs, Ber. dtsch. chem. Ges. **40**, 1058 [1907].

¹⁷⁾ E. Fischer, Ber. dtsch. chem. Ges. **40**, 1501 [1907].

¹⁸⁾ E. Fischer u. U. Suzuki, Ber. dtsch. chem. Ges. **38**, 4173 [1905].

¹⁹⁾ E. Fischer u. K. Rasse, Ber. dtsch. chem. Ges. **39**, 398 [1906].

²⁰⁾ Das Diagramm verdanken wir Hrn. Schwarzmünn, Anorganisch-Chemisches Institut der Universität Göttingen.

²¹⁾ J. D. Bernal, Z. Kristallogr., Mineralog. Petrogr., Abt. A **78**, 363 [1931].

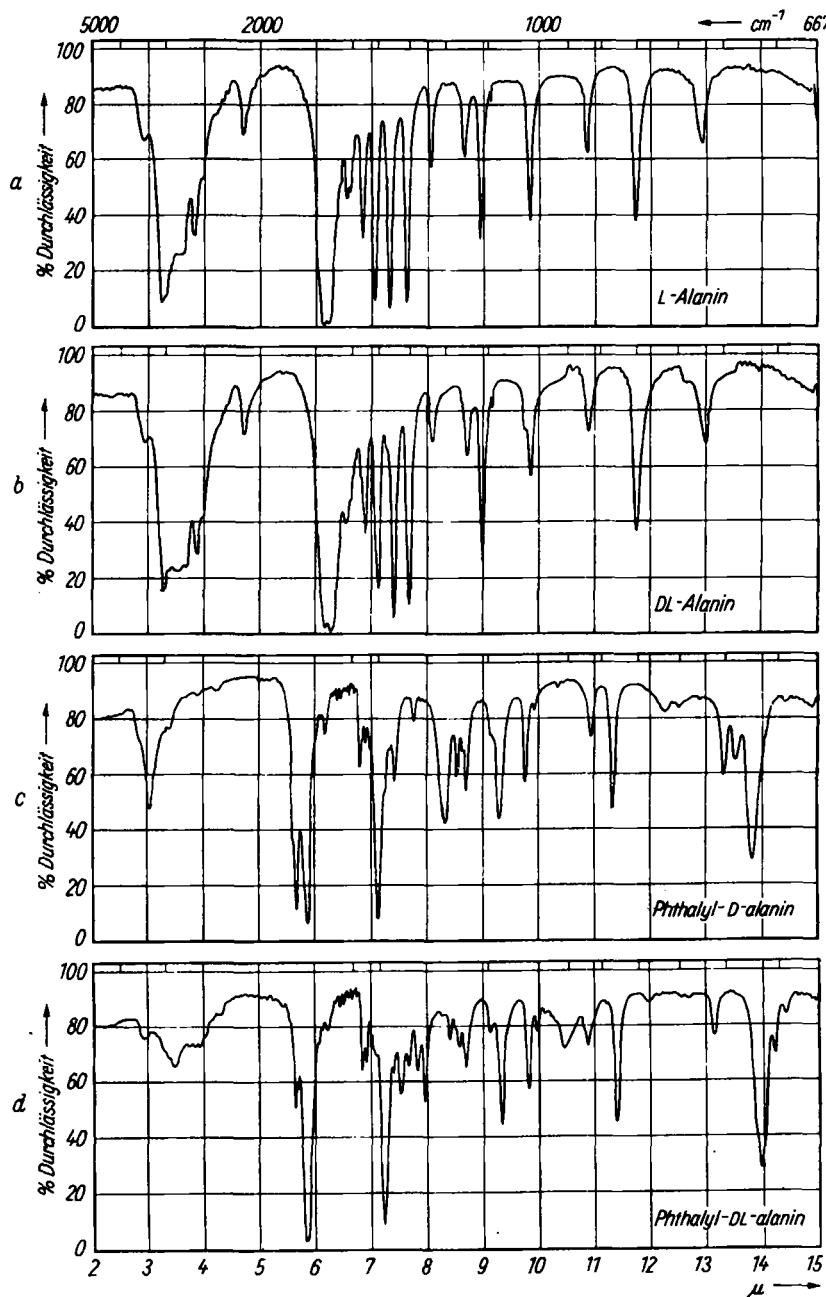


Abbildung 1. IR-Spektren. a) L-Alanin; b) DL-Alanin; c) Phthalyl-D-alanin; d) Phthalyl-DL-alanin

Ganz anders als Alanin verhält sich Serin (Abbildung 2). Hier sind die spektroskopischen Unterschiede zwischen Racemat und Antipoden so ausgeprägt, daß man an Hand der Spektren allein auf eine verschiedene Konstitution schließen würde. Im einzelnen ergibt sich folgendes: L-Serin zeigt eine OH-Bande bei $2.87\text{ }\mu$, bei $3.25\text{ }\mu$ die assoziierte NH_3^{\oplus} -Gruppe und eine starke Bande bei $6.22\text{ }\mu$, die der ionisierten Carboxygruppe sowie der NH_3^{\oplus} -Gruppe (Deformationsschwingung) zugeordnet werden kann.

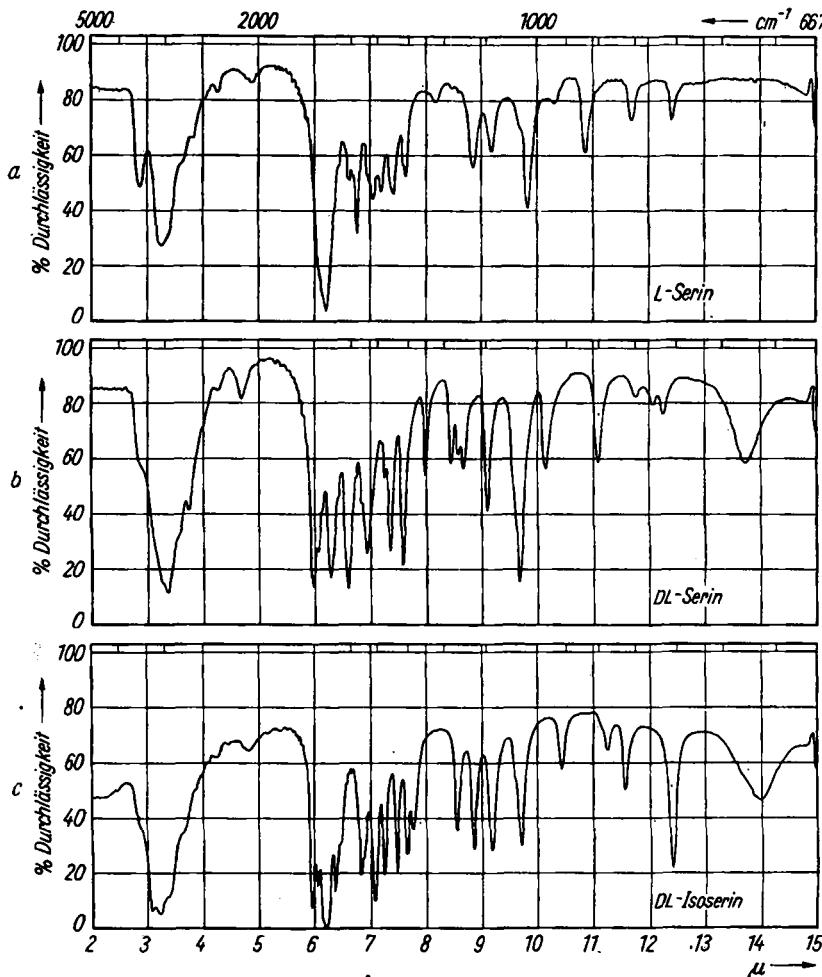


Abbildung 2. IR-Spektren. a) L-Serin; b) DL-Serin; c) DL-Isoserin

Aus dem Spektrum des Racemates (breite Bande zwischen 2.75 und $3.20\text{ }\mu$, scharfe Banden bei 5.99 , 6.09 , 6.30 und $6.67\text{ }\mu$) läßt sich entnehmen, daß die zur Wasserstoffbrücken-Bildung befähigten Gruppen im Racemat-Kristall anders angeordnet sind als bei den Antipoden; und zwar muß diese Anord-

nung derart sein, daß – dem höheren Schmelzpunkt und der geringen Löslichkeit des Racemates entsprechend – stärkere Assoziationskräfte (Wasserstoffbrücken, elektrostatische Anziehung) wirksam werden. Übereinstimmend damit hat die kürzlich durchgeführte, vollständige Röntgen-Strukturanalyse des DL-Serins²²⁾ (für die Antipoden liegen noch keine Messungen vor) ergeben, daß die Moleküle durch ein räumliches Gitter von Wasserstoffbrücken assoziiert sind, wobei die Hydroxygruppen sowohl zu den Carboxylat- wie zu den NH₃⁺-Gruppen in Beziehung treten. Dieser Einbau der Hydroxygruppen in ein System von Wasserstoffbrücken – erkenntlich am Fehlen der normalen OH-Frequenz – hat zur Folge, daß im Racemat die Hydroxygruppe nicht hydrophil wirkt, sondern umgekehrt die Löslichkeit herabsetzt. Beim D- bzw. L-Serin dagegen ist die Hydroxygruppe, wie die OH-Bande bei 2.87 μ zeigt, nur wenig an der Bildung von Wasserstoffbrücken beteiligt und steht daher dem Lösungsmittel relativ frei zur Verfügung. Daß sich die Antipoden erheblich leichter lösen als das Racemat, ist somit nicht verwunderlich. Auch die zunächst überraschende Tatsache, daß die Alkylierung der Hydroxygruppe die Löslichkeit des DL-Serins erhöht, wird angesichts der im Racemat vorliegenden starken Wasserstoffbrücken verständlich. Durch die Alkylierung geht jedem Molekül ein Wasserstoffatom für die Assoziation im Kristall verloren, während andererseits das Wasser beim Lösungsprozeß Wasserstoffbrücken zum Sauerstoffatom der Alkoxygruppe ausbilden kann.

Das IR-Spektrum des DL-Isoserins (Abbild. 2) hat gewisse Ähnlichkeit mit dem des DL-Serins. Die Ursachen für die krassen Schmelzpunkts- und Löslichkeitsunterschiede von Racemat und Antipoden sind zweifellos die gleichen wie beim Serin.

Die Spektren der in Wasser leicht löslichen Hydrochloride von L-Serin, DL-Serin und DL-Isoserin sind einander sehr ähnlich (Abbild. 3). Sie zeigen die für Aminosäure-hydrochloride charakteristischen Banden bei 3.0–4.0, 5.0, 5.7–5.75, 6.12–6.25 und 6.6–6.7 μ . Die Gerüst-Frequenzen der freien Aminosäuren fehlen hier.

Während im Racemat-Kristall des Alanins der Zusammenhalt zwischen D- und L-Molekülen nur wenig fester ist als zwischen den gleich konfigurierten der Antipoden, werden diese Unterschiede größer, wenn man die Wasserstoffatome der Aminogruppe durch den Phthalylrest ersetzt, denn der Schmp. des Phthalyl-DL-alanins liegt bei 165–166°, die Antipoden aber schmelzen schon bei 149–151°. Dementsprechend waren hier Unterschiede im IR-Spektrum zu erwarten, und unsere Kurven haben diese Erwartung auch bestätigt (Abbild. 1c, d). Phthalyl-D-alanin zeigt bei 3.04 μ die OH-Bande der Carboxygruppe, bei 5.65 μ die Carbonyl-Frequenz der Carboxygruppe und bei 5.83–5.87 μ die Phthalimid-carbonyl-Frequenzen. Dem Racemat dagegen fehlt die intensive OH-Bande, und die CO-Bande der Carboxygruppe ist nicht mehr zu erkennen, weil sie nach längeren Wellen hin verschoben und daher von der Phthalimid-carbonyl-Bande (5.76 bis 5.80 μ) verdeckt wird. Im Racemat-Kristall sind demnach die Moleküle stärker assoziiert als bei den Antipoden, und es ist naheliegend, an eine Dimerisation der D- und L-Moleküle zu denken. Offenbar liegen hier die gleichen Verhältnisse vor wie beim Phthaläsäurehalbester des Methyl-[4-äthyl-phenyl]-carbinols, bei dessen Racemat bereits früher auf Grund der IR-Spektren eine Dimerisation der Enantiomeren über H-Brücken angenommen worden ist²³⁾.

Um zu sehen, ob ähnliche Unterschiede wie zwischen Alanin und Serin auch bei den stereoisomeren Alanin- und Serin-anhydriden auftreten, wurden

²²⁾ D. P. Shoemaker, R. E. Barieau, J. Donohue u. Chia-Silu, Acta crystallogr. [Copenhagen] 6, 241 [1953].

²³⁾ E. L. Eliel u. J. T. Kofron, J. Amer. chem. Soc. 75, 4585 [1953].

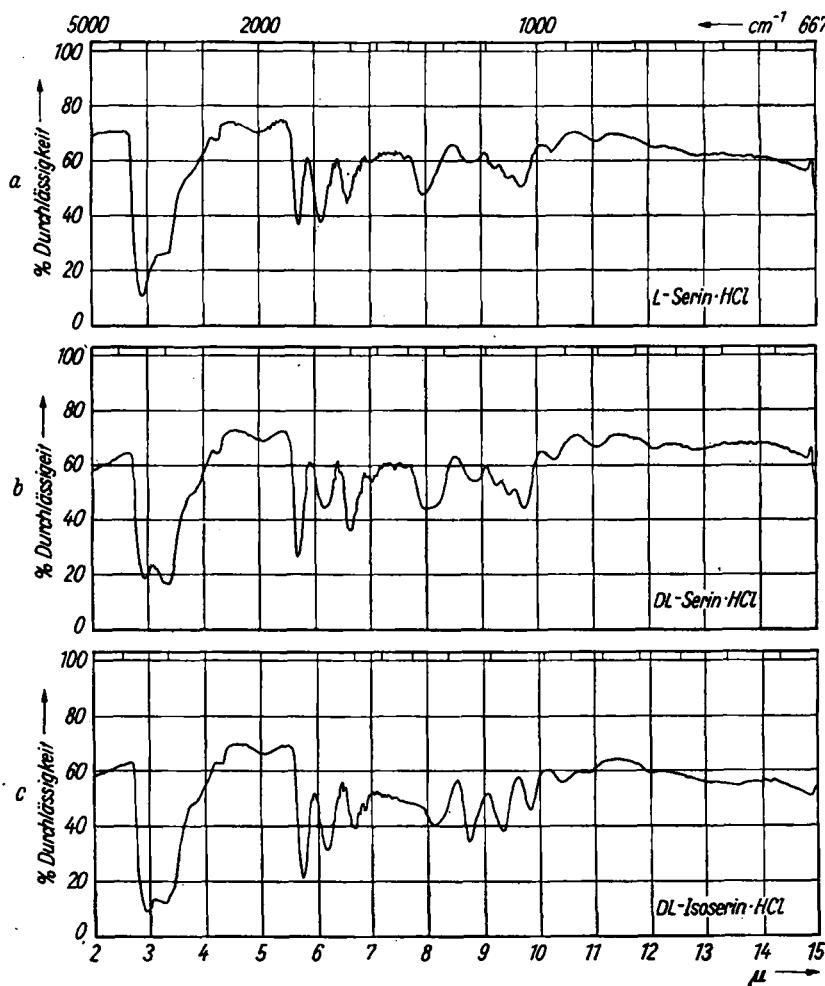


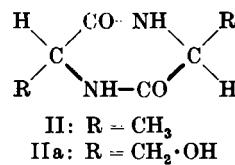
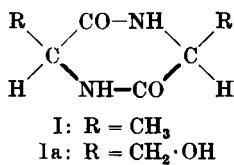
Abbildung 3. IR-Spektren der Hydrochloride von a) L-Serin; b) DL-Serin; c) DL-Isoserin

deren IR-Spektren ebenfalls gemessen. Im Zusammenhang damit war zunächst die noch ausstehende Konfigurationsermittlung der inaktiven Anhydride nachzuholen, auf die zunächst eingegangen werden soll.

Bei der Kondensation von DL-Alanin- bzw. DL-Serin-methylester entstehen Gemische aus zwei stereoisomeren Alanin- bzw. Serin-anhydriden, von denen das eine das Racemat, das andere die meso-Verbindung (II bzw. IIa) sein muß. Beim Serin konnte sie E. Fischer¹⁸⁾ durch fraktionierte Kristallisation trennen und kennzeichnete sie mit den Buchstaben A und B, wobei A das höher schmelzende und schwerer lösliche Isomere ist.

Um die beiden Alanin-anhydride den Formeln I und II zuzuordnen, haben wir durch Umkristallisieren gleicher Mengen D- und L-Alanin-anhydrid das Racemat und durch Ringschluß von D-Alanyl-L-alanin-methylester mit meth-

anolischem Ammoniak das *meso*-Alanin-anhydrid (II) hergestellt. Ihr Vergleich mit den durch fraktionierte Kristallisation gewonnenen Isomeren A und B (Tafel 1) hat ergeben, daß „Alanin-anhydrid A“ das Racemat und „Alanin-anhydrid B“ die *meso*-Verbindung ist.



Das zur Darstellung des *meso*-Alanin-anhydrides benötigte *D*-Alanyl-*L*-alanin wurde durch Umsetzen von *L*-Alanin mit Phthalyl-*D*-alanyl-chlorid erhalten. Die nachträgliche Abspaltung des Phthalylrestes erfolgte durch $1\frac{1}{2}$ stdg. Erhitzen mit 1 m alkoholischer Hydrazinhydratlösung. Das so erhaltene Dipeptid zeigte im Papierchromatogramm einen erheblichen Gehalt an Alanin. Als daraufhin *D*-Alanyl-*L*-alanin und Phthalyl-*D*-alanyl-*L*-alanin verschieden lange mit *m* Hydrazinhydratlösung erhitzt und der Reaktionsverlauf papierchromatographisch verfolgt wurde, zeigte sich bereits nach 1 Stde. eine merkliche Spaltung des Dipeptids. Am günstigsten erwies sich zur Ablösung des Phthalylrestes eine Reaktionsdauer von 45 Minuten. Bei kostbaren Substanzen empfiehlt es sich auf jeden Fall, in einem Vorversuch die optimale Reaktionszeit zu ermitteln, denn sicherlich darf man nicht für alle Phthalyl- und Peptidbindungen die gleiche Spaltungsgeschwindigkeit voraussetzen.

Beim „Serin-anhydrid A und B“ sind die Schmelzpunkts- und Löslichkeitsunterschiede viel größer als bei den Alanin-anhydriden (Tafel 1). Zur Festlegung der Konfiguration genügt hier der Vergleich mit dem aus *D*- und *L*-Serin-anhydrid bereiteten inaktiven Gemisch. Da es in Schmelzpunkt und Löslichkeit innerhalb der Fehlergrenze mit „Serin-anhydrid B“ übereinstimmt, ist dieses das racemische Gemisch und „Serin-anhydrid A“ demnach die *meso*-Verbindung (IIa), wie F. Kögl bereits auf Grund von Fütterungsversuchen angenommen hat²⁴⁾.

Aus den IR-Spektren der stereoisomeren Alanin-anhydride ergibt sich folgendes (Abbild. 4). Die *meso*-Verbindung (II), die am niedrigsten schmilzt und sich am leichtesten löst, zeigt eine intensive und scharfe NH-Bande bei $3.06\ \mu$. Die CO-Frequenzen der Säureamidgruppen liegen bei 5.93 und $6.03\ \mu$. Wie bei anderen cyclischen Säureamiden fehlt die NH-Deformationsschwingung bei $6.40\ \mu$.

Das Racemat ist von allen Isomeren am schwersten löslich, schmilzt aber 5° tiefer als die Antipoden. Hier ist also die Waldensche Regel, die dem höher schmelzenden Isomeren die geringere Löslichkeit zuschreibt, nicht erfüllt²⁵⁾. Im kurzwelligen Gebiet unterscheidet sich das Racemat von der *meso*-Form in den NH-Frequenzen (3.0 – $3.5\ \mu$) und der Lage der Carbonylbande ($5.87\ \mu$). Die Hauptunterschiede finden sich bei den Deformations-Frequenzen der Methyl- und Methylengruppen (6.75 – $7.30\ \mu$) und den Gerüst-Frequenzen (8.65

²⁴⁾ F. Kögl u. A. M. Municio, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **300**, 17 [1955].

²⁵⁾ Vergl. dazu W. Meyerhoffer, Gleichgewichte der Stereoisomeren, Verlag Springer, Leipzig u. Berlin 1906, S. 36.

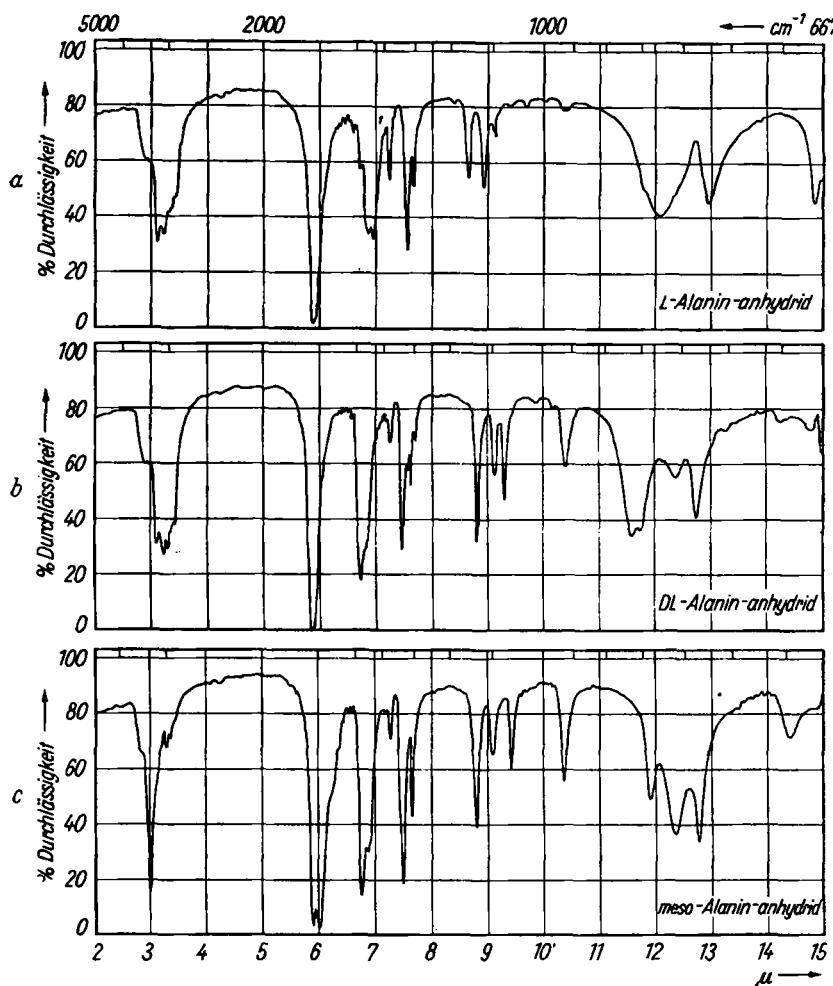
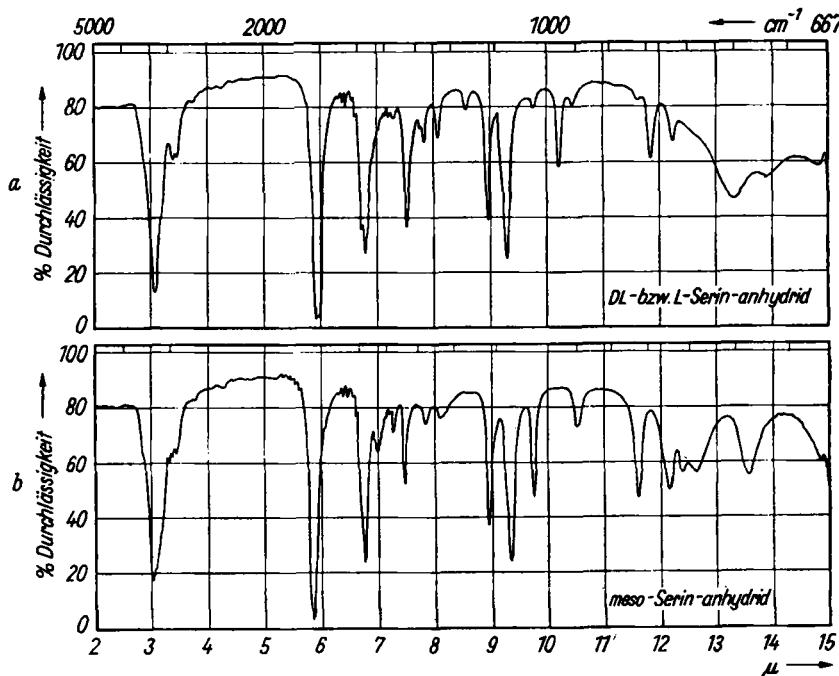


Abbildung 4. IR-Spektren. a) L-Alanin-anhydrid; b) DL-Alanin-anhydrid; c) meso-Alanin-anhydrid

bis $9.45\text{ }\mu$ und $11.60\text{--}12.75\text{ }\mu$). Racemat und Antipoden zeigen gewisse Differenzen im Gebiet der NH-Frequenz; am deutlichsten sind auch hier die Abweichungen zwischen 6.75 und $12.75\text{ }\mu$.

Bei den stereoisomeren Serin-anhydriden steigt mit abnehmender Löslichkeit der Schmelzpunkt an. Bei einer mikroskopisch-kristallographischen Untersuchung sowie im Debye-Scherrer-Diagramm²⁰⁾ waren zwischen DL-Serin-anhydrid und den Antipoden keine Unterschiede festzustellen. Ein Gemisch gleicher Teile D- und DL-Serin-anhydrid, das in Wasser gelöst und durch Ein-dunsten kristallisiert erhalten war, begann bei 231° zu schmelzen, wobei die letzten Kristalle erst gegen 244° verschwanden. Danach liegt ein Pseudoracemat vor, denn bei einem Racemat hätte der Schmelzprozeß unterhalb 224°

bis 226° (Schmp. des DL-Serin-anhydrides) und bei einem Konglomerat bei 224–226° beginnen müssen. Unterschiede im IR-Spektrum waren demnach nicht zu erwarten, und in der Tat stimmt die Kurve des L-Serin-anhydrides (Abbild. 5) in allen Einzelheiten mit der des Pseudoracemates überein. Die Befähigung der Serin-Antipoden zur Bildung eines ungewöhnlich stabilen Racemates ist demnach bei den Enantiomeren des Serin-anhydrides vollkommen verschwunden.



Abbild. 5. IR-Spektren. a) L- bzw. DL-Serin-anhydrid; b) meso-Serin-anhydrid

meso-Serin-anhydrid (II b) schmilzt rund 30° höher als die Antipoden und ist etwa siebenmal weniger löslich als diese. Die Gitterkräfte der meso-Form sind also erheblich größer als bei den Antipoden, und da diese Differenz im wesentlichen durch eine stärkere Assoziation der Hydroxy- und Säureamidgruppen bedingt sein muß, sollte man in den OH-, NH- und CO-Frequenzen Unterschiede zwischen meso-Form und Pseudoracemat erwarten. In Wirklichkeit sind aber bei beiden die OH- bzw. NH-Banden praktisch gleich, und auch in der Lage der Carbonylbande finden sich nur sehr kleine Abweichungen (0.05 μ nach kürzeren Wellen). Die Hauptunterschiede liegen auch hier wie bei den Alanin-anhydriden zwischen 8.6–9.75 μ und 11.60–14.0 μ .

Bemerkenswert ist, daß alle untersuchten Aminosäure-anhydride durch Banden bei 6.72–6.95 und 7.43–7.61 μ ausgezeichnet sind, die sich, allerdings mit geringerer Intensität, auch beim N-Methyl-valyl-sarkosin-anhydrid finden²⁶⁾

²⁶⁾ G. Bohnsack, Dissertat. Göttingen 1955.

und demnach nicht von einer verschobenen NH-Deformationsschwingung herrühren können.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß immer dann, wenn sich Racemat und Antipoden um isolierte Banden unterscheiden, das IR-Spektrum ein empfindliches Kriterium für die Reinheit eines Antipoden sein kann. Denn in vielen Fällen wird man das Vorhandensein und die Intensität einzelner IR-Banden mit größerer Genauigkeit feststellen können als geringfügige Unterschiede in der spezif. Drehung.

Zum Schluß soll noch auf eine interessante Beobachtung hingewiesen werden, die wir beim Herrichten unserer Verbindungen für die IR-Spektroskopie machten. Preßt man ein Gemisch aus gleichen Teilen D- und L-Alanin-anhydrid 5 Min. mit Kaliumbromid unter 250 at, wie es beim Präparieren der Substanzen nach Schiedt⁷⁾ üblich ist, so zeigt das IR-Spektrum, daß sich das Konglomerat beim Preßvorgang größtenteils ins Racemat verwandelt hat; eine Erscheinung, die naturgemäß bei der Nujol-Methode nicht auftritt. Durch längeres Pressen (2^{1/2} Stdn.) wurde das Spektrum nicht mehr wesentlich verändert.

Unter den gleichen Bedingungen setzt sich ein Gemisch aus D- und L-Serin vollständig ins Racemat um. Eine Umsetzung zu etwa 75 % erfolgt beim Serin schon, wenn die getrennt pulverisierten und getrockneten Antipoden im Mörser mit Paraffinöl verrieben werden. D-Serin allein dagegen zeigt in Paraffinöl und Kaliumbromid (bis auf die Banden des Paraffins) das gleiche Spektrum.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemie sind wir für großzügige Förderung unserer Arbeiten zu Dank verpflichtet. Frl. S. Scheibe danken wir für verständnisvolle Mitarbeit bei der Messung der IR-Spektren.

Beschreibung der Versuche

DL-Alanin-anhydrid, Form A und B (I und II): 10 g frisch dest. DL-Alanin-methylester wurde eine Woche bei 50° aufbewahrt und das erstarrte Reaktionsprodukt durch systematische fraktionierte Kristallisation aufgetrennt. Nach 8 Kristallisationen konnten 400 mg der schwerlöslichen Komponente A und 60 mg der leichtlöslichen Komponente B rein erhalten werden. A kristallisierte in dünnen Blättchen vom Schmp. 283°, B in dicken drei- oder sechseckigen Kristallen vom Schmp. 275–277° (Zers.).

D- und L-Alanin-anhydrid (cis-Formen): Frisch dest. D- bzw. L-Alanin-methylester bewahrte man 6 Monate bei Raumtemperatur auf. Aus den erstarrten Kondensationsprodukten wurden durch zweimaliges Umkristallisieren aus Wasser-Äthanol die optisch reinen Formen erhalten. Ausb. 80 % d. Theorie.

L-Alanin-anhydrid: $[\alpha]_D^{20} = -29.6 \pm 0.4^\circ$ ($c = 1.9$ in Wasser); Schmp. 287–289° (Zers.)
D-Alanin-anhydrid: $[\alpha]_D^{20} = +28.4 \pm 0.4^\circ$ ($c = 1.6$ in Wasser); Schmp. 288–290°.

E. Fischer¹¹⁾ fand nach der gleichen Reaktion bei 100° eine um 2–3° geringere Drehung.

DL-Alanin-anhydrid (reines Racemat) (I): Gleiche Mengen D- und L-Alanin-anhydrid wurden zusammen aus Wasser umkristallisiert. Schmp. 282.5–283.5° (Zers.).

Phthalyl-D-alanin: Durch 2–3 Stdn. langes Schmelzen molarer Mengen Phthaläure-anhydrid und D-Alanin bei 125° und Umkristallisieren aus Äthanol unter Wasserzusatz konnte Phthalyl-D-alanin vom Schmp. 149–152° (Ausb. 88 % d. Th.) erhalten werden; $[\alpha]_D^{20} = +24.8 \pm 0.4^\circ$ ($c = 7.8$ in Äthanol), $+27.1 \pm 0.3^\circ$ ($c = 15.2$ in Äthanol).

E. Fischer²⁷⁾ fand bei gleicher Arbeitsweise nach 7 Stdn. eine um 7° geringere Drehung.

Phthalyl-D-alanyl-chlorid: Durch Umsetzen von Phthalyl-D-alanin mit einem 3-proz. Überschuß Phosphorpentachlorid in Benzol, Filtrieren mit Aktivkohle, Einengen i. Vak. und Umkristallisieren aus Benzol-Petroläther konnte Phthalyl-D-alanyl-chlorid in farblosen Blättchen vom Schmp. 54–56° gewonnen werden. $[\alpha]_D^{25}$: +36.6° (c = 7.4 in Dioxan). Ausb. 80–90% d. Theorie.

D-Alanyl-L-alanin: In eine Lösung von 2.53 g L-Alanin und 4.29 g Natriumhydrogencarbonat in 40 ccm Wasser und 5 ccm Dioxan wurde bei 0° eine Lösung von 4.63 g Phthalyl-D-alanyl-chlorid in 30 ccm trockenem Dioxan im Laufe von 2 Stdn. unter kräftigem Rühren eingetropft. Anschließend rührte man noch 30 Min. bei 20°, versetzte mit 15 ccm *n* HCl, engte i. Vak. auf 20 ccm ein, säuerte mit 24 ccm *n* HCl an und nahm das ölig ausgefallene Reaktionsprodukt in Äther auf. Nach Trocknen der äther. Lösung über Natriumsulfat und Abdestillieren des Äthers wurde der Rückstand über Diphosphorpanoxyd und Kaliumhydroxyd getrocknet, bis er zu einem farblosen Glas erstarrte (Ausb. 60% d. Th.). Die Lösung des rohen Phthalyl-D-alanyl-L-alanins in 30 ccm absol. Äthanol und 15 ccm 1.1 *n* Äthanol. Hydrazinhydrat wurde 45 Min. unter Rückfluß gekocht, i. Vak. zur Trockene verdampft, der Rückstand mit 20 ccm Wasser aufgenommen, mit Eisessig auf p_H 4.5 angesäuert und 20 Min. auf 50° erwärmt. Nach Abkühlen auf 0° wurde das Phthalylhydrazid abfiltriert (Ausb. 96% d. Th.) und die Lösung des Dipeptides wiederholt mit absol. Äthanol i. Vak. abgedampft. Aus dem Rückstand erhielt man durch fraktionierte Kristallisation aus absol. Äthanol 98 mg D-Alanin und 1.58 g D-Alanyl-L-alanin (85% d. Th.). Papierchromatographisch zeigte das Dipeptid noch eine geringe Verunreinigung an Alanin, die zur weiteren Umsetzung nicht entfernt zu werden brauchte, da sich Alanin-anhydrid aus dem Dipeptidester sehr viel schneller bildet als aus Alaninester.

meso-Alanin-anhydrid (trans-Form) (II): D-Alanyl-L-alanin-methylester-hydrochlorid wurde mit methanol. Ammoniak¹⁹⁾ zum Anhydrid umgesetzt. Bereits nach 4 Stdn. hatte sich das meso-Alanin-anhydrid in großen sechseckigen Kristallen ausgeschieden, die, aus Wasser umkristallisiert, bei 275–277° (Zers.) schmolzen. Ausb. 41% d. Theorie.

DL-Serin-anhydrid, Form A und B¹⁸⁾ (Ia und IIa) sowie D- und L-Serin-anhydrid¹²⁾ wurden nach E. Fischer dargestellt.

DL-Serin-anhydrid (reines Racemat) (Ia) wurde durch Umkristallisieren gleicher Teile D- und L-Verbindung aus Wasser gewonnen. Schmp. 226–228° (Zers.).

DL-O-Methyl-serin¹³⁾ und DL-O-Äthyl-serin¹⁴⁾ wurden als Zwischenprodukte bei der Synthese des Serins^{28,29)} als Rohprodukte erhalten und durch mehrfache Kristallisation aus Wasser-Äthanol vom Ammoniumbromid befreit.

²⁷⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **40**, 489 [1907].

²⁸⁾ H. Brockmann u. H. Musso, Chem. Ber. **87**, 581 [1954].

²⁹⁾ J. L. Wood u. V. du Vigneaud, J. biol. Chemistry **134**, 413 [1940].