

## SUMMARY

In a diffusion experiment a radioactively tagged substance diffuses into and through a membrane and is observed with a G. M. counter. The time lag  $L$  associated with the approach to the steady counting rate is calculated. Although the diffusion problem has rather general boundary conditions,  $L$  is obtained in a simple way by making appropriate use of the easily available asymptotic solution of the problem without having to resort to the explicit solution.

Physikalisch-chemische Anstalt der Universität Basel  
und Polymer Department, The WEIZMANN Institute of Science, Rehovoth

## 136. Resolution von DL-p-Bromphenylalanin

von R. Schwyzer und E. Surbeck-Wegmann<sup>1)</sup>

(20. IV. 60)

Für verschiedene synthetische Zwecke benötigten wir grössere Mengen von D- und L-p-Bromphenylalanin. Die Herstellung dieser Antipoden ist bisher nicht beschrieben worden; im Folgenden möchten wir einen relativ einfachen und ergiebigen Weg zu deren Herstellung angeben.

Da in Vorversuchen<sup>2)</sup> enzymatische Methoden zur Trennung (D-Aminosäureoxydase<sup>3)</sup> – welche nur sehr langsam einwirkt und überdies den D-Antipoden zerstört –, sowie partielle Synthese des Acetyl-L-p-bromphenylalanin-p-toluidids<sup>4)</sup> und -phenylhydrazids<sup>5)</sup> mit Papain analog den entsprechenden Reaktionen mit DL-Phenylalanin versagt hatten, wurden chemische Methoden versucht. Am besten bewährte sich die Trennung der Aminosäure-ester mittels Dibenzoyl-D- und -L-weinsäure.

Ausgehend vom leicht zugänglichen DL-p-Bromphenylalanin (I)<sup>6)</sup> wurden dessen Äthylester II<sup>6)</sup> und Methylester IIa dargestellt. Diese wurden – analog der Vorschrift von LANGENBECK & HERBST für die Resolution von DL-Phenylalanin<sup>7)</sup> – mit der halben molaren Menge von Dibenzoyl-D-weinsäure umgesetzt (siehe Formelschema), worauf die neutralen Dibenzoyl-D-tartrate der Ester des D-p-Bromphenylalanins (III bzw. IIIa) als schwerlösliche Diastereomere anfielen und durch Kristallisation aus Äthanol gereinigt werden konnten. Die Behandlung der in der Mutterlauge verbliebenen Dibenzoyl-D-tartrate (enthaltend viel IV und IVa und wenig III und IIIa) mit Salzsäure lieferte Ester-hydrochloride, welche noch ca. 30% Racemat enthielten, sich aber nicht (wie im Falle des Phenylalanins<sup>8)</sup>) durch Kristallisation auf reine

<sup>1)</sup> Teil der Diplomarbeit von Frau E. SURBECK-WEGMANN, phil. Fakultät II der Universität Zürich, 1958.

<sup>2)</sup> Niedergelegt in der erwähnten Diplomarbeit<sup>1)</sup>.

<sup>3)</sup> J. R. PARIKH, J. P. GREENSTEIN, M. WINITZ & S. M. BIRNBAUM, J. Amer. chem. Soc. 80, 953 (1958).

<sup>4)</sup> C. NIEMANN & H. T. HUANG, J. Amer. chem. Soc. 73, 475 (1951).

<sup>5)</sup> C. NIEMANN & L. BENNETT, J. Amer. chem. Soc. 72, 1798 (1950).

<sup>6)</sup> A. DORNOW & G. WINTER, Chem. Ber. 84, 307 (1951).

<sup>7)</sup> W. LANGENBECK & O. HERBST, Chem. Ber. 86, 1524 (1953).

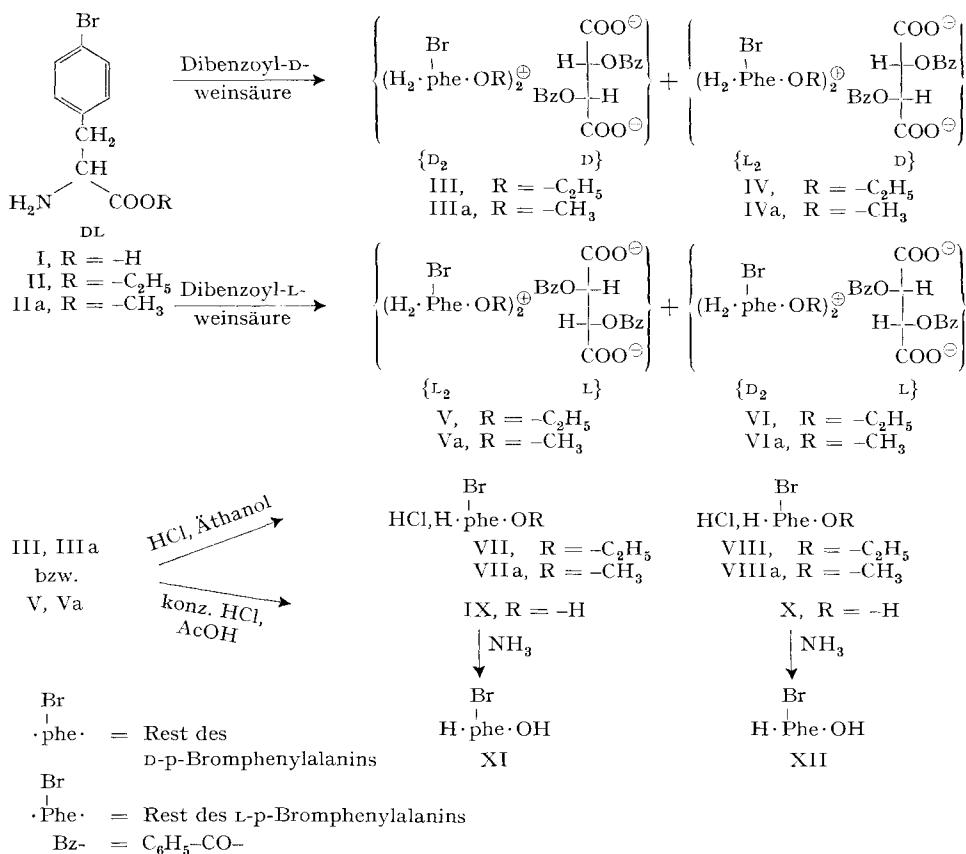
<sup>8)</sup> G. LOSSE & H. JESCHKEIT, Chem. Ber. 90, 1275 (1957).

L-p-Bromphenylalaninester-hydrochloride VIII bzw. VIIIa aufarbeiten liessen. Dies gelang jedoch in einfacher Weise durch Behandeln des Estergemisches mit der enantiomeren Dibenzoyl-L-weinsäure, wobei natürlich die Dibenzoyl-L-tartrate der Ester des L-p-Bromphenylalanins diesmal als schwerlösliche, leicht zu reinigende Kristallisate erhalten wurden.

In der Möglichkeit der Anwendung der beiden leicht zugänglichen Antipoden der Dibenzoylweinsäure zur wahlweisen Abtrennung entweder des D- oder des L-Isomeren der zu spaltenden Verbindung in schwerlöslicher Form zeigt sich eine besonders vorteilhafte Variante der von der LANGENBECK'schen Schule mit der D-Säure ausgearbeiteten Methode der Racematspaltung.

*Formelschema:*

*Resolution von DL-p-Bromphenylalanin*



Die reinen Dibenzoyltartrate III, IIIa, V und Va konnten nach LOSSE & JESCHKEIT<sup>8)</sup> mittels HCl in Äthanol gespalten und die Esterhydrochloride VII, VIIa, VIII und VIIIa aus Alkohol-Äther umkristallisiert werden. D- und L-p-Bromphenylalaninhydrochlorid (IX bzw. X) liessen sich auf einfache Weise und in sehr guter Ausbeute durch Verseifen mit konz. HCl-Eisessig direkt aus den entsprechenden Dibenzoyl-

tartraten gewinnen; die Freisetzung der Aminosäuren erfolgte durch Neutralisation mit Ammoniak.

Die Zuteilung der absoluten Konfiguration erfolgte a) durch Beobachtung der beim Ändern des pH-Wertes erfolgenden Drehungsverschiebung nach LUTZ & JIRGENSONS<sup>9)</sup>; b) durch Umsatz mit D-Aminosäure-oxydase aus Schafniere<sup>3)</sup> und c) durch hydrierende Entfernung des Broms<sup>10)</sup> und Isolierung des entsprechenden Phenylalanins.

*Schmelzpunkte und opt. Drehungen*

Verbindung	Schmelzpunkt	[α] <sub>D</sub>	Konz.	Lösungsmittel
III	135–142° (147° Zers.)	–69,7° ± 1,1°	1,67	Äthanol
IIIa	133–144° (147° Zers.)	–73,1° ± 0,6°	1,50	Äthanol
VII	193°	–27° ± 4°	1,80	Äthanol
VIIa	210–211°	–17,5° ± 0,1°	5,05	Methanol
IX	255–256°	+9,3° ± 0,8°	1,51	Wasser
XI	267°	+20° ± 2,6° +6,4° ± 1,5°	0,40 0,78	Wasser Eisessig
V	135–142° (147° Zers.)	+67° ± 4°	0,8	Äthanol
Va	129–144° (147° Zers.)	+71,9° ± 0,5°	1,46	Äthanol
VIII	193°	+27° ± 4°	1,80	Äthanol
VIIIa	212–213°	+18,6° ± 0,1°	5,70	Methanol
X	256°	–9,8° ± 1,2°	1,30	Wasser
XII	268,5°	–20,5° ± 1,6° –5,9° ± 1,3° –0,41° ± 0,35°	0,39 0,35 2,39	Wasser Eisessig 2 N NaOH

Die Schmelzpunkte und optischen Drehungen der dargestellten Verbindungen sind in der Tabelle zusammengestellt. Der experimentelle Teil enthält Vorschriften für die Herstellung von D(+)-p-Bromphenylalanin (XI) aus dem Äthylester II; seine Herstellung aus dem Methylester IIa sowie diejenige des L-Antipoden gestalten sich in analoger Weise.

**Experimentelles.** – Smp. wurden in der offenen Kapillare bestimmt und sind nicht korrigiert.

1) DL-p-Bromphenylalanin (I): Hergestellt nach DORNOW & WINTER<sup>6)</sup> aus p-Brombenzylbromid und Acetaminomalonsäure-diäthylester, Ausbeute 77%, Smp. 253–255° (Zers.).

2) DL-p-Bromphenylalanin-äthylester (II) und -methylester (IIa): Hergestellt nach DORNOW & WINTER<sup>6)</sup> oder aber (IIa) mittels CH<sub>3</sub>OH und SOCl<sub>2</sub> nach BRENNER & HUBER<sup>11)</sup>.

3) D-p-Bromphenylalanin-äthylester-dibenzoyl-D-tartrat (III): 0,01 Mol DL-p-Bromphenylalanin-äthylester (II) wurden zu einer auf 21° gehaltenen Lösung von 0,005 Mol Dibenzoyl-D-weinsäure in 19 ml abs. Äthanol gegeben, worauf sich die Reaktionsmischung erwärmt. Nach 15 Min. setzte Kristallisation ein, die nach 2 Std. beendet war. Zweimaliges Umkristallisieren aus Äthanol (nicht aber aus Isopropanol<sup>7)</sup>, war nötig, um einen maximalen Drehungswert zu erreichen. Ausbeute 70–75%. Wird anstelle von Dibenzoyl-D-weinsäure Dibenzoyl-L-weinsäure verwendet, so wird das enantiomere Salz V erhalten, welches genau gleich weiterverarbeitet werden kann.

<sup>9)</sup> O. LUTZ & B. JIRGENSONS, Ber. deutsch chem. Ges. 63, 448 (1930); 64, 1221 (1931); 65, 784 (1932).

<sup>10)</sup> V. PRELOG & W. HINDEN, Helv. 27, 1854 (1944).

<sup>11)</sup> M. BRENNER & W. HUBER, Helv. 36, 1109 (1953).

4) D-(+)-*p*-Bromphenylalanin-äthylester-hydrochlorid (*VII*): Das Dibenzoyl-D-tartrat III wurde durch Einleiten von HCl in die alkoholische Suspension zerlegt und das Hydrochlorid VII durch Zugabe von Äther kristallisiert<sup>8)</sup>, Ausbeute 70%.



5) D-(+)-*p*-Bromphenylalanin-hydrochlorid (*IX*): Gleichzeitige Zerlegung des Salzes III und Hydrolyse des Aminosäure-esters mit 10-proz. wässriger Salzsäure, wie am Beispiel des Phenylalanins ausgeführt<sup>7)</sup>, führte wegen der Schwerlöslichkeit nicht zum Ziele, weshalb das Salz III mit der fünffachen Menge eines Gemisches von konz. HCl und Eisessig (1:1, v:v) kurze Zeit auf dem siedenden Wasserbad erhitzt wurde. Darauf wurde das Reaktionsgemisch mit Wasser verdünnt und mit Essigester von Dibenzoyl-D-weinsäure befreit. Beim Eindampfen der wässrigen Phase kristallisierte D-(+)-*p*-Bromphenylalanin-hydrochlorid (*IX*) in Nadeln aus, Ausbeute 90–95%.

6) D-(+)-*p*-Bromphenylalanin (*XI*): Aus der mit 5-proz. Ammoniak neutralisierten, heiß gesättigten, wässrigen Lösung des Hydrochlorids kristallisierte in der Kälte die freie Aminosäure in Blättchen aus.



7) Drehungsverschiebung von D-(+)-*p*-Bromphenylalanin bei Änderung des pH: Bei D- $\alpha$ -Aminosäuren verändert sich allgemein die spezifische Drehung, ausgehend vom isoelektrischen Punkt, mit zunehmender H-Ionenkonzentration nach negativeren Werten. Für das rechtsdrehende Isomere des p-Bromphenylalanins wurden folgende Werte für  $[\alpha]$  gefunden: bei pH 11: +5°; pH 7: +15–20°; pH 2: +11°; pH 0: +7,5°. Die Abnahme der Drehung von pH 7 bis gegen pH 0 deutet auf das Vorliegen der D-Form hin.

8) Oxydation mit D-Aminosäure-oxydase: D-Aminosäure-oxydase wurde aus Schafsniere hergestellt<sup>3)</sup> und in separaten Ansätzen mit 330 mg (2 mMol) DL-Phenylalanin bzw. 240 mg (1 mMol) DL-p-Bromphenylalanin zwei Tage bei 37° im Sauerstoffstrom inkubiert. Das bei der Reaktion sich bildende CO<sub>2</sub> wurde in titrierter NaOH aufgefangen und durch Titration gemessen. Pro Ansatz wurden verwendet: 50 ml 0,2M Phosphat, pH 8,2; 3 ml 0,1N KCN; 5 ml 2-proz. Oxydaselösung.

DL-Phenylalanin (1 mMol)	DL-p-Bromphenylalanin (2 mMol)
Gebildetes CO <sub>2</sub>	0,6 mMol
D-Aminosäure, oxydiert	60%                    0,2 mMol 40%

Auch wenn nach 2 Tagen mit neuer Oxydaselösung weiter oxydiert wurde, konnten mit unserem Präparat im Ganzen nicht mehr als 80% D-Phenylalanin und 50% D-p-Bromphenylalanin umgesetzt werden. L-Phenylalanin und L-(–)-p-Bromphenylalanin wurden nicht angegriffen.

9) Hydrierung von D-(+)-*p*-Bromphenylalanin: Mit RANEY-Nickel liess sich das Na-Salz des rechtsdrehenden Isomeren in wässriger Lösung rasch zu D-Phenylalanin hydrieren. Nach Entfernen des Katalysators wurde die Lösung eingeeckt und das Reaktionsprodukt durch Kristallisation aus Wasser vom Natriumbromid abgetrennt. Es erwies sich papierchromatographisch als identisch mit Phenylalanin;  $[\alpha]_D = +20^\circ \pm 6^\circ$  ( $c = 1,0$  in Wasser).

Die Mikroanalysen wurden in den mikroanalytischen Laboratorien der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT in Basel unter der Leitung von Dr. W. PADOWETZ ausgeführt, wofür wir bestens danken. Ebenfalls danken wir der CIBA AKTIENGESELLSCHAFT für Mittel, die zur Anschaffung von hier benötigten Materialien dienten.

#### SUMMARY

The resolution of DL-p-bromophenylalanine into the D- and L-antipodes *via* the ester salts with dibenzoyl D- and L-tartaric acids is described.

Organisch-Chemisches Institut der Universität Zürich, Zürich