

99. Untersuchungen über stereoisomere Salze des Leucin-methylesters

von K. Weil und Werner Kuhn.

(13. IV. 46)

1. Einleitung.

In einer Arbeit über den optischen Reinheitsgrad von Leucin in natürlichen Eiweißstoffen wurde eine Methode beschrieben¹⁾, um kleine Mengen des seltenen Antipoden neben grossen Mengen des natürlichen Antipoden von Leucin in Substanz nachzuweisen. Die Methode beruht darauf, dass *d*(-)-Leucin-methylester, also der seltene Antipode, mit der negativ drehenden Dioxy-dinaphtyl-dicarbonensäure ein sehr schwer lösliches Salz bildet, während das Salz von *l*(+)-Leucin-methylester mit derselben Säure extrem leicht löslich ist.

Es wurde darauf hingewiesen, dass für den Nachweis des seltenen Antipoden an Stelle der Dioxy-dinaphtyl-dicarbonensäure jede andere optisch aktive Säure verwendet werden könnte, wenn sie nur mit den beiden Antipoden des Leucin-methylesters diastereomere Salze mit genügend verschiedenen Eigenschaften bildet.

Es wurde ebenso darauf hingewiesen, dass es ein Vorteil sein würde, aus dem zu untersuchenden Leucin-methylester zunächst die Hauptmenge des natürlichen Antipoden herauszunehmen, weil damit der Nachweis des seltenen Antipoden, welcher sich im Rückstande anreichert, erleichtert würde.

Man erkennt dabei, dass für die Entfernung der Hauptmenge des natürlichen Antipoden auch die Bildung eines Salzes mit einer optisch inaktiven Säure in Frage kommen kann und dass sich die Entfernung dann besonders einfach gestaltet, wenn die inaktive Säure mit den beiden Antipoden des Leucin-methylesters enantiomorphe Salze (also keine Racematkristalle) bildet. In diesem Falle muss sich nämlich aus der das Estersalz enthaltenden Lösung so lange ausschliesslich das Salz des häufigen Antipoden ausscheiden, bis die zurückbleibende Lösung in bezug auf den Leucin-methylester racemisch geworden ist. Dadurch kann die relative Konzentration des seltenen Antipoden von beispielsweise 0,5% auf 50% heraufgesetzt werden. Kommt es zwischen der inaktiven Säure und dem teilweise aktiven Leucin-methylester zur Bildung echter Racematkristalle, so führt die Krystallisation des Salzgemisches ebenfalls zu einer gewissen, aber nicht zu einer so weitgehenden relativen Anreicherung des seltenen Antipoden (siehe unten).

¹⁾ K. Weil und W. Kuhn, Helv. **27**, 1648 (1944), im folgenden als l. c. I bezeichnet.

Die Hinweise zeigen, dass es für einen Ausbau des Nachweises der seltenen Antipoden in Leucin-methylester und ähnlichen Verbindungen von Wichtigkeit ist, die Eigenschaften der diastereomeren Salze, welche der Leucinester sowohl mit inaktiven als auch mit aktiven Säuren bildet, genauer zu studieren. Über das Ergebnis solcher Versuche soll nachstehend berichtet werden.

2. Methodisches über die Messung der Löslichkeit; Darstellung des *l*(+)-Leucin-methylesters.

a) Bestimmung der Löslichkeiten.

Zur Bestimmung der l. c. I angegebenen und auch der weiter unten mitgeteilten Löslichkeiten wurden die betreffenden rein dargestellten Salze mit dem Lösungsmittel in Flaschen mit eingeschliffenen Stopfen gebracht und unter steter Bewegung bis zu 10 Tagen im Thermostaten belassen. Das Gleichgewicht wurde sowohl von höherer als von tieferer Temperatur ausgehend eingestellt. Nach passender Zeit wurde der Glasstopfen durch einen doppelt durchbohrten Gummistopfen ersetzt; in die eine Bohrung war ein bis in die gesättigte Lösung reichendes Glasrohr eingesetzt, dessen in die Lösung tauchendes Ende durch eine Glasfritte abgeschlossen war; die andere Bohrung trug ein kurzes, oberhalb des Flüssigkeitsniveaus endigendes Glasrohr. Durch Einblasen von Luft in dieses kürzere Rohr konnte der Druck erhöht und ein Teil der gesättigten Lösung durch das Glasfrittenfilter in ein gewogenes Wägegglas hinübergemischt werden. Die Bestimmung des Gehaltes an Gelöstem geschieht in üblicher Weise durch Abdunsten des Lösungsmittels und Wägung des Rückstandes.

b) Darstellung des Leucinesters.

Der für die Versuche verwendete aktive und racemische Leucin-methylester wurde aus aktivem bzw. racemischem Leucin durch Verestern mit Methylalkohol und Salzsäure in bekannter Weise dargestellt. Da es sich, insbesondere beim aktiven Ester, um die Gewinnung eines reinen Präparates unter Vermeidung auch nur spurenweiser Racemisierung handelt, sei die Darstellung für den Fall des aktiven Esters kurz angegeben:

30 g *l*-Leucin (Drehungsvermögen in Wasser: $[\alpha]_D^{25} = -10,0^\circ$ in 2,27-proz. Lösung) werden in 150 cm³ absolutem Methylalkohol gelöst, worauf HCl bis zur Sättigung eingeleitet wird. Die Lösung wird darauf während einer halben Stunde auf dem Wasserbad zum Sieden erhitzt, der Alkohol anschliessend im Vakuum abdestilliert, wobei als Rückstand das Hydrochlorid des Leucinesters als feste weisse Krystallmasse erstarrt. Der Schmelzpunkt liegt bei 147° C (korr.). Das Esterhydrochlorid wird in 50 cm³ Wasser gelöst, die Lösung unter guter Kühlung mit 50-proz. Pottaschelösung alkalisch gemacht und sofort mit Äther extrahiert. Die ätherische Lösung wird getrocknet, der Äther abdestilliert und der zurückbleibende Leucin-methylester im Vakuum destilliert.

Eigenschaften von *l*(+)-Leucin-methylester.

Siedepunkt: 47° C bei 3 mm Hg; 58° C bei 5 mm Hg; 80° C bei 12 mm Hg. Daten betreffend Dichte, Brechungsindex und Drehungsvermögen in Substanz sind in nachstehender Tabelle 1 zusammengestellt.

Die Daten stehen in Übereinstimmung mit Literaturangaben¹⁾, nach welchen $\rho^{17} = 0,9533$ und $[\alpha]_D^{17} = 16,52$ sein soll.

Die mitgeteilten Werte für das Drehungsvermögen wurden stets wieder gefunden, z. B. auch dann, wenn der Ester aus dem mit Sicherheit optisch sehr reinen Salz mit (+)-Dioxy-dinaphtyl-dicarbonsäure freigesetzt wurde. Die Zahlen können daher als die Werte des optisch reinen *l*(+)-Leucin-methylesters angesehen werden.

¹⁾ E. Abderhalden, Z. physiol. Ch. **107**, 5 (1919).

Tabelle 1.

Dichte, Brechungsindex und Drehungsvermögen von Leucin-methylester

t°C	α_D ($l = 1$ dm)		$[\alpha]_D$
	Dichte	n_D	
13°	0,9575	1,4327	16,5°
15°	0,9555	1,4319	
17°	0,9533		
18°	0,9524	1,4307	
20°	0,9504	1,4299	15,3°
23°	0,9465		
25°	0,9452	1,4279	
28°	0,9421	1,4267	
30°		1,4259	
40°		1,4218	

Im Zusammenhang mit den im folgenden zu bringenden Feststellungen über Bildung von echten Racematen oder äquimolekularen Gemischen monomerer Antipoden der gelösten Salze sind einige Angaben über das Mol.-Gewicht von Leucin-methylester in Lösung von Interesse:

Durch Bestimmung der Siedepunktserhöhung wurde festgestellt, dass der racemische Ester in Methylalkohol sowie in Äther völlig in *d*- und *l*-Ester dissoziiert ist.

3. Salze des Leucin-methylesters mit optisch inaktiven Säuren.

Das Kriterium dafür, ob das Salz einer aktiven Base mit einer inaktiven Säure im festen Zustande ein echtes Racemat oder ein Gemisch enantiomorpher Krystalle des *d*-Salzes und des *l*-Salzes ist, wurde bereits von *Pasteur* am berühmten Beispiel des Natrium-ammoniumtartrates geklärt.

In vielen Fällen, aber nicht immer, können wir schon aus den Löslichkeiten allein Rückschlüsse auf die Existenz oder Nichtexistenz von stabilen Racematkristallen ziehen.

Insbesondere können wir bei Lösungsmitteln, in welchen keine elektrolitische Dissoziation eintritt, immer dann mit Sicherheit auf Racematkristalle als stabile Bodenkörper schliessen, wenn die Löslichkeit des Racemates kleiner ist als das Doppelte der Löslichkeit der *d*-Krystalle bzw. der *l*-Krystalle für sich.

Ist die Löslichkeit des Racemates in einem solchen (elektrolytisch nicht dissozzierenden) Lösungsmittel gleich der doppelten Löslichkeit der *d*- bzw. *l*-Krystalle, so wird man dann den Schluss ziehen können, dass der Bodenkörper aus einem Gemisch enantiomorpher Krystalle besteht, wenn die in dem Salze enthaltene, optisch inaktive Komponente einwertig ist und wenn eine Dimerisation von Salz-molekeln in Lösung als ausgeschlossen betrachtet werden kann.

Wir wollen die komplizierteren Fälle, in welchen keine Schlüsse aus dem Vergleich der Löslichkeiten möglich sind, vorläufig nicht besprechen und werden auf einzelne Bemerkungen anlässlich der Mitteilung von Versuchsergebnissen zurückkommen.

a) Salze der Pikrinsäure.

Darstellung: Lösen der Pikrinsäure in warmem Benzol und Zutropfen äquimolekularer Mengen von *l*(+)-Leucinester bzw. von *d,l*-Leucinester; der ausfallende Niederschlag wird mit Benzol gewaschen. Beim Umkrystallisieren bleibt der (unten angegebene) Schmelzpunkt ungeändert. In allen Fällen besteht das auskrystallisierte Salz stöchiometrisch aus 1 Mol Ester und 1 Mol Pikrinsäure.

Eigenschaften:

1. Pikrat von *l*(+)-Leucinester: Smp. 136–137° C (nicht korr.). Löslichkeit in Benzol bei $t = 29,1^{\circ} - 29,5^{\circ}$ C: $0,13 \pm 0,02$ g Pikrat in 100 g Benzol.
2. Pikrat von *d,l*-Leucinester: Smp. 126° (nicht korr.). Löslichkeit in Benzol bei $29,1^{\circ} - 29,5^{\circ}$ C: $0,15 \pm 0,01$ g in 100 g Benzol.

Folgerungen:

Racemischer Leucinester bildet mit Pikrinsäure echte Racematkrystalle (bestehend aus je 1 Mol *d*- und 1 Mol *l*-Ester, sowie 2 Mol Pikrinsäure).

Machen wir die wahrscheinlich richtige Voraussetzung, dass die gesättigten Lösungen praktisch genommen aus monomer gelösten Pikratmolekeln (*l*-Pikrat, *d*-Pikrat bzw. Gemischen monomerer Pikrate) bestehen, so folgt aus der Löslichkeit des Racemates (0,15 g in 100 g Lösung) für beliebige Lösungen, welche das Racemat als Bodenkörper enthalten, ein Löslichkeitsprodukt¹⁾

$$L = C_{lL,P} \cdot C_{dL,P} = \left(\frac{0,15}{2}\right)^2 \cdot \left(\frac{10}{M_{[L,P]}}\right)^2 \cdot \varrho_B^2 \quad (1)$$

wobei $C_{lL,P}$ die Konzentration an [*l*(-)]L,P in Mol pro Liter, $M_{[L,P]}$ das Molekulargewicht von Leucin-methylester-pikrat (374,3), ϱ_B die Dichte von Benzol bei der Versuchstemperatur = 0,865 ist. Andererseits folgt aus der Löslichkeit von [*l*(+)-L,P] (gleich 0,13 g in 100 g Lösung) für beliebige Lösungen, welche das Pikrat von *l*(+)-Leucinmethylester (Abkürzung [*l*(+)-L,P]) als Bodenkörper enthalten:

$$C_{lL,P} = 0,13 \frac{10}{M_{[L,P]}} \cdot \varrho_B \quad (2)$$

¹⁾ Es ist nämlich die (nach Voraussetzung sehr kleine, d. h. analytisch nicht ins Gewicht fallende) Konzentration an Racematmolekeln $C_{d,lL,P}$ nach dem Massenwirkungsgesetz allgemein gleich

$$C_{d,lL,P} = K \cdot C_{lL,P} \cdot C_{dL,P}$$

wenn K die Gleichgewichtskonstante für die Bildung der Racematmolekel aus den Komponenten bedeutet. Sind Racematkrystalle als Bodenkörper vorhanden, so muss $C_{d,lL,P}$ einen für die Temperatur und das vorgegebene Lösungsmittel bestimmten konstanten Wert haben, etwa den Wert C_0 . Das in Gleichung (1) definierte Löslichkeitsprodukt L ist dann gleich der Konstante C_0 , geteilt durch K.

Lösungen, welche sowohl das Racemat als auch das aktive Salz $[l(+)\text{L}, \text{P}]$ als Bodenkörper enthalten, müssen die Bedingungen (1) und (2) gleichzeitig erfüllen. Für sie gilt infolgedessen

$$C_{d\text{L}, \text{P}} = \frac{\text{L}}{C_{l\text{L}, \text{P}}} = \left(\frac{0,15}{2}\right)^2 \left(\frac{10 \varrho_{\text{B}}}{M_{[\text{L}, \text{P}]}}\right)^2 \cdot \frac{M_{[\text{L}, \text{P}]}}{10 \varrho_{\text{B}}} \cdot \frac{1}{0,13}$$

oder für den Gehalt der Lösung an $[d(+)\text{L}, \text{P}]$ in 100 g Lösung:

$$P_{d\text{L}, \text{P}} = \left(\frac{0,15}{2}\right)^2 \left(\frac{10 \varrho_{\text{B}}}{M_{[\text{L}, \text{P}]}}\right)^2 \cdot \frac{M_{[\text{L}, \text{P}]}}{10 \varrho_{\text{B}}} \cdot \frac{1}{0,13} \cdot \frac{M_{[\text{L}, \text{P}]}}{10 \varrho_{\text{B}}} = \left(\frac{0,15}{2}\right)^2 \cdot \frac{1}{0,13} = 0,043 \text{ g}$$

pro 100 g Lösung, entsprechend 0,017 g $d(-)$ -Leucin-methylester in 100 g Lösung. Wenn daher 1 g $l(+)$ -Leucin-methylester mit einem Gehalt von 1%, also mit 0,01 g an seltenem Antipoden gegeben ist, so müsste dieser Ester in etwa 50 g Benzol gelöst und dann mit Pikrinsäure (1,58 g) neutralisiert werden, damit bei der anschliessenden Krystallisation des Pikrates das Löslichkeitsprodukt des Racemkörpers nicht unterschritten und der seltene Antipode quantitativ in Lösung gehalten wird. Die Mutterlauge von den aus der Lösung sich ausscheidenden Krystallen $[l\text{L}, \text{P}]$ würde, wie angegeben, 0,13 g $[l\text{L}, \text{P}]$ neben 0,043 g $[d\text{L}, \text{P}]$ enthalten, so dass also die relative Häufigkeit des seltenen Antipoden (ohne Verlust an Substanz des seltenen Antipoden) von 1/100 auf $0,043/0,13 = 1/3$ heraufgesetzt würde.

b) Saure Salze der Oxalsäure.

Darstellung durch Zusammengeben der berechneten Menge von Leucin-methylester mit Oxalsäure in Methylalkohol; Umkrystallisieren unter Kontrolle des Schmelzpunktes, welcher konstant bleibt.

1. Saures Oxalat von $l(+)$ -Leucin-methylester; Abkürzung: $[l(+)\text{L}; \text{Ox}]$. Smp. 180°C . Spezifische Drehung in Methylalkohol: $[\alpha]_{\text{D}}^{23} = 21,5^\circ$ in 0,5-proz. Lösung. Löslichkeit in Methylalkohol etwa 2,2 g in 100 g Lösung bei 15°C und 1,7 g in 100 g Lösung bei 28°C .

2. Saures Oxalat von d, l -Leucin-methylester; Abkürzung: $[d, l\text{L}; \text{Ox}_2]$, Smp. 169°C . Löslichkeit in Methylalkohol etwa 2,1 g in 100 g Lösung bei 15°C und 1,5 g in 100 g Lösung bei 28°C .

Die Löslichkeitsbestimmungen sind mühsam und nicht genau, da die Einstellung des Lösungsgleichgewichtes viel Zeit erfordert. Aus diesem Grunde kommt auch eine praktische Anwendung dieser Salze kaum in Frage.

Da das Racemat eine Löslichkeit besitzt, welche sicher kleiner ist als das Doppelte der Löslichkeit von $[l(+)\text{L}; \text{Ox}]$, müssen als Bodenkörper des Racemates echte Racematkrystalle vorliegen.

c) Neutrale Salze mit Oxalsäure.

Darstellung wie bei b).

1. Neutrales Oxalat von $l(+)$ -Leucin-methylester; Abkürzung $[l(+)\text{L}_2; \text{Ox}]$. Smp. 161°C ; Löslichkeit in Methylalkohol etwa 6,5 g in 100 g Lösung bei 15°C .

2. Neutrales Oxalat von d, l -Leucin-methylester; Abkürzung $[d, l\text{L}; \text{Ox}]$. Smp. 162°C . Löslichkeit in Methylalkohol etwa 5,4 g bei 15°C .

Auch hier erfolgt die Einstellung des Lösungsgleichgewichtes sehr langsam. Aus den Löslichkeiten ergibt sich ebenso wie bei b) der Schluss, dass der Bodenkörper der racemischen Lösung ein echtes Racemat ist; derselbe Schluss ergibt sich hier auch daraus, dass die Krystalle des Racemates einen (um 1°) höheren Schmelzpunkt als die Krystalle des aktiven neutralen Oxalates besitzen.

d) Salze mit 2,4-Dinitrobenzoesäure und p-Nitrobenzoesäure.

Die Eigenschaften sind zur groben Orientierung in der nachstehenden Tabelle zusammengestellt. In allen Fällen erforderte die Einstellung des Lösungsgleichgewichtes sehr viel Zeit, so dass diese Salze für die Durchführung von Trennungen nicht gut brauchbar sind.

Säure	Base	Schmelzpunkt	Temperatur	g gelöst in 100 g Lösungsmittel	Lösungsmittel
2,4-Dinitrobenzoesäure	l(+)Leucinmethylester	143°C	28,5°	2,5	Essigsäure-äthylester
2,4- „	d,l- „	137°C	28,5°	2,4	„
p-Nitrobenzoesäure	l(+) „	145°C	28,5°	2,7	„
p- „	d,l- „	142°C	28,5°	3,2	„

Auf Grund dieser nur orientierenden Messungen dürften in allen Fällen als Bodenkörper der racemischen Lösungen echte Racematkristalle vorliegen.

e) Hydrochloride von Leucin-methylester.

Die Hydrochloride von aktivem und racemischen Leucin-methylester zeigen, insbesondere in ätherischer Lösung, bemerkenswerte Unterschiede. In beiden Fällen kann man die Hydrochloride erhalten, indem man Salzsäuregas in die trockene ätherische Lösung des Esters einleitet, oder noch besser, indem man die ätherische Lösung des Esters mit einer vorher titrierten ätherischen HCl-Lösung neutralisiert.

I. Das Hydrochlorid von l(+)-Leucin-methylester.

Es kristallisiert aus der ätherischen Lösung sofort und praktisch genommen quantitativ aus. Smp. 147° C (korr.). Spezifische Drehung in Methylalkohol: $[\alpha]_D^{26} = 20,85$ in 4,47-proz. Lösung. Chlorgehalt in 0,1548 g Substanz gefunden: 0,0310 g; berechnet: 0,0318 g.

Das Hydrochlorid des aktiven Leucin-methylesters ist in der Literatur bereits beschrieben und existiert nach *Takahashi*¹⁾ in zwei Modifikationen, einer α -Modifikation mit dem Smp. 118° C, welche unterhalb 77,5° beständig ist, und einer oberhalb 77,5°, beständigen β -Modifikation vom Smp. 148°. Aus der ätherischen Lösung bei Zimmertemperatur erhalten wir offenbar (nach der vorhin gemachten Angabe) die bei dieser Temperatur metastabile β -Modifikation.

Nachstehend einige Angaben über die Löslichkeit der β -Form des Hydrochlorids von l(+)-Leucin-methylester in Äther. Die Löslichkeit hängt vom HCl-Gehalt des Äthers ab und beträgt bei 16,9—17,4° C:

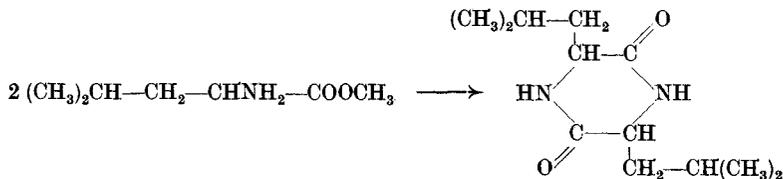
in Äther ohne HCl-Überschuss	0,12 g in 1000 cm ³ Lösung
in Äther mit 0,9 Mol HCl pro Liter	0,73 g in 1000 cm ³ Lösung
in Äther mit 2,76 Mol HCl pro Liter	2,10 g in 1000 cm ³ Lösung

II. Hydrochlorid von racemischem Leucin-methylester.

Es fällt ebenfalls aus der ätherischen Lösung aus und muss sofort von der Mutterlauge befreit werden, da es sich sonst wieder auflöst (unter Bildung von Diketo-piperazin; vgl. unten). Smp. 113—114° (korr.). Chlorgehalt in 0,2183 g: gefunden 0,0425 g, berechnet 0,0426 g.

¹⁾ G. *Takahashi* und T. *Yaginuma*, Proc. Imp. Acad. Tokio **6**, 75—77 (1930).

Die Löslichkeit des racemischen Hydrochlorides in Äther konnte nicht bestimmt werden, da sowohl in der neutralen wie insbesondere in der salzsäurehaltigen ätherischen Lösung eine Umwandlung des racemischen Esters bzw. des Hydrochlorids in racemisches 2,5-Di-isobutyl-3,6-diaci-piperazin stattfindet:



Dass diese Reaktion stattfindet, geht beispielsweise aus nachstehendem Versuch hervor: 0,1950 g *d, l*-Leucin-methylester werden in 50 cm³ Äther, welche 1,635 g HCl gelöst enthalten, aufgelöst. HCl ist dabei in grossem Überschuss vorhanden, da für die Neutralisation des Esters nur 0,048 g HCl notwendig sind. Eine Ausscheidung von Esterhydrochlorid findet nicht statt; dagegen beobachtet man nach etwa 2—3-wöchigem Stehen eine Ausscheidung schöner Krystalle, welche mit Äther gewaschen und anschliessend bei 110° getrocknet werden und die sich auf Grund ihres Chlorgehaltes als reines Diaci-piperazin-monohydrochlorid identifizieren lassen. (In 0,2130 g Subst. werden gefunden 0,0355 g Cl; berechnet 0,0335 g.) Durch Zufügen der berechneten Menge von KOCH₃ in Methylalkohol kann die Substanz von HCl befreit werden. Man erhält dann das racemische 2,5-Di-isobutyl-3,6-diaci-piperazin vom Smp. 273° (korr.), das sich mit dem auf andern Wege zu gewinnenden rac. Diaci-piperazin als identisch erweist.

Zum Vergleich sei ein mit aktivem Leucin-methylester durchgeführter analoger Versuch erwähnt: 0,1 g *l*(+)-Leucinesterhydrochlorid werden in 100 cm³ 2,7-n. ätherischer HCl-Lösung während 24 Std. geschüttelt. Die Krystalle zeigen nach ihrer Rückgewinnung einen Schmelzpunkt von 142° C (korr.); d. h. sie erweisen sich als praktisch reines, unverändertes Esterhydrochlorid.

Es sei noch erwähnt, dass die auffällige Bildung von Diketo-piperazin aus racemischem Esterhydrochlorid nur in ätherischer, nicht aber in methylalkoholischer Lösung auftritt. Methylalkoholische Lösungen des Esterhydrochlorids können mit oder ohne überschüssige Salzsäure aufbewahrt oder erwärmt werden, ohne dass Diketo-piperazinbildung eintreten würde.

Das dem aktiven Leucin-methylester entsprechende Diketo-piperazin bildet sich also in salzsaurer oder neutraler ätherischer Lösung nur langsam. Dabei ist das aktive Diketo-piperazin wohlbekannt und bildet sich z. B., wenn der aktive Ester in Substanz längere Zeit bei Zimmertemperatur aufbewahrt wird.

Smp. 263—264° (korr.). Drehungsvermögen in Methylalkohol: $[\alpha]_{\text{D}}^{25} = -40,08^\circ$ in 0,70-proz. Lösung. Nach Literaturangaben¹⁾ ist das Drehungsvermögen in Eisessig $[\alpha]_{\text{D}}^{20} = -42,9^\circ$ in 8,1-proz. Lösung.

Einige weitere Versuche mit Mischungen von viel aktivem mit wenig racemischem Leucin-methylesterhydrochlorid zeigen, dass die Bildung des racemischen Diketo-piperazins ausserordentlich rasch vor sich geht, und zwar auch dann, wenn man sich bemüht, einen Überschuss an Salzsäure in der ätherischen Lösung des Esterhydrochlorids zu vermeiden:

¹⁾ E. Abderhalden und C. Funk, Z. physiol. Ch. 53, 30 (1907).

Löst man beispielsweise 1 g *l*(+)-Leucin-methylester und 0,038 g *d,l*-Leucin-methylester in 20 cm³ Äther und versetzt die Lösung unter Umrühren und Kühlen tropfenweise mit 5,14 cm³ einer 1,35-n. ätherischen HCl-Lösung, so bleibt die Lösung alkalisch, indem nur 1,0 g Ester durch die angegebene Salzsäuremenge neutralisiert werden. Wird hierauf rasch vom ausgeschiedenen aktiven Esterhydrochlorid abfiltriert, der Äther durch Abdunsten aus der Mutterlauge entfernt und der Rückstand mit Methylalkohol aufgenommen, so lässt sich in der erhaltenen Lösung mit Hilfe von linksdrehender Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure keine Spur von *d*(-)-Leucinester nachweisen; dagegen findet man reichlich racemisches Diketo-piperazin, sowie *l*(+)-Leucin-methylester, welcher mit Hilfe von positiv drehender Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure nachgewiesen werden kann.

Die Versuche liefern ein ähnliches Ergebnis, wenn der in der ätherischen Lösung vorhandene Ester völlig mit Salzsäure neutralisiert oder mit einem Überschuss an Salzsäure versetzt wird: Aus einer den aktiven Ester neben einer kleinen Racematmenge des Esters enthaltenden Lösung krystallisiert beim Versetzen mit ätherischer Salzsäure stets das aktive Hydrochlorid rasch und schmelzpunktrein aus, während sich der dem Racemat entsprechende Anteil in kürzester Zeit in das Diketo-piperazin umwandelt und gelöst bleibt. Es ist wahrscheinlich, dass sich dieser Unterschied im Reaktionsverhalten von aktivem und racemischem Ester zu einem Nachweis kleiner Racematmengen neben grossen Mengen des aktiven Esters benützen lässt.

f) Salze mit Citronensäure.

Zur Orientierung sei mitgeteilt, dass Versuche angestellt wurden, durch Zusammengeben der Komponenten in ätherischer und in methylalkoholischer Lösung Salze von Leucin-methylester mit Citronensäure herzustellen. Auch bei Anwendung verschiedener Mengenverhältnisse konnte innerhalb eines Monats im Eisschrank keinerlei Krystallisation eines neutralen oder sauren Citrates beobachtet werden.

g) Salze mit o-Nitrobenzoesäure

Auch zwischen o-Nitrobenzoesäure und Leucin-methylester konnte innert eines Monats weder aus CH₃OH noch aus Chloroform noch aus Äther die Bildung eines krystallisierten Salzes beobachtet werden.

h) Salz mit Bernsteinsäure.

Krystallisierte neutrale Salze werden durch Zusammengeben der Komponenten in siedendem Essigester und nachfolgendes Abkühlen der Lösung erhalten. Neutrales Salz des aktiven Leucin-methylesters mit Bernsteinsäure: Smp. 85—88° korr. Salz des racemischen Leucin-methylesters mit Bernsteinsäure: Smp. 75° korr.

3. Salze des Leucin-methylesters mit optisch aktiven Säuren.

Als erstes Beispiel wurde untersucht das System

a) Leucin-methylester-Mandelsäure.

Für die Darstellung der racemischen Mandelsäure durch Cyanhydrinsynthese sei auf die Literatur verwiesen¹⁾, ebenso für die Spaltung der racemischen Mandelsäure in

¹⁾ Organic Synthesis Bd. 1, S. 329 (1932).

die Antipoden¹⁾ mit Hilfe von α -Phenäthylamin²⁾. Der Smp. der verwendeten racemischen Mandelsäure war 118° C, der Smp. der aktiven Mandelsäure 133° korr. Das Drehungsvermögen der verwendeten *l*(+)-Mandelsäure in Wasser war $[\alpha]_D^{26} = +163 \pm 1^\circ$ in 1,3-proz. Lösung; das Drehungsvermögen der *d*-Mandelsäure in Wasser: $[\alpha]_D = -155 \pm 2^\circ$ in 1,05-proz. Lösung. Der beste in der Literatur angegebene Wert ist: $[\alpha]_D^{20} = -157,6^\circ \pm 0,6^\circ$ für 7,2-proz. Lösung in Wasser³⁾.

Als Bodenkörper können beim Zusammengeben der Antipoden von Mandelsäure und Leucinester in Frage kommen:

1. Salz von *d*(-)-Mandelsäure mit *l*(+)-Leucin-methylester, Abkürzung: [*d*(-)M; *l*(+)L] und dessen Spiegelbild [*l*(+)M; *d*(-)L].
2. Salz der *l*(+)-Mandelsäure mit *l*(+)-Leucin-methylester, Abkürzung: [*l*(+)M; *l*(+)L], bzw. dessen Spiegelbild [*d*(-)M; *d*(-)L].
3. Racematkrystalle, Abkürzung: [*d*(-)M; *l*(+)M; *d*(-)L; *l*(+)L].

Ausserdem wäre die Bildung von Halbracematen wie [*d*(-)M; *l*(+)M; *d*(-)L; *d*(-)L] usw. möglich. Die unter 1 bis 3 genannten Salze wurden durch Zusammengeben der Komponenten in ätherischer Lösung hergestellt; vergleiche das bei der Darstellung der Pikrate Gesagte.

Eigenschaften:

1. Das Salz [*d*(-)M; *l*(+)L]: Smp. 105° C (unkorr.). Löslichkeit in Benzol bei 29,3° C: 0,95 g in 100 g Benzol. Aus Symmetriegründen gelten dieselben Zahlen auch für das Spiegelbild [*l*(+)M; *d*(-)L].

Eine Bestimmung des Molekulargewichts in Benzollösung durch Messung der Siedepunkterhöhung zeigt, dass dieses Salz in Benzol zu Doppelmolekeln assoziiert ist.

2. Das Salz [*l*(+)M; *l*(+)L]. Smp. 126° C (korr.). Löslichkeit in Benzol bei 29,3° C: 0,14 g in 100 g Benzol. Aus Symmetriegründen gelten dieselben Zahlen auch für das Spiegelbild [*d*(-)M; *d*(-)L].

3. Das Totalracemat. Smp. 126° uncorr. Löslichkeit in Benzol bei 29,3° C: 0,14 g in 100 g Benzol.

Es folgt aus diesen Zahlen mit Sicherheit die Existenz von totalracemischen Krystallen in der Racematlösung; wäre nämlich der Bodenkörper in der totalracemischen Lösung ein Gemisch gleicher Mengen der enantiomorphen Krystalle [*l*(+)M, *l*(+)L] und [*d*(-)M, *d*(-)L] (was analytisch ebenfalls ein totales Racemat wäre), so müssten sich in 100 g Lösungsmittel mindestens je 0,14 g [*l*(+)M; *l*(+)L] und [*d*(-)M, *d*(-)L], zusammen also mindestens 0,28 g racemisches Salz auflösen.

Ein Gemisch gleicher Mengen von [*d*(-)M; *l*(+)L] und [*l*(+)M; *d*(-)L], welches ebenfalls analytisch ein totales Racemat wäre, muss von vornherein als Bodenkörper ausser Betracht fallen, weil dann der Gehalt der gesättigten Lösung mindestens $2 \times 0,95 = 1,90$ g in 100 g Benzol sein müsste; eine solche Lösung wäre sowohl gegenüber dem Gemisch von [*l*(+)M, *l*(+)L] und [*d*(-)M; *d*(-)L] als Bodenkörper als auch gegenüber den Racematkrystallen metastabil.

¹⁾ L. Smith, J. pr. [2] **84**, 743 (1911); A. H. Ingersoll, S. H. Babcock und S. B. Burns, Am. Soc. **55**, 411 (1933).

²⁾ Loven, J. pr. [2] **72**, 5305 (1905); Ingersoll, Am. Soc. **47**, 1168 (1925).

³⁾ J. Walker, Z. physikal. Ch. **46**, 31 (1903).

Eine Frage, welche sich auf Grund dieser Löslichkeitsangaben wenigstens teilweise beantworten lässt, betrifft die Möglichkeit eines unmittelbaren Nachweises kleiner Mengen von $d(-)$ -Leucinester neben grösseren Mengen von $l(+)$ -Leucinester durch Neutralisierung des Estergemisches in Benzollösung mit $d(-)$ -Mandelsäure. Man sieht sofort, dass sich in der Lösung die beiden Salze [$d(-)$ M, $l(+)$ L] mit der Löslichkeit 0,95 und [$d(-)$ M, $d(-)$ L] mit der Löslichkeit 0,14 bilden werden. Daneben können in Lösung noch Doppelmolekel von der Zusammensetzung [$d(-)$ M, $l(+)$ L; $d(-)$ M, $d(-)$ L] entstehen, ohne dass es zu einer Ausscheidung des entsprechenden Bodenkörpers kommt. Bei Vernachlässigung des Einflusses dieser Mischmolekel auf die Löslichkeiten können wir die Frage beantworten, wie gross der Relativgehalt des Leucinesters am seltenen Antipoden [$d(-)$ L] sein muss, damit bei Anwendung der geeigneten Lösungsmittelmenge der seltene Antipode als $(-)$ -mandelsaures Salz ausfällt, ohne dass eine gleichzeitige Ausscheidung des häufigen Antipoden erfolgt.

Da sich auf 100 g Benzol 0,95 g des häufigen Salzes und 0,14 g des Salzes des seltenen Antipoden lösen, sieht man sofort, dass der seltene Antipode allein ausfällt, falls auf 0,95 g des häufigen mehr als 0,14 g des seltenen Antipoden oder auf die Gesamtmenge von $0,95 + 0,14 = 1,09$ g an Leucin-methylester mehr als 0,14 g des seltenen Antipoden kommen; d. h. es muss der seltene Antipode im vorgelegten Leucin mit mehr als 12,8% vertreten sein, wenn ein direkter Nachweis des seltenen Antipoden im Gemisch in Frage kommen soll.

Die Genauigkeit ist, wie man sieht, für einen direkten Nachweis des seltenen Antipoden im allgemeinen nicht ausreichend. Von Wichtigkeit war es deshalb, dass die entsprechende Grenze bei Verwendung von Dinaphtyl-dioxyd-dicarbonsäure bei etwa 0,5% liegt.

Andererseits sehen wir auf Grund der angegebenen Löslichkeiten, dass wir aus einem Gemisch, welches beispielsweise 99% $l(+)$ -Leucin-methylester neben 1% $d(-)$ -Ester enthält, mit Hilfe des positiv drehenden Antipoden der Mandelsäure den häufigen Antipoden des Esters weitgehend entfernen können, ohne eine Spur des nachzuweisenden seltenen Antipoden aus der Lösung zu entfernen. Der ursprünglich seltene Antipode muss sich also durch Ausfällung des ursprünglich häufigeren Antipoden ganz wesentlich konzentrieren lassen.

Bei den geschilderten vereinfachenden Annahmen würde sich die relative Konzentration des ursprünglich seltenen Antipoden von z. B. 1% $d(-)$ -Ester ohne Verlust auf 87,2% bringen lassen.

Es ist klar, dass nach einer solchen Konzentrierung der direkte Nachweis des ursprünglich seltenen Antipoden etwa mit Hilfe von Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure besonders einfach sein wird. Hierzu sei allerdings bemerkt, dass sich selbstverständlich bei der angedeuteten Beseitigung des ursprünglich häufigen Antipoden in der zurückbleibenden Lösung mit dem gesuchten seltenen Antipoden auch alle in der ursprünglichen Substanz vorhandenen Verunreinigungen (Isomere usw.) anreichern; die Erfassung des seltenen Antipoden durch eine Drehungsmessung der in Lösung gebliebenen Substanz würde dann eine unsichere Sache sein. Der Nachweis durch Isolierung eines wohldefinierten Salzes, etwa mit Dinaphtyl-dioxy-dicarbonsäure, wird weiterhin notwendig sein.

b) p-Methyl-mandelsäure und Atrolactinsäure.

Orientierende Versuche wurden auch über die Salzbildung zwischen den genannten Säuren und Leucin-methylester ausgeführt. Man erhält aus Benzollösung gut kristallisierende Salze, deren Löslichkeitsverhältnisse ähnlich wie bei den Salzen mit Mandelsäure zu liegen scheinen.

In Wasser zeigen alle diese Salze, auch die der Mandelsäure mit Leucin-methylester, eine sehr hohe Löslichkeit, so dass Umsetzungen in wässriger Lösung für die Trennung oder den Nachweis von Diastereomeren kaum in Frage kommen.

c) Weinsäure.

d-Weinsäure gibt mit l(+)-Leucin-methylester ein aus Methylalkohol gut kristallisierendes Salz vom Smp. 152° unkor. Seine Löslichkeit ist 10,35 g in 100 g Methylalkohol bei 15,3° C.

d) Salze mit 6,6'-Dinitro-diphensäure.

Betreffend die Darstellung von 6,6'-Dinitro-diphensäure darf auf die Literatur verwiesen¹⁾ werden, ebenso betreffend der Spaltung des Racemates mit Hilfe von (+) und (-)- α -Phenäthylamin¹⁾.

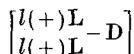
Das Racemat besitzt einen Smp. von 259° (unkorr.), in Übereinstimmung mit den Angaben der Literatur (l. c.).

Der rechtsdrehende Antipode zeigt einen Smp. von 229° (korr.) und ein Drehungsvermögen in Methylalkohol $[\alpha]_D^{25} = 135^\circ$ in 1,5-proz. Lösung. Der in der Literatur¹⁾ angegebene Drehwert ist (ebenfalls für Methylalkohol als Lösungsmittel): $[\alpha]_D^{20} = 127^\circ$ in 4-proz. Lösung.

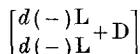
Der linksdrehende Antipode besitzt denselben Smp. von 229° (korr.) und ein Drehungsvermögen in Methylalkohol $[\alpha]_D^{24} = -134^\circ$ in 1,6-proz. Lösung.

Betreffend optische Absorption und Rotationsdispersion von Dinitro-diphensäure siehe eine kürzlich erschienene Arbeit²⁾.

1. Der negativ drehende Antipode der Dinitro-diphensäure gibt mit l(+)-Leucin-methylester ein gut kristallisiertes neutrales Salz; Abkürzung

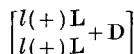


Es wird durch Zusammengeben der Komponenten im stöchiometrischen Verhältnis aus Benzollösung oder auch gleich gut aus Aceton oder Essigsäure-äthylester erhalten. Beispiel: 0,288 g $[-\text{D}]$ und 0,25 g $[l(+)\text{L}]$ in 30 cm³ Benzol. Smp. 105—106° (unkorr.). Dieselben Eigenschaften besitzt aus Symmetriegründen das Spiegelbild:

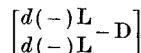


Smp. 105—106° (unkorr.).

2. Der positiv drehende Antipode der Dinitro-diphensäure gibt mit $[l(+)\text{L}]$ ein Salz, welches sehr löslich ist und aus keinem der genannten Lösungsmittel kristallin erhalten werden konnte. Abkürzung:



nicht kristallisierbar, nur löslich. Dieselben Eigenschaften besitzt aus Symmetriegründen das Spiegelbild:

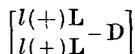


¹⁾ *Ingersoll Little*, Am. Soc. **56**, 2124 (1934), und *Stoughton Adams*, Am. Soc. **54**, 4426 (1932).

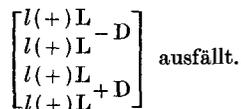
²⁾ *R. Rometsch und W. Kuhn*, Helv. **27**, 1080 (1944).

3. Positiv drehender $l(+)$ -Leucin-methylester und racemische Dinitro-diphensäure.

Beim Zusammengeben der Komponenten in benzolischer Lösung (Beispiel 1,15 g [$d, l-D$] mit 1,0 g [$l(+)$ L] in 150 cm³ warmem Benzol) entsteht ein gelbbrauner Niederschlag (0,9 g), welcher mit Benzol gewaschen und im Vakuum getrocknet wird. Smp. 162° unkorrt. Die Dinitro-diphensäure, welche aus dieser Substanz durch Freisetzen mit Salzsäure erhalten wird, erweist sich als racemische Dinitro-diphensäure. Man sieht, dass offenbar beim Zusammengeben von [$l(+)$ L] mit [$d, l D$] nicht, wie es an sich möglich wäre, das schwerlösliche gut krystallisierende



sondern ein offenbar noch schwerer lösliches Halbracemat von der wahrscheinlichen Zusammensetzung



4. Ähnliche Verhältnisse traten beim Zusammengeben von positiv drehender Dinitro-diphensäure mit racemischem Leucinester auf. Dieses Auftreten von Halbracematen und die zum Teil erheblichen Krystallisationsverzögerungen gestalten die Verhältnisse, wenn auch interessant, so doch kompliziert.

Da die Dinaphtyl-dioxy-dicarbonssäure in ihrem Verhalten zu den Antipoden des Leucin-methylesters grössere Einfachheit neben ebenso ausgeprägter stereochemischer Spezifität besitzt, ist sie zum Nachweis des seltenen Antipoden in Leucin-methylester besser als die Dinitro-diphensäure geeignet. Überhaupt zeigt die Übersicht, dass keine der untersuchten Säuren bei der Salzbildung mit Leucin-methylester eine solche Einfachheit und ausgeprägte stereochemische Spezifität besitzt, wie die l. c. I. beschriebene Dinaphtyl-dioxy-dicarbonssäure. Die letztere Verbindung ist daher für den Nachweis des seltenen Antipoden in Leucinpräparaten besser geeignet als alle andern bisher untersuchten Verbindungen.

Die Salze des Leucinesters mit den im vorstehenden beschriebenen weiteren Säuren haben daher vorläufig nur theoretisches Interesse, wenn es auch, wie angedeutet, möglich ist, sie praktisch zur Eliminierung der in grosser Menge vorkommenden häufigen Antipoden und damit zur indirekten Anreicherung der seltenen Antipoden heranziehen.

Zusammenfassung.

Es werden die Eigenschaften, insbesondere die Löslichkeiten diastereomerer Salze von $d(-)$ - und von $l(+)$ -Leucin-methylester mit optisch inaktiven sowie mit optisch aktiven Säuren untersucht. Aus solchen Löslichkeitsbestimmungen lassen sich Schlüsse ziehen auf die Verwendbarkeit der einzelnen Säuren für die Eliminierung des im natürlichen Leucin in grosser Menge vorhandenen häufigen und damit für eine Anreicherung des seltenen Antipoden.

Der Vergleich der Löslichkeiten von diastereomeren Salzen ergibt in mehreren Fällen Aussagen über das Vorliegen von echten Racematen oder von Konglomeraten als Bodenkörper in racemischen Salzlösungen.

Untersucht wurden die Salze des Leucinesters mit folgenden Säuren:

- a) Inaktive Säuren: Pikrinsäure, Oxalsäure, 2,4-Dinitrobenzoesäure, p-Nitrobenzoesäure, Salzsäure, Citronensäure, o-Nitrobenzoesäure, Bernsteinsäure.
- b) Aktive Säuren: Mandelsäure, p-Methyl-mandelsäure, Atrolactinsäure, Weinsäure, 6,6'-Dinitro-diphensäure.

Der *Ciba-Stiftung* und der *Jacques Brodbeck-Sandreuter-Stiftung* sprechen wir für die Mittel, die uns zur Durchführung dieser Arbeit gewährt wurden, unseren Dank aus.

Basel, Physikalisch-Chemisches Institut der Universität.

100. Paul Ruggli

1884—1945.

(13. VI. 46.)

Paul Ruggli kam am 26. Februar 1884 in Montevideo zur Welt, seine Eltern waren Bürger von Hauptwil im Thurgau. Sein Vater war in Montevideo in der pharmazeutischen Industrie tätig. Nach seinem frühen Tode zog die Mutter mit dem kleinen Paul nach Wiesbaden. Dort durchlief er das Gymnasium und erhielt 1903 das Reifezeugnis als *primus inter omnes*.

Schon in jener Schulzeit zeigten sich seine uns so wohlbekanntesten Charaktereigenschaften; er war ein ernster, stiller Schüler, der es mit seinen Pflichten genau nahm. Und nun kam das Studium. Welchem Berufe sollte er sich zuwenden? Wie er uns erzählte, schwankte er zwischen Theologie, Musik und Chemie. Obgleich seinem Herzen Musik am nächsten lag, entsagte er ihr, weil er fürchtete, sie könne zu kurz kommen.

Er wählte nun das Studium der Chemie und der Weg führte ihn zuerst nach München, wo *Baeyer* noch das Szepter führte, und von dort nach Leipzig, wo er 1908 das Doktorexamen ablegte, *magna cum laude*. Der Titel seiner Dissertation, die er unter der Leitung von Professor *Hantzsch* ausführte, lautet: „Zur Konstitution der Trithio-cyanursäure und der Thio-oxanilide“. In Leipzig knüpften sich auch die engen Freundschaftsbande mit Dr. *Wiegner* an, dem späteren Professor an der E. T. H., die bis zu dessen Tode dauern sollten.