

Racematspaltung von DL-Carnitin

Detlef M. Müller* und Erich Strack**

(Der Schriftleitung zugegangen am 17. Januar 1972)

Zusammenfassung: DL-Carnitin wird mittels D(+)-Camphersäure oder L(-)-Camphersäure oder Dibenzoyl-D(-)-weinsäure oder L(+)-Weinsäure durch mehrfache fraktionierte Kristallisation bzw. durch kombinierte Fraktionierung mit zwei von diesen Säuren in alkoholischer Lösung in die optisch aktiven Komponenten gespalten. Diese Salze werden mit Wasser oder mit verdünnten

Säuren bzw. mit Äther/Wasser oder über Anionenaustauscher quantitativ zerlegt. Dabei fallen die optisch aktiven Carnitine rein an. Auch die wiederzugewinnenden optisch aktiven Säuren sind rein und können erneut zur Racematspaltung eingesetzt werden. Unser Verfahren erlaubt, das DL-Carnitin direkt aufzuspalten. Es ist rationell und billig.

The resolution of the racemates of DL-carnitine

Summary: A rational and cheap method is reported for the direct resolution of DL-carnitine. D(+)-Camphoric acid, L(-)-camphoric acid, dibenzoyl-D(-)-tartaric acid or L(+)-tartaric acid were used to separate DL-carnitine into its optically active components. Resolution was achieved by repeated fractional crystallisation in alcoholic solution with

the appropriate acid, or by combined fractionation with a suitable pair of acids. The resulting salts can be decomposed quantitatively with water, dilute acids, ether/water, or ion exchanger, to give pure, optically active carnitines. The optically active acids may also be recovered pure and used again for racemate separation.

Die fundamentale Bedeutung von L(-)-Carnitin, $(\text{CH}_3)_3\text{NCH}_2\text{CHOHCH}_2\text{CO}_2^-$, im intermediären Stoffwechsel wird bereits von vielen Forschungsgruppen intensiv bearbeitet^[1-6]. Seit einigen Jahren wird das L(-)-Carnitin zudem bei Krankheiten mit Stoffwechselstörungen therapeutisch genutzt, z. B. bei Hyperthyreose^[7] und bindege-

webigen Erkrankungen^[8]. Günstig wirkte es auch bei Frühgeborenen und dystrophischen Jugendlichen, bei Herzstörungen, muskulären Leistungssteigerungen u. a. Klinische Einsätze erfordern viel L(-)-Carnitin. Das leicht zugängliche DL-Carnitin ist wegen der körperfremden D(+)-Komponente nur mit Vorsicht einzusetzen. Wir beschreiben in dieser Arbeit eine neue, rationelle Art der Darstellung der optischen Isomeren aus DL-Carnitin.

* Enthält Teile der Dissertation von Detlef M. Müller, Karl-Marx-Universität Leipzig 1972.

** *Postanschrift:* Prof. Dr. Dr. E. Strack, Sächsische Akademie der Wissenschaften zu Leipzig, DDR-701 Leipzig, Liebigstr. 16.

¹ Fraenkel, G. & Friedman, S. (1957) *Vitamins & Hormones* **15**, 73–118.

² Deltour, G. (1960) *Ind. Chim. Belge* **25**, 1329–1339.

³ Deltour, G. (1964) *Ind. Chim. Belge* **29**, 667–679.

⁴ Reynier, M. (1963) *Rev. Agressologie* **4**, 361–372.

⁵ Fritz, I. B. (1963) *Advan. Lipid Res.* **1**, 285–334.

⁶ Bressler, R. (1970) in *Comprehensive Biochemistry* (Florkin, M. & Stotz, E. H., Hrsg.) Bd. 18, S. 331–359, Elsevier Publ. Comp., Amsterdam.

⁷ Strack, E. (1967) *Deut. Gesundheitsw.* **22**, 2055–2059.

Fast alle bisherige Darstellungen wurden nach dem Vorgehen von Strack und Lorenz^[9] durchgeführt, in dem basische Carnitinderivate mit optisch aktiven Säuren aufgespalten wurden. Die unmittelbare Racematspaltung des dipolaren DL-Carnitins war bislang nicht gelungen. Sie schien auch theoretischen Überlegungen nach schwierig zu sein^[10].

⁸ Strack, E., Nitzschner, H. & Liebsch, F. (1970) *Deut. Gesundheitsw.* **25**, 1233–1236.

⁹ Strack, E. & Lorenz, I. (1960) *diese Z.* **318**, 129–137.

¹⁰ Eliel, E. L. (1966) *Stereochemie der Kohlenstoffverbindungen*, Verlag Chemie GmbH, Weinheim/Bergstr.

Auf Grund der stark basischen Trimethylammoniumgruppe und der schwach sauren Carboxylgruppe (pK_s -Wert 3,80)^[11] bildet Carnitin mit allen stärkeren Säuren Salze. Wir studierten die Eigenschaften der Salze mit den optisch aktiven Trennsäuren, D(+)- und L(-)-Camphersäure, Dibenzoyl-D(-)-weinsäure und L(+)-Weinsäure. In Wasser sind die Salze entweder zu löslich oder unbeständig. In geringer polaren Lösungsmitteln, unter denen sich Alkohole vorteilhaft anbieten, sind sie beständig und ihre Löslichkeiten günstig.

L(-)-Carnitin bildet mit L(-)-Camphersäure bzw. mit Dibenzoyl-D(-)-weinsäure ein primäres und mit L(+)-Weinsäure ein sekundäres Salz. Diese Salze kristallisieren gut und sind schwerer löslich als die mit D(+)-Carnitin. Sekundäre Carnitincamphorate und Dibenzoyltartrate konnten nicht rein dargestellt werden. Dibenzoyl-D(-)-weinsäure mit überschüssigem L(-)-Carnitin ergaben Mischfraktionen mit mehr als 1 Mol und weniger als 2 Mol Carnitin, äquinormale Ansätze kristallisierten nicht. Aus heißen alkoholischen Lösungen von L(-)-Camphersäure mit überschüssigem L(-)-Carnitin kristallisierte stets primäres L(-)-Carnitin-L(-)-camphorat aus.

Auf der Grundlage dieser unterschiedlichen Löslichkeiten sollte sich DL-Carnitin mit unseren Trennsäuren aus alkoholischen Lösungen gut aufspalten lassen. Trotzdem mußten viele modifizierte Ansätze gemacht werden, ehe wir zu den Verfahren kamen. Über sie kann hier nicht berichtet werden. Wir beschreiben von unseren Racematspaltungen 2 leicht ausführbare Verfahren.

Einstufiges Verfahren

DL-Carnitin wird mit einer äquimolaren Menge D(+)-Camphersäure oder L(-)-Camphersäure oder Dibenzoyl-D(-)-weinsäure oder einer äquinormalen Menge L(+)-Weinsäure aus heißen Alkoholen durch Abkühlen mehrfach fraktioniert kristallisiert. Aus den vereinigten optisch reinen Fraktionen der L(-)- bzw. D(+)-Carnitinsalze werden die optischen Carnitine nach den unten beschriebenen Verfahren isoliert. Die Anreicherungen der jeweils schwerer löslichen Komponente pro Kristallisationsschritt ist mit den Camphersäuren gut, mit der Dibenzoyl-D(-)-weinsäure etwas geringer und noch kleiner mit der L(+)-Weinsäure.

¹¹ Yalkowski, S. H. & Zografi, G. (1970) *J. Pharm. Sci.* 59, 798–802.

Das einstufige Verfahren ist dann besonders arbeitsgünstig, wenn das erste, optisch reine Kristallisat 60–80% der einen aktiven Komponente enthält. Bei der Gewinnung von L(-)-Carnitin könnte der Rest dann beiseite gestellt werden. Unter den erprobten Säuren waren die L(-)-Camphersäure und die Dibenzoyl-D(-)-weinsäure gut geeignet. Man kann auf diese Weise leicht aus 1 kg DL-Carnitin ~300 g reines L(-)-Carnitin in der Betainform erhalten. Bei der Verarbeitung größerer Mengen lohnt es, durch mehrfache, fraktionierte Kristallisation eine quantitative Auftrennung anzustreben. Sie ist jedoch durch die Vielzahl der Kristallisationsschritte langwierig.

Zweistufiges Verfahren

Mit ihm werden beide optischen Isomeren quantitativ gewonnen. Wie im einstufigen Verfahren wird eine erste Fraktion abgetrennt. Das in Lösung verbliebene Gemisch wird in Trennsäure und Carnitin zerlegt und letzteres mit einer zweiten Trennsäure fraktioniert aufgespalten (siehe Schema).

Die erhaltenen Carnitincamphorate und Dibenzoyl-D(-)-tartrate hydrolysieren in wäßriger Lösung. Dieses Verhalten wird bei der Zerlegung der Salze in reines Carnitin (als Betain) und in die reine Trennsäure genutzt. Die Zerlegung verläuft quantitativ. Man kann auch in gleicher Weise Carnitinsalze mit starken Säuren unmittelbar erhalten. Unser Trennungsgang in die optisch aktiven Carnitine ist rationell:

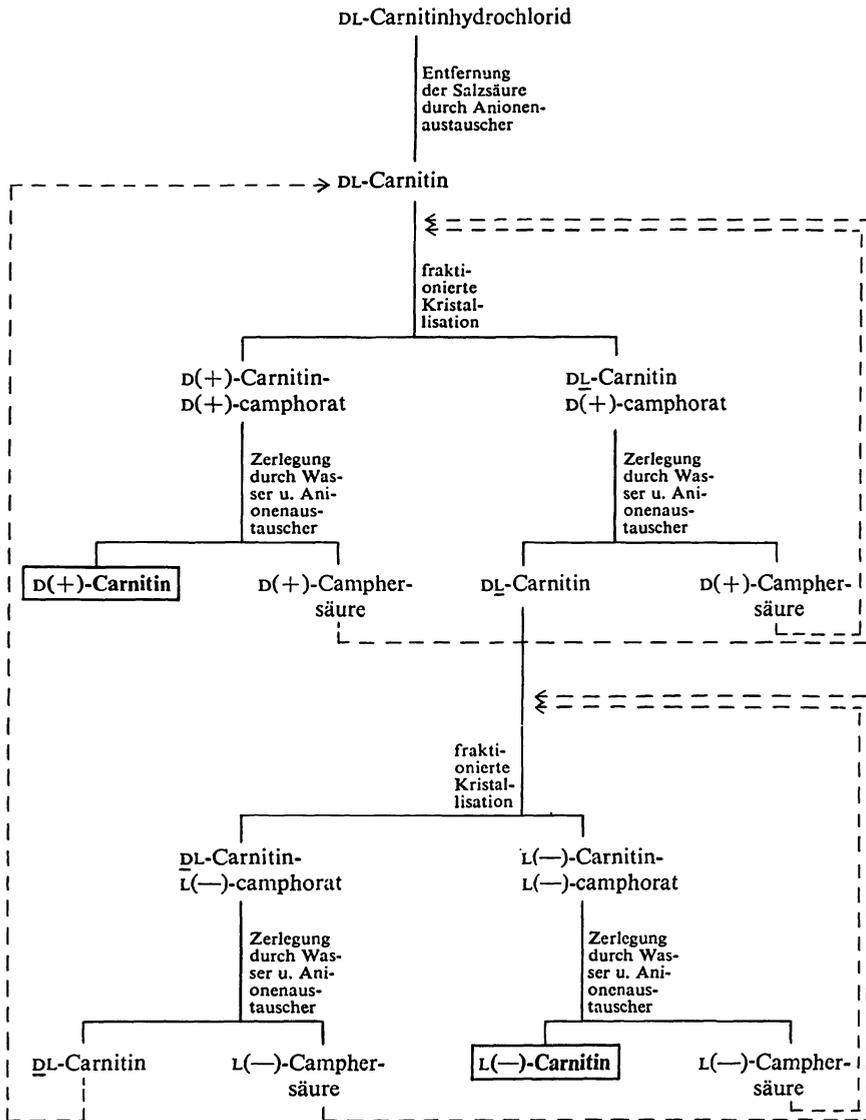
1. DL-Carnitinchlorid als billiges Ausgangsmaterial,
2. guter Trenneffekt der Diastereomeren,
3. Gewinnung der reinen, optisch aktiven Carnitine in der vorteilhaften Betainform,
4. quantitative Zurückgewinnung der optisch aktiven Trennsäuren in einsatzfähiger Form,
5. gute Umsetzbarkeit der erhaltenen Carnitine (als Betain) in gewünschte Carnitinderivate und -salze,
6. Darstellung von kleinen Mengen, die in jedem Laboratorium ohne wesentlichen Aufwand möglich ist,
7. ein Trennungsgang, der im technischen Maßstab weitgehend zu automatisieren ist.

Als Beispiel beschreiben wir die zweistufige Racematspaltung von DL-Carnitin in seine optischen Antipoden mit D(+)- und L(-)-Camphersäure eingehender:

1 Mol (= 197,7 g) DL-Carnitin-hydrochlorid wird als 10proz., wäßrige Lösung über 600 ml eines schwach

basischen Anionenaustauschers geschickt. Das Eluat wird im Vak. zur Trockene gebracht. Die so gewonnenen 161,2 g (= 1 Mol) DL-Carnitin werden mit 200,3 g (=1 Mol) D(+)-Camphersäure in 500 ml Methanol heiß gelöst. Die sich abkühlende Lösung wird mit D(x)-Carnitin-D(x)-camphoratkristallen angeimpft. Bei 20°C werden die abgeschiedenen Kristalle abfiltriert, mit wenig Äthanol nachgewaschen und aus

400 ml/ Methanol umkristallisiert. Erhalten werden 108 g D(+)-Carnitin-D(+)-camphorat (=60% d. Th.). Die Mutterlauge werden vereinigt, zur Trockene eingeeengt und mit Wasser und Anionenaustauscher in 140 g D(+)-Camphersäure und 113 g DL-Carnitin (80,5 g L(-)-Carnitin und 32,5 g D(+)-Carnitin enthaltend) wie unten beschrieben zerlegt. Die so erhaltenen 113 g DL-Carnitin werden in 350 ml/



Schema. Verfahrensprinzip der zweistufigen Racematspaltung von DL-Carnitin in die optisch aktiven Carnitine (bei optisch aktiven Mischfraktionen ist die angereicherte Komponente unterstrichen).

Methanol zusammen mit 140 g L(-)-Camphersäure heiß gelöst. Die sich abkühlende Lösung wird mit L(-)-Carnitin-L(-)-camphoratkristallen angeimpft. Bei 20°C werden die abgeschiedenen Kristalle abfiltriert und aus 210 ml Methanol umkristallisiert. Erhalten werden 154 g L(-)-Carnitin-L(-)-camphorat (=85% d. Th.). Aus den Mutterlaugen können durch fraktionierte Kristallisation noch 22 g L(-)-Carnitin-L(-)-camphorat (=12% d. Th.) und 36 g D(+)-Carnitin-L(-)-camphorat (=20% d. Th.) erhalten werden. (Wird das in den Mutterlaugen verbliebene DL-Carnitin-L(-)-camphorat in L(-)-Camphersäure und DL-Carnitin zerlegt, und dieses bei weiteren Racematspaltungen eingesetzt, ist die quantitative Auftrennung des eingesetzten DL-Carnitins in die optisch aktiven Carnitine besonders rationell.)

Ausbeute:

108 g D(+)-Carnitin-D(+)-camphorat (=0,3 Mol)

176 g L(-)-Carnitin-L(-)-camphorat (=0,49 Mol)

36 g D(+)-Carnitin-L(-)-camphorat (=0,1 Mol)

Diese Salze werden in die optisch aktiven Carnitine und die Camphersäuren zerlegt. Es werden 79 g L(-)-Carnitin (=98% d. Th.) und 64,3 g D(+)-Carnitin (=80% d. Th.) erhalten.

Die zurückgewonnenen Camphersäuren sind rein und können erneut zur Racematspaltung eingesetzt werden. Die in diesem Beispiel verwendete L(-)-Camphersäure kann durch Dibenzoyl-D(-)-weinsäure oder L(+)-Weinsäure ersetzt werden.

Zerlegung der Carnitinsalze

1. *Durch Wasser:* 0,1 Mol (=36,1 g) Carnitincamphorat wird in 100 ml heißem Wasser gelöst, dann auf 40°C abgekühlt, abfiltriert und mit wenig Wasser nachgewaschen. Erhalten: 18 g Camphersäure (=90% d. Th.). Aus Filtrat und Waschwasser wird die restliche Camphersäure (~2 g) durch Anionenaustauscher entfernt. Das neutrale Eluat wird eingengt. Es werden 16,1 g

(= 0,1 Mol) reines Carnitin erhalten. Vom Anionenaustauscher wird die Camphersäure mit NaOH zurückgewonnen.

2. *Durch Ätherextraktion:* 0,1 Mol (=36,1 g) Carnitincamphorat wird in 50 ml Wasser bzw. 0,1 Mol (=51,9 g) Carnitindibenzoyltartrat in 100 ml Wasser suspendiert und die Suspension 16 bis 24 h im Extraktor mit Äther extrahiert. In der eingengten ätherischen Phase werden 19 g Camphersäure bzw. 33 g Dibenzoylweinsäure rein erhalten. Aus der wäßrigen Phase werden die restlichen Säurebestandteile durch Anionenaustauscher entfernt. Die neutralen Eluate werden im Vak. zur Trockene eingengt. Es werden je 16,1 g (=0,1 Mol) reines Carnitin erhalten.

3. *Durch Salzsäure:* 0,1 Mol (=36,1 g) Carnitincamphorat wird mit 0,1 Mol HCl in 30 ml Wasser bzw. 0,1 Mol (=51,9 g) Carnitindibenzoyltartrat mit 0,1 Mol HCl in 100 ml Wasser suspendiert. Die ausgefallenen Carbonsäuren werden verrieben, abfiltriert und mit wenig Wasser nachgewaschen. Filtrat und Waschwasser werden zusammen im Vak. eingengt und der Rückstand aus Alkoholen, vorteilhaft aus 2-Propanol, umkristallisiert. Es werden 90–98% der eingesetzten Carnitinsalze als Carnitin-hydrochlorid erhalten. Das restliche Carnitin-hydrochlorid sowie die restlichen Carbonsäuren können aus der alkoholischen Mutterlauge ebenfalls gewonnen werden.

4. *Durch Anionenaustauscher:* 0,1 Mol eines Carnitinsalzes der optisch aktiven Säuren wird in wäßriger Lösung bzw. als Suspension mit 0,12 bzw. 0,25 Äquiv. der OH-Form eines schwach basischen Anionenaustauschers (Wofatit AK 40, Wofatit AD 41 oder Merck II) ~5 min geschüttelt. Der Anionenaustauscher wird abfiltriert und mit Wasser nachgewaschen. Aus dem Filtrat werden die restlichen Säurebestandteile über eine mit 20–30 ml Wofatit SBK (OH-Form) gefüllte Anionenaustauschersäule entfernt. Das neutrale Eluat wird im Vak. zur Trockene eingengt. Als Rückstand verbleiben 16,1 g (=0,1 Mol) reines Carnitin.

	Schmp. [°C]	$[\alpha]_D^{25}$
D(+)-Carnitin-D(+)-camphorat ^a	183	+ 37,3
L(-)-Carnitin-L(-)-camphorat ^a	183	- 37,3
D(+)-Carnitin-L(-)-camphorat ^b	168	- 10,4
L(-)-Carnitin-D(+)-camphorat ^b	168	+ 10,4
L(-)-Carnitin(dibenzoyl-D(-)-tartrat) ^a	154	- 95,2
D(+)-Carnitin(dibenzoyl-D(-)-tartrat) ^b	138	- 73,3
Di-L(-)-carnitin-L(+)-tartrat ^{a,c}	176/8	- 10,0
Di-D(+)-carnitin-L(+)-tartrat ^{b,c}	157/8	+ 29,9

a) In Methanol löslich, in Äthanol und 2-Propanol wenig löslich, in Äther nicht löslich.

b) In Methanol leicht löslich, in Äthanol löslich, in 2-Propanol wenig löslich, in Äther nicht löslich.

c) In Wasser s. leicht löslich.

Eigenschaften der Salze der optisch aktiven Carnitine mit einigen optisch aktiven Säuren

Zur Schmelzpunktbestimmung legten wir die Carnitinsalze 20°C unterhalb des erwarteten Schmelzpunktes in die Boethius-Apparatur ein und erwärmten um 4°C/min. Der Säuregehalt der Salze und damit die Molekulargewichte wurden durch Titration mit 0,1N NaOH gegen Phenolphthalein bestimmt. Der spezifische Drehwert der optisch aktiven Carnitinsalze wurde in 5 bzw. 10proz. Lösung in Methanol, bei den L(+)-Tartraten in Wasser,

bestimmt. Die Genauigkeit der angegebenen Drehungswerte beträgt $\pm 0,3^{\circ}$.

Die Carnitincamphorate hydrolysieren in Wasser vollständig, die Carnitindibenzoyltartrate teilweise. Die Camphorate und Tartrate kristallisieren aus Äthanol in gedrunghenen Prismen, die Dibenzoyltartrate in nadelförmigen Kristallen.

Herrn *H. Seim* danken wir für die Toxizitätsbestimmungen, Frll. *H. Landmann* für ihre wertvolle Mitarbeit.