

ATTI
DELLA
REALE ACCADEMIA DEI LINCEI

ANNO CCCX.

1913

SERIE QUINTA

RENDICONTI

Classe di scienze fisiche, matematiche e naturali.

VOLUME XXII.

2° SEMESTRE.



ROMA

TIPOGRAFIA DELLA R. ACCADEMIA DEI LINCEI

PROPRIETÀ DEL CAV. V. SALVIUCCI

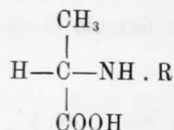
1913

Chimica. — *Scissione dell' α -alanina negli antipodi ottici per mezzo di acidi attivi* (1). Nota II di AMEDEO COLOMBANO e GIUSEPPE SANNA, presentata dal Socio L. BALBIANO (2).

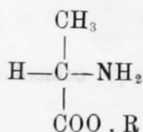
Abbiamo descritto in una Nota precedente (3) come neppure con gli acidi d. canfosolfonico e d. bromocanfosolfonico che con così buon risultato sono largamente adoperati per la scissione di un gran numero di composti racemici, si riesce a scindere gli aminoacidi più semplici, quali l' α -alanina, la leucina ecc.

Continuando nello studio di tali ricerche, abbiamo voluto accertarci se lo sdoppiamento di tali composti, di così debole funzione chimica, non potesse ottenersi per mezzo di acidi attivi, ricorrendo ad un artificio analogo a quello usato dal Fischer per riuscire nello scopo.

Poichè, com'è noto, il Fischer potè ottenere lo sdoppiamento di questi composti racemici togliendo ad essi il loro doppio carattere chimico, acido e basico, con lo spegnere la funzione basica, trasformandoli in benzoil, acetil e formilderivati:



così, seguendo una via analoga, noi abbiamo cercato di scindere questi racemi rinforzando la loro funzione basica, con l'eterificare cioè il radicale acido:



In queste condizioni, come nel primo caso salificando i composti ottenuti con basi attive — brucina, stricnina, cinchonina ecc. —, si riesce a scindere il racemo nei suoi antipodi ottici, così nel caso nostro, salificando gli eteri ottenuti con acidi attivi — quali il canfo e bromocanfosolfonico — si doveva poter raggiungere lo stesso scopo. Così operando, noi infatti siamo riusciti,

(1) Lavoro eseguito nell'Istituto farmaceutico della R. Università di Cagliari.

(2) Pervenuta all'Accademia l'8 agosto 1913.

(3) Questi Rendiconti, pag. 234.

specialmente col secondo acido, ad ottenere finora la scissione dell' α -alanina in un modo più semplice e certamente più rapido.

Lo sdoppiamento degli aminoacidi racemici per questa via era già stato tentato dal Fischer facendo agire l'acido d. tartarico sull'etere etilico della leucina (1). In questo modo egli ottenne un tartrato neutro, fusibile a 145° che però non poté essere scisso nei sali dell'l- e d-leucinester.

Più tardi lo stesso E. Fischer con Hagenbach (2) ripeté questo tentativo sull'etere etilico dell'acido α -amino-n-caproico. L'aminoacido ottenuto dall'etere era otticamente attivo, ma la rotazione ottenuta era di +14°.9, mentre per l'aminoacido puro è di +26°.5.

Gli autori indicavano fin da allora questo metodo come utilizzabile per la scissione degli aminoacidi racemici, ma rivelavano nello stesso tempo un grave ostacolo nella facile saponificazione dell'ester che impedisce la cristallizzazione del tartrato.

Col metodo che oggi viene descritto, si ha invece che il sale dell'ester di alanina cristallizza bene, facilmente, ed è molto stabile.

L'eterificazione dell' α -alanina fu da noi compiuta con lo stesso processo usato dal Fischer (3) e che gli permise la preparazione di una lunga serie di questi derivati e la separazione dei diversi aminoacidi dai miscugli in cui essi si trovano in tanti composti naturali.

Si scioglieva l'alanina in alcool etilico assoluto, e la soluzione si saturava con una corrente di acido cloridrico secco; il cloridrato ottenuto si concentrava nel vuoto, ad una temperatura di non più di 35°, fino a consistenza sciropposa, quindi si riprendeva con acqua ed etere, si raffreddava fortemente e poscia si decomponeva con la quantità calcolata di soda caustica al 33%. Al miscuglio si aggiungeva in seguito, e progressivamente, carbonato potassico anidro in modo da formare una densa poltiglia e si estraeva per tre o quattro volte con nuovo etere. La soluzione filtrata si lasciava per 10 minuti in presenza di carbonato potassico secco, e poi per più ore si sbatteva con un po' di ossido di calcio o di bario; si evaporava l'etere, ed il residuo veniva distillato nel vuoto.

Gli ester degli aminoacidi (4) che così si ottengono — come è noto — sono sostanze che si lasciano facilmente caratterizzare dal loro punto d'ebollizione, dalla loro solubilità, e dal punto di fusione dei loro picrati: in essi il gruppo aminico è capace di reagire come nelle amine ordinarie; e perciò, a differenza degli acidi liberi, essi sono solubili in alcool, etere, benzolo ecc.

Ottenuto l'etere di alanina, i tentativi fatti per avere la separazione dei due antipodi furono diversi. Facendo la soluzione dell'ester in alcool etilico

(1) B., E. Fischer, 34, 433 (1901).

(2) B., 34, 3764 (1901).

(3) B., 34, 433 (1901).

(4) Abbiamo avuto occasione di prepararne diversi che presto si descriveranno.

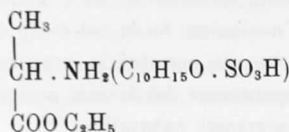
ed aggiungendo ad essa la quantità calcolata di acido d. canfosolfonico, non si ottiene la scissione, ma cristallizza una sostanza che fonde fra 95°-100°, solubile in acqua, in alcool, meno solubile in etere.

All'analisi:

Sostanza gr. 0,2020 ; CO₂ gr. 0,3729 ; H₂O gr. 0,1485
 " " 0,2194 ; " " 0,4055 ; " " 0,1565
 " " 0,1830 ; N cc. 6 ; T 19 ; H. 760 mm.

	Trovato %			Calcolato % per C ₁₅ H ₂₇ O ₆ NS + 1/2 H ₂ O
C	50,34	50,41	—	50,02
H	8,16	7,92	—	7,71
N	—	—	3,76	3,89

La sostanza cristallizzata è: *il canfosolfonato dell'ester etilico di alanina*



Una soluzione acquosa contenente in 100 cc. gr. 8,174 di questa sostanza, osservata in un tubo lungo 200 mm., manifesta una rotazione di +1,84, da cui

$$[\alpha]_D = +11^{\circ},49.$$

È tuttavia il sale dell'acido racemico; difatti l'aminoacido ottenuto, decomponendo l'etere nel modo che descriveremo in seguito, è sempre inattivo.

Quando per solvente si adopera l'acqua, si ottengono prodotti cristallini che si possono separare per il loro diverso grado di solubilità e che si differenziano per il loro punto di fusione. In questo modo noi siamo riusciti a separare diverse frazioni d'un sale che all'analisi ha dato:

Sostanza gr. 0,1841 ; CO₂ gr. 0,3262 ; H₂O gr. 0,1224

	Trovato %			Calcolato % per C ₁₅ H ₂₇ O ₆ NS + 1 H ₂ O
C	48,92		C	49,04
H	7,98		H	7,89

A differenza del sale ottenuto nella precedente preparazione, questo prodotto cristallizza con 1 mol. H₂O: il punto di fusione è più elevato di quello del sale racemico, e per le diverse frazioni va da un minimo di 135° a

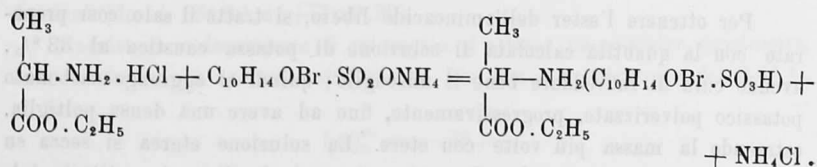
un massimo di 185°; anche il potere rotatorio, sempre positivo, varia da $\alpha_D^{20} = +29^{\circ},50$ (conc. 6,48 %) a $\alpha_D^{20} = +42^{\circ},82$ (conc. 6,91 %).

Ad un aumento del punto di fusione corrisponde un aumento del potere rotatorio, ciò che ci fa supporre che tutte queste frazioni siano impure del racemo, la cui solubilità non si differenzia molto da quella del sale dell'antipodo.

La frazione fondente a 185°, che ha un potere rotatorio specifico $\alpha_D^{20} = 42^{\circ},83$, fu quella che all'analisi dette i risultati sopra riportati e che, come si vede sono abbastanza corrispondenti. Per il punto di fusione molto netto e per il potere rotatorio abbastanza elevato, noi abbiamo ritenuto si trattasse del d-canfosolfonato del d-alaninester: non ci è stato possibile però di ottenere l'ester libero, perchè la quantità di sale ottenuta, troppo esigua, non ci ha permesso di farne la decomposizione. Ad ogni modo, questo risultato ci ha dimostrato la possibilità di ottenere la scissione per mezzo dell'acido canfosolfonico: si tratterà probabilmente di variare la natura del solvente.

Migliori risultati abbiamo avuto sostituendo nello sdoppiamento dell'ester, all'acido d. canfosolfonico, l'acido d. bromocanfosolfonico. Se si versa infatti una soluzione acquosa dell'alainester in una soluzione concentrata di acido bromocanfosolfonico (1), si ha subito, a temperatura ordinaria, la formazione di una massa bianca costituita da grossi cristalli di aspetto tabulare bene sviluppati. Dopo ventiquattro ore, la cristallizzazione è completa; ed i cristalli, raccolti e lavati, fondono bene a 145°. Seccati fino a peso costante alla stufa, perdono una molecola d'acqua di cristallizzazione, ed il prodotto anidro che si ottiene fonde a 192°. Cristallizzato dall'etere acetico, si ha in bei cristalli prismatici, allungati, anidri, che fondono a 192° ed hanno potere rotatorio destrogiro.

La preparazione di questo sale venne in seguito vantaggiosamente modificata facendo agire, anzichè l'acido libero, il bromocanfosolfonato ammonico sul cloridrato dell'ester:



In questo modo si può far uso di un sale che cristallizza e si purifica facilmente e si evita la decomposizione dell'ester che è un'operazione lunga e molto delicata e dà rendimenti assai scarsi.

Si sciogliono gr. 32 di d. bromocanfosolfonato ammonico in 100 cc. d'acqua; e la soluzione limpida ottenuta si versa nella soluzione di gr. 15 di clori-

(1) Kipping e Pope, Journ. Chem. Soc., 73, 893 e seg.

drato dell'ester di alanina. Il miscuglio — filtrato, se occorre — dopo poco tempo comincia a separare cristalli lucenti che aumentano a poco a poco, fino a formare una massa di gr. 17 di sostanza che corrisponde alla metà circa del peso dei componenti.

I caratteri fisici di questo composto corrispondono esattamente a quelli descritti per il prodotto ottenuto col primo metodo.

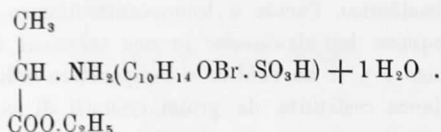
All'analisi, il prodotto, asciugato a temperatura ordinaria, diede:

Sostanza gr. 0,1788 ; CO₂ gr. 0,2682 ; H₂O gr. 0,1068
 Calcolato per C₁₅H₂₆O₆BrNS + 1 H₂O %: C 40,36 ; H 6,27
 Trovato %: C 40,90 ; H 6,63

Sostanza (seccata a 100°) gr. 0,1365 ; N cc. 3,9 ⁽¹⁾ ; T 24° ; H 764 mm.

Calcolato per C₁₅H₂₆O₆BrNS %: N 3,27
 Trovato %: N 3,95 .

Il composto è perciò il *bromocanfosolfonato dell'ester etilico di alanina*:

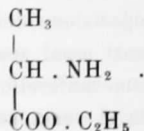


Gr. 0,5480 di sostanza, riscaldati alla stufa a 105° per parecchie ore fino a costanza di peso, diedero una diminuzione di gr. 0,0227, corrispondente al 4,14 % e ad una molecola di H₂O di cristallizzazione. Il punto di fusione di questo sale reso anidro, come si è detto, è 192°.

Una soluzione alcoolica al 3,488 % del sale idrato, osservata in tubo lungo 100 mm., dà una rotazione di + 2,356; da cui

$$[\alpha]_D^{26} = + 67^{\circ},54 .$$

Per ottenere l'ester dell'aminoacido libero, si tratta il sale, così preparato con la quantità calcolata di soluzione di potassa caustica al 33 %, avendo cura di raffreddare bene il miscuglio; quindi si aggiunge carbonato potassico polverizzato, progressivamente, fino ad avere una densa poltiglia, estraendo la massa più volte con etere. La soluzione eterea si secca su ossido di calcio e si distilla: il residuo che così si ottiene è costituito dall'ester d'alanina destrogiro:



⁽¹⁾ Per la poca importanza che nel caso ha la determinazione dell'azoto, non si è creduto necessario di preparare nuova quantità di sostanza per ripetere questa analisi.

Una soluzione alcoolica, infatti, di questo residuo al 26,384 %, osservata in tubo lungo 100 mm., dà una rotazione di + 3,038; da cui:

$$[\alpha]_D^{28} = + 11^{\circ},26.$$

Dall'ester così ottenuto, facendolo bollire per 5 ore a ricadere con acqua, quindi evaporando a pellicola, si ottiene facilmente, in minuti cristallini aghiformi, l'alanina libera.

Per esaminarne il potere rotatorio, si trasformò l'alanina così ottenuta in cloridrato. Si sciolse, cioè, la sostanza ottenuta, in pochi cc. d'acido cloridrico diluito (1 : 2 d'acqua); e la soluzione filtrata si fece evaporare a bagno maria a secco. Il residuo dell'evaporazione si sciolse in alcool assoluto e si precipitò con etere assoluto filtrando subito alla pompa. Si ebbe così una bella sostanza d'aspetto madreperlaceo che, per una concentrazione del 7,304 %, osservata in tubo lungo 10 mm., diede una rotazione di — 0,800 da cui

$$[\alpha]_D^{28} = - 10^{\circ},20.$$

Questo risultato è molto vicino a quello dato dal Fischer (1) che trovò:

$$[\alpha]_D^{28} = - 10^{\circ},30.$$

Si osserva cioè in questo caso un fatto analogo notato altre volte, p. es. per la l.leucina (2): che, mentre l'ester è destrogiro, l'aminoacido libero è invece sinistrogiro.

Usando nella preparazione del sale dell'ester d'alanina la quantità calcolata di acido d.bromocanfossilato ammonico, dopo separato il sale che costituisce il bromocanfossilato dell'l-alaninester, dalla soluzione, tenuta nel vuoto su H_2SO_4 , si separa frazionatamente dapprima bromocanfossilato ammonico puro, in seguito lo stesso sale mescolato probabilmente col l'altro antipodo, giacchè il potere rotatorio va aumentando nelle diverse frazioni (da + 85° 80 a + 105° 93).

Infatti, se si decompone il miscuglio, si ottiene un alanister sinistrogiro, la cui rotazione è ancora molto bassa. Per una concentrazione del 9,61 % si ha

$$[\alpha]_D^{20} = - 2^{\circ},10.$$

Se pertanto dalle acque madri, usando questo metodo dello sdoppiamento degli aminoacidi per mezzo di acidi attivi, si può ottenere anche l'altro antipodo, tuttavia ciò si ottiene con difficoltà e poco rendimento, ugualmente a quanto avviene col processo delle basi attive finoggi adoperato (3). Noi cre-

(1) B., 39, 453 (1906).

(2) B., 34, 433 (1901).

(3) Vedi Fischer, B., 32, 2451 (1899).

diamo che con maggior vantaggio si potrà in questo caso ricorrere al corrispondente antipodo dell'acido bromocanfosolfonico da noi adoperato, il levo, analogamente a quanto hanno già fatto altri (1).

Queste ricerche verranno da noi continuate in questo senso e con altri omologhi superiori degli aminoacidi, anche perchè speriamo che ciò ci darà modo di portare qualche contributo allo studio della scissione degli ester etilici degli aminoacidi, non ancora fatto.

Terminando, ci è grato di esprimere i nostri più vivi ringraziamenti alla dottoressa sig.^{na} Isabella Delitala per il prezioso aiuto datoci nella parte sperimentale di questo lavoro.

(1) Vedi Pope e allievi.

E. M.