

### 3. Bestimmung der absoluten Konfiguration

#### Einschub für Interessierte

#### 3.1 Die Kristallisationsmethoden von Meir Lahav

Top. Stereochem. 1986, 16, 1 und Angew. Chem. Int. Ed. 1985, 24, 466

Es wurde schon früh erkannt, dass es eine enge Beziehung gibt zwischen der Symmetrie einer Verbindung und der Morphologie des Kristalls, den die Verbindung bei der Kristallisation ergibt. L. Pasteur trennte 1848 die beiden Enantiomere des Natrium-Ammoniumtartrats durch optisches sortieren der enantiomorphen Kristalle (L. Pasteur, Ann. Phys. 1848, 24, 442). Die Kristallisation ist noch heute eine beliebte Methode zur Trennung von Enantiomeren. Vor allem die Zugabe von Additiven wird genutzt um die Kristallisation in der gewünschten Weise zu beeinflussen.

Viele Racemate kristallisieren in zwei enantiomorphen Formen. Es handelt sich um eine spontane Racematspaltung auf Grund molekularer Erkennungsprozesse. Ein Enantiomer bildet den einen Kristall, das andere den anderen. (*RS*)-Glutaminsäure•HCl kristallisiert z.B. in dieser Weise. Gibt man zu der Lösung nun 0.05 bis 1.5 Gew.% (*S*)-Lysin als Additiv, baut sich das (*S*)-Lysin in den Kristall der kristallisierenden (*S*)-Glutaminsäure ein. Das Wachstum der (*S*)-Glutaminsäure Kristalle wird stark behindert, z.T. um Tage verzögert, so dass das gewünschte andere Enantiomer gezielt durch Kristallisation isolierbar wird. Auch (*RS*)-Threonin kann durch Zugabe von *R*- oder *S*-Glutaminsäure getrennt werden. Das zugegebene Enantiomer hemmt die Kristallisation der ebenso konfigurierten Verbindung. Die andere fällt selektiv aus. HPLC Analyse der Kristalle zeigt, dass das Additiv tatsächlich nur im Kristall gleicher absoluter Konfiguration eingebaut wurde. Diese Regel heisst „Chiralitätsumkehr-Regel“. Durch Additive lässt sich das Auskristallisieren von gewünschten Substanzen also gezielt unterdrücken. Für Beispiele siehe folgende Tabelle:

Trennung von Konglomeraten (Gemisch der enantiomorphen Kristalle) aus enantiomeren Verbindungen oder Kristallen. Bekannte Trennungen mit chiralen Additiven in Einklang mit der „Chiralitätsumkehr-Regel“.

Konglomerat	Chirales Additiv [a]	Enantiomer, das zunächst im Überschuss auskristallisiert	Literatur
Glu	( <i>S</i> )-Asp, ( <i>S</i> )-Leu	( <i>R</i> )-Glu	1
Glu	( <i>S</i> )-Glu-OMe	( <i>R</i> )-Glu	2
(Asp-O) <sub>2</sub> -CO	( <i>S</i> )-Glu, ( <i>S</i> )-Ala	(( <i>R</i> )-Asp-O) <sub>2</sub> Cu	3
NaNH <sub>4</sub> -Tartrat	D-(+)-Äpfelsäure	D-(-)- NaNH <sub>4</sub> -Tartrat	4
Narwedon 1	(-)-Galanthamin 2	(+)-Narwedon	5
<i>p,p'</i> -Dimethylchalkon 3	(2 <i>R</i> , 3 <i>S</i> )-2,3-Dibrom-1,3-bis( <i>p</i> -tolyl)-1-propanon 4 aus d-Kristallen [b]	<i>p,p'</i> -Dimethylchalkon, 1-Kristalle [b]	6
3,3'-( <i>p</i> -Phenylen)-diacrylate 5 [c]	Dimere 3,3'-( <i>p</i> -Phenylen)-diacrylate 6 aus Kristallen [b]	3,3'-( <i>p</i> -Phenylen)-diacrylate, 1-Kristalle [b]	7
Thr	( <i>S</i> )-Glu, ( <i>S</i> )-Gln, ( <i>S</i> )-Asn, ( <i>R</i> )-Cys, ( <i>S</i> )-Phe, ( <i>S</i> )-His, ( <i>S</i> )-Lys, ( <i>S</i> )-Asp	( <i>R</i> )-Thr	8
Glu•HCl	( <i>S</i> )-Lys, ( <i>S</i> )-Orn, ( <i>S</i> )-His, ( <i>S</i> )-Ser, ( <i>S</i> )-Thr, ( <i>S</i> )-Cys,	( <i>R</i> )-Glu	8

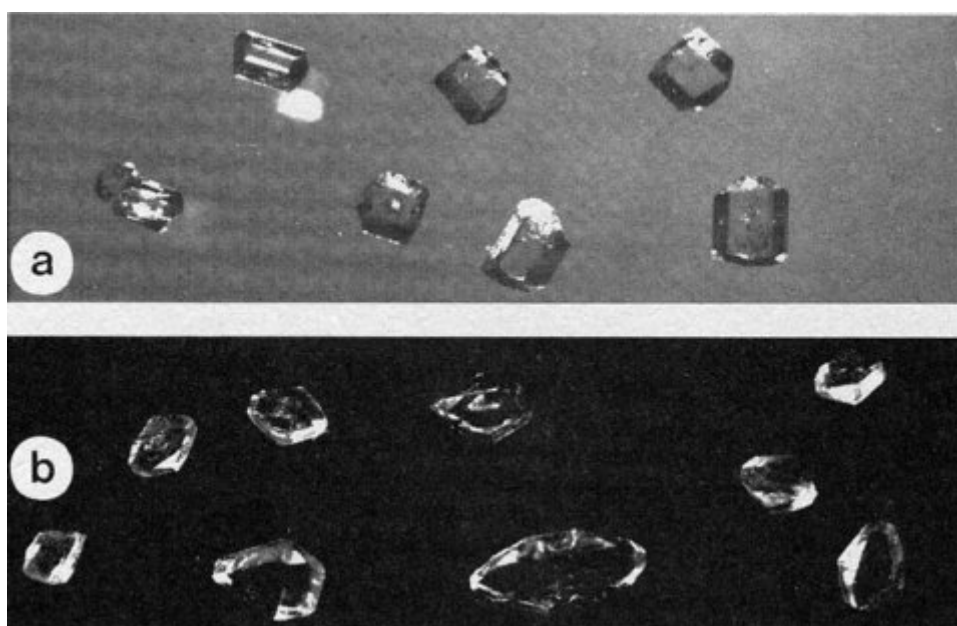
Asn•H <sub>2</sub> O	(S)-Tyr, (S)-Leu, (S)-Glu, (S)-Asp, (S)-Ser, (S)-Gln, (S)-Lys, (S)-Orn, (S)-His	(R)-Asn	8
p-Hydroxyphenyl-glycin- p-toluolsulfonat	(S)-Phenylglycin, (S)-Tyr, (S)-p-Methoxy-phenyl- glycin, (S)-Phe, (S)-Dopa,	(R)- p-Hydroxyphenylglycin	8
His•HCl	(S)-Trp, (S)-Phe	(R)-His	8
3-Phenylhydracrylsäure 7	(S)-Phenylmilchsäure 8	(R)- 3-Phenylhydracrylsäure 9	8

[a] Alle Aminosäuren, die als chirale Additive verwendet wurden, gehören der L-Reihe an, d.h. mit Ausnahme von Cys sind sie (S)-konfiguriert. [b] d und l bezeichnen willkürlich die unterschiedliche Chiralität der Kristalle (ohne Bezug zur absoluten Konfiguration). [c] Beispiele: R<sup>1</sup>=COOCH<sub>2</sub>Et<sub>2</sub>, R<sup>2</sup>=COOMe, COOEt, COONPr; R<sup>1</sup>=(RS)-COO<sup>s</sup>Bu, R<sup>2</sup>=COOEt, COONPr.

Literatur:

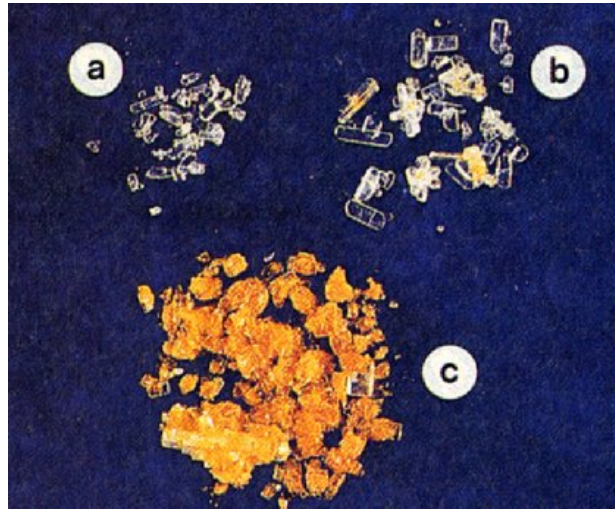
1. J.L.Purvis, US Pat. 2790001 (1957)
2. H.L.Fike, US Pat. 2937200 (1960)
3. K.Harada, *Nature (London)* 205 (1965) 590; K.Harada, W.Tso, *Bull.Chem.Soc.Jpn.* 45 (1971) 2859
4. L.Ostromisslensky, *Ber.Dtsch.Chem.Ges.* 41 (1908) 3035
5. D.H.R.Barton, G.W.Kirby, *J.Chem.Soc.* 1962, 806
6. B.S.Green, L.Heller, *Science* 185 (1974) 527
7. J.van Mill, E.Gati, L.Addadi, M.Lahav, *J.Am.Chem.Soc.* 103 (1981) 1248; J.van Mill, E.Gati, L.Addadi, M.Lahav, *ibid.* 104 (1982) 3429; J.van Mill, E.Gati, L.Addadi, M.Lahav, *Macromol.Chem.Suppl.* 4 (1981) 37
8. L.Addadi, J.van Mill, M.Lahav, *J.Am.Chem.Soc.* 103 (1981) 1249; L.Addadi, S.Weinstein, E.Gati, I.Weissbuch, M.Lahav, *ibid.* 104 (1982) 4610

Man beobachtet ferner, dass die gehemmt wachsenden Kristalle auch eine andere Morphologie besitzen. Das ist am Beispiel unten gezeigt.



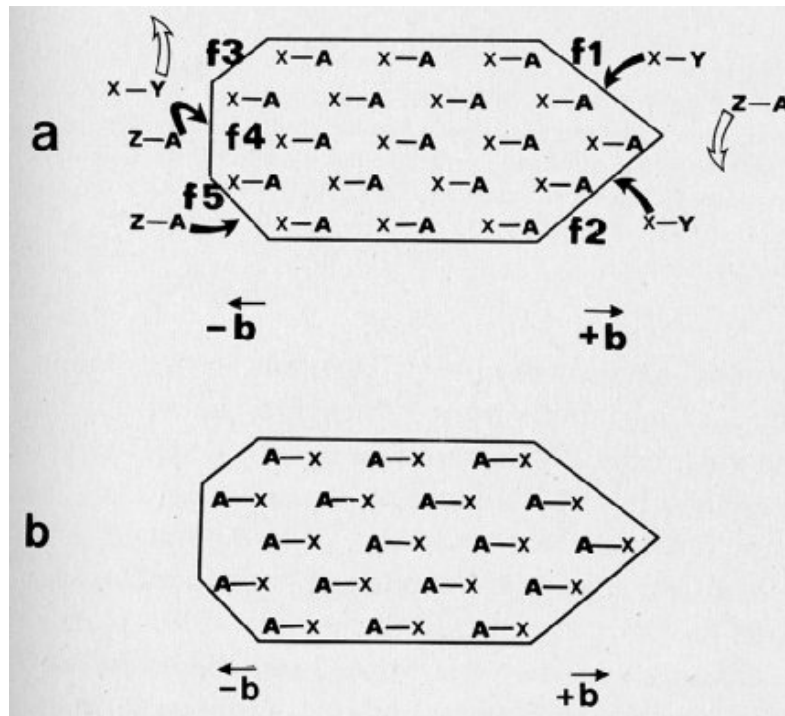
a zeigt (*S*)-Asparagin•H<sub>2</sub>O ohne oder mit einem (*R*)-Additiv. Bild b zeigt (*S*)-Asparagin•H<sub>2</sub>O mit einem (*S*)-Additiv.

Daß sich das Additiv gleicher Konfiguration selektiv einbaut, kann durch Farbexperiment verdeutlicht werden das unten dargestellt ist. Kristallisiert man (*RS*)-Glutaminsäure z. B. in Gegenwart von farbigem N<sup>e</sup>-(2,4)-Dinitrophenyl-(*S*)-lysin, so kristallisiert zunächst die farblose (*R*)-Glutaminsäure aus (a). Dann beobachtet man auch die Bildung von gefärbten Kristallen (b). Sie ergeben sich aus (*S*)-Glutaminsäure mit dem eingebauten Farbstoff. Die dritte Fällung (c) besteht dann nur noch aus den angefärbten (*S*)-Glutaminsäure Kristallen.

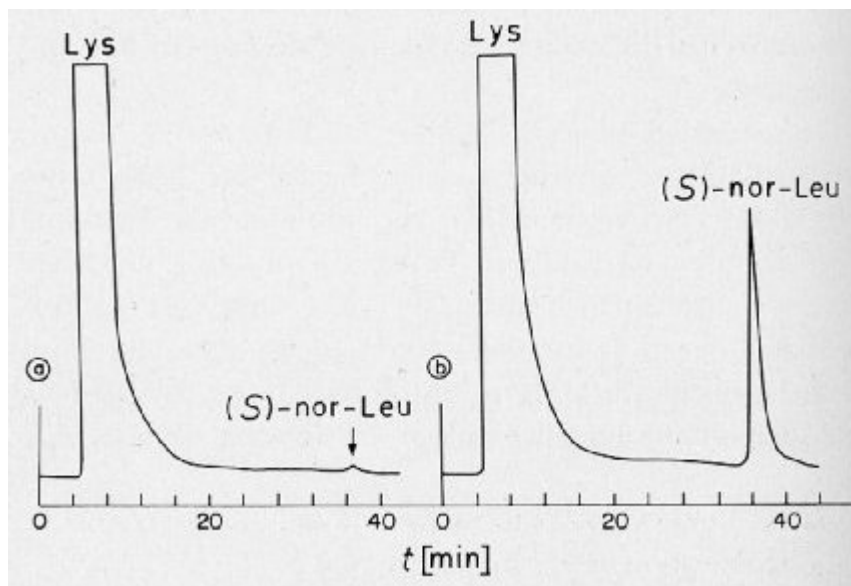


### Gezielte Beeinflussung der Kristallmorphologie

Bestimmt man die Struktur einer chiralen Verbindung in einem chiralen (polaren) Kristall, so ist die absolute Richtung des chiralen Moleküls bezüglich der Kristallachsen nicht ermittelbar. In der Abbildung unten bedeutet dies, dass wir nicht zwischen den Fällen (a) und (b) unterscheiden können. Die Orientierung von X-A relativ zur b-Achse bleibt also unbestimmt. Betrachtet man den Kristall, so liegen die Flächen f1 und f2 in +b-Richtung und f3, f4 und f5 in -b-Richtung. Die Flächen unterscheiden sich aufgrund der Polarität des Kristalls. Gibt man das wachstumshemmende Additiv X-Y zu, so wird es im Fall des Kristalls (a) an den Flächen f1 und f2 adsorbiert. Dort hemmt es das Wachstum. Der Inhibitor Z-A wird entsprechend das Wachstum in Richtung f3, f4 und f5 vermindern. Im Fall des Kristalls (b) ist es genau umgekehrt. x-y hemmt das Wachstum in Richtung f3, f4, f5 und Z-A in Richtung f1 und f2.



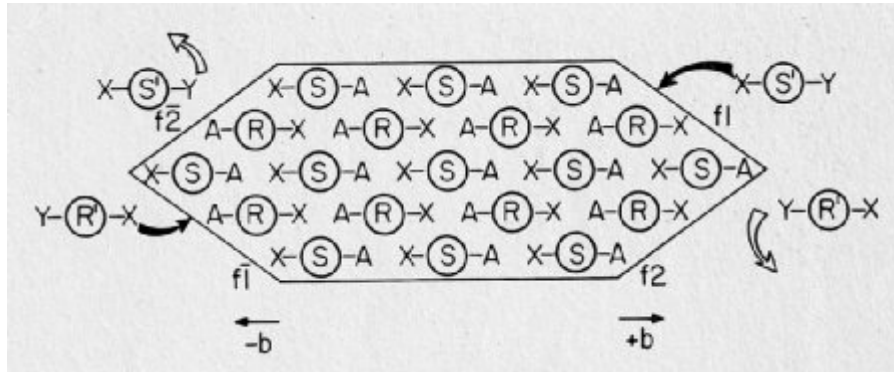
Z. B. kristallisiert (*S*)- und (*R*)-Lysin so wie angegeben. Die Lysine liegen entlang der *b*-Achse orientiert. (Kristall  $P2_1$ ). Der  $\text{NH}_2\text{-CH-COOH}$  Teil des Lysins zeigt in Richtung  $+b$ , der  $\epsilon\text{-NH}_2$ -Teil in Richtung  $-b$ . Zugabe von Lysin-Methylester vermindert das Wachstum in Richtung  $+b$  und Norleucin vermindert es in Richtung  $-b$ . Erneut kann die anisotrope Verteilung des Additivs im Kristall durch Schneiden der Kristalle und HPLC nachgewiesen werden.



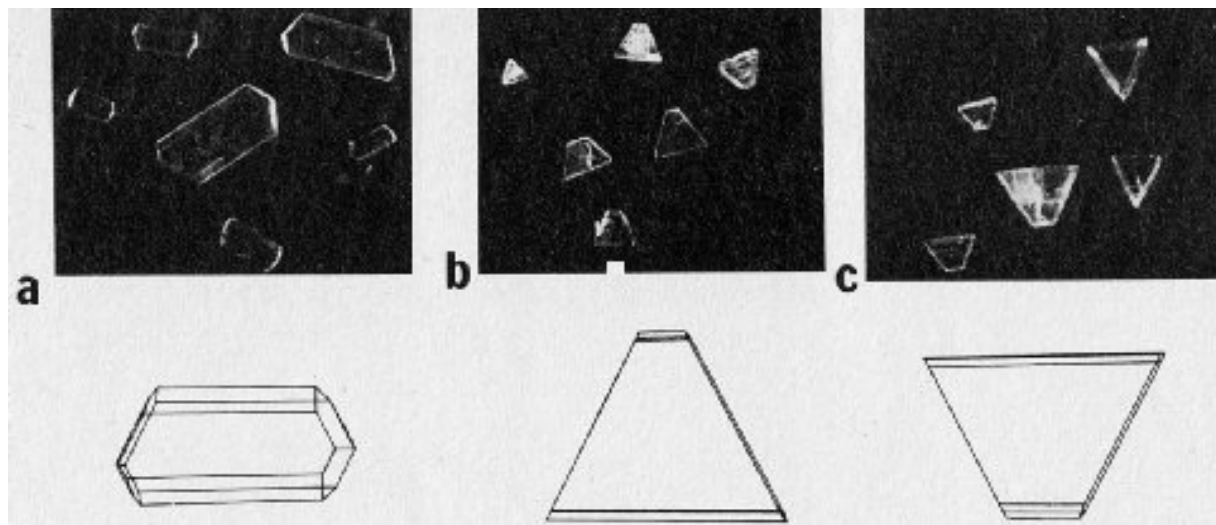
Oben gezeigt ist der HPLC-analytische Nachweis des in (*S*)-Lysin $\cdot\text{HCl}\cdot 2\text{H}_2\text{O}$  Kristallen eingeschlossenen Additivs (*S*)-Norleucin. (a)  $+b$  Bruchstück des Kristalls, (b)  $-b$  Bruchstück des Kristalls.

Betrachtet man racemische, zentrosymmetrische, Kristalle welche aus Racematen oder meso-Verbindungen bestehen, so ist in solchen Fällen die Orientierung der Moleküle bezüglich der Kristallachsen bestimmbar. Diese Kristalle erlauben dann sogar die Ermittlung der absoluten Konfiguration unbekannter Verbindungen. Im Schema unten wird das verdeutlicht. Eine

spezifische funktionelle Gruppe eines Enantiomere zeigt nur zu einer Fläche. A in den (*R*)-Molekülen weist in Richtung *f*-1 und nicht nach *f*1. Nach *f*1 zeigt die funktionelle Gruppe A im Fall des (*S*)-Enantiomeren. Gibt man ein Additiv *R'* zu, so baut sich dieses bevorzugt ein. *Y-R'-X* lagert sich an der *f*-1 Fläche an. *X-S'-Y* wird an *f*1 eingebaut. D.h. *Y-R'-X* hemmt in Richtung  $-b$  und *X-S'-Y* hemmt in Richtung  $+b$ .



Beispiel. (*RS*)-Serin. Hier zeigt das pro-*S*-CH Atom des (*S*)-Serins in  $+b$ -Richtung. Das pro-*R*-CH des (*S*)-Serins zeigt in Richtung  $-b$ . Zugabe von (*S*)-Threonin in dem das pro-*R*-CH durch eine Methylgruppe ersetzt ist hemmt das Wachstum in  $-b$ -Richtung. (*R*)-Threonin hemmt in Richtung  $+b$ .



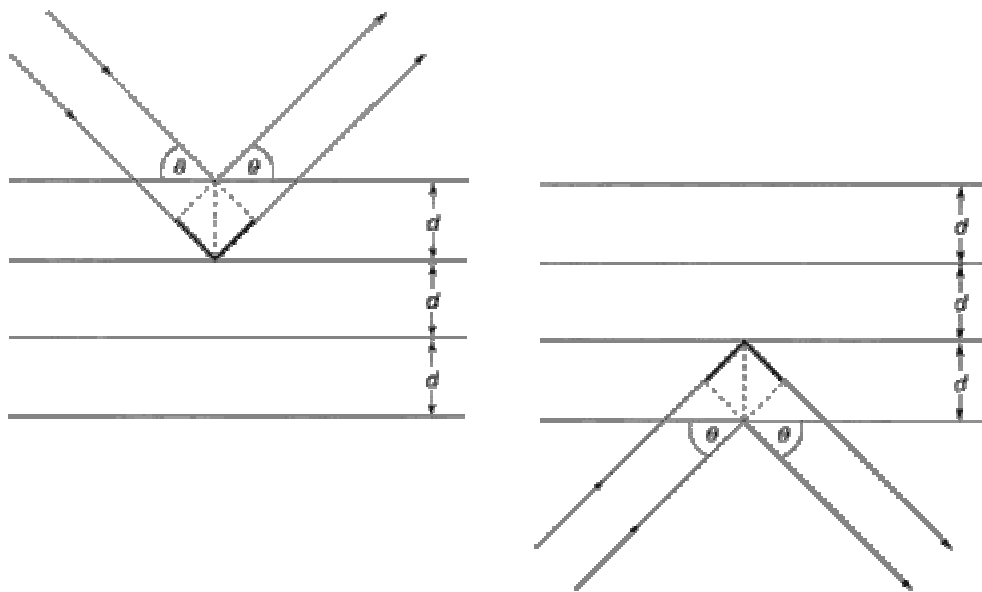
In der Abb. oben sind die tafelförmigen (*RS*)-Serin Kristalle gezeigt (a). In Gegenwart von (*R*)- (b) oder (*S*)-Threonin (c) gibt es andere enantiomorphe Kristallformen.

Fazit: Die Kristallmorphologie kann durch Zugabe von selektiven Inhibitoren gezielt beeinflusst werden. (*crystal engineering*). Da nur die Wachstumsgeschwindigkeit der Flächen, die das wachstumshemmende Additiv absorbieren, beeinflusst wird, unterscheiden sich Kristalle, die mit bzw. ohne Additiv gewachsen sind. Kennt man den Kristall, so kann man z.B. die absolute Konfiguration des Additivs ermitteln.

### 3.2 Anomale Röntgenbeugung

Röntgenstrahlung ist elektromagnetische Strahlung mit einer Wellenlänge von ungefähr 100 pm. Sie kann erzeugt werden indem man eine Metalloberfläche mit hochenergetischen Elektronen beschießt. Da Röntgenstrahlen eine Wellenlänge besitzen, die ungefähr den Abständen der Gitterebenen eines Kristalls entspricht, können sie beim Durchtritt durch einen Kristall gebeugt werden. Diesen Vorteil nutzt die Röntgenstrukturanalyse aus.

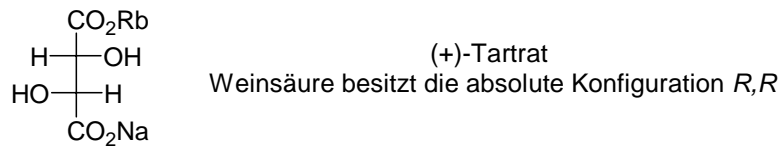
Bei der normalen Röntgenstrukturanalyse hängt die Intensität der gebrochenen Strahlen von den Abständen zwischen den Atomen, aber nicht von der absoluten räumlichen Orientierung der Struktur ab. In zentrosymmetrischen Kristallen ist es deshalb egal ob der Kristall von der einen oder der anderen Seite der Messstrahlung ausgesetzt wird. Das Beugungsmuster ist zentrosymmetrisch. Die Friedelpaare  $F_{hkl}$  und  $F_{-h-k-l}$  sind gleich intensiv. Das gilt bei zentrosymmetrischen Kristallen streng. Experimentell wird das Quadrat des Strukturfaktor  $S$   $F_{hkl}^2$  bestimmt.



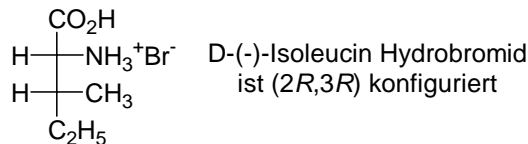
Auch in nicht zentrosymmetrischen Kristallen, die z.B. von chiralen Verbindungen gebildet werden gilt in erster Näherung  $F_{hkl} = F_{-h-k-l}$  weshalb mit normaler Röntgenbeugung keine enantiomorphen Strukturen unterschieden werden können.

Bestrahlt man allerdings eine Verbindung, die ein Schweratom enthält mit Röntgenstrahlung einer Wellenlänge nahe an der Absorptionskante dieses Schweratoms, so tritt eine Phasenverzögerung auf (anomale Dispersion), die für  $R$  oder  $S$  Konfiguration unterschiedlich ist und berechnet werden kann. Dies bezeichnet man als anomale Dispersion. Das heißt: In nicht-zentrosymmetrischen Kristallen ist doch  $F_{hkl}$  etwas anders als  $F_{-h-k-l}$ . Dieser Intensitätsunterschied der Beugung an der Unterseite oder Oberseite des Kristalls reicht, um nun doch enantiomorphe Strukturen zu bestimmen.

Bijovet (*Nature* 1951;168, 271) gelang es erstmals 1951 die absolute Konfiguration einer Verbindung über die anomale Dispersion zu bestimmen. Es handelte sich hierbei um die mit Zirkonium- $K_{\alpha}$ -Strahlung angefertigte Röntgenstrukturanalyse von Natrium-Rubidium-Tartrat. Für das (+)-Tartrat-Dianionen wurde die Konfiguration  $R,R$  ermittelt. Dieser Durchbruch gilt als Meilenstein in der Geschichte der Stereochemie, da die (+)-Weinsäure mit einer Vielzahl anderer chiraler Verbindungen, besonders Zuckern chemisch korreliert wurde.



Etwas später wurde die absolute Konfiguration eines Hydrobromids der Aminosäure  $D(-)$ -Isoleucin bestimmt. Hierbei wurden Uran- $L_\alpha$ -Strahlen verwendet, welche durch Anwesenheit des Bromatoms eine Phasenänderung erfahren.



Heute werden bei der anomalen Röntgenstrukturanalyse Kupfer- $K_\alpha$ -Strahlung und Atome mit einer Ordnungszahl über 14 verwendet, z.B. Phosphor, Schwefel oder Brom. In Einzelfällen kann auch Sauerstoff benutzt werden, allerdings nur wenn ein sehr guter Kristall zur Verfügung steht.

Damit ist die anomale Dispersion die Methode der Wahl, wenn die Bestimmung der absoluten Konfiguration einer chiralen Verbindung gefordert ist. Bedingung ist aber das Vorhandensein eines Schweratoms und man benötigt einen guten Kristall!