

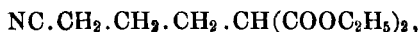
**621. Emil Fischer und Fritz Weigert:
Synthese der α, ε -Diaminocapronsäure (Inactives Lysin)¹⁾.**

[Aus dem I. chemischen Institut der Universität Berlin.]

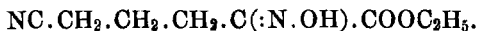
(Eingegangen am 25. October 1902.)

In der Mittheilung über die Synthese der α, δ -Diaminovaleriansäure²⁾ wurde die Absicht ausgesprochen, auf ähnliche Weise die homologe α, ε -Diaminocapronsäure darzustellen und mit dem von Drechsel entdeckten und als Spaltungsproduct vieler Proteinstoffe wichtigen Lysin zu vergleichen. Da aber die Versuche wegen der schwierigen Beschaffung des Tetramethylenbromids sich allzu langwierig gestalteten, so haben wir uns bemüht, einen bequemeren Weg zu finden, und es ist uns nach verschiedenen fruchtlosen Anläufen gelungen, auf folgende Weise das Ziel zu erreichen.

Der von Blank³⁾ beschriebene γ -Cyanpropylmalonester,



erleidet durch salpetrige Säure dieselbe Verwandlung, welche Victor Meyer für die Monoalkylacetessigester aufgefunden hat und welche nach einer kurzen Bemerkung von Dieckmann und Groeneveld⁴⁾ auch bei dem Methylmalonester eintritt. Unter Austritt von einem Carboxäthyl entsteht nämlich der α -Oximido- δ -cyanvaleriansäureäthylester,



Wird diese Verbindung mit Alkohol und Natrium reducirt, so bildet sich in verhältnissmässig glatter Weise die α, ε -Diaminocapronsäure,



Das synthetische Product hat die grösste Aehnlichkeit mit dem natürlichen Lysin, wie der Vergleich verschiedener Salze, sowie der Benzoyl- und Phenylcyanat-Verbindungen zeigte. Es unterscheidet sich davon nur durch die optische Inactivität und kleine Differenzen in den Schmelzpunkten der Derivate.

Es war deshalb sehr wahrscheinlich, dass die künstliche Diaminosäure die racemische Form des Lysins sei. Um aber den endgültigen Beweis dafür zu liefern, haben wir die natürliche Base durch Erhitzen mit Salzsäure auf 165–170° racemisirt und konnten dann keinen Unterschied zwischen ihr und dem künstlichen Product mehr feststellen.

¹⁾ Der Berliner Akademie vorgelegt am 13. März 1902. Vergl. Sitzungsberichte 1902, 270 und Chem. Centralblatt 1902, I, 985.

²⁾ Diese Berichte 34, 454 [1901]. ³⁾ Diese Berichte 25, 3041 [1892].

⁴⁾ Diese Berichte 33, 601 [1900].

Da die Synthese nur wenige Operationen mit verhältnismässig billigen Materialien erfordert, so dürfte das künstliche Product ebenso leicht als das natürliche zu beschaffen sein.

Durch das Resultat der Synthese wird ferner der definitive Beweis für die Richtigkeit der schon jetzt üblichen Structurformel des Lysins, in der die Stellung des Carboxyls noch unsicher war, geliefert.

γ -Cyanpropyl-malonester.

Zur Bereitung des Esters wurden nach der Vorschrift von Blank 7 Theile Natrium in 55 Theilen absolutem Alkohol gelöst, dann 48 Theile Malonester und 33 Theile γ -Chlorbutyronitril zugegeben. Das Erhitzen geschah aber nicht am Rückflusskühler, sondern im verschlossenen Gefäss (Druckflasche oder Autoclaven) im Wasserbade und dauerte 15 Stunden. Dann wurde der Alkohol und das unveränderte Nitril mit Wasserdampf abgeblasen, das ausgeschiedene Oel ausgeäthert und nach dem Verdampfen des Aethers und Trocknen mit Kaliumcarbonat unter stark vermindertem Druck fractionirt; der Siedepunkt lag unter 11—12 mm Druck bei 175° (corr.). Die Ausbeute betrug durchschnittlich 35 Theile oder 52 pCt. der Theorie, während Blank nur 13 pCt. nichtdestillirten Ester erhielt.

α -Oximido- δ -cyanvaleriansäureäthylester, $\text{NC} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{C}(\text{:N} \cdot \text{OH}) \cdot \text{COOC}_2\text{H}_5$.

Mischt man 10 g Cyanpropylmalonester bei 0° mit 5 g Aethylnitrit, so färbt sich die Flüssigkeit schwach gelblich grün. Diese wird allmählich in eine unter — 10° abgekühlte Lösung von 1 g Natrium in 20 ccm absoluten Alkohol eingetragen und das Gemisch unter fortwährender Kühlung durch Eis und Salz 15 Stunden verschlossen aufbewahrt, wobei die anfangs dunkelgelbe Farbe in braun umschlägt. Der Alkohol wird jetzt im Vacuum über Schwefelsäure verdunstet, der halb erstarrte braune Rückstand, welcher einen süsslichen kaffeeartigen Geruch hat, in wenig Wasser gelöst, das ausgeschiedene Oel mit Aether entfernt und die wässrige Lösung des Natriumsalzes unter Kühlung mit verdünnter Schwefelsäure übersättigt. Dabei fällt der α -Oximido- δ -cyanvaleriansäureester als dunkelbraunes Oel aus und wird durch mehrmaliges Ausziehen mit Aether abgetrennt. Das beim Verdunsten des Aethers zurückbleibende Oel erstarrt beim Aufbewahren im Vacuum über Schwefelsäure krystallinisch. Die Ausbeute an Rohproduct betrug bei gut gelungener Operation 7.6 g oder 93 pCt. der Theorie. Es kann für die Reduction mit Natrium und Alkohol direct verwendet werden. Zur völligen Reinigung wird die krystallinische Masse zunächst durch Aufstreichen auf Thon oder Abpressen von einer kleinen Menge Oel befreit und dann aus Ligroin

vom Sdp. 90—100⁰ umkrystallisirt. Beim Abkühlen fällt der Ester erst in Oeltropfen aus, welche sich nach einiger Zeit in sehr dünne, langgestreckte, schief abgeschnittene, farblose Platten vom Schmp. 74⁰ verwandeln. Für die Analyse war das Präparat im Vacuum getrocknet.

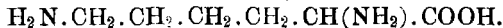
0.1500 g Sbst.: 0.2854 g CO₂, 0.0853 g H₂O. — 0.1724 g Sbst.: 22.9 ccm N (19.5⁰, 762 mm).

C₈H₁₂N₂O₃. Ber. C 52.13, H 6.56, N 15.24.

Gef. » 51.90, » 6.36, » 15.37.

Der Ester ist in Wasser und in Ligroïn auch in der Wärme recht schwer, in den anderen gebräuchlichen Lösungsmitteln dagegen sehr leicht löslich. Von Alkalien wird er in Folge der Salzbildung sehr leicht aufgenommen. Beim Kochen mit starker Salzsäure wird er unter Abspaltung von Hydroxylamin zerlegt.

α, ε - Diaminocaprone Säure,



7.6 g des rohen *α*-Oximido-*δ*-cyanvaleriansäureesters, welche 10 g Cyanpropylmalonester entsprechen, werden in 600 ccm absolutem Alkohol gelöst und in die am Rückflusskühler siedende Flüssigkeit unter häufigem Umschütteln möglichst rasch 60 g Natrium in dünnen Scheiben eingetragen. Die Operation nimmt 1¹/₄—1¹/₂ Stunden in Anspruch. Jetzt ist es nöthig, der alkoholischen Lösung etwa 60 ccm Wasser zuzufügen und ³/₄ Stunden am Rückflusskühler zu kochen, um ester- und anhydrid-artige Producte zu verseifen. Die alkalische Lösung wird dann gut gekühlt und zur Entfernung des Natriums eine ebenfalls gekühlte Mischung von 80 ccm concentrirter Schwefelsäure und 120 ccm Wasser unter Umrühren zugetropft. Zum Schluss muss die Flüssigkeit stark sauer reagiren. Das Natriumsulfat wird abgesaugt, mit Alkohol nachgewaschen, dann die alkoholische Lösung unter vermindertem Druck auf etwa 250 ccm eingeengt und der Rest des Alkohols mit Wasserdampf abgeblasen. Zur Isolirung der Diaminosäure diente die successive Ueberführung in das Phosphorwolframat und Pikrat, welche Kossel und Kutscher¹⁾ für die Abscheidung des Lysins empfohlen haben. Zu dem Zweck wurde die wässrige Lösung mit soviel Schwefelsäure versetzt, dass der Gehalt an freier Säure 5 pCt. betrug, und eine concentrirte Lösung von 60 g Phosphorwolframsäure zugefügt. Der scharf abgesaugte, mit kaltem Wasser gewaschene Niederschlag wurde in der üblichen Weise mit Barytwasser zersetzt, die Barytlösung mit Wasserdampf behandelt, bis die flüchtigen Basen entfernt waren, in der Hitze mit Kohlensäure gefällt und das Filtrat auf dem Wasserbade verdampft. Dabei blieb ein

¹⁾ Zeitschr. f. physiol. Chem. 31, 177 [1900].

bräunlich gefärbter, stark alkalisch reagirender, dicker Syrup zurück, dessen Menge 4.6 g betrug.

Zur Umwandlung in das Pikrat wurde derselbe mit Alkohol übergossen, wobei er zu Klumpen zusammenballte, und eine starke alkoholische Lösung von Pikrinsäure unter sorgfältigem Umrühren solange zugefügt, als dadurch noch eine gelbliche Trübung der Flüssigkeit hervorgerufen wurde. Die hierbei entstehende, anfangs bräunlich gelbe, zähe Masse erstarrte beim längeren Durchkneten krystallinisch. Sie wurde zum Schluss filtrirt, mit Alkohol gewaschen und bei 100° getrocknet. Die Menge des Pikrats betrug 5.3 g oder 32 pCt. der Theorie. Durch Verarbeitung der Mutterlaugen konnten noch 3 pCt. gewonnen werden. Zur Analyse wurde das Pikrat zweimal aus heissem Wasser umkrystallisirt und bei 100° getrocknet.

0.1415 g Sbst.: 0.2011 g CO₂, 0.0595 g H₂O. — 0.1569 g Sbst.: 25.2 ccm N (19°, 757.5 mm).

C₁₂H₁₇O₉N₅. Ber. C 38.40, H 4.53, N 18.66.
Gef. » 38.77, » 4.71, » 18.51.

Das Salz krystallisirt aus heissem Wasser, worin es ziemlich leicht löslich ist, in hellgelben, mikroskopisch kleinen, kurzen und ziemlich dicken Nadeln; die Krystalle sind aber nicht so schön ausgebildet wie diejenigen des natürlichen Lysinpikrats. Dagegen verhalten sich beide Salze ganz gleich beim Erhitzen im Capillarrohr, denn sie färben sich gleichzeitig gegen 230° dunkel und zersetzen sich. Beide Präparate sind in absolutem Alkohol sehr schwer und in Benzol und Aether ganz unlöslich.

Zur Umwandlung des Pikrats in das Chlorhydrat wurde 1 g in 15 ccm heissem Wasser gelöst, mit 2.5 ccm rauchender Salzsäure versetzt, abgekühlt, von der Pikrinsäure abfiltrirt und die Flüssigkeit mehrmals mit Aether ausgeschüttelt. Durch Behandeln mit Thierkohle wurde dann die wässrige Lösung entfärbt und im Exsiccator zur Trockne verdunstet. Dabei blieb das Hydrochlorat als krystallinische Masse zurück, die von einer geringen Menge gelber Mutterlauge durch scharfes Abpressen befreit wurde. Das Salz war äusserst leicht löslich in Wasser. Im Capillarrohr erhitzt, wurde es gegen 182° weich und schmolz zwischen 183 und 186° (corr.). Ungefähr denselben Schmelzpunkt zeigten zwei Proben, die aus heissem Eisessig bezw. wenig heissem Alkohol umkrystallisirt waren. Für das active Lysinchlorhydrat wird von Henderson¹⁾ der Schmp. 192—193° angegeben.

Zum weiteren Vergleich des künstlichen und natürlichen Productes dienten die Benzoyl- und Phenylcyanat-Verbindung.

¹⁾ Zeitschr. für physiolog. Chem. 29, 321 [1900].

Inactives Dibenzoyllysin.

Das Derivat des natürlichen Lysins ist zuerst von Drechsel¹⁾ und dann von Clara Wildenow²⁾ nach der Schotten-Baumannschen Reaction dargestellt und unter dem Namen Lysursäure beschrieben worden. Wir haben die gleiche Verbindung aus der künstlichen inactiven Base auf folgende Weise bereitet. Zu salzsaurem inactivem Lysin wurden unter starker Kühlung allmählich Benzoylchlorid und Natronlauge unter starkem Schütteln zugegeben, sodass immer der Geruch des Chlorids verschwand. Für die Ausbeute ist es vortheilhaft, die Menge des Benzoylchlorids so gross zu wählen, dass sie etwa das Dreifache der Theorie beträgt. Zum Schluss wird angesäuert, der Niederschlag nach einiger Zeit abgesaugt, getrocknet und mehrmals mit hochsiedendem Ligroin ausgekocht, um die Benzoëssäure zu entfernen. Dabei bleibt die gesuchte Dibenzoylverbindung als graues Pulver zurück. Die Ausbeute betrug 80 pCt. der theoretischen. Zur Reinigung wurde das Product zuerst aus wenig heissem Aceton und dann für die Analyse noch zweimal aus warmem Alkohol umkrystallisirt.

0.1825 g Sbst.: 0.4512 g CO₂, 0.1031 g H₂O. — 0.2052 g Sbst.: 14.4 ccm N (18.5°, 767 mm).

C₂₀H₂₂O₄N₂. Ber. C 67.80, H 6.22, N 7.91.

Gef. » 67.51, » 6.32, » 8.19.

Die Verbindung krystallisirt in farblosen, schief abgeschnittenen Plättchen und schmilzt bei 145—146° (corr.), mithin nahezu bei derselben Temperatur, wie der active Körper (144°). Sie ist in Alkohol und Aceton recht leicht, in Wasser, Aether, Benzol und Chloroform schwer löslich.

Durch längeres Kochen mit Salzsäure wird sie in inactives Lysin zurückverwandelt. Als Zwischenproduct entsteht dabei das

inactive Monobenzoyllysin.

Für die Bereitung desselben werden 2 g der Dibenzoylverbindung mit 90 ccm Salzsäure (spec. Gewicht 1.1) 1½ Stunden am Rückflusskühler gekocht, und die salzsaure Lösung im Vacuum bei etwa 40° eingedampft. Versetzt man den Rückstand mit wenig Wasser, filtrirt von der ausgeschiedenen Benzoëssäure ab und fügt zu dem Filtrat vorsichtig Ammoniak bis zur neutralen Reaction, so krystallisirt, besonders beim Reiben, nach einiger Zeit die Monobenzoylverbindung in feinen farblosen Nadeln, während das gleichzeitig entstandene Lysin in der Mutterlauge bleibt. Die Ausbeute beträgt 40 pCt. der

¹⁾ Diese Berichte 28, 3189 [1895].

²⁾ Zeitschr. für physiolog. Chem. 25, 527 [1898].

theoretischen. Die Verbindung ist in heissem Wasser leicht löslich und lässt sich daraus bequem umkrystallisiren; sie ist schwer löslich in Alkohol, unlöslich in Aether, Aceton, Chloroform, Benzol, Ligroin. Für die Analyse diente ein mehrfach umkrystallisiertes und im Vacuum über Schwefelsäure getrocknetes Präparat.

0.1604 g Sbst.: 0.3671 g CO₂, 0.1048 g H₂O. — 0.1579 g Sbst.: 16.1 ccm N (20°, 762 mm).

C₁₃H₁₈N₂O₃. Ber. C 62.40, H 7.20, N 11.20.

Gef. » 62.40, » 7.31, » 11.74.

Das analysirte Präparat schmolz bei 235°, aber der Schmelzpunkt scheint zu schwanken, denn bei einem anderen Product fanden wir ihn bei 249°. Aehnliche Erfahrungen hat man bei dem Monobenzoylornithin gemacht¹⁾. Vielleicht beruht die Erscheinung darauf, dass die Präparate Gemische der beiden Isomeren sind, welche aus der Dibenzoylverbindung entstehen können. Das inactive Monobenzoyllysin reagirt neutral gegen Lakmus und hat noch basische Eigenschaften, denn es löst sich leicht in Mineralsäuren, wird aber aus der sauren Lösung zum Unterschied vom Lysin durch Phosphorwolframsäure nicht gefällt.

Phenylcyanatverbindung des inactiven Lysins.

Vor Kurzem hat R. O. Herzog²⁾ gezeigt, dass das natürliche Lysin in alkalischer Lösung 2 Mol. Phenylcyanat aufnimmt, und dass die so entstehende Ureidosäure beim Erhitzen mit Salzsäure 1 Mol. Wasser verliert. Ganz die gleichen Erscheinungen haben wir bei der synthetischen α, ϵ -Diaminocaprinsäure beobachtet.

1 g Pikrat wurde in der oben beschriebenen Weise in das Hydrochlorat übergeführt, dieses ohne weitere Reinigung in 5 ccm Wasser gelöst, mit 0.8 ccm Natronlauge von 30 pCt. versetzt und unter guter Kühlung und fortwährendem Schütteln allmählich mit 1 g Phenylcyanat behandelt. Nach 24-stündigem Stehen wurde die Flüssigkeit vom ausgeschiedenen Harz filtrirt und mit Schwefelsäure angesäuert. Der ausgeschiedene, flockige, farblose Niederschlag wurde filtrirt, gewaschen und mit 30-procentiger Salzsäure gekocht, bis er nach vorheriger Schmelzung in Lösung gegangen war. Das Erhitzen darf nicht zu lange, etwa $\frac{1}{4}$ Stunde, fortgesetzt werden, weil sonst secundäre Vorgänge stattfinden. Beim Abkühlen und Verdünnen mit Wasser fiel die neue Verbindung zunächst als harzige Masse aus, welche aber bald erstarrte. Nach dem Filtriren und Waschen mit Wasser wurde sie aus heissem Alkohol umkrystallisirt. Die so erhaltenen, farblosen, dünnen

¹⁾ Diese Berichte 11, 408 [1878]; 34, 463 [1901]; Zeitschr. für physiolog. Chem. 26, 6 [1898].

²⁾ Zeitschr. für physiolog. Chem. 34, 525 [1902].

Nadeln, welche häufig zu warzenförmigen Aggregaten vereinigt sind, begannen bei 182° (corr.) zu sintern und waren bei 185° (corr.) zu einer nahezu farblosen Flüssigkeit geschmolzen. Für die Analyse diente ein nochmals aus Alkohol umkrystallisirtes und bei 109° getrocknetes Präparat.

0.1431 g Sbst.: 0.3447 g CO₂, 0.0801 g H₂O. — 0.1202 g Sbst.: 15.2 ccm N (12°, 767 mm).

C₂₀H₂₂O₃N₄. Ber. C 65.60, H 6.02, N 15.30.
Gef. » 65.69, » 6.22, » 15.22.

Die Substanz ist in Wasser so gut wie unlöslich und auch in starker heisser Salzsäure ziemlich schwer löslich. Sie gleicht durchaus dem Phenylcyanatderivat des activen Lysins, nur im Schmelzpunkt zeigt sich wieder eine Differenz. Herzog giebt denselben für die natürliche Verbindung zu 183—184° (nicht corr.) an, während wir ihn etwas höher, bei 196° (corr.), fanden.

Schliesslich haben wir die gleiche Phenylcyanatverbindung aus einem natürlichen, aber zuvor racemisirten Lysin bereitet. Diese Racemisirung ist schon von M. Siegfried¹⁾ durch Erhitzen mit Barytwasser ausgeführt worden. Wir fanden es bequemer, sie in salzsaurer Lösung zu bewerkstelligen. Zu dem Zweck wurde natürliches, salzsaures Lysin, welches aus dem Pikrat hergestellt war, mit der zwanzigfachen Menge 20-procentiger Salzsäure im geschlossenen Rohr 15 Stunden im Volhard'schen Petroleumofen auf 165—170° erhitzt und die salzsaure Lösung, welche nur noch den zwanzigsten Theil des ursprünglichen Drehungsvermögens besass, verdampft. Nach dem Verdünnen mit Wasser wurde dann die Phenylcyanatverbindung in der gewöhnlichen Weise bereitet. Das Product zeigte in dem Habitus der Krystalle und im Schmelzpunkt völlige Uebereinstimmung mit dem synthetischen Material, und da auch beim Vermischen von zwei Vergleichsproben keine Schmelzpunktserniedrigung eintrat, so halten wir uns für berechtigt, die beiden Substanzen für identisch zu erklären.

Zum Schluss sagen wir den HHrn. A. Kossel und M. Siegfried für die Ueberlassung von natürlichem Lysin, welches zu den obigen Proben diente, unseren besten Dank.

¹⁾ Diese Berichte 24, 431 [1891].