

249. R. Engeland: Zur Kenntnis des Carnitins.

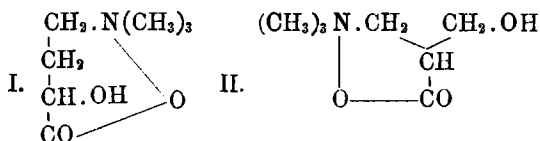
(Eingegangen am 25. Juli 1921.)

Vor längerer Zeit haben E. Fischer und A. Göddertz¹⁾ in diesen Berichten über die Synthese eines Oxy-butyrobetains berichtet, dem sie nach der Entstehungsweise die Struktur der Formel I. zuschreiben.

Nach den Beobachtungen, die von E. Berlin bei der Bildung des α -Amino-propylalkohols (neben β -Amino-propylalkohol) aus β -Brom-propyl-phthalimid gemacht wurden²⁾, könnte jedoch auch an eine andere Konstitution gedacht werden als Resultat einer Umlagerung bei der Aufspaltung der γ -Phthalimido- α -oxy-buttersäure.

Die beiden Autoren halten diese Substanz nach meinen diesbezüglichen Mitteilungen³⁾ für identisch mit dem Carnitin, welches bekanntlich einen wesentlichen Bestandteil der basischen Extraktivstoffe des Säugetier-Muskels ausmacht⁴⁾. Durch das Verhalten des Carnitins bei der Oxydation schien in der Tat eine andere Konstitution nicht gut möglich zu sein.

In der Folgezeit habe ich nun eine Reaktion des Carnitins beobachtet, die mit der von mir angenommenen Konstitution nicht mehr gut in Einklang zu bringen war. Das Carnitin spaltet nämlich leicht ein Molekül Wasser ab und geht in eine ungesättigte Verbin-



dung über, die ich vorläufig als Apo-carnitin bezeichnen möchte, was entschieden gegen α -Stellung des Hydroxyls spricht. Ich konnte diese Substanz am einfachsten durch Erhitzen des Carnitins mit konz. H_2SO_4 auf ca. 130° erhalten. Sie bildet sich auch mit sehr guter Ausbeute beim Erhitzen des Carnitins mit konz. Jodwasserstoffsäure und rotem Phosphor auf höhere Temperatur; ja selbst durch Kochen des Carnitins mit konz. Jodwasserstoffsäure und rotem Phosphor im offenen Gefäß ist sie mit guter Ausbeute zu erhalten. Diese Substanz hat zweifellos schon Krimberg⁵⁾ in den Händen gehabt, der sie irrtümlicherweise für γ -Butyrobetain hielt.

¹⁾ B. 43, 3279 [1910]. ²⁾ Z. B. 57, 33 ff. ³⁾ B. 42, 2457 ff. [1909].

⁴⁾ In einer gemeinsamen, mit W. Biehler ausgeführten Untersuchung, über die an anderer Stelle berichtet wird, konnte ich diese Substanz auch unter den Extraktivstoffen der menschlichen Skelettmuskulatur ermitteln neben Carnosin, Myokynin, Neosin und einer neuen Substanz.

⁵⁾ H. 53, 514.

Beim Behandeln mit konz. H_2SO_4 bei niederer (90—100°) Temperatur spaltet das Carnitin nur halb soviel Wasser ab und liefert eine Substanz, die wohl als ein Äther des Carnitins anzusprechen ist.

Es lag nun nahe, unter Heranziehung dieser Reaktion des Carnitins einen Vergleich mit dem Präparate von Fischer und Göddertz vorzunehmen, zumal der von diesen Autoren angekündigte Vergleich der Chloraurate der beiden Substanzen auch noch ausstand. Dieser Vergleich hat nun mit Sicherheit ergeben, daß die beiden Substanzen nicht identisch sind. Denn die Differenz im Schmelzpunkt der Chloraurate beträgt über 15°, und wenn auch diese Differenz auf die sterische Verschiedenheit zurückgeführt werden wollte — das Chloraurat eines inaktiven Carnitins, das mir seinerzeit von Hrn. Prof. Kutscher zur Verfügung gestellt worden war, zeigte allerdings keine Abweichung im Schmelzpunkt gegenüber der optisch-aktiven Substanz —, so verhielten sich beide Substanzen gegen konz. H_2SO_4 und konz. HJ völlig verschieden. Durch Erhitzen dieses synthetischen Oxybutyrobetains mit konz. H_2SO_4 erleidet dasselbe keinerlei Veränderung, während durch Erhitzen mit konz. HJ und rotem Phosphor im Rohr eine Reduktion eintritt unter Bildung einer Substanz, deren Chloraurat völlig identischen Schmelzpunkt zeigte mit dem eines synthetischen Vergleichspräparates von γ -Butyrobetain.

Was nun die Deutung der früheren Beobachtungen, namentlich des Ergebnisses der Oxydation, anbelangt, so ist hier namentlich eine Tatsache in Betracht zu ziehen, die mir seinerzeit noch nicht bekannt war, nämlich die Unbeständigkeit der positiv substituierten Malonsäuren, die schon beim Erhitzen der wäßrigen Lösung ein Molekül CO_2 abspalten¹⁾.

Es gewinnt also für die Konstitution des Carnitins die Formel II sehr an Wahrscheinlichkeit. Denn diese Substanz müßte als β -Oxysäure leicht Wasser abspalten unter Bildung einer Doppelbindung, und sie müßte bei der Oxydation eine »[Trimethylamino-methyl]-malonsäure« liefern, die unter CO_2 -Abspaltung β -Homobetain liefern könnte.

Es lag nahe, durch katalytische Hydrierung des Apocarnitins das zugrunde liegende gesättigte Betain herzustellen, um durch Vergleich desselben mit den möglichen, synthetisch gewonnenen Butyrobetainen dessen Struktur und damit die des Carnitins festzustellen. Leider verläuft aber die Hydrierung nicht glatt und nur ein-

¹⁾ Ich gedenke, in einer besonderen Mitteilung hierüber ausführlicher zu berichten.

mal unter vier Versuchen erhielt ich ein nach Eigenschaften und Zusammensetzung als Butyrobetain anzusprechendes Produkt. Im Schmelzpunkt seines Chloraurates zeigte diese Substanz die meiste Übereinstimmung mit dem γ -Butyrobetain. Es schmolz nämlich nur ca. 3° niedriger als das Chloraurat dieses Körpers und eine Mischprobe zeigte keine Depression. Da aber zum Vergleich noch ein Butyrobetain fehlt, nämlich das β -*n*-Butyrobetain, dessen Synthese mir bis jetzt nicht geglückt ist, so können aus dieser Beobachtung noch keine bindenden Schlüsse gezogen werden. Sicher nicht identisch ist diese Substanz, welche als Desoxy-carnitin zu bezeichnen wäre, mit α -*i*- und α -*n*-Butyrobetain, deren Chloraurate weit über 200° schmelzen, und ebenso wenig mit dem β -*i*-Butyrobetain, dessen Chloraurat scharf bei 154—155° schmilzt. Letztere Substanz ist zufolge der von Mannich und Kather kürzlich angegebenen Synthese der Dimethylamino-dimethyl-malonsäure¹⁾ jetzt leicht zugänglich geworden. Die Dimethylamino-dimethyl-malonsäure spaltet nämlich sehr leicht in wäßriger Lösung 1 Mol. CO₂ ab und liefert β -Dimethylamino-isobuttersäure, die mit Jodmethyl das Betain liefert²⁾.

Zur Beseitigung der noch bestehenden Unsicherheit der Konstitution des Carnitins scheint mir der nächstliegende Weg jetzt gegeben in der Synthese möglichst aller nach Maßgabe der bis jetzt bekannten Reaktionen des Carnitins in Betracht kommenden Oxy-butyrobetaine, um dessen Struktur entweder durch Identifikation oder auch per exclusionem festzulegen. Da ich in dieser Absicht schon eine Reihe mühsamer und kostspieliger Vorversuche unternommen habe, so bitte ich, mir die weitere Durchführung dieser Untersuchung zu überlassen, zumal ich ohne jede öffentliche Unterstützung arbeiten muß.

Experimentelle Belege.

Zur Darstellung des Apo-carnitins wurde das im Vakuum getrocknete (sirupöse) Carnitinchlorid zunächst auf dem Wasserbade mit der 30—40-fachen Menge konz. Schwefelsäure erhitzt, bis kein Chlorwasserstoff mehr entwich. Dann wurde die Flüssigkeit in einem weiten Reagensglas ca. 1 Stde. im Ölbade auf 128—130° erhitzt. Nach dem Abkühlen wurde durch Eintragen von Eisstückchen auf das 4—5-fache Volumen verdünnt und mittels Bariumcarbonats die Schwefelsäure entfernt. Die vom Bariumsulfat und überschüssigem Bariumcarbonat getrennte Flüssigkeit wurde auf dem Wasserbade stark eingeengt, wobei sich noch etwas Bariumcarbonat abschied.

¹⁾ B. 53, 1369 [1920].

²⁾ Ich behalte mir vor, dieses Betain in anderm Zusammenhang näher zu beschreiben.

Die hiervon abfiltrierte Flüssigkeit wurde mit Salzsäure stark angesäuert, auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen gebracht und mit 30-proz. Goldchlorid-Lösung ausgefällt. Der Niederschlag wurde aus heißer, verdünnter Salzsäure umkrystallisiert. Das Chloraurat des Apo-carnitins war immer sofort völlig rein. Es bildet hellgelbe, glänzende Blättchen und sintert bei langsamem Erhitzen bei etwa 180°, bei 190—195° schmilzt es unter Blasenwerfen zusammen. Die Ausbeute betrug 80—90 %.

9.450 mg Sbst.: 3.855 mg Au. — 10.020 mg Sbst.: 6.447 mg CO₂, 2.634 mg H₂O, 4.079 mg Au¹⁾.

C₇H₁₄NO₂.AuCl₄. Ber. C 17.39, H 2.92, Au 40.81.

Gef. » 17.55, » 2.94, » 40.79, 40.71.

In einem Falle wurde nur auf dem Wasserbade erwärmt und dann in der geschilderten Weise weiter verarbeitet. Das hierbei gewonnene Produkt lieferte, wie schon bemerkt, Analysenwerte, die gut zu einem Carnitinäther stimmen.

10.431 mg Sbst.: 4.173 mg Au. — 11.758 mg Sbst.: 7.701 mg CO₂, 3.406 mg H₂O¹⁾ und 4.736 mg Au. — 11.440 mg Sbst.: 4.598 mg Au.

C₁₄H₃₀N₂O₅.2 AuCl₄. Ber. C 17.07, H 3.07, Au 40.07.

Gef. » 17.87, » 3.26, » 40.00, 40.20, 40.19.

Der Schmelzpunkt des Chloraurates ist ganz unscharf und liegt zwischen 175° und 182°.

Zur Gewinnung des Apo-carnitins mittels Jodwasserstoffsäure wurden ca. 0.15 g Carnitinchlorid mit etwa dem gleichen Gewicht roten Phosphors und ca. 4 ccm Jodwasserstoffsäure vom spez. Gew. 1.96 6 Stdn. im Einschlußrohr im Schiefelofen auf 150—160° erhitzt; das wasserklare Reaktionsprodukt wurde, ohne zu filtrieren, auf dem Wasserbade fast zur Trockne abgedampft, mit wenig Wasser aufgenommen und mit frisch gefälltem Chlorsilber bis zum Verschwinden der Jodreaktion digeriert. Vom Jod- und Chlorsilber wurde abgesaugt, auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen gebracht und wieder, wie oben geschildert, das Chloraurat hergestellt.

6.952 mg Sbst.: 2.841 mg Au.

C₇H₁₄NO₂.AuCl₄. Ber. Au 40.81. Gef. Au 40.89.

Das Chlorid des Apo-carnitins krystallisiert in langen Nadeln, die an der Luft zerfließen und in absol. Alkohol nicht allzu leicht löslich sind. Seine Lösung ist optisch völlig inaktiv. Sie entfärbt Kaliumpermanganat sowohl in saurer, wie in alkalischer Lösung momentan, bei niedriger Temperatur (3—4°) erfolgt die Entfärbung sehr zögernd. Brom wird nicht addiert.

¹⁾ Die beiden Mikro-C-H-Bestimmungen verdanke ich Hrn. Dipl.-Ing. F. Reindel in München.

Zur katalytischen Hydrierung wurde das Chlorid im Vakuum über P_2O_5 und festem KOH getrocknet, in einigen cem Wasser gelöst und mit etwa dem halben Gewicht frisch hergestelltem Palladiumschwarz unter geringem Überdruck ($1/30$ — $1/20$ Atm.) mehrere Stunden heftig mit Wasserstoff geschüttelt. Die Absorption des Wasserstoffs erfolgte zunächst sehr schnell, wurde aber bald viel langsamer. Als sie nur noch kaum merklich fortschritt, wurde die Operation unterbrochen. Die Flüssigkeit zeigte immer einen sehr intensiven Geruch nach Buttersäure, woraus geschlossen werden muß, daß durch eine Nebenreaktion Trimethylamin abgespalten wird. Es war der Wasserstoff-Verbrauch auch immer viel größer als der theoretisch verlangte, und es ließ sich aus den Reaktionsprodukten ein Chloraurat mit hohem Goldwert isolieren, das wohl als Trimethylaminaurat anzusprechen ist. Die Flüssigkeit wurde vom Palladiumschwarz abfiltriert, im Vakuum eingengt, mit Salzsäure angesäuert und in der geschilderten Weise mit Goldchlorid das Chloraurat hergestellt, welches wiederholt aus verd. Salzsäure umkrystallisiert wurde. Es bildet charakteristische, feine Nadeln von mattem Aussehen. Von allen mir zum Vergleich vorliegenden Auraten von Butyrobetainen zeigte nur das des γ -Butyrobetains gelegentlich ein ähnliches Aussehen, meist erhielt ich dessen Aurat allerdings in glänzenden Blättchen. Es schmolz bei 172 — 173° . Eine Mischprobe mit γ -Butyrobetainaurat zeigte keine Depression.

16.836 mg Stbst.: 6.863 mg Au.

$C_7H_{16}NO_2 \cdot AuCl_4$. Ber. Au 40.64. Gef. Au 40.76.

Das Chlorid ist luftbeständig und in absol. Alkohol schwer löslich. Durch Behandeln mit Methylsulfat und methylalkoholischer Kalilauge erleidet die Substanz keine Veränderung.

Das zum Vergleich mit dem Carnitin herangezogene Präparat von Fischer und Göddertz stellte ich nach der von den beiden Autoren gegebenen Vorschrift her. Doch habe ich bei einer neuerlichen Verarbeitung mich davon überzeugt, daß die verlustreiche Abscheidung der Oxy-aminosäure nicht erst nötig ist. Es genügt, nach der Spaltung der Phthalimido-oxy-buttersäure die von der Phthalsäure befreite Lösung der Oxy-amino-säure einzudampfen, den Rückstand mit methylalkoholischer Kalilauge aufzunehmen und mit Methyljodid zu methylieren. Wie die Untersuchung der anfallenden Mutterlaugen ergeben hat, treten bei der Spaltung der reinen Phthalimidosäure keine merklichen Mengen stickstoff-haltiger Verunreinigungen auf. Das Chlorid wurde zuerst mit konz. alkoholischer Quecksilberchlorid-Lösung als schwerlösliches Quecksilberchlorid-Doppelsalz abgeschieden, aus dem es nach Ausfällen des Quecksilbers aus der

heißen, salzsauren Lösung mittels H_2S durch Eindampfen auf dem Wasserbade krystallisiert erhalten wurde. Es krystallisiert, wie bemerkt, im Gegensatz zum Carnitinchlorid sehr leicht schon beim Einengen der Lösung auf dem Wasserbade.

Das Chloraurat bildet hellgelb gefärbte Blättchen, während das des Carnitins in rötlich-gelben Prismen krystallisiert. Mit einem sorgfältigst gereinigten Carnitin-aurat wurde es im Schmelzpunktapparat verglichen und zeigte folgendes Verhalten:

Es erweicht bei $160-161^\circ$ und schmilzt je nach der Schnelligkeit des Erhitzens zwischen 166° und 171° zusammen, Fischer und Göddertz finden den Moment des Zusammenschmelzens noch einige Grade höher; das von mir benutzte Präparat war 4-mal umkrystallisiert. Bei 205° zersetzt es sich unter Dunkelfärbung und lebhaftem Aufschäumen, nachdem es schon mehrere Grade vorher Blasen geworfen hat. Das Carnitin-aurat erweichte bei ca. 145° und schmolz zwischen 150° und 151° zu einer klaren Flüssigkeit. Dagegen war es bei dem Zersetzungspunkt des Vergleichspräparates noch klar und unverändert.

Das aus analysenreinem Chloraurat gewonnene Chlorid wurde ganz so, wie oben bei dem Carnitin beschrieben wurde, mit konz. H_2SO_4 1 Stde. auf 130° erhitzt und die schwach braun gefärbte Flüssigkeit in der geschilderten Weise weiter verarbeitet. Es ließ sich daraus nur unverändertes Oxy-butYRObetain wiedergewinnen.

7.305 mg Sbst.: 2.876 mg Au. — 13.664 mg Sbst. (umkryst.): 5.380 mg Au.

$C_7H_{16}NO_2 \cdot AuCl_4$. Ber. Au 39.35. Gef. Au 39.37, 39.37.

Der Schmelzpunkt war der des Ausgangsmaterials.

Ebenso, wie oben beschrieben, wurde das Chlorid mit Jodwasserstoffsäure und rotem Phosphor im Einschlußrohr erhitzt, und zwar 5 Stdn. auf $150-160^\circ$ (Ölbad). Die resultierende wasserklare Flüssigkeit wurde wie bei dem entsprechenden Versuch mit Carnitin verarbeitet. Das gewonnene Chloraurat zeigte sich schon durch die geringere Löslichkeit als verschieden vom Ausgangsmaterial und lieferte den Goldwert des γ -ButYRObetains.

6.459 mg Sbst.: 2.624 mg Au. — 9.601 mg Sbst.: 3.906 mg Au.

$C_7H_{16}NO_2 \cdot AuCl_4$. Ber. Au 40.64. Gef. Au 40.62, 40.68.

Das Aurat schmolz genau gleichzeitig mit einem Vergleichspräparat von γ -ButYRObetain-aurat; eine Mischprobe zeigte keine Depression.