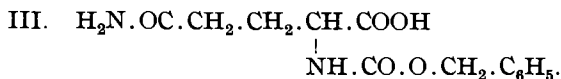
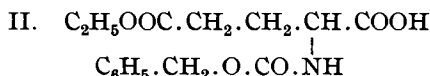
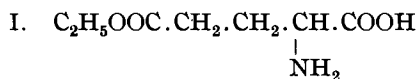


437. H. Nienburg: Eine zweite Synthese des *d*-Glutamins.

[Aus d. Biolog. Laborat. Oppau d. I.-G. Farbenindustrie A.-G., Werk Ludwigshafen a. Rh.]  
(Eingegangen am 25. Oktober 1935.)

Das natürliche Glutamin ist zuerst durch eine Arbeit von M. Bergmann, L. Zervas und L. Salzmann<sup>1)</sup> synthetisch zugänglich geworden. Diese Autoren gingen vom *N*-Carbobenzoxy-*d*-glutaminsäure-anhydrid<sup>2)</sup> aus, das beim Erwärmen mit Benzylalkohol vorzugsweise den  $\alpha$ -Benzylester lieferte. Mit Phosphorpentachlorid bereiteten sie daraus das Ester-chlorid und verwandelten es mit Ammoniak in das Ester-amid. Dieses konnte katalytisch zum *d*-Glutamin durchhydriert werden. Der Carbobenzoxy-*d*-glutaminsäure- $\alpha$ -benzylester und das zugehörige Ester-chlorid konnten dabei bisher nur ölig erhalten werden.

In der vorliegenden Arbeit benützen wir den von E. Abderhalden und H. Nienburg<sup>3)</sup> beschriebenen Carbobenzoxy-*d*-glutaminsäure-mono-äthylester als Ausgangsmaterial, dem jedoch nicht die Konstitution eines  $\alpha$ -Esters, sondern wie M. Bergmann und L. Zervas<sup>4)</sup> zeigten, die eines  $\gamma$ -Esters zukommt. Dieser maskierte  $\gamma$ -Ester der *d*-Glutaminsäure setzt sich mit flüssigem Ammoniak bei 15–20° sehr leicht zum gut krystallisierenden *N*-Carbobenzoxy-*d*-glutamin um, aus dem man durch katalytische Hydrierung in quantitativer Ausbeute das natürliche Glutamin erhält.



Die *d*-Glutaminsäure kann somit in 3 wohl definierten Stufen — *d*-Glutaminsäure- $\gamma$ -äthylester (I), *N*-Carbobenzoxy-*d*-glutaminsäure- $\gamma$ -äthylester (II) und *N*-Carbobenzoxy-*d*-glutamin (III) — leicht in ihr  $\gamma$ -Amid übergeführt werden. Die Einführung des Benzylester-kohlensäure-Restes in die Aminogruppe der *d*-Glutaminsäure wird deshalb notwendig, weil bei direkter Umsetzung des *d*-Glutaminsäure- $\gamma$ -äthylesters mit Ammoniak Ringschluß zur Pyrrolidon-carbonsäure<sup>4)</sup> erfolgt. Statt auf katalytischem Wege kann man auch neuerdings nach Harington und Mead<sup>5)</sup> den Carbobenzoxyrest durch Reduktion mit Phosphorjodid ablösen, was sich bei der schönen Glutathion-Synthese dieser Autoren als notwendig erwies. Für nicht schwefel-haltige Verbindungen bedeutet dieses Verfahren aber einen erheblichen Verzicht auf Ausbeute, denn gegenüber der nahezu quantitativ arbeitenden katalytischen Methode erhält man bei der Reduktion mit Jodphosphor im Fall des Glutamins nur 35% d. Th. (l. c.).

<sup>1)</sup> B. **66**, 1288 [1933].

<sup>2)</sup> B. **65**, 1196 [1932].

<sup>3)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **219**, 157 [1933].

<sup>4)</sup> Ztschr. physiol. Chem. **221**, 51 [1933].

<sup>5)</sup> Harington u. Mead, Biochem. Journ. **29**, 1602 [1935].

### Beschreibung der Versuche.

Zur Darstellung des *d*-Glutaminsäure- $\gamma$ -äthylesters ist noch folgendes zu bemerken: Es ist dabei, wie M. Bergmann und Zervas<sup>4)</sup> angeben, zweckmäßig, über das krystalline Ester-Hydrochlorid zu gehen; jedoch fanden wir die hierfür gegebene Arbeitsweise nicht sonderlich vorteilhaft, weil beim Schütteln auch feinst gepulverter *d*-Glutaminsäure mit salzsäurehaltigem Alkohol keine vollständige Lösung erfolgte. Uns hat sich vielmehr folgendes Verfahren bewährt: 10 g feinst gepulverte und gesiebte *d*-Glutaminsäure wurden in 70 ccm Alkohol in einem 500-ccm-Fraktionierkolben suspendiert und sofort ein kräftiger HCl-Strom eingeleitet. In 1 Min. geht unter Selbsterwärmung, die man nur wenig mäßigt, alles klar in Lösung; man unterbricht jetzt sofort und dunstet den Alkohol im Vak. bei 30° ab, wobei man in die Capillare trockne Luft einleitet. Es hinterbleibt ein farbloser Krystallkuchen des Ester-Hydrochlorids, der in möglichst wenig Alkohol aufgenommen und im gleichen Kolben unter Schütteln und Eis-Kühlung mit trockenem Äther sofort krystallin in einer Ausbeute von mindestens 85 % ausgefällt wird. Daraus läßt sich, wie M. Bergmann und Zervas angeben, in methyllalkohol. Lösung mit der berechneten Menge Ammoniak der freie Ester sofort rein in 95-proz. Ausbeute ausfällen.

*N*-Carbobenzoxy-*d*-glutamin: 1 g *N*-Carbobenzoxy-*d*-glutaminsäure- $\gamma$ -äthylester wird mit etwa 3 ccm flüssigem Ammoniak bei 15—20° im Einschlußrohr 24 Std. stehen gelassen. Der Ester löst sich dabei im Ammoniak. Nach dem Absieden des letzteren wird in Alkohol mit etwas Wasser gelöst und mehrfach unter wiederholtem Aufnehmen in Alkohol und etwas Wasser im Vakuum zur Trockne gebracht. Es hinterbleibt ein farbloser, fester Rückstand, der aber noch etwas überschüssiges Ammoniak, als Ammoniumsalz gebunden, enthält. Hiervon kann — für die Hydrierung ist dies nicht notwendig — im Hochvakuum bei 100° über Phosphorpentoxyd befreit und aus Alkohol-Benzin oder aus Wasser umkrystallisiert werden, oder man reinigt über das Bleisalz. Zu diesem Zwecke werden 0.8 g noch ammoniakhaltiges *N*-Carbobenzoxy-*d*-glutamin in einigen ccm heißem Wasser gelöst und mit einer heißen, essigsäuren Lösung von 1.5 g Bleiacetat versetzt. Das Bleisalz fällt sofort als farbloser, körniger, voluminöser Niederschlag aus, wird abgesaugt und im Vakuum getrocknet. Ausbeute quantitativ. Das Bleisalz wird in heißer, wäßriger Suspension mit Schwefelwasserstoff zerlegt. Die Menge des abgesaugten Bleisulfids entspricht 1 Atom Blei auf 2 Mole Carbobenzoxy-*d*-glutamin. Das Filtrat hinterläßt, im Vakuum zur Trockne gebracht, eine faserige Krystallmasse, die aus Alkohol-Benzin oder aus Wasser leicht unlösbar ist. Zu Drusen vereinigte, feine Nadeln, Schmp. 135—136°, leicht löslich in Alkohol, mäßig in Wasser, unlöslich in Äther und Benzin. Nessler-Reaktion negativ, erst nach Kochen mit Alkali positiv. M. Bergmann<sup>2)</sup> gewann dieselbe Verbindung (Schmp. 137°, korr.) aus natürlichem Glutamin durch Umsatz mit Chlor-kohlensäure-benzylester.

$[\alpha]_D = -0.10^\circ \times 100 / 1 \times 1.911 = -5.2^\circ$  (Alkohol).

5.62, 6.40 mg Sbst.: 0.4773, 0.5459 ccm N (23°, 756 mm).

$C_{13}H_{16}O_6N_2$  (280.13). Ber. N 10.00. Gef. N 9.74, 9.79.

*d*-Glutamin: 1 g *N*-Carbobenzoxy-*d*-glutamin — die Befreiung vom überschüssigen Ammoniak ist für die Hydrierung nicht notwendig, vielmehr genügt ein Ansäuern der ammoniakalischen Lösung mit Essigsäure — wurde

in 20 ccm Wasser gelöst und nach Zugabe von 5 ccm Alkohol, 0.5 ccm Eisessig und etwas Palladium (Tausz und v. Putnoký<sup>6)</sup>) in offener Apparatur bis zum Ausbleiben der CO<sub>2</sub>-Entwicklung hydriert (25 Min.). Das Filtrat hinterließ, im Vakuum bei 30° zur Trockne gebracht, farblose Prismen, die aus Wasser-Alkohol umkrystallisiert wurden. Ausbeute fast quantitativ. Schmp. 184—185°.

$$[\alpha]_D = +0.22^\circ \times 100 / 1 \times 2.645 = +8.3^\circ \text{ (Wasser).}$$

$$\text{C}_3\text{H}_{10}\text{O}_3\text{N}_2 \text{ (146.1). Ber. N 19.18. Gef. N 19.22.}$$

### 438. Hermann Leuchs und Alfred Dornow: Über die Umlagerung des Dihydro-brucins in drei Isomere und über die Darstellung des *iso*-Dihydro-strychnins (Über Strychnos-Alkaloide, LXXXVIII. Mitteil.).

[Aus d. Chem. Institut d. Universität Berlin.]

(Eingegangen am 1. November 1935.)

Bei der Bildung der von uns aufgefundenen *iso*-Benzal-Derivate des Dihydro-strychnins und -brucins<sup>1)</sup> scheint sich — bei analogen Bedingungen — eine ähnliche Reaktion mit abzuspielen, wie bei der Umwandlung des Strychnins bzw. Dihydro-strychnins in die sog. *iso*-Verbindungen<sup>2)</sup>. Dies hat uns veranlaßt, die Einwirkung von Natriumalkylat auf das Dihydro-strychnin und -brucin näher zu untersuchen.

Für das zweite Alkaloid liegen 2 Arbeiten von H. Wieland und Mitarbeitern<sup>3)</sup> vor. Diese Autoren erhielten durch Eindampfen der Base mit Natriummethylat-Lösung bis zu 70% eines Stoffes, der ein gut krystallisiertes Sulfat bildete und der Formel eines Dihydro-brucin-Hydrats entsprach. Da er sich nicht wie eine Brucinsäure mit geöffneter Lactam-Gruppe: NH HO<sub>2</sub>C. verhielt, vermuteten die Darsteller, daß festgebundenes Krystallwasser vorhanden sei, wie Dihydro-brucin-Derivate häufig Wasser oder andere Lösungsmittel hartnäckig zurückhalten.

Davon abgesehen, könnte auch der Übergang C—O—C in C(OH)(HO)C erfolgt sein<sup>3a)</sup>. Jedoch vermochten wir diese erste Annahme zu bestätigen, einfach durch die Analyse des Sulfats, die auf die Formel ohne Wasser stimmte, ebenso wie die des Jodmethylats<sup>4)</sup>. Es liegt also in der Tat ein *iso*-Dihydro-brucin vor, das wir als I bezeichnen. Daß es in die Klasse des *iso*-Strychnins gehört, zeigte der Versuch der Acetylierung. Es lieferte ein Mono-*O*-acetyl-Derivat, das, als krystallisiertes Perchlorat abgeschieden, sich ebenfalls von der wasser-freien Formel ableitet.

<sup>6)</sup> B. 52, 1573 [1919].

<sup>1)</sup> H. Leuchs u. H. Beyer, B. 67, 108 [1934], 68, 1204 [1935].

<sup>2)</sup> Journ. chem. Soc. London 1927, 2396.

<sup>3)</sup> A. 482, 54 [1930], 494, 195 [1932].

<sup>3a)</sup> Anmerkung bei der Korrektur: Diese ganze Erörterung wird hinfällig, weil Wieland und Gumlich die Hydrat-Formel auf Grund von 4 offenbar falschen C-Bestimmungen aufgestellt haben. Unsere nachträglich ausgeführten Analysen der *iso*-Base I ergaben eindeutig die Formel C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub> ohne Wasser.

<sup>4)</sup> A. 482, 55 [1930] finden sich Analysen des Jodids, nach denen das Hydrat vorliegen würde.