

2.635 mg Sbst.: 5.285 mg CO₂, 2.38 mg H₂O. — 3.157 mg Sbst.: 0.297 ccm N₂ (27°, 749 mm). — 3.000 mg Sbst.: 2.31 ccm *n*₁₀₀-NaOH (in Alkohol).

C₆H₁₃O₂N (131.1). Ber. C 54.92, H 9.99, N 10.68, Äquiv.-Gew. 131.

Gef. „ 54.70, „ 10.10, „ 10.55, „ 130.

$[\alpha]_D^{20}$: (+0.38° × 100): (4.93 × 0.5) = +15.4° (20-proz. Salzsäure).

Zum Vergleich wurde *l*-Leucin polarisiert:

$[\alpha]_D^{20}$: (+0.24° × 100): (3.05 × 0.5) = +15.7° (20-proz. Salzsäure).

d) Nachweis des β-Alanins: Die vereinigten Mutterlaugen der *l*-Leucin-Krystallisation wurden im Vak. zur Trockne gebracht. Es wurden 1.6 g fester Substanz (LM) erhalten, die im Hefe-Test (Rasse M) im Vergleich mit reinem β-Alanin auf ihren Gehalt an dieser Aminosäure geprüft wurde.

	0.1	0.2	0.4	0.8	1.6 ccm zugesetzt	
β-Alanin (2.5 γ/ccm)	83	452	539	655	635	} Trübungswerte im Langeschen Photometer
LM (62.5 γ/ccm)	—	338	515	615	665	

Die optimalen Trübungswerte liegen in beiden Ansätzen bei 0.8 ccm zugesetzter Lösung. Daher sind in 62.5 γ LM 2.5 γ β-Alanin, d. h. etwa 5% vorhanden, im ganzen also etwa 70—80 mg β-Alanin aus 180—200 mg Pantotheinsäure. Daraus berechnet sich für das hydrolysierte Präparat ein Gehalt von 4—5% an Pantotheinsäure. Dies stimmt mit der Zahl an Sbm E/g (2500000) überein, die $\frac{1}{20}$ des Wertes für reine Pantotheinsäure (~50000000) beträgt.

Hrn. Dr. E. F. Möller haben wir für die Ausführung sämtlicher Bestimmungen an *Sbm. plantarum* und an *Hefe M* aufrichtig zu danken, dem Werk Elberfeld der I. G. Farbenindustrie A.-G. und Fr. L. Wirth für wertvolle Unterstützung beim präparativen Teil der Arbeit.

155. Richard Kuhn und Theodor Wieland: Krystallisiertes Chininsalz der Pantotheinsäure; Synthese und Spaltung des Racemates in die Antipoden.

[Aus d. Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizin. Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie.]
(Eingegangen am 7. August 1940.)

Zur Reinigung der Pantotheinsäure sind bereits Alkaloidsalze herangezogen worden, insbesondere das Brucinsalz von R. J. Williams und Mitarbeitern¹⁾. Diese Salze sind ebenso wie die freie Säure, ihre Alkali-, Erdalkali-Salze und Ester amorph geblieben. Wie wir gefunden haben, zeichnet sich das Chininsalz durch Krystallisationsvermögen aus. Es scheidet sich aus Aceton-Methanol in schönen, farblosen Nadeln ab, deren Schmelzpunkt bei 167—168° liegt. $[\alpha]_D^{24}$: —115° (Wasser).

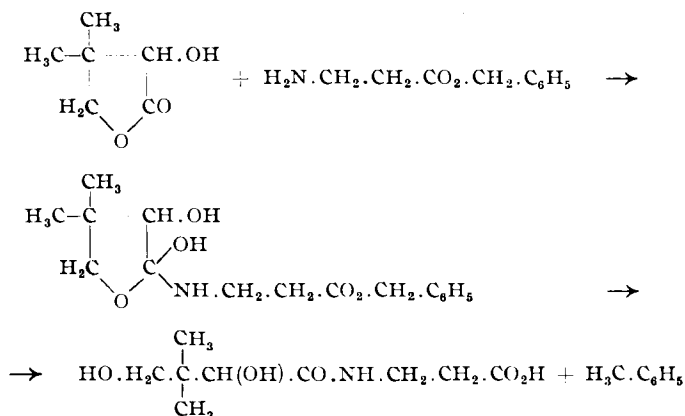
Das Chininsalz ist auch zur Spaltung von synthetischer *d, l*-Pantotheinsäure in die optischen Antipoden sehr geeignet. Die natürliche, linksdrehende Pantotheinsäure liefert ein schwer lösliches Chininsalz, die rechtsdrehende Säure ein in Aceton-Methanol erheblich leichter lösliches. Für die aus dem schwer löslichen Chininsalz in Freiheit gesetzte (—)-Pantotheinsäure ergab sich $[\alpha]_D^{24}$: —27° (Wasser), $[\alpha]_D^{24}$: —56° (Methanol). Ihre biologische Wirksamkeit im *Streptobacterium*-Test beträgt 4500000 bis

¹⁾ R. J. Williams, J. H. Truesdail, H. H. Weinstock jr., F. Rohrmann, C. M. Lyman u. Ch. H. McBurney, Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2719 [1938].

50000000 Sbm E/g²). Im Wachstumsversuch an filtratfaktor-frei ernährten gewichtskonstanten Ratten wird eine Gewichtszunahme von 10—12 g/Woche durch ~ 15 γ/Tag bewirkt³). Nach Y. Subbarow und G. H. Hitchings⁴) soll etwa 1 mg Calciumsalz⁵) je Tag und Ratte erforderlich sein.

Die aus dem leicht löslichen Chininsalz erhaltene (+)-Pantothensäure ist im *Streptobacterium*-Test mindestens 30-mal weniger wirksam als ihr Spiegelbild.

Die zur Spaltung in die Antipoden verwandte *d,l*-Pantothensäure haben wir durch Kondensation von α.γ-Dioxy-β.β-dimethyl-buttersäurelacton mit β-Alanin-benzylester und anschließende katalytische Hydrierung gewonnen. Vor der Darstellung der Chininsalze wurde die *d,l*-Pantothensäure durch Chromatographie des Natriumsalzes an „saurem“ Aluminiumoxyd⁶) gereinigt.



T. Reichstein und A. Grüssner⁷) haben inzwischen die Kondensation desselben Lactons mit β-Alanin-methylester zum *d,l*-Pantothensäure-methylester beschrieben. Eine Partialsynthese der Pantothensäure aus dem bei der Hydrolyse des Naturprodukts erhaltenen Lacton und β-Alanin war schon von D. W. Woolley, H. A. Waisman und C. A. Elvehjem⁸) beschrieben worden. Einzelheiten über die erste Totalsynthese, die R. J. Williams und R. T. Major⁹) ankündigen, sind noch nicht bekannt.

Beschreibung der Versuche.

1) β-Alanin-benzylester.

5 g feinstgepulvertes, über P₂O₅ getrocknetes β-Alanin werden unter Umschütteln in kleinen Anteilen in 100 ccm Acetylchlorid, die sich in einer

²) Nach Bestimmungen von Hrn. Dr. E. F. Möller.

³) Hrn. Dr. K. Schwarz haben wir für die Ausführung dieser Versuche sehr zu danken.

⁴) Journ. Amer. chem. Soc. **61**, 1615 [1939].
⁵) Gereinigt nach R. J. Williams u. Mitarbb., Journ. Amer. chem. Soc. **60**, 2719 [1938].

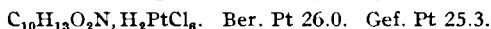
⁶) vergl. die voranstehende Abhandlung, R. Kuhn u. Th. Wieland, B. **73**, 962 [1940].
⁷) Helv. chim. Acta **23**, 650 [1940].

⁸) Journ. Amer. chem. Soc. **61**, 977 [1939].

⁹) Science [New York] **91**, 246 [1940].

Flasche mit Glasstopfen befinden, eingetragen. Hierauf gibt man noch 12 g feinst gepulvertes Phosphorpentachlorid zu und schüttelt 12 Stdn. bei Zimmertemperatur. Das ausgefallene β -Alanylchlorid-chlorhydrat wird abzentrifugiert und mit Äther mehrmals gewaschen. Man übergießt mit 10 ccm Benzylalkohol, wobei das Chlorid-chlorhydrat unter HCl-Entwicklung in Reaktion tritt und alles in Lösung geht. Zur Vervollständigung der Reaktion wird noch 5 Min. auf 70—80° erwärmt. Nach dem Erkalten gibt man 100 ccm Äther zu und stellt in den Eisschrank. Das ausgefallene β -Alanin-benzylester-chlorhydrat wird mehrmals mit Äther verrieben und so in farblosen Blättchen vom Schmp. 100—101° erhalten. Ausbeute nahezu quantitativ.

Zur Analyse gelangte das Chloroplatinat, welches gelbe, zu Drusen vereinigte Prismen vom Schmp. 202—203° (Berl) darstellt.



Zur Darstellung des freien Esters wird das Chlorhydrat in möglichst wenig Wasser gelöst und mit 2-n. NaOH bis zur deutlich alkalischen Reaktion versetzt. Der Ester scheidet sich ölig als untere Schicht ab und wird nach dem Ablassen mit wasserfreier Pottasche verrührt und zentrifugiert. Der klare, nun nahezu wasserfreie Ester wird möglichst bald der folgenden Kondensation unterworfen.

2) *d,l*-Pantothensäure-benzylester.

5 g β -Alanin-benzylester wurden mit 5 g des Lactons der α,γ -Dioxy- β,β -dimethyl-buttersäure¹⁰⁾ vermischt und unter CO₂-Ausschluß 3—4 Stdn. auf 100° erwärmt. Nach dieser Zeit war die stark alkalische Reaktion des β -Alaninesters verschwunden.

3) *d,l*-Pantothensäure.

Das Kondensationsprodukt wird in 50 ccm Eisessig oder wasserfreier Ameisensäure gelöst und mit 1 g Platinoxid und Wasserstoff 3 Stdn. geschüttelt. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wird der Eisessig im Vak. verdampft und der Rückstand mit 200 ccm absol. Äther digeriert. Es hinterbleibt die Roh-Pantothensäure als Sirup.

4) Chromatographische Reinigung der *d,l*-Roh-Pantothensäure.

3 g Roh-Pantothensäure werden mit n_{10} -NaOH auf p_H 8.5 gebracht und mit Wasser auf 0.5 l aufgefüllt. Diese Lösung läßt man durch eine 40 cm lange Säule aus 600 g HCl-behandeltem Al₂O₃ laufen, dann wird mit 1.5 l Wasser nachgewaschen. Nachdem man die oberen 5 cm der Säule abgetrennt und verworfen hat, werden die weiteren 25 cm aus dem Rohr genommen und nach nassem Einfüllen in ein neues Rohr mit Barytwasser eluiert. Die Elution ist beendet, wenn ein am Rohrende mittels eines Gummiringes angebrachter Phenolphthaleinpapierstreifen eben anfängt sich im oberen Teil zu röten. Das so gewonnene Eluat wird mit wäßriger Ag₂SO₄-Lösung von Cl', mit H₂S vom überschüssigen Ag' und endlich mit Barytwasser genau von SO₄'' befreit. Nach dem Einengen im Vak. hinterbleibt die *d,l*-Pantothensäure als sirupartige Masse. Es wurde der Aminostickstoff vor und nach Hydrolyse (2-n. H₂SO₄, 1/2 Stde. 100°) nach van Slyke bestimmt.

¹⁰⁾ E. Glaser, Monatsh. Chem. 25, 47 [1904].

N_{NH_4} der unhydrolysierten Säure 0.10 % N,
 N_{NH_4} nach Hydrolyse mit H_2SO_4 6.22 % N.
 $C_9H_{17}O_5N$ (219.1). Ber. C 49.3, H 7.81, N 6.40. Gef. C 47.5, H 7.60, N 6.22.
 Die biologische Wirksamkeit war 20000000 Sbm E/g.

5) Chininsalz der linksdrehenden Pantothenensäure.

2 g *d,l*-Pantothenensäure werden in wenig Wasser gelöst und mit Barytwasser auf p_H 8.5 gebracht. Zu dieser Lösung gibt man eine heiße wäßrige Lösung von neutralem Chininsulfat vorsichtig zu, bis alles Ba genau gefällt ist. Dann wird abzentrifugiert und die wäßrige Lösung im Vak. eingengt. Der hinterbliebene Sirup fängt nach einiger Zeit an zu krystallisieren und geht beim Verreiben mit Aceton in ein weißes, feinkrystallines Pulver über. Dieses wird mehrmals aus Aceton-Methanol (1:1) umkrystallisiert, woraus es sich in farblosen, weichen, seidig glänzenden Nadeln vom Schmp. 165—167° (Berl) abscheidet.

Zur Analyse wurde 12 Stdn. bei 100° und 0.5 mm über P_2O_5 getrocknet.
 3.785 mg Sbst.: 0.265 ccm N_2 (21°, 755 mm).

$C_{29}H_{41}O_7N_2$ (543.2). Ber. N 7.73. Gef. N 8.08.

$[\alpha]_D^{25}$: $(1.15^\circ \times 100) : (1 \times 1) = -115^\circ$ (in Wasser).

Aus den Mutterlaugen der Umkrystallisationen läßt sich nach dem Konzentrieren ein Chininsalz vom Schmp. 148—152° gewinnen, dessen Zerlegung zu rechtsdrehender Pantothenensäure führt.

6) Linksdrehende Pantothenensäure.

1 g des Chininsalzes vom Schmp. 165—167° wurde in 10 ccm Wasser gelöst und mit Barytwasser phenolphthalein-alkalisch gemacht. Das dabei ausgefallene Chinin wurde durch je 3-maliges Ausschütteln mit Chloroform und Äther entfernt und die wäßrige Lösung mit Schwefelsäure genau vom Ba befreit. Nach dem Abzentrifugieren des Bariumsulfats wurde die wäßrige Lösung im Vak. abgedampft. Die freie (—)-Pantothenensäure hinterblieb als sirupartige, in Wasser und den Alkoholen spielend lösliche Masse, die noch mit keinem Lösungsmittel zur Krystallisation zu bringen war.

8.1 ccm einer wäßrigen Lösung, die je ccm 3.50 mg N (Kjeldahl) (d. s. 54.7 mg (—)-Pantothenensäure) enthalten, verbr. 2.65 ccm n_{100} -NaOH (ber. auf 5.47 mg $C_9H_{17}O_5N$ (219.1): 2.49 ccm).

$[\alpha]_D^{25}$: $(-1.46^\circ \times 100) : (5.47 \times 1) = -26.7^\circ$ (in Wasser).

$[\alpha]_D^{25}$: $(-1.35^\circ \times 100) : (2.40 \times 1) = -56.3^\circ$ (in Methanol).

Das Bariumsalz der (—)-Pantothenensäure, das durch Neutralisieren der wäßrigen Lösung mit Barytwasser und Eindunsten im Exsiccator dargestellt wurde, stellte eine bitter schmeckende, leicht in Wasser und Alkohol lösliche, glasartige Masse dar, die nicht krystallisierte.

$[\alpha]_D^{25}$: $(-1.00^\circ \times 100) : (4.88 \times 1) = -20.4^\circ$ (in Wasser).

Daraus berechnet sich für das Pantothenat-Ion $[\alpha]_D^{25}$: —26.8°.

Spaltung des (*d,l*)- α,γ -Dioxy- β,β -dimethyl-butylolactons in die optischen Antipoden¹¹⁾.

7) Ba-Salz der (*d,l*)- α,γ -Dioxy- β,β -dimethyl-buttersäure.

5 g (*d,l*)- α,γ -Dioxy- β,β -dimethyl-butylolacton¹⁰⁾ werden in wenig Wasser gelöst und in der Hitze mit Barytwasser eben phenolphthalein-alkalisch

¹¹⁾ Vergl. T. Reichstein u. A. Grüssner, a. a. O., Fußnote 7.

gemacht. Beim Einengen im Vak. scheidet sich das Ba-Salz der Säure krystallinisch ab. Es krystallisiert aus Alkohol-Wasser in weichen, farblosen Nadeln vom Schmp. 220°.

8) Chininsalz der (—)- α - γ -Dioxy- β - β -dimethyl-buttersäure.

Die heiße wäßrige Lösung von 3 g des Bariumsalses der *racem.* Säure wird mit einer heißen wäßrigen Lösung von neutralem Chininsulfat versetzt, bis kein BaSO₄ mehr ausfällt. Die heiße Lösung wird sofort filtriert und im Eisschrank erkalten gelassen. Dabei scheidet sich das schwer lösliche Chininsalz der (—)-Säure in derben Prismen ab, deren Menge durch Einengen der Mutterlauge um die Hälfte erhöht wird. Der Schmelzpunkt lag nach 7-maligem Umkrystallisieren aus Wasser bei 182—183°. Ausb. 1.5 g. Dieses Präparat gab mit dem von R. Kuhn und Th. Wieland⁶⁾ aus Thunfisch-Leber gewonnenen Chininsalz keine Schmelzpunktserniedrigung.

9) Chininsalz der (+)- α - γ -Dioxy- β - β -dimethyl-buttersäure.

Die Mutterlauge der Krystallisation des schwer löslichen Chininsalzes wird im Vak. zur Trockne eingedampft und der krystallinische Rückstand mehrmals aus Wasser umkrystallisiert. Das leicht lösliche Chininsalz scheidet sich dabei in weichen, feinen Nadeln vom Schmp. 164—165° ab. Ausb. 1.8 g.

10) Überführung der Chininsalze in die optisch aktiven Lactone.

Die beiden Chininsalze (je 1.5 g) werden in heißem Wasser gelöst und mit Barytwasser deutlich alkalisch gemacht. Das ausgeschiedene Chinin wird mit Chloroform und Äther entfernt und die wäßrige Lösung mit Schwefelsäure auf p_H 1 gebracht. Nach kurzem Aufkochen und Filtrieren werden die beiden Lösungen über Nacht im Apparat erschöpfend ausgeäthert. Die Ätherlösungen werden nach dem Trocknen mit Na₂SO₄ abgedampft und die Lactone bei 110° und 0.5 mm der Destillation unterworfen. Die Destillate erstarren sofort und werden aus Äther unter Kühlung mit Aceton-festem CO₂ umkrystallisiert. Das aus dem schwer löslichen Chininsalz gewonnene Lacton wog 250 mg und schmolz bei 82—84°.

$$[\alpha]_D^{20} : (+1.40 \times 100) : (5 \times 1) = +28.0^\circ \text{ (in Methanol).}$$

Aus dem leicht löslichen Chininsalz wurden 250 mg Lacton vom Schmp. 76—80° erhalten.

11) Kondensation der optisch aktiven Lactone mit β -Alanin-benzyl-ester.

Je 50 mg der optisch aktiven Lactone wurden mit 50 mg β -Alanin-benzyl-ester in der für das *d,l*-Lacton beschriebenen Weise kondensiert, die Kondensationsprodukte katalytisch hydriert und bis zur Stufe der „Roh-Pantothensäure“ aufgearbeitet.

Spezif. Drehungen in Methanol.

Linksdrehende Roh-Pantothensäure: $[\alpha]_D^{20} : (-0.64 \times 100) : (4 \times 0.5) = -32.0^\circ$; biologische Wirksamkeit: 1500000 Sbm E/g.

Rechtsdrehende Roh-Pantothensäure: $[\alpha]_D^{20} : (+0.40 \times 100) : (6.5 \times 0.5) = +12.3$; Wirksamkeit: 500000 Sbm E/g.

Frl. L. Wirth danken wir für ihre Mithilfe bei Ausführung der Versuche.