

53. Theodor Wieland: Ketopantothensäure und Aminopantothensäure.

[Aus dem Kaiser-Wilhelm-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg,
Institut für Chemie.]

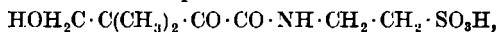
(Eingegangen am 4. November 1947.)

α -Oxo- β , β -dimethyl- γ -butyrolacton wurde mit β -Alanin zur „Ketopantothensäure“ kondensiert, die bei *Strept. plant.* keine Wuchsstoffwirkung hat. Aus dem Oxim des Ketolactons ließ sich durch katalytische Hydrierung das Aminolacton erhalten, das als *N*-Carbo-benzyloxy-Verbindung, mit β -Alanin-natrium kondensiert, nach hydrierender Entacylierung die „Aminopantothensäure“ ergab, die an demselben Bakterium ebenfalls keine Pantothensäurewirkung hatte.

Die Leichtigkeit, mit der α -Oxo- β , β -dimethyl- γ -butyrolacton (I) bzw. das Anion der entsprechenden Oxybuttersäure durch gärende Hefe zum natürlichen Pantolacton (α -Oxy- β , β -dimethyl- γ -butyrolacton) hydriert wird¹⁾, ließ daran denken, daß beim biologischen Wirkungsmechanismus der Pantothensäure ein Redoxvorgang am α -Kohlenstoffatom der Pantoylhälfte eine Rolle spielen könne. Obwohl sich weder vom Pantolacton noch von der Pantothensäure durch Hefe- oder Muskelsuspension im Thunberg-Versuch Methylenblau entfärben ließ, stellte ich doch durch Kondensation des Ketolactons mit β -Alanin-natrium die „Ketopantothensäure“,



und aus ihr ein krystallisiertes Chininsalz dar, um die Wachstumswirkung an Milchsäurebakterien untersuchen zu lassen. Es zeigte sich, daß der verwendete Bakterienstamm (*Strept. plant. 10 S*) nicht in der Lage war, die Ketsäure zu Pantothensäure zu hydrieren, denn die Verbindung zeigte keinerlei Wuchsstoffaktivität²⁾. Trotzdem ist es nicht ausgeschlossen, daß es Organismen gibt, die diese Hydrierung durchzuführen vermögen. Solche Organismen sollten dann in ihren biologischen Funktionen spezifisch durch das Sulfonsäureanalogon, die „Sulfoketopantothensäure“,



gehemmt werden, deren Darstellung aus dem Ketolacton und Taurinnatrium in einfacher Weise gelang.

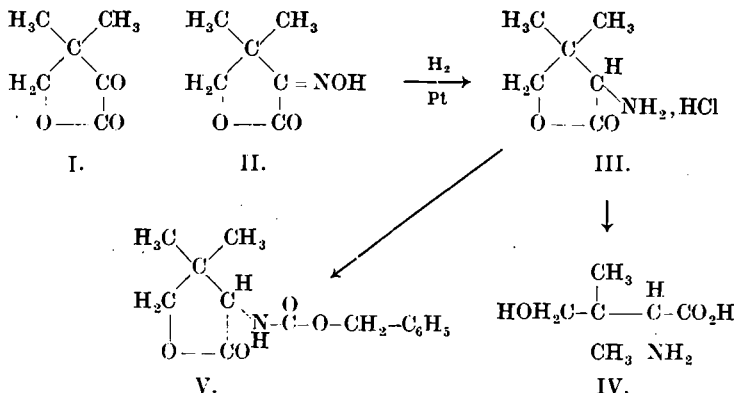
Weiterhin wurde die *d,l*- γ -Oxy- α -amino- β , β -dimethyl-buttersäure (IV) dargestellt, die aus dem Ketolacton I in der Zelle durch hydrierende Amnierung entstehen könnte. Die phytochemische Hydrierung des Ketolactonoxims II mit Hefe, die in einem orientierenden Ansatz versucht wurde, führte bisher nicht zur Isolierung der gesuchten Aminoverbindung, die ich auf diese Weise optisch einheitlich zu erhalten hoffte. Durch katalytische Hydrierung mit Platinoxid in verdünnt salzsaurem Alkohol entstand aber das Hydrochlorid des *d,l*- α -Amino- β , β -dimethyl- γ -butyrolactons (III), das sich mit Baryt zur offenen Aminosäure IV aufspalten ließ.

Aus dem Lacton-hydrochlorid ließ sich mit der berechneten Natriumäthylatmenge in Alkohol die freie Lactonbase gewinnen, die im Gegensatz zum

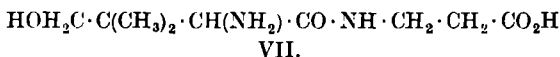
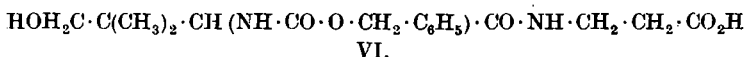
¹⁾ B. 75, 121 [1942].

²⁾ Hrn. Dr. E. F. Möller danke ich für die Ausführung der Wuchsstoffteste bestens.

α -Amino- γ -butyrolacton ziemlich schwer in das Diketopiperazin übergeht. Die ölige Base ließ sich nämlich längere Zeit bei Zimmertemperatur aufbewahren oder sogar in Alkohol kochen, ohne daß ein Verschwinden der basischen Reaktion zu beobachten war. Aus dem Hydrochlorid wurde durch Umsetzen mit Carbobenzoylchlorid in Natriumcarbonat-Lösung das *N*-Carbobenzoyl-Produkt V vom Schmp. 109—110° dargestellt.



Das Lacton V wurde nun in methanolischer Lösung mit β -Alanin-natrium zu dem der Pantothensäure entsprechenden Kondensationsprodukt VI umgesetzt, das bei katalytischer Hydrierung in *d,l*-*N*-[γ -Oxy- α -amino- β , β -dimethyl-buteryl]- β -alanin („Aminopantothensäure“, VII) überging. Diese ist nach Art einer Aminosäure in Wasser viel leichter als in Alkohol oder Aceton löslich, so daß sie aus wäßriger Lösung durch Zusatz von Alkohol oder Aceton in krystallisierter Form erhalten werden konnte.



Die Prüfung an Milchsäurebakterien ergab praktisch keine Wirksamkeit; erst bei einer Konzentration von 2 mg pro ccm Nährlösung war ein geringes Wachstum zu beobachten.

Beschreibung der Versuche.

Chininsalz des *N*-[γ -Oxy- α -oxo- β , β -dimethyl-buteryl]- β -alanins: 1.8 g β -Alanin wurden in einer Natriummethylat-Lösung aus 0.46 g Natrium aufgelöst und i. Vak. vom Lösungsmittel befreit. Der trockene Rückstand wurde sodann mit 2.6 g α -Oxo- β , β -dimethyl-butylolacton (I) 15 Min. bei 80° verschmolzen. Dann wurde in 60 ccm absol. Alkohol aufgenommen und mit einer Lösung von 8 g Chininhydrochlorid in 50 ccm absol. Alkohol versetzt. Nach einigen Stunden wurde vom Kochsalz abzentrifugiert, i. Vak. verdampft und der Sirup in so viel warmem Aceton aufgenommen, daß noch kein Chininsalz ausfiel, aber vom restlichen Kochsalz durch Filtern abgetrennt werden konnte. Das Filtrat schied nach dem Abdampfen des Lösungsmittels i. Vak. nach einiger Zeit Krystalle ab, deren Menge durch vorsichtigen Acetonzusatz vermehrt wurde. Nach dem Absaugen wurde aus Alkohol, dann aus Wasser umkrystallisiert; feine Nadeln vom Schmp. 156°.

$\text{C}_{29}\text{H}_{39}\text{N}_3\text{O}_7$ (541.4) Ber. C 64.28 H 7.27 N 7.76 Gef. C 64.66 H 7.31 N 7.38.

Das Chininsalz des entsprechenden Kondensationsprodukts mit Taurinnatrium wurde in analoger Weise in Krystallen vom Schmp. 168—170° erhalten. Es zeigte an *Strept. plant.* keinerlei hemmende Wirkung (geprüft bis 10 mg/ccm).

Oxim des Ketolactons I: 3.5 g des Ketolactons wurden mit verd. Natronlauge neutralisiert und die wäbr. Lösung des Natriumsalzes wurde i. Vak. zur Trockne verdampft. Nach Aufnehmen in absol. Alkohol (100 ccm) wurde in der Hitze die klar filtrierte heiße Lösung aus 700 mg Natrium in 10 ccm Alkohol + 2 g Hydroxylaminhydrochlorid zugegeben. Es schieden sich bald 5 g Krystalle des Natriumsalzes der γ -Oxy- β - β -dimethyl- α -oximino-buttersäure aus. Nach dem Umkrystallisieren aus Methanol ergab die Analyse folgende Werte:

$C_8H_{10}O_4NNa$ (183.1) Ber. C 39.34 H 5.52 N 7.65 Na 12.55
Gef. C 39.51 H 5.80 N 7.88 Na 13.23.

Phytochemische Hydrierung des Natriumsalzes: 2 g des Natriumsalzes wurden unter den in der vorstehenden Arbeit beschriebenen Bedingungen einem Gäransatz zugesetzt. Aus dem eingeeengten Filtrat ließ sich bei alkalischer Reaktion mit Äther nichts extrahieren.

Zur Darstellung des Ketolactonoxims II wurden 70 g des Natriumsalzes in 200 ccm 2 n HCl gelöst. Nach 2-tägigem Stehenlassen bei Zimmertemperatur hatten sich 40 g des Oxims in großen Krystallen abgeschieden. Weitere 10 g ließen sich der sauren Lösung mit Äther entziehen. Nach dem Umkrystallisieren aus Benzol + Petroläther war der Schmp. 160°.

$C_8H_9O_3N$ (143.1) Ber. C 50.30 H 6.28 N 9.78 Gef. C 50.75 H 6.31 N 9.51.

Hydrochlorid des *d,l*- α -Amino- β - β -dimethyl- γ -butyrolactons (III): Eine Lösung von 25 g des Oxims II in 100 ccm Alkohol wurde unter Schütteln in einer Wasserstoff-Atmosphäre zu 5 g Platinoyd, das in 150 ccm 2 n HCl suspendiert und vorhydriert war, in 5 gleichen Anteilen zugegeben, wonach man die Wasserstoff-Aufnahme jedesmal vollständig zu Ende gehen ließ. Nach 45 Stdn. waren auf diese Weise 8.02 l Wasserstoff (ber. 8.7 l) aufgenommen. Es wurde vom Katalysator abfiltriert, i. Vak. trocken gedampft, der Rückstand in 150 ccm absol. Alkohol aufgenommen und die Lösung mit 500 ccm Äther gefällt. Nach einiger Zeit bildete sich ein krystalliner Niederschlag (22 g), der zur Hauptsache aus dem erwünschten Hydrochlorid, zum kleinen Teil aber aus Ammoniumchlorid bestand, das sich nur schwer abtrennen ließ. Nach öfterem Umkrystallisieren aus Alkohol + Äther erhielt ich ein analysenreines Produkt vom Schmp. 208—212°.

$C_8H_{11}O_2N \cdot HCl$ (163.5) Ber. N 8.56 Gef. N 8.34.

d,l- γ -Oxy- α -amino- β - β -dimethyl-buttersäure (IV): 1.64 g des Aminolactonhydrochlorids wurden in wenig Wasser mit einer heißgesättigten wäbr. Silbersulfat-Lösung zersetzt, bis kein Niederschlag mehr ausfiel. Nach dem Filtrieren und Waschen des Silberchlorids wurde i. Vak. auf 10 ccm eingeeengt. Diese Lösung wurde nun mit Barytwasser gegen Phenolphthalein alkalisch gemacht und 20 Min. auf 100° erwärmt (Dampfbad). Dann wurde mit verd. Schwefelsäure genau neutralisiert, vom Bariumsulfat abzentrifugiert und die klare Lösung i. Vak. auf einige ccm konzentriert. Dabei fiel ein krystalliner Niederschlag aus, der sich bei Alkoholzusatz und Stehen über Nacht im Eisschrank beträchtlich vermehrte; 1.5 g vom Schmp. 227—229° (Zers.).

$C_8H_{13}O_3N$ (147.1) Ber. C 48.95 H 8.91 N 9.52 Gef. C 49.23 H 8.75 N 9.20.

d,l- α -Carbobenzoxyamino- β - β -dimethyl- γ -butyrolacton (V): Die wäbr. Lösung des Aminolactonhydrochlorids wurde in 2 n Na_2CO_3 unter Rühren tropfenweise bei 0° mit Carbobenzoychlorid versetzt. Der bald gebildete weiße Niederschlag wurde abgesaugt und aus Methanol + Wasser umkrystallisiert; Schmp. 109—110°.

$C_{14}H_{17}O_4N$ (263.1) Ber. C 63.87 H 6.47 N 5.34 Gef. C 64.18 H 6.63 N 5.26.

d,l-N-[γ -Oxy- α -carbobenzoxyamino- β - β -dimethyl-buteryl]- β -alanin (VI): 890 mg β -Alanin wurden in 10 ccm Methanol, in denen 230 mg Natrium aufgelöst waren, eingetragen. Zur klaren Lösung wurden dann 2.65 g des obigen Carbobenzoxyaminolactons gegeben und der Ansatz 45 Stdn. bei 40° stehengelassen. Danach neutralisierte man mit einigen Tropfen 2 n HCl und engte i. Vak. zur Trockne ein. Nach dem Aufnehmen in Wasser und Ansäuern gegen Kongo blieb der Ansatz eine Stde. stehen, wurde dann mit Natriumcarbonat auf pH 9 gebracht und zur Entfernung von unverändertem Lacton ausgeäthert. Die klare wäbr. Lösung schied nach dem Ansäuern einen krystallinen Niederschlag ab, der aus Aceton umkrystallisiert wurde (3 g); Schmp. 126—128°.

$C_{17}H_{24}O_6N_2$ (352.36) Ber. C 57.94 H 6.87 N 7.95 Gef. C 58.23 H 6.79 N 7.88.

d,l-N-[γ -Oxy- α -amino- β,β -dimethyl-butryl]- β -alanin (Aminopantothensäure, VII): 500 mg der *N*-Carbobenzoxy-Verbindung wurden in 10 ccm Alkohol mit 50 mg Platinoxid 20 Min. hydriert. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wurde i. Vak. zum Sirup eingedunstet, in ganz wenig Wasser aufgenommen und mit Aceton versetzt. Beim Reiben bildeten sich 250 mg Krystalle vom Schmp. 137—140° (Zers.).
 $C_9H_{18}O_4N_2$ (218.3) Ber. N 12.83 Gef. N 12.15.

54. Hans Behringer: Synthese des Cystins.

[Aus dem Chemischen Universitätslaboratorium München.]

(Eingegangen am 19. März 1948.)

α -Acetylamino-acrylsäure lagert Thiosäuren glatt zu entsprechenden *N*-Acetyl-*S*-acyl-*d,l*-cysteinen an, aus welchen sich leicht inaktives Cystin gewinnen läßt.

A. Schoeberl kündigt in einer kürzlich erschienenen Arbeit¹⁾ die baldige Veröffentlichung von Versuchen zur Synthese des Cystins aus *N*-Acetyl- α -amino-acrylsäure und Thioessigsäure an^{1a)}. Dies veranlaßt mich über gleichlaufende Versuche zu berichten, welche auf das Jahr 1944 zurückgehen, ohne Kenntnis der Schoeberlschen Arbeiten unternommen wurden und aus äußeren Gründen bisher nicht veröffentlicht werden konnten.

Bei Versuchen über die Anlagerung von Thiosäuren an ungesättigte Systeme haben wir auch in α -Stellung substituierte Acrylsäuren bzw. deren Alkylester mit in die Untersuchung einbezogen in der Absicht eine Synthese des Cysteins aus leicht zugänglichem Ausgangsmaterial aufzufinden. Der Weg über das Additionsprodukt von Thioessigsäure an α -Chlor-acrylsäureester²⁾ mit nachfolgendem Austausch des Halogens gegen die Aminogruppe erschien uns nach den gemachten Erfahrungen als nicht gangbar³⁾. Wir haben daher als Ausgangsmaterial die α -Acetylamino-acrylsäure⁴⁾ gewählt, welche die Aminogruppe in acetylierter Form bereits an der gewünschten Stelle des Moleküls trägt. Thioessigsäure (auch Thiopropionsäure) lagert sich unter den im Versuchsteil angegebenen Bedingungen mit großer Leichtigkeit an die ungesättigte Aminosäure an und liefert in über 90-proz. Ausbeute *N,S*-Diacetyl-*d,l*-cystein vom Schmp. 116.5—117° (unkorr.)⁵⁾. Die hydrolytische Spaltung mit 20-proz. Salzsäure und nachfolgende Oxydation mit Wasserstoffperoxyd oder Jod-Lösung liefern mit Ausbeuten von 50—60% d.Th. Cystin.

Analoge Versuche, Thiosäuren an substituierte Acetylamino-acrylsäuren, ihre Ester und Amide oder an die ihnen entsprechenden Azlactone anzulagern, um so zu in β -Stellung substituierten Cysteinabkömmlingen zu gelangen, führten nicht zum Ziel. Die Thiosäuren treten hierbei mit diesen Verbindungen in anderer Weise in Reaktion, über die gelegentlich berichtet werden soll.

Beschreibung der Versuche.

N,S-Diacetyl-*d,l*-cystein: 8.3 g α -Acetylamino-acrylsäure (Zersp. 194° wurden mit 10.4 g (2.2 Mol.) frisch über Phosphorperoxyd dest. Thioessigsäure (Sdp)

¹⁾ B. 80, 383 [1947].

^{1a)} Nachtrag bei der Korrektur am 26. 8. 1948: Eine kurze Mitteilung hierüber ist inzwischen erschienen; s. A. Schoeberl u. A. Wagner, Naturwiss. 34, Heft 6 (ausgegeben im März 1948), S. 189 [1947].

²⁾ Hergest. nach einer Patentvorschrift der Imperial Chem. Ind. aus Trichloräthylen, Formaldehyd (i. Ggw. von Methanol) und Schwefelsäure (vergl. C. 1940 I, 1747).

³⁾ E. Fackler, Diplomarbeit, München 1946.

⁴⁾ M. Bergmann und K. Grafe, Ztschr. physiol. Chem. 187, 191 [1930].

⁵⁾ A. Neuburger, Biochem. Journ. 32, 1452 [1938], gibt für ein aus *l*-Cysteinhydrochlorid durch Acetylieren mit Keten in alkal. Lösung erhaltenes *N,S*-Diacetyl-cystein (vermutlich racemisiert) den Schmp. 111—112° (unkorr.) an.