

83. Erich Strack, Helmut Röhnert und Irmgard Lorenz: Über die Darstellung von *d,l*-Carnitin

[Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Leipzig]

(Eingegangen am 11. Dezember 1952)

d,l-Carnitin wird durch Verseifen von *d,l*-Carnitin-nitril dargestellt, das aus α -Dichlorhydrin oder Epichlorhydrin über γ -Chlor- β -oxybutyronitril und Trimethylamin erhalten wird. Leichte Wasser-Abspaltbarkeit kann zu Crotonsäure-Derivaten führen, die die chemische Identifizierung als Goldsalz stören.

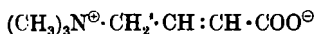
l-Carnitin(I) kommt im Tierkörper, besonders in den quergestreiften Muskeln der Warmblütler (Wl. Gulewitsch und R. Krimberg) vor¹). Liebig's Fleischextrakt, in dem es bis auf etwa 2% angereichert ist, ist eine gute Quelle²) für den in vielfacher Hinsicht biologisch interessanten Stoff. Für unsere umfangreichen Studien war jedoch dieses Ausgangsmaterial zur Zeit zu kostspielig. Deshalb suchten wir nach einer möglichst kurzen Synthese, die *d,l*-Carnitin mit guter Ausbeute liefert und deren einzelne Stufen auch für einen Isotopen-Einbau geeignet sind.



I



II



III



IV



V

Bekannt ist eine Synthese von [M. Tomita³), der über α -Dichlorhydrin(II) und γ -Amino- β -oxy-buttersäure *d,l*-Carnitin darstellte, aber nur eine geringe Ausbeute erhielt. Wir haben Tomita's Synthese nachgearbeitet, können seine Angaben bestätigen und erhielten ebenfalls das von ihm als einziges Derivat angeführte Goldsalz mit einem Schmelzpunkt 180–182°. Eingehendere Untersuchungen zeigten dann jedoch, daß das von uns nach M. Tomita dargestellte Carnitin Crotonsäurebetain(III) enthielt, welches leicht aus Carnitin durch Wasser-Abspaltung hervorgeht⁴). Für biologische Auswertungen ist aber größte Reinheit der Stoffe unerläßlich, weil die Betaine sehr unterschiedliche Wirksamkeiten besitzen. So wirkt Crotonsäurebetain-methylester auf das isolierte Froschherz mehr als tausendfach stärker als *l*-Carnitin-methylester⁵).

Bei unserer Synthese gehen wir vom α -Dichlorhydrin(II) aus, das mit Natriumcyanid zum γ -Chlor- β -oxy-butyronitril(IV) umgesetzt wird⁶). Letzteres entsteht auch aus Epichlorhydrin mit Cyanwasserstoff⁷), wobei, auf α -Di-

¹) Siehe M. Guggenheim, Die biogenen Amine, 4. Aufl. 1951, S. 251.

²) E. Strack, P. Wördehoff u. H. Schwaneberg, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **238**, 183 [1936].

³) Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **124**, 253 [1923].

⁴) R. Engeland, Ber. dtsh. chem. Ges. **54**, 2208 [1921].

⁵) E. Strack u. K. Försterling, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. **285**, 207 [1950].

⁶) G. Braun, J. Amer. chem. Soc. **52**, 3167 [1930].

⁷) R. Lespieau, C. R. Hebd. Séances Acad. Sci. **127**, 965 [1898].

chlorhydrin berechnet, etwa die doppelte Ausbeute erzielt wird. γ -Chlor- β -oxy-butylonitril wird mit wäßriger Trimethylamin-Lösung bei mäßig erhöhter Temperatur zum *d,l*-Carnitin-nitril-chlorid(V) umgesetzt. Die Verseifung des *d,l*-Carnitin-nitrils zum *d,l*-Carnitin war schwierig.

Hydrolyse mit Alkalien zerstört erhebliche Anteile, insbesondere wird die quartäre Gruppe angegriffen. Die schonendere Barytverseifung spaltet selbst unter den mildesten Bedingungen noch Wasser aus dem Molekül ab, so daß das erhaltene *d,l*-Carnitin mit wechselnden Mengen von Crotonsäurebetain verunreinigt ist. Diese Beimengungen von Crotonsäurebetain lassen sich mittels Kaliumpermanganats in alkalischer, neutraler und in saurer Lösung feststellen⁴⁾; denn die Doppelbindung wird oxydativ leicht angegriffen, während *d,l*-Carnitin in der Kälte kaum meßbare Mengen von Kaliumpermanganat entfärbt. Auf Grund dieses unterschiedlichen Verhaltens können auch kleinste Mengen Crotonsäurebetain bestimmt werden.

Reinste Carnitin-Fractionen ergibt die stufenweise salzsaure Verseifung. Durch Einleiten von trockenem Chlorwasserstoff in die siedende absol. äthanol. Lösung des *d,l*-Carnitin-nitril-chlorids wird zunächst der *d,l*-Carnitin-äthylester gebildet, der, ohne isoliert zu werden, nach Zugabe von Wasser beim Abdestillieren des Alkohols und des Wassers i. Vak. verseift wird. Über das Reineckat isoliert⁸⁾, beträgt die Ausbeute bis zu 90% *d,l*-Carnitin. Das so gewonnene Produkt entfärbt Kaliumpermanganat nicht, enthält also kein Crotonsäurebetain. Sein Goldsalz schmilzt bei 145°, also 35° tiefer, als M. Tomita angegeben hat.

Um zu sichern, daß der hohe Schmelzpunkt des Goldsalzes nach M. Tomita tatsächlich auf Beimengungen von Crotonsäurebetain-chloraurat zurückzuführen ist, wurden Mischungen von reinem *d,l*-Carnitin-chlorid und Crotonsäurebetain-chlorid mit Goldchlorid gefällt. Dabei zeigte sich, daß schon geringe Beimengungen an Crotonsäurebetain den Schmelzpunkt des *d,l*-Carnitin-chloraurates beträchtlich erhöhen. Durch eine Beimengung von etwa 7–8% Crotonsäurebetain schmolz das unter den üblichen Bedingungen gefällte Goldsalz bei 180°. Je höher der Gehalt an Crotonsäurebetain war, desto mehr näherte sich der Schmelzpunkt des Gemisches dem des reinen Crotonsäurebetain-chloraurates. Bestimmt man den Gehalt der Chloraurate an Crotonsäurebetain mit Permanganat in saurer Lösung nach Entfernen des Goldes mit Silber, so findet man den Gehalt an Crotonsäurebetain im gefällten Goldsalz höher als in der zu fällenden Mischung, wie die Tafel zeigt.

Tafel. Gehalt der Chloraurate an Crotonsäurebetain

Carnitin- und Crotonsäurebetain-chlorid in wechselnden Mischungsverhältnissen zu je 50 mg ergänzt, werden in 0.6 ccm warmer verd. Salzsäure gelöst, mit je 0.1 ccm 30-proz. Goldchlorid-Lösung versetzt, auf +5° abgekühlt und die Chloraurat-Fällungen abfiltriert.

Crotonsäurebetain % im Gemisch der Chloride	Crotonsäurebetain % im Chloraurat	Schmelzpunkte der der Chloraurate
0	0	145°
1	5.7	148.5°
5	21.2	171.5°
10	38.0	190.5°
50	80.3	210/13°
75	94.3	212/15°
100	99.4	215°

⁸⁾ E. Strack u. H. Schwaneberg, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 245, 11 [1937].

Bemerkenswert ist die Beobachtung, daß *d,l*-Carnitin-chloraurat, das rein nur langsam kristallisiert, durch Beimengungen von Crotonsäurebetain-chloraurat schneller auskristallisiert.

Der Schmelzpunkt des *d,l*-Carnitin-chlorids liegt bei 196°, also wesentlich höher als der des natürlichen *l*-Carnitin-chlorids mit 142°. Ebenso weichen die Schmelzpunkte der meisten Salze und Derivate des *d,l*-Carnitins von denen des *l*-Carnitins⁹⁾ ab. Durch Erhitzen mit konz. Schwefelsäure wird aus dem *d,l*-Carnitin das von R. Engeland⁴⁾ und W. Linneweh¹⁰⁾ beschriebene Crotonsäurebetain erhalten.

Zur weiteren Identifizierung acetylierten wir das *d,l*-Carnitin-chlorid mit Acetylchlorid. Die Acetylierung ist gegenüber der des *l*-Carnitins erschwert, vermutlich infolge der geringen Löslichkeit des *d,l*-Carnitin-chlorids in Acetylchlorid. Zusatz von Eisessig erleichtert die Umsetzung, führt aber zu einem schmierigen, hygroskopischen Produkt, das erst durch Umkristallisieren reines *d,l*-Acetylcarnitin-chlorid ergibt. Außerdem wurde das *d,l*-Carnitin in seinen Äthylester übergeführt und Salze von diesem dargestellt. Das Chlorid ist ebenso hygroskopisch wie das *l*-Carnitin-äthylester-chlorid. Weiterhin beschreiben wir einige Salze vom *d,l*-Carnitin-nitril und *d,l*-Carnitin. Durch Papierchromatographie und Papierelektrophorese ist das Carnitin von anderen Basen wie Cholin und Betain zu trennen. Unter gleichen Bedingungen glückte die Trennung von Crotonsäurebetain und Carnitin nicht. *d,l*-Carnitin und *l*-Carnitin haben gleiche R_F -Werte. Über diese papierchromatographischen Bestimmungen wird an anderer Stelle berichtet werden.

Beschreibung der Versuche¹¹⁾

Darstellung des *d,l*-Carnitin-nitrils (entspr. V): 6.0g γ -Chlor- β -oxy-buttersäure-nitril (IV) (Sdp.₁₄ 138–142°) werden mit 18 g 33-proz. wäbr. Trimethylamin-Lösung 30–45 Min. unter Rückfluß auf dem Wasserbad langsam bis zum gelinden Sieden gebracht, wobei sich die Lösung dunkelbraun färbt. Überschüss. Trimethylamin und Wasser werden i. Vak. abdestilliert. Der dunkelbraune Salzurückstand wird in heißem 96-proz. Äthanol gelöst. Nach dem Abkühlen werden die Kristalle abgesaugt und mit eiskaltem Äthanol gewaschen. Das erhaltene Produkt ist farbloses, reines *d,l*-Carnitin-nitrilchlorid (V); Ausb. 5.7 g (63.7%). Aus Äthanol farblose Platten; Schmp. 232° (Zers.). In Wasser sehr leicht, in Äther nicht, in Äthanol löslich.

$C_7H_{15}ON_2Cl$ (178.7) Ber. C 47.06 H 8.46 Gef. C 47.25 H 8.43

Chloraurat: Aus verd. Salzsäure goldgelbe, flache Prismen vom Schmp. 127° (Zers.). In Wasser wenig, in Äthanol löslich.

$C_7H_{15}ON_2AuCl_4$ (482.2) Ber. C 17.43 H 3.14 Gef. C 17.56 H 2.89

Chlorplatinat: Aus verd. Salzsäure-Lösung orangefarbene, rhombische Kristalle vom Schmp. 250–252° (Zers. unter Schwarzfärbung). In Wasser schwer, in Äthanol sehr schwer löslich.

$(C_7H_{15}ON)_2PtCl_6$ (694.4) Ber. C 24.21 H 4.35 Pt 28.12 Gef. C 24.57 H 4.39 Pt 27.60

Das Perchlorat wird aus methanol. Lösung des Chlorids mit 70-proz. Perchlorsäure und mit absol. Äther gefällt. Aus Methanol geschichtete Platten vom Schmp. 137 bis 138° (Zers.). In Wasser sehr gut, in Äther nicht, in Methanol löslich.

$C_7H_{15}ON_2ClO_4$ (242.7) Ber. C 34.65 H 6.23 Gef. C 34.68 H 6.47

⁹⁾ Siehe M. Guggenheim, Die biogenen Amine, 4. Aufl. 1951, S. 277.

¹⁰⁾ Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 176, 217 [1928].

¹¹⁾ Die Schmelzpunkte der Salze wurden in Jenaer Gerätglasapparaturen ausgeführt. Etwa 30° unterhalb des Schmelzpunktes wird in das heiße Bad eingetaucht und die Temperatur je Min. um 2° gesteigert; die Schmelzpunkte sind korrigiert. Bei Schmelzpunkt-Bestimmungen in der Kofler-Apparatur treten bei den Salzen der quartären Basen, die unter Zersetzung schmelzen, oft Abweichungen gegenüber der Capillarmethode auf. Die Analysen wurden nach Pregl ausgeführt.

Pikrat: In heißem Äthanol gelöstes *d,l*-Carnitin-nitril-chlorid wird mit kalt gesätt. äthanol. Pikrinsäure-Lösung versetzt, wobei sich nach vorübergehender Trübung ein dunkelgelbes Öl abscheidet, das bei Kühlung erstarrt. Aus Äthanol lange Nadeln vom Schmp. 125—127° (Zers.). In heißem Äthanol löslich, in Wasser leicht, in kaltem Äthanol schwer löslich.

$C_7H_{15}ON_2 \cdot C_6H_2O_7N_3$ (371.3) Ber. C 42.05 H 4.63 Gef. C 42.24 H 4.95

Reineckat: Aus 50° warmer wäbr. Lösung beim Abkühlen rosafarbene Blättchen vom Schmp. 201° (Zers.). In Wasser und Äthanol schwer, in Aceton gut löslich.

Quecksilberchlorid-Doppelsalze: *d,l*-Carnitin-nitril-chlorid bildet mit Quecksilber(II)-chlorid schwerlösliche Quecksilberchlorid-Doppelsalze wechselnder Zusammensetzung. Sie sind aus heißem Wasser umkristallisierbar, ohne Salze konstanter Zusammensetzung zu geben. In Äthanol sehr schwer, in kaltem Wasser schwer, in heißem Wasser löslich.

Darstellung des *d,l*-Carnitins(I): 10 g *d,l*-Carnitin-nitril-chlorid(V) werden in 200 ccm siedendem absol. Äthanol 4 Stdn. mit trockenem Chlorwasserstoff durchströmt, wobei sich Ammoniumchlorid abscheidet. Der gebildete Ester kann mit Reineckat rein gewonnen werden. Um zum *d,l*-Carnitin zu gelangen, wird unter zweimaligem Zusatz von Wasser der Alkohol i. Vak. abdestilliert und dann zur Trockne eingedampft, wobei 50—60° im Wasserbad nicht überschritten werden sollen. Der Salzurückstand wird in 500 ccm Wasser aufgenommen, mit Ammoniak auf p_H 8—9 gebracht und kalt mit Ammoniumreineckat-Lösung versetzt. Ein manchmal auftretender geringer Niederschlag von noch unverseiftem Ester wird abgesaugt, das Filtrat mit verd. Salzsäure angesäuert und das nun ausfallende *d,l*-Carnitin-reineckat abgesaugt und nachgewaschen (getr. 22.0—24.2 g = 79—87% d. Th.). Das feuchte Reineckat wird nach J. Kapfhammer¹²⁾ in 80-proz. Aceton gelöst, mit überschüss. Silbersulfat-Lösung versetzt, das Silberreineckat abgesaugt, nachgewaschen und zum Filtrat die dem Silbersulfat äquivalente Menge Bariumchlorid-Lösung gegeben. Bariumsulfat und Silberchlorid werden abgesaugt; das Filtrat wird i. Vak. bei 50° Wasserbadtemperatur zur Trockne eingedampft. Der Rückstand wird in heißem absol. Äthanol aufgenommen, aus dem beim Abkühlen *d,l*-Carnitin-chlorid auskristallisiert. Aus der Mutterlauge wird nach Zusatz von Äther oder Aceton eine zweite Fraktion gefällt; Ausb. 8.2 g (74% d. Th.). Aus Äthanol sternchenförmig angeordnete, kurze, gedrungene Nadeln; Schmp. 196° (Zers.). In Wasser sehr leicht, in Aceton sehr schwer, in Äther nicht, in kaltem Äthanol wenig löslich, in heißem Äthanol löslich.

$C_7H_{10}O_3NCl$ (197.7) Ber. C 42.53 H 8.16 Gef. C 42.81 H 8.02

Chloraurat: Aus der salzsauren Lösung kristallisieren langsam Nadeln oder Prismen vom Schmp. 145° (Zers.). In kaltem Wasser wenig, in warmem Wasser löslich.

$C_7H_6O_3 \cdot NaAuCl_4$ (501.2) Ber. C 16.77 H 3.22 Au 39.34 Gef. C 16.78 H 3.15 Au 39.15

Chlorplatinat: Aus schwach salzsaurer Lösung orangefarbene, flache Prismen vom Schmp. 218—220° (Zers.). In Äthanol schwer löslich, in Wasser löslich.

$(C_7H_{17}O_3N)_2PtCl_6$ (732.4) Ber. C 22.96 H 4.40 Pt 26.66 Gef. C 22.67 H 4.33 Pt 26.61

Quecksilberchlorid-Doppelsalz: In Wasser gibt das Chlorid mit Quecksilber(II)-chlorid Salze wechselnder Zusammensetzung. Aus der freien Base, die durch Schütteln des *d,l*-Carnitin-chlorids mit Silberoxyd in wäbr. Lösung, Abdestillieren des Wassers i. Vak. und Aufnahme mit Äthanol gewonnen wird, fällt äthanol. Quecksilber(II)-chlorid-Lösung ein einheitliches Doppelsalz. Aus Wasser drusenförmige Kristalle; Schmp. 204° (Zers.) (R. Krimberg¹³⁾: 191°). In Äthanol sehr schwer, in kaltem Wasser wenig, in heißem Wasser löslich.

$C_7H_{16}O_3N \cdot 2HgCl_2$ (704.3) Ber. C 11.94 H 2.15 Hg 56.97 Cl 20.14
Gef. C 12.26 H 2.14 Hg 56.98 Cl 19.73

Reineckat: Aus 50° warmer wäbr. Lösung beim Abkühlen rosafarbene Blättchen vom Schmp. 155—156° (Zers.). In kaltem Wasser sehr schwer, in Aceton gut, in warmem Wasser und Äthanol wenig löslich.

¹²⁾ J. Kapfhammer u. C. Bischoff, Hoppe Seyler's Z. physiol. Chem. 191, 179 [1930]. ¹³⁾ Biochem. Z. 297, 267 [1938].

Darstellung des *d,l*-Acetylcarnitins: *d,l*-Carnitin-chlorid wird in der nötigen Menge warmen Eisessigs gelöst, mit überschüss. Acetylchlorid versetzt und auf dem Wasserbad 4 Stdn. auf 52° erhitzt. Acetylchlorid und Eisessig werden i. Vak. abdestilliert; der Rückstand wird mit absol. Äthanol aufgenommen. Beim Fällen mit Äther entsteht ein schmieriges Produkt, das mehrmals aus *n*-Butanol umkristallisiert wird.

Das *d,l*-Acetylcarnitin-chlorid bildet aus *n*-Butanol stäbchenförmige Kristalle vom Schmp. 187–188° (Zers.). In Wasser sehr leicht, in Aceton schwer, in Äther nicht, in kaltem Äthanol und Butanol schwer löslich, in heißem löslich.

$C_9H_{18}O_4NCl$ (239.7) Ber. C 45.09 H 7.57 Gef. C 45.38 H 7.63

Chloraurat: Aus verd. Salzsäure goldgelbe Nadeln; Schmp. 168° (Zers.). In kaltem Wasser und Äthanol wenig löslich, in heißem löslich.

$C_9H_{18}O_4NAuCl_4$ (543.3) Ber. C 19.90 H 3.34 Gef. C 20.15 H 3.60

Darstellung des *d,l*-Carnitin-äthylesters: *d,l*-Carnitin-chlorid wird mit einem großen Überschuß absol. Äthanol im trockenen Chlorwasserstoffstrom 2–3 Stdn. unter Rückfluß im Sieden erhalten. Der Alkoholüberschuß wird i. Vak. abdestilliert und der Ester mit Wasser versetzt. Diese Lösung wird mit Ammoniak auf p_H 8–9 gebracht und der Ester als Reineckat gefällt. Das Reineckat wird nach der üblichen Weise zum Chlorid umgesetzt^{9,12}). Das *d,l*-Carnitin-äthylester-chlorid ist sehr hygroskopisch und kann aus alkohol. Lösung nur mit trockenem Äther gefällt werden. Aus Äthanol-Äther zerfließliche Prismen. In Wasser und Äthanol sehr leicht, in Äther nicht löslich.

Chloraurat: Aus schwach salzsaurer Lösung kristallisieren goldgelbe Blättchen vom Schmp. 122° (Zers.). In Wasser schwer löslich, in Äthanol löslich.

$C_{12}H_{20}O_2NAuCl_4$ († 29.3) Ber. C 20.42 H 3.81 Au 37.26 Gef. C 20.30 H 3.81 Au 37.00

Reineckat: Aus 50° warmem Wasser kristallisieren beim Abkühlen rosafarbene Blättchen vom Schmp. 142–143° (Zers.). In Wasser sehr schwer, in Aceton gut löslich.

84. Leonhard Birkofer und Ingeborg Storch: β -Aminosäuren, II. Mitteil.*): Hydrolyse von Dihydrouracil-Derivaten

[Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Institut für Chemie, Heidelberg, und dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Stuttgart]

(Eingegangen am 17. Dezember 1952)

Beim Studium der hydrolytischen Spaltung der in 4-Stellung substituierten Dihydrouracile zeigte es sich, daß nicht aus allen untersuchten Dihydrouracil-Derivaten durch Hydrolyse die entsprechenden β -Aminosäuren gewonnen werden können. Der Verlauf der Reaktion ist von der Art des Substituenten in 4-Stellung abhängig.

Nach Untersuchungen von H. Weidel und E. Roithner¹⁾ sowie E. Fischer und G. Roeder²⁾ entstehen Dihydrouracile durch Schmelzen von Harnstoff sowohl mit β -Aminosäuren als auch mit α,β -ungesättigten Säuren. Ebenso führt die Umsetzung von β -Aminosäureestern mit Kaliumcyanat²⁾ und die elektrolytische³⁾ und katalytische Reduktion⁴⁾ von Barbitursäuren bzw. Uracilen zu dieser Körperklasse. Andererseits werden Dihydrouracil und 4-Methyl-dihydrouracil durch Hydrolyse mit Salzsäure zu β -Aminopropionsäure bzw. β -Aminobuttersäure gespalten¹⁾.

* I. Mitteil.: L. Birkofer u. J. Storch, Chem. Ber. 86, 32 [1953].

¹⁾ Mh. Chem. 17, 172 [1896].

²⁾ Ber. dtsh. chem. Ges. 34, 3751 [1901].

³⁾ J. Tafel u. A. Weinschenk, Ber. dtsh. chem. Ges. 33, 3383 [1900].

⁴⁾ J. C. Ambelang u. T. B. Johnson, J. Amer. chem. Soc. 61, 74 [1939].