

HELMUT ZAHN und FRANZ SCHADE

Notiz über Hydroxylysin und Allohydroxylysin¹⁾

Aus dem Deutschen Wollforschungsinstitut an der Technischen Hochschule Aachen

(Eingegangen am 29. September 1960)

Bei der Synthese von Hydroxylysin ($\text{H}_2\text{N}\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}(\text{OH})\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}_2\cdot\text{CH}(\text{NH}_2)\cdot\text{CO}_2\text{H}$) nach G. VAN ZYL, E. E. VAN TAMELEN und G. D. ZUIDEMA²⁾ konnten wir früher³⁻⁵⁾ gemachte Erfahrungen und Verbesserungen ausnutzen. Wir modifizierten die mit L. ZÜRN⁴⁾ veröffentlichte Vorschrift lediglich bei der Reduktion des Acetamino- $[\gamma\text{-hydroxy-}\delta\text{-nitro-n-butyl-}]$ malonsäure-diäthylesters zum N_α -Acetyl- α -carbäthoxy-hydroxylysin- δ -lacton dahingehend, daß wir bei der Hydrierung den Wasserstoffdruck von 150 at auf 90–100 at erniedrigten und die Reaktionszeit entsprechend verlängerten.

Die Trennung der Diastereomeren DL-Hydroxylysin und DL-Allohydroxylysin erfolgte durch Überführung in die entsprechenden N_α - N_ϵ -Dicarbobenzoxy-Derivate und deren fraktioniertes Umkristallisieren aus getrocknetem Essigester⁴⁾. Der Schmelzpunkt für das Di-Z^{*)}-DL-allohydroxylysin- δ -lacton liegt bei 148–149°, der früher⁴⁾ angegebene Schmp. von 154–155.5° konnte nicht erreicht werden.

DL-Allohydroxylysin- ϵ -lactam-hydrochlorid-hydrat

Bei der Hydrierung des Di-Z-DL-hydroxylysin- δ -lactons erhielten der eine von uns und L. ZÜRN⁴⁾ als Zwischenprodukt das DL-Hydroxylysin- ϵ -lactam; die entsprechende Allo-Verbindung konnte nicht gefaßt werden. Wir lehnten damals die Existenz dieser Verbindung aus sterischen Gründen ab. Nun konnten wir bei dem entsprechenden Arbeitsgang das DL-Allohydroxylysin- ϵ -lactam-hydrochlorid-monohydrat nachweisen und isolieren; dabei wurde festgestellt, daß das Lactam wesentlich stabiler ist als die analoge DL-Hydroxylysinverbindung. So dauert die Verseifung unter den früher⁴⁾ angegebenen Bedingungen bei der Alloform 340 Stdn., beim Hydroxylysin-lactam dagegen nur 24 Stdn. Weitere Untersuchungen ergaben, daß das Allohydroxylysin-lactam im SBA^{5a)}-Chromatogramm etwa dreimal so weit läuft wie die ring-offene Aminosäure; dasselbe Verhalten findet sich auch beim Hydroxylysin. Analytisch hat das Lactam die gleiche Zusammensetzung wie das Hydrochlorid der Aminosäure, es liegt also als Hydrochlorid-monohydrat vor. Die Aminostickstoffbestimmung nach VAN SLYKE zeigt, daß die Hälfte des Gesamtstickstoffs nicht in der Aminoform vorliegt. Der gefundene, etwas zu hohe Aminostickstoffwert ist wohl darauf zurückzuführen, daß bei der Analyse, die in saurer Lösung ausgeführt wird, eine teilweise Aufspaltung des Lactams eintritt.

1) Teil der Diplomarb. F. SCHADE, Techn. Hochsch. Aachen 1960. V. Mittel. über Hydroxylysin; I. Mittel.: I. c.³⁾; II. Mittel.: H. ZAHN und L. ZÜRN, Biochem. Z. **330**, 89 [1958]; III. Mittel.: I. c.⁴⁾; IV. Mittel.: H. ZAHN und L. ZÜRN, Liebigs Ann. Chem. **613**, 76 [1958].

2) J. Amer. chem. Soc. **73**, 1765 [1951].

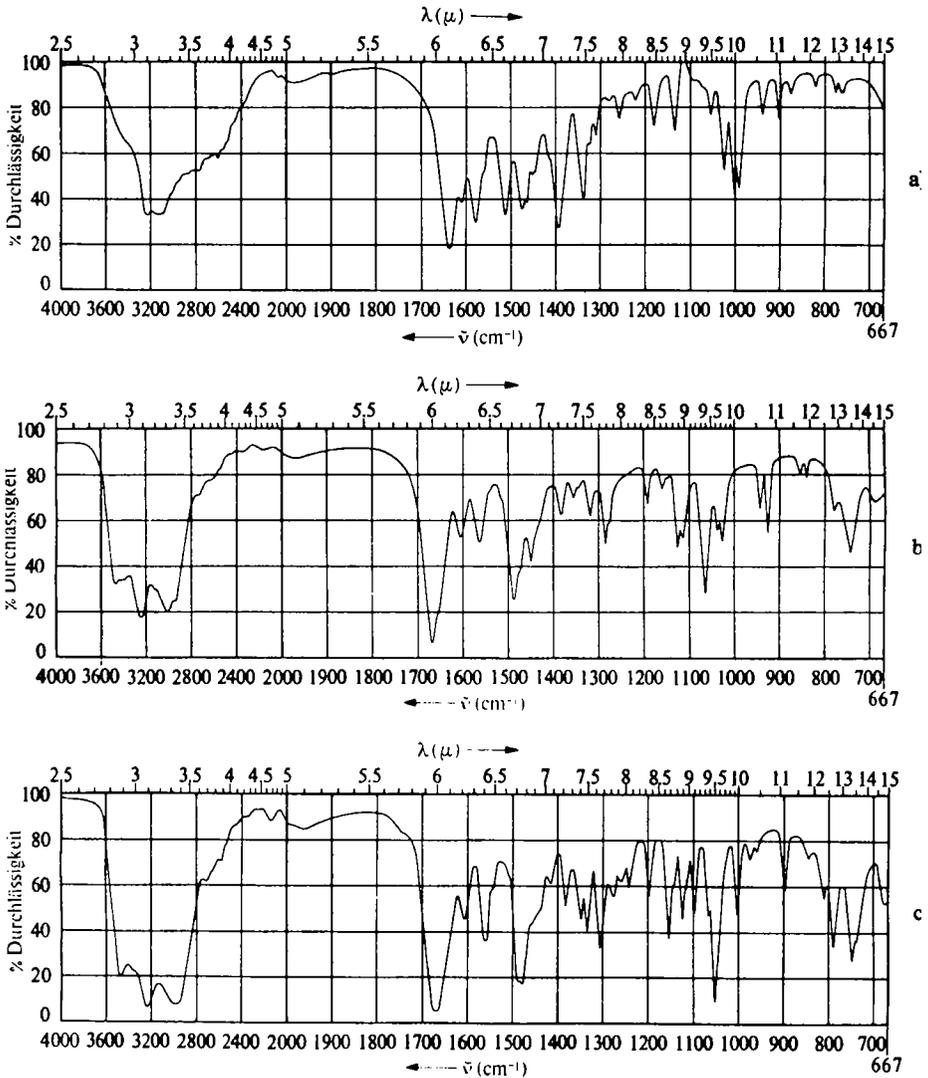
3) H. ZAHN und E. UMLAUF, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **297**, 127 [1954].

4) H. ZAHN und L. ZÜRN, Chem. Ber. **91**, 1359 [1958].

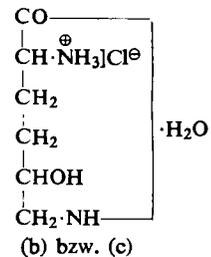
5) Diplomarb. G. C. VON HEYL, Univ. Heidelberg 1957.

5a) SBA: sek.-Butanol/Ameisensäure/Wasser (75:15:10).

*) Mit Z wird hier und in der Folge der Carbobenzoxyrest $\text{C}_6\text{H}_5\cdot\text{CH}_2\text{O}\cdot\text{CO}$ — abgekürzt.



Infrarotspektren von DL-Allohydroxylysin-hydrochlorid (a)
 DL-Allohydroxylysin- ϵ -lactam-hydrochlorid-monohydrat (b)
 und DL-Hydroxylysin- ϵ -lactam-hydrochlorid-monohydrat (c)



Im Gegensatz zu DL-Allohydroxylysin-hydrochlorid zeigt sein Lactam ein anderes Infrarotspektrum (besonders im Bereich 920–1080/cm); ferner ist die Carbonylbande,

die beim DL-Allohydroxylysin bei 1640/cm liegt, beim Lactam nach 1675/cm verschoben⁶⁻⁸⁾.

Die gleiche Differenz findet sich auch beim Vergleich des DL-Hydroxylysin-hydrochlorid-Spektrums mit dem des entsprechenden Lactams.

Auch zum Spektrum des DL-Hydroxylysin- ϵ -lactams bestehen charakteristische Unterschiede, insbesondere im Gebiet von 900—950 und 1000—1200/cm. Für ϵ -Lactame werden, ähnlich wie für offenkettige *N*-monosubstituierte Amide, Absorptionen zwischen 1630 und 1680/cm angegeben. Die entsprechende Absorptionsbande findet sich hier bei 1675/cm.

Weitere Unterschiede zwischen dem DL-Allohydroxylysin und seinem ϵ -Lactam sind in den Debye-Scherrer-Diagrammen festzustellen (s. Versuchsteil).

Durch längere Verseifung des ϵ -Lactams kommt man zur ringoffenen Aminosäure.

Zur Moore-Stein-Analyse des synthetischen Hydroxylysins und des DL-Allohydroxylysins

Abweichend von ZAHN und ZÜRN⁴⁾, die mit Dowex-50 arbeiteten, verwendeten wir als Säulenfüllung Amberlite CG 120 Typ II und hielten die Säule konstant auf 60°. Dabei ergab sich, daß das von uns synthetisierte Hydroxylysin zu 42% aus DL-Hydroxylysin und zu 58% aus DL-Allohydroxylysin besteht. Dieses Ergebnis stimmt recht gut mit den Werten überein, die P. B. HAMILTON und R. A. ANDERSON⁹⁾ fanden. Demgegenüber wurde früher⁴⁾ ein Verhältnis von 51 : 49 gefunden. Innerhalb der Fehlergrenze dieser Analysenmethode würde das bedeuten, daß DL-Hydroxylysin und DL-Allohydroxylysin bei der Synthese in gleicher Menge entstanden sind. Nach Untersuchungen von HAMILTON und ANDERSON über die optische Inversion muß jedoch angenommen werden, daß bei der sauren Verseifung und Decarboxylierung des N_α -Acetyl- α -carbäthoxy-hydroxylysin- δ -lactons Epimerisierung am α -C-Atom stattfindet, die schließlich zum Gleichgewicht von 56% Allo- und 44% DL-Hydroxylysin führt.

Zur Analyse der einzelnen Diastereomeren wurde nun so verfahren, daß zunächst synthetisches Gemisch als Leitsubstanz aufgetragen wurde. Dieser Versuch war notwendig, um festzustellen, ob auch bei dem hier angewandten Ionenaustauscher das Hydroxylysin schneller läuft als die Allo-Form. Es stellte sich heraus, daß bei der Analyse eines Gemischs von gleichen Teilen synthetischen Hydroxylysins und DL-Allohydroxylysins der DL-Hydroxylysin-Peak nicht konstant blieb, sondern um etwa 5—10% zunahm. Wurde DL-Allohydroxylysin allein aufgetragen, so erhielt man nur einen Peak, was darauf schließen läßt, daß die Substanz in reiner Form vorliegt. Die Zunahme des DL-Hydroxylysin-Peaks in den früheren Versuchen, bei denen das synthetische Gemisch als Leitsubstanz verwendet wurde, läßt vermuten, daß die Epimerisierung durch den Temperatureinfluß und schon vorhandenes DL-Hydroxylysin beschleunigt wird.

Acylderivate des nicht fraktionierten Hydroxylysins

Es wurde versucht, Di- und Triacetylderivate nach SCHOTTEN-BAUMANN, sowohl mit Acetanhydrid als auch mit Acetylchlorid, darzustellen. Dabei wurden jedoch nur ölige Reaktionsprodukte erhalten, deren Chromatogramme, in SBA^{5a)} entwickelt, auf zahlreiche nicht quantitativ abgelaufene Reaktionen schließen lassen.

Erfolgreich waren dagegen Versuche zur Herstellung eines Diphthalyl-hydroxylysins in der Schmelzreaktion nach H. BILLMANN und W. F. HARTING¹⁰⁾. Dieses Derivat ist schon früher

6) H. M. RANDALL, R. G. FOWLER, N. FUSON und J. R. DANGL, *Infrared Determination of Organic Structures*, Van Nostrand, New York 1949.

7) N. FUSON, M. L. JOSIEN und R. L. POWELL, *J. Amer. chem. Soc.* **74**, 1 [1952].

8) M. DAVIES und J. C. EVANS, *J. chem. Soc. [London]* **1953**, 480.

9) *J. biol. Chemistry* **213**, 249 [1955].

10) *J. Amer. chem. Soc.* **70**, 1473 [1948].

von J. C. SHEEHAN und W. A. BOLHOFER¹¹⁾ auf anderem Wege bei einer Konstitutionsaufklärung des Hydroxylysins als Zwischenprodukt erhalten, aber nicht näher beschrieben worden.

Ferner konnte durch Umsetzung von *p*-Toluolsulfochlorid mit der synthetischen Aminosäure erstmals ein Ditosyl-hydroxylysin erhalten werden.

Wir danken der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT und dem FONDS DER CHEMIE für die Unterstützung der vorliegenden Arbeit.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

1. *DL-Allohydroxylysin-ε-lactam-hydrochlorid-monohydrat*: Das nach ZAHN und ZÜRN⁴⁾ dicarbobenzoxylierte Hydroxylysin-δ-lacton wurde durch fraktioniertes Umkristallisieren aus getrocknetem Essigester, wobei jeweils die Mutterlauge der schwerer löslichen Fraktion zum Umkristallisieren der etwas leichter löslichen benutzt wurde, in das geschützte *DL*-Hydroxylysin-δ-lacton und *DL*-Allohydroxylysin-δ-lacton aufgetrennt. Das schwerer lösliche⁴⁾ *Di-Z-DL-allohydroxylysin-δ-lacton* wurde in wäßrigem Methanol gelöst und bei Anwesenheit von frisch bereitetem Palladiummohr unter kräftigem Vibrieren so lange hydriert, bis die CO₂-Entwicklung beendet war. Nach dem Abfiltrieren des Katalysators wurde mit *n* HCl auf *p*_H 6.5 angesäuert und i. Vak. eingeeengt. Der Rückstand wurde in wenig eiskaltem Wasser gelöst und durch Äthanol kristallisiert ausgefällt. Schmp. 226–228°.

C₆H₁₂N₂O₂·HCl·H₂O (198.7) Ber. C 36.28 H 7.61 N 14.13 Cl 17.87

Gef. C 36.39 H 7.61 N 14.02 Cl 17.72 Amino-N 7.88

(nach VAN SLYKE)

Debye-Scherrer-Aufnahme (Netzebenenabstände in Å, Intensitäten der Reflexe geschätzt): 7.95 (3); 7.07 (2); 6.19 (1); 5.53 (3); 5.09 (3); 4.12 (10); 3.94 (6); 3.67 (6); 3.22 (4); 3.07 (6); 2.87 (5); 2.72 (3); 2.55 (2); 2.41 (6); 2.27 (4); 1.92 (5).

*R*_{Allohydroxylysin} = 3 (in SBA^{5a}), absteigend).

Pikrat: Schmp. 175° (aus Wasser).

C₆H₁₂N₂O₂·C₆H₃N₃O₇ (373.3) Ber. C 38.61 H 4.05 N 18.76

Gef. C 38.25 H 3.77 N 18.7

2. *Diphthalyl-hydroxylysin*: 0.5 g synthet. *Hydroxylysin-hydrochlorid* und 1 g *Phthalsäureanhydrid* wurden gut miteinander verrieben, in einen Durex-Kolben gegeben und im vorgeheizten Ölbad 30 Min. auf 190–200° erhitzt. Danach ließ man das überschüss. Phthalsäureanhydrid absublimieren. Nach dem Abkühlen wurde der Schmelzkuchen fein zerrieben und aus wäßrigem Äthanol umkristallisiert. Ausb. 450 mg (42.3% d. Th.). Schmp. 242–244°.

C₂₂H₁₈N₂O₇ (422.4) Ber. C 62.55 H 4.29 N 6.63 Gef. C 62.63 H 4.10 N 6.69

3. *Ditosyl-hydroxylysin*: 2 g synthet. *Hydroxylysin-hydrochlorid* wurden in 20 ccm *n* NaOH gelöst und nach Zugabe einer Lösung von 4 g *p*-Toluolsulfochlorid in 20 ccm Äther 4 Stdn. geschüttelt. Nach Abtrennen des Äthers wurde mit konz. Salzsäure auf *p*_H 3 angesäuert. Es fiel ein weißes Kristallpulver aus, das aus wäßr. Äthanol umkristallisiert wurde. Ausb. 300 mg (6.3% d. Th.). Schmp. 136–139°.

C₂₀H₂₅N₂O₇S₂ (469.7) Ber. C 51.15 H 5.37 N 5.83 S 13.65

Gef. C 50.70 H 5.54 N 6.07 S 13.51

4. *Moore-Stein-Analyse von synthet. Hydroxylysin und DL-Allohydroxylysin*: 0.3 mg Substanz wurden in 2 ccm *n*₁₀₀ HCl gelöst und auf eine mit Wassermantel versehene Säule

¹¹⁾ J. Amer. chem. Soc. 72, 2466 [1950].

(0.9 × 150 cm) gebracht, die mit Amberlite CG 120 Typ II, 200 mesh, gefüllt war. Vor jeder Analyse wurde die Säule mit 0.2 *n* NaOH regeneriert und anschließend mit einem Citronensäurepuffer⁴⁾ auf p_H 3.5 eingestellt. Mit Hilfe eines Thermostaten wurde die Temperatur der Mantelflüssigkeit konstant auf 60° gehalten. Das Eluieren der Substanz erfolgte mit einem Phosphat-Puffer von p_H 7.5⁴⁾ bei einer Durchlaufgeschwindigkeit von 6 ccm/Stde. Nach einem Vorlauf von ca. 450 ccm wurden mit Hilfe eines Fraktionssammlers jeweils 2-ccm-Fractionen aufgefangen. Etwa 100 Fractionen wurden mit je 1 ccm des Ninhydrin-Reagenzes nach S. MOORE und W. H. STEIN¹²⁾ versetzt, 15 Min. in einem Glycerinbad gleichmäßig auf 100° erhitzt und mit 10 ccm 50-proz. Methanol aufgefüllt. Die Ausmessung der Ninhydrinfärbung mit dem Eppendorf-Photometer in 1.0-cm-Küvetten aus opt. Spezialglas erfolgte nach Abkühlung auf Raumtemperatur, spätestens jedoch 2 Stdn. nach der Entwicklung.

¹²⁾ J. biol. Chemistry **211**, 907 [1954].

LÁSZLÓ MARKÓ, GYÖRGY BOR und GIZELLA ALMÁSY

Notiz zur Reaktion des Dikobaltoctacarbonyls mit elementarem Schwefel

Aus dem Ungarischen Erdöl- und Erdgas-Forschungsinstitut,
Veszprém, Ungarn

(Eingegangen am 28. Oktober 1960)

Der günstige Einfluß einer Metall-Schwefel Bindung auf die Bildung von Carbonylen der Metalle der Eisengruppe ist seit langem bekannt¹⁾. Im Falle des Eisens konnten W. HIEBER und Mitarbeiter die Verbindungen $Fe_3S_2(CO)_9$ und $Fe_2S_2(CO)_6$ isolieren²⁾, die bei der Synthese von Eisenpentacarbonyl aus metallischem Eisen und Kohlenoxyd in Gegenwart von elementarem Schwefel als Zwischenprodukte auftreten können. Von Kobalt sind dagegen ähnliche Verbindungen bisher nicht isoliert worden. Dies ist um so bemerkenswerter, da bei den Oxo-Prozessen und ähnlichen Verfahren, bei denen Kobaltcarbonyle als Katalysatoren benutzt werden, der Einfluß von Schwefel und Schwefelverbindungen schon Gegenstand zahlreicher Untersuchungen gewesen ist³⁾. Die schon vor längerer Zeit isolierten Kobaltcarbonylkomplexe mit organischen Schwefelverbindungen können nicht zu diesem Typ gerechnet werden⁴⁾.

¹⁾ A. MITTASCH, Z. angew. Chem. **41**, 587, 827 [1928]; W. HIEBER, FIAT Review of German Science 1939–46, Inorganic Chemistry, Part II., S. 115–118; W. HIEBER und E. O. FISCHER, Z. anorg. allg. Chem. **269**, 292 [1952].

²⁾ W. HIEBER und O. GEISENBERGER, Z. anorg. allg. Chem. **262**, 15 [1950]; W. HIEBER und J. GRUBER, ebenda **296**, 91 [1958].

³⁾ E. FIELD, Amer. Pat. 2683177, C. A. **49**, 10999^b [1955]; H. J. HAGENMEYER JR., Amer. Pat. 2691045, C. A. **49**, 14797^f [1955]; V. MACHO, Chem. Zvesti (Bratislava), im Erscheinen.

⁴⁾ W. HIEBER und P. SPACU, Z. anorg. allg. Chem. **233**, 353 [1937].