

75. Synthese einer α, α' -Diamino- β, β' -dioxy-*n*-adipinsäure

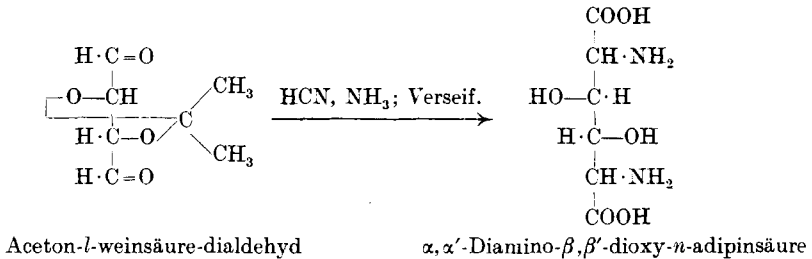
von Hermann O. L. Fischer und Leonhard Feldmann.

(28. III. 36.)

In neuerer Zeit hat sich durch die Arbeiten vor allem von *Dakin*¹⁾, *Schryver* und seiner Schule²⁾, *C. L. A. Schmidt* und Mitarbeitern³⁾, *Abderhalden* und *Heyns*⁴⁾, *F. Knoop* und Mitarbeitern⁵⁾ das Interesse der Physiologen den Oxy-amino-säuren zugewandt. Nachdem uns die Synthese der α -Amino- β, γ -dioxy-*n*-buttersäure (vgl. vorstehende Arbeit) beschäftigt hatte, schien es uns lohnend, weitere Oxy-amino-säuren aufzubauen.

Als Ausgangsmaterial für die Synthese einer Dioxy-diamino-säure haben wir den kürzlich in unserem Laboratorium dargestellten Aceton-*l*-weinsäure-dialdehyd gewählt⁶⁾. Die *Strecker'sche* Reaktion liess sich auf ihn mit doppeltem Effekt anwenden, und wir erhielten eine Diamino-dioxy-dicarbonsäure vom Smp. 255—256° (Zers.) und $[\alpha]_D^{21} = -25,09^\circ$, die von Interesse sein dürfte, weil sie einerseits in nahe Beziehung zur Glucosaminsäure zu bringen ist, andererseits den neuen Typ einer α, α' -Diamino- β, β' -dioxy-dicarbonsäure darstellt.

Wir illustrieren unsere Synthese durch die nachstehenden Formeln:



Dazu ist zu bemerken, dass an den beiden C-Atomen, die die Amino-Gruppen tragen (2 und 5), die Konfiguration natürlich nicht bekannt ist, während die Konfiguration an den Kohlenstoffatomen 3 und 4 sich vom Ausgangsmaterial, dem optisch aktiven Aceton-*l*-weinsäure-dialdehyd herleitet.

¹⁾ Biochem. J. **12**, 290 (1918); **13**, 398 (1919).

²⁾ Proc. Roy. Soc. London [B] **98**, 58 (1925); **99**, 476 (1926); **100**, 360 (1926); **101**, 519 (1927).

³⁾ J. Biol. Chem. **90**, 170 (1931); **92**, 453 (1931); Z. physiol. Ch. **204**, 129 (1932).

⁴⁾ B. **67**, 530 (1934), hieselbst auch Zusammenstellung und Kritik der Literatur.

⁵⁾ *F. Knoop* und Mitarbeiter, Z. physiol. Ch. **239**, 30 (1936).

⁶⁾ *H. O. L. Fischer* und *H. Appel*, Helv. **17**, 1574 (1934).

Wir haben unsere neue Diaminosäure charakterisiert durch ein schwerlösliches, lavendelblaues Kupfersalz und eine Di-phenylisocyanat-Verbindung.

Über die Reaktionen unserer Diaminosäure ist zu sagen, dass ihre verdünnte Lösung beim Kochen mit Ninhydrin eine tiefblaue Färbung gibt. Sie liefert weder mit Phosphorwolframsäure, noch mit Flaviansäure oder Pikrinsäure eine Fällung. Reaktion mit *Hopkin's* Reagens negativ; *Molisch*-Reaktion negativ; *Trommer'sche* Probe und Biuret-Probe negativ.

Herr Dr. *Max Neber* von der physiologisch-chemischen Anstalt der Universität Basel (Direktor Prof. Dr. *S. Edlbacher*) hatte die grosse Freundlichkeit, experimentell zu prüfen, ob sich unsere neue Diaminosäure durch Leber- und Nierenschnitte von Ratten oxydativ desaminieren¹⁾ lässt. Beide Versuche zeigten keinerlei Ammoniakabspaltung und ebensowenig liess sich durch 2,4-Dinitrophenylhydrazin die Bildung einer Keto-säure nachweisen.

Wir danken Herrn Dr. *Neber* herzlich für die freundliche Unterstützung unserer Arbeit.

Experimenteller Teil.

α, α'-Diamino-β, β'-dioxy-n-adipinsäure.

12,7 g Aceton-*d*-dioxy-succindialdehyd²⁾ werden in 130 cm³ trockenem Methylalkohol gelöst und zu der mit Kältemischung gekühlten Lösung 4,4 g (2 Mol) wasserfreie Blausäure gegeben. Das Reaktionsgemisch wird 3 Tage in einer gut verschlossenen Flasche bei 24° Raumtemperatur aufbewahrt. In die auf 0° abgekühlte Lösung wird dann trockenes Ammoniakgas bis zur Sättigung eingeleitet und die gut verschlossene Flasche zwei bis drei Tage lang stehen gelassen. Die Lösung färbt sich dunkelbraunrot. Vor der Verseifung des Aminonitrils verjagt man zweckmässig den grossen Überschuss an Ammoniak durch Einengen der Lösung bei 25—30° (Bad) unter vermindertem Druck, nimmt den Rückstand mit 130 cm³ Methylalkohol auf und lässt die Lösung in 200 cm³ eiskalte konz. Salzsäure unter Eiskühlung und Schütteln langsam einlaufen. Man hebt das Reaktionsgemisch zwei Tage bei 38—40° auf, sättigt dann zur Vervollständigung der Verseifung die Lösung mit Salzsäuregas bei 0°, und lässt sie einen weiteren Tag in der gut verschlossenen Flasche bei der gleichen Temperatur stehen. In der Regel ist die Verseifung des Di-aminonitrils zur Di-aminosäure in dieser Zeit beendet. Zur Isolierung der gebildeten „Di-amino-zuckersäure“ wird die Lösung vom ausgeschiedenen Ammoniumchlorid durch ein Glas-

¹⁾ *H. A. Krebs*, Z. physiol. Ch. **217**, 191 (1933); **218**, 158 (1933).

²⁾ *H. O. L. Fischer* und *H. Appel*, loc. cit.; den als Ausgangsmaterial benötigten 3,4-Mono-aceton-mannit stellten wir uns nach der bequemeren Vorschrift von *P. Brigl* und *H. Grüner*, B. **67**, 1973 (1934) dar.

filter filtriert und dann unter vermindertem Druck bei 35—40° Badtemperatur eingengt. Um die Salzsäure möglichst zu entfernen, löst man den Rückstand in 200 cm³ Wasser und dampft die Lösung unter den gleichen Bedingungen nochmals ein. Der Rückstand wird in 800 cm³ Wasser gelöst und hierzu überschüssiges krystallisiertes Bariumhydroxyd (75—100 g) gegeben, wobei nach Auflösen desselben bald Ammoniak auftritt. Durch Eindampfen der Lösung bei 30° (Bad) unter vermindertem Druck und unter Vorlage von konz. Schwefelsäure wird Ammoniak vertrieben. Den Rückstand löst man in der gleichen Menge Wasser und engt nochmals ein. Diese Operation wiederholt man zwei- bis dreimal und prüft den Rückstand auf Ammoniak, das dann schon meist restlos entfernt ist. War die Verseifung mit Salzsäure nicht vollständig, so wird sie jetzt durch Bariumhydroxyd zu Ende geführt, und man muss das Eindampfen der Barytlösung noch einige Male wiederholen. Der ammoniakfreie Rückstand wird in 1000 cm³ Wasser gelöst und vom Bariumcarbonat abzentrifugiert. Aus der klaren braunen Lösung fällt man das Bariumion sorgfältig quantitativ durch verdünnte Schwefelsäure aus, so dass auch keine Schwefelsäure in der Lösung nachzuweisen ist. Die nunmehr schon hellere Lösung wird von Bariumsulfat abzentrifugiert, mehrmals mit Tierkohle geschüttelt, um die Farbstoffe zu entfernen und filtriert. Zum Schluss wird die Lösung mit einem Überschuss von Silbercarbonat so lange geschüttelt, bis Silberionen in der Lösung auftreten. Nun zentrifugiert man die Lösung vom Silbersalz ab und fällt das noch in Lösung befindliche Silberion mit 0,1-n. Salzsäure vorsichtig aus, so dass weder Silber- noch Chlor-ionen vorhanden sind. Die wässrige Lösung enthält jetzt nur noch die freie „Di-amino-zuckersäure“. Nötigenfalls wird die Lösung noch mit Tierkohle geschüttelt und ist dann wasserhell.

Beim Einengen der Lösung unter vermindertem Druck bei 35° Badtemperatur und Vorlage von konz. Schwefelsäure scheiden sich bald an der Wand farblose Krystalle ab. Der zur Trockne eingedampfte Rückstand wird mit wenig Wasser herausgespült, abgesaugt und über Phosphorpentoxyd im Vakuum-Exsikkator getrocknet. Die Ausbeute beträgt 2,25 g oder 12,5% der Theorie.

Die Diaminosäure ist in den üblichen organischen Lösungsmitteln wie Alkohol, Methylalkohol, Butylalkohol, Benzol, Äther, Petroläther und Essigester sowohl in der Kälte wie in der Wärme unlöslich; in Wasser ist sie schwerlöslich, und zwar ergab ein Versuch, bei dem die feingepulverte Substanz 20 Stunden bei 25° auf der Maschine geschüttelt wurde, eine Löslichkeit von 1 Teil in 2000 Teilen Wasser. Zur Reinigung wird die Diaminozuckersäure in der 400-fachen Menge siedenden Wassers gelöst, mit Tierkohle gekocht und heiss filtriert, dann gibt man wenige Tropfen Eisessig zur Neu-

tralisation des mitgeschleppten Alkali hinzu und verdünnt die Lösung mit dem halben Volumen Alkohol. Beim Abkühlen und Anreiben krystallisiert die Diaminosäure alsbald in feinen langgestreckten, sechseckigen Prismen, die teilweise zu sternförmigen Büscheln vereinigt sind.

Zur Analyse wurde das Präparat noch zweimal in der gleichen Weise umgelöst und bei 100° im Vakuum über Phosphorperoxyd getrocknet.

In der geschlossenen Kapillare schmilzt die Substanz bei 255 bis 256° unter Zersetzung; vorher tritt bei etwa 235° allmähliche Braunfärbung ein.

4,862 mg Subst. gaben 6,090 mg CO₂, 2,500 mg H₂O und 0,036 mg Rst.

2,444 mg Subst. gaben 0,228 cm³ N₂ (24°, 743 mm)

C₈H₁₂O₆N₂ (208) Ber. C 34,6 H 5,8 N 13,5%

Gef. „ 34,44 „ 5,8 „ 13,23%

Zur Analyse nach *van Slyke* wurde die Substanz in 1-n. Lauge gelöst und dann im Nitrit-Eisessig-gemisch 5 Minuten geschüttelt:

2,382 mg; 2,382 mg Subst., $v = 0,225$; 0,230 cm³

Ber. N 13,5 Gef. N 10,82; 11,07%

Die optische Bestimmung wurde in Salzsäurelösung ausgeführt. 0,0524 g Subst. werden mit 0,75 cm³ (ber. 0,48 cm³) n. Salzsäure auf 2 cm³ mit Wasser aufgefüllt.

$$\alpha_D^{23} = -0,63^\circ$$

$$[\alpha]_D^{23} = (-0,63^\circ \times 2) : (1 \times 0,0524) = -24,1^\circ$$

Ein anderes Präparat ergab:

0,0558 g Subst. mit 0,8 cm³ n. Salzsäure auf 2 cm³ mit Wasser aufgefüllt.

$$\alpha_D^{21} = -0,70^\circ$$

$$[\alpha]_D^{21} = (-0,70^\circ \times 2) : (1 \times 0,0558) = -25,09^\circ$$

Das Verhalten der Substanz gegenüber den wichtigsten Aminosäure-Reagentien ist bereits in der Einleitung beschrieben.

Kupfersalz der α, α' -Diamino- β, β' -dioxyn-adipinsäure.

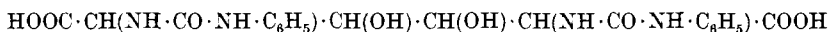
Zur Bereitung des Kupfersalzes wird die Diaminosäure in wenig Wasser suspendiert und durch einen kleinen Überschuss n. Natronlauge in Lösung gebracht. Hierzu gibt man tropfenweise das gleiche Volumen einer Kupferacetat-Lösung, die einen geringen Überschuss an Kupferion enthält. Nach Zugabe etwa der halben Menge fällt das lavendelblaue Kupfersalz der Diaminosäure aus. Zum Schluss gibt man einige Tropfen 50-proz. Essigsäure zu. Nach einstündigem Stehen im Eisschrank wurde zentrifugiert, der Rückstand zweimal durch Aufschlämmen in 20 cm³ Wasser und Zentrifugieren gewaschen. Infolge der ausserordentlichen Schwerlöslichkeit des Kupfersalzes in Wasser wurde die Reinigung durch Umfällen aus einer ammoniakalischen Lösung durch Essigsäure vollzogen.

Zur Analyse wurde das Kupfersalz bei 56° im Vakuum getrocknet. Nach dem Analysenergebnis enthält es ein Mol Krystallwasser.

3,095; 2,875 mg Subst. gaben 0,260; 0,244 cm³ N₂ (23°, 761 mm; 25,5°, 761 mm)
0,0704 g Subst. gaben 0,0199 g CuO

C ₆ H ₂₀ O ₆ N ₂ Cu + H ₂ O (287,7)	Ber. N 9,84	Cu 22,1%
	Gef. „ 9,68; 9,72	„ 22,58%

Di-phenylisocyanat-Verbindung der Diaminosäure.



0,5 g Diaminosäure werden in 4,8 cm³ (2 Mol) n. Natronlauge gelöst und mit 0,7 g (mehr als 2 Mol) Phenylisocyanat bei 0° in Reaktion gebracht. Das Phenylisocyanat wird tropfenweise eingetragen und das Reaktionsgemisch jedesmal bis zum Verschwinden des Geruches geschüttelt, so dass diese Operation in 1¼ bis 1½ Stunden beendet ist. Der sich gegen Ende der Umsetzung abscheidende Diphenylharnstoff wird durch Ausschütteln mit sehr viel Äther entfernt und die filtrierte wässrige Lösung bei 0° mit 5-n. Salzsäure bis zur kongosauren Reaktion angesäuert, wozu 0.6 cm³ benötigt werden. Die aus dem Natriumsalz freigelegte Verbindung scheidet sich zunächst als eine milchige Trübung aus, die sich bald zu einem zähen Klumpen zusammenballt. Man lässt dieses Produkt entweder im Eisschrank oder im Vakuumexsikkator über konz. Schwefelsäure 2—3 Tage stehen, wobei die Substanz allmählich erstarrt; die feste Masse wird zerkleinert und kann bequem auf der Nutsche abgesaugt werden. Die Ausbeute beträgt 0,7 bis 0,85 g, d. h. bis 81% der Theorie. Lässt man die Lösung weiter im Exsikkator eindunsten, so krystallisiert wieder Substanz aus und die Ausbeute wird nahezu quantitativ. Das Präparat ist in den üblichen organischen Solventien unlöslich, mit Ausnahme von Methyl- und Äthylalkohol; im letzteren löst sie sich in der Kälte im Verhältnis von etwa 1 : 100.

In kaltgesättigter Kaliumbicarbonatlösung löst sich die Substanz leicht, was darauf schliessen lässt, dass die Carboxylgruppen frei vorliegen.

Um das Präparat analysenrein zu erhalten, wurden 0,25 g Substanz in 25 cm³ absolutem Alkohol bei Raumtemperatur möglichst rasch gelöst, filtriert und mit 200—250 cm³ Ligroin versetzt. Die durch das Ausfallen der Substanz trübe Lösung wird angerieben und im Eisschrank aufbewahrt. Nach 2—4 Tagen ist die an den Reibstellen angesetzte Substanz fest und wird abgesaugt. Die bei 56° im Vakuum getrocknete Substanz wurde noch einmal in der oben beschriebenen Weise umgelöst und, nach dem Trocknen unter 0,2 mm Druck bei 100° bis zur Gewichtskonstanz, analysiert. Ausbeute etwa 88 mg. Beim langsamen Erhitzen der Substanz in der Kapillare tritt bei 181—183° Zersetzung ein; von etwa 170° an ist eine Verfärbung bis dunkelbraun zu beobachten. In Kaliumbicarbonatlösung ist das Präparat restlos löslich.

4,418; 5,149 mg Subst. gaben 8,685; 10,185 mg CO₂ und 1,990; 2,320 mg H₂O und 0,015; 0,018 mg Rst.

2,280; 3,336 mg Subst. gaben 0,245; 0,367 cm³ N₂ (23°, 760 mm; 25°, 758 mm)

C₂₀H₂₂O₈N₄ (446) Ber. C 53,8 H 4,97 N 12,55%
 Gef. „ 53,81; 54,16 „ 5,05; 5,06 „ 12,39; 12,57%
 $[\alpha]_D^{16} = (+ 0,16^{\circ} \times 2) : (1 \times 0,0119) = + 26,9^{\circ} (\pm 2^{\circ})$ (in absolutem Alkohol)

Wie das Analysenergebnis in Übereinstimmung mit der Löslichkeit in Kaliumbicarbonatlösung zeigt, haben wir die Diphenylisocyanat-Verbindung der Diaminozuckersäure in einer Form erhalten, in der die Carboxylgruppen frei sind. Wir möchten jedoch nicht versäumen darauf hinzuweisen, dass beim Umlösen von verhältnismässig grösseren Mengen, sowie bei höherer Temperatur die Substanz zur Lactonbildung neigt, und man ein Gemisch von freier Säure, Säurelacton und Dilacton erhält, welche Möglichkeit durch die Konfiguration der vorliegenden Dioxy-diamino-dicarbonensäure, in der sich beide Hydroxyle in γ -Stellung zu den entsprechenden Carboxylen befinden, gegeben ist. Im Zersetzungspunkt wurde kein wesentlicher Unterschied beobachtet, jedoch lösten sich die Präparate nicht mehr vollständig in Bicarbonat.

Basel, Anstalt für organische Chemie und
 Pharmazeutische Anstalt.
 Berlin, Chemisches Institut der Universität.

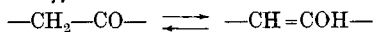
76. Bestimmung der Zahl der austauschenden Wasserstoffatome bei Strychnin, Vomycin und Phloroglucin

von H. Erlenmeyer, A. Epprecht und H. Lobeck.

(28. III. 36.)

Die austauschenden Wasserstoffatome einer Verbindung erfahren beim Auflösen des Stoffes in Deuterio-oxyd¹⁾ durch Platzwechsel mit den D-Atomen des Lösungsmittels eine D-Besetzung in einem Umfange, der von dem Gehalt des Lösungsmittels an D₂O und von den Dissoziationsverhältnissen abhängt. Die beim Abkühlen einer solchen Lösung sich abscheidende Substanz enthält eine entsprechende Zahl von D-Atomen in der Molekel.

Die durch Verbrennen einer solchen Substanz und durch Isotopenanalyse des Verbrennungswassers zu ermittelnde Zahl von austauschenden Wasserstoffatomen ist nicht in jedem Fall gleich der Zahl der „aktiven“ Wasserstoffatome, wie sie z. B. nach der Methode von *Zerewitinoff* zu ermitteln ist. Eine enolisierbare Gruppe



ergibt z. B. ein „aktives“ Wasserstoffatom, aber zwei „austauschende“ Wasserstoffatome.

¹⁾ Ein definiertes Deuterio-oxyd-Dioxan-Gemisch wäre ebenso verwendbar.