

69. Versuche zur Synthese des β -Biotins. (Vitamin H.)

3. Mitteilung.

Synthese von 4-Methyl-5-(ω -carboxy-n-pentyl)-2-oxo-tetrahydroimidazol und 4-Methyl-5-(ω -carboxy-n-butyl)-2-oxo-tetrahydroimidazol (*d,l*-Desthiobiotin und *d,l*-nor-Desthiobiotin)

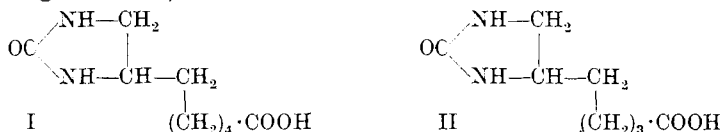
von J.-P. Bourquin, O. Schnider und A. Grüssner.

(24. III. 45.)

In der 2. Mitteilung¹⁾ wurden die beiden möglichen stereoisomeren racemischen Desthiobiotine, das *d,l*- ψ -Desthiobiotin und das *d,l*-Desthiobiotin in bezug auf ihre Zugehörigkeit zu den stereoisomeren β -Biotinen besprochen. Die folgende Tabelle orientiert über die Schmelzpunkte und das mikrobiologische Verhalten dieser Verbindungen an Kulturen von *Saccharomyces cerevisiae*²⁾ im Vergleich zu dem Desthiobiotin, das von *du Vigneaud* aus natürlichem β -Biotin erhalten worden war.

Substanz	Smp. der freien Säure	Smp. des Methylesters	Biologische Aktivität
1. Natürliches, optisch aktives Desthiobiotin (<i>du Vigneaud</i>)	156—158 ^{0 3)}	69—70 ^{0 4)}	aktiv
2. Synthetisches <i>d,l</i> -Desthiobiotin	141—142 ⁰	63—65 ⁰	aktiv
3. Synthetisches <i>d,l</i> - ψ -Desthiobiotin ⁵⁾	148—149 ⁰	96—97 ⁰	inaktiv

*Du Vigneaud*⁶⁾ hat auch die zwei niedrigeren Homologen des *d,l*-Desthiobiotins und des *d,l*-nor-Desthiobiotins, nämlich das 5-(ω -Carboxy-n-pentyl)-2-oxo-tetrahydroimidazol I und das 5-(ω -Carboxy-n-butyl)-2-oxo-tetrahydroimidazol II dargestellt und biologisch unwirksam gefunden⁶⁾.



Es ist uns gelungen, das biologisch aktive Desthiobiotin III, das von *du Vigneaud* aus natürlichem β -Biotin durch Entschwefelung mit

¹⁾ 2. Mitteilung, Helv. **23**, 517 (1945).

²⁾ K. Dittmer, D. B. Melville und V. du Vigneaud, Sci. **99**, 204 (1944).

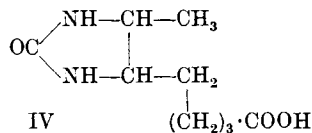
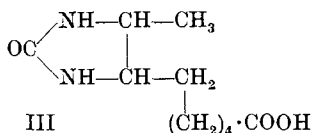
³⁾ D. B. Melville, Am. Soc. **66**, 1422 (1944).

⁴⁾ V. du Vigneaud, D. B. Melville, K. Folkers, D. E. Wolf, R. Mazingo, J. C. Keresztesy und S. A. Harris, J. Biol. Chem. **146**, 475 (1943).

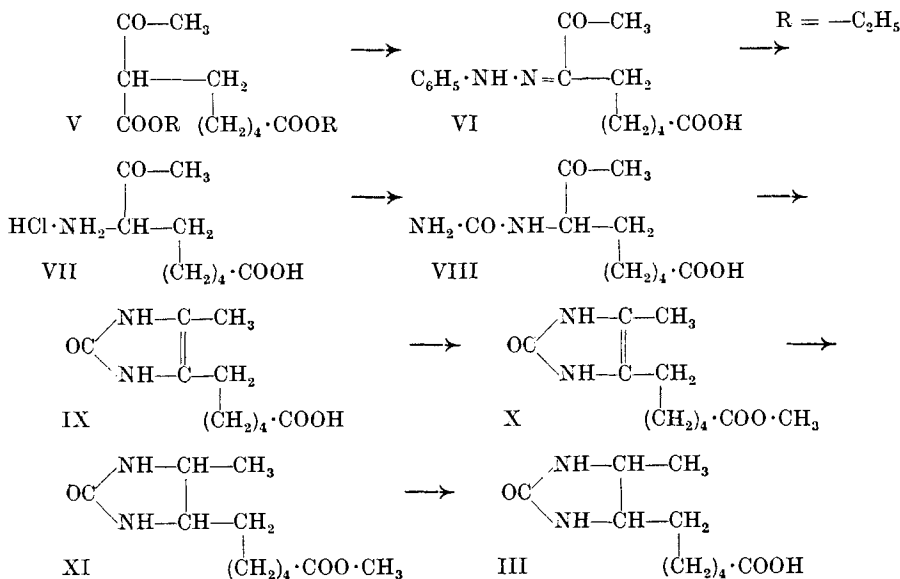
⁵⁾ Siehe 2. Mitteilung, Helv. **23**, 517 (1945).

⁶⁾ V. du Vigneaud und K. Dittmer, Sci. **100**, 130 (1944).

Raney-Nickel erhalten worden war, in Form der Racemverbindung auch auf synthetischem Wege darzustellen. Nach dem gleichen Gang wurde auch das nor-Desthiobiotin IV erhalten, welches in der Seitenkette um eine Methylengruppe ärmer ist.



Die biologische Prüfung¹⁾ dieser zwei Substanzen zeigte, dass das synthetische *d,l*-Desthiobiotin auf *Saccharomyces cerevisiae* β -Biotinwirkung ausübt. Dagegen ist das *d,l*-nor-Desthiobiotin völlig inaktiv.



Unsere Synthese ging vom α -Aceto-korksäure-diäthylester V aus, welchen wir aus Acetessigester und ω -Brom-capronsäure-äthylester erhielten. Er ging beim Verrühren mit Kalilauge und Kuppeln mit diazotiertem Anilin in das 7-Phenylhydrazon der 7,8-Diketo-pelargon-säure VI über. Das Phenylhydrazon VI wurde in salzsaurer Lösung unter gewöhnlichem Druck bei Anwesenheit von Palladiumkohle katalytisch zum Amino-hydrochlorid VII hydriert. Mit Kaliumcyanat wurde das Hydrochlorid der 7-Amino-8-keto-pelargonsäure VII in das entsprechende Ureid VIII übergeführt, welches sofort unter Wasserabspaltung und Ringschluss das Imidazolone IX lieferte. Die freie Säure IX wurde mit Methanol und Salzsäuregas zum Methyl-ester X

¹⁾ Die Auswertung wurde in unserer mikrobiologischen Abteilung (Dr. M. Walter und Fräulein I. Weiss) ausgeführt. Das Ergebnis wurde von Herrn Prof. Dr. Schopfer in Bern, dem wir auch an dieser Stelle unseren besten Dank aussprechen, bestätigt.

verestert und bei 200° unter 230 Atm. H₂-Druck mit Kieselgur-Nickel zum Imidazolidon-methylester XI hydriert. Mit Bariumhydroxyd konnte der Methylester des *d,l*-Desthiobiotins XI zum *d,l*-Desthiobiotin III verseift werden.

Die Druckhydrierung gelang auch mit dem Natriumsalz des Imidazolons IX, wobei das Natriumsalz des *d,l*-Desthiobiotins erhalten wurde.

Das in guter Ausbeute erhaltene *d,l*-Desthiobiotin III zeigte nach mehrmaligem Umlösen aus Wasser oder Isopropylalkohol den unveränderten Schmelzpunkt von 134,5—135°, klarer Schmelzpunkt ab 145° (*Kofler*-Block 141—142°). Aus der Mutterlauge konnte ein Krystallinat vom Smp. 154—155°, sint. ab 146° (*Kofler*-Block 160—162°), isoliert werden. Beide Verbindungen gaben die für das Desthiobiotin C₁₀H₁₈O₃N₂ errechneten Analysenwerte.

Für die Synthese des *d,l*-nor-Desthiobiotins IV wurde als Ausgangsprodukt an Stelle des ω-Brom-capronsäure-äthylesters der δ-Brom-valeriansäure-äthylester verwendet.

Experimenteller Teil.

α-Aceto-korksäure-diäthylester V.

Zu 4,6 g Natrium, gelöst in 80 cm³ absolutem Äthanol, wurden unter Eiskühlung 52 g Acetessigester und hierauf 44,6 g ω-Brom-capronsäure-ester zugetropft. Nach Zugabe einer Spur Natriumjodid wurde am Rückfluss bei einer Temperatur von 80—90° 9 Stunden lang erwärmt. Vom Natriumbromid wurde abgenutscht und wie üblich aufgearbeitet, wobei 73 g α-Aceto-korksäure-diäthylester V vom Sdp._{12 mm} 185—187° erhalten wurden.

α-Aceto-pimelinsäure-diäthylester. Aus 105 g δ-Brom-valeriansäure-ester und 130 g Acetessigester wurden 32 g α-Aceto-pimelinsäure-diäthylester vom Sdp._{12 mm} 175—179° erhalten.

7-Phenylhydrazon der 7,8-Diketo-pelargonsäure VI.

In Anlehnung an die von *Feofilaktov*¹⁾ für Monocarbonsäuren beschriebene Methode wurden unter Eiskühlung 27,2 g α-Aceto-korksäure-ester während 24 Stunden mit 12 g Ätzkali in 400 cm³ Wasser verrührt. Am anderen Tag wurde die Lösung durch Hinzufügen von ca. 46 cm³ 3-n. Salzsäure lackmussauer gestellt.

Daneben wurden 9,3 cm³ Anilin mit 52 cm³ Wasser und 26 cm³ konz. Salzsäure übergossen. Nach Zugabe von 90 g Eis tropfte man unter äusserer Kühlung 7 g Natriumnitrit in 28 cm³ Wasser gelöst zu. Ausserdem wurde noch eine Pufferlösung, bestehend aus 34 g Natriumacetat, gelöst in 120 cm³ Wasser, vorbereitet.

Zu der eben neutralisierten Lösung der Aceto-korksäure wurden unter Eiskühlung auf einmal die Diazolösung und die Pufferlösung zugegeben. Ein gelbes Öl, welches allmählich fest wurde, fiel aus. Die Krystallisation konnte durch Zugabe von 50 cm³ Äther beschleunigt werden. Nach 3-stündigem Rühren wurde abgenutscht und aus Methanol umgelöst. Es wurden 22 g vom Smp. 138—139° erhalten.

C ₁₅ H ₂₀ O ₃ N ₂	Ber. C 65,17	H 7,29	N 10,16%
	Gef. „ 65,03	„ 7,45	„ 9,76%

¹⁾ *W. W. Feofilaktov, C. 1940, II, 617, 1279.*

6-Phenylhydrazon der 6,7-Diketo-caprylsäure. Aus 51,6 g α -Aceto-pime-linsäure-diäthylester wurden 38,0 g 6-Phenylhydrazon der 6,7-Diketo-caprylsäure vom Smp. 160—161° erhalten.

$C_{14}H_{18}O_3N_2$	Ber. C 64,08	H 6,91	N 10,68%
	Gef. ,, 63,85	,, 6,94	,, 10,61%

4-Methyl-5-(ω -carboxy-n-pentyl)-2-oxo-dihydro-imidazol IX.

13,8 g 7-Phenylhydrazon der 7,8-Diketo-pelargonsäure, gelöst in 150 cm³ Methanol und 50 cm³ Wasser, wurden nach Zugabe von 9 cm³ konz. Salzsäure mit Palladiumkohle (0,2 g Pd) bei gewöhnlichem Druck hydriert. Nach Abnutschen der Palladiumkohle und Einengen des Filtrates wurde der Rückstand, das Hydrochlorid VII, in 75 cm³ Wasser gelöst und mit 12 g Kaliumcyanat in 25 cm³ Wasser langsam versetzt. Dabei soll durch Zugabe von verdünnter Salzsäure die Reaktion stets schwach kongosauer gehalten werden. Das entstandene Ureid VIII verlor sofort 1 Mol Wasser und ging unter Ringschluss in das Imidazol IX über. Nach 2-stündigem Rühren wurde abgenutscht. Durch Lösen in verdünntem Ammoniak konnte die Imidazol-carbonsäure IX vom Phenylharnstoff getrennt werden. Nach dem Ansäuern wurde das Filtrat etwas eingengt, der Krystallbrei abgenutscht und aus Methanol umgelöst. Smp. 167—169°.

$C_{10}H_{16}O_3N_2$	Ber. C 56,57	H 7,60	N 13,20%
	Gef. ,, 55,95	,, 7,66	,, 13,41%

4-Methyl-5-(ω -carboxy-n-butyl)-2-oxo-dihydro-imidazol. Aus 52,4 g 6-Phenylhydrazon der 6,7-Diketo-caprylsäure wurden 13,6 g Säure vom Smp. 214—216° erhalten.

$C_9H_{14}O_3N_2$	Ber. C 54,52	H 7,12%
	Gef. ,, 54,54	,, 7,09%

4-Methyl-5-(ω -carbomethoxy-n-pentyl)-2-oxo-dihydro-imidazol X.

Aus 13,6 g 4-Methyl-5-(ω -carboxy-n-pentyl)-2-oxo-dihydro-imidazol IX wurden nach Veresterung mit methanolischer Salzsäure bei 0° 9,2 g 2mal umgelöster Methylester X erhalten. Er schmilzt, aus Methanol umgelöst, nach vorherigem sehr starkem Sintern bei 193—195°.

$C_{11}H_{18}O_3N_2$	Ber. C 58,39	H 8,01%
	Gef. ,, 58,16	,, 7,85%

4-Methyl-5-(ω -carbomethoxy-n-butyl)-2-oxo-dihydro-imidazol. 12,7 g 4-Methyl-5-(ω -carboxy-n-butyl)-2-oxo-dihydro-imidazol gaben 10,2 g Methylester vom Smp. 194,5—197°, mit vorherigem starkem Sintern.

$C_{10}H_{16}O_3N_2$	Ber. C 56,59	H 7,59%
	Gef. ,, 56,77	,, 7,43%

4-Methyl-5-(ω -carbomethoxy-n-pentyl)-2-oxo-tetrahydro-imidazol XI
bzw. *d, l*-Desthiobiotin-methylester.

8,7 g des Imidazol-methylesters X wurden in 40 cm³ Methanol gelöst und mit 3 g Kieselgur-Nickel¹⁾ während 3 Stunden bei 200° C unter 210—230 Atm. Wasserstoffdruck hydriert. Nach Abnutschen des Kieselgur-Nickels und Einengen der Lösung konnte das zurückbleibende dicke Öl im Hochvakuum ohne Zersetzung destilliert werden. Sdp._{0,03 mm} 194—197°. Man erhielt dabei 6,5 g Imidazolidon-methylester XI, welcher allmählich fest wird und aus absolutem Äther umgelöst wurde. Smp. 60—63° (Kofler-Block Smp. 63—65°).

$C_{11}H_{20}O_3N_2$	Ber. C 57,87	H 8,83%
	Gef. ,, 58,06	,, 8,75%

4-Methyl-5-(ω -carbomethoxy-n-butyl)-2-oxo-tetrahydro-imidazol, bzw. *d, l*-nor-Desthiobiotin-methylester. 4,2 g 4-Methyl-5-(ω -carbomethoxy-n-

¹⁾ H. Adkins und C. F. Winans, Am. Soc. 55, 4172 (1933).

butyl)-2-oxo-dihydro-imidazol wurden unter Druck hydriert. Der rohe ölige Rückstand konnte nicht ohne Zersetzung destilliert werden. Er krystallisiert nur sehr schwer. Der rohe Methylester wurde deshalb mittels 6,3 g Bariumhydroxyd verseift und die freie Säure nach Umlösen aus Wasser, bzw. Isopropylalkohol mit Diazomethan wieder verestert. Smp. 66—67° (aus Methanol). (*Kofler-Block Smp.* 64—65°.)

$C_{10}H_{18}O_3N_2$	Ber. C 56,05	H 8,47%
	Gef. ,, 56,14	,, 8,43%

4-Methyl-5-(ω -carboxy-n-pentyl)-2-oxo-tetrahydro-imidazol III,
bzw. *d, l*-Desthiobiotin.

8,8 g *d, l*-Desthiobiotin-methylester wurden mit 18,3 g Bariumhydroxyd in 300 cm³ Wasser gelöst und $\frac{1}{2}$ Stunde lang am Rückfluss auf 120° erwärmt. Nach dem Ansäuern mit Schwefelsäure wurde das ausgefallene Bariumsulfat heiss durch ein Kohlefilter abgenutscht. Beim Einengen im Vakuum bei 40° fiel das *d, l*-Desthiobiotin aus. Es wurde aus Wasser oder Isopropylalkohol umgelöst. Erhalten wurden 4,5 g vom Smp. 134,5 bis 135°, klarer Smp. ab 145°. (*Kofler-Block Smp.* = 141—142°.)

$C_{10}H_{18}O_3N_2$	Ber. C 56,05	H 8,47%
	Gef. ,, 56,11	,, 8,44%

Weder durch nochmaliges Umkrystallisieren aus Wasser oder Isopropylalkohol noch durch Lösen in Ammoniak und Fällen mit verdünnter Salzsäure konnte der Schmelzpunkt erhöht werden. Aus der Mutterlauge wurde eine Substanz vom Smp. 154—155° (schwaches Sintern ab 146°) isoliert (*Kofler-Block Smp.* 160—162°). Die Mikroverbrennung gab auch für diese Verbindung auf Desthiobiotin stimmende Werte.

$C_{10}H_{18}O_3N_2$	Ber. C 56,05	H 8,47	N 13,07%
	Gef. ,, 56,22	,, 8,59	,, 12,80%

Hydrierung als Natriumsalz. 2,8 g 4-Methyl-5-(ω -carboxy-n-pentyl)-2-oxo-dihydro-imidazol IX wurden in 50 cm³ Wasser mit 2-n. Sodalösung genau lackmusneutral gestellt. Nach Zugabe von 5 g Kieselgur-Nickel und 20 cm³ Wasser wurde bei 200° unter 200 Atm. hydriert. Nach Abnutschen des Kieselgur-Nickels und Einengen im Vakuum bei 40° bis zu $\frac{1}{3}$ des Volumens wurde mit Essigsäure angesäuert, wobei das *d, l*-Desthiobiotin III ausfiel. Durch Auflösen in Ammoniak und Ausfällen mit Essigsäure konnte die Substanz gereinigt werden. Man löste sie noch aus Wasser und Isopropylalkohol un. Smp. 134,5—135°, klarer Smp. ab 145°. (*Kofler-Block Smp.* 141—142°.)

$C_{10}H_{18}O_3N_2$	Ber. C 56,05	H 8,47	N 13,07%
	Gef. ,, 56,14	,, 8,24	,, 12,80%

4-Methyl-5-(ω -carboxy-n-butyl)-2-oxo-tetrahydro-imidazol, bzw. *d, l* nor-Desthiobiotin. Das nach der Hochdruckhydrierung erhaltene rohe Öl wurde mit Bariumhydroxyd verseift und die freie Säure aus Wasser, bzw. Isopropylalkohol umgelöst. Smp. 152—154°. (*Kofler-Block Smp.* 158—160°.)

$C_9H_{16}O_3N_2$	Ber. C 53,98	H 8,05	N 13,98%
	Gef. ,, 53,83	,, 8,00	,, 13,62%

Wissenschaftliches Laboratorium der
F. Hoffmann-La Roche & Co., A.-G., Basel.