

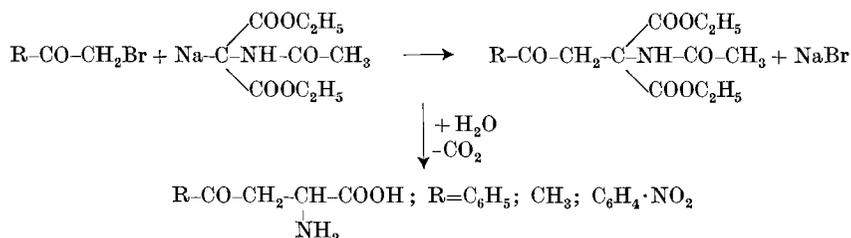
## 51. Zur Darstellung von $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -ketocarbonsäuren durch Kondensation von $\alpha$ -Ketonmonobromiden mit Natriumacetaminomalonester<sup>1)</sup>

von O. Wiss<sup>2)</sup> und H. Fuchs.

(22. XII. 51.)

Zur Charakterisierung der Kynureninase, jenes Enzymes, das im tierischen Organismus Kynurenin und 3-Oxy-kynurenin in Alanin und Anthranilsäure bzw. in 3-Oxyanthranilsäure zerlegt, benötigten wir ausser Kynurenin einige Modells-substanzen mit kynureninähnlicher Struktur. Es wurden deshalb die Aminoketosäuren,  $\beta$ -Benzoylalanin ( $C_6H_5CO-CH_2-CHNH_2-COOH$ ),  $\beta$ -Acetylalanin ( $CH_3CO-CH_2-CHNH_2-COOH$ ) und die entsprechenden Oxyverbindungen,  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -oxy- $\gamma$ -phenylbuttersäure ( $C_6H_5-CHOH-CH_2-CHNH_2-COOH$ ) und  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -oxyvaleriansäure ( $CH_3-CHOH-CH_2-CHNH_2-COOH$ ), dargestellt. Über den biologischen Abbau haben wir früher berichtet<sup>3)</sup>.

$\beta$ -Benzoylalanin wurde schon früher von *Kotake*<sup>4)</sup> durch Kondensation von Oxalester mit Acetophenon synthetisiert. Das Verfahren lieferte jedoch unbefriedigende Ausbeuten. Wir haben deshalb zur Darstellung der genannten Aminoketosäure das Prinzip der *Sörensen*'-schen Aminosäure-Synthese angewendet, das auch von *Butenandt* und Mitarbeitern<sup>5)</sup> bei der Synthese des Kynurenins benutzt wurde.



<sup>1)</sup> Mit Unterstützung der *Emil-Barell-Stiftung zur Förderung der medizinisch-wissenschaftlichen Forschung*.

<sup>2)</sup> Gegenwärtige Adresse: *Max-Planck-Institut* für Biochemie, Tübingen, Gmelin-strasse 8.

<sup>3)</sup> *O. Wiss & H. Fuchs*, *Exper.* **6**, 472 (1950); *Helv.* **32**, 2553 (1949); *O. Wiss*, *Z. f. N.*, im Druck.

<sup>4)</sup> *Y. Kotake* u. Mitarb., *Z. Physiol. Ch.* **270**, 76 (1941).

<sup>5)</sup> *A. Butenandt, W. Weidel, R. Weichert & W. v. Derjugin*, *Z. Physiol. Ch.* **279**, 27 (1943); *A. Butenandt & I. Neckel*, *Z. Physiol. Ch.* **281**, 120 (1944). Neuerdings wurde von *A. Butenandt & H. Hallmann* eine mit besserer Ausbeute verlaufende Kynurenin-Synthese beschrieben, deren Wesen in einer Kondensation von Oxalester mit *o*-Nitroacetophenon liegt *Z. f. N.* **5b**, 444 (1950).

Zu diesem Zweck haben wir Acetaminomalonester mit geeigneten Brom-Ketonen kondensiert.

Zur Darstellung von  $\beta$ -Benzoylalanin und  $\beta$ -Acetylalanin gelangen Phenacylbromid bzw. Bromaceton mit Natrium und Acetaminomalonester zur Umsetzung. Bei Verwendung von absolutem Alkohol als Lösungsmittel kann kein kristallines Kondensationsprodukt gefasst werden. Saure Verseifung bei gleichzeitiger Decarboxylierung des Kondensationsproduktes liefert die  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -ketocarbonsäuren in schlechter Ausbeute. Zweckmässigerweise geht man von Natriumacetaminomalonester aus. Acetaminomalonester wird durch Natrium in absolutem Alkohol im Verlauf von ca. 12 Stunden vollkommen metalliert. Vollständige Entfernung des Alkoholes und Umsetzung des so dargestellten Natriumacetaminomalonesters mit der Halogenkomponente in absolutem Benzol führt in guten Ausbeuten zu kristallinem Kondensationsprodukt. Es ist wichtig, dass an dieser Stelle sämtlicher, evtl. noch vorhandener, Natriumacetaminomalonester beseitigt wird, damit die durch saure Verseifung und Decarboxylierung entstehende  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -ketocarbonsäure nicht durch Glycocoll verunreinigt wird. Sowohl Acetonylacetaminomalonester als auch Phenacylacetaminomalonester liegen nach einmaligem bis zweimaligem Umkristallisieren in reiner Form vor. Durch geeignete Behandlung der sauren Verseifungslösung lassen sich die Salze der  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -ketocarbonsäuren in praktisch reiner Form gewinnen.

Die katalytische Hydrierung von  $\beta$ -Benzylalanin mit Pd-Schwarz in Wasser führt zur  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -oxy- $\gamma$ -phenylbuttersäure (Smp. 210—211°), diejenige von  $\beta$ -Acetylalanin mit Raney-Ni zur  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -oxyvaleriansäure (Smp. 190°, Zers.).

Die Kondensation von Acylaminomalonester mit o-Nitrophenacylbromid verläuft in der *Butenandt*'schen Synthese mit unbefriedigender Ausbeute. Die Reaktion zwischen Natriumacetaminomalonester und o-Nitrophenacylbromid in absolutem Benzol geht nicht einheitlich vor sich. Als Kondensationsprodukt erhält man eine zähe Schmiere, die nach längerem Stehen in der Kälte zu einem kleinen Teil kristallisiert. Die Isolierung dieses Kristallisates liefert eine Ausbeute von weniger als 10% an reinem o-Nitrophenacylacetaminomalonester. Wenn man Metallierung und Kondensation in absolutem Diäthylcarbonat vornimmt, so steigt die Ausbeute auf 20—25%. Die Reaktionsmischung kristallisiert sofort durch, und das Kristallisat lässt sich auf einfache Weise isolieren. Bei der Weiterverarbeitung der schmierigen Anteile auf Kynurenin lassen sich weitere 10% reine o-Nitrophenacylaminoessigsäure gewinnen.

### Experimenteller Teil.

Die Schmelzpunkte sind nicht korrigiert.

Natriumacetaminomalonester. 9,2 g Natrium wurden in 300 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol gelöst und mit 8,8 g Acetaminomalonester versetzt. Unter Umschwenken wurde schwach erwärmt, bis aller Acetaminomalonester in Lösung gegangen war. Die Lösung wurde ca.

12 Std. bei Zimmertemperatur stehengelassen, der Alkohol zunächst am Wasserstrahl-Vakuum und die letzten Reste bei 0,1 mm Druck entfernt. Der Natriumacetaminomalonester scheidet sich als eine gleichmäßig gelbe, voluminöse Kruste ab.

Phenacylacetaminomalonester. Der so erhaltene Natriumacetaminomalonester wurde möglichst rasch zerkleinert; 91,5 g Phenacylbromid wurden in 400 cm<sup>3</sup> abs. Benzol gelöst und auf einmal zum Natriumacetaminomalonester gegeben. Das Reaktionsgemisch wurde 8 Std. unter Rühren bei Rückfluss-Temperatur gehalten. Das ausgefallene Natriumbromid wurde abzentrifugiert und das Benzol am Vakuum abgedampft. Rückstand in 250 cm<sup>3</sup> Isopropylalkohol gelöst und zur Kristallisation in den Eisschrank gestellt. Abgenutztes Kristallinat mit 3 Portionen zu je 50 cm<sup>3</sup> eiskaltem Isopropylalkohol gewaschen. Ausbeute: 96 g (71% d. Th.), Smp. 118—119°. Zur Analyse aus Äther umkristallisiert:

C <sub>17</sub> H <sub>21</sub> O <sub>6</sub> N	Ber. C 60,88	H 6,31	N 4,18%
	Gef. ,, 60,77; 60,92	,, 6,52; 6,49	,, 4,27%

$\beta$ -Benzoylalaninhydrobromid. 95 g Phenacylacetaminomalonester mit 750 cm<sup>3</sup> halbkonzentrierter Bromwasserstoffsäure (oder auch Salzsäure) versetzt. Unter zeitweiligem Umschwenken in einem Bad von 120° gehalten. Hellgelbe Verseifungslösung zur Entfärbung mit Norit versetzt. Nach heißem Filtrieren farblose Lösung über Nacht zur Kristallisation in den Eisschrank gestellt. Das Kristallinat abgenutzt, mit 3 Portionen zu je 50 cm<sup>3</sup> wasserfreiem Aceton und dann mit Äther nachgewaschen. Ausbeute: 55 g (85%), Smp. 195—196° (Zers.). Zur Analyse und zur Aufnahme des UV.-Absorptionsspektrums aus Alkohol-Essigester umkristallisiert.

UV.-Absorptionsspektrum:  $\epsilon_{\max} = 13700$  bei 245 m $\mu$  in Wasser.

C <sub>10</sub> H <sub>12</sub> O <sub>3</sub> NBr	Ber. C 43,81	H 4,41	N 5,11%
	Gef. ,, 44,19; 44,31	,, 4,15; 4,17	,, 5,41; 5,16%

$\beta$ -Benzoylalanin. Auf Zusatz von Natriumacetat zu einer wässrigen Lösung von  $\beta$ -Benzoylalaninhydrochlorid fällt  $\beta$ -Benzoylalanin quantitativ aus.

$\alpha$ -Amino- $\gamma$ -oxy- $\gamma$ -phenylbuttersäure. 5 g  $\beta$ -Benzoylalanin-hydrochlorid in 80 cm<sup>3</sup> Wasser gelöst. Nach Zugabe von Pd-Schwarz 8 Std. bei gewöhnlichem Druck hydriert. Nach Aufnahme von 550 cm<sup>3</sup> Wasserstoff und nach Abfiltrieren das Pd mit 3 g Natriumacetat versetzt. Die freie Säure fällt sofort aus. Ausbeute: 2,7 g (63,5%, Smp. 210—211° (Zers.)).

C <sub>10</sub> H <sub>13</sub> O <sub>3</sub> N	Ber. C 61,52	H 6,71	N 7,18%
	Gef. ,, 61,9; 61,83	,, 7,11; 7,09	,, 7,08%

Benzoyl- $\beta$ -benzoylalanin. 0,23 g  $\beta$ -Benzoylalaninhydrochlorid, 0,28 g Benzoylchlorid, 0,415 g Kaliumhydrogencarbonat, und 10 cm<sup>3</sup> Wasser werden zusammengegeben und so lange bei Zimmertemperatur geschüttelt bis sämtliches Benzoylchlorid verbraucht war. Mit konz. Salzsäure angesäuert, fiel ein dicker, weißer Niederschlag aus. Kristallinat abgenutzt und zur Entfernung der Benzoesäure mit Ligroin aufgeköcht. Heiß abgenutzt und Rückstand mit viel Äther gewaschen. Aus Alkohol-Aether umkristallisiert. Smp. 180—181°.

C <sub>17</sub> H <sub>15</sub> O <sub>4</sub> N	Ber. C 68,68	H 5,09%
	Gef. ,, 68,83; 68,6	,, 4,92; 4,87%

Semicarbazon von  $\beta$ -Benzoylalanin. 0,41 g  $\beta$ -Benzoylalanin, 0,36 g Semicarbazidhydrochlorid, 0,27 cm<sup>3</sup> Pyridin und 25 cm<sup>3</sup> Alkohol wurden auf dem Wasserbad eine Std. bei Siedetemperatur gehalten. Während des Kochens verdichtete sich der Niederschlag immer mehr. Nach Abkühlen Kristallinat abgenutzt. Mit wenig Wasser und Alkohol und mit viel Äther gewaschen. Aus Alkohol-Wasser umkristallisiert. Smp. 200° (Zers.).

C <sub>11</sub> H <sub>14</sub> O <sub>3</sub> N <sub>4</sub>	Ber. C 52,79	H 5,7	N 22,39%
	Gef. ,, 53,05	,, 5,66	,, 21,88%

Acetonylacetaminomalonester. Natriumacetaminomalonester, der aus 4,47 g Natrium und 43,5 g Acetaminomalonester dargestellt worden war, wurde mit 29,2 g Bromaceton auf einmal in 300 cm<sup>3</sup> absolutem Benzol gelöst. Das Reaktionsgemisch wurde

8 Std. lang bei Siedetemperatur gehalten. Nach Abzentrifugieren des Natriumbromides wurde die benzolische Lösung zur Trockene verdampft. Der Rückstand in 250 cm<sup>3</sup> Isopropylalkohol gelöst, mit Norit aufgekocht, warm filtriert, eingengt und über Nacht zur Kristallisation in den Eisschrank gestellt. Kristallinat abgenutscht und mit wenig eiskaltem Isopropylalkohol gewaschen. Ausbeute: 35 g (65,5%), Smp. 103—105°.

Zur Analyse aus Isopropylalkohol und aus Äther umkristallisiert.

$C_{12}H_{13}O_6N$	Ber. C 52,74	H 7,01	N 5,13%
	Gef. ,, 53,31; 53,33	,, 6,84; 7,06	,, 5,01%

$\beta$ -Acetylalaninhydrochlorid. 26 g Acetylacetaminomalonester wurden in 250 cm<sup>3</sup> halbkonzentrierter Salzsäure unter häufigem Umschwenken vier Std. bei 110° gehalten. Die heisse Lösung wurde mit Norit entfärbt, warm filtriert und im Vakuum zur Trockene verdampft. Der Rückstand kristallisierte manchmal nicht sofort; er wurde in diesem Falle mit 50 cm<sup>3</sup> wasserfreiem Aceton versetzt und zur Kristallisation in den Eisschrank gestellt. Kristallinat abgenutscht und mit Äther gewaschen. Ausbeute: 15 g (94,5%), Smp. 159—160° (Zers.).

$C_5H_{10}O_3NCl$	Ber. C 35,84	H 6,02	N 8,36	Rückst. — %
	Gef. ,, 35,69; 35,71	,, 5,76; 5,87	,, 8,05; 8,04	,, 0,6; 0,52%

$\beta$ -Acetylalanin. Die wässrige Lösung von  $\beta$ -Acetylalaninhydrochlorid wurde an einer Säule von Amberlit JR—4B von Cl-Ionen befreit und dann im Vakuum zur Trockene verdampft. Das zurückbleibende bräunlich gelbe Harz wird aus absolutem Methanol kristallisiert. Smp. 124—125° (Zers.).

$C_5H_9O_3N$	Ber. C 45,79	H 6,92	N 10,68	Rückst. — %
	Gef. ,, 44,72	,, 6,85	,, 9,9	,, 0,61%

$\alpha$ -Amino- $\gamma$ -oxyvaleriansäure. Die Lösung von 1 g  $\beta$ -Acetylalaninhydrochlorid in 50 cm<sup>3</sup> Wasser wurde an einer Säule von Amberlite JR—4B von Cl-Ionen befreit, bei gewöhnlichem Druck bis zur Aufnahme von 150 cm<sup>3</sup> mit Wasserstoff und Raney-Ni geschüttelt und nach Abfiltrieren des Katalysators zur Trockene eingedampft. Rückstand aus absolutem Alkohol kristallisiert, abgenutscht und mit Äther gewaschen. Ausbeute: 0,575 g (72,3%), Smp. 190° (Zers.).

$C_5H_{11}O_3N$	Ber. C 45,10	H 8,33	N 10,52	Rückst. — %
	Gef. ,, 44,42; 44,44	,, 8,07; 8,16	,, 10,07; 9,94	,, 2,4; 2,29%

Phenylharnstoffderivat von  $\beta$ -Acetylalanin. Die eiskalte Lösung von 0,5 g Acetylalaninhydrochlorid in 6,5 cm<sup>3</sup> 1-n. Natronlauge wurde auf einmal mit 0,33 cm<sup>3</sup> Phenylisocyanat versetzt. Kurze Zeit bei Zimmertemperatur geschüttelt und dann zwei Std. in den Eisschrank gestellt. Beim Ansäuern mit 5 cm<sup>3</sup> 2-n. Salzsäure erfolgte Ausfällung von weissem Kristallinat. Nach Umkristallisierung aus Alkohol Smp. 145—146°.

$C_{12}H_{14}O_4N_2$	Ber. C 57,59	H 5,64	N 11,20 %
	Gef. ,, 57,49; 57,74	,, 5,83; 5,82	,, 11,26; 11,40%

*o*-Nitrophenylacetaminomalonester. 0,46 g Natrium, in 25 cm<sup>3</sup> abs. Alkohol gelöst, wurden auf einmal mit einer Lösung von 4,4 g Acetaminomalonester in Diäthylcarbonat versetzt. Nach Abdestillieren des Alkohols fällt der Natriumacetaminomalonester aus. Hierzu wurde auf einmal die Lösung von 5,5 g *o*-Nitrophenylbromid in 25 cm<sup>3</sup> Diäthylcarbonat gegeben und unter häufigem Umschwenken vorsichtig erwärmt, bis kein zusätzliches Natriumbromid mehr ausfiel. Natriumbromid abzentrifugiert. Lösung am Vakuum zur Trockene verdampft. Das als Rückstand resultierende rotbraune Öl kristallisiert in der Kälte in einer Stunde vollständig durch. Kristallinat in Alkohol aufgenommen und so lange mit Norit behandelt, bis keine weitere Aufhellung mehr eintrat. Alkohol bis auf ein kleines Volumen abgedampft. Zur Kristallisation in den Eisschrank gestellt. Kristallinat abgenutscht und mit eiskaltem Äther ausgewaschen. Ausbeute: 1,45 g (19%), Smp. 119—121°. Zur Analyse aus Isopropylalkohol umkristallisiert.

$C_{17}H_{20}O_8N_2$	Ber. C 53,69	H 5,20	N 7,37%
	Gef. ,, 53,67	,, 5,22	,, 7,38%

Wir danken der Fa. *J. R. Geigy AG.* für die Ausführung der Mikroanalysen.

## Zusammenfassung.

Es wird eine Methode beschrieben, die es erlaubt,  $\alpha$ -Ketomono-bromide in Gegenwart von Natrium mit Acetaminomalonestern zu kondensieren. Die Methode hat sich gut bewährt zur Darstellung von Phenacylacetaminomalonestern, von Acetylacetaminomalonestern und, bei geringerer Ausbeute, von *o*-Nitrophenacylacetaminomalonestern. Durch Verseifung und Decarboxylierung dieser Ester wurden die entsprechenden  $\alpha$ -Amino- $\gamma$ -ketocarbonsäuren in guten Ausbeuten gewonnen.

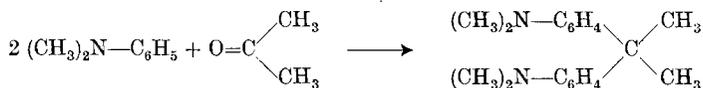
Physiol.-Chem. Institut der Universität Basel.

## 52. Zur Kenntnis der Reaktionsfähigkeit der polarisierten einfachen Bindung

von R. Wizinger und R. Gross.

(24. XII. 51.)

A. W. Hofmann & C. A. Martius<sup>1)</sup> stellten 1871 fest, dass sich bei der Fabrikation von Dimethylanilin bisweilen in geringer Menge eine Base der Zusammensetzung  $C_{19}H_{26}N_2$  bildete, welche mit Säure und Braunstein eine unbeständige blaue, mit Jod in Alkohol oder Nitrobenzol aber eine smaragdgrüne Farbreaktion liefert. C. Doebner<sup>2)</sup> klärte 1879 ihre Konstitution auf; er erhielt die gleiche Verbindung durch Kondensation von 2 Mol Dimethylanilin und 1 Mol Aceton mit Chlorzink bei 150°.



Die Bildung dieses  $\beta, \beta$ -Bis-[4-dimethylamino-phenyl]-propans bei der Dimethylanilinherstellung war demnach auf die Verwendung von acetonhaltigem Methylalkohol zurückzuführen. Doebner bestätigte das Auftreten der Farbreaktionen bei der Oxydation in saurer Lösung und mit Jod.

Im Rahmen einer Untersuchung über den Mechanismus der Halogensubstitution haben wir uns mit der Ursache dieser Farbreaktion mit Jod beschäftigt, und es gelang uns auf Grund folgender Überlegungen die Aufklärung.

<sup>1)</sup> A. W. Hofmann & C. A. Martius, B. 4, 742 (1871).

<sup>2)</sup> C. Doebner, B. 12, 810 (1879).