

Synthese des Isolysins und Homologer

7. Mitt. über Aminosäuren¹

Von

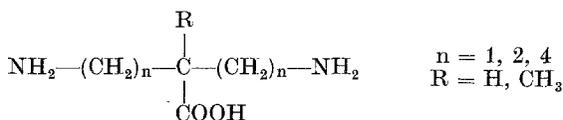
R. Riemschneider, K. Brendel und K. Preuß²

Aus der Freien Universität Berlin-Dahlem, Lehrstuhl für Biochemie.

(Eingegangen am 28. Juli 1961)

Es wird über die Synthese des Isolysins und homologer Diaminomonocarbonsäuren (Vorstufen) berichtet.

Die bisher in der Literatur noch nicht beschriebenen Aminosäuren vom Typ I (beide NH₂-Gruppen gleich weit von der COOH-Gruppe entfernt) interessieren uns sowohl im Rahmen von Arbeiten über unphysiologische Aminosäuren, z. B. das Isolysin, als auch im Zusammenhang mit unseren Untersuchungen über die *cis-trans*-Asymmetrie^{4,5}.



I³

Geeignete Vorstufen von I sind V und VIII, die man auf folgenden Wegen erhält.

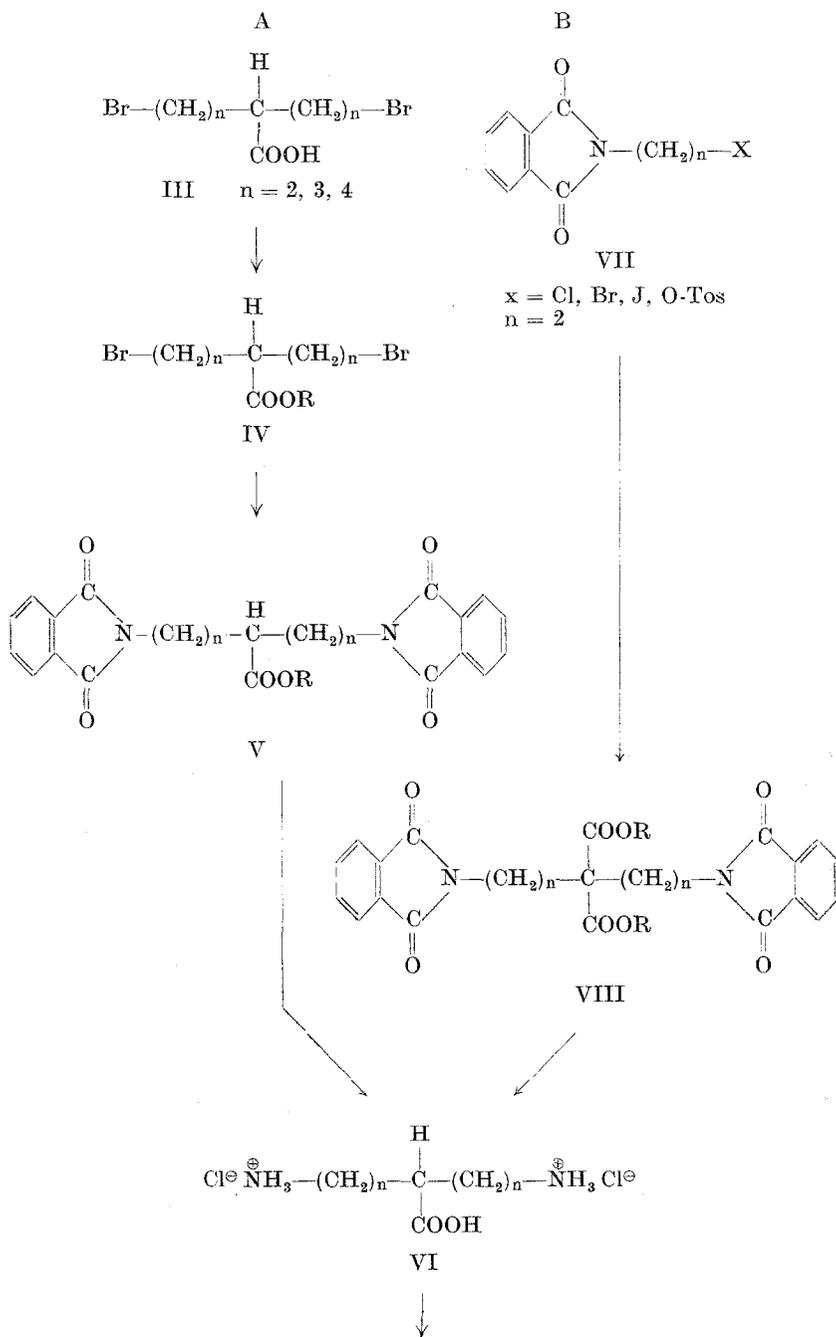
¹ 5. und 6. Mitt., Z. Naturforschung **16 b**, 142, 704 (1961).

² Anschrift für den Schriftverkehr: Prof. Dr. R. Riemschneider, Berlin-Charlottenburg 9, Bolivarallee 8.

³ Vgl. auch A. Reissert, Ber. dtsh. chem. Ges. **26**, 2140 (1893).

⁴ R. Riemschneider, S. Brenneke, D. Helm, H. Kampfer, O. Matzer, H. D. Otto und K. D. Schneider, Ber. dtsh. chem. Ges. **89**, 155, 2713 (1956); Mh. Chem. **88**, 1099 (1957); **90**, 518 (1959).

⁵ Naturwiss. **48**, 500 (1961); Mh. Chem. **92**, 1227 (1961).



Zu A. *Synthese von Bis-(ω -phthalimido-alkyl)-essigestern*

Aus den in der Literatur beschriebenen Bis-[ω -äthoxy-alkyl]-essigsäuren (II)⁶ erhielten wir durch Umsetzung mit 66proz. HBr im Bombenrohr bei 100° Verbindungen des Typs III (n = 2, 3, 4). Die Dibromsäuren wurden in zwei Fällen (n = 2, 4) als Rohprodukte weiterverarbeitet, da sie nicht kristallisierten und sich bei der Vakuumdestillation zersetzten; die 1,7-Dibromheptanmonocarbonsäure-(4) (III; n = 3) konnte durch Umkristallisation gereinigt und charakterisiert werden. Aus den über die Säurechloride von III erhaltenen Äthylestern (IV) erhielten wir mit Phthalimidkalium durch Kochen am Rückfluß in Dimethylformamid die Bis-[ω -diphthalimido-alkyl]-essigsäureäthylester (V; n = 2, 3, 4). Es gelang nicht, III mit n = 1 (β , β -Dibromisobuttersäure) sowie β , β -Dibrompivalinsäure in die entsprechenden Verbindungen vom Typ I zu überführen.

Zu B: *Synthese von Bis-(ω -phthalimido-alkyl)-malonestern*

Die Problematik der Synthese von Bis-[ω -phthalimido-alkyl]-malonestern (VIII) lag in den schon früher beschriebenen Reaktionen der Phthalimido-alkylhalogenide mit Alkali zu Phthalamidsäuren und Phthalamidestern⁷. Die Malonestersynthese in ihrer normalen Ausführung in Äthanol erwies sich ebenso wie die in xylolicher Suspension als ungeeignet; desgleichen führte die *Lundsche* Methodik⁸ nicht zum Ziel. Unbrauchbar als Reaktionspartner der Natriummalonester sowohl als auch der Magnesiummalonester waren Jodid und Tosylat wegen der bevorzugten Nebenreaktion. Chlorid war zu reaktionsträge. Recht gute Erfolge hatten wir mit dem Phthalimidoäthylbromid in Dioxan als Lösungsmittel. Die Malonestersynthese wurde in zwei Stufen durchgeführt und verlief über beide Stufen mit einer Gesamtausbeute von durchschnittlich 30%.

Aus den beiden Vorstufen V und VIII lassen sich durch energische Hydrolyse mit konz. HCl über die Hydrochloride (VI) die Aminosäuren vom Typ I synthetisieren.

Durch Hydrolyse von VIII erhielten wir über VI das Isolysin (I; n = 2, R = H), das uns in erster Linie interessierte. Im Chromatogramm zeigte das Isolysin R_f -Werte, die sehr nahe bei denen des Lysins lagen. o-Diacetylbenzol und 1,2,3-Triacetylbenzol bilden mit den beiden Aminosäuren unterschiedliche, Ninhydrin und o-Diacetylcyclohexen gleichartige Färbungen⁹.

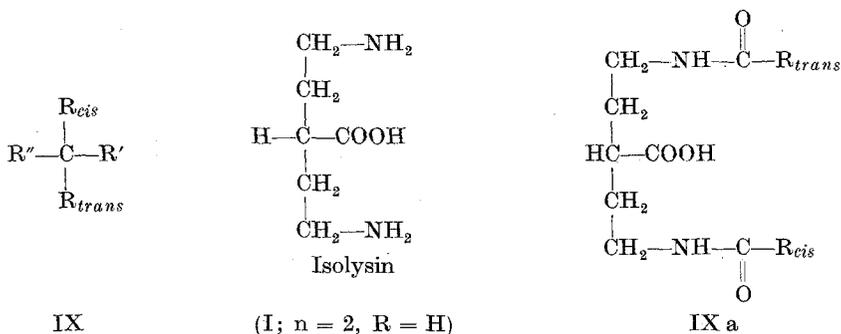
⁶ M. H. Palomaa, R. Janson und A. Kenetti, Ber. dtsch. chem. Ges. **35**, 3299 (1902); **64**, 797, 1606 (1931).

⁷ S. Gabriel und W. E. Lauer, Ber. dtsch. chem. Ges. **23**, 87 (1890); **38**, 633, 2397 (1905).

⁸ H. Lund, Ber. dtsch. chem. Ges. **67**, 935 (1934).

⁹ R. Riemschneider, C. Weygand, B. Diedrich und K. Preuss, Gazz. chim. Ital. **77**, 607 (1947); Mh. Chem. **86**, 201, 690 (1955); **90**, 924 (1959); Naturwiss. **47**, 279 (1960).

Versuche zum Nachweis der Spiegelbildisomerie von Verbindungen des Typs IX (einer Verbindung mit zwei geometrisch isomeren Substituenten am Zentralatom), ausgehend von Isolysin durch stufenweise Umsetzung mit geeigneten Säurechloriden zu IX a, wurden zugunsten einfacherer Versuche⁵ abgebrochen.



Experimenteller Teil

1,5-Dibrom-pentanmonocarbonsäure-(3) (III; n = 2).

Aus 2-Äthoxyäthylmalonsäurediäthylester vom Sdp.₁₅: 134—136° wurde über 1,5-Diäthoxy-pentandicarbonsäure-(3,3)-diäthylester vom Sdp._{0,4}: 122—124° und 1,5-Diäthoxy-pentandicarbonsäure-(3,3) die 1,5-Diäthoxy-pentanmonocarbonsäure-(3) vom Sdp._{0,4}: 131—132° dargestellt⁶.

C₁₀H₂₀O₄ (204,3). Ber. C 58,7, H 9,85. Gef. C 57,9, H 10,0.

3 g Säure wurden mit 20 ml 66proz. HBr 3 Stdn. im Bombenrohr auf 100° erhitzt. Nach Beendigung der Reaktion hatten sich im Rohr zwei Schichten gebildet. Die wäßrige Schicht wurde nach Abtrennung des Öles mit viel Wasser verdünnt und dreimal ausgeäthert. Nach Vereinigung der äther. Auszüge mit dem Öl wurde die Ätherlösung je zweimal mit NaHCO₃ und mit Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Abziehen des Äthers hinterblieben 2 g (49,8%) eines dunkelgelben Öles, welches ohne weitere Reinigung weiterverarbeitet wurde.

Analog wurden dargestellt:

1,7-Dibrom-heptanmonocarbonsäure-(4) (III; n = 3).

Aus 3-Äthoxy-propylmalonsäurediäthylester vom Sdp.₂₂: 157—158° über 1,7-Diäthoxy-heptandicarbonsäure-(4,4)-diäthylester vom Sdp._{0,3-0,4}: 148—150° und 1,7-Diäthoxy-heptandicarbonsäure-(4,4) vom Schmp. 59—61° die 1,7-Diäthoxy-heptanmonocarbonsäure-(4) vom Sdp._{0,10-0,15}: 126—128°.

C₁₂H₂₄O₄ (232,3). Ber. C 62,1, H 10,40. Gef. C 63,5, H 11,0.

Aus 5 g Säure erhielten wir 3 g (46,2%) der 1,7-Dibromsäure vom Schmp. 32—34° (aus Petroläther).

C₈H₁₄Br₂O₂ (302,02). Ber. Br 52,9. Gef. Br 53,1.

1,9-Dibrom-nonancarbonsäure-(5) (III; $n = 4$).

Aus 4-Äthoxy-butylmalonsäurediäthylester vom Sdp.₂₋₄: 127—129° über 1,9-Diäthoxy-nonandicarbonsäure-(5,5)-diäthylester vom Sdp._{0,8}: 165—175° und 1,9-Diäthoxy-nonandicarbonsäure-(5,5) vom Schmp.: 85—87° die 1,9-Diäthoxy-nonanmonocarbonsäure-(5) vom Sdp._{0,2}: 166—167°.

$C_{14}H_{28}O_4$ (260,36). Ber. C 64,6, H 10,84. Gef. C 64,1, H 10,9⁶.

Aus 5 g Säure erhielten wir 5,5 g (86,7%) der 1,9-Dibromsäure.

$C_{10}H_{18}Br_2O_2$ (330,08). Ber. Br 48,4. Gef. Br 47,9.

Die Verbindung wurde ohne weitere Reinigung weiterverarbeitet.

1,5-Dibrom-pentanmonocarbonsäureäthylester-(3) (IV; $n = 2$).

Zu 4 g roher 1,5-Dibrom-pentancarbonsäure-(3) wurde im Überschuß Thionylchlorid getropft und 1 Stde. auf dem Wasserbad bis zur Beendigung der Reaktion erwärmt. Überschüssiges $SOCl_2$ wurde im Vak. abgezogen, der Rückstand zweimal mit je ca. 20 ml absol. Äther versetzt und im Vak. wieder abgezogen, um das $SOCl_2$ möglichst restlos zu entfernen. Das erhaltene rohe Säurechlorid wurde mit 30 ml absol. Äthanol 5 Stdn. unter Rückfluß gekocht. Nach Abziehen des Alkohols im Vak. hinterblieb ein dunkelgelbes Öl, welches nicht weiter gereinigt wurde: 3 g.

Analog wurden dargestellt:

1,7-Dibrom-heptancarbonsäureäthylester-(4) (IV; $n = 3$) aus 14 g roher 1,7-Dibrom-heptancarbonsäure-(4). Nach Destillation resultierten 11 g (72,3 %) einer farblosen Flüssigkeit vom Sdp._{0,4-0,5}: 135—142°.

1,9-Dibrom-nonancarbonsäureäthylester-(5) (IV; $n = 4$) aus 3,5 g roher 1,9-Dibrom-nonancarbonsäure-(5). Rohausb. 4,5 g. Die Verbindung wurde nicht weiter gereinigt.

1,5-Diphthalimido-pentancarbonsäureäthylester-(3) (V; $n = 2$)

3 g des rohen 1,5-Dibrom-pentancarbonsäureäthylesters-(3) wurden zusammen mit 4 g frisch bereitetem Phthalimidkalium (kleiner Überschuß) in 15 ml wasserfr. $(CH_3)_2N \cdot CHO$ 5 Stdn. unter Rückfluß im Ölbad bei 170—190° erhitzt. Nach Beendigung der Reaktion wurde das Reaktionsprodukt in ca. 200 ml kalten Wassers gegossen, wobei der Phthalimidoester in schmieriger Form ausfiel. Daneben bildete sich eine gallertartige Masse (Diese Erscheinung wurde bei der Darstellung der anderen Phthalimidoester nicht beobachtet). Die gesamte Masse wurde mit Essigester ausgeschüttelt und die Essigester-Schicht von nebenher angefallenen unlöslichen Produkten abfiltriert. Die wäßrige Schicht wurde mit Ammoniumsulfat gesättigt, wobei sich in Lösung gegangener Essigester wieder abschied. Nach viermaligem Ausschütteln der wäßrigen Schicht mit Essigester wurden sämtliche Essigester-auszüge vereinigt, noch zweimal mit Wasser gewaschen und über Na_2SO_4 getrocknet. Nach Abdestillation des Essigesters im Vak. und viermaliger Umkristallisation des hinterbliebenen Rückstandes aus absol. Äthanol wurde 1 g (15,8%) leicht gelblich-bräunlicher Kristalle vom Schmp.: 151—154° erhalten.

$C_{24}H_{22}N_2O_6$ (434,43). Ber. C 66,4, H 5,11, N 6,45.
Gef. C 66,7, H 5,3, N 7,0.

1,7-Diphthalimido-heptancarbonsäureäthylester-(4) (V; n = 3).

8,2 g des gereinigten 1,7-Dibrom-heptancarbonsäureäthylesters-(4) wurden zusammen mit 9,2 g frisch bereitetem Phthalimidkalium in 30 ml wasserfr. Dimethylformamid 5 Stdn. im Ölbad bei 170—190° unter Rückfluß erhitzt. Nach Beendigung der Reaktion wurde die Reaktionsmischung in kaltes Wasser gegossen und die Suspension viermal mit Essigester ausgeschüttelt. Die Essigesterlösung wurde dreimal mit Wasser gewaschen, über Na₂SO₄ getrocknet und der Essigester im Vak. abgezogen. Nach dreimaliger Umkristallisation des hinterbliebenen Rückstandes aus absol. Äthanol wurden 8,5 g fast farbloser Kristalle vom Schmp.: 113—114° erhalten.

C₂₆H₂₆N₂O₆ (462,48). Ber. C 67,5, H 5,66, N 6,05.
Gef. C 67,6, H 5,7, N 6,5.

1,9-Diphthalimido-nonancarbonsäureäthylester-(5) (V; n = 4) aus 4,5 g des rohen 1,9-Dibrom-nonancarbonsäureäthylesters-(5) mit 4,7 g Phthalimidkalium in 20 ml Dimethylformamid. Nach etwas veränderter Aufarbeitung wurden farblose Kristalle vom Schmp.: 74—86° erhalten.

C₂₈H₃₀O₆N₂ (490,54). Ber. C 68,5, H 6,16, N 5,71.
Gef. C 68,0, H 6,1, N 5,7.

Phthalimidoäthyl-malonsäurediäthylester.

4 g Na wurden in 40 ml Methanol gelöst und nach dem Abkühlen mit 55 g Malonester versetzt. Danach wurde das Methanol im Vak. bei ca. 50° abgezogen und allmählich durch absol. Dioxan verdrängt (Zugabe von 200 ml absol. Dioxan in 4 Portionen). Nach Zugabe von 50 g Phthalimidoäthylbromid vom Schmp.: 82°, in 100 ml absol. Dioxan gelöst, wurde 5 Stdn. auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt und das Reaktionsprodukt anschließend in Eiswasser gegossen. Die wäßrige Lösung wurde mit Essigester ausgeschüttelt, die organische Phase zweimal mit Wasser gewaschen und über Na₂SO₄ getrocknet. Nach Abziehen des Essigesters im Vak. ging die Verbindung bei 190° und 0,1 mm Hg über (Ausb. 45%). In einem Parallelversuch bei Verwendung eines höheren Vak.: 60%. Schmp.: 45° aus Petroläther¹⁰.

C₁₇H₁₉NO₆ (333,27). Ber. N 4,2. Gef. N 4,4.

Bis-(ω-phthalimido-äthyl)-malonsäurediäthylester (VIII).

Der erhaltene Ester wurde zu einer wie oben aus der berechneten Menge Na hergestellten Natriummethylat-Lösung gegeben, das Methanol durch absol. Dioxan verdrängt und eine Lösung von 30 g Phthalimidoäthylbromid in 100 ml absol. Dioxan hinzugefügt. Danach wurde 2 Stdn. auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt und dann das Reaktionsprodukt in Eiswasser gegossen. Das ausgeschiedene Öl wurde in Äthanol aufgenommen. VIII vom Schmp.: 160° kristallisierte aus der Lösung aus. Die Ausbeute ist abhängig von der Reinheit der Ausgangsprodukte und liegt im günstigsten Falle bei 50%.

C₂₇H₂₆N₂O₈ (506,52). Ber. C 64,0, H 5,17, N 5,55.
Gef. C 63,8, H 4,6, N 5,8.

¹⁰ W. Aschan, Ber. dtsh. chem. Ges. **23**, 3692 (1890); **24**, 2449 (1891).

1,5-Diamino-pentancarbonsäure-(3) (Isolysin, I; $n = 2$, $R = H$).

5 g Bis-(ω -phthalimidoäthyl)-malonester (VIII) wurden mit 25 ml konz. HCl im Bombenrohr 4 Stdn. auf 160° erhitzt. Beim Öffnen des abgekühlten Rohres entwichen CO₂ und Äthylehlorid unter ziemlichem Druck. Der entstandene Kristallbrei wurde filtriert und mit kaltem Wasser gewaschen. Die Lösung wurde mehrmals mit Äther ausgeschüttelt, die äther. Lösung im Vak. eingedampft, der Rückstand mehrfach mit Äthanol versetzt und dieses wieder abgezogen. Das übrigbleibende Dihydrochlorid ist hygroskopisch und nur schwer kristallin zu erhalten. Daraus kann entweder mit Hilfe eines basischen Ionenaustauschers, Merck Nr. III, oder aber auf folgende Weise die freie Aminosäure gewonnen werden^{8,10}: Die wäßrige Lösung des Dihydrochlorids wurde im Überschuß mit Ag₂O versetzt und anschließend filtriert. Durch Einleiten von H₂S wurde das entstandene Silber-salz zerlegt, und nach abermaligem Filtrieren wurde eine Lösung der freien Aminosäure erhalten. Nach Eindampfen der Lösung, mehrfachem Versetzen und Abziehen mit Alkohol wurde die Aminosäure in glasig amorpher Form erhalten.

Chromatographischer Vergleich von Lysin und Isolysin

1. Kreis-Chromatogramm:

Lösungsmittel: n/20 NH₄OOCH¹¹. Papier: Carboxylpapier I (Schleicher & Schüll): Lysin: R_f 0,82 Isolysin: R_f 0,83

Entwickler: Die unten aufgeführten Carbonylverbindungen.

2. Kreis-Chromatogramm:

Lösungsmittel: n/20 NH₄OOCH¹¹. Papier: Carboxylpapier II (Schleicher & Schüll): Lysin: R_f 0,74 Isolysin: R_f 0,76

Entwickler: Die unten aufgeführten Carbonylverbindungen.

Färbungen von Lysin und Isolysin mit o-Carbonylverbindungen

Färbung mit	Lysin		Isolysin	
	nach 1 Stde.	200 Stdn.	1 Stde.	200 Stdn.
o-Diacetylbenzol	rotviolett	braunviolett	violett	blauviolett
vic. Triacetylbenzol	hellgrün	olivgrün	hellblau	blaugrau
o-Diacetylcyclohexen	violett	rotviolett	violett	rotviolett
Ninhydrin	rotviolett	gelb	rotviolett	gelb

¹¹ Th. Wieland und A. Berg, Angew. Chem. **64**, 418 (1952); Ber. dtsch. chem. Ges. **77**, 540 (1944).