

6. Leonhard Birkofer und Ingeborg Storch: β -Aminosäuren, I. Mitteil.: β -Amino-pimelinsäure

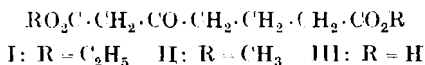
[Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung, Heidelberg, Institut für Chemie, und dem Institut für Organische Chemie der Technischen Hochschule Stuttgart]

(Eingegangen am 9. Juni 1952)

Es wird die Darstellung der β -Amino-pimelinsäure durch Reduktion des β -Keto-pimelinsäurediäthylester-acetylhydrazons beschrieben.

Vom biologischen Standpunkt aus war es interessant, die bisher noch unbekannte β -Amino-pimelinsäure zu erhalten. Als Ausgangsverbindung diente der β -Keto-pimelinsäurediäthylester (I), den wir nach J. A. Hunter und J. A. Hogg¹⁾ durch Umsetzung von Magnesium-malonester mit Glutarsäuremonoäthylester-monochlorid darstellten. Zur weiteren Identifizierung bestimmten wir den Brechungsindex und das Keto-Enol-Gleichgewicht. Der frisch destillierte β -Keto-pimelinsäurediäthylester (I) (n_D^{25} 1.4511) weist einen Enolgehalt von 11.4 % auf, der nach sechswöchigem Stehenlassen auf 6.2 % absinkt.

Um auf einem weiteren Wege zu einem β -Keto-pimelinsäureester zu gelangen, wurde Acetessigsäureäthylester mit Glutarsäuremonomethylester-monochlorid umgesetzt und das Reaktionsprodukt der Spaltung mit Natrium-methylat in Methanol unterworfen. Es trat unter diesen Bedingungen offenbar eine Umesterung ein, denn wir erhielten nicht den Methyläthylester, sondern den β -Keto-pimelinsäuredimethylester (II). Wir führten diesen Ester II nach der von M. A. Mitz, A. E. Axelrod und K. Hofmann²⁾ angegebenen Methode zur Darstellung freier β -Ketosäuren aus den Estern durch Behandlung mit Eisessig und wenig konz. Salzsäure in die freie β -Keto-pimelinsäure (III) über. Diese Verbindung hat keinen scharfen Schmelzpunkt; bei 70–75° beginnt Zersetzung unter Decarboxylierung. Zum Konstitutionsbeweis haben wir die Säure bei 90° decarboxyliert, wobei die erwartete γ -Acetyl-buttersäure entstand. Das daraus erhaltene Semicarbazon war, wie Analyse und Schmelzpunkt (175°)³⁾ zeigten, mit γ -Acetyl-buttersäure-semicarbazon identisch.



Zur Überführung des β -Keto-pimelinsäurediäthylesters (I) in die β -Amino-pimelinsäure eignete sich, wie die Vorversuche mit Acetessigester ergaben, am besten das Acetylhydrazon des Ketoesters, das wir aus dem Ester I durch Umsetzung mit Acetylhydrazin erhielten.

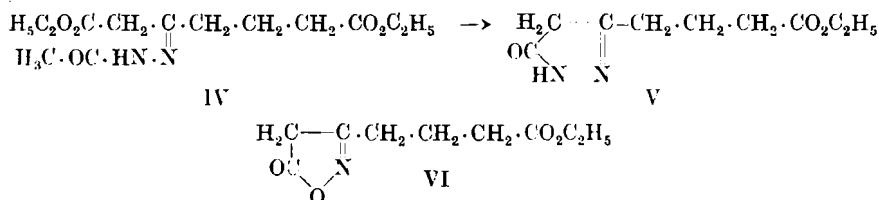
β -Keto-pimelinsäurediäthylester-acetylhydrazon (IV) vom Schmp. 65.5° geht nicht nur bei mehrstündigem Erhitzen in wäßrig alkoholischer Lösung auf 80°, sondern auch

¹⁾ J. Amer. chem. Soc. **71**, 1924 [1949].

²⁾ J. Amer. chem. Soc. **72**, 1231 [1950].

³⁾ A. Kötz, K. Blendermann, F. Mähnert u. R. Rosenbusch, Liebigs Ann., Chem. **400**, 84 [1913], geben 175° an, während D. Vorländer, Liebigs Ann. Chem. **294**, 269 [1897], „gegen 180°“ findet.

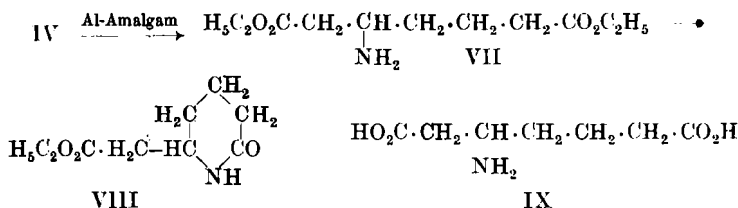
nach etwa vierwöchigem Stehen bei Zimmertemperatur unter Abspaltung von Essigester in 3-[γ -Carbäthoxy-*n*-propyl]-pyrazolon-(5) (V) über. Dieses Verhalten deutet auf das Vorliegen von IV in der „*syn*“-Form hin.



Beim Versuch, das Oxim von I zu erhalten, trat Ringschluß zu 3-[γ -Carbäthoxy-*n*-propyl]-isoxazolon-(5) (VI) ein.

Die Umsetzung von I mit Anilin führte zu dem Monoanilid des β -Keto-pimelinsäure-monoäthylesters, das mit Eisen(III)-chlorid-Lösung Blaufärbung gibt und mit 2,4-Dinitro-phenylhydrazin das Hydrazon liefert.

Zur Darstellung von β -Amino-pimelinsäure (IX) wurde IV mit Aluminium-amalgam bei 0° reduziert. Die Aufarbeitung des Reduktionsproduktes VII ergab Piperidon-(2)-yl-(6)-essigsäureäthylester (VIII), der durch Ringschluß aus β -Amino-pimelinsäureester VII entstanden war. Zum β -Amino-pimelinsäure-hydrochlorid (entsprechend IX) gelangten wir durch Kochen von VIII mit konz. Salzsäure.



Kurzes Kochen von β -Amino-pimelinsäure-hydrochlorid mit absolutem Methanol lieferte β -Amino-pimelinsäuremonomethylester-hydrochlorid. Zur Überführung des Hydrochlorids von IX in die freie β -Amino-pimelinsäure (IX) wurde zur wäßrigen Lösung des Hydrochlorids so viel des Anionen-Austauschers Amberlite IR-4B eingetragen, daß kein Chlor-Ion mehr nachweisbar war. Jeglicher Überschuß an Amberlite ist zu vermeiden, da sonst Gefahr besteht, daß Aminopimelinat-Ion adsorbiert wird. Diese Methode eignet sich allgemein zur Gewinnung von freien Monoaminodicarbonsäuren aus den Hydrochloriden.

Die β -Amino-pimelinsäure, die in weißen Blättchen vom Schmp. 173° kristallisiert, bildet ein *N*-[3,5-Dinitro-benzoyl]-Derivat vom Schmp. 154°.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft sprechen wir für die Gewährung einer Sachbeihilfe unseren ergebensten Dank aus.

Beschreibung der Versuche

β -Keto-pimelinsäurediäthylester (I): Die zur Darstellung von I benötigte Glutarsäure wurde nach G. Hesse und E. Bücking⁴⁾ durch Kondensation von Acrylnitril mit Natriummalonester und anschließende Verseifung des entstandenen β -Cyan-

⁴⁾ Liebigs Ann. Chem. **563**, 35 [1949].

äthyl-malonsäure-diäthylester dargestellt und über Glutarsäureanhydrid⁵⁾ sowie Glutarsäuremonoäthylester⁶⁾ in das Glutarsäuremonoäthylester-monochlorid⁶⁾ verwandelt. Dieses Esterchlorid lieferte bei Kondensation mit Magnesium-malonsäurediäthylester und anschließender Hydrolyse und Decarboxylierung nach J. A. Hunter und J. A. Hogg¹⁾ den Ketoester I.

Die Keto-Enol-Tautomerie von β -Keto-pimelinsäurediäthylester wurde durch Titration nach der Methode von K. H. Meyer und P. Kappelmeier⁷⁾ festgestellt: Jeweils 0.1–0.2 g Ketoester wurden auf -7° abgekühlt, in 30 ccm -7° -kaltem Alkohol gelöst und so lange eine abgekühlte Lösung von Brom in Alkohol hinzugefügt, bis keine Entfärbung mehr eintrat. Der Überschuß an Brom wurde durch 2 ccm kalte 10-proz. alkohol. β -Naphthol-Lösung gebunden, so daß 10 Min. nach Zugabe von 10 ccm 3-proz. Kaliumjodid-Lösung und 5 ccm 25-proz. Salzsäure der Enolgehalt direkt mit n_{10} $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ titriert werden konnte.

0.1553 g frisch dest. Ester verbr. 3.54 ccm n_{10} $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ = 11.4% Enol.

0.2043 g sechs Wochen alter Ester verbr. 2.65 ccm n_{10} $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ = 6.2% Enol.

Den bei der Darstellung von Glutarsäuremonoäthylester aus Glutarsäureanhydrid und absol. Äthylalkohol als Nebenprodukt anfallenden Diäthylester konnten wir in Analogie zu einem Verfahren der Vereinigten Glanzstoff-Fabriken A.G.⁸⁾ durch Umsetzung mit Glutarsäure in den Monoester überführen: 28.4 g (0.15 Mol) Glutarsäurediäthylester wurden im Einschlußrohr unter Stickstoff mit 13.2 g (0.1 Mol) Glutarsäure 30 Stdn. auf 260 – 280° erhitzt. Das hellgelbe Reaktionsprodukt destillierte beim Fraktionieren bei 133 – $134^\circ/10^{-4}$ Torr.

Ausb. 13.4 g (84% d.Th.) Glutarsäuremonoäthylester.

β -Keto-pimelinsäuredimethylester (II): Zu 7 g (0.31 Mol) Natriumstaub in 350 ccm trockenem Benzol wurden unter kräftigem Schütteln 47.4 g (0.36 Mol) Acetessigsäureäthylester gegeben, anschließend im Eisbad abgekühlt und innerhalb von 40 Min. 40 g (0.22 Mol) Monochlorid des Glutarsäuremonomethylesters unter Schütteln zugetropft. Nachdem völlige Lösung eingetreten war, wurde noch 15 Min. im Wasserbad unter Rückfluß gekocht. Die abgekühlte Reaktionsmischung wurde auf Eis gegossen, mit 5-proz. Schwefelsäure kongosauer gemacht, 245 ccm Äthanol zugegeben und die Benzol-Lösung abgetrennt. Nach dreimaligem Waschen der benzolischen Lösung mit 10-proz. wäBr. Äthanol und Trocknen mit Natriumsulfat wurde das Benzol i.Vak. abgedampft, der Rückstand mit einer Natriummethylat-Lösung versetzt, die aus 7.15 g Natrium und 220 ccm absol. Methanol hergestellt war, und 90 Min. bei Raumtemperatur stehengelassen. Die tiefrote Reaktionsmischung wurde auf Eis gegossen, mit 10-proz. Schwefelsäure angesäuert (kongosauer) und ausgeäthert. Die schwach gelbrot fluorescierende Äther-Lösung wurde nach dem Waschen mit Wasser mit Natriumsulfat getrocknet und der Rückstand nach dem Abdampfen des Äthers bei 15 Torr destilliert. Nach einem zwischen 70 und 110° siedenden Vorlauf ging die Hauptfraktion bei $163^\circ/15$ Torr über. Nach erneuter Destillation lag der Siedepunkt des als farbloses Öl übergehenden Esters II bei 128 – $130^\circ/5$ Torr; Ausb. 19.6 g (37.2% d.Th.).

$\text{C}_9\text{H}_{14}\text{O}_5$ (202.2) Ber. C 53.46 H 6.98 Gef. C 53.65 H 7.11

β -Keto-pimelinsäure (III): 1 g (0.005 Mol) des Dimethylesters II wurde in 20 ccm Eisessig gelöst und tropfenweise unter Umschütteln 1 ccm konz. Salzsäure zugegeben. Nach 48stdg. Stehenlassen bei Raumtemperatur im verschlossenen Kolben wurde das Lösungsmittel i.Vak. bei etwa 20° abgedampft. Der ölige Rückstand verfestigte sich teilweise nach kurzer Zeit. Im evakuierten Exsiccator wurden bei $+7^\circ$ über Kaliumhydroxyd die letzten Reste von anhaftender Essigsäure entfernt. Weiße Nadeln; Zersp. unter Decarboxylierung 70 – 75° .

Decarboxylierung von III: 100 mg (0.0006 Mol) III wurden im Wasserbad auf 90° bis zur Beendigung der CO_2 -Entwicklung erhitzt. Das entstandene Öl wurde mit

⁵⁾ D. Mol, Recueil Trav. chim. Pays-Bas. **20**, 381 [1907].

⁶⁾ W. E. Buchmann, S. Kushner u. A. C. Stevenson, J. Amer. chem. Soc. **64**, 977 [1942]. ⁷⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **44**, 2318 [1911]. ⁸⁾ C. 1951 II, 301.

einer konz. wäbr. Lösung von 500 mg Semicarbazid-hydrochlorid und 615 mg Natriumacetat versetzt, wobei sofort ein dicker Niederschlag des γ -Acetyl-buttersäure-semicarbazons ausfiel. Nach dem Umkristallisieren aus Methanol weiße Blättchen vom Schmp. 175°.

$C_7H_{13}O_3N_3$ (187.2) Ber. C 44.91 H 7.00 Gef. C 45.11 H 7.11

3-[γ -Carbäthoxy-*n*-propyl]-isoxazolon-(5) (VI): 2.3 g (0.01 Mol) β -Keto-pimelinsäurediäthylester (I) in 5 ccm absol. Alkohol wurden mit einer Lösung von 0.7 g (0.01 Mol) Hydroxylamin-hydrochlorid in 70 ccm heißem absol. Alkohol sowie mit einer Natriumäthylat-Lösung von 0.23 g (0.01 Mol) Natrium in 4 ccm absol. Alkohol versetzt. Nach 2stdg. Stehenlassen bei Zimmertemperatur wurde der Alkohol i. Vak. abgedampft, der Rückstand in Äther aufgenommen, die äther. Lösung vom abgeschiedenen Natriumchlorid abfiltriert und nach dem Verdampfen des Lösungsmittels bei 3.10^{-4} Torr im Kugelrohr fraktioniert. Das Isoxazolon VI ging bei einer Badtemperatur von 120–128° über. Ausb. 0.8 g (40% d. Th.); $n_D^{25} = 1.4728$. Zur Analyse wurde das hellgelbe Öl nochmals rektifiziert.

$C_9H_{13}O_4N$ (199.2) Ber. C 54.26 H 6.58 N 7.03 Gef. C 54.31 H 6.44 N 7.16

Beim längeren Stehen färbte sich das Produkt dunkelrot.

Monoanilid des β -Keto-pimelinsäuremonoäthylesters: 4.8 g (0.02 Mol) β -Keto-pimelinsäurediäthylester (I) wurden mit 3.7 g (3.6 ccm, 0.04 Mol) frisch dest. Anilin im Einschlußrohr 8 Stdn. auf 140–160° erhitzt. Nach Abblasen des überschüss. Anilins mit Wasserdampf wurde der braune Rückstand aus viel heißem Wasser umkristallisiert. Beim Abkühlen schieden sich 1.6 g (29% d. Th.) lange, weiße Nadeln aus, die aus Methanol in weißen Blättchen vom Schmp. 73–74° kristallisierten. Die Substanz gab mit einer verd. wäbr. Eisen(III)-chlorid-Lösung eine Blaufärbung.

$C_{15}H_{19}O_4N$ (277.3) Ber. C 64.96 H 6.91 N 5.05 OC_2H_5 16.25

Gef. C 64.40 H 6.95 N 5.37 OC_2H_5 15.71

2.4-Dinitro-phenylhydrazon des β -Keto-pimelinsäuremonoäthylester-monoanilids: Aus 76 mg (0.00028 Mol) β -Keto-pimelinsäuremonoäthylester-monoanilid und 48 mg (0.00022 Mol) 2.4-Dinitro-phenylhydrazin in 10 ccm Äthanol erhielt man durch $\frac{3}{4}$ stdg. Erhitzen auf 80° nach dem Abkühlen und Versetzen mit 2 ccm Wasser 80 mg Hydrazon. Das zunächst ausfallende Öl erstarrte allmählich beim Abkühlen. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Alkohol gelbe Nadeln vom Schmp. 139–140°.

$C_{21}H_{23}O_7N_5$ (457.4) Ber. C 55.14 H 5.07 N 15.31 Gef. C 54.82 H 4.99 N 15.46

β -Keto-pimelinsäurediäthylester-acetylhydrazon (IV): 18.2 g (0.076 Mol) β -Keto-pimelinsäurediäthylester (I) in 20 ccm absol. Alkohol wurden mit 5.6 g (0.076 Mol) über Diphosphorpentoxyd getrocknetem Acetylhydrazin in 20 ccm absol. Alkohol 1 Stde. bei genau 80° erhitzt. Der Alkohol wurde dann i. Vak. bei 60° abdestilliert, der ölige hellgelbe Rückstand in 10 ccm Wasser aufgenommen und viermal mit Äther ausgeschüttelt. Der Ätherextrakt erstarrte nach dem Abdampfen des Lösungsmittels in der Kälte. Zum Umkristallisieren wurde in wenig Äther gelöst und die Lösung mit Benzin bis zur leichten Trübung versetzt. Weiße Nadeln vom Schmp. 65.5–66°; Ausb. 11.5 g (53% d. Th.).

$C_{13}H_{22}O_5N_2$ (286.3) Ber. C 54.53 H 7.75 N 9.78 Gef. C 54.84 H 7.64 N 9.97

Aus der wäbr. Phase ließ sich *symm.* Diacetylhydrazin $C_4H_8N_2O_2$ isolieren, das beim Erhitzen des Acetylhydrazins über dessen Schmelzpunkt unter Abspaltung von Hydrazin entstanden war; Schmp. 138–139°.

3-[γ -Carbäthoxy-*n*-propyl]-pyrazolon-(5) (V): 1.5 g (0.0065 Mol) β -Keto-pimelinsäurediäthylester (I) in 2 ccm 94-proz. Alkohol wurden mit 0.48 g (0.0065 Mol) Acetylhydrazin in 2 ccm 94-proz. Alkohol 3 Stdn. bei 80° erhitzt. Nach dem Abkühlen fielen durch Zugabe von 8 ccm Äther 0.8 g (65% d. Th.) weiße Kristalle aus. Durch dreimaliges Umkristallisieren aus absol. Alkohol weiße Drusen vom Schmp. 149 bis 150°.

$C_9H_{14}O_3N_2$ (198.2) Ber. C 54.53 H 7.52 N 14.13 Gef. C 54.61 H 7.71 N 14.14

Piperidon-(2)-yl-(6)-essigsäureäthylester (VII): 4.5 g (0.019 Mol) β -Keto-pimelinsäurediäthylester-acetylhydrazon (IV) in 15 ccm 94-proz. Alkohol wurden bei 0–3° innerhalb von 28 Stdn. unter Rühren anteilweise mit insgesamt 1.3 g amalgamierten Aluminiumschuppen und 8 ccm Wasser versetzt. Der hellgraue Brei wurde dann mit 150 ccm warmem Wasser aufgeschlämmt, zentrifugiert, dreimal mit warmem Alkohol und einmal mit warmem Wasser gewaschen und jeweils nach dem Waschen zentrifugiert. Die vereinigten klaren Lösungen wurden i. Vak. eingedampft, der Rückstand 3 Stdn. mit 100 ccm Wasser unter Rückfluß gekocht. Das farblose Hydrolysat gab nach dem Eindampfen i. Vak. ein gelbes, dickflüssiges Öl, aus dem i. Vak. Acetamid absublimierte. Der Rückstand wurde in wenig Äther aufgenommen, vom ungelösten Acetamid abfiltriert und mit Benzin bis zur schwachen Trübung versetzt. Nach 2–3stdg. Stehen in der Kälte schieden sich Kristallkonglomerate von VII aus. Schmp. nach dem Umkristallisieren aus Äther und Benzin 60.5–61°; Ausb. 1.1 g (37% d. Th.) weiße Drusen. Die Verbindung löst sich in Wasser, Methanol, Alkohol und Äther sehr leicht und zeigt im UV-Licht blaugrüne Fluoreszenz.

$C_9H_{15}O_3N$ (185.2) Ber. C 58.36 H 8.16 N 7.65 Gef. C 58.38 H 8.09 N 7.54

β -Amino-pimelinsäure-hydrochlorid (IX·HCl): Die Lösung von 1.0 g (0.0064 Mol) Piperidon-(2)-yl-(6)-essigsäureäthylester (VIII) in 6 ccm konz. Salzsäure wurde 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht und dann i. Vak. eingedampft. Nach Umkristallisation des Rückstands aus wenig konz. Salzsäure 0.7 g (53% d. Th.) weiße Drusen, die erneut 2 mal aus konz. Salzsäure umkristallisiert wurden; Schmp. 148.5–149°.

$C_7H_{13}O_4N \cdot HCl$ (211.6) Ber. C 39.72 H 6.67 N 6.62 Cl 16.75

Gef. C 39.91 H 6.56 N 6.65 Cl 16.71

Amino-N-Bestimmung nach van Slyke: Ber. N 6.62 Gef. N 6.75, 6.87.

β -Amino-pimelinsäuremonomethylester-hydrochlorid: 0.4 g (0.0022 Mol) Piperidon-(2)-yl-(6)-essigsäureäthylester (VIII) wurden mit 3 ccm konz. Salzsäure 3 Stdn. unter Rückfluß gekocht und die überschüss. Salzsäure i. Vak. verdampft. Durch kurzes Erhitzen (10 Min.) mit 5 ccm absol. Methanol erhielten wir den Monomethylester, der nach Abdampfen des Methanols und zweimaligem Umkristallisieren aus absol. Methanol bei 159.5–160° (Gas-Entwicklung) schmolz; Ausb. 0.3 g (67% d. Th.) weiße Prismen.

$C_8H_{15}O_4N \cdot HCl$ (225.7) Ber. C 42.57 H 7.15 N 6.21 Cl 15.71

Gef. C 42.71 H 7.18 N 6.38 Cl 15.64

β -Amino-pimelinsäure (IX): Die wäbr. Lösung von 0.49 g (0.0023 Mol) rohem β -Amino-pimelinsäure-hydrochlorid in 10 ccm Wasser wurde so lange mit Amberlite IR-4B gerührt, bis eine Probe der Lösung mit Silbernitrat keine Trübung mehr ergab. Nach Abfiltrieren vom Austauscher und Waschen desselben mit 30 ccm Wasser wurden die vereinigten Filtrate i. Vak. zur Trockne eingengt und der Rückstand zweimal aus heißem Wasser umkristallisiert. Ausb. 0.23 g (57% d. Th.) schillernde weiße Blättchen vom Schmp. 173–173.5°. Die wäbr. Lösung reagiert schwach sauer und gibt mit einer verd. Eisen(III)-chlorid-Lösung eine dunkelorange Färbung. IX ist löslich in Wasser, Alkohol, verd. Salzsäure sowie in verd. Natronlauge, unlöslich in Äther, Benzin und Benzol.

$C_7H_{13}O_4N$ (175.2) Ber. C 47.99 H 7.48 N 8.00 Gef. C 48.21 H 7.41 N 8.09

Amino-N-Bestimmung nach van Slyke: Ber. N 8.00 Gef. N 7.80.

N-[3.5-Dinitro-benzoyl]- β -amino-pimelinsäure: Zu 44 mg (0.00025 Mol) β -Amino-pimelinsäure (IX) und 70 mg Natriumacetat in 0.7 ccm *n* NaOH wurden 57 mg (0.00027 Mol) 3.5-Dinitro-benzoylchlorid gegeben und so lange geschüttelt, bis klare Lösung eintrat. Nach Versetzen der rot gefärbten Lösung mit einem Überschuß an *n* HCl und ½stdg. Stehenlassen in der Kälte wurde von der ausgefallenen 3.5-Dinitro-benzoesäure abfiltriert. Aus dem Filtrat erhielt man durch Einengen i. Vak. 13 mg N-[3.5-Dinitro-benzoyl]- β -amino-pimelinsäure. Nach zweimaligem Umkristallisieren aus Wasser blaßgelbe Rosetten vom Schmp. 153.5–154°.

$C_{11}H_{15}O_5N_3$ (369.3) Ber. C 45.53 H 4.09 N 11.38 Gef. C 45.60 H 4.24 N 11.39