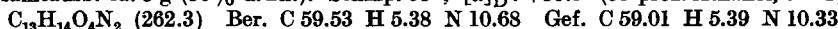


nach einigen Tagen. Umkristallisation aus Alkohol/Petroläther. Da die Verbindung relativ leicht wasserlöslich ist, müssen die wäßrigen Mutterlaugen aufgearbeitet werden. Gesamtausb. ca. 3 g (50% d.Th.). Schmp. 95°;  $[\alpha]_D^{20} +58.5^\circ$  (95-proz. Äthanol,  $c = 1$ ).



7. Umsetzung von *N*-Benzoyl-DL-serin mit Divinylsulfon: Analog 1. Ansatz: 10.5 g *N*-Benzoyl-DL-serin (0.05 Mol), 3.0 g Divinylsulfon (0.025 Mol), 52 ccm 1*n* NaOH, 60 ccm Wasser. Temperatur: 50°, Reaktionszeit: 8 Stunden. Divinylsulfon wird in 3 Portionen sehr langsam zugegeben. Nach dem tropfenweisen Ansäuern des Reaktionsgemisches mit konz. Salzsäure scheidet sich ein farbloser Sirup ab, der mehrmals mit Wasser digeriert wird. Er erstarrt im Vak.-Exsiccator zu einer spröden, glasigen Masse.

Analyse:	C	H	N	S
Bifunktionelle Umsetzung des Divinylsulfons Ber.: ..... $\text{C}_{38}\text{H}_{28}\text{O}_{10}\text{N}_2\text{S}$ (536.8)	53.73	5.26	5.22	5.97
Monofunktionelle Umsetzung Ber.: ... $\text{C}_{14}\text{H}_{19}\text{O}_7\text{NS}$ (345.4)	48.65	5.55	4.06	9.25
Gemisch 1:1 Ber.: ..... Gef.: .....	51.19 50.62	5.45 5.74	4.64 4.51	7.62 7.41

Durch Umfällen mit Lauge-Säure oder durch Umkristallisieren aus organischen Lösungsmitteln lässt sich die Substanz nicht reinigen. Sie fällt immer wieder als Sirup aus. Durch Einengen der 1. Mutterlauge erhält man eine zweite Sirupfraktion, die in einem Schacherl-Gerät 36 Stdn. mit Äther extrahiert wird. Aus dem Äther scheidet sich hierbei ein wasserheller Sirup ab, der nach dem Trocknen im Verlauf mehrerer Wochen zu einer weißen, von feinsten Nadeln durchzogenen Masse erstarrt. Jeder Umkristallisierungsversuch führt wieder zu einem Sirup, der nach langem Aufbewahren erstarrt und folgende Analysendaten besitzt: Gef. C 57.60 H 6.64 N 4.59 S 2.74

## 249. Helmut Zahn, Roland Dietrich<sup>1)</sup> und Wolfgang Gerstner<sup>2)</sup>: Der Diserinäther (Lanoxin)<sup>3)</sup>

[Aus dem Chemischen Institut der Universität Heidelberg]

(Eingegangen am 11. August 1955)

2.2'-Diphthalimido-2.2.2'.2'-tetracarbäthoxy-diäthyläther wurde aus 1.1'-Dichlor-dimethyläther und Natrium-phthalimidomalonester synthetisiert und daraus durch Verseifung 2.2'-Diamino-2.2'-dicarboxy-diäthyläther (Lanoxin), das Sauerstoffisologe des Lanthionins, dargestellt. Die neue Diaminodicarbonsäure wurde durch den Cu-Komplex, das Acetyl derivat, das Pikrat und das Pikrolonat charakterisiert.

### 1. Synthese von Lanoxin

In der Eiweißliteratur wurden verschiedentlich Hauptvalenzbrücken zwischen Peptidketten diskutiert, welche neben den bekannten Cystinbrücken zur Stabilität beitragen sollen. So nahm J. B. Speakman<sup>4)</sup> Sauerstoff-

<sup>1)</sup> Teil der Diplomarb. R. Dietrich, Heidelberg 1951.

<sup>2)</sup> Teil der Diplomarb. W. Gerstner, Heidelberg 1953.

<sup>3)</sup> III. Mitteil. über Serin; II. Mitteil. vergl. H. Zahn u. W. Gerstner, Biochem. Z. (im Druck); I. Mitteil.: H. Zahn u. W. Gerstner, Chem. Ber. 88, 1731 [1955], voranstehend.

<sup>4)</sup> Conference of the Int. Soc. Leather Trades Chem. 1933; vergl. W. T. Astbury u. H. J. Woods, Philos. Trans. Roy. Soc. [London] Ser. A 232, 333 [1935].

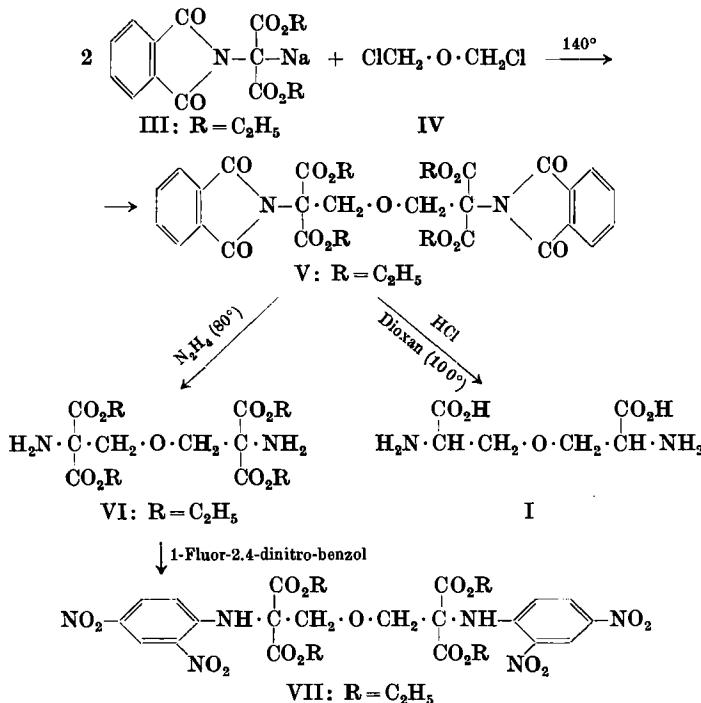
brücken zwischen im Fasereiweiß eingebauten Oxyaminoäuren wie Serin, Tyrosin und Oxyprolin an.

In der vorliegenden Arbeit beschreiben wir die Synthese des bisher noch nicht bekannten Diserinäthers, 2.2'-Diamino-2.2'-dicarboxy-diäthyläther(I), den wir wegen seiner strukturellen Verwandtschaft mit dem Thioäther des Cysteins, dem Lanthionin(II), Lanoxin nennen wollen.



II

Die neue Bis-aminoäure wurde nach der von R. Kuhn und G. Quadbeck<sup>5)</sup> für die Lanthioninsynthese angegebenen Malonestermethode dargestellt; Natrium-phthalimidomalonester(III) wird in Xylol bei 140° mit 1.1'-Dichlor-dimethyläther(IV) in glatter Reaktion zum 2.2'-Diphthalimido-2.2.2'.2'-tetracarbäthoxy-diäthyläther(V) kondensiert. Dieser „Tetraester“ wird in einem Gemisch von 1 Tl. 6nHCl und 1 Tl. Dioxan bei 100° in 24 Stdn. in einer Ausbeute von 37% zum Lanoxin(I) verseift.



Eine höhere Ausbeute an Lanoxin wurde trotz eingehender Reihenversuche nicht erzielt, da die Ätherbindung, besonders des Tetraesters, nicht nur von Alkalien rasch aufgebrochen wird, sondern auch gegen Säuren nicht genügend beständig ist. So wurden aus der Mutterlauge des Hydrolysates des

<sup>5)</sup> Ber. dtsch. chem. Ges. **76**, 527 [1943].

Tetraesters Ammoniumchlorid, Essigsäure und eine bei 148° siedende Carbonsäure isoliert und ferner Serin, Alanin und ein unbekanntes Amin nachgewiesen. Der Tetraester spaltet sogar im kristallinen Zustand bei Zimmertemperatur langsam Formaldehyd ab.

Untersuchungen über die räumliche Konfiguration des dargestellten Lanoxins wurden nicht durchgeführt. Da die analoge Synthese des Lanthionins nach Kuhn und Quadbeck<sup>5)</sup> neben dem schwerer löslichen *meso*-Lanthionin auch *D,L*-Lanthionin liefert, ist dies bei der vorliegenden Lanoxinsynthese auch zu erwarten. Tatsächlich zeigen Papierchromatogramme der Mutterlauge des Lanoxins neben Serin noch einen weiteren Ninhydrinfleck vom  $R_F$ -Wert 0.044, der möglicherweise auf ein Diastereomeres hinweist. Die betreffende Verbindung wurde nicht isoliert. Wir nehmen vorerst an, daß die isolierte Verbindung *meso*-Lanoxin ist, wofür die Analogien zum *meso*-Lanthionin in Darstellung und Löslichkeit sprechen.

## 2. Einwirkung von $H^\ominus$ - und $OH^\ominus$ -Ionen auf Lanoxin

a) Säuren: Reines Lanoxin wurde mit Salzsäure unter Rückfluß gekocht. Papierchromatographisch wurde folgendes gefunden: Siedende 1*n* HCl sowie 2*n* HCl greifen Lanoxin in 8 Stdn. nicht an. 6*n* HCl bewirkt bei 24 stdg. Erhitzen auf 105° (normale Proteinhydrolyse) eine spurenweise Zersetzung unter Bildung von Serin. Lanoxin ist also auch gegen siedende 6*n* HCl durchaus stabil.

b) Alkalien: Eine kochende gesättigte Lösung von Natriumhydrogencarbonat oder 0.1*n* NaOH zersetzt Lanoxin schon nach 1 Stde. merklich. Etwa 5% des Lanoxins wurden in Serin, Alanin und Glycin gespalten. 0.6*n* NaOH spaltete in 24 Stdn. bei 105° etwa 30% des eingesetzten Lanoxins in gleicher Weise. Eine bei Raumtemperatur aufbewahrte Lösung von Lanoxin in 1*n* NaOH enthielt nach 10 Tagen eine beträchtliche Menge Serin.

Aus dieser Versuchsreihe geht hervor, daß die Ursache der schlechten Ausbeute bei der Synthese des Lanoxins nicht in der Spaltung der Diamino dicarbonsäure zu suchen ist; die Spaltung der Ätherbrücke muß vielmehr bereits vor der völligen Hydrolyse des Tetraesters eintreten, d.h. der Tetraester oder die primär daraus entstehenden Zwischenprodukte sind im Gegensatz zum Lanoxin gegen heiße Salzsäure nicht stabil. Man vergleiche hierzu die in der I. Mitteil.<sup>3)</sup> beschriebene Instabilität von *O*-Cyanäthyl-serin. Die Spaltung des Lanoxins im alkalischen Medium entspricht der bekannten Instabilität der Dihydracrylsäure.

## 3. 2.2'-Diamino-2.2.2'.2'-tetracarbäthoxy-diäthyläther (VI, R = C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)

Um ein genaueres Bild über den Reaktionsverlauf bei der sauren Hydrolyse des Phthalimidotetraesters des Lanoxins zu gewinnen, wurde versucht, die Hydrolyse partiell durchzuführen. Aus dem Tetraester wurden die Phthalsäurereste mit Hydrazinhydrat nach J. C. Sheehan und W. A. Bolhofer<sup>6)</sup>

<sup>5)</sup> J. Amer. chem. Soc. 72, 2786 [1950].

abgespalten und der Diamino-tetracarboxy-diäthyläther (VI, R=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) gewonnen. In den aufgearbeiteten Ansätzen wurden papierchromatographisch 8 verschiedene ninhydrinpositive Substanzen, größtenteils in relativ starker Konzentration, gefunden. Es war also wieder eine weitgehende Aufspaltung des Moleküls eingetreten.

#### 4. Hydrolyse des Äthers VI (R=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)

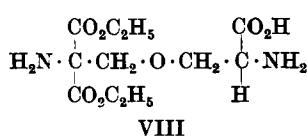
Nach Hydrolyse von jeweils 50 mg Äther VI (R=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) im Einschlußrohr ergab die papierchromatographische Untersuchung (vergl. Tafel 1), daß auch unter sehr milden Bedingungen eine Aufspaltung der Ätherbrücke eintrat. Eigenartigerweise zeigte sich, daß bei niedriger Temperatur und kurzer Reaktionszeit fast nur Serin entstand. Hier waren dann allerdings noch große Mengen unveränderten Ausgangsproduktes vorhanden. Unter diesen Bedingungen war ferner ein nicht isoliertes Zwischenprodukt vom R<sub>F</sub>-Wert 0.22 (SBA)<sup>7)</sup> nachweisbar, das bei etwas energischerer Hydrolyse verschwand. In gleichem Maße nahm der Lanoxingehalt des Hydrolysates zu. Die 100°-Hydrolysen mit mindestens 2nHCl führten stets zur Bildung von Alanin und Glycin neben Serin.

Tafel 1. Hydrolyse des Aminotetraesters mit Salzsäure

Temp. °	Säure- konz.	Zeit Stdn.	entstandene Verbindung			
			Lanoxin	Serin	Zwischen- produkt	Ausgangs- subst.
60	0.5 n	1	—	++	++	++++
60	1 n	1	—	+++	++	+++
100	1 n	1	+	+++	++	++
100	1 n	2	++	+++	++	+
100	1 n	4	++++	+++	—	—
100	2 n	1	++	++++	+	—
100	6 n	24	+	++++	+	—

Die Anzahl der Kreuze entspricht den jeweils vorhandenen Substanzmengen.

Bemerkenswert ist, daß eine 14 Tage bei Zimmertemperatur aufbewahrte wäßrige Lösung des Äthers VI (R=C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>) ebenfalls hydrolytisch zersetzt war,



und zwar war hierbei wiederum neben unverseiftem Ausgangsmaterial relativ viel „Zwischenprodukt“, wenig Lanoxin und viel Serin vorhanden. Bei dem Zwischenprodukt dürfte es sich um die verseifte, aber noch nicht decarboxylierte Verbindung (VI, R=H) handeln, möglicherweise auch um ein nur einseitig verseiftes und decarboxyliertes Produkt (VIII).

Da der Lanoxingehalt weniger mit der Abnahme des Aminotetraesters als vielmehr mit der des „Zwischenproduktes“ zunahm – dieses wurde, solange noch Aminotetraester vorhanden war, in gleichem Maße nachgebildet –, scheint es nur in geringerem Maße eine Spaltung an der Ätherbrücke zu er-

<sup>7)</sup> H. Zahn, Melliand Textilber. 35, 162 [1954].

leiden. Die Tatsache, daß reines Lanoxin selbst gegen kräftige Säureeinwirkung resistent ist (vergl. S. 1739), bei der Veresterung in der Hitze jedoch fast völlig zerfällt — wie später noch gezeigt werden wird —, macht jedoch die Formulierung VI ( $R=H$ ) für das Zwischenprodukt wahrscheinlicher. Gegen siedende  $2n\text{NaOH}$  bei  $105^\circ$  (24 Stdn.) ist der Tetraester unbeständig. Es erfolgt Spaltung zu Serin, Alapin und Glycin.

### 5. Derivate des Lanoxins

In wäßriger Lösung bildet Lanoxin mit Kupfercarbonat in 40-proz. Ausbeute einen dunkelblauen Mono-Cu-Komplex. Mit Pikrinsäure entsteht ein Monopikrat, mit Pikrolonsäure ein Dipikronat. Keten<sup>8)</sup> gibt bei der Einwirkung auf die wäßrige Lösung des Dinatriumsalzes Di-N-acetyl-lanoxin. Da Lanoxin sich nicht direkt dinitrophenylieren ließ, stellten wir durch Behandlung des Äthers VI ( $R=C_2H_5$ ) mit 1-Fluor-2,4-dinitro-benzol<sup>9)</sup> dessen Bis-dinitrophenyl-Verbindung (VII) dar.

Die Verseifung der Estergruppen und die Decarboxylierung des Dinitrophenyltetraesters VII wurde unter verschiedenen Bedingungen versucht. Bei Verwendung von  $1n\text{HCl}$ , die sich für die Verseifung des Aminotetraesters als sehr gut geeignet erwies, wurde auch nach sehr langer Hydrolysendauer das Ausgangsmaterial nahezu quantitativ zurückgewonnen. Auch  $2n\text{HCl}$  mit Dioxan als Lösungsmittel führte zu keinem Ergebnis. Selbst bei Verwendung von konz. Salzsäure und Dioxan (1:1.3) fand bei 24 stdg. Einwirkung bei  $100^\circ$  keine Verseifung statt. Die Erhöhung der Temperatur auf  $130^\circ$  ergab dann zwar völlige Umsetzung des Dinitrophenyltetraesters, es konnte jedoch kein Dinitrophenyl-lanoxin isoliert oder nachgewiesen werden. Es war eine größere Menge Dinitrophenol entstanden. Ninhydrinpositive Substanzen waren nicht nachweisbar.

Während Erhitzen von Lanoxin mit äthanol. Salzsäure auf dem Wasserbad hauptsächlich Serin-äthylester ergab, konnte beim Arbeiten in der Kälte (6 Wochen) der Äthylester des Lanoxins wenigstens nachgewiesen werden. Die papierchromatographische Untersuchung (aufsteigend in SBA) zeigte, daß eine ninhydrinpositive Substanz vom  $R_F$ -Wert 0.115 entstanden war, daneben in sehr geringen Mengen eine weitere vom  $R_F$ -Wert 0.047. Lanoxin war nicht mehr vorhanden. Zur Identifizierung der Reaktionsprodukte wurde ein Teil der Lösung i. Vak. nahezu zur Trockne eingedampft, durch Verdünnung mit Wasser auf  $p_H$  1 gebracht und 2 Stdn. im siedenden Wasserbad erhitzt.

Die papierchromatographische Untersuchung ergab, daß ein Teil der Ausgangssubstanz in Lanoxin und etwa die doppelte Menge Serin verseift bzw. gespalten worden war. Das Auftreten von Lanoxin im Hydrolysat zeigt, daß sich beim Verestern in der Kälte ein Lanoxinester gebildet haben mußte; die Entstehung von Serin war durch die hohe Verseifungstemperatur bedingt.

Da der  $R_F$ -Wert des Lanoxin-monoäthylesters zwischen dem des Lanoxins und dem des Lanoxin-diäthylesters liegen muß, ist die Verbindung mit dem  $R_F$ -Wert 0.115 als Lanoxin-diäthylester, die in geringen Mengen auftretende Verbindung mit dem  $R_F$ -Wert 0.047 als Lanoxin-monoäthylester anzusprechen. (Der  $R_F$ -Wert von Lanoxin beträgt 0.018.)

In präparativem Maßstab wurde die Veresterung nicht durchgeführt.

<sup>8)</sup> M. Bergmann u. F. Stern, Ber. dtsch. chem. Ges. **63**, 437 [1930].

<sup>9)</sup> F. Sanger, Biochem. J. **39**, 507 [1945].

### 6. Versuche, Lanoxin auf anderem Wege zu synthetisieren

Da die Synthese des Lanoxins über den 2.2'-Diphthalimido-2.2.2'.2'-tetracarbäthoxy-diäthyläther, dessen Darstellung schon über mehrere Zwischenstufen erfolgen muß, nur eine Ausbeute von ca. 9%, bezogen auf Malonester, ergibt, wurden folgende andere Möglichkeiten zur Synthese des Lanoxins untersucht:

a) Darstellung des 2.2'-Dicarboxy-diäthyläthers durch Verseifung des 2.2'-Dicyanodiäthyläthers,  $\alpha$ -Bromierung der so erhaltenen Ätherdicarbonsäure (Dihydacrylsäure) und Austausch des Halogens gegen die Aminogruppe, z.B. nach Gabriel.

b) Darstellung des Diglykolaldehyds durch Oxydation von Diglykol und direkte Überführung desselben in Lanoxin nach Strecker.

c) Beibehaltung der bereits ausgearbeiteten Synthese, jedoch Verwendung des leichter zugänglichen Acetaminomalonesters an Stelle des Phthalimidomalonesters.

Die Darstellung des Lanoxins gelang jedoch lediglich über den Acetaminomalester (c), und auch hier nur in sehr schlechter Ausbeute.

Wir danken der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Fonds der Chemie für die Unterstützung der vorliegenden Arbeit.

### Beschreibung der Versuche

1. 1.1'-Dichlor-dimethyläther (IV)\*: Zu 600 g konz. Schwefelsäure läßt man unter Kühlung (Innentemperatur 5°) tropfenweise 100 g Paraformaldehyd zufüllen und leitet dann trockenen Chlorwasserstoff ein, wobei die Temperatur nicht über 10° ansteigen darf. Nach 4 Stdn. ist die Reaktion beendet und Chlorwasserstoff entweicht. Nach mehrstündigem Aufbewahren scheidet sich der rohe 1.1'-Dichlor-dimethyläther ab. Ein weiterer Teil kann i. Vak. aus der Schwefelsäure herausdestilliert werden. Gesamtausb. 91% d. Theorie. Zur Reinigung wird zweimal fraktioniert destilliert: Vorlauf bis 102°, Hauptfraktion von 102–105°. Die Verbindung ist vor Feuchtigkeit zu schützen. Vor der Weiterverarbeitung ist erneutes zweimaliges Destillieren erforderlich.

2. 2.2'-Diphthalimido-2.2.2'.2'-tetracarbäthoxy-diäthyläther, „Tetraester“ (V): 81.8 g (0.25 Mol) Natrium-phthalimidomalonsäureester werden mit 200 ccm trockenem Xylol und 23 g (0.2 Mol) 1.1'-Dichlor-dimethyläther unter Rückfluß (Calciumchlorid-Rohr) 4 Stdn. auf 140–145° erhitzt. Beim Abkühlen über Nacht wird der hellbraune Kolbeninhalt langsam weiß. Man dampft das Lösungsmittel i. Vak. ab und extrahiert dreimal mit je 200 ccm heißem Benzol. Der fast weiße Rückstand besteht aus Natriumchlorid (14.2 g). Nach dem Einengen der benzol. Lösung i. Vak. auf 150 ccm, gießt man siedendes Leichtbenzin (Sdp. 60–80°) unter Rühren in die fast siedende Lösung. Beim Reiben beginnt ein feines Kristallmehl auszufallen. Ausb. an Rohprodukt: 75 g (92.2% d. Th.). „Tetraester“ sintert bei 117° und schmilzt bei 118.5°. Schmp. 120°, nach zweimaligem Umkristallisieren aus Alkohol. Löslich in Benzol und Xylol.



Steht die Verbindung mehrere Wochen in einer gut verschlossenen Schliff-Flasche, so riecht sie stark nach Formaldehyd. 15 g wurden mit 50 ccm dest. Wasser überschichtet und 48 Stdn. sich selbst überlassen. Im wäßrigen Filtrat konnte Formaldehyd als Hexamethylentetramin, mit Resorcin und 50-proz. Natronlauge und mit Resorcin und Schwefelsäure nachgewiesen werden<sup>10)</sup>. 2, 3 und 6 n HCl spalten in 24 Stdn. bei 105° einen Teil der Verbindung in Serin, Alanin und Glycin. 1 n NaOH spaltet bei 105° in 8 Stdn. völlig in Serin, Alanin und Glycin.

3. Lanoxin (I): 30 g „Phthalimidotetraester“ werden mit 130 ccm aldehydfreiem Dioxan und 130 ccm halbkonz. Salzsäure übergossen, gut durchgeschüttelt und 24 Stdn. im Wasserbad erhitzt. Aus der gekühlten Lösung scheidet sich über Nacht die

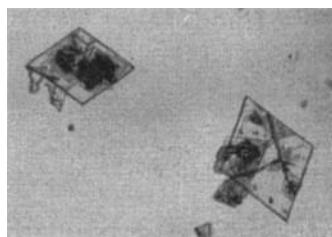
\* ) Die Verbindung ist sehr vorsichtig zu handhaben; Gummihandschuhe und gut ziehender Abzug.

<sup>10)</sup> K. K. Bauer, Die organische Analyse, Akad. Verlagsgesellschaft, Leipzig 1950, S. 215 u. 240.

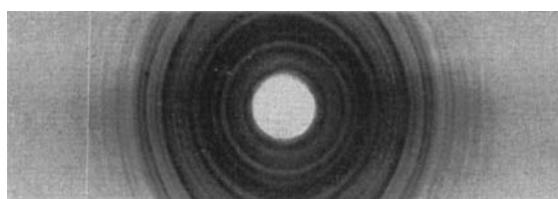
entstandene Phthalsäure zum großen Teil ab. Nach dem Absaugen und mehrmaligen Nachwaschen mit wenig kaltem Wasser wird das Filtrat i. Vak. bis zur Trockne eingedampft und die überschüss. Salzsäure im Luftstrom entfernt. Anschließend wird der Kolbenrückstand mit 80 ccm eiskaltem Wasser kräftig durchgeschüttelt und vom Unlöslichen abgesaugt. Kolben und Rückstand werden mit möglichst wenig eiskaltem Wasser gut nachgewaschen, dann wird das Filtrat, welches das Lanoxin sowie die entstandenen Spaltprodukte (hauptsächlich Serin) als Hydrochloride gelöst enthält, mit etwa 5 n Ammoniak nahezu neutralisiert. Nach Zusatz von 2 ccm Acetatpuffer ( $p_{\text{H}}$  5.2) bildet sich ein weißer, feinkristalliner Niederschlag von Lanoxin. Nach 3 Tagen werden 2.65 g reines Lanoxin abgenutscht. Aus der Mutterlauge werden weitere 0.1 g gewonnen. Gesamtausb. 37% d. Theorie. Zur weiteren Reinigung wird die Verbindung aus der eben notwendigen Menge siedenden Wassers umkristallisiert.

Zur Rückgewinnung des nicht umgesetzten Phthalimidotetraesters wird der vor der Neutralisation beim Absaugen erhaltene Rückstand mit Wasser aufgekocht, heiß abgesaugt und mit heißem Wasser nachgewaschen. Der zurückbleibende Tetraester (4.5 g) wird aus Alkohol umkristallisiert.

Das reine Lanoxin, 48 Stdn. im Vak.-Exsiccator über konz. Schwefelsäure getrocknet, enthält noch 1 Mol. Kristallwasser, das sich selbst durch 24 stdg. Trocknen i. Hochvak. bei 120° nicht völlig entfernen lässt. Es kristallisiert in rhombischen Plättchen (vergl. Abbild. 1), die sich bei 285° zu bräunen beginnen und bei 315–325° schmelzen. Das

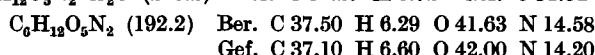
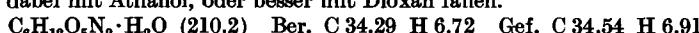


Abbild. 1. Lanoxin. 150 fach



Abbild. 2. Debye-Scherrer-Diagramm von Lanoxin

Debye-Scherrer-Diagramm ist gut ausgebildet (vergl. Abbild. 2). Wie die meisten Aminosäuren ist die Verbindung unlöslich in organischen Lösungsmitteln und als Bisaminosäure auch schwerlöslich in kaltem Wasser (ca. 1 g/l bei 1°). Wasser eignet sich demnach gut zum Umkristallisieren von Lanoxin; die in der Mutterlauge noch gelösten Reste lassen sich dabei mit Äthanol, oder besser mit Dioxan fällen.



Die papierchromatographische Untersuchung ergab für Lanoxin in sek. Butanol-Ameisensäure-Wasser (SBA) einen  $R_F$ -Wert von 0.018 (aufsteigende Methode). In

80-proz. Phenol beträgt der  $R_F$ -Wert 0.16 (aufsteigende Methode). Im Durchlaufchromatogramm (80-proz. Phenol, 3 Tage) wurden folgende, auf Cystin bezogene  $R_{Cyst}$ -Werte gefunden: Lanoxin 0.85, Lanthionin 0.52 (Cystin 1.00); im eindimensionalen Paprogramm (aufsteigende Methode, vergl. H. Zahn<sup>7</sup>) in Phenol die auf Serin bezogenen  $R_{Ser}$ -Werte: Cystin 0.72, Lanoxin 0.55 und Lanthionin 0.30 (Serin 1.00).

Das Hydrochlorid (oder Dihydrochlorid) des Lanoxins ist außer in Wasser auch in Äthanol sowie in Dioxan extrem leicht löslich und wurde in kristallisiertem Zustand bisher nicht isoliert.

Tafel 2. Debye-Scherrer-Diagramm von Lanoxin

Intensität (geschätzt)	Å	Intensität (geschätzt)	Å
5	7.35	7	2.51
4	6.31	3	2.38
4	5.74	1	2.27
6	5.26	4	2.19
7	4.52	4	2.09
10	3.97	2	2.03
8	3.69	2	1.92
0.5	3.41	3	1.85
7	3.23	2	1.71
3	2.97	2	1.60
4	2.78	1	1.25
3	2.64	2	1.18

Die Röntgenaufnahmen wurden mit einer Seifert-Apparatur in einer zylindrischen Kammer (57.3 mm Durchmesser) mit  $\text{CuK}\alpha$ -Strahlung bei 20 mA und 32 kV hergestellt.

4. 2.2'-Diamino-2.2.2'.2'-tetracarbäthoxy-diäthyläther (VI,  $R = \text{C}_2\text{H}_5$ ): 13 g Phthalimidotetraester (0.02 Mol) werden in 100 ccm 96-proz. Äthanol auf dem Wasserbad gelöst. Die heiße Lösung wird mit 2.4 ccm (0.04 Mol) 85-proz. wäßrigem Hydrazinhydrat versetzt und 1 Stde. auf dem Wasserbad unter Rückfluß erhitzt. Am anderen Tag wird der voluminöse, krist. Niederschlag von Phthalhydrazid abgesaugt und mit kaltem Wasser nachgewaschen. Das Filtrat wird mit Wasser auf 180 ccm aufgefüllt und i. Vak. zur Entfernung des Alkohols auf 80 ccm eingedampft. Diese Lösung

Tafel 3. Debye-Scherrer-Diagramm von 2.2'-Diamino-2.2.2'.2'-tetracarbäthoxy-diäthyläther

Intensität (geschätzt)	Å	Intensität (geschätzt)	Å
10	7.35	3	2.43
10	5.92	5	2.31
5	5.35	3	2.19
7	4.42	3	2.12
4	4.12	2	1.92
3	3.63	2	1.83
1	3.46	1	1.66
6	3.24	1	1.51
4	3.09	1	1.45
3	2.94	1	1.24
2	2.67	1	1.19

wird ungeachtet eines evtl. Niederschlages in einem Schacherl-Apparat 24 Stdn. mit Äther extrahiert. Der nach dem Abdampfen des Äthers erhaltene, mit Kristallen durchsetzte Sirup erstarrt nach 2-tägigem Aufbewahren fast vollständig. Zweimaliges Umkristallisieren aus wenig Wasser ergibt 2.9 g (42% d. Th.) Aminotetraester vom Schmp. 81°. Die reine Verbindung schmilzt bei 82°; sie bildet langgestreckte, charakteristische Kristalle, die sich in Wasser und Äther sowie in verd. Säuren lösen, leichter in Alkohol und Aceton. Der  $R_F$ -Wert in SBA beträgt 0.49.

$C_{18}H_{28}O_5N_2$  (392.4) Ber. C 49.00 H 7.19 N 7.14 Gef. C 49.39 H 6.98 N 7.26

5. Kupferkomplex des Lanoxins: 50 mg reines Lanoxin werden auf dem Wasserbad in 45 ccm Wasser gelöst und 200 mg Kupfercarbonat (ca. 6facher Überschuß) zugegeben. Unter häufigem Rühren erhitzt man 30 Min. auf dem Wasserbad, filtriert vom ungelösten Kupfercarbonat ab und wäscht das Filter mit kochendem Wasser aus. Man engt das Filtrat stark ein, worauf der Kupferkomplex in der Kälte in tiefblauen Kristallen auskristallisiert. Ausb. 25 mg (40% d. Th.).

$C_6H_{10}O_5N_2Cu \cdot H_2O$  (271.7) Ber. N 10.3 Cu 23.4 Gef. N 10.3 Cu 23.6

6. Di-N-acetyl-lanoxin (2.2'-Diacetamino-2.2'-dicarboxy-diäethyläther): In die Lösung von 720 mg Lanoxin in 7.55 ccm 1nNaOH und 4 ccm Wasser leitet man unter Kühlung 1 Stde. acetonfreies Keten ein. Dann kühlt man die leicht erwärmte Lösung ab und versetzt mit 7.55 ccm 1nHCl. Nun wird i. Vak. bis zur Trockne eingedampft, wobei man durch die Siedekapillare getrockneten Stickstoff einleitet (Bunsenventil!). Die erhaltene gelbliche, amorphe Masse löst man bei Zimmertemperatur in 10 ccm absol. Alkohol, saugt vom ungelösten Natriumchlorid unter Ausschluß von Luft ab und dampft wie oben das Filtrat i. Vak. zur Trockne ein. Die zurückbleibende, leicht gelbliche, amorphe Substanz ist fast reines Diacetyl-lanoxin. Zur Reinigung wird in absol. Alkohol gelöst und mit trockenem Petroläther (Sdp. 80–90°) versetzt. Der amorphe Niederschlag wird unter Stickstoff abgesaugt, wobei in feuchtem Zustand jede Berührung mit Luft zu vermeiden ist, da sonst braune Schmieren entstehen. Ausb. 930 mg (90% d.Th.) blaßgelbes, amorphes Diacetyl-lanoxin. Der Stoff ist sehr hygroskopisch und auch in Alkohol sehr leicht löslich. Zum Umfällen eignet sich am besten höher siedender Petroläther.

$C_{10}H_{16}O_4N_2$  (276.2) Ber. C 43.48 H 5.84 N 10.14 Gef. C 43.47 H 5.98 N 9.73

7. 2.2'-Bis-[2.4-dinitro-phenylamino]-2.2'.2'-tetracarbäthoxy-diäethyläther (VII): Zu einer Lösung von 900 mg Aminotetraester und 1.6 g Natriumhydrogencarbonat in 50 ccm Wasser wird die Lösung von 2.2 g 1-Fluor-2.4-dinitro-benzol in 60 ccm Äthanol zugegeben, wobei eine starke Trübung eintritt. Man schüttelt 3 Stdn. auf der Maschine. Nach dem Ansäuern auf  $p_H$  6 wird i. Vak. zur Trockne eingedampft und anschließend mit 80 ccm Wasser versetzt. Man äthert mehrmals aus, dampft die vereinigten äther. Auszüge ein und trocknet den Rückstand im Vak.-Exsiccator über Schwefelsäure. Die krist. Masse wird zur Entfernung des nicht umgesetzten Fluordinitrobenzols und Dinitrophenols mit wenig kaltem Äther digeriert und die gelben Kristalle abgesaugt. Nach dem Waschen mit wenig Äther erhält man 920 mg rohen Dinitrophenyltetraester. Aus den vereinigten äther. Mutterlaugen bzw. Waschflüssigkeiten kristallisieren nach längerem Aufbewahren nochmals 100 mg aus. Zur Reinigung werden die Kristalle zweimal aus 50-proz. Äthanol umkristallisiert. Gelbe Nadeln vom Schmp. 177.5°. Ausb. 61% d. Theorie.

Die Verbindung ist leicht löslich in Aceton, löslich in Dioxan und heißem Alkohol, wenig löslich in heißem Wasser. Der  $R_F$ -Wert in Äthanol/Wasser = 1:1 beträgt 0.00; in sek. Butanol-Ameisensäure-Wasser läuft die Verbindung wie Fluordinitrobenzol und Dinitrophenol bis zur Front.

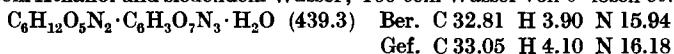
$C_{28}H_{34}O_{17}N_6$  (726.6) Ber. C 46.41 H 4.72 N 11.60 Gef. C 46.76 H 4.57 N 11.83

8. Lanoxin-monopikrat: 70 mg Lanoxin (0.35 mMol) werden in ca. 2 ccm kochendem Wasser gelöst. Zu der noch heißen Lösung werden 230 mg (1 mMol) reine Pikrinsäure, gelöst in möglichst wenig siedendem Wasser, hinzugegeben. Über Nacht kristallisieren große, sattgelbe Nadeln aus. Nach dem Absaugen und Waschen mit wenig

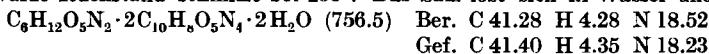
Tafel 4. Debye-Scherrer-Diagramm von 2.2'-Bis-[2.4-dinitro-phenylamino]-2.2.2'.2'-tetracarb-äthoxy-diäthyläther

Intensität (geschätzt)	Å	Intensität (geschätzt)	Å
9	6.09	2	2.85
9	5.88	3	2.65
3	5.14	2	2.47
10	4.38	3	2.17
4	4.06	3	2.06
9	3.63	3	2.00
1	3.34	2	1.88
5	3.11	2	1.81

eiskaltem Wasser und etwas Alkohol erhält man 140 mg praktisch reines Lanoxin-monopikrat-hydrat. Umkristallisation aus Wasser. Die reine Verbindung zersetzt sich bei 245°, bei 225° beginnt sie sich bereits zu bräunen. Ausb. 95% d. Theorie. Sehr leicht löslich in heißem Äthanol und siedendem Wasser; 100 ccm Wasser von 0° lösen etwa 800 mg.



9. Lanoxin-dipikrolonat: Darstellung analog 8. Nach dem Umkristallisieren aus wenig Wasser erhält man 155 mg (40% d.Th.) reines Lanoxin-dipikrolonat-dihydrat in hellgelben, verfilzten Nadeln<sup>11)</sup>, die sich bei 225° unter Sublimation zersetzen. Der schwarze Rückstand schmilzt bei 235°. Das Salz löst sich in Wasser und Äthanol.



Tafel 5. Debye-Scherrer-Diagramm von Lanoxin-monopikrat-hydrat

Intensität (geschätzt)	Å	Intensität (geschätzt)	Å
3	8.81	1	2.82
1	8.08	4	2.62
6	6.30	4	2.47
10	5.23	2	2.31
4	4.65	1	2.23
8	4.25	1	2.16
5	3.88	4	2.04
10	3.48	1	1.95
2	3.29	1	1.74
2	3.04	1	1.69
		1	1.49

Tafel 6. Debye-Scherrer-Diagramm von Lanoxin-dipikrolonat-dihydrat

Intensität (geschätzt)	Å	Intensität (geschätzt)	Å
5	9.38	4	2.91
5	7.06	2	2.70
9	5.85	3	2.39
4	4.54	2	2.34
8	3.75	2	2.02
10	3.47	1	1.96
7	3.24	0.5	1.77

11) Über die Kristallformen der Pikrolonate von 27 Aminosäuren vergl. R. Dunn, K. Invuyse u. P. Kirk, Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta 27, 154 [1939].