

angesäuert und 30 Stdn. mit Äther extrahiert. Der bräunlich-viscose Äther-Rückstand, durch 2 stdg. Erwärmen i. Vak. von Feuchtigkeit befreit, erstarrte nach einigem Stehenlassen zu einer gelblichen Masse (12,6 g; Schmp. etwa 40–45°). Siebenmaliges Umkristallisieren aus wenig Aceton lieferte ein schmutzigweißes Produkt vom Schmp. 50–51°. Der Schmp. veränderte sich durch einjähriges Aufbewahren in einem mit Korkstopfen verschlossenen Röhrchen nicht! Die Substanz ist in organischen Lösungsmitteln mit Ausnahme von Äther und Diisopropyläther löslich, in Methanol, Äthanol und *n*-Butanol erst in der Wärme. Bei längerem Kochen mit Wasser tritt Hydrolyse ein; die wäßrige Lösung reagiert sauer, es löst sich aber nicht alles auf. Molekulargewichtsbestimmungen nach verschiedenen Methoden ergaben unterschiedliche Werte, die aber in jedem Falle höher lagen, als der Formel $C_6H_{10}O_3$ entspricht.

$(C_6H_{10}O_3)_x$ (130.1)_x Ber. C 55.37 H 7.75 Gef. C 55.60 H 7.64

Butandiol-(1.4)-bis-chloracetat: Aus Dinatriumbutylenglykolat und Chloressigsäure in Diisopropyläther. Kristalle aus Petroläther (50–70°) bzw. aus Wasser; Schmp. 74.5–75°.

$C_8H_{12}O_4Cl_2$ (263.1) Ber. C 39.52 H 4.98 Cl 29.17 Gef. C 39.56 H 5.03 Cl 29.29

12. Heinrich Hellmann und Franz Lingens: Synthesen der γ -Methylen-glutaminsäure

[Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie und dem Chemischen Institut der Universität Tübingen]

(Eingegangen am 18. Oktober 1955)

Die für den N-Stoffwechsel verschiedener Pflanzenarten bedeutungsvolle γ -Methylen-glutaminsäure (IV) wurde auf drei verschiedenen Wegen synthetisiert. Die ergiebigste Synthese, welche für die präparative Darstellung geeignet ist, besteht in einer Alkylierung von Acetamino-malonester durch α -Brommethyl-acrylester nach dem Sörensenschen Prinzip und Totalhydrolyse des dabei entstehenden Tricarbonsäureesters X.

Vor einigen Jahren wurde die γ -Methylen-glutaminsäure von J. Done und L. Fowden¹⁾ in Erdnußpflanzen entdeckt. Später wurde sie auch in Tulpen²⁾ und im Hopfen³⁾ nachgewiesen. Nach Untersuchungen von L. Fowden⁴⁾ spielt diese interessante Aminosäure eine wichtige Rolle im Stickstoff-Stoffwechsel der Pflanze. Auf Anregung von Dr. Done haben wir uns mit der Synthese der γ -Methylen-glutaminsäure beschäftigt.

Als Ausgangsmaterial schien der Tetracarbonsäureester I, welcher durch Kondensation von Malonester mit tertiären Mannich-Basen der Acylaminomalonester⁵⁾ oder durch Kondensation von Malonester und Acetamino-malonester mit Formaldehyd⁶⁾ leicht zugänglich ist, geeignet. Dieser Ester besitzt noch ein aktives H-Atom, dessen Substitution durch eine Dialkylaminomethyl-

¹⁾ Biochem. J. **51**, 451 [1952].

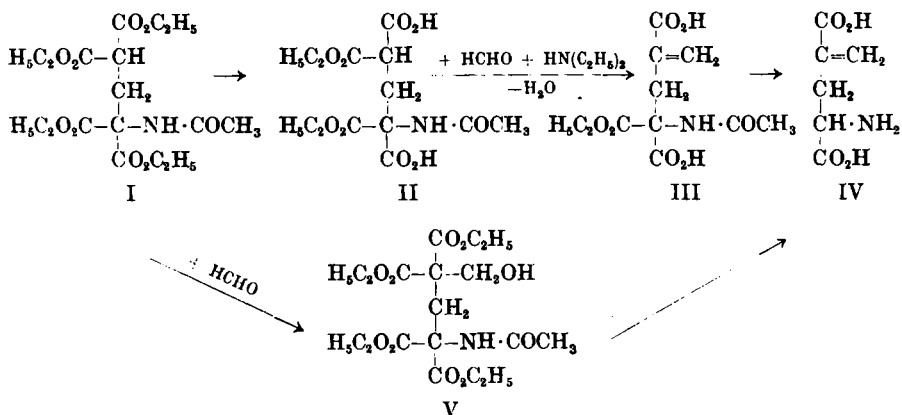
²⁾ R. M. Zacharius, J. K. Pollard u. F. C. Steward, J. Amer. chem. Soc. **76**, 1961 [1954]. ³⁾ G. Harris, Chem. and Ind. **1954**, 244.

⁴⁾ Ann. Bot., N. S. **18**, 417 [1954].

⁵⁾ H. Hellmann u. E. Brendle, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **287**, 235 [1951]; H. Hellmann, G. Hallmann u. F. Lingens, Chem. Ber. **86**, 1346 [1953].

⁶⁾ H. Hellmann u. F. Lingens, Angew. Chem. **66**, 201 [1954].

Gruppe mit Hilfe der Mannich-Reaktion jedoch nicht gelang. Das Mißlingen der Reaktion an diesem Ester überraschte nicht, da Mannich-Basen von Monoalkyl-malonestern bisher überhaupt noch nicht dargestellt werden konnten. C. Mannich und K. Ritsert⁷⁾ beobachteten dagegen eine lebhaftere Reaktion mit den entsprechenden Malonsäurehalbestern, wobei allerdings nicht die Mannich-Basen der Halbester, sondern deren Zerfallsprodukte – α -Alkylacrylester – gefaßt werden. Aus diesem Grunde wurde der Tetracarbonsäureester I mit Alkali zum Halbester II verscift und der Halbester mit Formaldehyd und Diäthylamin umgesetzt. Das erwartete Kondensationsprodukt III konnte nicht kristallin isoliert werden. Nach seiner Verseifung wurde ein Öl erhalten, in welchem die γ -Methylen-glutaminsäure durch papierchromatographischen Vergleich mit einer Probe der natürlichen Aminosäure⁸⁾ nachgewiesen werden konnte. Die Aminosäure ist im Chromatogramm leicht zu identifizieren, da sie mit Ninhydrin einen charakteristischen Orange-Farbtton gibt. Die Isolierung der Aminosäure mißlang.



Nunmehr wurde das Hydroxymethyl-Derivat V des Tetracarbonsäureesters I durch Addition vom Formaldehyd an den Ester I unter Alkali-Katalyse dargestellt. V geht beim Kochen mit Salzsäure in γ -Methylen-glutaminsäure über, wie wiederum durch vergleichende Papierchromatographie sowie durch Abbau des Hydrolysates mit Permanganat und Perjodsäure zu Asparaginsäure bewiesen wurde. Es gelang aber auch hier nicht, die ungesättigte Aminosäure in kristallisierter Form aus dem Hydrolysat zu isolieren.

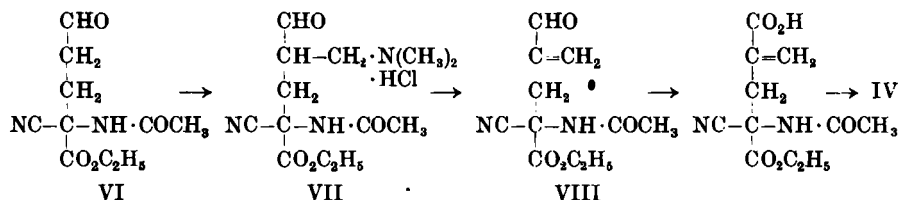
Der nächste Synthese-Versuch ging von dem Michael-Addukt aus Acrolein und Acetamino-cyanessigester (VI)⁹⁾ aus. Die Mannich-Basen des Adduktes sollten leicht in den ungesättigten Aldehyd VIII übergehen, da C. Mannich, B. Lesser und F. Silten¹⁰⁾ bei der Umsetzung von *n*-Butyraldehyd mit Formaldehyd und Dimethylamin-hydrochlorid die Beobachtung machten, daß

⁷⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **57**, 1116 [1924].

⁸⁾ Hrn. Dr. J. Done danken wir für die Überlassung einer Probe der natürlichen Aminosäure. ⁹⁾ O. A. Moe u. D. T. Warner, J. Amer. chem. Soc. **70**, 2763 [1948].

¹⁰⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 378 [1932].

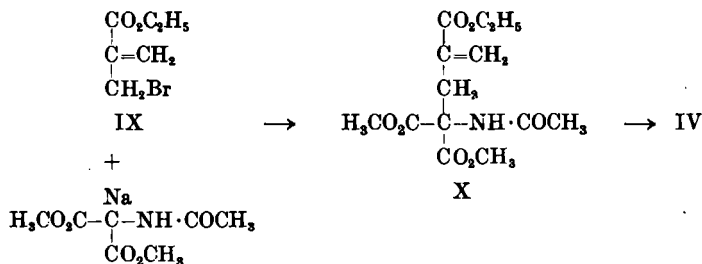
das Kondensationsprodukt sehr leicht Dimethylamin-hydrochlorid unter Bildung von α -Äthylacrolein abspaltet. Der Aldehyd VI konnte durch Mannich-Reaktion in das krist. Hydrochlorid seines Dimethylaminomethyl-Derivates (VII) übergeführt werden. Die freie Mannich-Base wurde nur als Öl erhalten,



welches beim Erhitzen mit wenig Natriumhydroxyd in Xylol praktisch quantitativ Dimethylamin abspaltete. Der ungesättigte Aldehyd VIII wurde mit Silberoxyd oxydiert und die entstehende Säure mit Salzsäure gekocht. Das erhaltene Hydrolysat enthielt – wie durch Papierchromatographie leicht zu beweisen war – die γ -Methylen-glutaminsäure. Es gelang aber auch hier nicht, die Aminosäure in kristallisierter Form zu fassen, so daß das Ergebnis der beschriebenen Synthese-Versuche als unbefriedigend bezeichnet werden mußte.

Im vergangenen Jahre ist etwa gleichzeitig von P. Wailes, M. C. Whiting und L. Fowden¹¹⁾ und von T. Kaneko und Y. Nakayama¹²⁾ eine Synthese der γ -Methylen-glutaminsäure beschrieben worden. Beide Arbeitsgruppen verfahren nach demselben Prinzip: Formamino-malonester wird mit Propargylbromid zum Propargyl-formamino-malonester umgesetzt, dieser in wäßrig-alkoholischem Eisessig mit Nickelcarbonyl nach Reppe carboxyliert und dann totalhydrolysiert. Die sehr knappen Schilderungen in den beiden Kurzmitteilungen sind nur zum Teil mit Ausbeute-Angaben versehen, aus denen auf keine gute Gesamtausbeute geschlossen werden kann. Da diese Synthese darüber hinaus keine sehr einfache Darstellung ermöglicht, haben wir unsere Versuche fortgesetzt.

Entscheidend für eine erfolgreiche Synthese von präparativer Bedeutung war schließlich eine kürzlich erschienene Arbeit von A. F. Ferris¹³⁾ über die Einwirkung von Mineralsäuren auf Bis-hydroxymethyl-malonester, welche zunächst nur im Hinblick auf die Hydrolyse der Hydroxymethyl-Verbindung V



von Interesse zu sein schien. In dieser Mitteil. wird unter anderem auch die Darstellung des α -Brommethyl-acrylesters (IX) aus Bis-hydroxymethyl-malonester beschrieben. Dieser substituierte Acrylester bot sich als ideales Mittel zur

¹¹⁾ Nature [London] 174, 130 [1954].

¹²⁾ J. chem. Soc. Japan 75, 1232 [1954].

¹³⁾ J. org. Chemistry 20, 780 [1955].

Alkylierung von Acetamino-malonester für eine Synthese der γ -Methylen-glutaminsäure nach dem Sörensenschen Prinzip an. Die Kondensation von Brommethyl-acrylsäure-äthylester mit Natrium-acetamino-malonsäure-dimethylester¹⁴⁾ verläuft mit vorzüglicher Ausbeute, wenn man die methanolische Lösung des Natrium-acetamino-malonesters langsam in eine methanolische Lösung des Brommethyl-acrylesters eintropfen läßt, während die umgekehrte Reihenfolge zu einem unbrauchbaren Gemisch führt. Das Kondensationsprodukt X stellt eine gut kristallisierende Substanz vom Schmp. 88,5° dar. Seine Hydrolyse mit Salzsäure ergibt unter gleichzeitiger Decarboxylierung γ -Methylen-glutaminsäure, welche nach dem Verjagen der Säure als Hydrochlorid in 85-proz. Ausbeute erhalten wird. Dieses Salz erwies sich im IR-Spektrum als identisch mit einer durch Salzsäure racemisierten Probe der natürlichen L- γ -Methylen-glutaminsäure. Abbau mit Permanganat und Perjodsäure zu Asparaginsäure, Papierchromatographie sowie die Elementaranalyse der aus dem Hydrochlorid durch Ausfällen mit Ammoniak dargestellten freien Säure wurden zur Identifizierung herangezogen.

Hrn. Prof. A. Butenandt danken wir herzlich für die Unterstützung unserer Arbeiten.

Beschreibung der Versuche

α -Acetamino- α,γ -dicarbäthoxy- γ -hydroxymethyl-glutarest (V): 3.89 g (0.01 Mol) Tetracarbonsäureester I und 2 ccm Wasser wurden mit 2 ccm Formalin, das mit n NaOH gegen Phenolphthalein neutralisiert worden war, versetzt. 0.25 ccm n NaOH wurden als Katalysator hinzugefügt. Da die entstehende Methylolverbindung in Wasser nicht sehr leicht löslich ist, wurde Alkohol bis zur Lösung hinzugegeben. Nach 2 Tagen wurde durch Vakuumdestillation bei Normaltemperatur mit Alkohol und Benzol das Wasser aus dem Reaktionsgemisch entfernt. Nach einigem Stehenlassen kristallisierte die Methylolverbindung aus; Kristalle aus Alkohol vom Schmp. 135°. Ausb. 2.2 g (52% d. Th.).

$C_{18}H_{29}O_{10}N$ (419.4) Ber. C 51.54 H 6.99 N 3.34 Gef. C 51.56 H 6.96 N 3.48

Hydrolyse: 1 g Hydroxymethyl-Verbindung V wurde mit 10 ccm konz. Salzsäure 8 Stdn. rückfließend gekocht. Nach Eindampfen des Hydrolysates i. Vak. hinterblieb ein Rückstand, der nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Durch vergleichende Papierchromatographie konnte γ -Methylen-glutaminsäure durch gleichen R_F -Wert (0.32 in Phenol/Ammoniak) und die charakteristische gelbbraune Färbung mit Ninhydrin nachgewiesen werden. Eine Probe des Hydrolysates lieferte beim Abbau mit Kaliumpermanganat und Perjodsäure Asparaginsäure, die papierchromatographisch in verschiedenen Systemen nachgewiesen wurde.

Hydrochlorid des α -Dimethylaminomethyl- γ -acetamino- γ -carbäthoxy- γ -cyan-butyrinaldehyds (VII): 2.26 g (0.01 Mol) γ -Acetamino- γ -carbäthoxy- γ -cyan-butyrinaldehyd, 1 ccm Formalin und 0.82 g (0.01 Mol) Dimethylaminhydrochlorid wurden 6 Stdn. auf dem Wasserbad erwärmt. Nach der Entfernung des Wassers i. Vak. hinterblieb ein glasklares, zähes Öl, das beim Anspritzen mit Methanol Balken aus Methanol vom Zersp. 190–191° bildete. Ausb. 2.4 g (75% d. Th.).

$C_{13}H_{21}O_4N_3 \cdot HCl$ (319.7) Ber. C 48.80 H 6.94 N 13.15 Cl 11.09

Gef. C 49.05 H 6.87 N 13.12 Cl 11.05

Die freie Mannich-Base wurde aus dem Hydrochlorid durch Versetzen mit Natriumhydrogencarbonat in wäßriger Lösung und Extraktion mit Äther isoliert. Das erhaltene Öl konnte nicht zur Kristallisation gebracht werden. Beim Zusammengeben von γ -Acet-

¹⁴⁾ H. Hellmann u. F. Lingens, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **297**, 283 [1954].

amino- γ -carbäthoxy- γ -cyan-butyraldehyd, Formalin und Dimethylaminlösung entstand ebenfalls ein Öl, das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Wurde dieses in wasserfreiem Xylol in Gegenwart katalytischer Mengen Natriumhydroxyd erhitzt, so entwich nahezu die stöchiometrische Menge Dimethylamin. Nach dem Abdampfen des Xylols i. Vak. hinterblieb ein Öl, das nicht zur Kristallisation gebracht werden konnte. Der ölige Rückstand wurde in wäßr. Lösung mit Silberoxyd im Überschuß behandelt und danach durch Kochen mit Salzsäure hydrolysiert; das eingeengte Hydrolysat ließ im Papierchromatogramm die Bildung von γ -Methylen-glutaminsäure erkennen.

γ -Methylen- α -acetamino- α -carbomethoxy-glutarsäure-methyläthylester (X): Eine Lösung von 3.78 g (0.02 Mol) Acetamino-malonsäure-dimethylester und 0.46 g Natrium (0.02 Mol) in 30 ccm absol. Methanol ließ man unter gutem Rühren im Verlaufe 1 Stde. in eine Lösung von 3.86 g (0.02 Mol) α -Brommethyl-acrylsäure-äthylester in 15 ccm absol. Methanol eintropfen. Danach reagierte die Lösung neutral. Es wurde noch 1 Stde. zu gelindem Sieden erhitzt. Nach dem Einengen i. Vak. hinterblieb ein Öl, das beim Anreiben in kurzer Zeit durchkristallisierte. Beim Umkristallisieren aus Äthanol wurde vom unlöslichen Kaliumbromid abfiltriert. Balken aus Äthanol vom Schmp. 88.5°; Ausb. 5.4 g (89.5% d. Th.).

$C_{13}H_{19}O_7N$ (301.3) Ber. C 51.82 H 6.36 N 4.65 Gef. C 51.92 H 6.42 N 4.58

Hydrolyse: 2 g Tricarbonsäureester X wurden mit 10 ccm konz. Salzsäure 2 Stdn. rückfließend gekocht. Beim Einengen des wasserhellen Hydrolysates i. Vak. hinterblieb γ -Methylen-glutaminsäure-hydrochlorid vom Zersp. 179–180°. Ausb. an Hydrochlorid: 1.1 g (85% d. Th.). Aus dem Hydrochlorid wurde die freie schwerlösliche γ -Methylen-glutaminsäure mit wäßr. Ammoniak ausgefällt. Sie kann aus heißem Wasser umkristallisiert werden. Zersp. 203–210°.

$C_6H_9O_4N$ (159.1) Ber. C 45.28 H 5.70 N 8.80 Gef. C 45.07 H 5.72 N 8.51

13. Heinrich Hellmann und Günter Opitz: Beiträge zum Mechanismus der Aminomethylierungsreaktion II¹⁾: Das aminomethylierende Agens

[Aus dem Max-Planck-Institut für Biochemie und dem Chemischen Institut der Universität Tübingen]

(Eingegangen am 14. Oktober 1955)

Die Piperidinomethylierung des Antipyrins wurde unter Variation des p_H mit Piperidin + Formaldehyd, N -Hydroxymethyl-piperidin (I), N -Methoxymethyl-piperidin (II), Methylen-di-piperidin (III) und piperidinomethan-sulfonsaurem Natrium (V) untersucht. Die höchsten Ausbeuten an der Mannich-Base 4-Piperidinomethyl-antipyrin (VI) wurden mit Lösungen erzielt, die nach T. D. Stewart einen hohen Gehalt an dem mesomeren Piperidinomethyl-[carbenium-imonium]-Ion besitzen, welches als aminomethylierendes Agens in der Mannich-Reaktion direkt aus I gebildet wird.

In der I. Mitteilung dieser Reihe¹⁾ ist der Mechanismus der Aminomethylierungsreaktionen und speziell derjenige der Mannich-Reaktion ausführlich diskutiert worden. Es wurde hervorgehoben, daß das mesomere Aminomethyl-[carbenium-imonium]-Ion als das eine nucleophile Verbindung elektrophil aminomethylierende Agens angesprochen werden muß, und daß N -Hydroxymethyl-amine als Zwischenprodukte bei der Mannich-Kondensation anzunehmen sind.

¹⁾ I. Mitteil.: H. Hellmann u. G. Opitz, Angew. Chem. (im Druck).