

einiger Zeit ein farbloser Niederschlag ausfällt, der abgesaugt, mit Alkohol von Harzen befreit und aus Alkohol umkristallisiert wird.

c) *Dialkylverbindung des 6.6-Diäthyl-2-phenyl-3-mercaptopo-1.2.4-heptiazin-dions-(5.7)*: Die Lösung von 2 g des *Heptiazindions* (Nr. 2 der Tab.) in Alkohol wurde mit etwas Lauge bis zur schwach alkalischen Reaktion und mit überschüss. Äthyljodid versetzt. Nach etwa 2 stdg. Erhitzen auf dem Wasserbad wurde ca. die Hälfte des Lösungsmittels abdestilliert, der Kolbenrückstand in Wasser gegeben und die ausgeschiedene zähe Masse in Alkohol aufgenommen. Nach einiger Zeit schieden sich Kristalle aus. Nach Umkristallisieren aus Alkohol Schmp. 131° (korrig.).

$C_{18}H_{25}O_2N_3S$ (347.5) Ber. C 62.10 H 7.18 N 12.07 Gef. C 61.43 H 7.31 N 12.37

LEONHARD BIRKOFER*) und INGEBORG HARTWIG

β -Aminosäuren, IX¹⁾

KUPFERKOMPLEXSALZE VON β -AMINOSÄUREN UND β -AMINOSÄURE-DIPEPTIDEN

Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung,

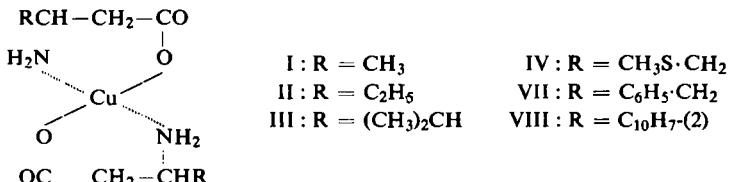
Institut für Chemie, Heidelberg

(Eingegangen am 10. September 1956)

Es wurden Kupferkomplexsalze von β -Aminosäuren und β -Aminosäure-dipeptiden dargestellt. Ihre Stabilität wurde durch Leitfähigkeitsmessungen untersucht und mit der von α -Aminosäure-Kupferkomplexen verglichen.

Kupferkomplexe von α -Aminosäuren und deren Dipeptiden sind schon seit vielen Jahren eingehend untersucht worden. Im Gegensatz hierzu kannte man von den β -Aminosäuren nur die Kupfersalze des β -Alanins, der β -Amino-buttersäure und β -Amino-n-valeriansäure. Wir haben nun von mehreren, der im Rahmen unserer Arbeiten erhaltenen β -Aminosäuren und β -Aminosäure-dipeptiden Kupfersalze dargestellt und deren Stabilität untersucht.

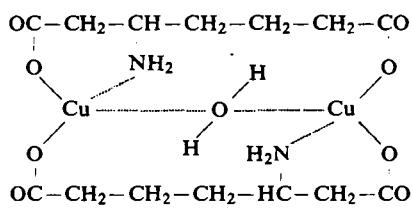
Zur Gewinnung der Komplexsalze werden im allgemeinen die wäßrigen Lösungen der Aminosäuren bzw. der Dipeptide mit Kupfercarbonat gekocht und aus den dunkelblau gefärbten Filtraten die jeweiligen Salze isoliert. Auf diese Weise erhielten wir die *Kupfersalze der DL- β -Amino-buttersäure (I), DL- β -Amino-n-valeriansäure (II), DL- β -Amino-isocapronsäure (DL- β -Leucin) (III), DL- β -Amino- γ -methylmercapto-buttersäure (DL- β -Methionin) (IV), DL- β -Amino-pimelinsäure (V) und 2-Oxo-piperidyl-(6)-essigsäure (VI).*



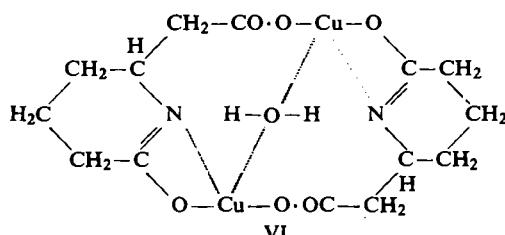
*) Jetzige Anschrift: Köln, Chemisches Institut der Universität.

¹⁾ VIII. Mitteil.: L. BIRKOFER und I. HARTWIG, Chem. Ber. **89**, 1608 [1956].

Das $1/2$ Mol. Kristallwasser enthaltende *DL- β -aminopimelinsaure Kupfer* (*V*) erinnert an das in jüngster Zeit von B.D. SARMA²⁾ untersuchte glutaminsaure Kupfer. Dieses ebenfalls mit $1/2$ Mol. Wasser kristallisierende Komplexsalz wird von Sarma als dimeres Kupferglutaminat aufgefaßt. Bei beiden Verbindungen kann das zurückbleibende halbe Mol. Wasser nur unter teilweiser Zersetzung des Komplexes entfernt werden. Nach Sarma enthält das Kupferglutaminat eine Wasserbrücke, womit er die unvollständige Dehydratisierbarkeit des Moleküls und die geringe Löslichkeit erklärt. Auf Grund der übereinstimmenden Eigenschaften der beiden Komplexe ist für das Kupfer-*DL- β -amino-pimelinat* Formel *V* in Betracht zu ziehen. Auch *2-oxo-piperidyl-(6)-essigsaurer Kupfer* enthält $1/2$ Mol. Kristallwasser, das ohne Zerstörung des Komplexes nicht mehr zu entfernen ist. Faßt man diese Verbindung ebenfalls als ein Dimeres mit einer Wasserbrücke auf, so kommt ihr Formel *VI* zu.



V

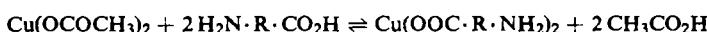


VI

Die Kupfersalze der *DL- β -Amino- γ -phenyl-buttersäure* (*VII*) und der *DL- β -Amino- β -naphthyl-(2)-propionsäure* (*VIII*) konnten wegen der Unlöslichkeit der freien Säuren sogar in kochendem Wasser nicht durch Umsetzung mit Kupfercarbonat erhalten werden. Wir gelangten zu diesen beiden Verbindungen durch vorsichtiges Eindampfen einer Mischung von ammoniakalischer Kupfersulfatlösung mit den ammoniakalischen Lösungen der Aminosäuren.

Die Kupferkomplexe der *β -Aminosäure-dipeptide* wurden ebenfalls durch Kochen der wäßrigen Dipeptidlösungen mit Kupfercarbonat erhalten. Während die *Kupfersalze* von *β -Alanyl-DL- β -amino-buttersäure*, *β -Alanyl-DL- β -leucin*, *DL- β -Leucyl-DL- β -leucin* und *2-Oxo-piperidyl-(6)-acetyl-glycin* sich aus 2 Moll. Dipeptid und 1 Atom Kupfer zusammensetzen, treffen beim *β -Alanyl-DL- β -methioninkupfer* 4 Moll. Dipeptid auf 1 Atom Kupfer.

Um einen Anhaltspunkt über die Stabilität der β -Aminosäure-Kupferkomplexe zu erhalten, haben wir nach der klassischen Methode von H. LEY³⁾ die elektrische Leitfähigkeit dieser Verbindungen bestimmt. Hiernach gibt man zu einer Kupferacetatlösung, deren Äquivalentleitfähigkeit λ_1 vorher bestimmt wurde, eine äquimolare Menge einer Aminosäure, wobei die Leitfähigkeit nach Maßgabe der Komplexsalzbildung abnimmt.



Bezeichnet man die Äquivalentleitfähigkeit, die die Kupferacetatlösung nach Zufügen der Aminosäure aufweist, mit λ_2 , so ist die Differenz Δ aus $\lambda_1 - \lambda_2$ ein relatives Maß für die Stabilität des Kupferkomplexsalzes. Je größer Δ bzw. je kleiner λ_2 ist, desto stabiler ist das Komplexsalz.

²⁾ J. Amer. chem. Soc. **78**, 892 [1956].

³⁾ Ber. dtsch. chem. Ges. **42**, 354 [1909].

Zur Messung wurden $n/64$ Lösungen von Kupferacetat und der jeweiligen Aminosäure bzw. des Dipeptids angewandt. Zum Vergleich haben wir auch einige α -Aminosäuren herangezogen.

Die λ_2 - bzw. Δ -Werte (Tab. 1, A) zeigen, daß α -Aminosäuren stärkere Komplexbildner als β -Aminosäuren sind (α -Alanin $\Delta=17.4$; β -Alanin $\Delta=1.5$). Auch im Falle der Dipeptide (Tab. 1, B) bilden die α -Verbindungen stabilere Komplexe als die β -Verbindungen (α -Alanyl- α -alanin $\Delta=29.7$; β -Alanyl- β -alanin $\Delta=18.7$). Bei Dipeptiden, die aus einer α - und einer β -Aminosäure aufgebaut sind, zeigt dasjenige Dipeptid das stärkere Komplexbildungsvermögen, dessen freie Aminogruppe von der α -Aminosäure herrührt (α -Alanyl- β -alanin $\Delta=26.6$; β -Alanyl- α -alanin $\Delta=22.3$).

Tab. 1. Äquivalentleitfähigkeit von Kupferacetatlösung (λ_1) bei Komplexbildung (λ_2) mit Aminosäuren (A) und Dipeptiden (B) in $n/64$ Lösung bei 21° . Mittelwerte aus 2 Messungen.

$$\Delta = \lambda_1 - \lambda_2 \quad (\lambda_1 (21^\circ) = 46.3)$$

A

Aminosäuren	λ_2	Δ	Aminosäuren	λ_2	Δ
Glykokoll	33.9	12.4	β -Amino-buttersäure	38.6	7.7
α -Alanin	28.9	17.4	β -Amino-n-valeriansäure	32.1	14.2
α -Leucin	15.3	31.0	β -Leucin	27.8	18.5
α -Methionin	11.3	35.0	β -Methionin	21.4	24.9
Prolin	23.3	23.0	γ -Phenyl- β -amino-buttersäure	20.1	26.2
α -Glutaminsäure	33.3	13.0	2-Oxo-piperidyl-(6)-essigsäure	28.0	18.3
β -Alanin	44.8	1.5	β -Amino-pimelinsäure	44.8	1.5

B

Dipeptide	λ_2	Δ	Dipeptide	λ_2	Δ
α -Alanyl- α -alanin	16.6	29.7	β -Alanyl- β -leucin	20.8	25.5
α -Alanyl- β -alanin	19.7	26.6	β -Alanyl- β -methionin	19.7	26.6
β -Alanyl- α -alanin	24.0	22.3	β -Leucyl- β -amino-buttersäure	19.2	27.1
β -Alanyl- β -alanin	27.6	18.7	β -Leucyl- β -leucin	16.4	29.9
β -Alanyl- β -amino-buttersäure	24.8	21.5	2-Oxo-piperidyl-(6)-acetyl-glycin	21.0	25.3

Nach E. ABDERHALDEN und E. SCHNITZLER⁴⁾ steigt die Stabilität der Kupferkomplexe der α -Aminosäuren mit zunehmender Kettenlänge. Diese Beobachtung konnten wir bestätigen (s. Tab. 1, A). In Einklang damit zeigte sich auch bei den β -Aminosäuren eine Stabilitäts erhöhung der Kupferkomplexe mit wachsender Kettenlänge. Derselbe Effekt tritt bei den Kupferkomplexen der β -Dipeptide auf, wie die ansteigenden Δ -Werte in Tab. 1, B zeigen. Die verhältnismäßig kleinen Δ -Werte der DL-Glutaminsäure- und DL- β -Amino-pimelinsäure-Kupferkomplexe deuten darauf hin, daß die Aminodicarbonsäuren schlechtere Komplexbildner sind. Verglichen mit den Aminomonocarbonsäuren müßten sie, ihrer Kettenlänge entsprechend, einen höheren Δ -Wert aufweisen. Ebenso ergeben sich bei den Kupferkomplexen des Prolins und der 2-Oxo-piperidyl-(6)-essigsäure, deren Stickstoff nicht in Form einer freien Aminogruppe, sondern als Heteroatom vorliegt, verhältnismäßig kleine Δ -Werte.

Für die Gewährung eines Stipendiums dankt I. HARTWIG der DEUTSCHEN FORSCHUNGSGEMEINSCHAFT ergebenst.

⁴⁾ Helv. chim. Acta 163, 94 [1927].

Tab. 2. Übersicht über die dargestellten Kupfersalze

Aminosäuren g	Koch- CO ₃ dauer- g Min.	Kristall- form	Trocknungs- bedingungen	Zers.-P. °C	Bruttoformel (Mol.-Gew.)	C	Ber. H	Analysen		
								N	C	Gef. H
DL-β-Amino-buttersäure ⁵⁾ 0.2	1.0	10 hellblaue Nadeln ⁶⁾	2. Stdn. 150°/12 Torr	267	Cu(C ₄ H ₈ O ₂ N) ₂ (267.8)	35.88	6.02	10.71	35.23	5.99
DL-β-Amino- <i>n</i> -valeriansäure ⁷⁾ 0.045	0.1	5 hellblaue Plättchen	2. Stdn. 100°/12 Torr	257	Cu(C ₈ H ₁₀ O ₂ N) ₂ (295.9)	40.59	6.81	9.47	40.82	6.75
DL-β-Amino-isocapronsäure ⁸⁾ 0.2	1.0	10 blaue Plättchen	3. Stdn. 110°/12 Torr	252	Cu(C ₈ H ₁₂ O ₂ N) ₂ 1 H ₂ O (341.9)	42.15	7.67	8.19	42.13	8.01
DL-β-Methionin 0.2	1.0	10 blaue Plättchen	12 Stdn. 50°/3 Torr	224	Cu(C ₈ H ₁₀ O ₂ N ₂) ₂ (360.0)	33.36	5.60	7.78	33.13	5.57
DL-β-Amino-pimelinsäure ⁹⁾ 0.2	1.0	10 blaue Nadeln ⁹⁾	5. Stdn. 110°/3 Torr	227	Cu(C ₁₀ H ₁₄ O ₄ N) ₂ 1 H ₂ O (491.5)	34.21	4.92	5.70	34.55	4.98
2-Oxo-piperidyl-(6)-essigsäure 0.2	1.0	20 eisblau amorph ¹⁰⁾	8. Stdn. 150°/3 Torr	220	Cu(C ₉ H ₉ O ₃ N) ₂ 1 H ₂ O (455.4)	36.92	4.43	6.15	37.09	4.57
DL-β-Amino-γ-phenylbuttersäure ¹¹⁾ 0.076	—	— hellblaue Plättchen ¹²⁾	5. Stdn. 60°/12 Torr	bis 290 keine Zers.	Cu(C ₁₀ H ₁₂ O ₂ N) ₂ (420.0)	57.19	5.76	6.67	56.47	5.86
DL-β-Amino-β-naphthyl-(2)-propanosäure ¹³⁾ 0.01	—	— eisblau amorph ¹⁴⁾	2. Stdn. 100°/12 Torr	208	Cu(C ₁₃ H ₁₂ O ₂ N) ₂ 2 H ₂ O (528.1)	59.13	5.35	5.31	59.23	5.48
β-Alanyl-α-(β-amino-butyrsäure ¹⁵⁾ 0.2	1.0	30 violette Nadeln ¹⁵⁾	18. Stdn. 50°/3 Torr	223—224	Cu(C ₇ H ₁₃ O ₂ N) ₂ (409.9)	41.0!	6.39	—	41.44	6.29
β-Alanyl-DL-β-leucin 0.2	1.0	40 violett amorph	1.8 Stdn. 50°/3 Torr	224—227	Cu(C ₉ H ₁₇ O ₃ N) ₂ (466.1)	46.39	7.35	12.02	46.74	7.44
DL-β-Leucyl-DL-β-leucin 0.5	0.5	10 blaugrüne Druisen ¹⁶⁾	1.8 Stdn. 50°/3 Torr	230	Cu(C ₁₂ H ₂₀ O ₃ N) ₂ (550.2)	52.38	8.43	10.18	52.03	8.54
2-Oxo-piperidyl-(6)-acetyl- glycin ¹⁷⁾ β-Alanyl-DL-β-methionin 0.1	0.5	30 eisblaue Prismen	1.5 Stdn. 120°/3 Torr	192	Cu(C ₉ H ₁₃ O ₂ N) ₂ 1/2 H ₂ O (499.0)	43.32	5.45	11.23	43.26	5.33
0.8	5	hellblaue Prismen	3. Stdn. 50°/3 Torr	201—203	Cu(C ₁₄ H ₃₁ O ₆ N ₅ S) ₂ (942.7)	40.77	6.63	11.89	40.90	6.88
0.15										11.86

⁵⁾ DL-β-Amino-buttersäures Kupfer wurde erstmals von A. ANZIEGIN und W.L. GULEWITSCH, Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem., 158, 32 [1926], beschrieben. Die Autoren geben keinen Schmp. oder Zers.-P. an.

A. ANZIEGIN und W.L. GULEWITSCH⁵⁾ mit einem Zers.-P. von 235—236° beschrieben.

Leicht löslich in Methanol, schwer in Wasser und Äthanol.

Schwer löslich in kaltem Wasser, unlöslich in Aceton, Methanol und Äthanol.

Leicht löslich in Methanol, schwer in heißem Wasser, unlöslich in Aceton.

Ammoniakal. Kupferthydroxydösung aus 0.15 g CuSO₄ · 5 H₂O.

Unlöslich in Methanol, Äthanol und Wasser, beim Kochen gelöst und bis zur aufstrebenden Trübung mit Äther versetzt.

Ammoniakal. Kupferthydroxydösung aus 0.012 g CuSO₄ · 5 H₂O.

Unlöslich in Wasser und Äthanol.

Zur Isolierung dieses Kupfersalzes wurde das Filtrat zur Trockne eingedampft, der Rückstand in 70-proz. Äthanol gelöst und bis zur aufstrebenden Trübung mit Äther versetzt.

Das Salz ist in Wasser spiegelnd löslich.

¹⁶⁾ Zur Isolierung wurde das Filtrat zur Trockne eingedampft und der Rückstand aus wenig Aceton umkristallisiert.

BESCHREIBUNG DER VERSUCHE

Allgemeine Darstellungsvorschrift der Kupfersalze: Die wäbr. Lösungen (jeweils 5 ccm) der β -Aminosäuren bzw. β -Aminosäure-dipeptide wurden mit Kupfercarbonat gekocht und nach dem Abfiltrieren des überschüssigen Kupfercarbonats das noch heiße Filtrat mit Aceton bis zur auftretenden Trübung versetzt. Nach Stehenlassen bei 0° schieden sich die jeweiligen Kupfersalze ab. Sie wurden i. Vak. über P_2O_5 getrocknet (nähtere Angaben s. Tab. 2 auf vorhergehender Seite). Zur Gewinnung der Kupfersalze von *DL- β -Amino- γ -phenyl-buttersäure* und *DL- β -Amino- β -naphthyl-(2)-propionsäure* wurden die Säuren in 2 n Ammoniak gelöst, mit einer ammoniakalischen Kupferhydroxydlösung versetzt und i. Vak. bei 40° eingeeengt. Die dabei ausfallenden Kupfersalze wurden zur Reinigung in verd. Salzsäure gelöst und nach dem Filtrieren ammoniakalisch gemacht. Nach dem Einengen fielen die Kupfersalze aus.

RICHARD KUHN und GERD KRÜGER

DAS CHROMOGEN III DER MORGAN-ELSON-REAKTION

Aus dem Max-Planck-Institut für Medizinische Forschung,

Institut für Chemie, Heidelberg

(Eingegangen am 3. Dezember 1956)

Aus *N*-Acetyl-D-glucosamin läßt sich kristallisiertes Chromogen III in einer Ausbeute von 40% d. Th. gewinnen. Dieselbe Verbindung wird, wie es die Theorie verlangt, auch aus *N*-Acetyl-D-galaktosamin erhalten. Es handelt sich um *D*(+)-5-Dihydroxyäthyl-3-acetamino-furan (I). Diese Konstitution wird gesichert durch eine Synthese der DL-Verbindung, die von Äpfelsäure (4 kg) ausgeht und 17 Reaktionsschritte erforderlich gemacht hat. Das synthet. Racemat stimmt mit dem Chromogen III, das wir aus einem künstlichen Gemisch von 50% D- und 50% L-Acetylglucosamin erhalten haben, genau überein. Aus dem Chromogen III wurde durch katalytische Hydrierung, Ab-spaltung der Acetylgruppe und Umsetzung mit Methyljodid ein quartäres Ammoniumsalz erhalten, das sich vom Muscarin durch Austausch der end-ständigen CH_3 -Gruppe gegen CH_2OH unterscheidet; die sterischen Verhältnisse an 2 C-Atomen sind noch unbekannt.

Erhitzt man *N*-Acetyl-D-glucosamin mit sehr verd. Natriumcarbonatlösung, so bildet sich ein „Chromogen“, das mit *p*-Dimethylamino-benzaldehyd in saurer Lösung einen violetten Farbstoff bildet. W. T. J. MORGAN und L. A. ELSON¹⁾ haben darauf eine vielbe-nützte Methode zur quantitativen Bestimmung von *N*-Acetyl-aminozuckern gegründet. Wir fanden papierchromatographisch, daß nebeneinander 3 Chromogene gebildet werden, die wir mit I, II, III bezeichnet und durch die R_F -Werte 0.54; 0.73; 0.82 charakterisiert haben²⁾. Das Chromogen III entsteht aus *N*-Acetyl-D-glucosamin mit heißer, sehr verd. Natriumcarbonatlösung nur in geringer Menge. Nach der folgenden Vorschrift läßt es sich bequem in größeren Mengen gewinnen.

¹⁾ Biochem. J. 28, 988 [1934].

²⁾ R. KUHN und G. KRÜGER, Chem. Ber. 89, 1473 [1956]; nach zahlreichen neueren Be-stimmungen sind die R_F -Werte in wassergesätt. sek.-Butanol bei 22–23° auf Schleicher & Schüll-Papier 2043 b: 0.54 (Chromogen I), 0.68 (Chromogen II) und 0.78 (Chromogen III) \pm 0.03.