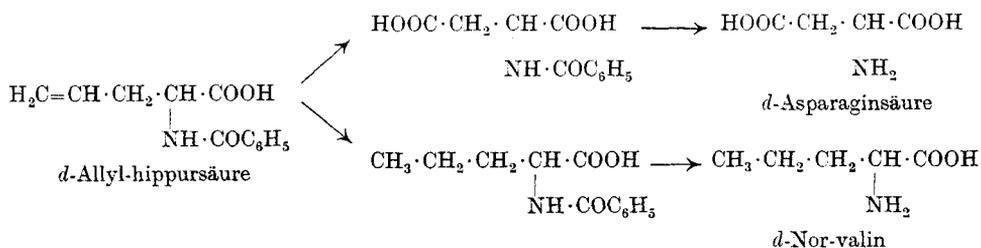


93. Konfiguration des Nor-leucins.
Zur Frage der Konfiguration des Glucosamins

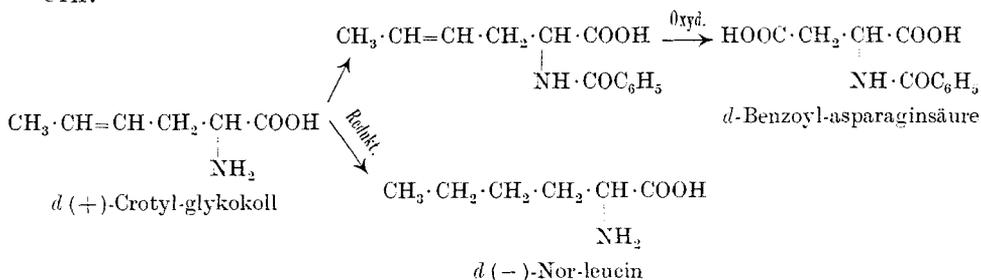
von P. Karrer und V. Itchner.

(2. V. 35.)

Vor einigen Jahren¹⁾ hat der Eine von uns mit *H. Schneider* *d*-Allyl-hippursäure einerseits zu *d*-Benzoyl-nor-valin reduziert, andererseits oxydativ zu *d*-Benzoyl-asparaginsäure abgebaut und damit identische Konfigurationen für diese beiden Aminosäuren nachgewiesen:



In ähnlicher Weise haben wir jetzt *d*(+)-Crotyl-glykokoll einerseits durch Reduktion in *d*(-)-Nor-leucin verwandelt, andererseits nach der Benzoylierung zu *d*-Benzoyl-asparaginsäure abgebaut. Natürliches *l*(+)-Norleucin und natürliche *l*(-)-Asparaginsäure stimmen somit in ihrer Konfiguration überein.



Für die Darstellung von *d, l*-Crotyl-glykokoll ging man von Crotylbromid und Natrium-phtalimid-malonsäure-ester aus. Diese wurden in alkoholischer Lösung zum Crotyl-phtalimid-malonester (I) kondensiert. Letzterer lieferte bei der Verseifung zunächst Crotyl-N-(*o*-carboxy-benzoyl)-malonsäure (II) und nach Abspaltung des

¹⁾ Helv. 13, 1281 (1930).

Experimenteller Teil.

d, l-Crotyl-hippursäure.

Crotylbromid wurde aus Crotylalkohol und konzentrierter Bromwasserstoffsäure hergestellt¹⁾. Dabei gingen wir so vor, dass wir zu 100 cm³ konz. Bromwasserstoffsäure, die sich in einem 4 cm weiten Zylinder befand, gleichzeitig Bromwasserstoff und am Grunde der Flüssigkeit Crotylalkohol langsam zufließen liessen. Das sich momentan bildende Crotylbromid sammelte sich an der Oberfläche der Bromwasserstoffsäure an. Von dort konnte es kontinuierlich abgehebert werden. Zur Weiterverarbeitung gelangte eine Fraktion, die zwischen 98 und 105° siedete. Die Ausbeute betrug 85%.

Zwecks Darstellung des Natrium-phtalimid-malonesters wurden die alkoholischen Lösungen von Natrium und Phtalimid-malonester zusammengegossen, wobei die stark exotherme Reaktion den Alkohol zum Sieden brachte. Hierauf destillierten wir das Lösungsmittel im Vakuum ab. Die Verbindung schied sich dabei in sehr feinen Nadelchen aus, was für die folgende Stufe von Vorteil war. Der Natriumphtalimid-malonester wurde hierauf in scharf getrocknetem Wasserstoffstrom bei 60° und 15 mm Druck getrocknet. Zu dem staubtrockenen Pulver gaben wir 175% der äquivalenten Menge Crotylbromid und erwärmten die Masse 30—48 Stunden auf 120—140° am Rückflusskühler. Durch den grossen Crotylbromidüberschuss wurde erreicht, dass der Natriumphtalimid-malonester ständig in der Flüssigkeit aufgeschlämmt war, was die sonst sehr träge verlaufende Reaktion beschleunigte. Während des Umsatzes bräunte sich die Flüssigkeit langsam und Natriumbromid fiel aus.

Durch die nachfolgende Destillation mit Wasserdampf konnte der gesamte Überschuss an Crotylbromid zurückgewonnen werden. Die im Destillierkolben zurückbleibende wässrige Flüssigkeit wurde von dem am Grunde des Kolbens liegenden dunkeln Öl abgegossen und die Destillation mit Wasserdampf wiederholt. Das zurückbleibende Öl erstarrte nach der Behandlung mit kaltem Wasser. Die Substanz wurde hierauf mit 96-proz. Alkohol herausgelöst und die Lösung im Vakuum unter 10 mm Druck destilliert. Zwischen 220 bis 237° ging ein honiggelbes Öl über. Die Fraktion Sdp. 229—237° krystallisierte, in wenig Alkohol aufgenommen, schnell. Der so in einer Ausbeute von 60% erhaltene Crotyl-phtalimid-malonester schmilzt bei 48°.

Die Abspaltung der Phtalsäure aus dem Crotyl-phtalimid-malonester und die Benzoylierung des salzsauren Crotyl-glykokolls führten wir nach den Vorschriften aus, die *Sørensen* für die analoge Her-

¹⁾ *Charon*, Ann. chim. [7] **17**, 233 (1899).

stellung von Allyl-glykokoll gegeben hatte¹⁾. Danach wurde der Crotyl-phtalimid-malonester in der 1,2fachen Gewichtsmenge 95-proz. Äthylalkohol auf dem Wasserbad gelöst. Nach Zugabe von 1,3 Äquivalenten 5-n. Natronlauge, die auf das zu erwartende tertiäre Natriumsalz der Crotyl-N-(o-carboxy-benzoyl)-malonsäure berechnet waren, schied sich dieses Salz als kompakte Krystallmasse aus. Nun fügte man Wasser hinzu, bis die Krystallklumpen durch Schütteln zerstört werden konnten, und erwärmte noch eine halbe Stunde auf dem Wasserbad weiter. Darauf wurde durch Zugabe von mehr Wasser der Niederschlag in Lösung gebracht, worauf wir den Alkohol und einen Teil des Wassers abdestillierten, bis sich ein Krystallbrei ausschied. Nach dem Lösen desselben in Wasser fügten wir einen grossen Überschuss von konz. Salzsäure hinzu. Bei ganz geringer Kohlendioxydentwicklung fiel nach wenigen Minuten ein voluminöser, farbloser Niederschlag von Crotyl-N-(o-carboxy-benzoyl)-malonsäure aus. Wir isolierten eine kleine Probe dieser Säure.



0,182 g der Tricarbonensäure verbrauchten 16,85 cm³ 0,1-n. NaOH, während die Theorie 17,00 cm³ 0,1-n. NaOH verlangen würde.

Der Krystallbrei der Crotyl-N-(o-carboxy-benzoyl)-malonsäure löste sich bei dem Erwärmen auf dem Wasserbad wieder auf. Nach 10 Minuten trat Ausflockung von Phtalsäure ein. Ohne diese zu entfernen verdampften wir die Flüssigkeit im Vakuum auf ein kleines Volumen ein. Der Rückstand erstarrte beim Erkalten. Er wurde nach Zugabe von wenig konz. Salzsäure fein zerstoßen und nach dem Zufügen von 20 Mol konz. Salzsäure (bezogen auf die verwendete Menge Crotyl-phtalimid-malonester) bei Eistemperatur 3 Stunden stehen gelassen. Die ausgeschiedene Phtalsäure und das Kochsalz wurden unter Verwendung einer Glasnutsche aus der Lösung, die das Crotyl-glykokoll-chlorhydrat enthält, entfernt. Den Rückstand wuschen wir viermal mit 33-proz. Salzsäure aus und dampften die vereinigten salzsauren Lösungen auf ein kleines Volumen ein. Reste von Phtalsäure wurden durch mehrmaliges Ausäthern entfernt und hierauf die Lösung des Crotyl-glykokoll-chlorhydrats im Vakuum zur Sirupkonsistenz eingedampft. Beim Erkalten krystallisierte Crotyl-glykokoll-chlorhydrat aus.

Für die Darstellung der Crotyl-hippursäure lösten wir den Krystallbrei in wenig Wasser, neutralisierten mit Natronlauge und gaben zu dieser Lösung unter kräftigem Rühren 1,5 Mol Benzoylchlorid. Durch Zugabe von 5-n. Natronlauge wurde die Reaktionsmasse ständig alkalisch gehalten. Nach einer halben Stunde war die Lösung klar. Nach einer weiteren Zugabe von wenig Lauge rührten wir noch eine Stunde und filtrierten am nächsten Tag von

¹⁾ Compt. rend. trav. lab. Carlsberg 11, 212 (1916).

harzigen Ausscheidungen ab. Darauf machten wir das Filtrat mit konz. Salzsäure stark sauer und extrahierten das Gemisch von ausgeschiedener Crotyl-hippursäure und Benzoesäure mit Äther. Diese Ätherextrakte wurden mit Wasser gewaschen und mit Natriumsulfat getrocknet. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels blieb das Gemisch von Benzoyl-crotyl-glykokoll und Benzoesäure zurück.

Das rohe N-Benzoyl-crotyl-glykokoll wurde von der beigemengten Benzoesäure durch Extraktion mit Petroläther im *Soxhlet*-apparat getrennt und der Rückstand hierauf aus Benzol und wenig Alkohol umkrystallisiert. Nach mehrmaligen Krystallisationen lag der Schmelzpunkt des Benzoyl-crotyl-glykokolls bei 157°. Bisweilen liess sich dieser hohe Schmelzpunkt allerdings nicht ganz erreichen, vielleicht infolge der Existenz von cis- und trans-Formen; diese Frage wurde aber nicht weiter verfolgt.

Die Ausbeute an Benzoyl-crotyl-glykokoll betrug ca. 25%.

$C_{13}H_{15}O_3N$	Ber. C 66,92	H 6,48%
	Gef. „ 67,18	„ 6,25%

N-Benzoyl-crotyl-glykokoll krystallisiert aus Benzol in feinen Schuppen, aus Wasser in Nadelchen. Die Löslichkeit in kaltem Benzol und Wasser ist gering, in den warmen Lösungsmitteln dagegen beträchtlich höher.

Bei der Darstellung der Crotyl-hippursäure aus Crotyl-phtalimid-malonester gelangt man nach der Abspaltung des Phtalsäurerestes zu einer Lösung des salzsauren Crotyl-glykokolls. Aus dieser lässt sich das Crotyl-glykokoll selbst über das in Wasser schwerlösliche Kupfersalz gewinnen. Wir neutralisierten zu diesem Zweck die Lösung des salzsauren Crotyl-glykokolls mit Natriumbicarbonat und kochten sie mit überschüssigem Kupfercarbonat. Das Gemisch von schwer löslichem Kupfersalz des Crotyl-glykokolls und Kupfercarbonat wurde abgenutscht und in verdünnter Essigsäure mit Schwefelwasserstoff zerlegt, worauf aus der mit Tierkohle gereinigten Lösung Crotyl-glykokoll beim Einengen in weissen, feinen Schuppen auskrystallisiert. Smp. 260—270° unter Zersetzung.

$C_6H_{11}O_2N$	Ber. C 55,81	H 8,58	N 10,86%
	Gef. „ 55,76	„ 8,43	„ 10,62%

d (+)-Crotyl-glykokoll aus *d*, *l*-Crotyl-glykokoll.

Da uns eine Spaltung der *d*, *l*-Crotyl-hippursäure in die optisch aktiven Komponenten mit Hilfe von Brucin, Chinin, Cinchonin, Strychnin und Triäthylen-diamin-kobaltisalz nicht gelungen war, entschlossen wir uns, optisch aktives Crotyl-glykokoll durch partielle Vergärung von *d*, *l*-Crotyl-glykokoll mit Hefe herzustellen. Unsere Arbeitsweise schloss sich dabei an die von *Felix Ehrlich* gegebenen Vorschriften für die Vergärung anderer Aminosäuren an¹⁾.

¹⁾ B. 44, 139 (1911) und *Abderhalden*, Arbeitsmethoden II. 559.

Als Heferasse diente einmal die Heferasse XII vom Institut für Gärungsgewerbe in Berlin, gewöhnlich arbeiteten wir aber mit Bäckereihefe, die sich für den vorliegenden Zweck als ebenso brauchbar erwies.

In besonderen Versuchen wurde das günstigste Verhältnis von Zucker, Aminosäure und Hefemenge festgestellt. Wir gelangten dabei schliesslich zu der folgenden Arbeitsvorschrift:

120 g Glucose wurden in 1300 cm³ Wasser gelöst, 3 g *d, l*-Crotyl-glykokoll und 60 g Hefe hinzugefügt und die Mischung der Gärung bei 16—22° überlassen. Die Kolben waren mit Gärverschluss versehen, so dass die Geschwindigkeit der Kohlendioxydentwicklung durch die Blasenbildung verfolgt werden konnte. Durch Zugabe von 3—5 Tropfen Eisessig pro Ansatz liess sich die Kohlendioxydentwicklung befördern. Während der Gärung schüttelte man die Masse alle 2—3 Stunden gut durch, um alle Hefe möglichst in Aufschlammung zu erhalten. Die Kohlendioxydentwicklung dauerte meistens 2 Tage. Nach Beendigung der Gärung filtrierten wir das Gärgut zuerst durch ein Faltenfilter und klärten die noch trübe Flüssigkeit durch Filtration durch eine Schicht von Papierfasern. Hierauf wurde das Filtrat im Vakuum auf 100 cm³ eingeeengt, mit Natriumbicarbonat neutralisiert und mit einem Überschuss von Kupfercarbonat gekocht. Hierauf wurde das entstandene schwerlösliche Kupfersalz des optisch aktiven Crotyl-glykokolls zusammen mit überschüssigem Kupfercarbonat abgenutscht, in 400 cm³ Wasser und einigen cm³ Eisessig aufgeschlämmt und in der Siedehitze durch Schwefelwasserstoff zerlegt. Die von Kupfersulfid befreite Lösung dampfte man im Vakuum auf 50 cm³ ein, reinigte die Flüssigkeit durch Aufkochen mit etwas Tierkohle und konzentrierte hierauf auf dem Wasserbad bis zur beginnenden Krystallisation der Aminosäure. Nach Zusatz von wenig Alkohol wurde die Verbindung fast vollständig und in nahezu reinem Zustande ausgeschieden. Das aktive Crotyl-glykokoll kann aus Wasser oder verdünntem Alkohol umkrystallisiert werden und wird dabei in glänzenden Schuppen erhalten. Zersetzungspunkt 260—270°. Die Verbindung löst sich in Wasser etwas besser als das Racemat. Die optische Drehung in Wasser schwankte bei verschiedenen Präparaten zwischen $[\alpha]_D^{18} = + 20^{\circ}$ bis $[\alpha]_D^{18} = + 52,5^{\circ}$. Der letztere Wert darf als die Drehung des optisch reinen *d*(+)-Crotyl-glykokolls angenommen werden.

$C_6H_{11}O_2N$	Ber. C 55,81	H 8,58%
	Gef. „ 55,93	„ 8,35%

d(-)-Nor-leucin aus *d*(+)-Crotyl-glykokoll.

Für die Reduktion des *d*-Crotyl-glykokolls zum *d*-Nor-leucin verwendeten wir ein Crotyl-glykokollpräparat, welches nicht optisch rein war, sondern nur die Drehung $[\alpha]_D^{18} = + 20,0^{\circ}$ besass. 0,332 g

dieser Verbindung wurden in 18 cm³ Wasser gelöst und nach Zugabe eines Platinkatalysators bei 35—45° hydriert. Nach 30 Minuten war 1 Mol H₂ (58 cm³ unter Normalbedingungen) aufgenommen. Wir filtrierten vom Platin ab, reinigten die Lösung durch Aufkochen mit Tierkohle und engten sie hierauf bis zur beginnenden Krystallisation auf dem Wasserbad ein. In dieser Weise wurden 0,3 g Nor-leucin erhalten, welche in 20-proz. Salzsäure die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{18} = -8,7^{\circ}$ besaßen. Dieser Drehwert ist 38% desjenigen von optisch reinem *d*(-)-Nor-leucin ($[\alpha]_D^{18} = -23,1^{\circ}$). Da wir von einem Crotyl-glykokoll-Präparat ausgegangen waren, welches noch beträchtliche Mengen Racemat enthielt, so war die geringere Drehung des entstandenen Nor-leucins zu erwarten. Aus den spezifischen Drehungen des benutzten *d*-Crotyl-glykokoll-Präparates und des erhaltenen *d*-Nor-leucins lässt sich berechnen, dass die Höchstdrehung des optisch reinen Crotyl-glykokolls $[\alpha]_D^{18} = +52,5^{\circ}$ sein muss. Wie oben erwähnt worden ist, haben wir aus einzelnen Gärungsansätzen Präparate von dieser Drehung erhalten.

Das durch Reduktion aus *d*-Crotyl-glykokoll gewonnene *d*-Nor-leucin zersetzte sich zwischen 270 und 280°.

C ₆ H ₁₃ O ₂ N	Ber. C 54,96	H 10,00%
	Gef. „ 54,7	„ 9,65%

d(-)-Crotyl-hippursäure aus *d*(+)-Crotyl-glykokoll.

0,51 g *d*-Crotyl-glykokoll von der spezifischen Drehung $[\alpha]_D^{18} = +52,5^{\circ}$ wurden in 40 cm³ Wasser gelöst. Dazu liess man unter sehr kräftigem Rühren in die durch Sodazusatz stets alkalisch gehaltene Lösung 0,75 g Benzoylchlorid zutropfen. Nach 15 Minuten langem Rühren war die Lösung klar geworden. Sie blieb über Nacht stehen, wurde hierauf filtriert, mit Salzsäure angesäuert und dreimal mit je 15 cm³ Äther extrahiert. Die vereinigten Ätherauszüge wusch man mit Wasser, trocknete mit Natriumsulfat und dampfte sie ein. Den beim Erkalten fest gewordenen Rückstand zerrieben wir zu einem feinen Pulver und extrahierten ihn zwecks Entfernung der Benzoesäure während 40 Minuten im Soxhlet-Apparat mit Petroläther. Hierauf liess sich aus dem Rückstand die *d*(-)-Crotyl-hippursäure aus Wasser und nachher aus Benzol umkrystallisieren. Sie schmilzt bei 122° und besitzt in Benzol die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{18} = -66,0^{\circ}$.

Bemerkenswert ist die bedeutende Löslichkeit der optisch aktiven Crotyl-hippursäure in Benzol.

C ₁₃ H ₁₅ O ₃ N	Ber. C 66,92	H 6,48	N 6,01%
	Gef. „ 66,89	„ 6,52	„ 6,28%

Darstellung der d, l-Benzoyl-asparaginsäure aus d, l-Crotyl-hippursäure.

Um die Oxydation der optisch aktiven Crotyl-hippursäure möglichst vorteilhaft durchführen zu können, machten wir Vorversuche

mit *d, l*-Crotyl-hippursäure, wobei insbesondere die Kaliumpermanganatmenge variiert worden ist. Dabei hat sich ergeben, dass es zweckmässig ist, auf 1 g Crotyl-hippursäure 2,0 g Kaliumpermanganat anzuwenden.

Unter schnellem Rühren gossen wir die wässrige Permanganatlösung, die aus 2,0 g Kaliumpermanganat, 1,4 cm³ konzentrierter Schwefelsäure und 250 cm³ Wasser bestand, zur wässrigen Lösung des Kaliumsalzes von 1 g Crotyl-hippursäure und zwar portionenweise, wobei wir jeweilen vor Zugabe einer neuen Menge Permanganat warteten, bis die Lösung sich entfärbt hatte. Nach einer Stunde wurde der ausgeschiedene Braunstein abfiltriert und das Filtrat mit etwas Kalilauge neutralisiert, wobei noch eine Spur Braunstein ausfiel. Das nunmehr völlig klare Filtrat wurde im Vakuum auf 30 cm³ eingedampft. Die eingeengte Lösung versetzten wir mit dem gleichen Volumen Äthylalkohol, wobei Kaliumbisulfat und Kaliumsulfat ziemlich vollständig ausfielen. Nach dem Abnutschen des Niederschlags verdampften wir das Filtrat bis auf 12—15 cm³. Beim Stehen über Nacht krystallisierte die Benzoyl-asparaginsäure aus. Wir erhielten auf diesem Wege schon bei der ersten Krystallisation ein völlig farbloses Produkt, das durch weitere Krystallisationen seine Eigenschaften kaum mehr änderte.

Die optisch inaktive Benzoyl-asparaginsäure krystallisiert aus Wasser als Monohydrat und schmilzt bei 119°.

Eine Titration mit 0,01-n. Kalilauge ergab folgende Werte:

0,023 g Benzoyl-asparaginsäure-monohydrat verbrauchten 13,62 cm³ 0,01-n. KOH, was 2,06 Carboxylgruppen ergibt.

Das Monohydrat wurde dann weiter bei 110° im Vakuum getrocknet, wobei das Wasser entwich. Nach *E. Fischer* sollte die Entwässerung bei dieser Temperatur noch nicht vollständig sein, was wir indessen nicht bestätigen können. Der Schmelzpunkt der wasserfreien Substanz lag bei 174°. *E. Fischer* gibt für die wasserfreie inaktive Benzoyl-asparaginsäure den Smp. 162° an.

C ₁₁ H ₁₁ O ₅ N	Ber. C 55,67	H 4,67	N 5,91%
	Gef. „ 55,8	„ 4,62	„ 5,82%

d(—)-Benzoyl-asparaginsäure aus *d*(—)-Crotyl-hippursäure.

Nach der soeben für die inaktive Verbindung beschriebenen Methode oxydierten wir auch *d*(—)-Crotyl-hippursäure zur *d*(—)-Benzoyl-asparaginsäure. Bei der Krystallisation letzterer Verbindung erhält man direkt die wasserfreie Substanz.

Aus einem *d*(—)-Crotyl-hippursäure-Präparat von der spezifischen Drehung $[\alpha]_D^{18} = -66^\circ$ entstand eine *d*(—)-Benzoyl-asparaginsäure, welche in verdünnter Natronlauge (2 Mol NaOH auf 1 Mol

Crotyl-hippursäure) die spezifische Drehung $[\alpha]_D^{18} = -36,4^\circ$ aufwies. *E. Fischer* gibt für die neutrale Lösung des Kaliumsalzes der Verbindung $[\alpha]_D^{18} = -37,4^\circ$ an, ein Wert, der mit dem unsrigen innerhalb der Fehlergrenzen übereinstimmt. Der Schmelzpunkt unserer *d*(-)-Benzoyl-asparaginsäure lag bei 180° (*E. Fischer* 181°). *d*(-)-Benzoyl-asparaginsäure-Präparate, die noch Racemat enthalten, schmelzen etwas tiefer.

$C_{11}O_{11}O_3N$	Ber. C 55,67	H 4,67	N 5,91%
	Gef. „ 55,6	„ 4,78	„ 6,07%

Zürich, Chemisches Institut der Universität.

94. *l*-Psicose (2-Keto-*l*-ribo-hexose, Pseudo-fructose), Diaceton-*l*-psicose und Diaceton-*l*-psicuronsäure

von Marguerite Steiger und T. Reichstein.

(2. V. 35.)

Von den 4 Paaren von 2-Keto-hexosen, welche die Theorie vorsieht, sind drei zumindest als *d*-Form bekannt. Es sind dies die Fructose, Sorbose und Tagatose. Von dem vierten Paar mit Ribokonfiguration kannte man bisher weder die *l*- noch die *d*-Form. Wir benötigten diesen Zucker, der nach einem Vorschlag von *Ohle* und *Just*¹⁾ als Psicose bezeichnet werden soll, für eine Untersuchung in der Ascorbinsäure-Reihe und stellten die *l*-Form (II) durch oxydative Gärung mit Sorbosebakterien aus Allit (Allodulcit) (I) her, für dessen Synthese *Lespieau* und *Wiemann*²⁾ einen brauchbaren Weg angegeben haben. Die Gäransätze lieferten den Zucker in hoher Reinheit, auch wenn man nicht von reinem, sondern stark *d, l*-Mannit-haltigem Allit ausgeht³⁾. Ein möglichst reines Rohprodukt ist aber gerade für die Reinerstellung dieses Zuckers von besonderer Bedeutung, da es bisher nicht gelang, ein krystallisiertes Hydrazinderivat aufzufinden, das für die Isolierung aus Gemischen geeignet gewesen wäre. Hingegen konnte mit Aceton eine krystallisierte Diacetonverbindung (III) erhalten werden, die für die vollständige Reinigung benützt wurde.

¹⁾ B. **68**, 601 (1935).

²⁾ Bl. [4] **53**, 1107 (1933).

³⁾ Der *d*-Mannit wird zu Fructose oxydiert, die durch gleichzeitig anwesende Hefe vergoren wird, während der *l*-Mannit unangegriffen bleibt, aber leicht von der entstehenden Psicose abgetrennt werden kann.