

# Zur Darstellung von *O*-Acyl-Derivaten des Carnitins

Von

Erich Strack und Irmgard Lorenz

Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Leipzig

(Der Schriftleitung zugegangen am 10. August 1965)

*Herrn Prof. Friedrich Timm zum 70. Geburtstag gewidmet*

(—)-Carnitin  $[(\text{CH}_3)_3\text{N}^\oplus \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2^\ominus]$ , das in allen tierischen Geweben vorkommt, wird als Trägersubstanz für Acylgruppen angesehen<sup>1</sup>. Hierin soll seine spezifische physiologische Funktion im tierischen Stoffwechsel bestehen, obwohl ihm auf Grund seiner Struktur und seiner biologischen Reaktionsweisen weitere Wirkungen zugeschrieben werden können<sup>2</sup>. Die beiden optischen Isomeren des Carnitins wirken unterschiedlich, und es ist zur Klärung der physiologischen Funktionen des Carnitins notwendig, die Acylderivate der beiden optischen Isomeren gesondert in ihrem Verhalten zu studieren.

Bisher sind nur vom *O*-Acetyl-carnitin alle drei möglichen Formen (die beiden optisch aktiven und das Racemat) synthetisiert und chemisch charakterisiert worden<sup>3</sup>. Die gebräuchliche Synthese aus Carnitinchlorid und Acetylchlorid, die seit Jahrzehnten angewendet wird, verläuft bei allen drei isomeren Formen verhältnismäßig gut. Höhere Acylcarnitine sind nach diesem Verfahren weniger günstig darzustellen. Die Ausbeuten an reinstem Stoff sind vielfach nur gering. Zusatz von konzentrierter Schwefelsäure in der Hitze erleichtert den Umsatz<sup>4, 5</sup>. Diese Darstellung ist jedoch mit vielen Nebenprodukten behaftet, die zudem auch noch die Reinigung der Acylcarnitine erschweren.

Bereits vor mehreren Jahren hatten wir ein Acylierungsverfahren erprobt, bei dem statt des Chlorids die Betainform der isomeren Carnitine eingesetzt wird. Die Publikation dieser Arbeiten unterblieb bisher wegen Patentbegehrens. Man erhält nach diesem Verfahren reine optisch aktive Acylcarnitinchloride in ausgezeichneter Ausbeute. Eine ergiebige Synthese der benötigten optisch isomeren Carnitine haben wir bereits früher beschrieben<sup>3</sup>. Über eine einfache Darstellungsweise ihrer Betainform werden wir anderen Ortes berichten.

<sup>1</sup> Sammelliteratur: G. Fraenkel, *Vitamins and Hormones* **15**, 73 [1957]; G. Deltour, *Ind. chim. belge* **25** (11), 1329 [1960]; **29** (7), 667 [1964]; A. I. Silakowa, *Ukrain. biochem. J.* **30**, 604 [1958]; I. B. Fritz, *Advances Lipid Res.* **1**, 285 [1963].

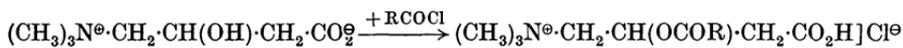
<sup>2</sup> E. Strack, W. Rotzsch, W.-D. Thomitzek, I. Lorenz, E. Grüner, D. Kunze, W. Kunz u. H. Bemm, *Acta biol. med. german.* **10**, 453 [1963].

<sup>3</sup> E. Strack u. I. Lorenz, *diese Z.* **318**, 129 [1960].

<sup>4</sup> J. Bremer, *J. biol. Chemistry* **237**, 3628 [1962].

<sup>5</sup> Ch. Bode u. M. Klingenberg, *Biochem. Z.* **341**, 271 [1965].

Wird ein Carnitinbetain mit einem Säurechlorid umgesetzt, so wird bei der Reaktion keine Säure frei, da der Acylrest und der entstehende Chlorwasserstoff vom Carnitinbetain gebunden werden.



Bei der Umsetzung werden nur mäßige Temperaturen benötigt. Sie lassen kaum thermische Zersetzungsprodukte des Carnitins oder der Säurechloride erwarten. Somit hinterbleiben die gebildeten Acylcarnitinchloride in reiner Form, nachdem das überschüssige Säurechlorid entfernt ist. Sie sind farblos und kristallisieren gut. In trockenem Zustand sind sie lange Zeit haltbar. Einige von ihnen haben wir 6 Jahre unverändert aufbewahrt.

Die Umsetzung der isomeren Carnitine mit Fettsäurechloriden kann zum Teil erheblich beschleunigt werden, wenn die entsprechende wasserfreie Fettsäure als Lösungsvermittler zugesetzt wird. Die Acetylcarnitine und die optisch aktiven Butyryl- und Isobutyrylprodukte sind in dieser Weise in wenigen Stunden quantitativ darzustellen. Entscheidend für die rasche Umsetzung sind die jeweiligen Lösungsverhältnisse des zugesetzten Carnitinbetains und der entstehenden Chloride in der Fettsäure-Fettsäurechlorid-Phase. In Buttersäure gelöstes (+)- oder (-)-Carnitin wird z. B. rasch in das entsprechende Butyrylderivat übergeführt. Wird hingegen der Lösung von *racem.* Carnitinbetain in Buttersäure Säurechlorid hinzugefügt, so kommt es bald danach zu einer Trübung und Kristallabscheidung. Die Kristalle bestehen aus *racem.*-Carnitinchlorid, das sich an der weiteren Umsetzung kaum noch beteiligt. Man muß deshalb bei jedem der zu synthetisierenden Acylcarnitine die Besonderheiten des Ansatzes erarbeiten, die eine schnelle Reaktion und eine gute Ausbeute gewährleisten. Über diese vielen Einzelheiten soll jedoch hier nicht ausführlich berichtet werden.

Sind bei unzureichenden Bedingungen Nebenprodukte wie Carnitin-carnitat, Crotonsäurebetain, Salzsäure, Fettsäuren usw. entstanden, so ist ihre Entfernung umständlich und zuweilen mit erheblichem Verlust an Acylcarnitinchlorid verbunden, besonders wenn man ein reinstes Produkt erhalten möchte. Bei den höheren Acylcarnitinchloriden kann ihr seifenähnliches Verhalten die Reinigungsprozedur stören.

Außer den derzeit biologisch vielfach studierten gesättigten aliphatischen *O*-Acylderivaten können nach unserem Verfahren vorteilhaft auch andere Ester dargestellt werden, wie z. B. Benzoylderivate und ungesättigte Acylderivate. Die Acylcarnitine mit höheren aliphatischen Säuren bieten durch ihr physikalisches Verhalten (Oberflächenaktivität usw.) auch noch weitere biologisch-medizinisch interessante Anwendungsmöglichkeiten, die analog bekannten einschlägigen Arbeiten mit ähnlichen Substanzen auf der Hand liegen. In wäßriger Lösung schäumen sie erwartungsgemäß kräftig. Lauroylcarnitin setzt die Oberflächen-

spannung des Wassers mit 65–66% am stärksten herab. Die kurz-kettigen Acetyl-, Butyryl- und Isobutyrylderivate beeinflussen die Oberflächenspannung des Wassers unwesentlich. Caproyl- bzw. Palmitoylcarnitinchlorid-Lösungen erniedrigen sie um etwa 41% bzw. 47%. Somit verhalten sich die Acylcarnitine ähnlich wie Invertseifen. Erythrocyten werden sofort hämolysiert. Kaliumpermanganat wird von den Acylderivaten mit gesättigter Fettsäure nicht entfärbt. Konzentrierte wäßrige Lösungen der langkettigen Acylderivate gelieren in der Kälte.

Von den Salzen der *O*-Acyl-carnitine haben wir nur die Chloride, Perchlorate und Tetrachloroaurate genauer charakterisiert. Viele von ihnen fielen bereits nach der Umsetzung analysenrein an, bei anderen genügte ein- bis zweimaliges Umkristallisieren. Die von uns weiterhin für eine mögliche Isolierung studierten Reineckate, Hexachloroplatinate, Pikrate und Quecksilbersalze beschreiben wir dagegen nicht eingehender. Sie verhalten sich im Prinzip wie es von den Salzen der Trimethylbetaine bekannt ist.

Papierchromatographisch wiesen sich die *O*-Acyl-carnitine in den verwendeten Lösungsmittelgemischen als einheitliche Substanzen aus. Die optisch isomeren Verbindungen haben gleiche  $R_F$ -Werte. In Propanol-Wasser-Gemisch (64 g + 36 g) lassen sich sämtliche Acylcarnitinchloride und -perchlorate von dem Carnitinbetain abtrennen. Die Carnitinbetaine wandern langsamer als die Carnitinchloride. Die letzteren haben nahezu den gleichen  $R_F$ -Wert wie die Acetylcarnitinchloride. Die Chloride des Iso- bzw. *n*-Butyrylcarnitins lassen sich nicht voneinander trennen. Dasselbe gilt für ihre Perchlorate. Die  $R_F$ -Werte sind zu wenig unterschiedlich. Mit zunehmender Kettenlänge der Acylcarnitinchloride nehmen die  $R_F$ -Werte zu. Gleichsinnig verhalten sich die Verbindungen in *n*-Butanol/Eisessig/Wasser 4:1:1 (Vol.). Die Papiersorten 2043 BmgI von Schleicher & Schüll und Filtrak FN 5 von Niederschlag (Erzgebirge) sind für die Trennung geeignet.

Ein besonderes Verhalten beobachteten wir bei der Dünnschichtchromatographie auf Kieselgel-G-Schichten. Auch analysenreine Substanzen ergaben zuweilen mit Jodanfärbung mehrere Flecken, unter denen manchmal ein aufgehellter Fleck auf dem dunkleren jodhaltigen Grunde auffällig war. Wir sind den Ursachen nicht weiter nachgegangen.

Die *O*-Acyl-carnitine wurden auf den Chromatogrammen wie üblich mit Joddampf bzw. mit Lösungen von Jod in Äther oder Chloroform angefärbt. Ammoniakdampf färbt die Substanzflecken intensiver, und sie treten auf dem aufgehellten Grunde noch deutlicher hervor<sup>6</sup>. Die Jodadditionsverbindungen der höheren *O*-Acyl-carnitine sind stabiler als die des Carnitins und seiner Carboxyester. Nach einigen Tagen ist der braungelbe Fleck beim Carnitin und seinem Äthylester völlig verblaßt, die höheren Acylcarnitine hingegen sind noch kräftig gefärbt. 15  $\mu$ g Palmitoylcarnitinchlorid lassen sich noch deutlich nachweisen.

Bemerkenswert ist das Verhalten der höheren *O*-Acyl-carnitine beim Erhitzen. Viele der kristallisierten Substanzproben sintern zunächst und werden strukturlos, ohne jedoch zusammenzuzufießen. Erst nach einem mehr oder weniger großen Temperaturintervall schmelzen sie bzw. zer-

<sup>6</sup> W. Reimann, s. E. Strack u. I. Lorenz, diese Z. 298, 27 [1954].

setzen sie sich. Dieses Verhalten, das dem Erweichen bei Fetten ähnlich ist, erschwert die Beurteilung des Schmelzpunktes. Von Einfluß auf die Schmelzpunktbestimmung ist auch die Methode. Wir verglichen die Verfahren nach Kofler (Heiztisch), nach Thiele (Schwefelsäurebad) und im Schmelzblock miteinander. Bisweilen ergaben sich mit ihnen größere Abweichungen des Schmelzpunktes. Wir fanden, daß sich der Schmelzvorgang im Schmelzblock am besten beurteilen ließ.

Die Löslichkeiten der homologen *O*-Acyl-carnitine sind bei gleichem Anion ähnlich, jedoch erwartungsgemäß abgestuft. Vorwiegend prägt die salzartige Betainstruktur die Löslichkeit, der hydrophobe Anteil tritt weniger kräftig hervor. Mit Ausnahme des wenig löslichen Palmitoylcarnitinchlorids sind die Chloride in kaltem Wasser sehr leicht löslich bis löslich. In heißem Wasser sind alle gut löslich. Zunehmend weniger löslich sind sie in Methanol, Äthanol, Propanol und in den Butanolen. Aus diesen Lösungsmitteln lassen sie sich umkristallisieren. Sie sind schwer löslich in Aceton und praktisch unlöslich in Äther.

Von gewissem Interesse für eine Reinstdarstellung sind die Perchlorate. Aus einem bei der Synthese evtl. entstandenen Gemisch lassen sich die Acylcarnitine rein abtrennen, wenn man die Säurechloride entfernt, den Rückstand in Alkohol aufnimmt und mit Perchlorsäure fällt. In Wasser und Alkoholen sind die Perchlorate der Acylcarnitine im allgemeinen erheblich schwerer löslich als die Chloride. Wie diese sind sie in Äther sehr schwer löslich, in Aceton lösen sie sich gut.

Die molare Drehung der *O*-Acyl-carnitinchloride und -perchlorate nimmt mit steigender Kettenlänge des Acylrestes ab.

Je nach der individuellen, durch den hydrophoben Anteil bedingten Löslichkeit werden aus wäßriger oder äthanolischer Lösung mehr oder weniger schwer lösliche Hexachloroplatinate, Reineckate, Quecksilberdoppelsalze und Pikrate der *O*-Acyl-carnitine erhalten.

Die freien *O*-Acyl-carnitinbetaine entstehen aus den Salzen, wenn diesen der salzbildende Säureanteil entzogen wird. Das gelingt allgemein mit Ionenaustauschern. Weiterhin läßt sich z. B. aus den Chloriden die Salzsäure mit Silberoxid, aus den Perchloraten die Perchlorsäure mit Kaliumhydroxid gut entfernen. Ist das Acylcarnitinbetain, wie z. B. das Palmitoylcarnitinbetain, in Wasser schwer löslich, so wird die Säure zweckmäßig durch Alkalihydroxid gebunden<sup>4</sup>.

#### Bemerkungen zum Carnitin und zu seiner Nomenklatur

Die aliphatischen *N*-Trimethylbetaine und ihre Derivate werden im biologischen Schrifttum uneinheitlich bezeichnet. Eindeutigkeit in der Benennung und klare Vorstellungen über die strukturellen Verhältnisse sind jedoch wünschenswert, um die charakteristischen Reaktionsweisen dieser Stoffe im biologischen Geschehen richtig werten zu können. Das stark in Bewegung gekommene Studium der Betaine, unter denen jetzt besonders das Carnitin in den Vordergrund gerückt ist, unterstreicht die Dringlichkeit einer solchen Forderung. Die nachfolgenden Hinweise sollen einen kurzen Beitrag zu diesem Problem für das Carnitin geben.

1905 wurde von Gulewitsch und Krimberg<sup>7</sup> aus Fleischextrakt ein linksdrehender Stoff isoliert, den sie „Carnitin“ nannten. Seine Konstitution wurde als die eines „Trimethyloxybutyrobetains“<sup>8</sup> festgelegt. Die optischen Isomeren der erschöpfend methylierten 4-Amino-3-hydroxy-buttersäure werden im dritten Ergänzungswerk von Beilsteins Handbuch der Organischen Chemie<sup>9</sup> als L-, D- und DL-Form des 4-Trimethylammonio-3-hydroxy-buttersäurehydroxyds bzw. des 4-Dimethylamino-3-hydroxy-buttersäure-methoxyhydroxyds  $[(\text{CH}_3)_3\text{N} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CO}_2\text{H}] \text{OH}$  und als L-, D- und DL-4-Trimethylammonio-3-hydroxy-buttersäure-betain bezeichnet. Die L-Form dieses letzteren ist das linksdrehende Carnitin.

Unter diesen Angaben interessieren den Biologen besonders die Fragen nach der optischen Drehung und der Konfiguration sowie nach den Strukturformen, in denen das Carnitin und seine Derivate in den tierischen Geweben vorliegen, da sie biologisch verschiedenwertig sind. Bisher bestehen hierin keine einheitlichen Auffassungen.

In den Lebewesen ist einzig das (—)-Isomere nachgewiesen worden, und dieses allein hat für die biologischen Vorgänge Bedeutung. Es wäre deshalb durchaus zu vertreten, daß für dieses Isomere der einprägsame kurze Name „Carnitin“ im Sinne der Entdecker und Namensgeber reserviert bleibt, und daß die unphysiologische (+)- bzw. die racemische Form durch Zusatzbezeichnungen gekennzeichnet werden. Es scheint jedoch zweckvoller wie im Beilstein aufgeführt, dem „Carnitin“ als Trivialnamen jeweils die optische Drehung oder die Konfiguration zuzufügen.

Die Konfiguration wurde auf chemischem Wege von Kaneko und Yoshida<sup>10</sup> bestimmt. Hiernach ist das linksdrehende, gewebespezifische Carnitin ein L<sub>S</sub>- oder R-Carnitin. (Die letztere Konfigurationsbezeichnung<sup>11</sup> vermeidet Unklarheiten, die bei unterschiedlichen Bezugssubstanzen auftreten können.) Wurden die biologischen Reizaktivitäten der isomeren Formen des „Carnitinnitrils“ mit denen von β-Methylcholin und Muskarin verglichen und die Verhaltensweisen von „Carnitinnitril“ bzw. von „Carnitin-äthylester“ auf die räumlich spezifische Rezeptorgruppe der Acetylcholinesterase untersucht, so zeigte sich, daß dem „(—)-Carnitinnitril“ und somit auch dem aus ihm durch Verseifung dargestellten (—)-Carnitin ebenfalls die R-Konfiguration zukommen muß<sup>12</sup>, wie sie auch die in der Literatur als D-(—) bezeichneten Formen des β-Methylcholins und des Muskarins<sup>12a</sup> besitzen.

Weiterhin sei noch auf einige Besonderheiten des Carnitins hingewiesen, für die bisher größtenteils weder in chemischer noch in biologischer Hinsicht Klarheit besteht.

Im älteren Schrifttum wurde die Bezeichnung „Carnitin“ häufig nur für die Stammsubstanz gebraucht, denn man ließ offen, ob von ihr mehrere räumliche Strukturformen existieren. Als mögliche Formen wurden z. B. eine gestreckte Kette und ein ringartiges Molekül diskutiert, das durch die beiden Ladungsschwerpunkte erzeugt wird. Milieubedingungen oder Substitutionen könnten dann die Grundform oder ihre Anteiligkeiten verändern. Sie sind für das Problem Struktur und biologische Wirkung des Carnitins von hohem Interesse denn im Gewebemilieu treffen sie stets mit amphoterer Substanzen von verschiedenem Ladungsabstand zusammen.

In gewissem Zusammenhange mit diesem Komplex stehen einige der folgenden genannten Beobachtungen. Von der 4-Amino-3-hydroxy-buttersäure, deren Molekülstruktur dem Carnitin zugrunde liegt, sind vier Isomere beschrieben worden<sup>13, 14</sup>.

<sup>7</sup> Wl. Gulewitsch u. R. Krimberg, diese Z. **45**, 326 [1905].

<sup>8</sup> R. Krimberg, diese Z. **53**, 514 [1907].

<sup>9</sup> Beilsteins Handb. d. Org. Chem., IV. Aufl., III. Erg.-W., Bd. IV, S. 1632, Springer-Verlag, Heidelberg 1963.

<sup>10</sup> T. Kaneko u. R. Yoshida, Bull. chem. Soc. Japan **35**, 1153 [1962].

<sup>11</sup> R. S. Cahn, C. K. Ingold u. V. Prelog, Experientia [Basel] **12**, 81 [1956].

<sup>12</sup> W.-D. Thomitzek u. E. Strack, Acta biol. med. german. **13**, 24 [1964].

<sup>12a</sup> E. Hardegger u. F. Lohse, Helv. chim. Acta **40**, 2383 [1957].

<sup>13</sup> M. Tomita u. Y. Seiki, J. Biochemistry [Tokyo] **30**, 101 [1939].

<sup>14</sup> A. Musashi u. K. Tomita, diese Z. **304**, 65 [1956].

Vom Goldsalz des (—)-Carnitins wurden verschiedene Kristallformen gefunden<sup>3</sup>. Röntgenstrukturaufnahmen ließen die Existenz mehrerer Formen offen<sup>15</sup>. Biologisch unterschiedlich aktive Formen vom Carnitin sind beobachtet worden<sup>16</sup>. In Wasser liegt der gemessene Gefrierpunkt aller Carnitinbetaine um etwa 15% unter dem berechneten Wert<sup>17</sup>. Carnitin vermag im iso-elektrischen Bereich mit Neutralsalzen Zweifachsalze zu geben, die z. B. deren Löslichkeit in Alkohol erhöhen<sup>18</sup>. Zweifachsalzbildungen bestimmen auch die Löslichkeit in Wasser, und eine pH-Abhängigkeit wird sichtbar. So gibt Ammoniumreineckat mit Carnitinbetain ein wasserlösliches Salz, während Carnitinreineckat (pH < 7) schwer löslich ist<sup>19</sup>. Noch ausgeprägter verhalten sich die Tetraphenylborate bzw. Triphenylcyanoborate<sup>20</sup>. Die optisch aktiven Carnitine unterscheiden sich in ihrem Verhalten von der racemischen Form. Letztere kristallisiert als echtes Racemat und enthält ein Mol Kristallwasser<sup>21</sup>. Ihre Salze, z. B. die Chloride, sind schwer löslich, und die optisch aktiven Formen lassen sich durch Umkristallisieren von beigemengtem Racemat abtrennen.

Eine weitere Unsicherheit besteht darin, daß mit der Bezeichnung „Carnitin“ nicht zum Ausdruck gebracht wird, ob die Verbindung als Zwitter-ion oder als einfach geladenes Ion vorliegt. Seine biologische Wirkungsweise hängt davon aber wesentlich ab. Entsprechend der neuen Nomenklatur sind das „Carnitinnitril“, das Carnitinamid und seine möglichen physiologischen Abkömmlinge oder das Carnin<sup>22</sup>  $[(\text{CH}_3)_3\text{N}^{\ominus} \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}(\text{OH}) \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{CH}_2 \cdot \text{N}^{\oplus}\text{H}_3]$  nicht als Derivate von Carnitin (als Betain) zu benennen. Besonders deutlich wird die Schwierigkeit bei der Nomenklatur der Ester<sup>23</sup>, bei denen es drei Möglichkeiten gibt. Die *O*-Acyl-carnitine sind echte Derivate der Carnitinbetaine mit allen ihren möglichen Reaktionsweisen. Sie sind kristallin darstellbar. Die Carnitin-alkylester und die *O*-Acyl-carnitin-alkylester sind starke quartäre Basen, die nur in Salzform beständig sind und völlig andersartige biologische Wirkungsweisen besitzen als die *O*-Acyl-carnitine. Die Alkylester setzen die Struktur des 4-Dimethylamino-3-hydroxy-buttersäuremethoxyhydroxyds voraus. Die bisherigen Bezeichnungen im Schrifttum bringen diese strukturellen Unterschiede nicht deutlich genug zum Ausdruck und verschleiern damit die bedeutsamen Zusammenhänge zwischen Struktur und Wirkung im Tierkörper.

### Methodik

#### Darstellung der *O*-Acyl-carnitine

Die Carnitinbetaine werden mit überschüssigem Säurechlorid übergossen und etwa 30 Stdn. bei 55–60° oder mehrere Tage bei Zimmertemperatur gehalten. Feuchtigkeit muß streng ausgeschlossen werden. Die Umsetzungszeit wird durch kräftiges Rühren stark verkürzt. Das überschüssige Säurechlorid wird je nach dem Zustand des Reaktionsproduktes entfernt. Sind außer Acylchloriden auch die entsprechenden freien Säuren dem Ansatz zugefügt worden, so wird analog ver-

<sup>15</sup> H. Hartenstein, Dissertat., Mathematisch-Naturw. Fakultät, Leipzig, in Vorbereitung.

<sup>16</sup> W. Rotzsch, I. Lorenz u. E. Strack, Acta biol. med. german. 3, 28 [1959].

<sup>17</sup> E. Strack, W. Rotzsch u. I. Lorenz, „Protides of the Biological Fluids“ Proc. 7<sup>th</sup> Coll., Bruges 1959, S. 235–238, Elsevier Publ. Comp., Amsterdam 1960.

<sup>18</sup> E. Strack u. I. Lorenz, unveröffentlichte Versuche.

<sup>19</sup> E. Strack u. H. Schwaneberg, diese Z. 245, 11 [1937].

<sup>20</sup> E. Grüner u. E. Strack, diese Z. 338, 84 [1964].

<sup>21</sup> I. Lorenz, E. Steger u. E. Strack, J. prakt. Chem. 4. Reihe, 21, 295 [1963].

<sup>22</sup> E. Strack u. I. Lorenz, Acta biol. med. german. 1, 556 [1958].

<sup>23</sup> E. Strack u. K. Försterling, Ber. dtsch. chem. Ges. 71, 1143 [1938]; 76, 14 [1943].

fahren. Ist das Reaktionsprodukt kristallisiert, so werden die Kristalle abgesaugt, mit Äther nachgewaschen und getrocknet. Aus der Mutterlauge-Äther-Mischung fällt meist eine geringe zweite Fraktion aus. Ist das Reaktionsprodukt ölig geblieben, so versetzt man mit Äther, läßt absitzen, dekantiert und verrührt mehrmals mit Äther. Meist kristallisiert dann das Acylcarnitinchlorid aus. Anderenfalls wird das mit Äther gewaschene Produkt mit absol. Aceton geschüttelt und dieses baldigst vom Kristallisat entfernt. Sieden das Säurechlorid bzw. die zugesetzte Carbonsäure bei nicht zu hoher Temperatur, so können sie abdestilliert werden. Der feste Rückstand wird wie oben verarbeitet. Die nicht umgesetzten Säurechloride und die Carbonsäuren können größtenteils zurückgewonnen werden.

Das zurückbleibende *O*-Acyl-carnitinchlorid entsprach bei den optisch aktiven Carnitinprodukten einer Ausbeute von 90–99%. Bei den *racem.*-Butyryl-, Isobutyryl- und Caproylcarnitinen war der Umsatz unter den oben angegebenen Bedingungen geringer. Er betrug meist um 25–30%. Das hierbei entstandene *racem.*-Carnitinchlorid fällt sehr rein an.

Die Perchlorate wurden aus konzentriert äthanolischer Lösung der Chloride mit etwas mehr als der berechneten Menge 70proz. Perchlorsäure in nahezu theoretischer Ausbeute erhalten.

Die Tetrachloroaurate wurden aus schwach salzsaurer wäßriger Lösung mit 30proz. Tetrachlorogoldsäure erhalten.

#### Charakterisierung einzelner *O*-Acyl-carnitin-Derivate

Wegen der großen Zahl der dargestellten und analysierten Acylcarnitinderivate geben wir als Beleg nur die Analysen einiger der wichtigsten Verbindungen wieder. Für die Analysen wurde im allgemeinen das bei der Synthese anfallende Chlorid unmittelbar benutzt; nur vereinzelt wurde es durch einmaliges Umlösen gereinigt. Die mit dem Halbmikroverfahren nach Dennstedt-Zimmermann (Combi 55) gefundenen Werte für C, H und Au werden in der Reihenfolge (+)-, (–)- und *racem.* Verbindung angegeben. Die eingeklammerten Werte sind die berechneten. Die angegebenen Drehwerte stimmen in ihren Zahlenwerten für die (+)- und die (–)-Isomeren überein. Wenn nicht anders angegeben, wurden die Drehwerte der wäßrigen Lösungen bei 22° mit einer Genauigkeit von  $\pm 0,2^{\circ}$  bestimmt.

$$[M]_D = [\alpha]_D \cdot \frac{\text{Mol.-Gew.}}{100}$$

Die Schmelzpunkte wurden im Schmelzblock bestimmt. Die Kapillaren (Jenaer Glas) wurden 30° unterhalb des Schmelzpunktes eingelegt. Die Temperatur wurde um 4°/Min. gesteigert. Die Schmelzpunkte wurden an umkristallisierten Substanzen bestimmt, da sie zumeist noch ein wenig anstiegen.

Als Beleg für die Reinheit der aus ihren Chloriden dargestellten *O*-Acetylcarnitinbetaine haben wir sie in die Goldsalze übergeführt. Diese Überführung ist praktisch quantitativ. Nach Entfernen des Anions wurde im Vak. eingedampft, mit  $\text{HAuCl}_4$  gefällt, abgesaugt, nachgewaschen, getrocknet und die Goldsalze ohne umzukristallisieren analysiert.

*O*-Acetyl-carnitin-tetrachloroaurate, aus Wasser goldgelbe Nadeln

$\text{C}_9\text{H}_{18}\text{NO}_4\text{AuCl}_4$ (543,0)	C	19,74; 19,68; 19,83	(19,91)
	H	3,36; 3,47; 3,53	(3,34)
	Au	36,38; 36,80; 36,12	(36,27)

Schmp.: Racemat: 168°; (+) = (–): 129/30°

*O*-Butyryl-carnitin: Chloride, aus Wasser oder Äthanol Blättchen

$\text{C}_{11}\text{H}_{22}\text{NO}_4\text{Cl}$ (267,8)	C	49,21; 48,90; —	(49,35)
	H	8,27; 8,31; —	(8,28)

Schmp.: (+) = (–): 166/69° (Zers.);  $[\alpha]_D$ : (+) bzw. (–) 23,2°;  $[M]_D$ : 62,1°

## Perchlorate, aus Wasser oder Äthanol Blättchen

$C_{11}H_{22}NO_4]ClO_4$  (331,8) C 39,65; 39,73; — (39,83)  
H 6,84; 6,74; — (6,68)

Schmp.: (+) = (—); 165/67°;  $[\alpha]_D$ : (+) bzw. (—)  $19,1^0 \pm 0,5^0$ ;  $[M]_D$ : 63,4°

## O-Isobutyryl-carnitin: Chloride, aus Äthanol Blättchen

$C_{11}H_{22}NO_4]Cl$  (267,8) C 48,52; 48,22; — (49,35)  
H 8,23; 8,25; — (8,28)

Schmp.: (+) = (—): 162/65° (Zers.);  $[\alpha]_D$ : (+) bzw. (—) 22,2°;  $[M]_D$ : 59,5°

## Perchlorate, aus Wasser oder Äthanol glänzende Blättchen

$C_{11}H_{22}NO_4]ClO_4$  (331,8) C 39,91; 39,49; — (39,83)  
H 6,78; 6,72; — (6,68)

Schmp.: (+) = (—): 195/98°;  $[\alpha]_D$ : (+) bzw. (—)  $19,1^0 \pm 0,5^0$ ;  $[M]_D$ : 63,4°

## Tetrachloroaurate, aus Wasser Blättchen

$C_{11}H_{22}NO_4]AuCl_4$  (571,1) C 22,84; 23,15; — (23,14)  
H 3,96; 4,15; — (3,88)  
Au 34,66; 34,52; — (34,49)

Schmp.: (+) = (—): 98/100°

## O-Caproyl-carnitin: Chloride, aus Isobutanol rechteckige Blättchen

$C_{13}H_{26}NO_4]Cl$  (295,8) C 52,49; 52,38; 52,22 (52,79)  
H 8,86; 8,83; 8,79 (8,86)

Schmp.: Racemat: ab 152° Sintern, bei 156/58° klare Schmelze; (+) = (—): 172/73° (Zers.);  $[\alpha]_D$ : (+) bzw. (—) 20,4°;  $[M]_D$  = 60,3°

## Tetrachloroaurate, aus Äthanol/Wasser 1:1 Blättchen

$C_{13}H_{26}NO_4]AuCl_4$  (599,1) C 25,75; 25,84; — (26,06)  
H 4,56; 4,54; — (4,37)  
Au 32,81; 32,89; 33,06 (32,88)

Schmp.: Racemat: ab 134° Sintern, bei 137/38° klare Schmelze; (+) = (—): 102/03°

## O-Lauroyl-carnitin: Chloride, aus Aceton/Äthanol 8:2 flache, längliche, rechteckige Kristalle

$C_{19}H_{38}NO_4]Cl$  (380,0) C 58,82; 59,80; 59,82 (60,06)  
H 10,14; 10,19; 10,18 (10,08)

Schmp.: Racemat: ab 160° Sintern, bei 177° klare Schmelze (Zers.); (+) = (—): 176/81° (Zers.);  $[\alpha]_D$ : (+) bzw. (—) 11,9°;  $[M]_D$ : 45,2°

## Perchlorate, aus Äthanol Blättchen

$C_{19}H_{38}NO_4]ClO_4$  (444,0) C 51,15; 51,21; — (51,40)  
H 8,40; 8,52; — (8,63)

Schmp.: (+) = (—): ab 77° Sintern, bei 107/08° klare Schmelze;  $[\alpha]_D$  (Aceton): (+) bzw. (—) 14,0°;  $[M]_D$  (Aceton): 62,2°

## Tetrachloroaurate, aus Äthanol/Wasser feinkristallines Pulver

$C_{19}H_{38}NO_4]AuCl_4$  (683,3) C 33,12; 33,44; 32,80 (33,40)  
H 5,91; 5,60; 5,52 (5,61)  
Au 28,74; 28,54; 28,82 (28,83)

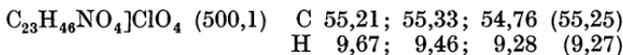
Schmp.: Racemat: 78/81°; (+) = (—): 90/96° (Zers.)

## O-Palmitoyl-carnitin: Chloride, aus Äthanol rechteckige Blättchen

$C_{23}H_{46}NO_4]Cl$  (436,1) C 63,16; 63,13; 63,41 (63,35)  
H 10,64; 10,68; 10,68 (10,63)

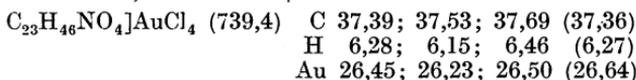
Schmp.: Racemat: ab 150° Sintern, bei 170/70,5° klare Schmelze (Zers.), (Lit.<sup>4</sup> 155/75° Zers.); (+) = (—): ab 165° Sintern, bei 177/78° klare Schmelze (Zers.);  $[\alpha]_D$ : (+) bzw. (—) 9,9°;  $[M]_D$ : 44,0°

Perchlorate, die optischen Antipoden bilden aus Äthanol große Blättchen, das Racemat fällt feinkristallin aus



Schmp.: Racemat: ab 75/80° Sintern, bei 211° klare Schmelze (Zers.); (+) = (−): ab 73° Sintern, bei 207/11° klare Schmelze (Zers.);  $[\alpha]_D$  (Aceton): (+) bzw. (−) 11,8°;  $[M]_D$  (Aceton): 59,0°

Tetrachloroaurate, aus Äthanol/Wasser feinkristallines Pulver



Schmp.: Racemat: 140/41°; (+) = (−): 133/34°

### Zusammenfassung

1. Die Darstellung von *O*-Acylderivaten der optisch isomeren Carnitine aus den Carnitinbetainen mittels Säurechlorid allein oder unter Zusatz der entsprechenden Carbonsäure wird beschrieben. Nebenprodukte entstehen kaum. Die Chloride der Acylderivate der optisch aktiven Carnitine werden in nahezu theoretischer Ausbeute erhalten. Bei der racemischen Form des Carnitins ergibt der Umsatz mit *n*- bzw. Isobutyrylchlorid und mit *n*-Caproylchlorid geringere Ausbeuten, DL-Carnitinchlorid wird hierbei zurückgewonnen.

2. Von den dargestellten *O*-Acylcarnitinen werden die Chloride, Perchlorate und Tetrachloroaurate beschrieben. Weiterhin wurden die Reineckate, die Hexachloroplatinate, die Quecksilberdoppelsalze und die Pikrate dargestellt.

3. Aus den Chloriden und Perchloraten sind die freien Betaine leicht darstellbar.

4. Einige Fragen zur Nomenklatur des Carnitins werden kurz erörtert.

### Summary

1. *O*-acyl derivatives of the optical isomers of carnitine were prepared from the carnitine betaines with the acid chloride alone or with the addition of the corresponding carboxylic acid. There were hardly any by-products. The chlorides of the acyl derivatives of optically active carnitine were obtained in practically theoretical yield. The racemic form of carnitine, reacted with *n*- or iso-butyryl chloride and with caproylchloride to give lower yields; DL-carnitine chloride was isolated from the reaction mixture.

2. The chlorides, perchlorates and tetrachloroaurates of the prepared acyl-carnitines are described. In addition, the reineckates, hexachloroplatinates, mercury double salts and picrates were prepared.

3. The free betaines are easily prepared from the chlorides and perchlorates.

4. Some questions of nomenclature of carnitine are briefly discussed.

*Prof. Dr. E. Strack, Physiologisch-Chemisches Institut der Universität, X 701 Leipzig 1, Liebigstraße 16.*